

MMI-0100 对 DDC 诱导的胆汁淤积性肝损伤的治疗作用研究

张波^a, 谈仁秀^a, 黄芝月^a, 李静^a, 王建玲^a, 张蓓蓓^a, 宋文婷^{b*}(徐州医科大学, a.病原生物学与免疫学教研室, 江苏省免疫与代谢重点实验室, 徐州市感染与免疫重点实验室, b.口腔医学院, 江苏 徐州 221004)

摘要: 目的 探讨 MMI-0100 对 3,5-二乙氧基羧基-1,4-二氢-2,4,6-三甲基吡啶(DDC)诱导的小鼠胆汁淤积性肝损伤的治疗作用。方法 15 只 Balb/c 小鼠随机分为对照组、模型组(DDC), 治疗组(DDC+MMI-0100), 每组 5 只。对照组小鼠给予正常饮食 2 周, 其余 2 组小鼠给予 0.1% DDC 饮食喂养 1 周后, 再给予正常饮食 1 周, 同时治疗组小鼠在 DDC 饲养 1 周后, 每天经腹腔注射 MMI-0100 进行治疗, 注射量剂量为 500 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 连续注射 1 周; 对照组和模型组小鼠给予等量无菌生理盐水。观察并记录各组小鼠肝脏大体情况, HE 和 Masson 染色观察肝脏的病理改变, 免疫组化检测胆管增生指标 CK19 和 Ki67, 实时定量 PCR 检测肝脏纤维化相关基因 α -SMA 的表达。结果 与模型组相比, 治疗组小鼠肝脏纤维化病变减轻($P<0.01$), 炎症细胞浸润减少($P<0.01$), 肝脏组织 Knodell Score 评分降低($P<0.01$), 同时胆管增生相关指标 CK19 和 Ki67 表达降低($P<0.05$), 肝脏 α -SMA 的 mRNA 表达水平降低($P<0.01$)。结论 MMI-0100 对 DDC 诱导的小鼠原发性硬化性胆管炎有良好的治疗作用。

关键词: MMI-0100; 胆汁淤积; 治疗作用

中图分类号: R965.2 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2022)13-1692-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.13.005

引用本文: 张波, 谈仁秀, 黄芝月, 等. MMI-0100 对 DDC 诱导的胆汁淤积性肝损伤的治疗作用研究[J]. 中国现代应用药理学, 2022, 39(13): 1692-1697.

Study on Therapeutic Effect of MMI-0100 Against DDC-induced Cholestatic Liver Injury

ZHANG Bo^a, TAN Renxiu^a, HUANG Zhiyue^a, LI Jing^a, WANG Jianling^a, ZHANG Beibei^a, SONG Wenting^{b*}
(Xuzhou Medical University, a.Department of Pathogenic Biology and Immunology, Jiangsu Key Laboratory of Immunity and Metabolism, Xuzhou Key Laboratory of Infection and Immunity, b.School of Stomatology, Xuzhou 221004, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the therapeutic effect of MMI-0100 on 3,5-diethoxycarboxyl-1,4-dihydro-2,4,6-trimethylpyridine(DDC)-induced cholestatic liver injury in mice. **METHODS** Fifteen Balb/c mice were randomly divided into control group, model group(DDC) and treatment group(DDC+MMI-0100). There were 5 mice in each group. Mice in control group were fed with normal diet for 2 weeks, and mice in other two groups were fed with 0.1% DDC diet for 1 week and then given normal diet for another one week. After DDC diet for 1 week, mice in treatment group were intraperitoneally injected with 500 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ of MMI-0100 every day for 1 week. Mice in control group and model group were given the same amount of sterile normal saline. The general conditions of liver of mice in each group were observed and recorded. The pathological changes of liver were observed by HE and Masson staining. Markers of biliary duct hyperplasia CK19 and Ki67 were detected by immunohistochemistry. The expression of α -SMA gene which related to liver fibrosis was detected by real-time quantitative PCR. **RESULTS** Compared with model group, liver fibrosis, inflammatory cell infiltration and the Knodell Score of mice all reduced significantly in the treatment group($P<0.01$). In addition, the bile duct hyperplasia associated markers CK19 and Ki67 also decreased in the treatment group($P<0.05$), and the mRNA expression level of α -SMA in liver was decreased($P<0.01$). **CONCLUSION** MMI-0100 has a good therapeutic effect on DDC-induced mouse primary sclerosing cholangitis.

KEYWORDS: MMI-0100; cholestasis; therapeutic effect

胆汁淤积是指胆汁形成和(或)流动障碍导致胆汁流动紊乱, 是肝脏疾病的常见并发症之一。引起胆汁流动紊乱的因素有多种, 任何能引起肝胆管细胞损害及胆道系统梗阻的因素均可导致胆汁淤积发生, 常见的因素主要有寄生虫、病毒、

细菌感染、自身免疫、药物或毒物、酒精、结石和遗传代谢等^[1], 临床上常见的胆汁淤积性疾病主要有原发性胆汁性胆管炎、原发性硬化性胆管炎(primary sclerosing cholangitis, PSC)以及各型病毒性肝炎所致的胆汁淤积。在大多数情况下, 胆汁

基金项目: 江苏省自然科学基金项目(BK20201011); 江苏省高校自然科学研究项目(20KJB310011); 江苏省博士后基金项目(RC7062005); 江苏省研究生创新计划(KYCX20-2468)

作者简介: 张波, 男, 硕士, 实验师 E-mail: 1262179198@qq.com *通信作者: 宋文婷, 女, 硕士, 讲师 E-mail: 1254872253@qq.com

淤积是良性病变, 发病率或病死率不高, 但是长期的胆汁淤积最终可导致肝硬化甚至肝衰竭, 且患者预后较差^[2-3]。目前, 仅有奥贝胆酸和熊去氧胆酸 2 种药物经美国 FDA 批准并用于临床治疗胆汁淤积性肝病。然而, 奥贝胆酸具有一定的肝毒性, 熊去氧胆酸仅对部分患者有治疗效果^[4-6]。因此, 寻找并研发胆汁淤积性肝病的有效药物一直是近年来的研究热点。

研究表明, p38 丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路在胆汁淤积性肝损伤的发生、发展中发挥着重要的作用, 与胆汁淤积性肝损伤密切相关^[7-8]。MAPK 激酶活化蛋白激酶-2(MAPK-activated protein kinase 2, MK2), 属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族, 是 p38 MAPK 的下游激酶^[9], 肝脏特异性 p38 α 敲除的慢性胆汁淤积小鼠肝脏中 MK2 磷酸化水平显著降低^[10]。研究显示, 抑制 MK2 的活性, 可以下调炎症细胞因子的表达, 如 TNF- α , IL-1 β 和 IL-6^[11-13]。MMI-0100 是由 22 个氨基酸组成的短肽化合物, 是 MK2 的活性抑制剂。有研究表明, MMI-0100 可以抑制心肌纤维化, 改善博来霉素诱导的肺纤维化^[9], 并且在临床上被用于治疗肺纤维化(临床试验编号: NCT02515396)^[14]。而 MMI-0100 对胆汁淤积性肝病的治疗效果尚未见报道。为此, 本研究采用 3,5-二乙氧基羰基-1,4-二氢-2,4,6-三甲基吡啶(DDC)诱导的 PSC 小鼠模型, 观察 MMI-0100 对胆汁淤积性肝损伤的治疗作用, 以期为开发新的胆汁淤积性肝病治疗药物提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 Balb/c 小鼠 15 只, ♂, SPF 级, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 动物生产许可证号: SCXK(浙)2019-0001, 小鼠饲养于徐州医科大学实验动物中心清洁级屏障系统。

1.1.2 药物及试剂 MMI-0100(序列: YARAAARQARAKALARQLGVAA)由吉尔生化(上海)有限公司合成;CK19 兔单克隆抗体(Abcam, 批号: ab133496);Ki67 兔单克隆抗体(CST, 批号: 12202);DDC(Sigma, 批号: 137030), 1% DDC 饲料由北京科奥协力饲料有限公司合成;DAB 显色试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司, 批号: ZLI-9018);Masson 染液(南京建成生物工程研究所有限公司, 货号: D026-1-3);RT-PCR 试剂盒、SYBR

Green(上海翌圣生物科技有限公司, 批号分别为 11141ES60, 11184ES08)。

1.1.3 仪器 Roche LightCycler 480 荧光定量 PCR 仪(Roche); BX51 正置荧光显微镜(OLYMPUS)。

1.2 分组和造模

15 只 Balb/c 小鼠随机分为对照组、模型组(DDC), 治疗组(DDC+MMI-0100), 每组 5 只。除了对照组, 其余 2 组小鼠先给予 0.1% DDC 辐照饲料喂养 1 周, 诱导胆汁淤积性肝损伤, 继续用正常饲料喂养 1 周, 共喂养 2 周。

1.3 药物干预

治疗组小鼠在 DDC 饲养 1 周后, 每天经腹腔注射 MMI-0100 进行治疗, 每只小鼠的药物注射量为 500 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 连续注射 1 周; 对照组和模型组小鼠, 每天经腹腔注射等量的无菌生理盐水, 连续注射 1 周。

1.4 检测指标和方法

1.4.1 肝脏病理学检测(HE 和 Masson 染色) 饲养 2 周后, 记录各组小鼠体质量, 颈椎脱臼法处死小鼠, 低温下分离小鼠完整肝脏, 肉眼观察小鼠肝脏病变, 称肝脏湿重, 计算肝脏指数=肝湿重/体质量 $\times 100\%$; 取约 5 mm \times 5 mm \times 2 mm 大小肝组织, 置 10%多聚甲醛固定 24 h, 酒精梯度脱水, 石蜡包埋, 4 μm 厚度连续切片, HE 染色、Masson 染色后在显微镜下观察肝脏病理学改变并采集图片, 肝脏组织炎症活动度采用 Knodell Score 组织学活动指数评分^[15], 评分标准见表 1, 肝脏纤维化程度采用 Image-Pro Plus 进行半定量分析。图像编号后, 在病理学专业指导下, 由另外 2 位小组成员分别独立完成图像分析。

1.4.2 免疫组织化学染色(CK19 和 Ki67) 肝组织切片经脱蜡, 用 PBS 洗 3 次, 每次 5 min; 将切片放入 0.01 mmol $\cdot\text{L}^{-1}$ 柠檬酸盐缓冲液中进行抗原热修复 15 min, PBS 洗 3 次, 每次 5 min; 滴加 H₂O₂ 室温孵育 10 min, PBS 洗 3 次, 每次 5 min; 滴加兔抗 CK19 多克隆抗体(1:200), 兔抗 Ki67 多克隆抗体(1:200), 放入湿盒 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜; PBS 洗 3 次, 每次 10 min 后, 滴加试剂 1(聚合物辅助物), 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10 min, PBS 洗 3 次, 每次 10 min; 滴加试剂 2(辣根酶标记抗兔 IgG 多聚体), 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min, PBS 洗 3 次, 每次 10 min; 加 DAB 显色, 苏木素复染, 用自来水返蓝, 经梯度酒精脱

水、透明后封片,镜下观察,并采用 Image-Pro Plus 进行半定量分析。

表 1 小鼠肝脏病理切片 Knodell Score 评分标准

Tab. 1 Knodell Score scoring standard of mouse liver pathological sections

Knodell Score 评分	得分
门脉周围±桥接性坏死(碎屑样坏死)	
无	0
轻微碎屑样坏死	1
中度碎屑样坏死(小于大多数门静脉管径的 50%)	3
重度的碎屑样坏死(占大多数门静脉管径的 50%以上)	4
中度碎屑样坏死+桥接性坏死	5
重度的碎屑样坏死+桥接性坏死	6
多小叶坏死	10
小叶内肝细胞变性和灶性坏死	
无	0
轻度(<1/3 小叶或结节内有嗜酸性小体、气球样变性和/或散在灶状坏死)	1
中度(1/3~2/3 的小叶或结节受累)	3
重度(>2/3 小叶或结节受累)	4
汇管区炎症	
无	0
轻度(<1/3 汇管区有少量炎症细胞)	1
中度(1/3~2/3 汇管区炎症细胞增多)	3
重度(>2/3 汇管区内有大量炎症细胞集堆积)	4
纤维化	
无	0
门静脉区纤维化扩张	1
桥样纤维化	3
肝硬化	4

1.4.3 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测肝组织中 mRNA 表达水平 用 TRIzol 法提取各组肝组织总 RNA, 逆转录成 cDNA 后进行 PCR 扩增反应。引物序列, GAPDH: ACTCCA CT CACGGCAAATTC (上游), TCTCCATGGTGGTGAAGACA(下游); α -

SMA: CACAGCCCTGGTGTGCGACAAT(上游), TTGCTCTGGGCTTCATCCCCCA(下游)。扩增体系 (20 μ L) 为: 2 \times SYBR qPCR 预混液 10 μ L, 10 μ mol \cdot L⁻¹ 上、下游引物各 1 μ L, cDNA 1 μ L, DEPC 水 7 μ L; 扩增程序: 95 $^{\circ}$ C 5 min; 95 $^{\circ}$ C 10 s, 60 $^{\circ}$ C 10 s, 72 $^{\circ}$ C 10 s, 共 35 个循环。根据所获循环阈值(Ct), 计算相应基因的相对表达水平。以 GAPDH 作为内参, 目的基因 mRNA 相对表达量采用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 计算。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 16.0 软件进行统计学分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 肝脏大体病理标本观察

小鼠喂养含 DDC 的饲料后, 毛发散乱无光泽、反应迟缓, 对照组小鼠一切正常。对照组小鼠肝脏呈粉、绛红色, 表面光滑; DDC 诱导后小鼠肝脏肿大, 色泽黄变, 颜色加深; MMI-0100 治疗后, 肝脏形态与模型组肉眼观没有明显差别。与对照组相比, 模型组和治疗组小鼠的肝脏指数明显升高 ($P < 0.01$); 治疗组与模型组小鼠肝脏指数相比差异无统计学意义, 见图 1。

2.2 肝脏组织病理学变化

HE 染色结果显示, 对照组肝脏小叶结构完整, 无胆管增生和纤维组织, 肝脏细胞形态正常无变性坏死, 胆管周围无炎症细胞浸润; 模型组小鼠肝细胞点状、灶状坏死, 胆管增生严重, 周围纤维组织增生严重, 胆管周围有大量炎症细胞浸润; 治疗组小鼠肝脏小叶结构完整, 肝细胞无坏死变性, 有少量胆管增生和纤维组织, 胆管

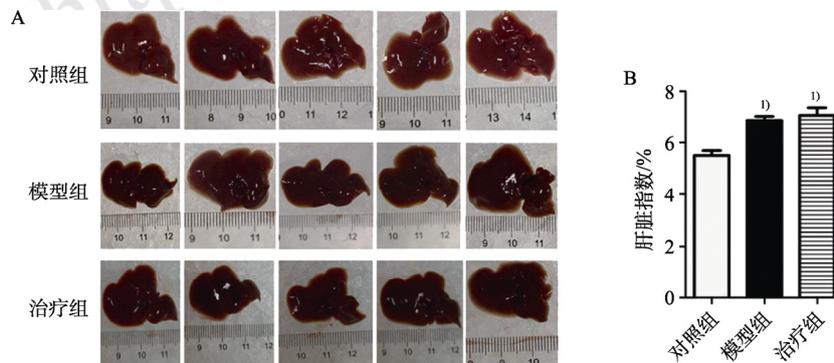


图 1 各组小鼠肝脏肉眼观察(A)和肝脏指数(B)与对照组比, ¹⁾ $P < 0.01$ 。

Fig. 1 Comparison of liver morphology(A) and liver index(B) in different groups of mice Compared with control group, ¹⁾ $P < 0.01$.

周围有少量炎症细胞浸润,结果见图2A。通过Knodell Score 组织学活动指数评分对肝脏的炎症程度进行评价,结果显示治疗组的炎症等级显著小于模型组($P<0.01$),结果见图2B。

2.3 肝脏 Masson 染色结果和 α -SMA 的基因表达

Masson 染色结果显示,模型组小鼠肝脏组织有大量的胶原纤维沉积,肝脏有明显的坏死灶;治疗组小鼠肝脏组织胶原纤维沉积明显减少,结果见图3A。经Image-Pro Plus 软件计算,治疗组的纤维化面积百分比明显低于模型组($P<0.01$),结果见图3B。检测肝脏中纤维化基因的表达情况,与模型组相比,治疗组 α -SMA 表达降低($P<0.01$),结果见图3C。

2.4 CK19 免疫组化染色结果

镜下观察,CK19 阳性染色的胆管上皮细胞胞质被染为棕褐色,通过半定量分析,治疗组肝脏的CK19 表达低于模型组($P<0.05$),结果见图4。

2.5 Ki67 免疫组化染色结果

Ki67 免疫组化染色结果显示,模型组小鼠肝脏见大量 Ki67 阳性的胆管上皮细胞,治疗组小

鼠肝脏 Ki67 阳性的胆管上皮细胞数目显著减少,经软件分析,差异具有统计学意义($P<0.05$),结果见图5。

3 讨论

胆汁淤积是由于胆汁形成和(或)流动障碍,导致胆汁流动紊乱,长期持续的胆汁淤积将进展为肝纤维化甚至肝硬化。PSC 是一种慢性胆汁淤积性肝病,病因复杂,预后差,表现为肝内外胆管进行性炎症,胆管呈节段性狭窄及扩张,导致不规则的胆管闭塞,形成多病灶胆管狭窄,最终可发展为肝硬化和肝衰竭。DDC 药物诱导的胆汁淤积性动物模型,是研究 PSC 致病机制和药物治疗的常用动物模型^[16]。因此,本研究采用 DDC 饲料喂养建立小鼠胆汁淤积性肝损伤模型。

p38 MAPK 是一种重要的信号传导系统,对氧化应激、炎症等刺激敏感,参与炎症,细胞生长、分化,细胞周期以及细胞凋亡等的进程^[17]。在肝脏疾病中,p38 MAPK 信号通路发挥着重要的作用。研究发现,p38 MAPK 信号通路的异常表达与胆汁淤积、肝炎、肝纤维化、肝癌等肝脏常见疾

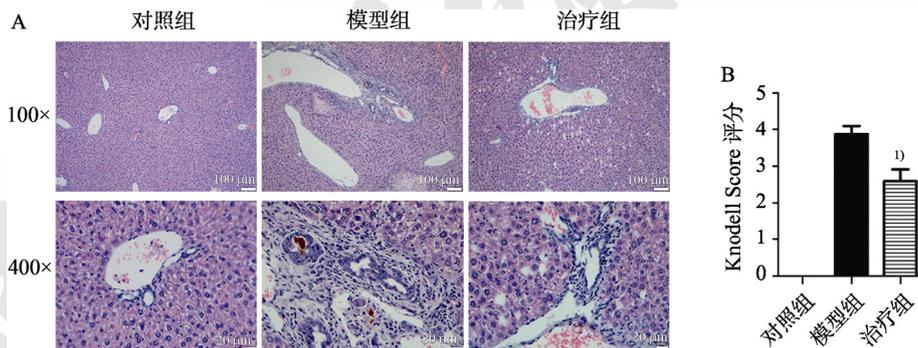


图2 各组小鼠肝脏组织病理学结果 A-肝脏组织 HE 染色结果; B-肝脏组织 Knodell Score 评分; 与模型组相比, ¹⁾ $P<0.01$ 。

Fig. 2 Histomorphological results of liver tissue in each group of mice A-HE staining result of liver tissue; B-Knodell Score of liver tissue; compared with model group, ¹⁾ $P<0.01$.

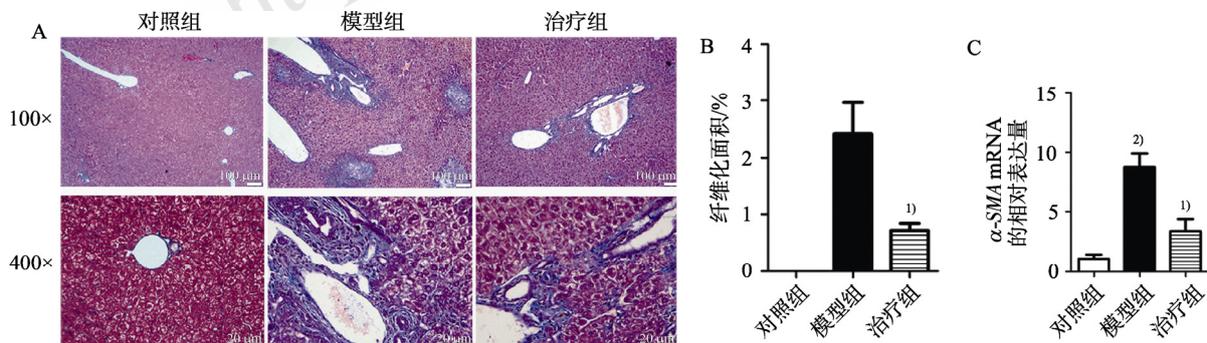


图3 各组小鼠肝脏组织 Masson 染色结果和肝脏 α -SMA mRNA 表达情况 A-肝脏组织 Masson 染色; B-肝脏组织纤维化面积; C-肝脏组织 α -SMA mRNA 相对表达量; 与模型组相比, ¹⁾ $P<0.01$; 与对照组相比, ²⁾ $P<0.01$ 。

Fig. 3 Masson staining result of liver fibrosis and the mRNA expressions of α -SMA in liver in each group of mice A-Masson staining of the liver tissue; B-fibrosis area of liver tissue; C-the relative expression of α -SMA mRNA in liver tissue; compared with model group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with control group, ²⁾ $P<0.01$.

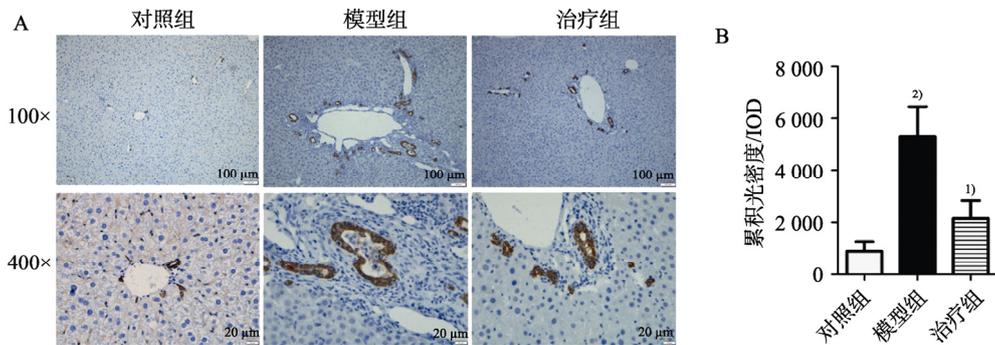


图4 各组小鼠肝脏组织 CK19 蛋白表达情况

A-肝脏组织 CK19 免疫组化染色；B-肝脏组织 CK19 累积光密度；与模型组相比，¹⁾ $P < 0.05$ ；与对照组比，²⁾ $P < 0.01$ 。

Fig. 4 Expression of CK19 proteins in liver tissues in each group of mice

A-Immunohistochemical staining of CK19; B-integrated optical density of CK19; compared with model group, ¹⁾ $P < 0.05$; compared with control group, ²⁾ $P < 0.01$.

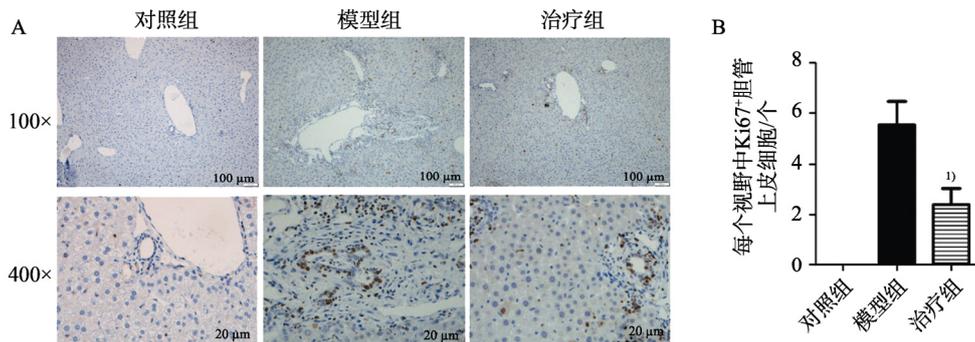


图5 各组小鼠肝脏组织 Ki67 蛋白表达情况

A-肝脏组织 Ki67 免疫组化染色；B-每个视野中 Ki67+胆管上皮细胞个数；与模型组相比，¹⁾ $P < 0.05$ 。

Fig. 5 Expression of Ki67 proteins in liver tissues in each group of mice

A-Immunohistochemical staining of Ki67 in liver tissue; B-the number of Ki67 positive bile duct epithelial cells per field; compared with model group, ¹⁾ $P < 0.05$.

病关系密切，是肝炎、肝纤维化及肝癌治疗药物的常见作用靶点。MK2 是 p38 MAPK 的下游激酶，活化后调控目的基因的转录表达，进而调控炎症因子和应激反应。小鼠中 MK2 缺陷可降低炎症反应，减少 LPS 诱导的 TNF 的产生，同时增加对败血症的抵抗能力^[18-19]。抑制 MK2 的活性可以减少炎症^[20]和成肌纤维细胞的分化，并且能显著降低 α -SMA 蛋白的表达^[21]。MMI-0100 是一种 MK2 的抑制剂，在细胞中可以抑制 MK2 的活性，减少炎症因子的表达，抑制成肌纤维细胞的活化。研究表明，MMI-0100 可以抑制心肌和肺组织纤维化^[9]，且其已用于肺纤维化的临床治疗^[14]。

鉴于临床患者多是由于胆汁淤积造成身心不适后再就医治疗，因此笔者首先通过 DDC 饮食 1 周诱导建立小鼠胆汁淤积性肝损伤，再经过 1 周的 MMI-0100 药物治疗，最大化地模拟临床实际。研究结果发现，MMI-0100 药物治疗后小鼠肝脏的纤维化病变减轻，炎症细胞的浸润减少，同时胆管增生程度也有所缓解，肝脏 α -SMA 的 mRNA 表

达水平降低。CK19 主要存在于肝祖细胞和胆管上皮细胞中，是广泛使用的胆管细胞、肝祖细胞标记物和胆管反应标志物^[22]；Ki67 表达于活跃分裂的细胞核中，是细胞增殖的标志物^[23]，实验结果显示，MMI-0100 治疗可以显著下调 DDC 饮食引起的 CK19 和 Ki67 的高表达，表明 MMI-0100 可以抑制胆管上皮细胞的增殖。以上结果均表明 MMI-0100 对胆汁淤积性肝损伤有良好的治疗效果。MMI-0100 药物治疗后小鼠肝脏指数无明显降低，未能有效缓解 DDC 饮食诱导引起的肝肿大，这可能由于小鼠经 DDC 饮食诱导 1 周引起肝损伤后，再经 MMI-0100 药物治疗 1 周，药物治疗虽可有效缓解肝胆管增生、炎症细胞浸润和肝纤维化，但是其治疗效应还不足以逆转 DDC 饮食造成的肝肿大。另外，本研究仅分析了 MMI-0100 给药剂量为 $500 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的治疗效果，后续尚需对 MMI-0100 的给药剂量和给药时间进行系统的药理学分析，寻求最佳的药物治疗方案，为基于抑制 MK2 活性的胆汁淤积性肝损伤的治疗药物研发提供扎实的

实验基础。今后的研究将进一步评价对比 MMI-0100 与现有药物奥贝胆酸和熊去氧胆酸在治疗胆汁淤积性肝病中的药效区别。

综上所述,本研究证实 MMI-0100 可有效缓解 DDC 诱导的胆汁淤积性肝损伤,为研发新型胆汁淤积性肝病的治疗药物提供了一定的实验依据。

REFERENCES

- [1] LAZARIDIS K N, LARUSSO N F. The cholangiopathies[J]. *Mayo Clin Proc*, 2015, 90(6): 791-800.
- [2] WANG M Q, LIN C Z, ZHU C C. Mechanism prediction of medicine pair of Ramulus et Folium Picrasmae and Herba Andrographis against cholestasis based on network pharmacology[J]. *Pharm Today(今日药学)*, 2020, 30(7): 453-461, 473.
- [3] 中华医学会肝病学会, 中华医学会消化病学分会, 中华医学会感染病学分会. 胆汁淤积性肝病诊断和治疗共识(2015)[J]. *中华传染病杂志*, 2016, 34(3): 129-140.
- [4] EATON J E, VUPPALANCHI R, REDDY R, et al. Liver injury in patients with cholestatic liver disease treated with obeticholic acid[J]. *Hepatology*, 2020, 71(4): 1511-1514.
- [5] GOLDSTEIN J, LEVY C. Novel and emerging therapies for cholestatic liver diseases[J]. *Liver Int*, 2018, 38(9): 1520-1535.
- [6] SONG Q Q. Meta-analysis of ursodeoxycholic acid for improving the outcomes of intrahepatic cholestasis of pregnancy[J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学)*, 2016, 33(11): 1468-1473.
- [7] KUBITZ R, SÜTFELS G, KÜHLKAMP T, et al. Trafficking of the bile salt export pump from the Golgi to the canalicular membrane is regulated by the p38 MAP kinase[J]. *Gastroenterology*, 2004, 126(2): 541-553.
- [8] JIROUSKOVA M, NEPOMUCKA K, OYMAN-EYRILMEZ G, et al. Plectin controls biliary tree architecture and stability in cholestasis[J]. *J Hepatol*, 2018, 68(5): 1006-1017.
- [9] VITTAL R, FISHER A, GU H M, et al. Peptide-mediated inhibition of mitogen-activated protein kinase-2 ameliorates bleomycin-induced pulmonary fibrosis[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2013, 49(1): 47-57.
- [10] TORMOS A M, ARDUINI A, TALENS-VISCONTI R, et al. Liver-specific p38 α deficiency causes reduced cell growth and cytokinesis failure during chronic biliary cirrhosis in mice[J]. *Hepatology*, 2013, 57(5): 1950-1961.
- [11] SINGH R K, NAJMI A K, DASTIDAR S G. Biological functions and role of mitogen-activated protein kinase activated protein kinase 2(MK2) in inflammatory diseases[J]. *Pharmacol Rep*, 2017, 69(4): 746-756.
- [12] FYHRQUIST N, MATIKAINEN S, LAUERMA A. MK2 signaling: Lessons on tissue specificity in modulation of inflammation[J]. *J Invest Dermatol*, 2010, 130(2): 342-344.
- [13] GURGIS F M, ZIAZIARIS W, MUNOZ L. Mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase 2 in neuroinflammation, heat shock protein 27 phosphorylation, and cell cycle: Role and targeting[J]. *Mol Pharmacol*, 2014, 85(2): 345-356.
- [14] KILCHRIST K V, EVANS B C, BROPHY C M, et al. Mechanism of enhanced cellular uptake and cytosolic retention of MK2 inhibitory peptide nano-polyplexes[J]. *Cell Mol Bioeng*, 2016, 9(3): 368-381.
- [15] GOODMAN Z D. Grading and staging systems for inflammation and fibrosis in chronic liver diseases[J]. *J Hepatol*, 2007, 47(4): 598-607.
- [16] DU L N, YANG Y. Establishment and application of animal models of cholestasis[J]. *J Clin Hepatol(临床肝胆病杂志)*, 2019, 35(2): 444-447.
- [17] DENG Z H, HUANG G L, QIN X S, et al. Research progress of correlations between P38 MAPK signaling pathway and liver diseases[J]. *Med Recapit(医学综述)*, 2020, 26(22): 4395-4403.
- [18] KOTLYAROV A, NEININGER A, SCHUBERT C, et al. MAPKAP kinase 2 is essential for LPS-induced TNF-alpha biosynthesis[J]. *Nat Cell Biol*, 1999, 1(2): 94-97.
- [19] RONKINA N, KOTLYAROV A, DITTRICH-BREIHOLOZ O, et al. The mitogen-activated protein kinase(MAPK)-activated protein kinases MK2 and MK3 cooperate in stimulation of tumor necrosis factor biosynthesis and stabilization of p38 MAPK[J]. *Mol Cell Biol*, 2007, 27(1): 170-181.
- [20] WARD B C, KAVALUKAS S, BRUGNANO J, et al. Peptide inhibitors of MK2 show promise for inhibition of abdominal adhesions[J]. *J Surg Res*, 2011, 169(1): e27-e36.
- [21] LOPES L B, FLYNN C, KOMALAVILAS P, et al. Inhibition of HSP27 phosphorylation by a cell-permeant MAPKAP Kinase 2 inhibitor[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 382(3): 535-539.
- [22] ZHOU Q Y, YANG H M, LI J, et al. Therapeutic effect of rapamycin in DDC-induced primary sclerosing cholangitis in mice[J]. *Chin J Comp Med(中国比较医学杂志)*, 2021, 31(6): 9-15.
- [23] WU R R, LIU H F, WANG C, et al. Effect of micheliolide on proliferation and apoptosis of colon cancer cells[J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学)*, 2021, 38(13): 1559-1565.

收稿日期: 2021-07-10

(本文责编: 陈怡心)