

● 综述与进展 ●

法尼醇 X 受体、胆汁酸盐输出泵与胆汁淤积性疾病
发病研究进展*尚振中¹ 赵雷^{2#} 张煜³

(1 广西中医药大学 2013 硕士研究生 南宁 530022;

2 华中科技大学同济医学院附属协和医院 湖北武汉 430022; 3 广西中医药大学 南宁 530022)

关键词: 胆汁淤积性疾病; 法尼醇 X 受体; 胆汁酸盐输出泵; 研究进展

中图分类号: R657.43

文献标识码: A

doi:10.13638/j.issn.1671-4040.2016.04.045

胆汁淤积 (Cholestasis) 是指多种原因引起胆汁分泌不畅或排泄障碍, 不能正常流入十二指肠所导致的一系列继发病变。由于致病因素多样且内外因素交互影响, 胆汁淤积的具体发病机制尚未完全清楚, 但主要与胆汁分泌调节异常、胆汁酸转运蛋白表达量减少或活性下降, 胆汁酸转运量降低、肝细胞膜脂质成分改变影响膜的流动性; $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶活性降低抑制对胆汁酸摄取等因素密切相关。胆汁正常代谢需要肝脏及胆囊的所有结构和功能具有完整性, 其中任何一个环节的缺失都有可能引起胆汁循环障碍, 进而形成胆汁淤积, 导致胆汁中胆汁酸盐等毒性物质滞留, 引起不同程度的细胞损伤, 释放细胞因子和炎症介质, 诱发胆道系统的炎症反应和肝纤维化, 最终可能导致肝硬化^[1-2]。因此, 维持胆汁的正常生成与转运是极为重要的。近年来研究发现, 法尼醇 X 受体 (Farnesoid X Receptor, FXR) 及下游胆汁酸盐输出泵 (Bile Salt Export Pump, BSEP) 在胆汁代谢、转运过程中发挥着关键的作用, 其功能的正常发挥与胆汁淤积的发生紧密相关。

1 FXR 的生物学特性

FXR 是一种胆汁酸受体, 主要表达于肝脏、肾脏和小肠等组织, 因其可以被生理水平的法尼醇激活而得名。FXR 最初是通过核受体 DNA 引物对大鼠肝脏 cDNA 文库进行筛选而发现的。FXR 为配体依赖的转录调节因子, 属于核受体超家族, 具有典型的核受体结构: 包括氨基末端高度保守的 DNA 结合区 (DBD)、配体非依赖性转录激活功能区 (AF-1)、羧基末端配体结合区 (LBD) 及配体依赖性功能区 (AF-2)^[3]。目前研究证实, FXR 在胆汁酸代谢中处于关键地位。在被胆汁酸激活后, FXR 介导多种抑制通路, 呈网络状调节胆汁代谢, 表现为通过调控下游靶基因及相关信号分子对胆汁酸的合成、分泌、解毒和转运等方面产生影响^[4]: (1) 胆汁酸合成方面, 胆固醇 7α -羟化酶 (Cholesterol

7α -hydroxylase, CYP7A1) 是合成胆汁酸的限速酶, FXR 并不能直接抑制 CYP7A1 的转录, 而是通过小异源二聚体伴侣 (Small Heterodimer Partner, SHP) 来实现。FXR 被激活后刺激 SHP 表达, SHP 与肝受体同源物 -1 (Liver Receptor Homologue-1, LRH-1) 形成抑制性复合物, LRH-1 是 CYP7A1 的启动子结合因子, SHP 与 LRH-1 形成无活性异二聚体复合物, 从而阻断 CYP7A1 转录, 抑制胆汁酸合成^[5-6]; (2) 降低胆汁酸毒性方面, 尿苷二磷酸葡萄糖醛酸基转移酶 (UDP-glucuronosyltransferase, UGT) 受到 FXR 活化的影响, 参与胆汁酸解毒并将信号进一步下传, 较少受到其他信号的干扰^[7]; (3) 胆汁酸转运方面: BSEP 主要受到 FXR 调控, 激动后可将胆汁成分转运进入毛细胆管。

2 BSEP 的生物学特性

早在 20 世纪九十年代, Chids 等^[8]通过多耐药基因的探针序列从猪肝中克隆出部分 BSEP 基因, 最初认为是 P-糖蛋白的类似物而被命名为 P-糖蛋白姐妹体 (Sister P-glycoprotein, SPGP), 随后从大鼠肝脏中克隆出全长 cDNA。BSEP 基因位于人类第 2 条染色体长臂上 2q24~31, 根据目前的 ABC 转运蛋白基因命名法则, 将人类该种基因命名为 ABCB11, 鼠类则命名为 Abcb11^[9-10]。ABCB11 编码产生的蛋白即为 BSEP, 相对分子量为 160 kDa, 属于 ATP 结合盒超家族 β 亚族。典型的 ABC 转运蛋白由 2 个跨膜结构域 (TMD) 和 2 个核苷结合结构域 (NBD) 组成, 不同的 ABC 转运蛋白编码结构域的基因有不同变化。BSEP 定位于肝细胞胆小管侧膜, 起始端在胞浆区, 2 个 NBD 负责 ATP 的结合与水解, 提供转运能量。由于 BSEP 具有底物特异性及和胆汁酸盐的高亲和性, 在与胆汁酸结合后, 借助水解 ATP 的能量, 将胆汁酸盐逆浓度梯度转运至胆小管中。形成的胆汁酸盐流成为胆汁酸排泄的主要驱动力。BSEP 也因此被认为是肝脏中最主要的 ATP 依赖型

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (编号: 81371840)

通讯作者: 赵雷, E-mail: 18971397498@163.com

胆汁酸转运载体。

BSEP 蛋白表达异常首先发现于进行性家族性肝内胆汁淤积 2 型 (Progressive Familial Intrahepatic Cholestasis II, PFIC-2), 采集标本检测后发现该类患者均表现出 BSEP 转运胆汁酸功能的缺失以及胆汁酸浓度下降, 甚至低于正常水平的 1%^[11]。亦早有研究表明在内毒素诱导肝内胆汁淤积的大鼠模型中, BSEP 基因的转录和表达水平明显下降, 低于正常对照组^[12]。Hagenbuch 等^[13]通过体外转染证实, 将 BSEP 基因转染至 Sf-9 昆虫细胞后, Sf-9 转运牛磺酸组高于未转染细胞组。由此可见, BSEP 的表达和功能变化可直接引起胆汁酸盐的分泌排泄发生变化, 其功能的发挥对维持胆汁酸盐转运及肠肝循环等生理功能具有重要作用。因此, BSEP 蛋白表达和功能异常被认为是临床上多种胆汁淤积性疾病发病的根本原因^[14]。但 BSEP 转运的具体机制, 究竟是直接从高尔基体到胆小管基底膜, 还是间接地通过基底侧膜再到基底膜, 尚未完全清楚^[15]。

3 FXR 对于 BSEP 的转录调节

FXR 对于 BSEP 的激活转录有着重要影响。研究显示, 在 BSEP 基因启动子 -63/-50 结合区具有倒置重复 (In-verted Repeat, IR)-1 元件, 该元件具有 FXR 结合位点, 可直接与 FXR 结合^[16]。FXR 活化后, 与视黄醇类 X 受体 (Retinoid X Receptor, RXR) 形成 FXR/RXR 异二聚体, 直接结合并激活 BSEP 基因的启动子, 促进 BSEP 的转录合成, 进而转运胆汁酸盐^[17]。使用 FXR 激动剂 GW4064, 可以诱导 BSEP 的 mRNA 及蛋白表达, 降低胆汁淤积中肝细胞摄取胆盐, 促进胆汁恢复流动^[18-19]。而使用 FXR 抑制剂, BSEP 的表达水平则显著下降。Deng 等^[20]通过研究发现, 人正常原代肝细胞在给予 Guggulsterone 抑制 FXR 造模后, 单纯造模组 BSEP 的 mRNA 表达量要低于用鹅去氧胆酸 (Chenodeoxycholic Acid, CDCA) 刺激空白细胞对照组, 同时也低于造模组协同给予 CDCA 治疗组 mRNA 的表达。Sinal 等^[21]对基因敲除 FXR 的大鼠模型研究揭示, BSEP 表达水平显著降低, 大鼠血液中胆汁酸、甘油三酯等含量上升。Ananthanarayanan 等^[22]发现, 通过对基因敲除 FXR 的大鼠给予高胆固醇饮食后, 其患胆结石的发病率要高于正常对照组, 并推测可能是由于大鼠体内 FXR 沉默, BSEP 和 MDR3 蛋白表达量降低, 胆汁酸盐转运减少而引起。这些研究表明 FXR 对 BSEP 的转录和调节有直接的影响并成正相关。然而也有报道显示, 在通过手术方法造成大鼠梗阻性黄疸的研究中, FXR 与

BSEP 蛋白表达呈负相关关系, FXR 并没有因总胆汁酸水平的升高和胆盐超载而上调 BSEP 表达, 反而呈负相关, 下调表达量。据推测原因可能是内毒素下调了 BSEP 的表达^[22-23]。

4 ABCB11 基因变异及 BSEP 蛋白表达异常与胆汁淤积性疾病

目前研究已表明, ABCB11 基因变异及编码的 BSEP 蛋白表达和功能异常至少与以下几种胆汁淤积性疾病密切相关: 进行性家族性肝内胆汁淤积 2 型 (PFIC-2), 良性周期性肝内胆汁淤积 2 型 (Benign Recurrent Intrahepatic Cholestasis II, BRIC-2), 妊娠期肝内胆汁淤积 (Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy, ICP), 药物性肝损伤 (Drug-induced Liver Injury, DILI) 等^[24]。通过对 PFIC2、BRIC2、ICP 三种疾病比较发现, ABCB11 基因突变引起的临床症状严重程度往往与细胞表面上表达的 BSEP 量呈负相关^[25]。

4.1 PFIC-2 是一种常染色体隐性遗传病 多发于新生儿期, 表现为皮肤瘙痒、黄疸、进行性胆汁分泌障碍等。肝脏病理改变明显, 肝小叶正常结构被破坏, 肝细胞内胆汁淤积并伴有炎性反应。PFIC-2 是进行性家族性肝内胆汁淤积中较为严重的一种分型, 病情进展较快, 短时间内可引起肝硬化甚至肝衰竭。现已确定其主要机制为 ABCB11 基因突变 (主要为无效突变, 其余多为复合错义突变), 致使 BSEP 蛋白表达和功能的缺失^[26-27]。有学者发现, 引入错义突变的鼠 Abcb11 基因, 可以导致毛细胆管表面功能性蛋白缺失^[28], 对 MDCK、HEK293、HepG2 不同细胞株引入 ABCB11 变异基因, BSEP 很少或不在这些细胞表面表达^[24, 29]。

4.2 BRIC-2 与 PFIC-2 之间有着密切联系 BRIC-2 也是一种常染色体隐性遗传病, 表现也以黄疸和瘙痒反复发作为主。肝脏病理学显示肝细胞内胆汁淤积, 但不伴有或有较轻程度的肝细胞结构破坏。BRIC-2 以错义突变为主, 多发生在含 Walker A/B 基序和 ABC 标记的核苷结合折叠 (NBFs), 其编码的蛋白质仍可行使部分功能^[30]。因此 BRIC2 患者可见到肝功能指标正常, 病情较为稳定, 区别于 PFIC2。

4.3 ICP 是妊娠中、晚期特有的并发症 临床上以皮肤瘙痒和胆汁酸不同程度的升高为特征, 主要危害胎儿, 使围生儿发病率和死亡率增高。目前其发病的具体机制尚未完全明确。主要认为包括遗传性因素和非遗传性因素两个方面。Ho 等^[31]通过将 ICP 患者的 ABCB11 基因进行分析发现, ABCB11 是 ICP

高度易感基因,并 ABCB11 基因中 V444A 多态性在 ICP 患者中存在较高的出现频率。而非遗传性因素即为由于药物或者疾病等因素引起的对 ABCB11 基因不同程度的调节作用,如 FXR 抑制剂 Guggulsterones、环孢素 A 等,但其详细的作用机制还有待进一步研究。

由于基因突变是多种原因相互作用的结果,目前对于上述疾病只了解到其发病的关键在于 ABCB11 基因发生突变,涉及多个基因位点。至于究竟是何种原因引起,不同胆汁淤积性疾病是否对应特定的基因位点,在治疗及预防方面有哪些确切有效的手段,仍需深入探索和发现。

5 讨论

胆汁淤积性疾病是一个涉及胆汁酸合成、解毒以及转运等复杂机制的受损过程,是多种致病因素长期作用的结果。虽然 BSEP 在胆汁酸转运中发挥着重要作用,是胆汁酸正常代谢中不可缺少的关键环节,但 FXR、BSEP 缺陷和功能失常只是导致胆汁淤积的部分原因,要想彻底阐明整个发病过程,还需要结合其他致病因子的病理作用并对胆汁酸盐转运功能进行全面、深入的了解。现已初步知晓 BSEP 在肝细胞内还受到泛素化、磷酸化等作用进行修饰调节,但相关机制仍有待进一步深入研究。相信在不久的将来,人们将会逐步完善胆汁淤积与 FXR、BSEP 之间的认识,为临床治疗胆汁淤积性疾病开创新思路。

参考文献

- [1]Heathcote EJ.Diagnosis and management of cholestatic liver disease [J].Clin Gastroenterol Hepatol,2007,5(7):776-782
- [2]Cuperus FJ,Claudel T,Gautherot J,et al.The role of canalicular ABC transporters in cholestasis[J].Drug Metab Dispos,2014,42(4):546-560
- [3]Chawla A,Repa JJ,Evans RM,et al.Nuclear receptors and lipid physiology: opening the X-files [J].Science,2001,294 (5548): 1866-1870
- [4]Chen Y,Song X,Valanejad L,et al.Bile salt export pump is dysregulated with altered farnesoid X receptor isoform expression in patients with hepatocellular carcinoma [J].Hepatology,2013,57 (4): 1530-1541
- [5]Deuschle U,Birkel M,Hambruch E,et al.The nuclear bile acid receptor FXR controls the liver derived tumor suppressor histidine-rich glycoprotein[J].Int J Cancer,2015,136(11):2693-2704
- [6]Mencarelli A,Fiorucci S.FXR an emerging therapeutic target for the treatment of atherosclerosis[J].J Cell Mol Med,2010,14(1-2):79-92
- [7]Zollner G,Trauner M.Nuclear receptors as therapeutic targets in cholestatic liver diseases[J].Br J Pharmacol,2009,156(1):27
- [8]Chids S,Yeh RL,Georges E,et al.Identification of a sister gene to P-glycoprotein[J].Cancer Res,1995,55(10):2029-2034
- [9]Kubitz R,Droge C,Stindt J,et al.The bile salt export pump (BSEP) in health and disease [J].Clin Res Hepatol Gastroenterol,2012,36 (6): 536-553
- [10]Oude Elferink RP,Paulusma CC.Function and pathophysiological importance of ABCB4 (MDR3 P-glycoprotein) [J].Pflugers Arch, 2007,453(5):601-610
- [11]Strautnieks SS,Kagalwalla AF,Tanner MS,et al.Identification of a locus for progressive familial intrahepatic cholestasis PFIC2 on chromosome 2q24[J].Am J Hum Genet,1997,61(3):630-633
- [12]Vos TA,Hooiveld GJ,Koning H,et al.Up-regulation of the multidrug resistance genes, Mrp1 and Mdr1b, and down-regulation of the organic anion transporter, Mrp2, and the bile salt transporter, Spgp, in endotoxemic rat liver[J].Hepatology,1998,28(6):1637-1644
- [13]Hagenbuch B,Adler ID,Schmid TE.Molecular cloning and functional characterization of the mouse organic-anion-transporting polypeptide 1(Oatp1) and mapping of the gene to chromosome X[J].Biochem J,2000,345(1):115-120
- [14]Hayashi H,Sugiyama Y.Bile salt export pump (BSEP/ABCB11): trafficking and sorting disturbances [J].Curr Mol Pharmacol,2013,6 (2):95-103
- [15]Kipp H,Arias IM.Newly synthesized canalicular ABC transporters are directly targeted from the Golgi to the hepatocyte apical domain in rat liver[J].J Biol Chem,2000,275(21):15917-15925
- [16]Huang L,Zhao A,Lew JL,et al.Farnesoid X receptor activates transcription of the phospholipid pump MDR3 [J].J Biol Chem, 2003,278(51):51085-51090
- [17]Lee FY,Lee H,Hubbert ML,et al.FXR, a multipurpose nuclear receptor[J].Trends Biochem Sci,2006,31(10):572-580
- [18]Wang YD,Chen WD,Huang W.FXR, a target for different diseases [J].Histol Histopathol,2008,23(5):621-627
- [19]Plass JR,Mol O,Heegsma J,et al.Farnesoid X receptor and bile acids are involved in transcriptional regulation of the gene encoding the human bile salt export pump[J].Hepatology,2002,35(3):589-596
- [20]Deng R,Yang D,Radke A,et al.The hypolipidemic agent guggulsterone regulates the expression of human bile salt export pump: dominance of transactivation over farnesoid X receptor-mediated antagonism[J].J Pharmacol Exp Ther,2007,320(3): 1153-1162
- [21]Sinal CJ,Tohkin M,Miyata M,et al.Targeted disruption of the nuclear receptor FXR/BAR impairs bile acid and lipid homeostasis [J].Cell,2000,102(6):731-744
- [22]Ananthanarayanan M,Balasubramanian N,Makishima M,et al. Human bile salt export promoter is transactivated by the farnesoid X receptor/bile acid receptor [J].J Biol Chem,2001,276 (31): 28857-28865
- [23]叶少华,芮景,程东水.FXR 和 BSEP 在阻塞性黄疸大鼠肝细胞中的表达及其意义[J].吉林大学学报(医学版),2013,39(1):56-59
- [24]Ye SH,Rui J,Cheng DS.Expression of FXR and BSEP in liver cells of rats with obstructive jaundice and their significance [J].Journal of Jilin University(Medicine Edition),2013,39(1):56-59
- [25]Lam P,Pearson CL,Soroka CJ,et al.Levels of plasma membrane expression in progressive and benign mutations of the bile salt export pump (Bsep/Abcb11) correlate with severity of cholestatic diseases [J].Am J Physiol Cell Physiol,2007,293(5):1709-1716

[26]Lam P,Soroka CJ,Boyer JL.The bile salt export pump: clinical and experimental aspects of genetic and acquired cholestatic liver disease [J].Semin Liver Dis,2010,30(2):125-133

[27]Stieger B,Meier Y,Meier PJ.The bile salt export pump [J].Pflugers Arch,2007,453(5):611-620

[28]Davitt-Spraul A,Fabre M,Branchereau S,et al.ATP8B1 and ABCB11 analysis in 62 children with normal gamma-glutamyl transferase progressive familial intrahepatic cholestasis (PFIC): phenotypic differences between PFIC1 and PFIC2 and natural history [J].Hepatology,2010,51(5):1645-1655

[29]Kagawa T,Watanabe N,Mochizuki K,et al.Phenotypic differences in PFIC2 and BRIC2 correlate with protein stability of mutant Bsep an in MDCK II cells [J].Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2008,294(1):G58-G67

[30]Hermeziu B,Sanlaville D,Girard M,et al.Heterozygous bile salt export pump deficiency: a possible genetic predisposition to transient neonatal cholestasis [J].J Pediatr Gastroenterol Nutr,2006,42 (1): 114-116

[31]Ho RH,Leake BF,Kilkenny DM,et al.Polymorphic variants in the human bile salt export pump (BSEP;ABCB11): functional characterization and interindividual variability [J].Pharmacogenet Genomics,2010,20(1):45-57

(收稿日期: 2016-01-23)

糖尿病肾病中医药研究近况

徐斌权¹ 喻慧² 饶克瑯^{3#}

(1 江西中医药大学 2013 级硕士研究生 南昌 330006; 2 江西中医药大学 2015 级硕士研究生 南昌 330006; 3 江西中医药大学附属医院 南昌 330006)

关键词: 糖尿病肾病; 中医验方; 单味药现代研究; 中医外治法

中图分类号: R259

文献标识码: A

doi:10.13638/j.issn.1671-4040.2016.04.046

糖尿病肾病(Diabetic Nephropathy, DN)是由糖尿病引起的一种严重的慢性并发症之一。近年来,糖尿病在我国的发病率逐年上升,现已进入了快速增长期,如今,每小时都有约 667 人成为糖尿病患者,相对的, DN 发病人数也在增加。由于 DN 存在复杂的代谢紊乱,一旦发展到终末期肾脏病,便会引起各种全身的并发症,这使糖尿病肾病的治疗更加棘手。因此,及时防治对于防止糖尿病肾病的进一步恶化,同时延缓肾功能衰竭具有重大意义。而西医对于 DN 晚期出现的肾功能不全除了替代治疗,目前并没有其他有效的治疗手段。因此,运用中医药治疗 DN 伴肾功能不全具有重大意义。目前中医药对糖尿病肾病的治疗研究取得了一系列成就。本文就糖尿病肾病的中医药研究进展概述如下:

1 中医对糖尿病肾病的了解

糖尿病肾病属于现代医学病名,古代文献中并无此病名,但在中医学中“水肿、尿浊、胀满、水病、关格”等病名与其相似度颇高。张蕾等^[1]对糖尿病肾病的中医病名来源进行摸索。经摸索后认为糖尿病肾病应该为此 5 个古代中医学病名:“下消、消肾、内消、肾消、肾渴”,其中“肾消、下消”与糖尿病肾病的吻合度较高,“肾渴”和“内消”的吻合度则相对较低,而“消肾”与糖尿病肾病是否吻合,专家之间还存在较大争议。虽然“糖尿病肾病”这个医学病名从未出现在古代文献中,但是古代文献中出现了本病相关

的临床表现记录,《圣济总录》有这么一句:“消渴病久,肾气受伤,肾主水,肾气虚衰,气化失常,开合不利,水液凝聚体内而出现水肿。”从《圣济总录》的描述中我们可以发现,消渴病发展至后期,肾脏会被累及,肾乃先天之本,主水液代谢,消渴后期肾脏水液代谢功能减退,病名相对的转变为“水肿”及“胀满”。《证治要诀》则提出:“三消久而小便不臭,反作臊气,在溺中滚涌,更有浮在溺面如猪脂,此精不禁,真元竭矣。”从《证治要诀》中我们发现,消渴后期也会有“尿浊”的症状。

2 糖尿病肾病的病因病机

2.1 气阴两虚 栗德林教授认为“奇恒柔弱,内热薰蒸,伤津耗气,血稠液浓,蓄浊失精”乃为本病的病因病机。耿乃志等^[2]在自己临床经验的基础上总结栗德林教授关于 DN 的学术思想后认为:DN 属于本虚标实之证,气阴两虚应当为其基本病机。

2.2 脏腑虚损、血瘀阻络 吕仁和^[3]教授认为 DN 与其论述之“消瘴”一致,其认为该病发病与正气亏损、血瘀阻络、气血阴阳俱虚密切相关。而其中最主要的病机为血瘀阻络,并由此提出了“微型癥瘕”的病理假说。

2.3 脾肾亏虚 朱成英等^[4]认为脾气亏虚为诱发本病必不可少的因素,而肾虚为导致本病发生及发展的最为重要的因素,同时,燥热、湿热、瘀热也是 DN 的诱发因素。随着病情的发展,会产生湿毒痰瘀以

通讯作者: 饶克瑯, E-mail: jzrk1@163.com