

## 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

黄祥涛, 肖润梅, 吴银祥, 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 研究氢溴酸槟榔碱对大鼠肝脏细胞色素 P450 2B (CYP2B) 表达的影响及其调控机制。方法 Wistar 雄性大鼠连续 ig 氢溴酸槟榔碱 (4、20、100 mg/kg) 7 d, LC-MS/MS 法检测肝脏 CYP2B 活性, Western blotting 法检测肝脏 CYP2B1/2、组成型雄甾烷受体 (CAR) 及核内 CAR 蛋白表达量, 定量荧光 PCR 检测肝脏 CYP2B1 mRNA 表达量。结果 氢溴酸槟榔碱对大鼠肝脏 CYP2B 蛋白的表达没有明显影响, 但对肝脏 CYP2B1 mRNA 表达的诱导作用随剂量增加而增强, 对 CYP2B 活性的诱导作用随剂量增加而减弱。此外, 给药后肝细胞核内 CAR 蛋白量增加, 但肝细胞总 CAR 蛋白的量无明显变化。结论 氢溴酸槟榔碱体内通过促进 CAR 向核内转移, 诱导了大鼠肝脏 CYP2B 活性, 且对 CYP2B 的调控主要发生在转录水平, 也可能存在翻译后修饰。

**关键词:** 氢溴酸槟榔碱; 肝脏; CYP2B; CAR 蛋白; 药物代谢酶

**中图分类号:** R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2016)20-3668-05

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.20.018

## *In vivo* effect of arecoline hydrobromide on rat hepatic CYP2B expression and its mechanism

HUANG Xiang-tao, XIAO Run-mei, WU Yin-xiang, 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 study the effect of arecoline hydrobromide (AH) on rat hepatic CYP2B expression/activity, as well as the underlying regulation mechanism *in vivo*. **Methods** After oral administration of AH (4, 20, and 100 mg/kg/d) to rats for 7 consecutive days, the hepatic CYP2B activity was detected by LC-MS/MS method, the protein levels of hepatic CYP2B, total CAR, and endonuclear CAR were detected by Western blotting, and the hepatic CYP2B1 mRNA level was detected by real-time PCR. **Results** AH treatment had no effect on rat hepatic CYP2B protein level, but the hepatic CYP2B1 mRNA level was dose-dependently increased. Additionally, although the hepatic CYP2B activity was induced by AH treatment, the induction was weakened with the dose increase of AH. Furthermore, the protein content of hepatic endonuclear CAR was increased while the total CAR protein remained unchanged following AH treatment. **Conclusion** AH induces rat hepatic CYP2B by promoting nuclear translocation of CAR. The regulation of AH on rat hepatic CYP2B largely involve transcriptional activation of the gene, partially involve the post-translational modification of CYP2B protein. Our results also suggest that the risk of metabolic interaction could be existed when the substrate drugs of CYP2B are administered in betel-quid used human.

**Key words:** arecoline hydrobromide; liver; CYP2B; CAR protein; drug metabolism enzyme

槟榔是棕榈科 (Palmae) 植物槟榔 *Areca catechu* Linn. 的干燥成熟种子, 位居我国四大南药 (槟榔、益智、砂仁、巴戟) 之首, 是 54 种棕榈科植物中唯一含生物碱的植物。槟榔嚼块是仅次于烟草、酒精和咖啡因的世界第 4 种被广泛使用的嗜好品。嚼食

槟榔与口腔癌、肥胖、糖尿病、高血压、高脂血症、肝硬化和肝细胞癌等相关<sup>[1-2]</sup>, 这与槟榔所含的主要生物碱成分可诱导 DNA 分子单链断裂, 姊妹染色单体交换频率与基因突变密切相关<sup>[3-4]</sup>。槟榔碱是槟榔所含的主要生物碱, 占干质量的 0.1%~0.5%<sup>[5]</sup>。

收稿日期: 2016-04-05

基金项目: 教育部大学生创新创业训练计划项目 (201410512010)

作者简介: 黄祥涛 (1991—), 男, 硕士研究生, 从事分子药理学研究。E-mail: 1357592400@qq.com

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

近年来国内外众多学者对槟榔碱药理、毒理等方面进行了深入研究,发现槟榔碱对口腔黏膜<sup>[6]</sup>、神经系统<sup>[7]</sup>、内分泌系统<sup>[8-10]</sup>、生殖细胞<sup>[11]</sup>等均存在一定毒副作用。此外,槟榔碱还能导致广泛的肝脏代谢影响,诱导肝脏代谢酶活性升高<sup>[12-14]</sup>。

CYP2B6 是人体一个重要的药物代谢酶,参与了许多药物、毒物及内源性神经递质的代谢清除。大鼠与人 CYP2B6 基因高度同源的是 CYP2B1/2<sup>[15]</sup>。研究表明,大鼠、小鼠肝脏中 CYP2B 活性的升高,与肝纤维化及肝肿瘤形成有密切关系<sup>[16-17]</sup>。前期研究表明,氢溴酸槟榔碱在大鼠体内代谢产生了 4 个 I 相代谢物和 2 个 II 相代谢物<sup>[18]</sup>,且氢溴酸槟榔碱短期给药诱导了大鼠肝脏 CYP2B1/2 活性<sup>[14]</sup>。但氢溴酸槟榔碱体内对大鼠肝脏 CYP2B1/2 的调控机制目前尚不清楚。本实验研究氢溴酸槟榔碱 ig 给药对大鼠肝脏 CYP2B1/2 表达的影响及其机制,为阐明槟榔碱的毒性及药物相互作用提供参考。

## 1 材料

### 1.1 实验动物

SPF 级 6 周龄 Wistar 雄性大鼠,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 药品与试剂

氢溴酸槟榔碱(Sigma, 美国);安非他酮、羟基安非他酮(Cayman Chemical, 美国);TRIzol 试剂(Invitrogen, 美国);PVDF 膜(millipore, 美国);蛋白酶抑制剂 cocktail(Roche, 瑞典);RIPA 裂解液、超敏 ECL 化学发光试剂盒(碧云天生物技术公司, 南京);BCA 蛋白测定试剂盒(Thermo Scientific, 美国);小鼠抗  $\beta$ -actin 单克隆抗体、兔抗组成型雄甾烷受体(CAR)单克隆抗体(Santa Cruz, 美国);小鼠抗 CYP2B1/2 单克隆抗体(Abcam, 美国);兔抗 Lamin B 抗体(武汉博士德生物工程有限公司);山羊抗小鼠/兔辣根过氧化物酶标记二抗(KPL, 美国);定量 PCR 引物(Sunny, 上海);逆转录试剂盒及 SYBR qPCR Mix(Toyobo, 日本);NE-PER 核蛋白提取试剂盒(Thermo Fisher, 美国)。

### 1.3 主要仪器

8040 型高效液相色谱质谱联用仪(岛津, 日本);组织匀浆器(IKA, 德国);核酸蛋白测定仪(eppendorf, 德国);CFX Connect<sup>TM</sup> 实时荧光定量 PCR 仪(Bio-Rad, 美国);DYY-6C 型电泳仪、DYC-40A 型垂直电泳槽及 DYC-40A 型电转仪(北

京六一生物科技有限公司)。

## 2 方法

### 2.1 实验动物分组与给药

雄性 Wistar 大鼠随机分为氢溴酸槟榔碱(溶解于生理盐水中)低、中、高剂量[4、20、100 mg/(kg·d)]组和对照组(等体积生理盐水),每组 6 只。饲养温度保持在 20~25 °C,相对湿度在 40%~70%,自由取食、进水,昼夜交替时间为 12 h/12 h。给药前大鼠禁食 12 h,每天于同一时间 ig 给药(给药体积小于 2.0 mL),连续给药 7 d。末次给药后 1 h 颈椎脱臼处死大鼠,取肝脏组织,用预冷生理盐水冲洗后擦干,液氮中保存备用。

### 2.2 荧光定量 PCR 检测肝脏组织 CYP2B1 mRNA 的表达

每只大鼠取肝组织约 100 mg,按 TRIzol 试剂盒说明书分别提取总 RNA,用 0.7%的琼脂糖凝胶电泳检测总 RNA 的完整性,用分光光度法检测 260 nm 和 280 nm 处吸光度比值检测总 RNA 的纯度。取 2  $\mu$ g RNA 按逆转录试剂盒说明书逆转录成 cDNA,cDNA 再经实时荧光定量 PCR 扩增检测 CYP2B1 mRNA 的表达量。定量 PCR 引物序列如下,大鼠 GAPDH:正向 5'-AGGGCTGCCTTCTCTTGTGAC-3',反向 5'-TGGGTAGAATCATACTGGA-ACATGTAG-3';大鼠 CYP2B1:正向 5'-AAGCACAGGGCCACCTTAGAC-3',反向 5'-AAGCACAGGGCCACCTTAGAC-3'。定量 PCR 实验条件为 94 °C 变性 15 s,58.4 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 30 s,38 个循环,反应体系为 20  $\mu$ L。基因表达水平采用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法计算<sup>[19]</sup>。

### 2.3 Western blotting 检测肝脏组织 CYP2B 和细胞内总 CAR 蛋白的表达

取适量(约 100 mg)肝组织加入 800  $\mu$ L 裂解液中冰浴匀浆,离心取上清,用 BCA 试剂盒检测蛋白量。取 60  $\mu$ g 蛋白样品经 SDS-PAGE(10%分离胶与 5%浓缩胶)后转移到 PVDF 膜上,经 5%脱脂奶粉封闭 1.5 h 后与一抗(小鼠抗  $\beta$ -actin 单克隆抗体,小鼠抗 CYP2B1/2 单克隆抗体,兔抗 CAR 单克隆抗体,用一抗稀释液按 1:1 000 稀释)4 °C 孵育过夜。用 TBST 洗涤后加二抗(用脱脂牛奶按 1:5 000 稀释)37 °C 温孵 1 h,再用 TBST 洗涤,加超敏 ECL 化学发光液,经显影、定影后,根据扫描条带的大小与强度分析各蛋白的表达情况。

### 2.4 Western blotting 检测细胞核内 CAR 蛋白的表达

取 20 mg 大鼠肝组织,用 PBS 洗涤后,500 $\times$ g

离心 5 min, 弃上清, 按照核蛋白提取试剂盒说明书进行如下操作: 加入预冷的 CER I 200  $\mu\text{L}$ , 匀浆, 剧烈涡旋 15 s, 于冰上静置 10 min, 然后加入预冷的 CER II 11  $\mu\text{L}$ , 涡旋 5 s, 冰上静置 1 min, 再涡旋 5 s, 16 000 $\times g$  离心 5 min, 弃上清, 沉淀用预冷的 NER 100  $\mu\text{L}$  溶解。剧烈涡旋 15 s, 冰上静置 10 min, 再涡旋 15 s, 静置 10 min, 如此 40 min (4 次)。16 000 $\times g$  离心 10 min 取上清, 即为核蛋白溶液。用 BCA 试剂盒检测蛋白的量, 取 60  $\mu\text{g}$  蛋白样品经 SDS-PAGE (10%分离胶与 5%浓缩胶) 后转移到 PVDF 膜上, 用 5%脱脂奶粉封闭 1.5 h 后与一抗(兔抗 Lamin B 抗体, 用一抗稀释液按 1:400 稀释; 兔抗 CAR 多克隆抗体, 用一抗稀释液按 1:1 000 稀释) 4  $^{\circ}\text{C}$  孵育过夜。用 TBST 洗涤后加二抗(用脱脂牛奶按 1:5 000 稀释) 37  $^{\circ}\text{C}$  温孵 1 h, 再用 TBST 洗涤, 加超敏 ECL 化学发光液, 经显影、定影后, 根据扫描条带的大小与强度分析核内 CAR 的表达情况。

## 2.5 LC-MS/MS 法检测 CYP2B 1/2 活性

采用  $\text{CaCl}_2$  沉淀低速离心法分别制备每只大鼠的肝微粒体 (RLM), 并用 BCA 法测定 RLM 中蛋白量。以安非他酮的羟基化作用表示 RLM 中 CYP2B1/2 活性(即每毫克微粒体蛋白每分钟催化探针底物产生的代谢物量)<sup>[18]</sup>。

## 2.6 统计学分析

采用 ANOVA 统计学软件, 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间差异采用  $t$  检验。

## 3 结果

### 3.1 对大鼠肝脏 CYP2B 表达与活性的影响

连续给大鼠 ig 4、20、100 mg/kg 氢溴酸槟榔碱 7 d 后, 定量荧光 PCR 检测大鼠肝脏 CYP2B1 mRNA 的表达量, 结果见图 1, Western blotting 检测大鼠肝脏 CYP2B1/2 的蛋白表达量结果见图 2。结果表明, 与对照组相比, 给药后肝脏 CYP2B1 mRNA 的表达量有剂量依赖性上调趋势 ( $P < 0.05$ ); 对大鼠肝脏 CYP2B1/2 的表达量无明显影响 ( $P > 0.05$ ); 对大鼠肝脏 CYP2B1/2 活性的诱导作用随剂量增大而减弱, 对照组及氢溴酸槟榔碱低、中、高剂量组 CYP2B 的相对活性分别为 ( $100.0 \pm 25.7$ )%、( $169.5 \pm 23.8$ )% ( $P < 0.01$ )、( $151.4 \pm 11.2$ )% ( $P < 0.01$ )、( $121.6 \pm 12.3$ )% ( $P > 0.05$ )。

### 3.2 对大鼠肝脏总 CAR 及核内 CAR 蛋白表达水平的影响

大鼠肝脏细胞内总 CAR 与核内 CAR 的蛋白表

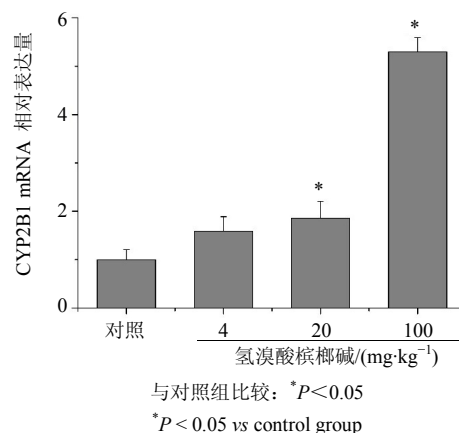


图 1 氢溴酸槟榔碱对大鼠肝脏 CYP2B1 mRNA 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Fig. 1 Effect of AH on CYP2B1 mRNA expression in liver tissue of rats ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

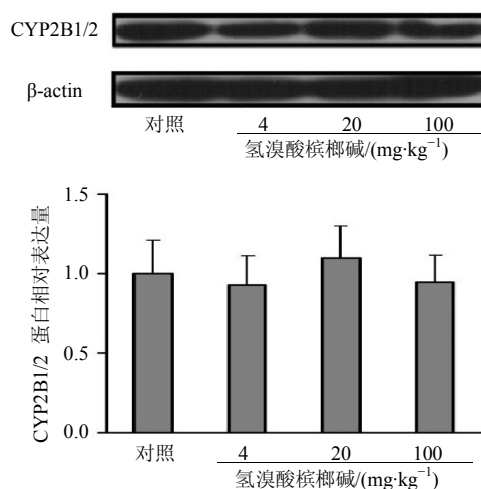


图 2 氢溴酸槟榔碱对大鼠肝脏 CYP2B 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Fig. 2 Effect of AH on CYP2B protein expression in liver tissue of rats ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

达量结果见图 3。结果表明, 氢溴酸槟榔碱给药后, 胞内总 CAR 蛋白表达量较对照组几乎无变化; 核内 CAR 的蛋白表达量呈明显的上调趋势 ( $P < 0.05$ )。

## 4 讨论

CYP2B6 是重要的外源性毒物代谢酶之一, 参与代谢杀虫剂(如甲氧滴滴涕)、前致癌物(如黄曲霉毒素 B1、烟草中的亚硝胺类物质), 以及抗肿瘤药物(如环磷酰胺、异环磷酰胺)的活化<sup>[20]</sup>, 其活性可以被许多外源性物质诱导<sup>[21-26]</sup>。外源物对大鼠肝脏 CYP2B1/2 和小鼠肝脏 CYP2B9/10 的转录激活是通过 CAR 的核移位实现的<sup>[27-28]</sup>, CAR 受体由

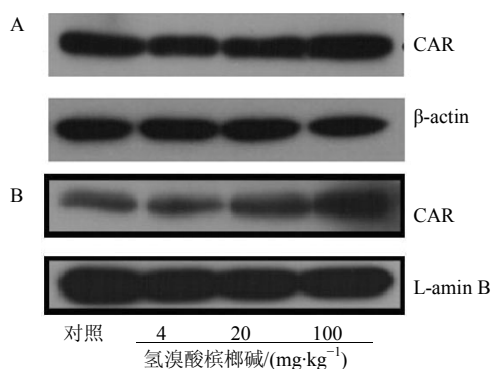


图3 氢溴酸槟榔碱对肝细胞总 CAR (A) 及肝细胞核内 CAR(B) 蛋白表达的影响( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Fig. 3 Effect of AH on protein expression of hepatic total CAR (A) and hepatic cell intranuclear CAR (B) ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

胞浆向核内转移被认为是诱导 CYP2B 转录的起始步骤<sup>[29]</sup>, CAR 在核内与维甲酸 X 受体 RXR 形成异二聚体 CAR-RXR, 然后异二聚体结合到 CYP2B 基因上游的苯巴比妥反应增强原件 PBREM 上, 启动 CYP2B 基因的转录<sup>[30]</sup>。本研究表明, 给大鼠连续 ig 氢溴酸槟榔碱 (4、20、100 mg/kg) 7 d 后, 肝脏中 CYP2B1 mRNA 表达水平与 CYP2B1/2 活性上调, 肝细胞核内 CAR 蛋白量增加, 且肝脏总 CAR 蛋白量不变, 结果表明, 氢溴酸槟榔碱对大鼠肝脏 CYP2B 的诱导作用类似于苯巴比妥及其类似物, 也是通过 CAR 的核移位实现的。

本研究还发现, 氢溴酸槟榔碱对大鼠肝脏 CYP2B mRNA 表达及酶活的诱导作用存在相反的剂量关系, 即 CYP2B1 mRNA 的表达量随氢溴酸槟榔碱的给药剂量增加而增加, 而酶活性虽被诱导, 但却随给药剂量增加而减弱。另外, 氢溴酸槟榔碱给药对肝脏 CYP2B1/2 蛋白表达量无明显影响, 提示槟榔碱对肝脏 CYP2B1/2 的调控可能存在翻译后修饰和/或 RNA 转运和/或 mRNA 降解, 具体是何种原因导致的, 将在接下来的实验中做进一步探究。对于 CYP2B 酶活上调而蛋白的量无变化, 可能是槟榔碱增加了底物与 CYP2B 的亲合力。

本研究表明, 低剂量 (4 mg/kg) 氢溴酸槟榔碱是大鼠肝脏 CYP2B 活性的诱导剂, 提示槟榔咀嚼嗜好者在接受 CYP2B 底物治疗时, 存在一定的代谢相互作用风险。

#### 参考文献

[1] 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.

- [2] Wu P F, Chiang T A, Chen M T, *et al.* A characterization of the antioxidant enzyme activity and reproductive toxicity in male rats following sub-chronic exposure to areca nut extracts [J]. *J Hazard Mater*, 2010, 178(1/3): 541-546.
- [3] Jayant K, Balakrishnan V, Sanghvi L D, *et al.* Quantification of the role of smoking and chewing habits in oral, pharynx, and esophageal cancer [J]. *Br J Cancer*, 1977, 35(2): 232-235.
- [4] 季宇彬, 李连闯, 于 蕾. 槟榔碱对骨髓细胞内 DNA 的影响 [J]. *中草药*, 2007, 38(4): 573-575.
- [5] 赵云霞, 于 蕾, 季宇彬. 槟榔碱的毒理研究进展 [J]. *药品评价*, 2006, 3(6): 457-458.
- [6] 李忠海, 郑锦星, 袁列江, 等. 槟榔在口腔黏膜下纤维性变发病机制中的作用 [J]. *中南林学院学报*, 2006, 26(6): 145-149.
- [7] 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.
- [8] 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): E497- E504.
- [9] Calogero A E, Kamilaris T C, Gomez M T, *et al.* The muscarinic cholinergic agonist arecoline stimulates the rat hypothalamic-pituitary-adrenal axis through a centrally-mediated corticotrophin-releasing hormone dependent mechanism [J]. *Endocrinology*, 1989(125): 2445-2453.
- [10] Lim D Y, Kim I S. Arecoline inhibits catecholamine release from perfused rat adrenal gland [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2006, 27(1): 71-79.
- [11] 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.
- [12] 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.
- [13] 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.
- [14] 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.
- [15] 张庆柱. 分子药理学 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2007.
- [16] Deguchi Y, Yamada T, Hirose Y, *et al*. Mode of action analysis for the synthetic pyrethroid metofluthrin-induced rat liver tumors: evidence for hepatic CYP2B induction and hepatocyte proliferation [J]. *Toxicol Sci*, 2009, 108(1): 69-80.
- [17] Lo W S, Lim Y P, Chen C C, *et al*. A dual function of the furanocoumarin chalepensis in inhibiting Cyp2a and inducing Cyp2b in mice: the protein stabilization and receptor-mediated activation [J]. *Arch Toxicol*, 2012, 86(12): 1927-1938.
- [18] Zhu M M, Chen H X, Han F M, *et al*. Analysis of arecoline in rat urine and identification of its metabolites by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chromatographia*, 2006, 64(11/12): 705-708.
- [19] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  method [J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [20] Turpeinen M, Raunio H, Pelkonen O. The functional role of CYP2B6 in human drug metabolism: substrates and inhibitors in vitro, *in vivo* and *in silico* [J]. *Curr Drug Metab*, 2006, 7(7): 705-714.
- [21] Swales K, Negishi M. CAR, driving into the future [J]. *Mol Endocrinol*, 2004, 18(7): 1589-1598.
- [22] Yamamoto Y, Moore R, Goldsworthy T L, *et al*. The orphan nuclear receptor constitutive active/androstane receptor is essential for liver tumor promotion by phenobarbital in mice [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(20): 7197-7200.
- [23] Pustynnyak V O, Lebedev A N, Gulyaeva L F, *et al*. Comparative study of CYP2B induction in the liver of rats and mice by different compounds [J]. *Life Sci*, 2007, 80(4): 324-328.
- [24] Pustynnyak V, Pivovarova E, Slynko N, *et al*. Species-specific induction of CYP2B by 2,4,6-triphenyldioxane-1,3 (TPD) [J]. *Life Sci*, 2009, 85(23-26): 815-821.
- [25] Pustynnyak V, Kazakova Y, Yarushkin A, *et al*. Effect of several analogs of 2,4,6-triphenyldioxane-1,3 on CYP2B induction in mouse liver [J]. *Chem Biol Interact*, 2011, 194(2/3): 134-138.
- [26] Catania J R, McGarrigle B P, Rittenhouse-Olson K, *et al*. Induction of CYP2B and CYP2E1 in precision-cut rat liver slices cultured in defined medium [J]. *Toxicol Vitro*, 2007, 21(1): 109-115.
- [27] Faucette S R, Sueyoshi T, Smith C M, *et al*. Differential regulation of hepatic CYP2B6 and CYP3A4 genes by constitutive androstane receptor but not pregnane X receptor [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, 317(3): 1200-1209.
- [28] Li H, Wang H. Activation of xenobiotic receptors: driving into the nucleus [J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2010, 6(4): 409-426.
- [29] Kawamoto T, Sueyoshi T, Zelko I, *et al*. Phenobarbital responsive nuclear translocation of the receptor CAR in induction of the CYP2B2 gene [J]. *Mol Cell Biol*, 1999, 19(9): 6318-6322.
- [30] Kim J, Min G, Kemper B. Chromatin assembly enhances binding to the CYP2B1 phenobarbital-responsive unit (PBRU) of nuclear factor-1, which binds simultaneously with constitutive androstane receptor (CAR)/retinoid X receptor (RXR) and enhances CAR/RXR-mediated activation of the PBRU [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(10): 7559-7567.