

胆固醇肠肝循环代谢与胆石病

蒋兆彦¹, 胡海¹, 韩天权², 张圣道²

(1. 同济大学附属东方医院胆石病中心,胆石病研究所,上海 201200;

2. 上海交通大学医学院附属瑞金医院外科,上海消化外科研究所,上海 200025)

关键词:胆固醇; 肠肝循环代谢; 胆石病

中图分类号:R657.4+2 文献标识码:A 文章编号:1007-9610(2017)03-0-0

DOI:10.16139/j.1007-9610.2017.03.00

在我国,胆囊胆固醇结石病(简称:胆石病)的发病率在近 10 年内上升较快,特别是经济发达、生活水平较高的地区。2011 年至 2012 年间上海地区的流行病学调查结果显示,其在人群中发病率接近 13%^[1]。对胆石病防治和发病机制的研究虽非目前诸多研究所追逐,但一直是本领域研究者长期不懈努力的目标。胆汁胆固醇过饱和导致结石形成这个首要条件已然被公认,其机制则较复杂,包括多种因素所致胆汁胆固醇含量增加以及胆汁酸含量降低。胆固醇与胆汁酸一样,也存在肠肝循环。肝细胞分泌胆固醇,经胆汁排入十二指肠和小肠。小肠近段摄取肠腔胆固醇,包括食物和胆汁胆固醇,也能主动分泌胆固醇。摄取的胆固醇经门静脉回流到肝脏,为胆固醇的肠肝循环。本文结合胆石病防治,关注近年肝细胞和小肠胆固醇代谢的研究成果。

肝细胞胆固醇代谢与胆石病

一、胆小管侧膜分泌胆固醇

胆汁由肝细胞分泌,胆小管侧膜转运蛋白 ATP 结合盒(ATP binding cassette, ABC)G5 和 G8 这对蛋白质协同参与胆固醇分泌^[2-3]。ABCG5/G8 基因敲除的小鼠,胆汁胆固醇含量显著降低^[2]。相反,过度表达 ABCG5/G8 的小鼠,胆汁胆固醇含量升高数倍^[3]。这说明该对蛋白质在调控胆汁胆固醇含量中有重要作用。小鼠在成石过程中,肝脏 ABCG5/G8 表达增加伴随着胆固醇过饱和胆汁的形成。笔者在胆石病病人,也发现肝脏 ABCG5/G8 的 mRNA 表达增加^[4],说明 ABCG5/G8 促进胆固醇分泌对结石形成的作用。

然而,即使敲除小鼠 ABCG5/G8 基因,肝脏仍

可分泌一定量胆固醇到胆汁,约为野生型小鼠的 10%^[2]。因此有研究者提出,机体存在非 ABCG5/G8 依赖的胆汁胆固醇分泌途径。清道夫受体 B 型 1(scavenger receptor B type 1, SRB1)虽然是高密度脂蛋白受体,电镜显示其也可在胆小管侧膜表达,并起到胆汁分泌胆固醇的作用^[5]。采用腺病毒携带载体使 ABCG5/G8 敲除小鼠过表达 SRB1,发现即使缺乏 ABCG5/G8,仍能显著增加胆汁胆固醇含量,约为野生型小鼠的一半。这项实验说明 SRB1 替代 ABCG5/G8 的部分功能。最近 Wang 等^[6]的研究显示,成石饲料喂养的 ABCG5/G8 基因敲除小鼠,虽然成石率显著降低,但仍有 20%成石。这可能与小鼠残留的部分胆汁胆固醇分泌功能所致。但该研究尚无法揭示哪种蛋白质起到胆汁胆固醇分泌的替代作用。Groen^[7]认为,这些残留的分泌可能与胆汁酸盐与磷脂形成的混合微粒对胆小管侧膜上胆固醇的直接溶解作用有关,特别在磷脂转运蛋白 ABCB4 敲除小鼠发生胆汁磷脂分泌障碍时。即使 SRB1 过表达,其对胆汁胆固醇含量增加作用也有限。因此,关于肝细胞胆小管侧膜胆固醇分泌,ABCG5/G8 起较大作用,SRB1 也有一定促进意义,但后者存在争议。

二、脂蛋白受体与胆石病

胆汁胆固醇来源是胆石病研究关注的焦点。肝细胞胆固醇包括自身合成胆固醇,以及经细胞膜受体摄取的血浆脂蛋白胆固醇。前者以乙酰辅酶 A 为底物经一系列酶反应完成,其中 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶(3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase, HMGCR)是整个过程的限速酶。目前临床上使用的他汀类药物是该酶抑制剂,被广泛用于降血脂治疗。但是,肝脏合成的胆固醇不到胆汁中胆固醇来源的 30%^[8]。因此,经细胞膜受体摄取的血浆脂蛋白胆固醇是胆汁胆固醇的主

要来源,其机制主要涉及高密度脂蛋白和低密度脂蛋白及其受体。早期进行的肝脏灌注实验提示,高密度脂蛋白胆固醇可能是胆汁中胆固醇的主要来源^[9]。敲除小鼠高密度脂蛋白受体 SRB1,胆汁中胆固醇含量显著降低^[10]。相反,过度表达 SRB1 则增加胆汁胆固醇含量^[11]。在小鼠胆石病模型,易成石小鼠 C57L/J 结石形成过程中肝脏 SRB1 表达显著增加,而抗成石小鼠 AKR 则未明显上调^[12]。这与笔者发现胆石病人肝脏 SRB1 表达增加,且 SRB1 表达与胆汁胆固醇含量具有正相关的结果吻合^[4]。另外,载脂蛋白(apolipoprotein, Apo)E 是 高密度脂蛋白和低密度脂蛋白共有成分,敲除 ApoE 小鼠,则可降低胆结石形成率,从 100%至 25%左右^[13]。这可能 与失去配体,减少肝脏 2 种脂蛋白受体所识别的脂蛋白摄入,而降低胆汁胆固醇分泌有关。然而,敲除 SRB1 的小鼠,虽然胆汁胆固醇含量减低^[14],但并不能抑制结石形成^[15]。同样,敲除低密度脂蛋白受体的小鼠在成石饲料喂养下仍成石^[16]。显然,虽 SRB1 和低密度脂蛋白受体参与胆汁胆固醇分泌,但尚未起决定性作用。

小肠胆固醇代谢与胆石病

小肠是机体胆固醇摄取的重要场所,经小肠摄取的外源性胆固醇更可能对胆汁胆固醇含量产生重要影响。给予胆石病人高胆固醇饮食可增加胆汁胆固醇含量^[17],而无胆石病人则否^[18],说明胆石病人易摄取食物胆固醇,分泌到胆汁。笔者检测胆石病人近端空肠黏膜,发现参与胆固醇摄取的转运蛋白尼曼匹克 C1 样 1 蛋白 (niemann pick C1 like 1, NPC1L1)表达增加^[19],提示胆石病人小肠摄取胆固醇增多可能参与结石形成。

一、抑制小肠摄取胆固醇的抗成石作用

对小肠胆固醇摄取过程的进一步认识与发现一些关键转运蛋白有关^[20]。胆固醇与胆汁酸在肠腔形成微粒体,但最终的主动摄入由 NPC1L1 负责完成。ABCG5/G8 对抗这个过程,将小肠细胞内胆固醇排到肠腔。摄入细胞的游离胆固醇经甾醇 O 酰基转移酶 2(sterol O-acyl transferase 2, SOAT2)形成胆固醇酯,由乳糜微粒携带进入血循环。部分细胞内游离胆固醇也可经 ABCA1 形成高密度脂蛋白。

ezetimibe 是 NPC1L1 的特异性抑制剂,具有较强的抑制胆固醇摄取、降低血浆胆固醇的疗效^[20]。因此,ezetimibe 能有效抑制小鼠形成胆结石^[21]。这

表明,有效抑制小肠胆固醇摄入可降低胆汁胆固醇含量,预防结石形成。更重要的是,经 8 周喂养后成石的小鼠,再换成普通饲料加 ezetimibe,随着剂量增加,已形成的胆囊结石可逐步溶解消失^[21]。

另一项研究表明,敲除小鼠 SOAT2 基因,抑制胆固醇酯合成,也因降低小肠胆固醇摄取而降低结石形成率^[22]。研究合成特异性抑制小肠 SOAT2 的活性药物,亦有望抑制小肠胆固醇摄取而预防胆石形成。

因此,抑制小肠胆固醇摄取可能是一个有效的防治靶点,对于调节血脂含量,防治胆石病、动脉粥样硬化等多种脂代谢相关疾病具有重要价值。

二、经小肠胆固醇排出对胆固醇调节作用

1973 年,Glomset 和 Norum 提出,高密度脂蛋白胆固醇输送外周胆固醇,经肝细胞分泌和胆道系统排出,是机体清除过多胆固醇的重要途径,为胆固醇逆转运 (reverse cholesterol transportation, RCT)^[23]。但这种代谢机制在降低血胆固醇的同时,因过多胆固醇经胆道排泄,导致胆汁胆固醇过饱和,促进胆结石形成。有趣的是,机体还存在另一种机制,称为经小肠胆固醇排出 (trans-intestinal cholesterol excretion, TICE)。这种机制虽然早在 1927 年由 Sperry 发现^[23],但直至 2007 年 van der Velde 等^[24]报道才证实其存在和详尽定量。系列研究表明,RCT 排泄机体胆固醇占 65%,而 TICE 途径占 35%^[25-26]。在几种特殊的基因修饰小鼠模型,如 ABCG5/G8 敲除^[2]、ABCB4 敲除^[27]以及肝脏 NPC1L1 过表达小鼠^[28],其胆汁胆固醇分泌量甚微,但其粪便中性甾醇,包括胆固醇及其代谢物 coprostanol 等,排泄量并不因胆道排泄减少而降低。另外,采用寡聚反义核苷抑制肝脏 SOAT2,使游离胆固醇无法转化为胆固醇酯,但过多的游离胆固醇并未经胆道分泌,然而粪便中的排出反而增加^[29]。这些小鼠实验都显示存在经胆道以外——TICE 途径胆固醇排泄机制。最近,该研究组还发现,激活小肠法尼醇 X 受体以及成纤维细胞生长因子 15,具有促进 TICE 的效应,且与其增加鼠胆酸和胆酸比例而促进胆固醇经小肠排泄有关^[30]。成年人每天摄入胆固醇约为 400 mg,胆汁分泌胆固醇含量约 1 000 mg,共 1 400 mg。通常小肠摄取率为 50%,这两部分合计摄入约为 700 mg。肠道排泄胆固醇约 1 000 mg,扣除原肠道未摄取的 700 mg,TICE 途径排出约 300 mg 胆固醇。TICE 的存在既有利于机体排泄过多胆固醇,又不增加胆道排泄胆固醇导致胆汁胆固

醇过饱和。因此,如能特异性促进 TICE 途径,则对于降低机体胆固醇含量和预防结石形成具有重要意义。

结 语

对胆石病发病机制的基础研究虽不如 20 世纪八九十年代火热,但对其认识仍不断更新和进展,特别是当前基因组学、转录组学、蛋白质组学以及代谢组学技术迅速发展和不断升级,对脂质代谢肠肝循环的病理生理机制研究不断深入。这些技术的出现和认识的更新对推进未来实现胆石病预防的目标具有重要价值。

[参考文献]

- [1] 蒋兆彦, 吴健, 韩天权, 等. 胆固醇结石病防治研究的再发展[J]. 外科理论与实践, 2015, 20(2): 108-111.
- [2] Yu L, Hammer RE, Li-Hawkins J, et al. Disruption of *Abcg5* and *Abcg8* in mice reveals their crucial role in biliary cholesterol secretion[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, 99(25): 16237-16242.
- [3] Yu L, Li-Hawkins J, Hammer RE, et al. Overexpression of *ABCG5* and *ABCG8* promotes biliary cholesterol secretion and reduces fractional absorption of dietary cholesterol[J]. *J Clin Invest*, 2002, 110(5): 671-680.
- [4] 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.
- [5] Wiersma H, Gatti A, Nijstad N, et al. Scavenger receptor class B type I mediates biliary cholesterol secretion independent of ATP-binding cassette transporter *g5/g8* in mice[J]. *Hepatology*, 2009, 50(4): 1263-1272.
- [6] Wang HH, Li X, Patel SB, et al. Evidence that the adenosine triphosphate-binding cassette *G5/G8*-independent pathway plays a determinant role in cholesterol gallstone formation in mice[J]. *Hepatology*, 2016, 64(3): 853-864.
- [7] Groen AK. Unexpected cholesterol gallstones[J]. *Hepatology*, 2016, 64(3): 711-713.
- [8] Botham KM, Bravo E. The role of lipoprotein cholesterol in biliary steroid secretion. Studies with in vivo experimental models[J]. *Prog Lipid Res*, 1995, 34(1): 71-97.
- [9] Schwartz CC, Halloran LG, Vlahcevic ZR, et al. Preferential utilization of free cholesterol from high-density lipoproteins for biliary cholesterol secretion in man[J]. *Science*, 1978, 200(4337): 62-64.
- [10] Mardones P, Quiñones V, Amigo L, et al. Hepatic cholesterol and bile acid metabolism and intestinal cholesterol absorption in scavenger receptor class B type I-deficient mice[J]. *J Lipid Res*, 2001, 42(2): 170-180.
- [11] Kozarsky KF, Donahee MH, Rigotti A, et al. Overexpression of the HDL receptor *SR-BI* alters plasma HDL and bile cholesterol levels[J]. *Nature*, 1997, 387(6631): 414-417.
- [12] Fuchs M, Ivandic B, Müller O, et al. Biliary cholesterol hypersecretion in gallstone-susceptible mice is associated with hepatic up-regulation of the high-density lipoprotein receptor *SRBI*[J]. *Hepatology*, 2001, 33(6): 1451-1459.
- [13] Amigo L, Quiñones V, Mardones P, et al. Impaired biliary cholesterol secretion and decreased gallstone formation in apolipoprotein E-deficient mice fed a high-cholesterol diet[J]. *Gastroenterology*, 2000, 118(4): 772-779.
- [14] Mardones P, Quiñones V, Amigo L, et al. Hepatic cholesterol and bile acid metabolism and intestinal cholesterol absorption in scavenger receptor class B type I-deficient mice[J]. *J Lipid Res*, 2001, 42(2): 170-180.
- [15] Wang DQ, Carey MC. Susceptibility to murine cholesterol gallstone formation is not affected by partial disruption of the HDL receptor *SR-BI*[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2002, 1583(2): 141-150.
- [16] Kuba M, Matsuzaka T, Matsumori R, et al. Absence of *Elovl6* attenuates steatohepatitis but promotes gallstone formation in a lithogenic diet-fed *Ldlr* (-/-) mouse model [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 17604.
- [17] Kern F Jr. Effects of dietary cholesterol on cholesterol and bile acid homeostasis in patients with cholesterol gallstones[J]. *J Clin Invest*, 1994, 93(3): 1186-1194.
- [18] Andersén E, Hellström K. The effect of cholesterol feeding on bile acid kinetics and biliary lipids in normolipidemic and hypertriglyceridemic subjects[J]. *J Lipid Res*, 1979, 20(8): 1020-1027.
- [19] Jiang ZY, Jiang CY, Wang L, et al. Increased *NPC1L1* and *ACAT2* expression in the jejunal mucosa from Chinese gallstone patients[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 379(1): 49-54.
- [20] Pramfalk C, Jiang ZY, Parini P. Hepatic Niemann-Pick C1-like 1[J]. *Curr Opin Lipidol*, 2011, 22(3): 225-230.
- [21] Wang HH, Portincasa P, Mendez-Sanchez N, et al. Effect of ezetimibe on the prevention and dissolution of cholesterol gallstones [J]. *Gastroenterology*, 2008, 134(7): 2101-2110.
- [22] Buhman KK, Accad M, Novak S, et al. Resistance to diet-induced hypercholesterolemia and gallstone formation in *ACAT2*-deficient mice[J]. *Nat Med*, 2000, 6(12): 1341-

- 1347.
- [23] van der Velde AE, Brufau G, Groen AK. Transintestinal cholesterol efflux[J]. *Curr Opin Lipidol*,2010,21(3):167-171.
- [24] van der Velde AE, Vrans CL, van den Oever K, et al. Direct intestinal cholesterol secretion contributes significantly to total fecal neutral sterol excretion in mice[J]. *Gastroenterology*,2007,133(3):967-975.
- [25] Jakulj L, van Dijk TH, de Boer JF, et al. Transintestinal cholesterol transport is active in mice and humans and controls ezetimibe-induced fecal neutral sterol excretion [J]. *Cell Metab*,2016,24(6):783-794.
- [26] de Boer JF, Schonewille M, Dijkers A, et al. Transintestinal and biliary cholesterol secretion both contribute to macrophage reverse cholesterol transport in rats[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*,2017,37(4):643-646.
- [27] Smit JJ, Schinkel AH, Oude Elferink RP, et al. Homozygous disruption of the murine mdr2 P-glycoprotein gene leads to a complete absence of phospholipid from bile and to liver disease[J]. *Cell*,1993,75(3):451-462.
- [28] Temel RE, Tang W, Ma Y, et al. Hepatic Niemann-Pick C1-like 1 regulates biliary cholesterol concentration and is a target of ezetimibe[J]. *J Clin Invest*,2007,117(7):1968-1978.
- [29] Brown JM, Bell TA 3rd, Alger HM, et al. Targeted depletion of hepatic ACAT2-driven cholesterol esterification reveals a non-biliary route for fecal neutral sterol loss[J]. *J Biol Chem*,2008,283(16):10522-10534.
- [30] de Boer JF, Schonewille M, Boesjes M, et al. Intestinal farnesoid X receptor controls transintestinal cholesterol excretion in mice[J]. *Gastroenterology*,2017,152(5):1126-1138.

(收稿日期:2017-03-23)

(本文编辑:张建林)