

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2019.02.004

论著·临床研究

胃肠外营养相关性胆汁淤积症早产儿 血MDR3基因mRNA表达

杨秀芳¹ 柳国胜² 陈玉兰¹ 陈简¹ 林菁¹ 黄惠娟¹ 郑铠军¹

(1. 广东省中山大学附属中山医院新生儿科, 广东 中山 528403;
2. 暨南大学附属第一医院新生儿监护室, 广东 广州 510632)

[摘要] **目的** 研究MDR3基因表达与早产儿胃肠外营养相关性胆汁淤积症(PNAC)发病的相关性。**方法** 将2011年6月至2017年11月收治的行胃肠外营养超过14 d且未合并PNAC的早产儿80例为非PNAC组, 患有PNAC的早产儿76例为PNAC组, 所有研究对象均分别于生后1、14、30、60、90 d动态观察血清肝胆生化(丙氨酸氨基转移酶、总胆红素、直接胆红素、总胆汁酸和 γ -谷氨酰转肽酶)及纤维化指标(透明质酸、层粘连蛋白、III型前胶原N端肽、IV型胶原)变化, 以及临床表现; 采用实时荧光定量PCR法检测两组MDR3 mRNA水平的相对表达量; 分析MDR3 mRNA表达水平与血清肝胆生化指标的相关性。**结果** PNAC组早产儿血清肝胆生化及纤维化指标水平在生后14 d上升, 至生后30 d达最高峰, 生后60 d下降, 且PNAC组生后第14、30、60、90天的血清肝胆生化及纤维化指标均高于非PNAC组($P<0.05$)。PNAC组早产儿外周血细胞MDR3 mRNA的相对表达水平高于非PNAC组($P<0.05$)。PNAC组患儿外周血细胞MDR3 mRNA的相对表达量与血清肝胆生化指标水平(丙氨酸氨基转移酶、总胆红素、直接胆红素、总胆汁酸和 γ -谷氨酰转肽酶)均呈负相关($P<0.001$)。**结论** MDR3 mRNA高表达可能与早产儿PNAC发病有关, 但具体机制仍需进一步研究探讨。

[中国当代儿科杂志, 2019, 21(2): 125-130]

[关键词] 胆汁淤积症; 胃肠外营养; MDR3基因; 基因表达; 早产儿

mRNA expression of MDR3 gene in the blood of preterm infants with parenteral nutrition-associated cholestasis

YANG Xiu-Fang, LIU Guo-Sheng, CHEN Yu-Lan, CHEN Jian, LIN Qiang, HUANG Hui-Juan, ZHENG Kai-Jun.
Department of Neonatology, Zhongshan Hospital Affiliated to Sun Yat-sen University, Zhongshan, Guangdong 528403,
China (Liu G-S, Email: tlgs@jnu.edu.cn)

Abstract: Objective To study the association between the expression of the MDR3 gene and the pathogenesis of parenteral nutrition-associated cholestasis (PNAC) in preterm infants. **Methods** Among the preterm infants who were admitted to the hospital from June 2011 to November 2017 and received parenteral nutrition for more than 14 days, 80 who did not develop PNAC were enrolled as non-PNAC group, and 76 who developed PNAC were enrolled as PNAC group. On days 1, 14, 30, 60 and 90 after birth, serum hepatobiliary biochemical parameters [alanine aminotransferase (ALT), total bilirubin (TBil), direct bilirubin (DBil), total bile acid (TBA) and gamma-glutamyl transpeptidase (γ -GT)], fibrosis indices [hyaluronic acid, laminin, procollagen III N-terminal peptide and type IV collagen] and clinical manifestations were observed. Real-time quantitative PCR was used to measure the mRNA expression of MDR3 in both groups, and the correlation between the mRNA expression of MDR3 and serum hepatobiliary biochemical parameters was analyzed. **Results** In the PNAC group, serum levels of hepatobiliary biochemical parameters and fibrosis indices increased on day 14 after birth and reached the peak on day 30 after birth, followed by a reduction on day 60 after birth. On days 14, 30, 60 and 90 after birth, the PNAC group had significantly higher serum levels of hepatobiliary biochemical parameters and fibrosis indices than the non-PNAC group ($P<0.05$). The PNAC group had higher relative mRNA

[收稿日期] 2018-08-01; [接受日期] 2018-12-17

[基金项目] 广东省中山市科技局立项(2016SYF04)。

[作者简介] 杨秀芳, 女, 博士, 主任医师。

[通信作者] 柳国胜, 男, 主任医师, 教授。Email: tlgs@jnu.edu.cn。

expression of MDR3 in peripheral blood cells than the non-PNAC group ($P<0.05$). In the PNAC group, the relative mRNA expression of MDR3 in peripheral blood cells was negatively correlated with serum levels of hepatobiliary biochemical parameters (ALT, TBil, DBil, TBA and γ -GT) ($P<0.001$). **Conclusions** High mRNA expression of MDR3 in preterm infants may be associated with the development of PNAC, and further studies are needed to identify the mechanism. [Chin J Contemp Pediatr, 2019, 21(2): 125-130]

Key words: Cholestasis; Parenteral nutrition; MDR3 gene; Gene expression; Preterm infant

MDR3 蛋白是一种参与胆汁卵磷脂分泌的肝毛细胆管膜转运蛋白,胆汁卵磷脂可以乳化胆盐、胆固醇,防止胆固醇沉淀及胆盐损伤胆管上皮。编码 MDR3 蛋白的 MDR3 基因的表达水平高低可影响胆汁卵磷脂的浓度及作用强度。MDR3 的表达降低会导致卵磷脂囊泡胆固醇分泌减少,也可以导致胆管损伤、炎症,胆石沉积及其造成的肝损伤^[1]。随着基因学的发展,越来越多的证据表明,部分成人及婴儿的肝内胆汁淤积症出现 MDR3 基因 mRNA 表达下降,而且研究显示 MDR3 基因突变在肝内胆汁淤积症的发病机制中发挥重要作用^[2-4]。近年来随着新生儿抢救技术的不断提高,使得许多极低、超低出生体重儿得以存活,其中胃肠外营养 (parenteral nutrition, PN) 起到了关键性作用,大大提高了早产儿的生存率,明显降低了病死率。但由于早产儿的特殊生理、病理特征,PN 所致并发症时有发生。PN 的并发症包括:败血症、代谢不平衡、血栓栓塞及肝胆损伤等,其中 PN 相关性胆汁淤积 (parenteral nutrition associated cholestasis, PNAC) 日益受到重视。至今 PNAC 的发病机制不明确,其发病涉及因素考虑为:早产、低出生体重、PN 持续时间长、禁食致缺乏胃肠道刺激、感染、肠道细菌过度生长、细菌移位、全 PN 溶液的营养成分失衡、微量元素缺乏及 PN 的有毒成分等,引起肝脏损害,主要表现为肝细胞脂肪变性及胆汁淤积。那么 MDR3 基因是否在早产儿 PNAC 的发病中也起到重要的作用呢?本研究采用实时定量逆转录-聚合酶链反应 (RT-qPCR) 技术^[5] 检测 PNAC 早产儿外周血细胞中 MDR3 mRNA 表达,动态观察早产儿生化指标变化情况,以探讨 MDR3 基因与早产儿 PNAC 发病的相关性。

1 资料与方法

1.1 研究对象

2011年6月至2017年11月中山大学附属中山医院收治的行 PN 超过 14 d 的早产儿共 755 例,

选取其中患 PNAC 的早产儿 76 例为 PNAC 组,男 48 例,女 28 例,胎龄 215 ± 17 d, PN 应用时间 23 ± 5 d; 采用随机数字表法从未出现 PNAC 的 679 例早产儿 (男 407 例,女 272 例) 中随机抽取 80 例为非 PNAC 组,男 50 例,女 30 例,胎龄 217 ± 18 d, PN 应用时间 22 ± 6 d。两组胎龄、性别、PN 应用时间等方面进行比较,差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。本研究为前瞻性研究,已通过医院伦理委员会审批,并且已告知患儿家长并获得家属同意。

1.2 PNAC 的诊断标准

PNAC 诊断标准参考文献^[6], 纳入标准为:早产儿,PN 超过 2 周;临床主要表现为黄疸、肝脾肿大、大便颜色变淡,严重者可出现白陶土样大便;肝功能提示丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天冬氨酸氨基转移酶、碱性磷酸酶、直接胆红素 (DBil)、总胆汁酸 (TBA) 升高,且血清 DBil 水平 >2 mg/dL 或 DBil 水平占总胆红素 (TBil) $>20\%$ 。

1.3 排除标准

研究对象均常规进行血培养,以及肝炎系列病毒抗体 -IgM、巨细胞病毒、梅毒、细小病毒等检测,排除甲型、乙型、丙型肝炎病毒及巨细胞病毒等病毒感染;进行血常规、血糖、CRP、肝胆生化指标等检查;出现胆汁淤积者行肝胆超声、放射性核素肝胆显像 (ECT) 和胰肝胆的磁共振胆管成像 (MRCP) 检查,排除肝外胆道闭锁、先天性胆总管囊肿、胆管扩张、肿块压迫和血管瘤等外科疾病引起的胆汁淤积性肝病;并除外希特林蛋白缺乏症 (citrin 缺陷)、半乳糖血症、酪氨酸血症等常见遗传代谢性疾病引起的胆汁淤积性肝病。

1.4 肝胆生化指标及纤维化指标检测

所有研究对象分别于生后第 1 天、第 14 天、第 30 天、第 60 天、第 90 天动态检测血清肝胆生化指标,包括 ALT、 γ -谷氨酰胺转移酶 (γ -GT)、TBil、DBil、TBA; 纤维化指标,包括透明质酸 (HA)、层黏连蛋白 (LN)、Ⅲ型前胶原 N 端肽 (PCHINP)、Ⅳ型胶原 (IV-COL)。

1.5 RT-qPCR 法检测 MDR3 mRNA 表达

采用 TRIzol 试剂盒 (Invitrogen 公司, 美国) 提取外周血标本总 RNA, 然后使用 Nanodrop 2000/2000c 分光光度计 (Thermo 公司, 美国) 检测总 RNA 浓度。采用 M-MLV 逆转录试剂盒 (Invitrogen 公司, 美国) 将提取的总 RNA 逆转录为 cDNA。应用 MDR3 基因引物扩增, 引物由美国 Invitrogen 公司设计和合成, MDR3 上游引物: 5'-TGGCCCTGTTGGAAGTAGTG-3', 下游引物: 5'-AGAAGGATCTTGGGGTTGCGAA-3', 片段长度 391 bp; β -actin 上游引物: 5'-AGTTGCGTTACACCCTTTCTTG-3', 下游引物: 5'-CACCTTCACCGTTCCAG-3', 片段长度 149 bp。反应体系: 2 \times SuperReal PreMix 10 μ L, 上下游引物 (10 μ mol/L) 各 0.6 μ L, cDNA 模板 1.5 μ L, RNase-free ddH₂O 补至 20 μ L。PCR 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 预变性 15 min; 95 $^{\circ}$ C 变性 10 s, 61.4 $^{\circ}$ C 退火 20 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 20 s, 40 个循环。扩增产物行 2% 琼脂糖凝胶电泳, 每个样本重复反应 3 次, 取平均 Ct 值作为每个样本的 Ct 值。以 β -actin 作为内参基因行相对定量, MDR3 基因为目的基因, 计算各组外周血细胞中 MDR3 基因的 $\Delta\Delta$ Ct 值, $\Delta\Delta$ Ct = (Ct_{目的基因} - Ct_{内参基因})_{实验组} -

(Ct_{目的基因} - Ct_{内参基因})_{对照组}, 则目的基因的表达量 = $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 。

1.6 统计学分析

应用 SPSS 20.0 统计学软件对结果进行统计学分析, 计量资料采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组间比较采用两独立样本 *t* 检验; 计数资料采用百分率 (%) 表示, 两组间比较采用 χ^2 检验; 两变量间关系的密切程度采用 Pearson 相关性分析, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝胆生化指标

比较 PNAC 组与非 PNAC 组在不同日龄的肝胆生化指标, 结果提示: PNAC 组与非 PNAC 组在生后第 1 天的血清肝胆生化指标 (ALT、TBil、DBil、TBA、 γ -GT) 水平比较差异无统计学意义 (*P* > 0.05), PNAC 组在生后第 14、30、60、90 天的血清肝胆生化指标水平均高于非 PNAC 组 (*P* < 0.05) (表 1); PNAC 组中血清肝胆生化指标水平在生后 14 d 上升, 至生后 30 d 达最高峰, 生后 60 d 下降。

表 1 PNAC 组与非 PNAC 组在不同日龄的血清肝胆生化指标水平的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	ALT (U/L)					TBA (μ mol/L)				
		第 1 天	第 14 天	第 30 天	第 60 天	第 90 天	第 1 天	第 14 天	第 30 天	第 60 天	第 90 天
非 PNAC 组	80	29 \pm 9	29 \pm 8	26 \pm 7	31 \pm 9	29 \pm 7	15 \pm 6	16 \pm 5	17 \pm 6	20 \pm 9	18 \pm 6
PNAC 组	76	30 \pm 9	50 \pm 13	132 \pm 34	79 \pm 40	45 \pm 23	14 \pm 5	40 \pm 16	96 \pm 24	68 \pm 23	51 \pm 24
<i>t</i> 值		1.246	11.875	27.490	10.458	6.113	1.380	33.180	28.412	17.220	12.115
<i>P</i> 值		>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

γ -GT (U/L)					TBil (μ mol/L)				
第 1 天	第 14 天	第 30 天	第 60 天	第 90 天	第 1 天	第 14 天	第 30 天	第 60 天	第 90 天
23 \pm 7	22 \pm 8	23 \pm 6	25 \pm 9	23 \pm 8	18.1 \pm 3.5	61.5 \pm 11.4	30.3 \pm 6.8	34.1 \pm 6.8	25.8 \pm 6.8
21 \pm 6	44 \pm 17	88 \pm 19	59 \pm 32	48 \pm 22	18.8 \pm 2.4	99.6 \pm 12.9	139.9 \pm 20.6	109.1 \pm 19.5	66.1 \pm 12.9
1.731	10.310	29.231	9.275	9.730	1.443	19.639	45.103	32.468	25.793
>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

DBil (μ mol/L)				
第 1 天	第 14 天	第 30 天	第 60 天	第 90 天
7.9 \pm 2.9	11.6 \pm 6.1	11.7 \pm 4.0	15.2 \pm 5.5	12.2 \pm 5.9
8.3 \pm 3.5	25.7 \pm 6.5	87.5 \pm 17.0	48.9 \pm 10.9	39.8 \pm 12.5
0.784	13.989	38.872	24.600	17.806
>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注: [ALT] 丙氨酸氨基转移酶; [TBA] 总胆汁酸; [γ -GT] γ -谷氨酰胺转移酶; [TBil] 总胆红素; [DBil] 直接胆红素。

2.2 纤维化指标

比较 PNAC 组与非 PNAC 组在不同日龄的血清纤维化指标 (HA、LN、PCIIINP、IV-COL) 水平, 结果提示: 生后第 1 天的血清纤维化指标水平在 PNAC 组与非 PNAC 组间比较差异均无统计

学意义 ($P>0.05$), 生后第 14、30、60、90 天的血清纤维化指标水平在 PNAC 组明显高于非 PNAC 组 ($P<0.05$) (表 2)。PNAC 组中血清纤维化指标水平在生后 14 d 上升, 生后 30 d 达最高峰, 生后 60 d 下降。

表 2 PNAC 组与非 PNAC 组在不同日龄的血清纤维化指标水平的比较 ($\bar{x} \pm s$, ng/mL)

组别	n	HA					PCIIINP				
		第 1 天	第 14 天	第 30 天	第 60 天	第 90 天	第 1 天	第 14 天	第 30 天	第 60 天	第 90 天
非 PNAC 组	80	27.9 ± 2.8	31.8 ± 4.8	45.5 ± 11.3	29 ± 4.1	28.7 ± 3.2	14.0 ± 1.4	16.0 ± 2.8	23.0 ± 5.8	14.9 ± 3.5	14.5 ± 1.9
PNAC 组	76	27.0 ± 5.1	57.8 ± 12.5	133.8 ± 20	106.7 ± 15.2	74.6 ± 5.8	13.2 ± 2.9	28.9 ± 8.4	62.7 ± 13.8	53.5 ± 8.2	37.8 ± 7.4
t 值		1.385	18.440	17.079	44.147	62.027	1.979	13.030	23.704	40.377	27.315
P 值		>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

LN					IV-COL				
第 1 天	第 14 天	第 30 天	第 60 天	第 90 天	第 1 天	第 14 天	第 30 天	第 60 天	第 90 天
85 ± 8	94 ± 14	86 ± 11	58 ± 8	72 ± 8	51 ± 4	58 ± 9	52 ± 12	55 ± 7	48 ± 5
83 ± 15	118 ± 25	238 ± 40	160 ± 23	151 ± 30	52 ± 8	81 ± 18	209 ± 30	194 ± 27	147 ± 30
0.870	7.329	32.829	35.825	23.187	0.909	10.668	43.232	43.956	59.532
>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注: [HA] 透明质酸; [LN] 层黏连蛋白; [PCIIINP] III 型前胶原 N 端肽; [IV-COL] IV 型胶原。

2.3 PNAC 组和非 PNAC 组外周血 MDR3 mRNA 表达变化

PNAC 组外周血细胞中 MDR3 mRNA 的相对定量表达水平 (2.7 ± 1.6) 高于非 PNAC 组 (1.0 ± 0.6 , $t=8.783$, $P<0.05$)。

2.4 PNAC 组外周血 MDR3 mRNA 相对表达量与生后第 30 天血清肝胆生化指标的相关分析

结果显示, PNAC 组患儿外周血细胞的 MDR3 mRNA 相对表达量与 PNAC 患儿生后第 30 天血清 ALT、TBil、DBil、TBA、 γ -GT 的水平均呈负相关 ($P<0.001$), 见表 3。

表 3 PNAC 组外周血 MDR3 mRNA 相对表达量与生后第 30 天血清肝胆生化指标相关分析结果

项目	相关系数 (r)	P 值
ALT	-0.857	<0.001
TBil	-0.655	<0.001
DBil	-0.673	<0.001
TBA	-0.558	<0.001
γ -GT	-0.742	<0.001

注: [ALT] 丙氨酸氨基转移酶; [TBil] 总胆红素; [DBil] 直接胆红素; [TBA] 总胆汁酸; [γ -GT] γ -谷氨酰胺转移酶。

3 讨论

MDR3 基因编码毛细胆管上磷脂载体的转运蛋白参与正常胆汁酸的转运和分泌, 在胆汁淤积过程中起重要作用。国内外文献报道 MDR3 基因的 mRNA 在人正常组织普遍表达, 在胆汁淤积性疾病患者中, 部分表现为失活或低表达, 部分表现为高表达, 因而 MDR3 基因表达的改变可以是胆汁淤积发生的原因, 也可以是胆汁淤积发生后的代偿性反应^[7-11]。

国内外学者关于各种病因导致的胆汁淤积性肝病患者外周血细胞 MDR3 基因 mRNA 的表达情况结果各有异同。Chen 等^[12]发现在婴儿胆道闭锁早期 MDR3 mRNA 表达下降, 可能与 FXR 下调有关, 然而随着病情的发展, 晚期患儿 MDR3 mRNA 的表达增强, 与 FXR mRNA 表达回升有关。赵国翠^[13]对妊娠期肝内胆汁淤积症 (ICP) 的孕妇的外周血细胞 MDR3 mRNA 进行检测后发现, 与正常孕妇组对比, 两组间 MDR3 mRNA 水平比较差异无统计学意义。曾慧^[14]对 ICP 孕妇的胎盘 MDR3 mRNA 及其蛋白进行检测后发现, 上述指标在 ICP

孕妇胎盘中的表达弱于正常孕妇组。Anselmo 等^[15]对成人肝移植后胆汁淤积的研究结果显示,患者早期即出现MDR3 mRNA的表达增强。Trauner 等^[16]学者研究发现大部分原发性胆汁性肝硬化(PBC)患者外周血细胞MDR3 mRNA表达增高,但也有少部分由于MDR3基因存在无义突变或错义突变杂合子而出现外周血细胞MDR3 mRNA表达下降。苏亚非等^[17]对MDR3基因在胆囊胆固醇结石形成的作用进行研究,结果发现胆囊胆固醇结石患者的MDR3 mRNA表达显著低于肝炎组及正常对照组,提示MDR3基因的表达水平在胆囊胆固醇结石的形成过程中起重要作用。家族性进行性肝内胆汁淤积症Ⅲ型和低磷脂相关性胆汁淤积症由于MDR3基因突变而出现外周血细胞MDR3 mRNA表达下降^[18-21]。

本研究结果显示76例PNAC早产儿外周血细胞MDR3 mRNA表达水平高于非PNAC组,其原因可能与PNAC早产儿发生肝内胆汁淤积导致胆汁酸升高后通过蛋白激酶C途径上调mdr2的转录活性有关^[22],MDR3 mRNA表达增高有利于促进磷酸的分泌增高,与过多的胆盐结合以减轻胆盐对胆管上皮细胞的损害,是人体适应性的代偿反应。这与国内外关于婴儿胆汁淤积性肝患儿的的外周血细胞MDR3 mRNA表达的研究结果相似^[23]。

本研究结果显示,在生后第1天的血清肝胆生化和纤维化指标水平在PNAC组与非PNAC组之间比较差异无统计学意义,PNAC组在生后第14、30、60、90天的血清肝胆生化和纤维化指标水平明显高于非PNAC组,这与长时间静脉营养引起胆汁淤积性肝病后导致肝损害有关^[24-25]。PNAC组中血清肝胆生化和纤维化指标水平在生后第14天逐渐上升,在生后第30天达最高峰,生后第60天逐渐下降,这考虑与本研究PNAC组大多数PNAC早产儿在生后第60天已停用胃肠外营养和经过护肝利胆治疗后肝损害逐渐好转有关。唐清等^[26]学者对婴儿肝内胆汁淤积症患儿的外周血细胞MDR3 mRNA表达与肝胆生化指标相关性分析研究的结果显示,外周血细胞MDR3 mRNA表达与肝胆生化指标无相关性。而本研究结果显示外周血细胞的MDR3 mRNA表达水平与PNAC患儿生后第30天的血清ALT、TBil、DBil、TBA、 γ -GT水平呈负相关,提示外周血细胞MDR3 mRNA的

表达水平越低,胆汁淤积导致的肝损害越严重,这结果异于唐清等^[26]学者的研究。本研究结果提示虽然MDR3 mRNA低表达并不是PNAC早产儿发病的主要因素,但当MDR3 mRNA相对低表达时,同样会影响胆汁的代谢,从而加重PNAC早产儿的胆汁淤积和肝胆损害的程度。

综上所述,本研究结果显示大多数PNAC患儿的外周血MDR3 mRNA表现为高表达,提示MDR3 mRNA表达水平下降并非PNAC的主要致病因素。然而76例PNAC早产儿中有4例的外周血MDR3 mRNA的表达水平低于正常对照组,那么这4例病例是否由于存在MDR3基因突变而引起MDR3 mRNA低表达,从而导致肝内胆汁淤积的发生呢?本研究将进一步对所有研究对象MDR3基因的28个外显子的突变位点进行分析,以明确MDR3基因是否是早产儿PNAC致病的易感基因之一。

[参 考 文 献]

- [1] Fujikura K, Yamasaki T, Otani K, et al. BSEP and MDR3: useful immunohistochemical markers to discriminate hepatocellular carcinomas from intrahepatic cholangiocarcinomas and hepatoid carcinomas[J]. *Am J Surg Pathol*, 2016, 40(5): 689-696.
- [2] Aamann L, Ørntoft N, Vogel I, et al. Unexplained cholestasis in adults and adolescents: diagnostic benefit of genetic examination[J]. *Scand J Gastroenterol*, 2018, 53(3): 305-311.
- [3] Gordo-Gilart R, Hierro L, Andueza S, et al. Heterozygous ABCB4 mutations in children with cholestatic liver disease[J]. *Liver Int*, 2016, 36(2): 258-267.
- [4] Degiorgio D, Crosignani A, Colombo C, et al. ABCB4 mutations in adult patients with cholestatic liver disease: impact and phenotypic expression[J]. *J Gastroenterol*, 2016, 51(3): 271-280.
- [5] 李静, 谭彩虹. 血浆 microRNA 实时荧光定量 PCR 检测方法的建立[J]. *国际检验医学杂志*, 2015, 36(1): 57-59.
- [6] 夏世文. 早产儿胃肠外营养相关性胆汁淤积[J]. *中国新生儿科杂志*, 2011, 26(5): 289-292.
- [7] Carey AN, Zhang W, Setchell KDR, et al. Hepatic MDR3 expression impacts lipid homeostasis and susceptibility to inflammatory bile duct obstruction in neonates[J]. *Pediatric Res*, 2017, 82(1): 122-132.
- [8] Zhao G, Xu D, Yuan Z, et al. 8-Methoxypsoralen disrupts MDR3-mediated phospholipids efflux and bile acid homeostasis and its relevance to hepatotoxicity[J]. *Toxicology*, 2017, 386: 40-48.
- [9] Zollner G, Thueringer A, Lackner C, et al. Alterations of canalicular ATP-binding cassette transporter expression in drug-induced liver injury[J]. *Digestion*, 2014, 90(2): 81-88.
- [10] Khabou B, Durand-Schneider AM, Delaunay JL, et al. Comparison of in silico prediction and experimental assessment

- of ABCB4 variants identified in patients with biliary diseases[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2017, 89: 101-109.
- [11] Morita SY, Terada T. Molecular mechanisms for biliary phospholipid and drug efflux mediated by ABCB4 and bile salts[J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 954781.
- [12] Chen HL, Liu YJ, Chen HL, et al. Expression of hepatocyte transporters and nuclear receptors in children with early and late-stage biliary atresia[J]. *Pediatr Res*, 2008, 63(6): 667-673.
- [13] 赵国翠. 妊娠肝内胆汁淤积症患者MDR3基因突变的研究[J]. *中国卫生产业*, 2013, 32(11): 124-125.
- [14] 曾慧. 胎盘中转运蛋白表达水平对胆汁酸排泄的影响[J]. *东南大学学报(医学版)*, 2016, 35(6): 913-917.
- [15] Anselmo DM, Ghobrial RM, Jung LC, et al. New era of liver transplantation for hepatitis B: a 17-year single-center experience[J]. *Ann Surg*, 2002, 235(5): 611-619.
- [16] Trauner M, Fickert P, Wagner M. MDR3(ABCB4) defects: a paradigm for the genetics of adult cholestatic syndromes[J]. *Semin Liver Dis*, 2007, 27(1): 77-98.
- [17] 苏亚非, 宋敏, 周蓉蓉, 等. Mucin-3 和 MDR3 在胆固醇结石形成中的作用[J]. *齐鲁医学杂志*, 2011, 26(1): 46-48.
- [18] Park HJ, Kim TH, Kim SW, et al. Functional characterization of ABCB4 mutations found in progressive familial intrahepatic cholestasis type 3[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 26872.
- [19] Delaunay JL, Durand-Schneider AM, Dossier C, et al. A functional classification of ABCB4 variations causing progressive familial intrahepatic cholestasis type 3[J]. *Hepatology*, 2016, 63(5): 1620-1631.
- [20] Schatz SB, Jüngst C, Keitel-Anselmo V, et al. Phenotypic spectrum and diagnostic pitfalls of ABCB4 deficiency depending on age of onset[J]. *Hepatol Commun*, 2018, 2(5): 504-514.
- [21] Cardoso MF, E Branco JC, Anapaz V, et al. A complex case of cholestasis in a patient with ABCB4 and ABCB11 mutations[J]. *GE Port J Gastroenterol*, 2018, 25(4): 189-194.
- [22] Fuchs CD, Paumgartner G, Mlitz V, et al. Colesevelam attenuates cholestatic liver and bile duct injury in *Mdr2*^{-/-} mice by modulating composition, signalling and excretion of faecal bile acids[J]. *Gut*, 2018, 67(9): 1683-1691.
- [23] Lammert F, Matern S. The genetic background of cholesterol gallstone formation: an inventory of human lithogenic genes[J]. *Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord*, 2005, 5(2): 163-170.
- [24] 宋诗蓉, 吴捷. 早产儿胃肠外营养相关性胆汁淤积症临床研究[J]. *国际儿科学杂志*, 2017, 44(4): 286-290.
- [25] 张韶明, 陈茂琼, 陈晓霞. 早产儿胃肠外营养相关性胆汁淤积症研究进展[J]. *世界最新医学信息文摘*, 2017, 17(26): 52-53.
- [26] 唐清, 王琳琳, 单庆文, 等. 熊去氧胆酸对婴儿胆汁淤积性肝炎多药耐药蛋白3及法尼醇受体基因表达的影响和意义[J]. *中国当代儿科杂志*, 2013, 15(9): 756-758.

(本文编辑: 万静)