

氢溴酸槟榔碱体内对大鼠肝肾转运体表达的影响

翟 婷, 黄祥涛[#], 王俊俊, 陈 勇^{*}

湖北大学 中药生物技术省重点实验室, 湖北大学生物资源绿色转化协同创新中心, 湖北 武汉 430062

摘要:目的 探究氢溴酸槟榔碱对大鼠肝肾转运体表达的影响。方法 通过给雄性 Wistar 大鼠 ig 氢溴酸槟榔碱 (0.8、4、20 mg/kg) 21 d, 应用荧光 RT-PCR 检测肝、肾组织中 13 种转运体 mRNA 的表达量, 考察氢溴酸槟榔碱对大鼠肝、肾转运体 mRNA 表达的影响。结果 氢溴酸槟榔碱低剂量时显著抑制了肝脏 MRP2 和 MDR1A mRNA 表达, 但显著诱导了肾脏 MRP5 mRNA 表达。氢溴酸槟榔碱高剂量时显著抑制了肝脏 OCT2、OAT2、OCTN2、OATP1A1、OATP1A4、OATP2B1、MRP2 和 MDR1A, 以及肾脏 MRP2、BCRP、MDR1A 的 mRNA 表达水平, 但显著上调了肾脏 OCTN2、OATP1A1、OATP1A4 及 MRP5 的 mRNA 表达量, 且对上述转运体 mRNA 表达的影响有一定剂量依赖性。结论 由于肝肾转运体表达与功能的改变会引起药物相互作用, 临床上应给予槟榔嗜好者更多关注, 以避免发生不良药物相互作用。

关键词: 氢溴酸槟榔碱; 药物转运体; 药物相互作用; MRP2; MDR1A; OATP1A4; OCTN2

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)13-2711-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.13.019

Effect of arecoline hydrobromide on mRNA expression of hepatic and renal transporters *in vivo*

ZHAI Ting, HUANG Xiang-tao, WANG Jun-jun, CHEN Yong

Hubei Province Key Laboratory of Biotechnology of Chinese Traditional Medicine, Hubei Collaborative Innovation Center for Green Transformation of Bio-resources, Hubei University, Wuhan 430062, China

Abstract: Objective To explore the effect of arecoline hydrobromide (AH) on the expression of rat hepatic and renal transporters. **Methods** The effect of AH on the mRNA expression of 13 hepatic and renal transporters was studied after orally giving AH (0.8, 4, and 20 mg/kg/d) to rats for 21 d. **Results** The results from the real-time PCR indicated that, AH treatment at low dose significantly decreased the mRNA levels of hepatic MRP2 and MDR1A, while significantly increased renal MRP5 mRNA level. On the other hand, AH treatment at high dose significantly inhibited the mRNA expression of hepatic OCT2, OAT2, OCTN2, OATP1A1, OATP1A4, OATP2B1, MRP2, and MDR1A, as well as renal MRP2, BCRP, and MDR1A. However, the mRNA expression of renal OCTN2, OATP1A1, OATP1A4, and MRP5 were significantly up-regulated following the treatment of high dose of AH. And the AH-induced effect on the above transporters was dose dependent in some extent. **Conclusion** Due to the drug interaction caused by the alteration in expression and function of hepatic and renal transporters, it is suggested that the betel nut addicts should be paid more attention in case of adverse drug interactions.

Key words: arecoline hydrobromide; drug transporter; drug interaction; MRP2; MDR1A; OATP1A4; OCTN2

肝肾转运体表达或活性的改变, 不仅与某些疾病的发生发展有关^[1-3], 还会影响临床药物的体内药动学、药效或毒性, 进而引起药物相互作用。如非甾体抗炎药布洛芬显著降低肾脏中多药耐药相关蛋白 (MRP2) 的表达, 使 MRP2 的底物药物氨甲喋呤的肾脏外排清除减弱, 导致严重肾毒性^[4]; P-糖

蛋白 (P-gp) 抑制剂奎尼丁、环孢素可显著抑制地高辛的胆汁排泄, 延长地高辛的体内暴露时间^[5]; 有机阳离子转运体 (OCT1) 激活剂利福平可以促进肝脏摄取二甲双胍, 从而增强二甲双胍降血糖作用^[6]; 调脂药吉非贝齐是有机阴离子转运多肽 (OATP1B1) 的抑制剂, 两药合用时能显著抑制西立伐他汀的

收稿日期: 2016-12-19

基金项目: 教育部大学生创新创业训练计划项目 (201410512010)

*通信作者 陈 勇 (1966—), 男, 教授, 博士生导师。E-mail: 1740952455@qq.com

[#]并列第一作者

肝脏摄取,导致西立伐他汀的血药浓度过高,引起横纹肌溶解^[7]。肝脏中的摄取转运体负责将药物由血液输送至胞内,而药物的重吸收或运输至胆汁则归功于外排转运体^[8]。肾脏中药物进入血液循环或通过尿液排出所依附的转运体与肝脏类似^[9-11]。抑制肝脏摄取转运体将增加药物或毒物在血浆中的水平,抑制肾脏药物转运体将降低经肾小管分泌的化合物的肾脏清除率,产生肾毒性。

槟榔是棕榈科(Palmae)植物槟榔 *Areca Catechu*. Linn. 干燥成熟的种子,槟榔嚼块是世界上仅次于烟草、酒精和咖啡被广泛使用的嗜好品。槟榔咀嚼物的使用能引起口腔黏膜炎症、口腔黏膜下纤维性变、DNA 损伤和恶变^[12],也与口腔癌、糖尿病、高血压、高脂血症、肝硬化和肝细胞癌等疾病的发生发展相关^[13-14]。槟榔富含生物碱,如槟榔碱、槟榔次碱、去甲基槟榔碱及去甲基槟榔次碱^[15]。研究发现槟榔碱不仅对神经系统^[16]、内分泌系统^[17]、生殖系统^[18]等方面存在一定毒副作用,也能干扰肝细胞超微结构导致肝脏毒性^[19],影响肝脏代谢酶活性而产生代谢相互作用^[20-22]。

目前槟榔生物碱对肝肾转运体的影响尚不清楚,这会严重影响槟榔嗜好者的临床用药安全性。前期研究发现氢溴酸槟榔碱对大鼠肝脏 CYP450 1A2、2B 及 2E1 活性有明显诱导作用^[22-24]。本研究研究了氢溴酸槟榔碱对大鼠体内肝肾转运体 mRNA 表达的影响,以期对槟榔嗜好者临床安全用药提供有益参考。

1 材料

1.1 实验动物

SPF 级 6 周龄雄性 Wistar 大鼠,体质量 200 ~ 250 g,购自湖北省实验动物研究中心,许可证号 SCXK(鄂)2015-0018。

1.2 试剂与仪器

氢溴酸槟榔碱(质量分数为 98%,美国 Sigma 公司);Trizol 试剂(美国 Invitrogen 公司);RNase 抑制剂 DEPC(美国 Promega 公司);Real time(RT)PCR 引物(Sunny 公司);逆转录试剂盒及 SYBR qPCR Mix(日本 Toyobo 公司);组织匀浆器(德国 IKA 公司);核酸蛋白测定仪(德国 Eppendorf 公司);CFX Connect™ 实时荧光定量 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 实验动物分组与给药

雄性 Wistar 大鼠随机分为低、中、高剂量(0.8、

4、20 mg/kg)氢溴酸槟榔碱(溶解于生理盐水中)给药组和对照组(给予等体积生理盐水),每组 5 只。饲养条件为温度 20 ~ 25 °C、相对湿度 40% ~ 70%、昼夜交替时间 12 h/12 h,自由进食、饮水。给药前禁食 12 h,每天于同一时间点 ig 给药 1 次(体积小于 2.0 mL),连续给药 21 d。末次给药后 1 h 颈椎脱臼处死大鼠,取肝、肾组织,用预冷的生理盐水冲洗后擦干,于液氮中保存备用。

2.2 定量 RT-PCR 分析

每只大鼠取肝、肾组织约 100 mg,按 Trizol 试剂盒说明书提取肝、肾总 RNA。用 0.7% 琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 的完整性,用核酸蛋白测定仪检测 RNA 的纯度及浓度。按逆转录试剂盒说明书逆转录 20 μ L 体系(RNA 2 μ g,逆转录酶 1 μ L,引物 1 μ L,缓冲液 4 μ L,加 DEPC 水至 20 μ L)成 cDNA,cDNA 再经荧光 RT-PCR 扩增检测 mRNA 的表达量。肝、肾各转运体定量 PCR 引物序列见表 1,PCR 实验条件为 94 °C 变性 15 s,退火温度(T_m)下退火 30 s,72 °C 延伸 30 s,38 个循环,反应体系 20 μ L。OCT1、OCT2 和 MRP4 的 T_m 分别为 61.4、52.7、60.3 °C,其余转运体基因 T_m 均为 58.3 °C。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算各基因相对表达水平,与对照组表达量相比上调或下调达 2 倍及以上、且有统计学差异视为有显著调控作用。

2.3 数据分析方法

采用 SPSS 19.0 统计学软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 ANOVA 分析,进行 t 检验。

3 结果

3.1 对大鼠肝脏转运体 mRNA 表达的影响

大鼠连续 ig 给予低、中、高剂量氢溴酸槟榔碱 21 d 后,对肝脏转运体 mRNA 表达的影响见表 2 和 3。结果表明,氢溴酸槟榔碱低剂量时仅对肝脏外排转运体 MRP2 和 MDR1A 的 mRNA 表达有显著抑制作用($P < 0.05$);高剂量时对肝脏摄取转运体 OCT1、OCT2、OAT2、OCTN2、OATP2B1、OATP1A1 和 OATP1A4,以及外排转运体 MRP2、MRP5 和 MDR1A 的 mRNA 表达均有显著抑制作用($P < 0.05$),且抑制作用有一定剂量依赖性;对肝脏中其他测试的转运体 mRNA 表达无明显影响($P > 0.05$)。

3.2 对大鼠肾脏转运体 mRNA 表达的影响

大鼠连续 ig 给予低、中、高剂量氢溴酸槟榔碱 21 d 后,对肾脏转运体 mRNA 表达的影响见表 4、5。

表 1 待测肝肾转运体 RT-PCR 引物
Table 1 Primers for real time PCR of tested hepatic and renal transporters

基因	正向引物 (5'→3')	反向引物 (5'→3')
OCT2	GCAAGCAGACCGTCCGCTAAG	CAGACCGTGCAAGCTACAGCTC
OCT1	TGGCCGTAAGCTCTGTCTCT	TCAAGGTATAGCCGGACACC
OAT2	GCTGCATGATGGTGTGGTTT	CGGCGCACAAGGAAGTAGAC
OCTN2	AACAATGGCAAATCCAAAGC	CATCCGTGAGCATGTGAGAC
OATP2B1	CCGCTACGACCACAGCA	CCAAGACCTTCTGCCTGA
OATP1A1	TCAACCAAAGCACAAGCAG	CCTAGGCATAGGCATTTGGA
OATP1A4	ATGGCCTGGCATACTGTCA	GGGAAGTGAATGTCCTCGTA
MRP2	ATCGCTCACAGGCTGCACAC	TCAGGACTGCCATACTCGACA ATC
MRP4	AATGGACACTGAACTAGCAGAATCTG	CCCGGATTTTCTGTTGTATTAATC
MRP5	CCACCATCCATGCCTATAACAA	CCCCGTGGTGGTGATCAG
BCRP	CAGCAGGTTACCACTGTGAG	TCCCCCTCTGTTTAACATTACA
MDR1A	GCAGGTTGGCTGGACAGATT	GGAGCGCAATTCCATGGATA
OCTN1	TGATGTCTGTGATGCTGTGG	ATATATCTCCGACGCAGGGTTC
GAPDH	ATGGGAAGCTGGTCATCAAC	GTGGTTCACACCCATCACAA

OCT-有机阳离子转运体；OAT-有机阴离子转运体；OCTN-新型有机阳离子转运体；OATP-有机阴离子转运多肽；MRP-多药耐药相关蛋白；BCRP-乳腺癌耐药蛋白；MDR-多药耐药

OCT-organic cation transporter; OAT-organic anion transporter; OCTN-novel organic cation transporter; OATP-organic anion transporting polypeptide; MRP-multidrug resistance-associated protein; BCRP-breast cancer resistance protein; MDR-multidrug resistance

表 2 氢溴酸槟榔碱对大鼠肝脏摄取转运体 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 2 Effects of arecoline hydrobromide on mRNA expression of tested hepatic uptake transporters in rats ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	摄取转运体 mRNA 相对表达量 (倍数关系)						
		OCT2	OCT1	OAT2	OCTN2	OATP2B1	OATP1A1	OATP1A4
对照	—	1.00 ± 0.30	1.00 ± 0.23	1.00 ± 0.08	1.00 ± 0.29	1.00 ± 0.26	1.00 ± 0.32	1.00 ± 0.21
氢溴酸槟榔碱	0.8	0.90 ± 0.30	0.94 ± 0.20	0.96 ± 0.15	0.76 ± 0.06*	1.02 ± 0.06	0.71 ± 0.31	0.61 ± 0.42
	4.0	0.58 ± 0.24*	0.70 ± 0.36	0.46 ± 0.25*	0.48 ± 0.32*	0.60 ± 0.15*	0.51 ± 0.09*	0.50 ± 0.21*
	20.0	0.56 ± 0.14*	0.62 ± 0.29*	0.50 ± 0.26*	0.43 ± 0.20*	0.54 ± 0.23*	0.29 ± 0.18*	0.28 ± 0.19*

与对照组比较：* $P < 0.05$ ，下同

* $P < 0.05$ vs control group, same as below

表 3 氢溴酸槟榔碱对大鼠肝脏外排转运体 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 3 Effects of arecoline hydrobromide on mRNA expression of tested hepatic efflux transporters in rats ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	外排转运体 mRNA 相对表达量 (倍数关系)				
		MRP2	MRP4	MRP5	BCRP	MDR1A
对照	—	1.00 ± 0.31	1.00 ± 0.25	1.00 ± 0.06	1.00 ± 0.17	1.00 ± 0.22
氢溴酸槟榔碱	0.8	0.51 ± 0.05*	1.12 ± 0.16	1.27 ± 0.13	1.24 ± 0.17	0.43 ± 0.21*
	4.0	0.30 ± 0.04*	1.09 ± 0.40	0.54 ± 0.16*	0.78 ± 0.29	0.34 ± 0.25*
	20.0	0.32 ± 0.11*	0.68 ± 0.22	0.43 ± 0.24*	0.87 ± 0.16	0.32 ± 0.21*

结果表明，低剂量时仅对肾脏 MRP5 mRNA 的表达有诱导作用 ($P < 0.05$)；高剂量时抑制了肾脏外排转运体 MRP2、BCRP 和 MDR1A 的 mRNA 表达 ($P < 0.05$)，但对肾脏摄取转运体 OCTN2、OATP1A1 和

OATP1A4，以及外排转运体 MRP5 的 mRNA 表达却有显著诱导作用 ($P < 0.05$)，且对上述转运体的影响有一定剂量依赖性；对肾脏中其他测试的转运体 mRNA 表达无明显影响 ($P > 0.05$)。

表 4 氢溴酸槟榔碱对大鼠肾脏摄取转运体 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)Table 4 Effects of arecoline hydrobromide on mRNA expression of tested renal uptake transporters in rats ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	摄取转运体 mRNA 相对表达量 (倍数关系)							
		OCT2	OCT1	OAT2	OCTN2	OATP2B1	OCTN1	OATP1A1	OATP1A4
对照	—	1.00 ± 0.10	1.00 ± 0.39	1.00 ± 0.04	1.00 ± 0.32	1.00 ± 0.36	1.00 ± 0.14	1.00 ± 0.37	1.00 ± 0.22
氢溴酸槟榔碱	0.8	1.29 ± 0.18	1.10 ± 0.26	1.31 ± 0.29	1.35 ± 0.15	0.98 ± 0.40	0.81 ± 0.27	1.61 ± 0.41	1.32 ± 0.53
	4.0	0.97 ± 0.31	1.06 ± 0.21	0.74 ± 0.19	1.42 ± 0.20*	1.21 ± 0.30	0.83 ± 0.30	2.06 ± 0.43*	1.79 ± 0.45*
	20.0	0.60 ± 0.36	1.23 ± 0.28	0.89 ± 0.18	2.17 ± 0.42*	1.35 ± 0.36	0.85 ± 0.35	2.20 ± 0.69*	2.46 ± 0.75*

表 5 氢溴酸槟榔碱对大鼠肾脏外排转运体 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)Table 5 Effects of arecoline hydrobromide on mRNA expression of tested renal efflux transporters in rats ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	外排转运体 mRNA 相对表达量 (倍数关系)				
		MRP2	MRP4	MRP5	BCRP	MDR1A
对照	—	1.00 ± 0.14	1.00 ± 0.42	1.00 ± 0.19	1.00 ± 0.35	1.00 ± 0.33
氢溴酸槟榔碱	0.8	0.90 ± 0.14	1.06 ± 0.22	1.94 ± 0.33*	0.91 ± 0.37	0.67 ± 0.33
	4.0	0.54 ± 0.05*	0.67 ± 0.44	2.16 ± 0.41*	0.36 ± 0.20*	0.36 ± 0.21*
	20.0	0.36 ± 0.24*	0.76 ± 0.21	2.30 ± 0.36*	0.30 ± 0.18*	0.34 ± 0.19*

4 讨论

大鼠肝脏 OATP1A1 和 1A4 主要分布于肝细胞基底外侧膜,负责胆汁酸从血液到肝细胞的转运^[25]。OATP1A1 和 1A4 的表达和功能改变,影响了胆汁酸的肝肠循环,改变了肠道胆汁酸的量进而影响了脂肪的乳化与吸收。槟榔碱下调了肝脏 OATP1A1、1A4 的 mRNA 表达,将抑制肝脏对胆汁酸的摄取、增大肠道中胆汁酸的量,进而促进脂肪的乳化与吸收,提示槟榔碱对肝脏 OATP1A1、1A4 表达的抑制作用可能是槟榔嚼块引起肥胖症状的重要原因^[26]。肝脏中的 MRP2 分布于肝细胞的管腔膜,主要介导有机阴离子,包括胆红素及外源化合物与谷胱甘肽、葡萄糖醛酸等的结合物的排泄,对维持胆红素平衡有重要作用。抑制肝细胞 MRP2 的表达与活性,将导致胆红素无法顺利排出,血液中胆红素的量升高,出现黄疸症状^[1]。槟榔碱显著抑制了 MRP2 的 mRNA 表达,提示长期咀嚼槟榔有可能引起高胆红素血症。MDR1A 是编码 P-gp 的基因,P-gp 是一种能量依赖性外排泵,在肝胆管细胞腔面有高表达,可将肝细胞内的毒性代谢物泵出细胞进而发挥保护作用,同时其活性的改变也是临床上产生药物相互作用的关键因素^[27]。槟榔碱显著抑制了大鼠肝脏 MDR1A mRNA 表达,提示槟榔嗜好者发生肝毒性的风险较高。

肾脏中 OCTN2、OATP1A1 和 OATP1A4 分布

于肾小管细胞顶端膜上。OCTN2 主要参与肉毒碱(脂肪酸 β-氧化的重要辅因子)的转运,对维持肉毒碱体内平衡及脂肪酸代谢具有重要生理意义^[28]。槟榔碱诱导了肾脏 OCTN2 的 mRNA 表达,导致肾脏对肉毒碱的重吸收增加,提示长期咀嚼槟榔可能升高血液中肉毒碱的量进而影响脂肪酸代谢。OATP1A1、1A4 对维持胆汁酸的稳态具有重要生理作用,如小鼠肝外胆汁阻塞会引起 OATP1A1 mRNA 的表达上调,使肾脏对胆汁酸的摄取增多^[29]。由于胆汁淤积与肝硬化、肝细胞癌、病毒性肝炎等密切相关,因此槟榔碱对肾脏 OATP1A1、1A4 mRNA 表达的诱导作用可能与槟榔咀嚼物长期使用诱发的肝硬化、肝细胞癌有关^[14]。P-gp、BCRP 和 MRP2 是肾脏中的主要外排转运体,主要分布于肾近端小管细胞顶端膜上,具有广泛的内外源性底物,且底物间有很大程度的重叠^[30],其重要生理功能是清除多种抗肿瘤药物(如甲氨蝶呤、阿霉素、表阿霉素、米托蒽醌、长春新碱、长春花碱、伊立替康、顺铂、依托泊苷等)^[31]和细胞毒素^[32]。槟榔碱对肾脏中上述外排转运体的表达抑制,可能导致具有肾毒性化合物在肾脏的蓄积而产生肾毒性^[33-34]。MRP5 主要定位在肾小管细胞基底膜上,因能转运环核苷酸和核苷类似物而被关注,其生理功能目前尚不十分清楚,但它可以作为外排泵降低由于 cGMP 合成被强烈诱导和磷酸二酯酶活性受限引起的 cGMP 水平异

常升高^[35-36],也介导了抗肿瘤药物 5-氟尿嘧啶和 6-巯基鸟嘌呤的耐药性^[37-38]。槟榔碱诱导了肾脏 MRP5 的 mRNA 表达,提示 5-氟尿嘧啶或 6-巯基鸟嘌呤用于槟榔嗜好者抗肿瘤治疗时,可能达不到预期的治疗效果。

综上,由于氢溴酸槟榔碱 ig 给药 21 d 显著影响了大鼠肝、肾许多重要转运体的表达,这些改变将影响其内外源性底物的体内药动学过程与药效。提示临床上对槟榔嗜好者的用药安全性应给予足够重视。当然,本实验仅考察了槟榔碱对大鼠肝肾转运体 mRNA 表达的影响,今后还需进一步研究其对肝、肾、小肠等转运体的表达与活性的影响,为槟榔嗜好者的临床安全用药提供有益参考。

参考文献

- [1] Hinoshita E, Taguchi K, Inokuchi A, *et al.* Decreased expression of an ATP-binding cassette transporter, MRP2, in human livers with hepatitis C virus infection [J]. *J Hepatol*, 2001, 35(6): 765-773.
- [2] Tramonti G, Xie P, Wallner E I, *et al.* Expression and functional characteristics of tubular transporters: P-glycoprotein, PEPT1, and PEPT2 in renal mass reduction and diabetes [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2006, 291(5): 972-980.
- [3] Gangopadhyay A, Thamotharan M, Adibi S A. Regulation of oligopeptide transporter (Pept-1) in experimental diabetes [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2002, 283(1): G133-138.
- [4] Cassano W F. Serious methotrexate toxicity caused by interaction with ibuprofen [J]. *Am J Pediatr Hematol Oncol*, 1989, 11(4): 481-482.
- [5] Schinkel A H, Mayer U, Wagenaar E, *et al.* Normal viability and altered pharmacokinetics in mice lacking mdr1-type (drug transporting) P-glycoproteins [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(8): 4028-4033.
- [6] Cho S K, Yoon J S, Lee M G, *et al.* Rifampin enhances the glucose-lowering effect of metformin and increases OCT1 mRNA level in healthy participants [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2011, 89(3): 416-421.
- [7] Zhang A J, Liu K X. The research progress of liver transporter mediated drug interactions [J]. *World Chin J Digestol*, 2012, 20(28): 2655-2660.
- [8] Klaassen C D, Slitt A L. Regulation of hepatic transporters by xenobiotic receptors [J]. *Curr Drug Metab*, 2005, 6(4): 309-328.
- [9] Leslie E M, Deeley R G, Cole S P. Multidrug resistance proteins: role of P-glycoprotein, MRP1, MRP2, and BCRP (ABCG2) in tissue defense [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2005, 204(3): 216-237.
- [10] Sweet D H. Organic anion transporter (Slc22a) family members as mediators of toxicity [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2005, 204(3): 198-215.
- [11] Wright S H. Role of organic cation transporters in the renal handling of therapeutic agents and xenobiotics [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2005, 204(3): 309-319.
- [12] Jayant K, Balakrishnan V, Sanghvi L D, *et al.* Quantification of the role of smoking and chewing tobacco in oral, pharyngeal, and oesophageal cancers [J]. *Br J Cancer*, 1977, 35(2): 232-235.
- [13] Guh J Y, Chuang L Y, Chen H C. Betel-quid use is associated with the risk of the metabolic syndrome in adults [J]. *Am J Clin Nutr*, 2006, 83(6): 1313-1320.
- [14] Tsai J F, Jeng J E, Chuang L Y, *et al.* Habitual betel quid chewing and risk for hepatocellular carcinoma complicating cirrhosis [J]. *Medicine*, 2004, 83(3): 176-187.
- [15] Huang J L, Michael J. High-performance liquid chromatographic determination of the alkaloids in betel nut [J]. *J Chromatogr A*, 1989, 475(2): 447-450.
- [16] Shih Y T, Chen P S, Wu C H, *et al.* Arecoline, a major alkaloid of the areca nut, causes neurotoxicity through enhancement of oxidative stress and suppression of the anti-oxidant protective system [J]. *Free Radic Biol Med*, 2010, 49(10): 1471-1479.
- [17] Wang S W, Hwang G S, Chen T J, *et al.* Effects of arecoline on testosterone release in rats [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2008, 295(2): 497-504.
- [18] Liu S T, Young G C, Lee Y C, *et al.* A preliminary report on the toxicity of arecoline on early pregnancy in mice [J]. *Food Chem Toxicol*, 2011, 49(1): 144-148.
- [19] 古桂花, 胡虹, 曾薇, 等. 槟榔的细胞毒理研究进展 [J]. *中国药房*, 2013, 24(19): 1814-1818.
- [20] Singh A, Rao A R. Effects of arecoline on phase I and phase II drug metabolizing system enzymes, sulfhydryl content and lipid peroxidation in mouse liver [J]. *Biochem Mol Biol Int*, 1993, 30(4): 763-772.
- [21] Singh A, Singh S P, Bamezai R. Direct and translocational effect of arecoline alkaloid on the clocimum oil-modulated hepatic drug metabolizing enzymes in mice [J]. *Food Chem Toxicol*, 2000, 38(7): 627-635.
- [22] Xiao R M, Wang J J, Chen J Y, *et al.* Effects of arecoline on hepatic cytochrome P450 activity and oxidative stress [J]. *J Toxicol Sci*, 2014, 39(4): 609-614.
- [23] 黄涛涛, 肖润梅, 王明凤, 等. 槟榔碱对大鼠肝脏

- CYP2E1 的体内诱导作用 [J]. 药理学学报, 2016, 51(1): 153-156.
- [24] 黄祥涛, 肖润梅, 吴银祥, 等. 氢溴酸槟榔碱体内对大鼠肝脏 CYP2B 表达的影响及其机制研究 [J]. 中草药, 2016, 47(20): 3668-3672.
- [25] Gartung C, Matern S. Molecular regulation of sinusoidal liver bile acid transporters during cholestasis [J]. *Yale J Biol Med*, 1997, 70(4): 355-363.
- [26] Mannan N, Boucher B J, Evans S J. Increased waist size and weight in relation to consumption of *Areca catechu* (betel-nut); a risk factor for increased glycaemia in Asians in east London [J]. *Br J Nutr*, 2000, 83(3): 267-275.
- [27] Kawase A, Norikane S, Okada A, *et al.* Distinct alterations in ATP-Binding cassette transporter expression in liver, kidney, small intestine, and brain in adjuvant-induced arthritic rats [J]. *J Pharm Sci*, 2014, 103(8): 2556-2564.
- [28] Broderick T L, El Midaoui A, Chinsson J L, *et al.* The effects of exercise training on γ -butyrobetaine hydroxylase and novel organic cation transporter-2 gene expression in the rat [J]. *Appl Physiol Nutr Metab*, 2011, 36(6): 781-789.
- [29] Slitt A L, Allen K, Morrone J, *et al.* Regulation of transporter expression in mouse liver, kidney, and intestine during extrahepatic cholestasis [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1768(3): 637-647.
- [30] Litman T, Brangi M, Hudson E, *et al.* The multidrug-resistant phenotype associated with overexpression of the new ABC half-transporter, MXR (ABCG2) [J]. *J Cell Sci*, 2000, 113(11): 2011-2021.
- [31] Alfred H S, Johan W J. Mammalian drug efflux transporters of the ATP binding cassette (ABC) family: an overview [J]. *Adv Drug Del Rev*, 2012, 64(1): 138-153.
- [32] Yehuda G. The role of multidrug resistance efflux transporters in antifolate resistance and folate homeostasis [J]. *Drug Resist Updat*, 2006, 9(4/5): 227-246.
- [33] Jin Q R, Shim W S, Choi M K, *et al.* Decreased urinary secretion of belotecan in folic acid-induced acute renal failure rats due to down-regulation of Oat1 and Bcrp [J]. *Xenobiotica*, 2009, 39(10): 711-721.
- [34] Ando H, Nishio Y, Ito K, *et al.* Effect of endotoxin on P-glycoprotein-mediated biliary and renal excretion of rhodamine-123 in rats [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2001, 45(12): 3462-3467.
- [35] Nies A T, Spring H, Thon W F, *et al.* Immunolocalization of multidrug resistance protein 5 in the human genitourinary system [J]. *J Urol*, 2002, 167(5): 2271-2275.
- [36] Susan P, Robert L S, Ramani A K, *et al.* The multidrug resistance protein 5 (ABCC5) confers resistance to 5-fluorouracil and transports its monophosphorylated metabolites [J]. *Mol Cancer Ther*, 2005, 4(5): 855-863.
- [37] Borst P, de Wolf C, van de Wetering K. Multidrug resistance-associated proteins 3, 4, and 5 [J]. *Pflugers Arch*, 2007, 453(5): 661-673.
- [38] Wielinga P R, van der Heijden I, Reid G, *et al.* Characterization of the MRP4- and MRP5-mediated transport of cyclic nucleotides from intact cells [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(20): 17664-17671.