

孕烷 X 受体在中枢神经系统中的功能研究进展

李成杰^{1,2}, 罗易杨^{1,2}, 吕 焱^{1,2}, 栾志琳^{1*}

(1. 大连医科大学 医学科学研究院, 中国辽宁 大连 116044; 2. 大连医科大学附属第一医院, 中国辽宁 大连 116011)

摘要: 孕烷 X 受体(pregnane X receptor, PXR)是核受体超家族的成员之一, 其本质是配体激活型转录因子。PXR 高表达于肝脏和肠道, 在肾脏和脑等器官也有表达。自发现以来, PXR 就被公认为是外源物质和内源物质的感受器, 在激活状态下, 可以调节药物代谢酶、转运蛋白和其他代谢相关蛋白质的表达, 从而起到解毒等作用。由于 PXR 高表达于肝脏和肠道, 所以其在消化系统的功能被大量研究报道。近年来, 随着 PXR 在越来越多的脑区被检测到, 其在中枢神经系统中的生理和病理生理功能被广泛关注。本文主要就 PXR 在中枢神经系统的表达谱、在血脑屏障中的功能, 以及其与神经疾病和神经毒性的关系, 与行为学的相关性等进行综述。上述内容一方面可指导临床合理用药, 另一方面可拓展科研工作者新药研发的思路; 同时, 也为未来 PXR 在中枢神经系统中功能的进一步研究提供了理论基础和方法思路。

关键词: 孕烷 X 受体(PXR); 中枢神经系统; 血脑屏障; 神经疾病; 神经毒性; 行为学

中图分类号: Q42, R741

文献标志码: A

文章编号: 1007-7847(2023)04-0305-11

Research Progress on Role of Pregnane X Receptor in Central Nervous System

LI Chengjie^{1,2}, LUO Yiyang^{1,2}, LÜ Ye^{1,2}, LUAN Zhilin^{1*}

(1. Advanced Institute for Medical Sciences, Dalian Medical University, Dalian 116044, Liaoning, China; 2. The First Affiliated Hospital, Dalian Medical University, Dalian 116011, Liaoning, China)

Abstract: As a member of the nuclear receptor superfamily, pregnane X receptor (PXR) is a ligand-activated transcription factor. It is highly expressed in liver and intestine, as well as in kidney, brain and other organs. Since its discovery, PXR has been recognized as a sensor for exogenous and endogenous substances. In the activated state, it can regulate the expression of drug-metabolizing enzymes, transporters, and other metabolism-related proteins to exert detoxification effects. Its functions in the digestive system have been intensively explored due to its high expression in liver and intestine. In recent years, with the detection of PXR in more and more brain regions, its physiological and pathophysiological functions in the central nervous system have attracted much attention. This review summarized the expression profile of PXR in the central nervous system, its role in the blood-brain barrier, its relationship with neurological diseases and neurotoxicity, and its correlation with the behavioral science. The summary may provide guidance on clinical medication and new ideas for drug development, and also be beneficial for future research on PXR functions in the central nervous system.

Key words: pregnane X receptor (PXR); central nervous system; blood-brain barrier; neurological disease; neurotoxicity; behavioral science

(*Life Science Research*, 2023, 27(4): 305-315)

收稿日期: 2022-08-05; 修回日期: 2022-10-17; 网络首发日期: 2023-02-10

基金项目: 辽宁省自然科学基金面上项目(2022-MS-326); 辽宁省教育厅科学研究经费项目(LZ2020023); 大连市高层次人才创新支持计划“青年科技之星”项目(2019RQ116); 大连医科大学本科创新人才培养教学改革项目(111806010321)

作者简介: 李成杰(1998—), 男, 辽宁丹东人, 学生; *通信作者: 栾志琳(1984—), 女, 辽宁大连人, 博士, 副教授, 主要从事核受体在重大代谢性疾病中的功能研究, E-mail: luanzhi@dmu.edu.cn。

核受体(nuclear receptor, NR)是一个转录因子超家族,其成员参与调节众多生理过程,如代谢、生殖、炎症和昼夜节律等。核受体可感知代谢产物水平的变化,以驱动其下游靶基因进行差异表达,从而发挥不同的生理功能^[1]。大多数核受体都具有相同的特征性结构域,包括N末端结构域(N-terminal domain, NTD)、高度保守的DNA结合域(DNA binding domain, DBD)、铰链区以及可以与激动剂或抑制剂结合的C末端配体结合域(ligand binding domain, LBD),其中NTD包含非配体依赖性活化功能区1(activation function 1, AF-1),LBD包含配体依赖性活化功能区2(activation function 2, AF-2)^[2]。核受体可以通过与配体结合而被激活或抑制,进而发挥作用。配体可分为内源性物质和外源性物质,内源性物质包括激素和维生素等,外源性物质包括抗生素和肠道细菌的代谢产物等^[3]。迄今为止,核受体在人类已被发现有48个成员,在小鼠有49个成员,在大鼠有47个成员^[4]。根据其生理配体和潜在功能,核受体可大致分为3个亚型:第一类是内分泌受体,它们是脂溶性激素和维生素的高亲和力受体;第二类是领养孤儿受体,它们最初因为序列与内分泌受体具有一定的同源性而被发现,由于相应的配体不被人所知,所以被称为孤儿受体,但随着配体的发现它们被“去孤儿化”;第三类是真正孤儿受体,它们的天然或合成配体尚未被发现,甚至它们可能没有相对应的配体^[5]。

孕烷X受体(pregnenolone X receptor, PXR)是核受体第1亚家族第I组2号成员,所以也被命名为NR1I2^[6]。最初人们发现,PXR可以在外源性有害物质的激活下促进一些酶和转运蛋白的表达,而这些酶与转运蛋白又可以促进有害物质的代谢和排出,因此PXR被认为具有解毒功能,也被称为外源物质感受器^[7]。但随着研究的深入,PXR更多的功能被揭示。比如:PXR可以调节肝脏中葡萄糖和脂质等内源性物质的代谢,并影响全身的代谢稳态^[8];PXR的激活可以抑制核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)靶基因的表达,减少炎症因子的释放,从而发挥抗炎效应^[9]。近年研究表明,PXR被其激动剂活化后可以和叉头盒O类蛋白(forkhead box protein O, FOXO)相互作用,下调细胞周期抑制基因的表达,从而促进细胞增殖^[10]。以上提及的PXR功能均是在肝脏或肠道发现的,由于近年来PXR在不同物种的多种神经结

构中被广泛发现,且都发挥了既重要又多样的生理和病生理功能,所以本文将根据PXR在脑组织的最新研究总结其在中枢神经系统的功能。

1 PXR概述

PXR因能被类固醇分子激活而又被称为类固醇和外源性受体(steroid and xenobiotic receptor, SXR)^[6]。1998年,研究人员发现了一种新的核受体,并在公共表达序列标签(expressed sequence tag, EST)数据库进行了一系列序列检索,最后关注到了一个来自于小鼠肝脏cDNA文库的克隆片段,它与很多核受体的LBD具有同源性,根据这部分序列信息,小鼠PXR(mPXR)的cDNA首次被克隆^[11]。随后,人PXR(hPXR)的cDNA也被克隆^[12]。

在人体内,PXR主要在肝脏、小肠和结肠表达,肾脏、肾上腺和脑等器官也有少量表达^[13]。和大部分核受体一样,PXR包括AF-1、高度保守的DBD、相对较短的铰链区、LBD其他部分和AF-2(图1A)。其中,DBD包含两个锌指结构和一个核定位序列(nuclear localization sequence, NLS)。PXR可以通过锌指结构与维甲酸X受体(retinoid X receptor, RXR)组成异二聚体,进而与特异的DNA反应元件相结合^[14]。PXR蛋白LBD中大且灵活的配体结合口袋使它能够与众多不同结构的内源性和外源性配体结合,受体的空腔主要是疏水的,但有8个极性的残基分布在结合口袋表面,这也在一定程度上反映了与之结合配体的特征,这些配体通常是具有少量极性基团的亲脂化合物^[14-15]。

PXR的配体繁多复杂,主要可以分为内源性配体和外源性配体。内源性配体主要包括激素、激素代谢物和胆汁酸等,外源性配体主要包括合成药物、自然产物、环境化学制品和微生物代谢物等。其中,合成药物又包括抗生素利福平、抗癌化疗药、糖皮质激素类药物地塞米松、降胆固醇他汀类药物、钙通道阻滞剂和巴比妥类药物等^[16-18]。另外,PXR的配体显示出物种差异性,这是因为不同物种PXR的LBD同源性较低^[17,19](图1B)。

PXR可通过直接与配体结合的方式被激活或抑制。在小鼠肝脏细胞中,PXR主要位于细胞质,并与热休克蛋白90(heat shock protein 90, HSP90)和胞质组成型雄甾烷受体(constitutive androstane receptor, CAR)驻留蛋白(cytoplasmic CAR retention protein, CCRP)形成复合物,在配体与PXR结合后,PXR从蛋白质复合物中分离并依赖NLS易

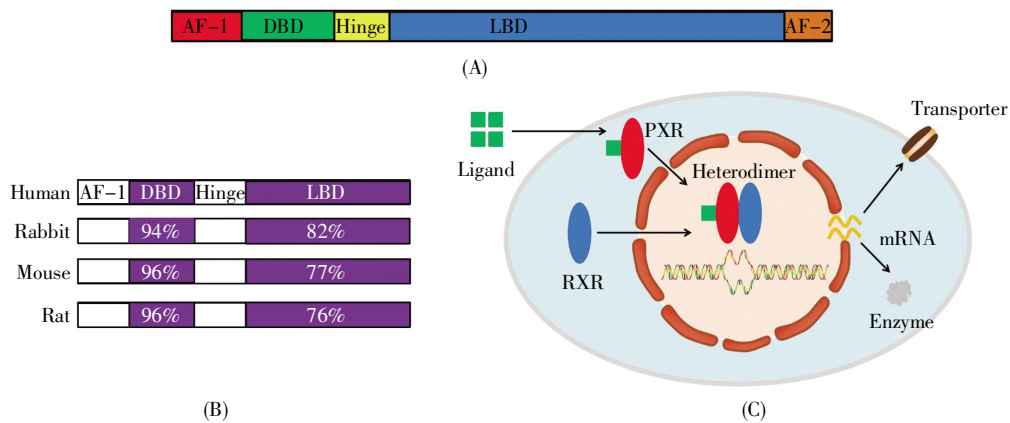


图 1 PXR 的蛋白质结构与配体依赖性转录活性调控机制示意图

(A) PXR 的一般结构。PXR 的一般结构包括非配体依赖性活化功能区 1 (AF-1)、高度保守的 DNA 结合域(DBD)、相对较短的铰链区以及配体结合域(LBD), LBD 还包含配体依赖性活化功能区 2 (AF-2); (B) PXR 结构域氨基酸序列的同源性比较。在人、兔、小鼠、大鼠中, DBD 高度保守, LBD 差异较大; (C) PXR 经配体激活后参与代谢相关酶和外排性转运蛋白的转录调节。

Fig.1 The protein structure and regulation mechanism of ligand dependent transcriptional activity of PXR

(A) The general structure of PXR. It contains a AF-1 domain, a highly conserved DBD, a relatively short hinge region, and a LBD, and the LBD also contains a AF-2 domain; (B) Comparison of amino acid sequence homology in PXR structural domains of several vertebrates. The DBD is highly conserved and the LBD varies greatly in sequences of different species; (C) Transcriptional regulation of metabolism-related enzymes and efflux transporters by ligand-activated PXR.

位到细胞核^[20-21]。在细胞核, PXR 和 RXR 结合为异二聚体后与位于靶基因 5' 端的启动子区域的生物异源物质效应元件(xenobiotic response element, XRE)结合, 从而启动转录过程^[22](图 1C)。实际上, 在结合配体后, PXR 的 LBD 可发生构象变化, 这使得它可以招募共活化因子或共抑制因子, 从而促进或抑制靶基因转录^[23]。PXR 也可以通过间接机制被激活或抑制, 但具体机制暂时不清楚, 可能涉及细胞周期蛋白依赖性激酶信号通路^[24]。除此之外, PXR 的激活还可以被翻译后修饰调节, 具体包括泛素化、磷酸化、SUMO 化和乙酰化^[25]。

2 PXR 在中枢神经系统的表达

2.1 PXR 在中枢神经系统的表达谱

至今, 人们在小鼠、大鼠、兔、猪和人类等许多物种的中枢神经系统都检测到 PXR 的表达, 而已知的 PXR 在每个物种的表达脑区也不尽相同, 主要涉及的脑区有大脑皮质、海马、小脑和毛细血管等^[13, 26-38]。表 1 根据目前的研究具体总结了 PXR 在不同物种中枢神经系统的表达谱。实际上, 从 mRNA 表达水平上来说, PXR 在人脑中的表达明显低于肝脏和肠道^[13]。

2.2 配体对中枢神经系统 PXR 表达的影响

当中枢神经系统的细胞暴露于 PXR 的配体后, PXR 不但会被激活或抑制, 其表达量往往也

会发生改变。表 2 总结了配体对中枢神经系统 PXR 表达的影响。本文涉及的配体均为 PXR 激活剂, 但它们对 PXR 表达的影响却不尽相同。少数实验结果是无明显变化, 比如: 用地塞米松处理小鼠和用利福平处理猪之后, PXR 在小鼠的血脑屏障和猪的脑膜、大脑皮质、中脑、海马、小脑、脑毛细血管中的表达基本不变^[32, 35]。另一些实验结果是下调, 比如: 小鼠的少突胶质细胞暴露于地塞米松、人脑源性微血管内皮细胞(human brain-derived microvessel endothelial cell, hBDMC)暴露于 Z-没药甾酮之后, 这些细胞内的 PXR 表达量减少^[39-40]。在其他大部分实验中, 配体对 PXR 表达的影响是上调。Narang 等^[41]报道, 当将大鼠的脑毛细血管内皮细胞暴露于地塞米松一段时间后又置于无地塞米松的条件下培养时, PXR 的表达是先增加而后恢复到对照组水平, 这说明地塞米松对 PXR 表达的影响具有可逆性, 进一步的研究证明这种影响部分依赖于糖皮质激素受体(glucocorticoid receptor, GR)信号通路。另有研究报道, 大鼠脑毛细血管内皮细胞暴露于地塞米松、猪脑毛细血管内皮细胞暴露于利福平和贯叶金丝桃素后, PXR 的表达均增加且表现出时间依赖性和浓度依赖性^[36, 42-43]。除此之外, 大鼠的脑毛细血管细胞暴露于卡马西平等药物、小鼠的海马细胞暴露于壬基酚以及人脑毛细血管细胞暴露于利福平之后, PXR 的表达也相应增加^[30, 40, 44]。

表 1 PXR 在中枢神经系统的表达谱

Table 1 The expression profile of PXR in the central nervous system of different species

Species	Expression area in brain	Examined expression form	Reference
Rat	Cortex	mRNA	[26]
	Hippocampus	mRNA, protein	[27]
	Midbrain	mRNA, protein	[28]
Mouse	Brain capillaries	mRNA, protein	[29]
	Hippocampus	mRNA, protein	[30]
	Cerebellum	mRNA	[31]
	Brain capillaries	mRNA, protein	[32]
Rabbit	Oligodendrocytes	mRNA, protein	[33]
	Cortex, midbrain, cerebellum	mRNA	[34]
Pig	Meninges, cortex, hippocampus, midbrain, cerebellum	mRNA	[35]
	Brain capillaries	mRNA, protein	[35-36]
Human	Thalamus, pons, spinal cord, medulla	mRNA	[37]
	Cerebellum	mRNA	[13]
	Brain capillaries	mRNA, protein	[38]

表 2 配体对 PXR 在中枢神经系统表达的影响

Table 2 Effects of ligands on PXR expression in the central nervous system of different species

Species	Ligand	Experimental mode	Observed brain area	Examined expression form	Effect	Reference
Rat	Dexamethasone	<i>In vivo, in vitro</i>	Brain capillaries	mRNA, protein	Up-regulation	[41-42]
	Carbamazepine, phenobarbital, phenytoin	<i>In vitro</i>	Brain capillaries	Protein	Up-regulation	[44]
Mouse	Nonylphenol	<i>In vitro</i>	Hippocampus	mRNA, protein	Up-regulation	[30]
	Dexamethasone	<i>In vivo</i>	Brain capillaries	Protein	No effect	[32]
Pig	Rifampicin	<i>In vitro</i>	Oligodendrocytes	mRNA	Down-regulation	[39]
		<i>In vivo</i>	Meninges, cortex, midbrain, hippocampus, cerebellum, brain capillaries	mRNA	No effect	[35]
Human	Rifampicin, hyperforin	<i>In vitro</i>	Brain capillaries	mRNA	Up-regulation	[36, 43]
	Z-Guggulsterone	<i>In vitro</i>	Brain capillaries	Protein	Down-regulation	[40]
	Rifampicin	<i>In vitro</i>	Brain capillaries	Protein	Up-regulation	[40]

2.3 致病物质对中枢神经系统 PXR 表达的影响

除了配体,一些致病物质或有毒物质也会影响 PXR 在中枢神经系统的表达。过量的贫铀和胆红素对机体有很强的毒性,红藻氨酸(kainic acid, KA)和 L-谷氨酸可以诱导癫痫, β 淀粉样蛋白(amyloid β -protein, A β)可以诱导阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD);在上述物质中,除了 A β 使脑中 PXR 表达减少,其他物质都能使中枢神经系统的 PXR 表达增加^[26-27, 31, 45-46] (表 3)。

3 PXR 在血脑屏障中的功能

3.1 PXR 调节靶基因转录

PXR 本质上是一种转录因子,其主要功能是调节靶基因转录。目前,关于 PXR 靶基因的研究主要集中在 ATP 结合盒蛋白(ATP-binding cassette protein, ABC protein)和参与药物代谢的酶。在同一物种中,如果在其他组织中证明了某基因是 PXR 的靶基因,且在血脑屏障中 PXR 和靶基因

表 3 致病物质对 PXR 在中枢神经系统表达的影响

Table 3 Effects of pathogenic substances on PXR expression in the central nervous system of different species

Species	Pathogenic substance	Induced disease	Experimental mode	Observed brain area	Examined expression form	Effect	Reference
Rat	Depleted uranium	Cytotoxicity	<i>In vivo</i>	Cortex	mRNA	Up-regulation	[26]
	Kainic acid	Epilepsy	<i>In vivo</i>	Hippocampus	mRNA, protein	Up-regulation	[27]
Mouse	Bilirubin	Hyperbilirubinemia	<i>In vivo</i>	Cerebellum	mRNA	Up-regulation	[31]
	L-Glutamate	Epilepsy	<i>In vitro</i>	Brain capillaries	Protein	Up-regulation	[45]
Pig	Amyloid β -protein	Alzheimer's disease	<i>In vitro</i>	Brain capillaries	Protein	Down-regulation	[46]

都表达,那么在理论上可以说 PXR 也在血脑屏障中调节该基因的表达。按照这种思路,参考既往文献^[29, 38, 47-53]报道,我们推测 P-糖蛋白(*P-glycoprotein, P-gp*)基因、多药耐药相关蛋白 2 (*multidrug resistance-associated protein 2, MRP2/ABCC2*) 基因、细胞色素 P450 3A4 (*cytochrome P450 3A4, CYP3A4*)基因和有机阴离子转运多肽 2 (*organic anion transporting polypeptide 2, OATP2*)基因在某些物种血脑屏障上的表达可能受到 PXR 的调节(表 4)。

3.2 PXR 和 P-糖蛋白

P-gp 又叫作多药耐药蛋白 1 (*multidrug resistance protein 1, MDR1*), 是 ABC 蛋白超家族 B 亚家族 1 号成员, 因此也被称为 ABCB1, 它是一种依赖于 ATP 的外排性转运蛋白, 位于很多类型的细胞质膜上, 许多不同结构的化合物(包括药物和环境毒素)已经被证明是它的底物^[54]。PXR 和 P-gp 对药物治疗的影响具有两面性。一方面, 它们可以减少毒性药物在脑的大量积累。在中枢神经系统的临床用药过程中, 阿米替林(*amitriptyline, AMI*)和其代谢产物去甲替林(*nortriptyline, NOR*)常引起较为严重的中枢神经系统中毒, 同时它们也都是 P-gp 的底物。有研究表明, 给予 AMI 中毒的大鼠一定剂量的地塞米松, 可以激活其血脑屏障中的 PXR, 从而上调 P-gp 的表达, 增加 NOR 的排出, 最终缓解中毒^[42]。另一方面, 它们也可能降低一些药物在脑中的浓度从而降低治疗效果。长春新碱是一种可用于治疗颅内肿瘤的化疗药, 也是 P-gp 的底物之一。在临床上, 颅内肿瘤化疗时人们通常合并使用地塞米松, 以减轻疼痛和脑水肿。在体外培养的大鼠血脑屏障内皮细胞中进行的实验表明: 地塞米松可通过 PXR 和 GR 依赖的方式上调该细胞 P-gp 的表达, 从而更加限制了长春新碱被大脑所摄取, 最终降低治疗效果^[41]。这为临床用药带来了一些启示: 如果所用药物是 P-gp 的底物, 当我们想要减轻药物造成的神经毒性时, 可以使用一些 PXR 激活剂, 以促进转运蛋白将毒

性药物排出血脑屏障; 当我们想要目标药物在脑内发挥作用时, 可以减少 PXR 激活剂的使用或采用一些 PXR 抑制剂, 以增加脑内药物浓度。

PXR 和 P-gp 之间存在反馈通路。在人体, 苯巴比妥是 PXR 的配体, 同时 P-gp 也介导苯巴比妥的外向转运^[55-56]。以此推测, 在苯巴比妥的外向转运过程中, 存在一个负反馈通路, 即苯巴比妥激活 PXR, 促进 P-gp 表达, 使更多的苯巴比妥被转运到血脑屏障以外, 而血脑屏障内的苯巴比妥则相对减少, 其对 PXR 的激活作用相对减弱。事实上, 很多 PXR 的激动剂或抑制剂同时也是 P-gp 的底物或抑制剂, 这会形成很多反馈通路^[57]。这些机制可能会帮助机体更精细地调节血脑屏障内外的物质转运。

3.3 PXR 和多药耐药相关蛋白 2

MRP2 也是 ABC 蛋白超家族的一员, 主要表达在极性细胞的顶端细胞膜, 它通过转运生物转化的第二阶段产物在解毒和化学保护中发挥重要作用。另外, MRP2 还可以与谷胱甘肽协同运输不带电荷的化合物, 从而调节许多药物的药代动力学^[58]。一项研究表明, MRP2 和谷胱甘肽 S-转移酶- π (*glutathione S-transferase- π , GST π*)均在大鼠脑毛细血管内皮细胞中表达, 且 PXR 配体孕烯醇酮-16 α -腈(*pregnenolone-16 α -carbonitrile, PCN*)可上调它们的蛋白质表达水平。进一步的免疫荧光染色显示, GST π 与 MRP2 大多有相同的定位。这些结果提示: 代谢酶和外排性转运蛋白存在功能偶联; 与肝细胞一样, 脑毛细血管也具有由核受体、代谢酶和外排性转运蛋白组成的调节网络, 它可以调节血脑屏障的功能^[49]。我们推测这种协同功能的机制可能是: 脑内的代谢废物或毒性物质与 PXR 结合, 从而上调代谢酶和外排性转运蛋白的表达, 这些代谢废物或毒性物质被代谢酶转化为转运蛋白的底物, 进而被排出血脑屏障。

3.4 PXR 和紧密连接蛋白

屏障的基本单位由脑毛细血管内皮细胞、星

表 4 在血脑屏障受 PXR 调节的靶基因

Table 4 Target genes regulated by PXR at the blood-brain barrier of different species

Species	Target gene	Reference proving the gene is a target gene of PXR	Reference proving the gene and PXR gene express at the blood-brain barrier
Human	<i>P-gp</i>	[47]	[38]
	<i>CYP3A4</i>	[48]	[38, 49]
Rat	<i>MRP2</i>	[50]	[29, 51]
	<i>OATP2</i>	[52]	[29, 53]

形胶质细胞、周细胞和相邻的神经元组成, 内皮细胞通过连接复合体连接, 其中就包括紧密连接^[59]。紧密连接通过调节液体、离子和小血浆蛋白的扩散以及血细胞的渗透, 从而控制内皮细胞旁路通透性^[60]。在野生型小鼠血脑屏障表达的紧密连接蛋白主要是带状闭合蛋白 1 (zonula occludens-1, ZO1) 和封闭蛋白 5 (claudin-5, CLDN5), 而在 PXR 基因敲除小鼠的血脑屏障中, ZO1 表达减少, CLDN5 表达不变, 这提示 PXR 和紧密连接蛋白 ZO1 的表达相关^[61]。

4 PXR 和神经相关疾病

4.1 PXR 和阿尔茨海默病

AD 是引发痴呆的原因之一, 指的是与年龄相关的伴有特殊神经病理学的认知和功能衰退^[62]。根据神经病理学和临床检查, AD 的特点是: 存在淀粉样斑块和神经原纤维缠结, 并伴有大脑淀粉样血管病 (cerebral amyloid angiopathy, CAA) 和神经胶质反应。淀粉样斑块主要由 A β 组成, A β 主要积聚在大脑皮质和海马, 其与小胶质细胞反应相关, 并可导致多种细胞毒性因子的产生。毒性微环境、淀粉样斑块和神经原纤维缠结共同导致了 AD 的发生和神经元减少^[57]。此外, AD 患者脑脊液中的胆固醇和氧化固醇浓度明显高于健康人^[63]。现有研究提示, PXR 激活对患有 AD 的机体起到保护作用。

首先, PXR 激活可以增加 A β 的排出, 从而减轻 AD。在正常人的血脑屏障中, PXR 激活上调 P-gp 的表达, P-gp 介导 A β 从脑到循环血液的排出。有研究利用体外制备的囊泡和 Western-blot 技术直接证明了 P-gp 和 ATP 可以转运 A β ^[64]; 还有报道指出, 在未痴呆的死亡受试者脑中, 脑血管内皮细胞 P-gp 的表达和脑组织 A β 的累积量呈明显的负相关^[65]。在 AD 患者的血脑屏障中, P-gp 的表达减少且功能降低。相关免疫组织化学染色结果提示, 与正常人相比, AD 患者大脑皮质血管内皮细胞中的 P-gp 表达明显降低^[66]。一项用 (R)-[¹¹C] 维拉帕米和正电子发射断层扫描 (positron emission tomography, PET) 技术评估 AD 患者 P-gp 功能的研究显示: 与健康人相比, AD 患者血脑屏障的 P-gp 功能降低^[67]。有趣的是, A β 也能下调 PXR 的表达以及 P-gp 的表达和功能活性。将猪脑内皮细胞 (porcine brain endothelial cell, PBEC) 暴露于 A β 后, PXR 表达减少, P-gp 的表达和活性也

降低^[66]。这里就存在一个正反馈调节, 即 AD 患者脑中本来就存在一定的 A β 累积, 而 A β 又能下调 PXR 的表达以及 P-gp 的表达和功能活性, 这又进一步加重了 A β 的累积, 最终导致 AD 逐渐加重。综上所述, PXR 可能是减少 AD 患者脑中 A β 累积的靶点之一。据报道, 用罗氟司特 (roflumilast, ROF) 处理 AD 模型小鼠可以起到治疗效果, 其原因之一就是 ROF 增加了 PXR 和 P-gp 的表达, 减少了海马中 A β 的累积^[68]。

其次, PXR 激活可以增加胆固醇的排出, 从而减轻 AD。在过去的研究中, 别孕烯醇酮 (allo-pregnanolone, AP α) 被证明可以改善 AD 模型小鼠的学习和记忆缺陷, 于是有人想观察 AP α 对 A β 累积的影响。研究者用 AP α 分别处理两组 AD 模型小鼠, 一组小鼠还没有出现 A β 累积, 而另一组则已经出现。一段时间后, 前者脑中 A β 的累积较对照组明显减少, 而后者则只有高相对分子质量的 A β 明显降低。这说明 AP α 抑制了 A β 的寡聚过程。由于 AP α 已被提出通过 PXR 调节胆固醇稳态, 而胆固醇稳态失调又和 A β 累积相关, 故研究者又观察了两组小鼠的 PXR 变化, 结果显示: 前者 PXR 表达增加, 后者 PXR 表达减少。根据实验结果, 研究者认为 A β 累积减少的机制可能是: AP α 诱导 PXR 表达增加, 导致 CYP3A4、CYP3A13 和有机阴离子转运蛋白的活化, 从而加快胆固醇的代谢和排出, 进而减少 A β 的累积^[69]。根据上述 AP α 治疗效果的特点可知: 如果该成果未来被应用于临床, 其主要适用范围应该是有家族史的潜在发病人群和被诊断为轻度认知障碍的患者。

最后, PXR 可以促进某些酶的表达, 从而保护少突胶质细胞。从 AD 的病理来看, 少突胶质细胞参与了和炎性酶 [如: 分泌型磷酸酯酶 A2 (secreted phospholipase A2, sPLA2)] 升高相关的炎症过程。同时, 在 AD 的早期, 患者血浆和脑脊液中氧化固醇的浓度增加, 而在晚期, 患者血浆中的氧化固醇浓度降低。于是有人对氧化固醇对少突胶质细胞的影响产生了兴趣。实验结果表明: 高浓度的氧化固醇可以改变少突胶质细胞形态并诱导细胞凋亡, 同时高浓度的氧化固醇也可以通过 PXR 激活 sPLA2-II A, 而 sPLA2-II A 可以保护细胞形态和减少细胞死亡^[33]。一般来说, PXR 的解毒机制主要为: 其被毒物刺激后, 调节各种代谢酶和转运蛋白的表达, 从而将毒物转化或排出。而在这项研究中, PXR 被毒物刺激后, 可以调节

对细胞有保护作用的酶的表达,从而起到解毒作用,这可能是一种新的 PXR 解毒机制。至于 sPLA2-ⅡA 保护细胞的机制还有待进一步研究。

4.2 PXR 和癫痫

临床癫痫发作被定义为可以引起短暂的临床症状和体征的脑内异常的同步神经元活动。癫痫发作的病因主要包括结构性病变、遗传因素、感染、代谢紊乱、免疫性因素和未知因素,不同年龄人群的常见病因不尽相同^[70]。

耐药性癫痫(drug-resistant epilepsy, DRE)发生在大约 30%的癫痫患者中,因此癫痫的耐药机制受到广泛关注^[45]。一方面,癫痫本身的特点导致了它的耐药性。一项利用耐药性癫痫患者脑标本进行的研究表明:与正常人相比,患者的脑毛细血管内皮细胞中 PXR、GR、CYP3A4 和 CYP2C9 的表达均增加;进一步的研究表明:在癫痫患者的脑组织中,病理生理改变、药物的生物转化以及合并症共同导致了 PXR 和 GR 的表达增加,其中,GR 调控 CYP3A4、CYP2C9 和 PXR 的表达,而 PXR 直接调控 CYP3A4 的表达并部分调控 CYP2C9 的表达,这些均导致 CYP3A4 和 CYP2C9 的表达增加,CYP3A4 和 CYP2C9 参与药物的代谢,最终导致癫痫的耐药性^[71]。另一方面,抗癫痫药物(anti-epileptic drug, AED)也会导致耐药性。将体外培养的大鼠脑毛细血管内皮细胞暴露于卡马西平、苯巴比妥、苯妥英、托吡酯、噻加宾和左乙拉西坦 6 种 AED 后,P-gp、MRP1 和 MRP2 的表达均增加,其中卡马西平、苯巴比妥和苯妥英能使 PXR 的表达明显增加;进一步研究发现,卡马西平、苯巴比妥和苯妥英诱导的 P-gp 和 MRPs 的表达与 PXR 的表达增加有关。根据实验结果,研究者认为:卡马西平、苯巴比妥和苯妥英可以通过上调 PXR 的表达使 P-gp、MRP1 和 MRP2 的表达增加,最终导致 AED 在中枢神经系统的浓度降低,这可能是导致癫痫耐药性的一种机制^[44]。也有人用体外培养的小鼠脑毛细血管内皮细胞同时围绕以上两个因素进行了研究。Ke 等^[45]用 L-谷氨酸处理细胞来诱导癫痫状态,用卡马西平处理细胞来模拟药物治疗状态,结果表明:无论是用 L-谷氨酸或卡马西平单独处理细胞,还是二者联合处理细胞,P-gp、CYP3A、PXR 和 NF- κ B 的表达均增加;且后续研究证明:P-gp 的表达增加主要由 PXR 介导,CYP3A 的表达增加主要由 NF- κ B 介导。依据实验结果,结合卡马西平是 PXR 和 CYP 的底物,

研究者认为,癫痫发作和某些 AED 的治疗可通过 PXR 和 NF- κ B 的介导增加 P-gp 和 CYP3A 的表达,进而促进 AED 排出和代谢,最终导致癫痫的耐药性。从上述提及的机制可知,PXR 是导致癫痫患者产生耐药性的关键物质。为了减少这种耐药性,我们可以选择或开发与 PXR 调节的酶或转运蛋白无关的药物;此外,抑制 PXR 的表达和活性可能也是一种途径。

癫痫患者对 AED 是否具有耐药性可能取决于很多因素,比如遗传因素、病因、癫痫发作的类型以及脑的结构异常等,其中人们对相关基因的多态性与耐药性癫痫的关系进行了较多研究^[72]。据报道,在耐药性癫痫患者的脑组织中,病灶处的 P-gp 表达明显高于周围组织,更多的 P-gp 可能将更多的药物排出脑组织,从而减少细胞内药物浓度,进而降低药物疗效^[73]。P-gp 基因具有高度多态性,其编码区有 50 多种变异,人们认为这可能导致 P-gp 的表达和功能具有多样性,从而对 AED 的反应也表现出多样性^[74]。抗癫痫常用药物卡马西平主要在肝脏经 CYP3A4 催化代谢,由于 P-gp 和 CYP3A4 的转录都经 PXR 调节,所以 PXR 的多态性也被认为可能和癫痫的耐药性有关^[75-76]。另外,在 PXR 调节 CYP3A4 转录过程中,肝细胞核因子 4 α (hepatocyte nuclear factor 4 α , HNF4 α)在募集共活化因子方面发挥重要作用,因此 HNF4 α 的多态性也被纳入考虑范围^[76]。有人认为在研究基因的多态性和癫痫患者对 AED 治疗的反应的关系时,结果受试验样本种族和多药联合治疗的影响,因此研究者在中国人、印度人、马来人群体中研究了 ABCB1 基因和 PXR 基因多态性与癫痫患者对卡马西平以及丙戊酸钠单药治疗的反应的关系,结果表明 ABCB1 基因和 PXR 基因的多态性与癫痫患者对 AED 的反应无关^[75]。另一项在日本人群体中进行的研究表明:PXR 基因和 HNF4 α 基因的多态性都与癫痫患者对卡马西平的反应没有关系,但是 PXR*1B 和 HNF4 α rs-2071197 的多态性对浓度/剂量比率有显著的交互影响,即在 HNF4 α 基因型为 G/G 的患者中,PXR*1B 携带者的浓度/剂量比率高于 PXR*1B 非携带者,在用卡马西平治疗的前 3 个月内,无癫痫发作的比率为前者高于后者,达到无癫痫发作所需剂量的时间为前者短于后者^[76]。根据上述研究可知,AED 是否能起到作用,主要有两个“门槛”:一是能否达到有效的血浆药物浓度,二是能

否达到有效的脑内药物浓度。前者主要取决于肝脏内多种酶对药物的代谢,后者则主要与血脑屏障中的各种转运蛋白相关,而无论是肝脏中的酶还是血脑屏障中的转运蛋白,都与 PXR 有着紧密的联系,故 PXR 等核受体可能是解决癫痫患者耐药性的重要靶点。

4.3 PXR 和尼曼-皮克病 C1 型

尼曼-皮克病 C1 型(Niemann-Pick disease type C1, NPC1)是一种常染色体隐性遗传的脂质贮存疾病,以新生儿黄疸、肝脾肿大和进行性神经退行性病变为主要特征,其中神经退行性病变可能导致共济失调、肌张力不全和智力功能受损等症状。NPC1 占到 NPC 的大约 95%,其病因是 NPC1 基因突变。NPC1 基因突变使脂质运输受损,最终导致未酯化的胆固醇、鞘糖脂和其他脂肪酸在内体/溶酶体系统的积累^[77]。在 NPC1 基因敲除的小鼠中,胆固醇运输的中断对神经类固醇的生成具有重要影响,它可以导致小鼠脑中 AP α 的含量显著减少;用 AP α 治疗患有 NPC1 的小鼠后,小鼠生存率提高,神经系统功能改善, NPC1 的病理改变也减轻。鉴于 AP α 为 PXR 的激活剂,而且 PXR 在小脑组织对其靶基因(如 CYP3A)具有诱导作用,研究者进一步检测了经 AP α 治疗的 NPC1 小鼠小脑中 PXR 靶基因的表达水平,最后发现 CYP-3A13 的表达增加,而这种酶参与固醇的分解代谢和解毒。于是研究者认为,用 AP α 处理 NPC1 小鼠后, PXR 介导了 CYP3A13 的表达增加,这种酶参加了胆固醇氧化产物的解毒过程,从而可减轻神经元损伤^[78]。根据上述机制可知, PXR 的配体可能能够延缓 NPC1 疾病的进展,而在日常生活中很多药物都是人 PXR 的配体,例如利福平等,这些已经被批准应用于临床的药物,可能有助于 NPC1 临床治疗试验的开展。

5 PXR 和神经毒性

PXR 可以介导神经毒性作用。壬基酚是工业表面活性剂壬基酚聚氧乙烯醚的降解产物之一,它属于内分泌干扰物,并可与雌激素受体结合从而模拟雌激素的生理功能^[79-80]。关于壬基酚神经毒性的研究很多,但只有较少研究关注到核受体在其中的作用。据报道,将体外培养的小鼠海马细胞暴露于壬基酚后, PXR 被激活并从细胞质易位到细胞核,而且其 mRNA 和蛋白质表达量增加,这导致天冬氨酸特异性胱天蛋白酶-3 (caspase-3)

被激活,同时乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)释放增加,最后细胞凋亡,神经元的形态改变为神经突起缩短且胞浆收缩^[30]。

PXR 的激活可以促进神经毒性作用。有机磷酸酯类化合物在全世界范围内被广泛用作农业杀虫剂,同时也因其神经毒性作用而被大众所了解。它们是乙酰胆碱酯酶的有效抑制剂,而乙酰胆碱酯酶主要存在于突触中,当这种酶被抑制时,乙酰胆碱积累,乙酰胆碱受体的持续刺激和最终麻痹导致机体出现有机磷中毒的临床症状和体征,包括毒蕈碱样症状、烟碱样症状和中枢神经系统效应^[81]。久效磷(monocrotophos, MCP)就是一种典型的有机磷农药。2011 年, Kashyap 等^[82]首次报道,特定的 CYP 参与了 MCP 诱导的大鼠肾上腺髓质嗜铬细胞瘤分化株的细胞凋亡。2017 年, Tripathi 等^[83]探究了人脑细胞中 MCP 诱导的 CYP 改变和神经毒性。实验结果表明:将体外培养的人神经细胞系(SH-SY5Y)和神经胶质细胞系(U373-MG)暴露于 MCP 后,一方面 CYP2C8、CYP3A4 和 PXR 的 mRNA 表达量增加;另一方面,活性氧(reactive oxygen species, ROS)等水平升高,促凋亡基因的 mRNA 表达量增加。另外他们还进行了对接实验,证明了 MCP 是 PXR 的配体。结合上述两项研究结果,我们推测 CYP2C8 和 CYP3A4 也参与了 MCP 诱导的人神经细胞凋亡,又因为它们均受 PXR 调控,所以可以说 PXR 促进了 MCP 对人神经细胞的毒性作用。另有研究报道,将体外培养的人脐带血 CD34⁺干细胞分化而来的神经细胞暴露于 MCP 后, PXR 和一些受其调节的 CYP 表达增加^[84],我们也能据此得出相似的结论。

很多足月儿和早产儿都会出现新生儿黄疸,黄疸是由于血清中未结合胆红素含量升高所致,而高水平的未结合胆红素具有神经毒性^[85]。一项研究表明,部分情况下高胆红素血症可以诱导 ABCB1 表达,且它在保护小鼠使其免受胆红素毒性中起到关键作用,但无法确定 PXR 在胆红素对 ABCB1 的诱导中起到的作用。因为在轻度的高胆红素血症模型小鼠中, ABCB1 的缺失降低了模型小鼠的生存率,比起野生型小鼠,模型小鼠小脑中 ABCB1 的 mRNA 和蛋白质表达量都增加,但 PXR 的 mRNA 表达量无明显改变;而在重度的高胆红素血症模型小鼠中, ABCB1 的缺失不影响模型小鼠的生存率,比起野生型小鼠,模型小鼠小脑中 PXR 和 ABCB1 的 mRNA 表达量均增加,但

ABCB1 的蛋白质表达量无明显改变^[31]。

在研究 PXR 介导神经毒性的过程时,由于神经毒性物质可能是多种核受体的配体,那么证明究竟是哪几个核受体参与神经毒性的介导就至关重要。探究壬基酚神经毒性的实验^[30]给我们提供了一种思路:即用神经毒物培养预期受体表达被抑制的细胞,如果细胞变化和经神经毒物培养的正常细胞一样,则该受体不参与介导;如果细胞变化较经神经毒物培养的正常细胞减轻,则说明该受体参与部分介导;如果细胞没有任何改变,则说明该受体完全介导该神经毒性。

6 PXR 和行为学

PXR 可以通过参与 $3\alpha,5\alpha$ -四氢孕酮($3\alpha,5\alpha$ -tetrahydroprogesterone, $3\alpha,5\alpha$ -THP)的产生调节动机性行为。 $3\alpha,5\alpha$ -THP 是孕酮的代谢产物之一,可以在中脑腹侧被盖区起作用从而改变动机性行为。动机性行为包括焦虑行为、社交行为和性行为等。一项研究结果表明:在发情间期,相较于对照组大鼠, PXR 基因受抑制大鼠中脑的 PXR 表达量和 $3\alpha,5\alpha$ -THP 含量无明显变化,抗焦虑行为减少,社交行为和性行为变化不明显;在发情前期,相较于对照组大鼠, PXR 基因受抑制大鼠中脑的 PXR 表达量和 $3\alpha,5\alpha$ -THP 含量明显减少,抗焦虑行为减少,社交行为无明显改变,但性接受能力降低。由此可知,发情前期大鼠中脑 PXR 的表达量可以影响中脑内 $3\alpha,5\alpha$ -THP 的含量,进而影响动机性行为^[28]。此外,我们还注意到 PXR 存在与发情周期相关的周期性高表达,即在对照组大鼠中,发情前期中脑 PXR 的表达量明显高于发情间期^[28]。

PXR 也可以通过参与脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)的表达影响神经和行为可塑性。BDNF 产生于神经胶质和神经元,对神经发生、细胞存活、突触可塑性、认知以及压力相关的情感障碍具有重要作用,被认为是评价神经和行为可塑性的指标。相比于对照组大鼠, PXR 基因沉默大鼠海马中的 BDNF 水平明显降低,这表明 PXR 参与 BDNF 的表达^[86]。

7 结语

目前, PXR 在中枢神经系统中的功能研究尚且处于初级阶段。迄今为止,人们在很多物种的脑血屏障中都检测出了 PXR 的表达,它参与调节

很多转运蛋白和药物代谢酶的表达,从而影响物质的代谢和排出,也是因此, PXR 在 AD、癫痫和一些神经毒性中起到重要作用。另外, PXR 也可通过参与内源性物质的合成而对动物的交配行为产生影响。对于未来的研究,我们认为有以下几点需要注意:首先,应该拓宽研究范围。目前, PXR 在很多神经结构中都有被检测到,但关于其在中枢神经系统中的功能研究主要集中于血脑屏障,因此 PXR 在其他结构中的功能还有待深入探索。其次,应该挖掘 PXR 更多功能。从现有知识来看, PXR 的功能具有多样性,这个特点的主要原因是 PXR 可被多种配体激活或抑制,同时,被激活的 PXR 又可以调控多种下游靶基因的转录,而这些不同的靶基因又具有不同的功能。因此,挖掘 PXR 更多的功能,实际上就是发现更多 PXR 的配体和其调控的靶基因。最后,研究方法应该是探索性的和细胞特异性的。虽然目前人们已经对 PXR 在部分细胞中的功能有所了解,但在其他组织中,这些功能未必完全相同,因为 PXR 激活后的反应是细胞依赖性的,这可能归因于 PXR 信号通路中的共激活效应、共抑制效应和翻译后修饰等过程^[4]。因此,在不同细胞中的研究方法应该逐步探索,而不是完全基于在其他细胞中获得的结论。

参考文献(References):

- [1] WEIKUM E R, LIU X, ORTLUND E A. The nuclear receptor superfamily: a structural perspective[J]. *Protein Science*, 2018, 27(11): 1876-1892.
- [2] ALATSHAN A, BENKÖ S. Nuclear receptors as multiple regulators of NLRP3 inflammasome function[J]. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12: 630569.
- [3] SLADEK F M. What are nuclear receptor ligands?[J]. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2011, 334(1/2): 3-13.
- [4] TORRES-VERGARA P, HO Y S, ESPINOZA F, *et al.* The constitutive androstane receptor and pregnane X receptor in the brain[J]. *British Journal of Pharmacology*, 2020, 177(12): 2666-2682.
- [5] SONODA J, PEI L M, EVANS R M. Nuclear receptors: decoding metabolic disease[J]. *FEBS Letters*, 2008, 582(1): 2-9.
- [6] XING Y Q, YAN J, NIU Y D. PXR: a center of transcriptional regulation in cancer[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2020, 10(2): 197-206.
- [7] KLEWER S A, GOODWIN B, WILLSON T M. The nuclear pregnane X receptor: a key regulator of xenobiotic metabolism[J]. *Endocrine Reviews*, 2002, 23(5): 687-702.
- [8] HAKKOLA J, RYSÄ J, HUKKANEN J. Regulation of hepatic energy metabolism by the nuclear receptor PXR[J]. *Biochimica et Biophysica Acta—Gene Regulatory Mechanisms*, 2016, 1859(9): 1072-1082.
- [9] CHENG J, SHAH Y M, GONZALEZ F J. Pregnane X receptor as a target for treatment of inflammatory bowel disorders[J]. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2012, 33(6): 323-330.
- [10] YOSHINARI K. Role of nuclear receptors PXR and CAR in xenobiotic-induced hepatocyte proliferation and chemical carcinogenesis[J]. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 2019, 42(8): 1243-1252.

- [11] KLEWER S A, MOORE J T, WADE L, *et al.* An orphan nuclear receptor activated by pregnanes defines a novel steroid signaling pathway[J]. *Cell*, 1998, 92(1): 73–82.
- [12] LEHMANN J M, MCKEE D D, WATSON M A, *et al.* The human orphan nuclear receptor PXR is activated by compounds that regulate *CYP3A4* gene expression and cause drug interactions[J]. *The Journal of Clinical Investigation*, 1998, 102(5): 1016–1023.
- [13] NISHIMURA M, NAITO S, YOKOI T. Tissue-specific mRNA expression profiles of human nuclear receptor subfamilies[J]. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 2004, 19(2): 135–149.
- [14] CARNAHAN V E, REDINBO M R. Structure and function of the human nuclear xenobiotic receptor PXR[J]. *Current Drug Metabolism*, 2005, 6(4): 357–367.
- [15] PAVEK P. Pregnane X receptor (PXR)-mediated gene repression and cross-talk of PXR with other nuclear receptors via co-activator interactions[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2016, 7: 456.
- [16] RIGALLI J P, THEILE D, NILLES J, *et al.* Regulation of PXR function by coactivator and corepressor proteins: ligand binding is just the beginning[J]. *Cells*, 2021, 10(11): 3137.
- [17] CHEN Y K, NIE D T. Pregnane X receptor and its potential role in drug resistance in cancer treatment[J]. *Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery*, 2009, 4(1): 19–27.
- [18] DUTTA M, LIM J J, CUI J Y. Pregnane X receptor and the gut-liver axis: a recent update[J]. *Drug Metabolism and Disposition*, 2022, 50(4): 478–491.
- [19] CAI X R, YOUNG G M, XIE W. The xenobiotic receptors PXR and CAR in liver physiology, an update[J]. *Biochimica et Biophysica Acta-Molecular Basis of Disease*, 2021, 1867(6): 166101.
- [20] SQUIRES E J, SUEYOSHI T, NEGISHI M. Cytoplasmic localization of pregnane X receptor and ligand-dependent nuclear translocation in mouse liver[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279(47): 49307–49314.
- [21] KAWANA K, IKUTA T, KOBAYASHI Y, *et al.* Molecular mechanism of nuclear translocation of an orphan nuclear receptor, SXR[J]. *Molecular Pharmacology*, 2003, 63(3): 524–531.
- [22] IHUNNAH C A, JIANG M X, XIE W. Nuclear receptor PXR, transcriptional circuits and metabolic relevance[J]. *Biochimica et Biophysica Acta-Molecular Basis of Disease*, 2011, 1812(8): 956–963.
- [23] ZHUO W, HU L, LV J F, *et al.* Role of pregnane X receptor in chemotherapeutic treatment[J]. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 2014, 74(2): 217–227.
- [24] LIN W W, WU J, DONG H Q, *et al.* Cyclin-dependent kinase 2 negatively regulates human pregnane X receptor-mediated *CYP3A4* gene expression in HepG2 liver carcinoma cells[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2008, 283(45): 30650–30657.
- [25] STAUDINGER J L, XU C S, BISWAS A, *et al.* Post-translational modification of pregnane X receptor[J]. *Pharmacological Research*, 2011, 64(1): 4–10.
- [26] SOUIDI M, GUEGUEN Y, LINARD C, *et al.* In vivo effects of chronic contamination with depleted uranium on *CYP3A* and associated nuclear receptors PXR and CAR in the rat[J]. *Toxicology*, 2005, 214(1/2): 113–122.
- [27] YU N, ZHANG Y F, ZHANG K, *et al.* Pregnane X receptor not nuclear factor- κ B up-regulates P-glycoprotein expression in the brain of chronic epileptic rats induced by kainic acid[J]. *Neurochemical Research*, 2017, 42(8): 2167–2177.
- [28] FRYE C A, KOONCE C J, WALF A A, *et al.* Motivated behaviors and levels of $3\alpha,5\alpha$ -THP in the midbrain are attenuated by knocking down expression of pregnane xenobiotic receptor in the midbrain ventral tegmental area of proestrous rats[J]. *Journal of Sexual Medicine*, 2013, 10(7): 1692–1706.
- [29] BAUER B, HARTZ A M S, FRICKER G, *et al.* Pregnane X receptor up-regulation of P-glycoprotein expression and transport function at the blood-brain barrier[J]. *Molecular Pharmacology*, 2004, 66(3): 413–419.
- [30] LITWA E, RZEMENIEC J, WNUK A, *et al.* RXR α , PXR and CAR xenobiotic receptors mediate the apoptotic and neurotoxic actions of nonylphenol in mouse hippocampal cells[J]. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 2016, 156: 43–52.
- [31] BOCKOR L, BORTOLUSSI G, VODRET S, *et al.* Modulation of bilirubin neurotoxicity by the Abcb1 transporter in the *Ugt1^{-/-}* lethal mouse model of neonatal hyperbilirubinemia[J]. *Human Molecular Genetics*, 2017, 26(1): 145–157.
- [32] CHAN G N Y, SALDIVIA V, YANG Y B, *et al.* In vivo induction of P-glycoprotein expression at the mouse blood-brain barrier: an intracerebral microdialysis study[J]. *Journal of Neurochemistry*, 2013, 127(3): 342–352.
- [33] TROUSSON A, BERNARD S, PETIT P X, *et al.* 25-Hydroxycholesterol provokes oligodendrocyte cell line apoptosis and stimulates the secreted phospholipase A2 type II A via LXR beta and PXR[J]. *Journal of Neurochemistry*, 2009, 109(4): 945–958.
- [34] MARINI S, NANNELLI A, SODINI D, *et al.* Expression, microsomal and mitochondrial activities of cytochrome P450 enzymes in brain regions from control and phenobarbital-treated rabbits[J]. *Life Sciences*, 2007, 80(10): 910–917.
- [35] NANNELLI A, ROSSIGNOLO F, TOLANDO R, *et al.* Expression and distribution of *CYP3A* genes, *CYP2B2*, and *MDR1*, *MRP1*, *MRP2*, *LRP* efflux transporters in brain of control and rifampicin-treated pigs[J]. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2010, 337(1/2): 133–143.
- [36] OTT M, FRICKER G, BAUER B. Pregnane X receptor (PXR) regulates P-glycoprotein at the blood-brain barrier: functional similarities between pig and human PXR[J]. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2009, 329(1): 141–149.
- [37] LAMBA V, YASUDA K, LAMBA J K, *et al.* PXR (NR112): splice variants in human tissues, including brain, and identification of neurosteroids and nicotine as PXR activators[J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2004, 199(3): 251–265.
- [38] CHAN G N Y, HOQUE M T, CUMMINS C L, *et al.* Regulation of P-glycoprotein by orphan nuclear receptors in human brain microvessel endothelial cells[J]. *Journal of Neurochemistry*, 2011, 118(2): 163–175.
- [39] TROUSSON A, MAKOUKJI J, PETIT P X, *et al.* Cross-talk between oxysterols and glucocorticoids: differential regulation of secreted phospholipase A2 and impact on oligodendrocyte death[J]. *PLoS One*, 2009, 4(11): e8080.
- [40] XU H B, TANG Z Q, WANG J, *et al.* Z-Guggulsterone regulates *MDR1* expression mainly through the pregnane X receptor-dependent manner in human brain microvessel endothelial cells[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2020, 874: 173023.
- [41] NARANG V S, FRAGA C, KUMAR N, *et al.* Dexamethasone increases expression and activity of multidrug resistance transporters at the rat blood-brain barrier[J]. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 2008, 295(2): C440–C450.
- [42] WEN J, SHEN Y, ZHANG M, *et al.* Dexamethasone changes the pharmacokinetics of amitriptyline and reduces its accumulation in rat brain: the roles of P-gp and *CYP3A2*[J]. *Journal of Pharmacological Sciences*, 2019, 140(1): 54–61.
- [43] LEMMEN J, TOZAKIDIS I E P, GALLA H J. Pregnane X receptor upregulates ABC-transporter Abcg2 and Abcb1 at the blood-brain barrier[J]. *Brain Research*, 2013, 1491: 1–13.
- [44] LOMBARDO L, PELLITTERI R, BALAZY M, *et al.* Induction of nuclear receptors and drug resistance in the brain microvascular endothelial cells treated with antiepileptic drugs[J]. *Current Neurovascular Research*, 2008, 5(2): 82–92.
- [45] KE X J, CHENG Y F, YU N, *et al.* Effects of carbamazepine on the P-gp and *CYP3A* expression correlated with PXR or NF- κ B activity in the Bend.3 cells[J]. *Neuroscience Letters*, 2019, 690: 48–55.
- [46] SHUBBAR M H, PENNY J I. Effect of amyloid beta on ATP-binding cassette transporter expression and activity in porcine brain microvascular endothelial cells[J]. *Biochimica et Biophysica Acta-General Subjects*, 2018, 1862(10): 2314–2322.
- [47] GEICK A, EICHELBAUM M, BURK O. Nuclear receptor response elements mediate induction of intestinal *MDR1* by rifampin[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276(18): 14581–14587.
- [48] GOODWIN B, HODGSON E, LIDDLE C. The orphan human pregnane X receptor mediates the transcriptional activation of *CYP3A4* by rifampicin through a distal enhancer module[J]. *Molecular Pharmacology*, 1999, 56(6): 1329–1339.

- [49] GHOSH C, GONZALEZ-MARTINEZ J, HOSSAIN M, *et al.* Pattern of P450 expression at the human blood-brain barrier: roles of epileptic condition and laminar flow[J]. *Epilepsia*, 2010, 51(8): 1408-1417.
- [50] KAST H R, GOODWIN B, TARR P T, *et al.* Regulation of multidrug resistance-associated protein 2 (ABCC2) by the nuclear receptors pregnane X receptor, farnesoid X-activated receptor, and constitutive androstane receptor[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277(4): 2908-2915.
- [51] BAUER B, HARTZ A M S, LÜCKING J R, *et al.* Coordinated nuclear receptor regulation of the efflux transporter, Mrp2, and the phase-II metabolizing enzyme, GST π , at the blood-brain barrier[J]. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 2008, 28(6): 1222-1234.
- [52] GUO G L, STAUDINGER J, OGURA K, *et al.* Induction of rat organic anion transporting polypeptide 2 by pregnenolone-16 α -carbonitrile is via interaction with pregnane X receptor[J]. *Molecular Pharmacology*, 2002, 61(4): 832-839.
- [53] GAO B, STIEGER B, NOÉ B, *et al.* Localization of the organic anion transporting polypeptide 2 (Oatp2) in capillary endothelium and choroid plexus epithelium of rat brain[J]. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 1999, 47(10): 1255-1264.
- [54] WOLKING S, SCHAEFFELER E, LERCHE H, *et al.* Impact of genetic polymorphisms of ABCB1 (MDR1, P-glycoprotein) on drug disposition and potential clinical implications: update of the literature[J]. *Clinical Pharmacokinetics*, 2015, 54(7): 709-735.
- [55] PINNE M, PONCE E, RAUCY J L. Transactivation assays that identify indirect and direct activators of human pregnane X receptor (PXR, NR1I2) and constitutive androstane receptor (CAR, NR1I3)[J]. *Drug Metabolism Letters*, 2017, 11(2): 128-137.
- [56] LUNA-TORTÓS C, FEDROWITZ M, LÖSCHER W. Several major antiepileptic drugs are substrates for human P-glycoprotein[J]. *Neuropharmacology*, 2008, 55(8): 1364-1375.
- [57] JAIN S, RATHOD V, PRAJAPATI R, *et al.* Pregnane X receptor and P-glycoprotein: a connexion for Alzheimer's disease management[J]. *Molecular Diversity*, 2014, 18(4): 895-909.
- [58] JEDLITSCHKY G, HOFFMANN U, KROEMER H K. Structure and function of the MRP2 (ABCC2) protein and its role in drug disposition[J]. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 2006, 2(3): 351-366.
- [59] LIU W Y, WANG Z B, ZHANG L C, *et al.* Tight junction in blood-brain barrier: an overview of structure, regulation, and regulator substances[J]. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 2012, 18(8): 609-615.
- [60] CONG X, KONG W. Endothelial tight junctions and their regulatory signaling pathways in vascular homeostasis and disease[J]. *Cellular Signalling*, 2020, 66: 109485.
- [61] BOUSSADIA B, LAKHAL L, PAYRASTRE L, *et al.* Pregnane X receptor deletion modifies recognition memory and electroencephalographic activity[J]. *Neuroscience*, 2018, 370: 130-138.
- [62] SORIA LOPEZ J A, GONZÁLEZ H M, LÉGER G C. Alzheimer's disease[J]. *Handbook of Clinical Neurology*, 2019, 167: 231-255.
- [63] WANG H L, WANG Y Y, LIU X G, *et al.* Cholesterol, 24-hydroxycholesterol, and 27-hydroxycholesterol as surrogate biomarkers in cerebrospinal fluid in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: a meta-analysis[J]. *Journal of Alzheimers Disease*, 2016, 51(1): 45-55.
- [64] LAM F C, LIU R, LU P, *et al.* β -Amyloid efflux mediated by P-glycoprotein[J]. *Journal of Neurochemistry*, 2001, 76(4): 1121-1128.
- [65] VOGELGESANG S, CASCORBI I, SCHROEDER E, *et al.* Deposition of Alzheimer's β -amyloid is inversely correlated with P-glycoprotein expression in the brains of elderly non-demented humans[J]. *Pharmacogenetics*, 2002, 12(7): 535-541.
- [66] CHIU C, MILLER M C, MONAHAN R, *et al.* P-glycoprotein expression and amyloid accumulation in human aging and Alzheimer's disease: preliminary observations[J]. *Neurobiology of Aging*, 2015, 36(9): 2475-2482.
- [67] VAN ASSEMA D M E, LUBBERINK M, BAUER M, *et al.* Blood-brain barrier P-glycoprotein function in Alzheimer's disease[J]. *Brain*, 2012, 135(1): 181-189.
- [68] ASHOUR N H, EL-TANBOULY D M, EL SAYED N S, *et al.* Roflumilast ameliorates cognitive deficits in a mouse model of amyloidogenesis and tauopathy: involvement of nitric oxide status, A β extrusion transporter ABCB1, and reversal by PKA inhibitor H89[J]. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 2021, 111: 110366.
- [69] CHEN S H, WANG J M, IRWIN R W, *et al.* Allopregnanolone promotes regeneration and reduces β -amyloid burden in a pre-clinical model of Alzheimer's disease[J]. *PLoS One*, 2011, 6(8): e24293.
- [70] FALCO-WALTER J. Epilepsy-definition, classification, pathophysiology, and epidemiology[J]. *Seminars in Neurology*, 2020, 40(6): 617-623.
- [71] GHOSH C, HOSSAIN M, SOLANKI J, *et al.* Overexpression of pregnane X and glucocorticoid receptors and the regulation of cytochrome P450 in human epileptic brain endothelial cells[J]. *Epilepsia*, 2017, 58(4): 576-585.
- [72] SÁNCHEZ M B, HERRANZ J L, LENO C, *et al.* Genetic factors associated with drug-resistance of epilepsy: relevance of stratification by patient age and aetiology of epilepsy[J]. *Seizure*, 2010, 19(2): 93-101.
- [73] GROVER S, BALA K, SHARMA S, *et al.* Absence of a general association between ABCB1 genetic variants and response to antiepileptic drugs in epilepsy patients[J]. *Biochimie*, 2010, 92(9): 1207-1212.
- [74] HAERIAN B S, ROSLAN H, RAYMOND A A, *et al.* ABCB1 C3435T polymorphism and the risk of resistance to antiepileptic drugs in epilepsy: a systematic review and meta-analysis[J]. *Seizure*, 2010, 19(6): 339-346.
- [75] HAERIAN B S, LIM K S, MOHAMED E H M, *et al.* Lack of association of ABCB1 and PXR polymorphisms with response to treatment in epilepsy[J]. *Seizure*, 2011, 20(5): 387-394.
- [76] SARUWATARI J, YOSHIDA S, TSUDA Y, *et al.* Pregnane X receptor and hepatocyte nuclear factor 4 α polymorphisms are cooperatively associated with carbamazepine autoinduction[J]. *Pharmacogenetics and Genomics*, 2014, 24(3): 162-171.
- [77] BRÄUER A U, KUHLA A, HOLZMANN C, *et al.* Current challenges in understanding the cellular and molecular mechanisms in Niemann-Pick disease type C1[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(18): 4392.
- [78] LANGMADE S J, GALE S E, FROLOV A, *et al.* Pregnane X receptor (PXR) activation: a mechanism for neuroprotection in a mouse model of Niemann-Pick C disease[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 2006, 103(37): 13807-13812.
- [79] SOARES A, GUEYSSE B, JEFFERSON B, *et al.* Nonylphenol in the environment: a critical review on occurrence, fate, toxicity and treatment in wastewaters[J]. *Environment International*, 2008, 34(7): 1033-1049.
- [80] DANG V H, NGUYEN T H, LEE G S, *et al.* *In vitro* exposure to xenoestrogens induces growth hormone transcription and release via estrogen receptor-dependent pathways in rat pituitary GH3 cells[J]. *Steroids*, 2009, 74(8): 707-714.
- [81] KWONG T C. Organophosphate pesticides: biochemistry and clinical toxicology[J]. *Therapeutic Drug Monitoring*, 2002, 24(1): 144-149.
- [82] KASHYAP M P, SINGH A K, KUMAR V, *et al.* Monocrotophos induced apoptosis in PC12 cells: role of xenobiotic metabolizing cytochrome P450s[J]. *PLoS One*, 2011, 6(3): e17757.
- [83] TRIPATHI V K, KUMAR V, PANDEY A, *et al.* Monocrotophos induces the expression of xenobiotic metabolizing cytochrome P450s (CYP2C8 and CYP3A4) and neurotoxicity in human brain cells[J]. *Molecular Neurobiology*, 2017, 54(5): 3633-3651.
- [84] SINGH A K, KASHYAP M P, JAHAN S, *et al.* Expression and inducibility of cytochrome P450s (CYP1A1, 2B6, 2E1, 3A4) in human cord blood CD34⁺ stem cell-derived differentiating neuronal cells[J]. *Toxicological Sciences*, 2012, 129(2): 392-410.
- [85] MITRA S, RENNIE J. Neonatal jaundice: aetiology, diagnosis and treatment[J]. *British Journal of Hospital Medicine*, 2017, 78(12): 699-704.
- [86] FRYE C A, KOONCE C J, WALF A A. Involvement of pregnane xenobiotic receptor in mating-induced allopregnanolone formation in the midbrain and hippocampus and brain-derived neurotrophic factor in the hippocampus among female rats[J]. *Psychopharmacology*, 2014, 231(17): 3375-3390.