

奥贝胆酸对 DEHP 亚急性暴露导致小鼠胆汁淤积的保护作用

屈明超¹, 赵凡¹, 张程², 张佳怡¹, 叶露¹, 张伦¹, 余芸¹, 王建青¹

摘要 目的 探讨奥贝胆酸(OCA)对邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)暴露致小鼠胆汁淤积的保护作用。方法 动物实验一:将雌性 ICR 小鼠随机分为 3 组:对照组、DEHP 低剂量组[50 mg/(kg·d)]、DEHP 高剂量组[200 mg/(kg·d)],共灌胃 18 d,建立胆汁淤积模型。动物实验二:将雌性 ICR 小鼠随机分为 4 组:对照组、OCA 组、DEHP 模型组[200 mg/(kg·d)]、DEHP + OCA 组,共灌胃 18 d,其中 OCA 灌胃时间为第 12~18 天。收集所有小鼠血液与肝脏组织,检测血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、总胆汁酸(TBA)水平和肝脏中的 TBA 水平;检测肝脏中法尼醇 X 受体(FXR)的蛋白表达水平以及 FXR 和其靶基因 SHP 的 mRNA 水平,HE 染色观察肝脏组织病理变化。**结果** 实验一:与对照组相比,仅 DEHP 高剂量组暴露后小鼠肝脏质量、肝重指数、血清和肝脏中 TBA 水平升高($P < 0.01$),表明高剂量 DEHP 暴露可导致小鼠胆汁淤积。实验二:与 DEHP 模型组相比,OCA 处理后其肝脏质量、肝重指数、血清和肝脏中的 TBA 水平均降低($P < 0.01$)。与对照组相比,DEHP[200 mg/(kg·d)]处理后 FXR 的蛋白表达水平及其 mRNA 水平均降低;与 DEHP 模型组相比,OCA 处理后 FXR 的蛋白表达水平以及 FXR、SHP 的 mRNA 水平均增加($P < 0.05$)。**结论** DEHP 暴露可诱导小鼠胆汁淤积性肝损伤的发生,且 OCA 后处理对 DEHP 诱导的小鼠胆汁淤积有保护作用。

关键词 邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯;奥贝胆酸;胆汁淤积

中图分类号 R 966

2022-05-30 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:82073566)

作者单位:¹ 安徽医科大学第四附属医院药学部,合肥 230012

² 安徽医科大学公共卫生学院卫生毒理学系,环境毒理学安徽普通高校重点实验室,合肥 230032

作者简介:屈明超,男,硕士研究生;

王建青,女,教授,主任药师,博士生导师,责任作者, E-mail: jianqingwang81@126.com

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2022)10-1608-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.10.018

胆汁淤积是由各种原因引起的胆汁合成、分泌及排泄障碍而导致胆汁过度堆积的过程^[1]。已知胆汁淤积的发生涉及雌激素、遗传及环境等多种因素。邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯[di(2-ethylhexyl) phthalate, DEHP]是邻苯二甲酸酯(phthalates, PAEs)中应用最广泛的增塑剂,生活中被广泛应用于各种塑料制品中^[2-3]。已知 DEHP 可通过氧化应激和炎症反应等对肝脏产生毒性作用^[4],另有临床研究^[5]表明使用含有 DEHP 的输液管可显著增加胆汁淤积发生率。针对胆汁淤积性肝损伤,目前临床上仍无特效药物,主要使用的有熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)和腺苷蛋氨酸等^[6],然而对于部分胆汁淤积患者并没有很好的治疗效果。奥贝胆酸(obeticholic acid, OCA)是一种选择性法尼醇 X 受体(farnesoid X receptor, FXR)激动剂,在调节胆汁酸代谢中发挥着重要的作用^[7]。该研究旨在探究 DEHP 暴露与胆汁淤积的关系,以及 OCA 后处理的保护作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 雌性 ICR 小鼠,8 周龄,26~30 g,SPF 级,购于北京维通利华实验动物技术有限公司。小鼠饲养在适宜的环境中:温度保持在(25±1)℃,湿度保持在(55±5)%,实验开始前将小鼠适应性饲养 7 d。本研究所使用的动物实验均已通过安徽医科大学动物伦理委员会审查并批准(编号:20200523)。

1.1.2 主要试剂 天门冬氨酸氨基转移酶(aspar-

0.05), while p62 protein, IRS-1 protein, Akt phosphorylation level, GLUT4 protein expression level and glucose uptake ability decreased ($P < 0.05$), while the above autophagy markers in MIF + CQ group were significantly higher than those in MIF group ($P < 0.05$), and the protein related to insulin signal transduction and glucose uptake increased ($P < 0.05$). **Conclusion** MIF may promote IR development in PCOS patients by up-regulating the autophagy level of granulosa cells, while inhibiting the autophagy of granulosa cells can improve MIF-induced IR.

Key words polycystic ovary syndrome; macrophage migration inhibitor; insulin resistance; granulosa cells

tate aminotransferase, AST)、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、总胆汁酸(total bile acid, TBA)试剂盒购于浙江伊利康生物技术有限公司;DEHP购于美国默克公司;OCA购于美国 Med-ChemExpress 公司;FXR 抗体购于英国 Abcam 公司。

1.1.3 主要仪器 超纯水仪(型号:Cascade TM I)购于美国颇尔公司;多功能酶标仪(型号:SENERGY 2)购于美国伯腾仪器公司;荧光定量 PCR 仪(型号:Light Cycle® 480 II)购于瑞士罗氏公司;全自动生化分析仪(型号:CS-T300)购于长春迪瑞医疗科技股份有限公司;GSY-8 电热恒温水浴锅(型号:ALLEGRA X-15 R)购于北京市医疗设备厂;高速冷冻离心机(型号:5427 R)购于德国艾本德股份公司;正置多功能荧光显微镜(型号:BX 53 + DP 80 + Cellsens)购于日本奥林巴斯公司。

1.2 方法

1.2.1 动物分组与处理 实验一:将雌性 ICR 小鼠随机分为对照组、DEHP 低剂量组[50 mg/(kg·d)]、DEHP 高剂量组[200 mg/(kg·d)],每组 10 只,共灌胃 18 d。所有小鼠在剖杀取材前禁食 6 h,收集血液和肝脏组织用于后续实验。实验二:将雌性 ICR 小鼠随机分为对照组、OCA 单独干预组(5 mg/kg)、DEHP 模型组[200 mg/(kg·d)]、DEHP + OCA 组,每组 10 只,共灌胃 18 d。DEHP 灌胃时间为每天早上 9 点,OCA 单独干预组和 DEHP + OCA 组中 OCA 灌胃时间为第 12~18 天每天早上 7 点,在最后一次 DEHP 灌胃结束后禁食 6 h 剖杀取材,收集血液和肝脏组织用于后续实验。

1.2.2 血清生化检测 使用生化分析仪检测血清中 ALT、AST、TBA 含量。

1.2.3 肝脏组织 TBA 测定 准确称量 100 mg 小鼠肝脏组织,加入 1 ml 75% 乙醇溶液进行组织匀浆,之后将组织匀浆液 50 °C 水浴 2 h,然后用离心机以 9 000 r/min 离心 10 min,吸取上清液,用生化分析仪检测。

1.2.4 Western blot 检测蛋白表达 称取小鼠肝脏组织 50 mg,加入 500 μl 裂解液低温研磨后放入 4 °C 冰箱裂解 30 min,离心获得总蛋白,使用酶标仪测定蛋白浓度并进行定量。总蛋白经 SDS-PAGE 电泳分离,转膜到 PVDF 膜上,用 5% 脱脂牛奶封闭 1 h,室温孵育一抗[FXR 一抗浓度 1:2 000,2 h;GAPDH 一抗浓度 1:5 000,1 h],再用相应二抗(1:40 000)室温孵育 2 h。使用 ECL 化学发光试剂盒在显影仪上显影,用 Image J 软件分析蛋白条带,计

算蛋白表达量。

1.2.5 RT-PCR 检测相关基因 采用 TRIzol 法提取肝脏 RNA,将所有提取的 RNA 样品的浓度定量在 500 ng/μl,逆转录成 cDNA,之后进行扩增反应,选取 18S 作为内参基因,计算 FXR、小异二聚体伴侣(small heterodimer partner, SHP)和 18S 核糖体 RNA(18S ribosomal RNA, 18S)基因的相对表达水平。基因的引物序列见表 1。

1.2.6 肝脏组织病理学观察 将小鼠新鲜肝脏组织放入 4% 多聚甲醛溶液中浸泡处理,室温放置摇床固定 24 h。进行脱水包埋并切片固定后,再用苏木精-伊红(HE)染色,在显微镜下观察并拍照。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 23.0 软件来进行统计分析,结果均以平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多组间的比较采用方差分析并进行事后 SNK 两两比较,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

表 1 基因的引物序列

| 基因名 | 引物序列(5'-3') |
|-----|--------------------------|
| 18S | 上游: GTAACCCGTTGAACCCCAT |
| | 下游: CCATCCAATCGGTAGTAGCG |
| FXR | 上游: TCCAGGGTTTCAGACACTGG |
| | 下游: GCCGAACGAAGAAACATGG |
| SHP | 上游: CAGCGCTGCCTGGACTCT |
| | 下游: AGGATCGTGCCTTCAGGTA |

2 结果

2.1 DEHP 暴露对小鼠肝脏质量及肝重指数的影响 如图 1 所示:在实验一中,与对照组相比,DEHP 低剂量组小鼠肝脏质量及肝重指数无明显变化,差异无统计学意义($P > 0.05$),DEHP 高剂量组小鼠肝脏质量及肝重指数增加,差异有统计学意义($P < 0.01$)。

2.2 DEHP 暴露对各组小鼠血清及肝脏组织生化结果的影响 如表 2 所示:在实验一中,与对照组相比,DEHP 低剂量组小鼠血清中 ALT、AST、TBA 和肝脏组织中 TBA 水平有轻微升高,但差异均无统计学意义($P > 0.05$);与对照组相比,DEHP 高剂量组小鼠血清中 ALT、AST 水平也轻微增加,但差异无统计学意义($P > 0.05$);与对照组相比,DEHP 高剂量组中小鼠血清与肝脏组织中 TBA 水平均显著升高,血清与肝脏组织中 TBA 分别升高了 3 倍和 2 倍左右,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.3 DEHP 暴露对各组小鼠肝组织病理学的影响 如图 2 所示:在实验一中,对照组中小鼠肝组

织结构完整,DEHP 低剂量组小鼠肝组织结构也无明显改变,DEHP 高剂量组小鼠肝组织中可见汇管区扩大,胆管变形以及胆管增生,胆管周围伴有少量炎性细胞浸润。

2.4 OCA 后处理对各组小鼠肝脏质量及肝重指数的影响 如图 3 所示:在实验二中,与对照组相比,DEHP 模型组小鼠肝脏质量和肝重指数增加,差异有统计学意义($P < 0.01$);与 DEHP 模型组相比,DEHP + OCA 组小鼠肝脏质量和肝重指数降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.5 OCA 后处理对各组小鼠血清及肝脏组织生化结果的影响 如表 3 所示:在实验二中,与对照组相比,DEHP 模型组小鼠血清中 ALT、AST 水平轻微增加,差异无统计学意义($P > 0.05$),但其血清和肝脏

中 TBA 水平明显升高,血清与肝脏组织中 TBA 均升高了 2 倍多,差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$);与 DEHP 模型组相比,DEHP + OCA 组小鼠血清和肝脏中 TBA 水平降低,差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

2.6 OCA 后处理对各组小鼠肝组织病理学的影响情况 如图 4 所示:在实验二中,对照组与 OCA 单独干预组小鼠肝组织结构完整,DEHP 模型组小鼠肝组织中可见汇管区扩大,胆管变形以及胆管增生,胆管周围伴有少量炎性细胞浸润,DEHP + OCA 组小鼠肝脏形态结构显著改善。

2.7 OCA 缓解 DEHP 暴露对肝脏中 FXR 的抑制作用 如图 5 所示:在实验二中,与对照组相比,DEHP[200 mg/(kg·d)] 暴露后显著抑制小鼠肝脏

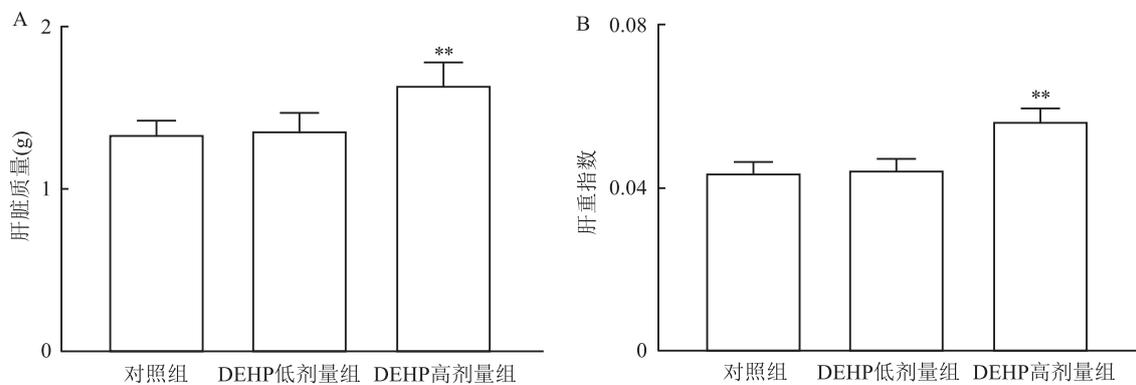


图 1 各组小鼠肝脏质量及肝重指数

A:肝脏质量;B:肝重指数;与对照组比较:** $P < 0.01$

表 2 各组小鼠血清及肝脏组织生化指标($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

| 组别 | ALT(U/L) | AST(U/L) | 血清 TBA($\mu\text{mol/L}$) | 肝脏 TBA($\mu\text{mol/g}$) |
|----------|--------------|---------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 对照 | 36.07 ± 1.71 | 123.80 ± 2.80 | 3.45 ± 0.53 | 12.86 ± 1.99 |
| DEHP 低剂量 | 37.46 ± 1.69 | 126.74 ± 3.86 | 4.55 ± 0.45 | 13.74 ± 1.68 |
| DEHP 高剂量 | 37.60 ± 0.76 | 132.10 ± 7.16 | 10.64 ± 2.16** | 21.98 ± 2.59* |
| F 值 | 0.349 | 0.605 | 7.105 | 5.465 |
| P 值 | 0.710 | 0.553 | 0.005 | 0.014 |

与对照组比较:* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

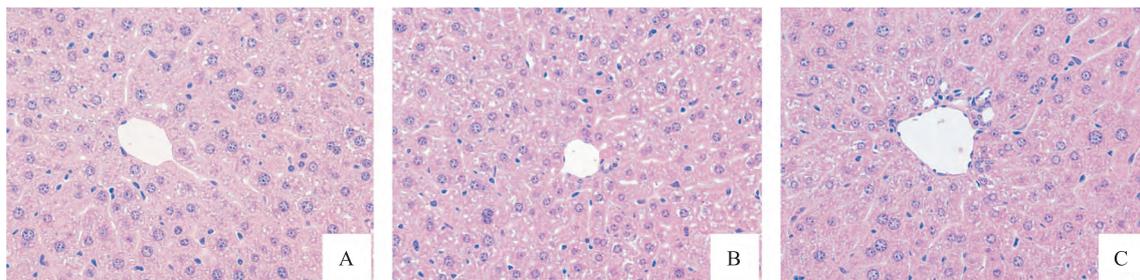


图 2 各组小鼠肝脏组织病理变化 HE × 400

A: 对照组;B: DEHP 低剂量组;C: DEHP 高剂量组

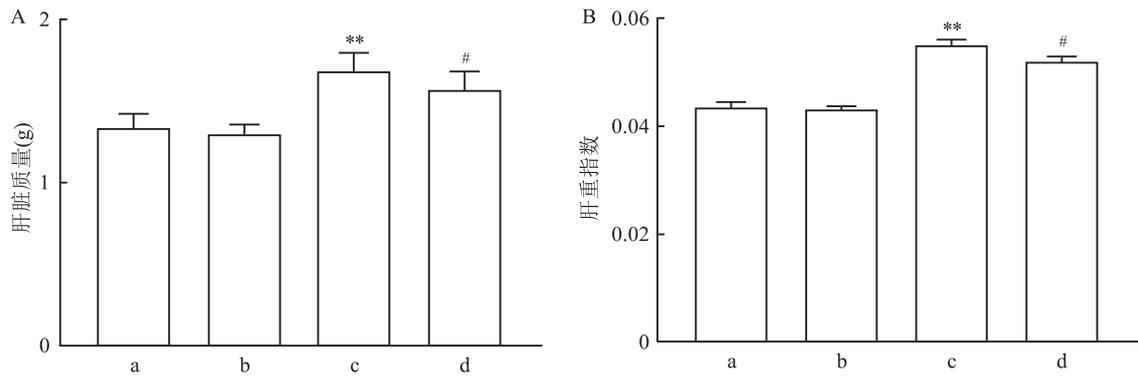


图3 OCA后处理对各组小鼠肝脏质量及肝重指数

A: 肝脏质量; B: 肝重指数; a: 对照组; b: OCA 单独干预组; c: DEHP 模型组; d: DEHP + OCA 组; 与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与 DEHP 模型组比较: # $P < 0.05$

表3 OCA 处理后各组小鼠血清及肝脏组织生化指标($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 | ALT(U/L) | AST(U/L) | 血清 TBA($\mu\text{mol/L}$) | 肝脏 TBA($\mu\text{mol/g}$) |
|------------|------------------|-------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 对照 | 37.79 \pm 2.05 | 124.00 \pm 6.27 | 4.34 \pm 1.00 | 11.97 \pm 1.66 |
| OCA 单独干预 | 36.01 \pm 1.56 | 124.35 \pm 5.02 | 4.84 \pm 0.40 | 13.53 \pm 2.17 |
| DEHP 模型 | 38.00 \pm 0.91 | 131.70 \pm 4.35 | 10.12 \pm 2.29* | 24.68 \pm 2.39** |
| DEHP + OCA | 37.11 \pm 1.33 | 126.60 \pm 6.85 | 8.02 \pm 1.13# | 16.19 \pm 1.28## |
| F 值 | 0.325 | 0.394 | 3.731 | 8.510 |
| P 值 | 0.807 | 0.759 | 0.023 | 0.001 |

与对照组比较: * $P < 0.01$, ** $P < 0.01$; 与 DEHP 模型组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

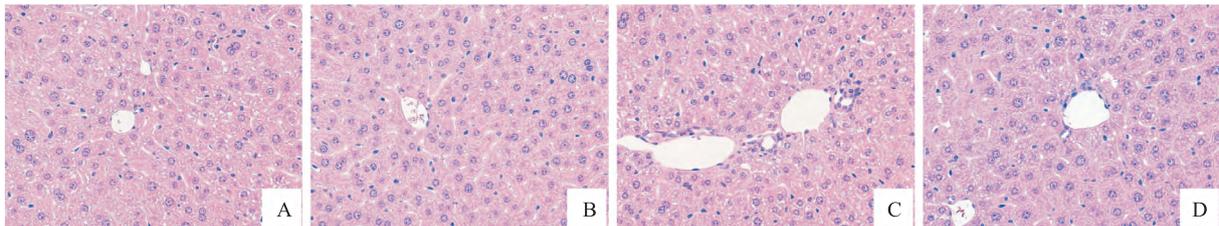


图4 各组小鼠肝脏组织病理变化 HE \times 400

A: 对照组; B: OCA 单独干预组; C: DEHP 模型组; D: DEHP + OCA 组

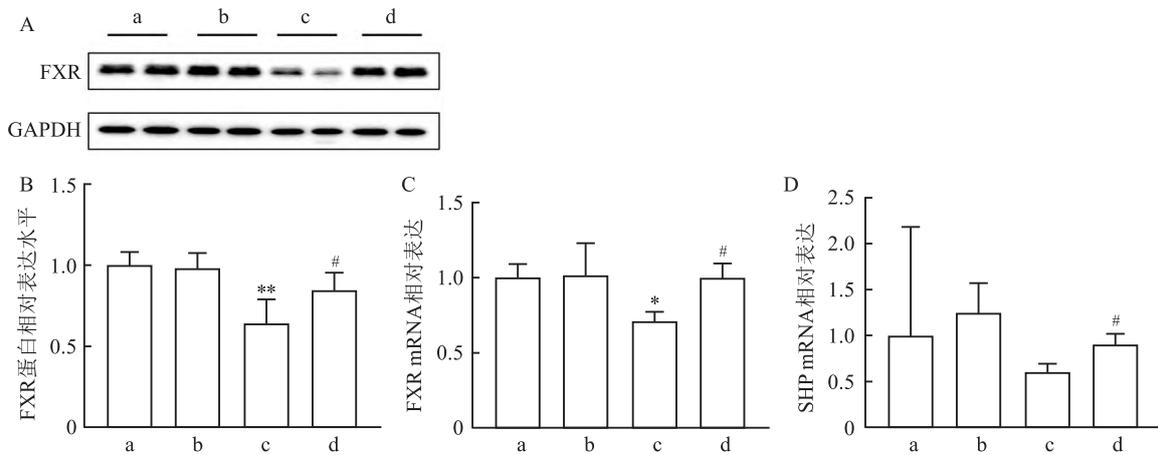


图5 OCA后处理激活 FXR/SHP 信号轴

A: Western blot 检测各组小鼠肝脏组织中 FXR 蛋白水平; B: FXR 蛋白相对表达水平; C: 各组小鼠肝脏组织中 FXR mRNA 水平; D: 各组小鼠肝脏组织中 SHP mRNA 水平; a: 对照组; b: OCA 单独干预组; c: DEHP 模型组; d: DEHP + OCA 组; 与对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 DEHP 模型组比较: # $P < 0.05$

组织 FXR 蛋白表达, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 与 DEHP 模型组相比, DEHP + OCA 组小鼠肝脏组织 FXR 蛋白表达水平升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。且与对照组相比, DEHP [200 mg/(kg · d)] 暴露后小鼠肝脏组织中 FXR 及其靶基因 SHP 的 mRNA 水平均降低; 与 DEHP 模型组相比, DEHP + OCA 组小鼠肝脏组织中 FXR、SHP 的 mRNA 水平升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

3 讨论

胆汁淤积是一种常见的消化系统疾病, 目前实验胆汁淤积动物模型的构建方法主要有药物诱导、胆管结扎手术和肠外营养法三类^[8]。针对胆汁淤积模型并无特别统一的评定标准, 主要依据血清生化结果和组织形态学检查来判断是否发生胆汁淤积, 而血清胆汁酸浓度升高是诊断的必要条件之一, 其中 TBA $> 10 \mu\text{mol/L}$ 可作为胆汁淤积的诊断标准^[9]。

DEHP 可通过多种暴露途径进入人体中, 包括口、静脉输液、皮肤吸收等。DEHP 经口摄入主要是通过食物进入人体, 其皮肤吸收来自化妆品等个人护理产品。在一些特殊工作人群中, 如塑料厂工人和油漆工人等以及大量使用化妆品的女性朋友中, DEHP 的暴露剂量已经远远超出了国家规定的安全剂量。DEHP 作为一种环境内分泌干扰物长期暴露会影响人体内分泌系统、生殖系统、神经发育、哮喘、自闭症以及肝、肺、甲状腺和肾脏等多个器官的毒性^[10-11]。在体内积累大量 DEHP 及其代谢产物时, 肝脏是最大的解毒器官^[12]。因此, 建立 DEHP 诱导胆汁淤积动物模型对于深入研究环境因素与胆汁淤积性肝病之间的关系具有重要意义。本研究选择 DEHP 暴露于雌性 ICR 小鼠, 发现 DEHP 暴露后导致小鼠胆汁淤积的发生。该研究中首先选择了 DEHP 50、200 mg/(kg · d) 两种暴露剂量^[13], 结果发现 DEHP 暴露剂量为 200 mg/(kg · d) 时, 小鼠肝脏质量及肝重指数均升高, 以及血清与肝脏组织胆汁酸均显著升高, 其中血清 TBA 水平相比于对照组升高了 3 倍左右, 结合病理结果, 提示 DEHP [200 mg/(kg · d)] 暴露后导致小鼠胆汁淤积的发生, 表明造模成功。

目前 OCA 主要作为针对单用 UDCA 效果不佳或不耐受的成年原发性胆汁性肝硬化 (primary biliary cirrhosis, PBC) 的患者, 有临床研究^[14]表明 OCA 可改善 PBC 患者的胆汁酸排泄。本研究中再给予

OCA 处理后, 发现 DEHP + OCA 组小鼠的肝脏质量、肝重指数、血清与肝脏组织中的 TBA 水平均显著降低, 包括其肝脏组织病理结果均明显好转, 表明 OCA 后处理对 DEHP [200 mg/(kg · d)] 暴露诱导的胆汁淤积有显著的保护作用。而 FXR 是机体胆汁酸代谢调控中的关键调节剂, FXR 及其靶基因 SHP 在胆汁酸的合成、分解以及转运过程中均起到关键的调节作用, FXR 在这些过程中的调节缺陷可能会导致胆汁淤积和随后的病理变化^[15]。本研究结果显示 DEHP [200 mg/(kg · d)] 处理后小鼠肝脏组织中 FXR 蛋白及其 mRNA 的表达均降低, 且 OCA 处理后 FXR 的蛋白表达水平和 FXR 及其靶基因 SHP 的 mRNA 表达量均明显升高, 表明 DEHP [200 mg/(kg · d)] 暴露后导致胆汁淤积的发生可能与抑制 FXR 表达有关, 而 OCA 的后处理可通过激活 FXR 及其靶基因 SHP 的表达, 从而调控胆汁酸的代谢, 对 DEHP 诱导的胆汁淤积起到保护作用。

本研究在动物模型中发现了 DEHP 暴露后导致小鼠胆汁淤积的发生, 且 OCA 后处理对 DEHP 暴露导致胆汁淤积起到治疗作用。此研究有助于对日常生活中塑化剂的使用做好预防工作以及针对胆汁淤积的治疗提供新的思路, 但 DEHP 暴露后导致鼠胆汁淤积具体机制还需进一步探讨。

参考文献

- [1] 曹甸甸, 高月求, 张文宏, 等. 基于上海市住院慢性肝病患者胆汁淤积患病率的调查研究[J]. 中华肝脏病杂志, 2015, 23(8): 569-73.
- [2] Li X, Han X, Vogt D, et al. Polyethylene terephthalate and di-(2-ethylhexyl) phthalate in surface and core sediments of Bohai Bay, China: Occurrence and ecological risk[J]. Chemosphere, 2021, 286(Pt 3): 131904.
- [3] Xiang W, Gong Q, Xu J, et al. Cumulative risk assessment of phthalates in edible vegetable oil consumed by Chinese residents[J]. J Sci Food Agric, 2020, 100(3): 1124-31.
- [4] Zhao Z B, Ji K, Shen X Y, et al. Di(2-ethylhexyl) phthalate promotes hepatic fibrosis by regulation of oxidative stress and inflammation responses in rats[J]. Environ Toxicol Pharmacol, 2019, 68: 109-19.
- [5] von Rettberg H, Hannman T, Subotic U, et al. Use of di(2-ethylhexyl) phthalate-containing infusion systems increases the risk for cholestasis[J]. Pediatrics, 2009, 124(2): 710-6.
- [6] Simbrunner B, Trauner M, Reiberger T. Review article: therapeutic aspects of bile acid signalling in the gut-liver axis[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2021, 54(10): 1243-62.
- [7] Zhang C, Gan Y, Lv J W, et al. The protective effect of obeticholic acid on lipopolysaccharide-induced disorder of maternal bile

- acid metabolism in pregnant mice [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 83(C): 106442.
- [8] 杜丽娜, 杨 燕. 胆汁淤积动物模型的构建及应用前景[J]. *临床肝胆病杂志*, 2019, 35(2): 444-7.
- [9] 陈成伟, 成 军, 窦晓光, 等. 胆汁淤积性肝病诊断和治疗共识(2015)[J]. *临床肝胆病杂志*, 2015, 31(12): 1989-99.
- [10] Mu X, Huang Y, Li J, et al. New insights into the mechanism of phthalate-induced developmental effects [J]. *Environ Pollut*, 2018, 241: 674-83.
- [11] 赵 晶, 郭 星, 吴佳姿, 等. 邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯对小鼠精母细胞 JAZF1 mRNA 及孤核受体 TR4 蛋白表达的影响[J]. *安徽医科大学学报*, 2017, 52(6): 847-9.
- [12] Praveena S M, Teh S W, Rajendran R K, et al. Recent updates on phthalate exposure and human health: a special focus on liver toxicity and stem cell regeneration[J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2018, 25(12): 11333-42.
- [13] Yu Z, Han Y, Shen R, et al. Gestational di-(2-ethylhexyl) phthalate exposure causes fetal intrauterine growth restriction through disturbing placental thyroid hormone receptor signaling [J]. *Toxicol Lett*, 2018, 294: 1-10.
- [14] Kjærgaard K, Frisch K, Sørensen M, et al. Obeticholic acid improves hepatic bile acid excretion in patients with primary biliary cholangitis[J]. *J Hepatol*, 2021, 74(1): 58-65.
- [15] Arab J P, Cabrera D, Arrese M. Bile acids in cholestasis and its treatment[J]. *Ann Hepatol*, 2017, 16(S1): S53-7.

Protective effect of obeticholic acid on cholestasis induced by subacute exposure to DEHP in mice

Qu Mingchao¹, Zhao Fan¹, Zhang Cheng², Zhang Jiayi¹, Ye Lu¹, Zhang Lun¹, Yu Yun¹, Wang Jianqing¹

(¹*Dept of Pharmacy, The Fourth Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230012;*

²*Dept of Toxicology, School of Public Health, Anhui Medical University, Key Laboratory of Environmental Toxicology of Anhui Higher Education Institutes, Hefei 230032)*

Abstract Objective To investigate the protective effect of obeticholic acid (OCA) on di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP)-induced cholestasis in mice. **Methods** Animal experiment 1: Female ICR mice were randomly divided into 3 groups: the control group, DEHP low-dose group [50 mg/(kg·d)] and DEHP high-dose group [200 mg/(kg·d)]. All mice were administered with DEHP by gavage for 18 days. Animal experiment 2: Female ICR mice were randomly divided into 4 groups: the control group, OCA group, DEHP model group [200 mg/(kg·d)] and DEHP + OCA group. All mice were administered with DEHP by gavage for 18 days and the duration of OCA was 12-18 days. Serum and liver tissues of mice were collected. Serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), total bile acid (TBA) levels, liver TBA levels, protein expression of farnesoid X receptor (FXR) and mRNA levels of FXR and SHP were detected. HE staining was used to observe the pathological changes in liver tissues. **Results** Experiment 1: Compared with the control group, the liver weight, liver coefficient and the TBA concentrations in serum and liver significantly increased only in DEHP [200 mg/(kg·d)] group ($P < 0.01$), indicating that the modeling was successful. Animal experiment 2: Compared with the DEHP model group, the liver weight and liver coefficient significantly decreased after OCA treatment, and the TBA concentrations in serum and liver both decreased ($P < 0.01$). Compared with the control group, the protein expression level and its mRNA level of FXR decreased after DEHP [200 mg/(kg·d)] treatment; Compared with the DEHP model group, the protein expression of FXR and the mRNA levels of FXR and SHP significantly increased after OCA treatment ($P < 0.05$). **Conclusion** DEHP exposure can induce cholestatic liver injury in mice, and OCA posttreatment has a protective effect on DEHP-induced cholestasis in mice.

Key words di(2-ethylhexyl) phthalate; obeticholic acid; cholestasis