

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2017.07.015

升清胶囊对 L-02 肝细胞胆固醇沉积模型 LXR- α 、FXR 及 ABC 转运蛋白表达的影响

梁晓强, 章学林, 顾宏刚, 张静喆*

(上海中医药大学附属龙华医院, 上海市宛平南路 725 号, 200032)

摘要 目的 探讨升清胶囊治疗胆石病的可能作用机制。方法 选用人 L-02 肝细胞分为正常组, 模型组, 升清胶囊高、中、低剂量组及熊去氧胆酸高、中、低剂量组。除正常组外其余各组采用 LXR 激动剂诱导建立胆固醇沉积模型, 各给药组每孔分别加入相应 2 ml 含 10% 药物血清, 正常组和模型组每孔加入 2 ml 含 10% 空白血清进行培养。24 h 后观察各组肝细胞上清液及细胞总胆固醇含量及肝细胞 LXR- α 、FXR、ABCA1、ABCG5 及 ABCG8 mRNA 及蛋白表达。结果 模型组上清液和肝细胞总胆固醇含量, LXR- α 、FXR、ABCA1、ABCG5、ABCG8 mRNA 蛋白较正常组均升高 ($P < 0.01$)。升清胶囊和熊去氧胆酸各剂量组总胆固醇含量及 LXR- α 、FXR、ABCA1、ABCG5、ABCG8 mRNA 蛋白表达有不同程度的下降, 其中升清胶囊和熊去氧胆酸片在降低 LXR- α 及 ABCA1 蛋白方面呈剂量依赖性, 以高剂量组效果最好 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 并且在下调 LXR- α mRNA 表达方面, 升清胶囊高剂量组效果优于熊去氧胆酸高剂量组 ($P < 0.01$)。结论 升清胶囊可能通过降低 LXR- α 、FXR 及其直接靶基因 ABCA1、ABCG5、ABCG8 mRNA 及蛋白表达, 从而改善肝细胞内胆固醇沉积, 抑制结石的形成和发展。

关键词 胆石病; 升清胶囊; 胆固醇沉积; 核受体; ABC 转运蛋白

胆石病是多发病和常见病之一, 目前我国该病的主要类型是胆固醇结石^[1-2]。核受体是编码转录因子的一个超基因家族, 参与调节体内多种生理活动。与胆固醇结石形成密切相关且研究愈来愈多的两个代表性核受体是 LXR α 和 FXR^[3-4]。因此, “LXR α /FXR 功能异常→肝细胞胆固醇/胆汁酸代谢异常→肝细胞内胆固醇沉积→胆囊胆汁胆固醇/胆汁酸失衡”这一“胆汁成分代谢链”利于胆固醇结石形成。我们认为, 胆囊结石病灶在胆, 源头在肝。本课题组前期临床研究证实, 升清胶囊有良好的防治胆石病的作用^[5]。本研究围绕胆汁成分代谢链, 从体外阐述升清胶囊防治胆固醇结石的可能作用机制。

1 材料和方法

1.1 动物及细胞株

SPF 级雄性 SD 大鼠 14 只, 8 周龄, 体重 (200 ± 20) g, 由上海斯莱克动物实验有限公司提

供, 实验动物许可证号 SCXK (沪) 2007-0005。L-02 肝细胞购于中国科学院上海生命科学研究院细胞库。细胞在 RPMI1640 培养基中 (含 10% 胎牛血清, 100 U/ml 青霉素和 100 μ g/ml 链霉素), 37℃、5% 的 CO₂、饱和湿度的条件培养。

1.2 药物、主要试剂及仪器

升清胶囊 (上海中医药大学附属龙华医院院内制剂, 由大黄、陈皮、虎杖等组成, 规格: 0.3 g/粒, 批号: 20120401); 熊去氧胆酸片 (规格: 50 mg/片, 批号: 200304005, 上海三维长江生化制药厂); LXR- α 激动剂 (美国 Sigma 公司, 批号: T0901317); 逆转录试剂盒 (批号: AK4563, TAKARA 公司); Trizol (批号: 63205) 和 DEPC (批号: 65011256) 均为 Biosharp 公司产品; 总胆固醇测定试剂盒 (浙江东瓯诊断产品有限公司, 批号: 0950-2013); LXR- α 、ABCA1 兔抗鼠抗体 (美国 Abcam, 批号分别为 ab 106464、ab7360)、FXR、ABCG5、ABCG8 及 GAPDH 兔抗鼠抗体 (美国 Santa Cruz Biotechnology, 批号分别为 SC-1205、SC-25796、SC-30111)。Rotor

基金项目: 国家自然科学基金 (81403305)

* 通讯作者: zjzzq@sina.com

Gene3000 荧光定量 PCR 仪 (美国 Corbett Research 公司); Power PAC 300 电泳仪、电泳槽及半干式电转移装置 (美国 Bio-Rad 公司); 2008 凝胶成像系统 (天能公司)。

1.3 含药血清的制备

14 只 SD 大鼠采用随机数字表法分成空白血清组, 升清胶囊高、中、低剂量组以及熊去氧胆酸高、中、低剂量组, 每组 2 只。按动物体重系数换算法^[6], 升清胶囊按成人用药剂量 (60 kg, 2.7 g/d) 得出标准剂量为 0.246 g/(kg·d) 定为中剂量, 分别以中剂量的 2 倍和 1/2 倍定为高、低剂量, 则升清胶囊高、中、低剂量分别为 0.492、0.246、0.123 g/(kg·d)。同样, 熊去氧胆酸片按照成人用药剂量 (60 kg, 300 mg/d) 得出标准剂量为 27.38 mg/(kg·d), 得出熊去氧胆酸高、中、低剂量分别为 54.76、27.38、13.69 mg/(kg·d)。各给药组每日灌胃 2 次, 空白血清组灌胃等量生理盐水, 连续 3 天。末次灌胃 1 h 后腹主动脉采血, 采血前禁食 12 h。常温静置 2 h, 再经 3000 r/min, 离心 15 min, 分离血清。经 56℃ 灭活 30 min、0.22 μm 过滤除菌后置 -80℃ 备用。使用时用培养基将空白血清和药物血清分别稀释为 10% 浓度进行后续实验。

1.4 L-02 肝细胞胆固醇沉积模型的建立

参照文献^[7]方法, 取对数期生长 L-02, 于 37℃、5% CO₂、饱和湿度的细胞培养箱中培养, 传代接种至 6 孔板。24 h 后弃上清液, 用 PBS 缓冲液洗涤细胞 2 次后, 每孔添加含胎牛血清 1% 的 RPMI 1640 培养液 2 ml, 添加 LXR-α 激动剂稀释液 (终浓度为 1 μmol/L), 置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中继续培养 24 h 后进行后续实验。

1.5 细胞分组及干预

将细胞分为正常组, 模型组, 升清胶囊高、中、低剂量组及熊去氧胆酸高、中、低剂量组, 每组设 3 个平行孔。药物干预组每孔按照 10% 血清浓度直接添加相应血清 222 μl, 正常组、模型组加入等体积的空白血清。轻轻摇匀后继续置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h 后收集细胞分别用于指标测定。

1.6 观察指标及方法

1.6.1 肝细胞上清液及肝细胞内总胆固醇含量 采用比色法检测, 按照试剂盒说明书进行。其中上清液在干预结束后吸取上清液直接进行测定即可。肝细胞需要进行样品处理, 主要步骤为: 1) 弃上清液, 用预冷的 PBS 液冲洗 3 遍; 2) 0.25% 胰酶

消化细胞 1 min 后收集细胞悬液, 1000 r/min 离心 5 min; 3) 弃上清, PBS 液洗 2 次, 1000 r/min 离心 5 min; 4) 将细胞悬浮于 PBS 液 100 μl 中, 加异丙醇 100 μl, 超声波 30 min, 将其置于加热器上抽干浓缩。待有机试剂挥发完后, 用甲醇复溶后按试剂盒说明书进行总胆固醇测定。

1.6.2 肝细胞 LXR-α、FXR 及 ABCA1、ABCG5、ABCG8 mRNA 表达 采用 Real-time PCR 检测, 收集肝细胞, Trizol 提取总 RNA, 取 2 μl 总 RNA 逆转录, 20 μl 反应体系进行 Real-time PCR 反应。根据 GenBank 检索的目的基因序列, 由上海皓嘉生物基因公司合成引物, LXR-α: F: GAGGTA-CAACCCTGGGAGTGAGAG, R: CTGATAGCAAT-GAGCAAGGCAAAC, 177 bp; FXR: F: TGACG-GAAATGGCAACCAA, R: GGAACATAGCTTCAAC-CGCAGA, 129 bp; ABCA1: F: AAGGAGGCACG-GCTGAAA, R: AACACGGACAGGAAGACAAACA, 188 bp; ABCG5: F: GACTGATTGGCAACTACAGCT-TGG, R: TGGTTGGCTCATCAAACAGCAT, 114 bp; ABCG8: F: TCATGATAAACTTGAGCAGCCTGTG, R: AGACCGCGATGGTGAGGTTT, 147 bp; GAPDH: F: TGGCACCACAGCACAATGAA, R: CTAAGTCAT-GTCCGCCTAGAAGCA, 176 bp。PCR 反应条件为: 95℃, 5 min; 94℃, 30 s; 60℃, 20 s; 72℃, 30 s; 步骤 2~4 循环 40 次; 72℃, 10 min; 荧光数据在延伸时采集; 溶解曲线在 55℃~95℃ 间, 每个步骤增加 0.2℃。结果采用 2^{-ΔΔCt} 表示组间基因表达差异, 每个指标均以模型组 (定量为 1) 为参照比较。

1.6.3 肝细胞 LXR-α、FXR 及 ABCA1、ABCG5、ABCG8 蛋白表达 采用 Western Blotting 法检测, 收集肝细胞提取蛋白, 取 50 μg 总蛋白上样, 室温下 SDS-PAGE 电泳分离蛋白, 40 mA 恒流硝酸纤维素膜转膜。2 h 后将膜置于 10 ml 3% 脱脂奶粉封闭液, 4℃ 过夜。分别加入一抗工作液 (LXR-α、FXR 及 ABCA1、ABCG5、ABCG8、GAPDH) 温和摇动 4 h。洗涤, 加入 HRP 标记羊抗兔 IgG 工作液, 室温孵育 2 h。经洗膜, 显色, 到显示出明显条带为止。将所得图像扫描, 采用 2008 凝胶成像系统分析条带光密度值。蛋白表达水平以目的蛋白与 GAPDH 光密度值的相对比值表示。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 18.0 统计软件进行处理, 计量资料数据均以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间数据比较采用单因素方差分析。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组肝细胞上清液及细胞内总胆固醇含量比较

表 1 示, 与正常组比较, 模型组上清液和细胞内总胆固醇含量升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 升清胶囊高、中剂量组和熊去氧胆酸高、中剂量组上清液总胆固醇含量明显降低, 升清胶囊高剂量组和熊去氧胆酸高、低剂量组细胞内总胆固醇含量明显降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

表 1 各组肝细胞上清液及细胞内总胆固醇含量比较 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	上清液总胆固醇	细胞内总胆固醇
正常组	3	0.65 ± 0.04	0.37 ± 0.15
模型组	3	1.95 ± 0.27*	1.10 ± 0.23*
升清胶囊高剂量组	3	1.02 ± 0.09 [△]	0.52 ± 0.07 [△]
升清胶囊中剂量组	3	1.12 ± 0.54 [△]	0.60 ± 0.52
升清胶囊低剂量组	3	1.41 ± 0.62	0.70 ± 0.31
熊去氧胆酸高剂量组	3	0.82 ± 0.49 ^{△△}	0.52 ± 0.34 [△]
熊去氧胆酸中剂量组	3	0.75 ± 0.40 ^{△△}	0.60 ± 0.20
熊去氧胆酸低剂量组	3	1.27 ± 0.30	0.55 ± 0.31 [△]

注: 与正常组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

2.2 各组肝细胞 LXR- α 、FXR、ABCA1、ABCG5、ABCG8 mRNA 表达比较

表 2 示, 与正常组比较, 模型组肝细胞 LXR- α 、FXR、ABCA1、ABCG5、ABCG8 mRNA 表达均

表 2 各组肝细胞 LXR- α 、FXR、ABCA1、ABCG5、ABCG8 mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	LXR- α	FXR	ABCA1	ABCG5	ABCG8
正常组	3	0.08 ± 0.04	0.21 ± 0.02	0.21 ± 0.15	0.31 ± 0.08	0.25 ± 0.06
模型组	3	1.00 ± 0.00*	1.00 ± 0.00*	1.00 ± 0.00*	1.00 ± 0.00*	1.00 ± 0.00*
升清胶囊高剂量组	3	0.34 ± 0.18 ^{△△}	0.44 ± 0.09 ^{△△}	0.45 ± 0.02 ^{△△}	0.51 ± 0.18	0.80 ± 0.12
升清胶囊中剂量组	3	0.50 ± 0.14 ^{△△}	0.77 ± 0.23 ^{△▲}	0.64 ± 0.19 [△]	0.72 ± 0.29	0.78 ± 0.08
升清胶囊低剂量组	3	0.99 ± 0.17	0.81 ± 0.11 [▲]	0.72 ± 0.28 [△]	0.87 ± 0.19	0.78 ± 0.02 ^{△△}
熊去氧胆酸高剂量组	3	0.66 ± 0.17 ^{△▲}	0.83 ± 0.10	0.82 ± 0.16	0.68 ± 0.06	0.75 ± 0.24
熊去氧胆酸中剂量组	3	0.81 ± 0.23	0.79 ± 0.09	0.60 ± 0.15 ^{△△}	0.90 ± 0.19	0.72 ± 0.04 [△]
熊去氧胆酸低剂量组	3	0.65 ± 0.14 [△]	0.87 ± 0.14	0.62 ± 0.09 [△]	0.94 ± 0.23	0.79 ± 0.04 [△]

注: 与正常组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与升清胶囊高剂量组比较, $\Delta P < 0.01$

表 3 各组肝细胞 LXR- α 、FXR、ABCA1、ABCG5、ABCG8 蛋白表达比较 (LXR- α /GAPDH, $\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	LXR- α	FXR	ABCA1	ABCG5	ABCG8
正常组	3	0.03 ± 0.01	0.18 ± 0.02	0.05 ± 0.03	0.06 ± 0.03	0.03 ± 0.02
模型组	3	0.61 ± 0.03*	0.48 ± 0.02*	0.67 ± 0.02*	0.59 ± 0.03*	0.74 ± 0.02*
升清胶囊高剂量组	3	0.13 ± 0.02 ^{△▲#}	0.25 ± 0.02 [△]	0.16 ± 0.02 ^{△▲#}	0.14 ± 0.03 ^{△▲#}	0.15 ± 0.03 ^{△▲#}
升清胶囊中剂量组	3	0.22 ± 0.01 ^{△#}	0.33 ± 0.02 [△]	0.26 ± 0.03 ^{△#}	0.33 ± 0.03 [△]	0.39 ± 0.02 [△]
升清胶囊低剂量组	3	0.41 ± 0.02 [△]	0.50 ± 0.02	0.33 ± 0.02 [△]	0.35 ± 0.01 [△]	0.41 ± 0.08 [△]
熊去氧胆酸高剂量组	3	0.06 ± 0.02 ^{△▲#}	0.28 ± 0.02 ^{△▲#}	0.11 ± 0.01 ^{△▲#}	0.14 ± 0.02 ^{△▲#}	0.16 ± 0.03 ^{△▲#}
熊去氧胆酸中剂量组	3	0.22 ± 0.03 ^{△#}	0.38 ± 0.02 ^{△#}	0.23 ± 0.02 ^{△#}	0.26 ± 0.03 [△]	0.32 ± 0.05 [△]
熊去氧胆酸低剂量组	3	0.45 ± 0.01 [△]	0.42 ± 0.02 [△]	0.43 ± 0.02 [△]	0.27 ± 0.02 [△]	0.37 ± 0.05 [△]

注: 与正常组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.01$; 与同药物中剂量组比较, $\Delta P < 0.01$; 与同药物低剂量组比较, $\#P < 0.01$

升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 升清胶囊高、中剂量组 LXR- α 、FXR、ABCA1 mRNA 表达降低, 升清胶囊低剂量组 ABCA1、ABCG8 mRNA 表达亦降低, 熊去氧胆酸高、低剂量组 LXR- α mRNA 表达降低, 熊去氧胆酸中、低剂量组 ABCA1、ABCG8 mRNA 表达降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。升清胶囊高剂量组 FXR mRNA 表达明显低于升清胶囊中、低剂量组, LXR- α mRNA 表达明显低于熊去氧胆酸高剂量组 ($P < 0.01$)。各给药组 ABCG5 mRNA 表达差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.3 各组肝细胞 LXR- α 、FXR、ABCA1、ABCG5、ABCG8 蛋白表达

表 3 示, 与正常组比较, 模型组肝细胞 LXR- α 、FXR、ABCA1、ABCG5、ABCG8 蛋白表达显著增强 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 除升清胶囊低剂量组 FXR 蛋白表达外, 各给药组 LXR- α 、FXR、ABCA1、ABCG5、ABCG8 蛋白表达降低 ($P < 0.01$)。升清胶囊高、中、低剂量组和熊去氧胆酸组高、中、低剂量 LXR- α 与 ABCA1 蛋白表达降低呈剂量依赖性 ($P < 0.01$)。升清胶囊高剂量组和熊去氧胆酸高剂量组 ABCG5、ABCG8 蛋白表达明显低于同药物中、低剂量组 ($P < 0.01$), 熊去氧胆酸各剂量组 FXR 蛋白表达呈剂量依赖性 ($P < 0.01$)。

3 讨论

胆石病根据其临床症状及病理特点,可归属于中医学“胁痛”“肝胀”“胆瘕”“胆胀”“黄疸”等范畴。升清胶囊由大黄、陈皮和虎杖等组成,具有疏肝利胆通下之功效,是用于治疗慢性胆道感染、胆石病的验方^[8]。胆汁的形成和分泌主要由肝细胞完成,肝细胞是胆固醇合成及向胆汁酸转化的重要器官。LXR、FXR 均是调控体内胆固醇和胆汁酸代谢的重要因子,广泛应用于代谢性疾病及心血管疾病的研究中(包括代谢性综合征、动脉粥样硬化及肝胆疾病等),其中 LXRs 有 LXR α 和 LXR β 两个亚型^[8-9]。ABCA1 是胆固醇逆转运的第一步限速步骤,可将外周组织细胞内的胆固醇和磷脂转运回肝脏^[10]。研究证实,ABCA1 基因在外周组织细胞过表达可促进胆固醇外流,增加血浆胆固醇浓度,胆固醇逆转运可以阻止胆固醇积聚^[11],ABCG5 和 ABCG8 是肝脏有效地向胆汁分泌胆固醇的必需环节,G5 和 G8 结合形成异二聚体后参与胆固醇逆转运,促进肝脏排泄胆固醇,ABCG5/ABCG8 基因表达异常是结石发生的高危因素,ABCG5 和 ABCG8 高表达引起胆汁中胆固醇过饱和是结石形成的中心环节^[12]。

本研究结果显示,模型组上清液和肝细胞总胆固醇含量,LXR- α 、FXR、ABCA1、ABCG5、ABCG8 mRNA 及蛋白较正常组均升高,说明在胆固醇沉积的肝细胞模型中,存在着以“LXRs/FXR 功能 $\rightarrow$ 肝细胞胆固醇代谢”为主线的胆固醇代谢链的病理改变。经过药物干预后,升清胶囊和熊去氧胆酸各剂量组总胆固醇含量均有不同程度的降低,LXR- α 、FXR、ABCA1、ABCG5、ABCG8 mRNA 及蛋白表达有不同程度的下降,其中升清胶囊和熊去氧胆酸片在降低 LXR- α 及 ABCA1 蛋白方面呈剂量依赖性,以高剂量效果最好;并且在下调 LXR- α mRNA 表达方面,升清胶囊效果优于熊去氧胆酸片。

综上所述,升清胶囊治疗胆石症的可能机制与降低人 L-02 肝细胞胆固醇沉积模型总胆固醇含量,下调 LXR- α 、FXR、ABCA1、ABCG8 mRNA 及蛋白表达有关,即调节胆固醇代谢是通过“LXR/

FXR $\rightarrow$ ABC 转运蛋白”来实现。

参考文献

- [1] 陈希纲,刘家奇,彭民浩,等.胆石病临床流行病学调查[J].中华普通外科杂志,2002,17(2):99-101.
- [2] 黄志强.胆道外科的现状与未来[J].中国实用外科杂志,1999,19(1):17-18.
- [3] ROSALES R, ROMERO MR, VAQUERO J, et al. FXR-dependent and -independent interaction of glucocorticoids with the regulatory pathways involved in the control of bile acid handling by the liver[J]. Biochem Pharmacol, 2013, 85(6):829-838.
- [4] KONG B, WANG L, CHIANG JY, et al. Mechanism of tissue-specific farnesoid X receptor in suppressing the expression of genes in bile-acid synthesis in mice[J]. Hepatology, 2012, 56(3):1034-1043.
- [5] 宋华荣,朱培庭,张静喆,等.胆石净治疗慢性胆道感染、胆石病的疗效观察[J].上海中医药杂志,2002,36(8):13-14.
- [6] 陈奇.中药药理实验方法学[M].北京:人民卫生出版社,1994:206-232.
- [7] MOGILENKO DA, DIZHE EB, SHAFFA VS, et al. Role of the nuclear receptors HNF4 alpha, PPAR alpha, and LXRs in the TNF alpha-mediated inhibition of human apolipoprotein A-I gene expression in HepG2 cells[J]. Biochemistry, 2009, 48(50):11950-11960.
- [8] 艾正琳,陈东风,王晓敏.肝 X 受体的研究进展[J].世界华人消化杂志,2005,13(16):2013-2015.
- [9] 李烁,张志文,管又飞.胆汁酸受体 FXR 的研究进展[J].生理科学进展,2003,34(4):314-318.
- [10] CHEN X, ZHAO Y, GUO Z, et al. Transcriptional regulation of ATP-binding cassette transporter A1 expression by a novel signaling pathway[J]. J Biol Chem, 2011, 286(11):8917-8923.
- [11] TANG C, LIU Y, KESSLER PS, et al. The macrophage cholesterol exporter ABCA1 functions as an anti-inflammatory receptor[J]. J Biol Chem, 2009, 284(47):32336-32343.
- [12] JIANG ZY, PARINI P, EGGERTSEN G, et al. Increased expression of LXR alpha, ABCG5, ABCG8, and SR-BI in the liver from normolipidemic, nonobese Chinese gallstone patients[J]. J Lipid Res, 2008, 49(2):464-472.

Effect of *Shengqing Capsule* (升清胶囊) on Expression of LXR α , FXR and ABC Transporter in L-02 Hepatocyte Cholesterol Deposition Model

LIANG Xiaoqiang, ZHANG Xuelin, GU Honggang, ZHANG Jingzhe

(Longhua Hospital, Shanghai University of Chinese Medicine, Shanghai, 200032)

ABSTRACT Objective To explore the potential mechanism of *Shengqing Capsule* (升清胶囊, SC) in treating cholelithiasis. **Methods** Human L-02 hepatocytes were divided into normal group, model group and SC high, medium and low dose groups and ursodeoxycholic acid (UDCA) high, medium and low dose groups. The cholesterol deposition model was induced by liver X receptor (LXR) agonists in all groups except the normal group. Each treatment group was given 2ml serum containing 10% corresponding medicine for each hole, while the normal group and the model group were given 2ml blank serum for each hole. After 24 hours, volumes of total cholesterol (TC) in supernatant and cells in each group were observed, so were the mRNA and protein expressions of LXR- α , FXR, ABCA1, ABCG5 and ABCG8. **Results** In the model group, TC volume in both supernatant and cells, and the mRNA and protein expressions of LXR- α , FXR, ABCA1, ABCG5 and ABCG8 were all significantly higher than those in the normal group ($P < 0.01$). While in each treatment group, they all decreased in varying degrees; in addition, SC and UDCA showed dose-dependence in decreasing LXR- α and ABCA1 proteins, with the best effect in high dose groups ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). In downregulating LXR- α mRNA expression, the high dose SC group behaved significantly better than the high dose UDCA group ($P < 0.01$). **Conclusion** By downregulating the mRNA and protein expressions of LXR- α and FXR, as well as their direct target gene ABCA1, ABCG4 and ABCG8, SC may ameliorate the cholesterol deposition in hepatocytes to inhibit the formation and development of calculi.

Keywords cholelithiasis; *Shengqing Capsule* (升清胶囊); cholesterol deposition; nuclear receptor; ABC transporter

(收稿日期: 2016-08-30; 修回日期: 2016-11-10)

编辑: 邓 媛

(上接第 581 页)

Clinical Observation on 41 Cancer Pain Patients with Anxiety and Depression Treated by *Wenjing Tongluo Fang* (温经通络方) Fumigation

LI Diwen¹, JIAO Lijing¹, XU Ling^{1,2}

(1. Longhua Hospital, Shanghai University of Chinese Medicine, Shanghai, 200032; 2. Yueyang Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine, Shanghai University of Chinese Medicine)

ABSTRACT Objective To observe the efficacy and safety of *Wenjing Tongluo Fang* (温经通络方) fumigation in treating cancer pain patients with anxiety and depression. **Methods** Seventy-three malignant tumor patients were randomized into treatment group (41 cases) and control group (32 cases). Both groups were given conventional tumor treatment, while the treatment group was additionally administered with *Wenjing Tongluo Fang* fumigation and the control group was given water fumigation for 30min each day. The treatment was given for 2 courses with 7 days as a course. Visual analogue scale (VAS), self-rating depression scale (SDS) and self-rating anxiety scale (SAS) were used before treatment and after the first and the second course, meanwhile the adverse reactions were observed. **Results** For the treatment group, after the first and the second course, the VAS score decreased significantly than that before treatment, so as the control group after the first course ($P < 0.05$). After the first and the second course, the VAS score of the treatment group were significantly lower than the simultaneous one of the control group ($P < 0.05$). For both groups, the SDS and the SAS scores after the first and the second course decreased significantly than those before treatment ($P < 0.05$). After the second course, the SDS score of the treatment group was significantly lower than that of the control group ($P < 0.05$). **Conclusion** *Wenjing Tongluo Fang* fumigation could ameliorate the pain, anxiety and depression of patients with fewer adverse reactions.

Keywords cancer pain; *Wenjing Tongluo Fang* (温经通络方); Chinese medicine fumigation; anxiety; depression

(收稿日期: 2016-11-08; 修回日期: 2016-12-16)

编辑: 叶 晨