

ABCB11 基因在胆石病中的作用及其研究进展^①

吕震^{1,3}, 俞渊², 唐乾利³②, 王宇³

- (1. 广西中医药大学, 广西 南宁 530001;
2. 广西中医药大学第一附属医院, 广西 南宁 530023;
3. 右江民族医学院, 广西 百色 533000)

摘要: 肝细胞把摄取血浆的胆汁酸和自身合成的胆汁酸从胆小管侧膜分泌出去的过程中需要 ATP 的参与。而胆汁盐输出泵(bile salt export pump, BSEP/ABCB11)是 ATP 结合盒(ATP binding cassette, ABC)超家族成员之一的第 11 位肝细胞胆汁酸重要蛋白, 是肝细胞分泌胆汁酸的运载体。ABCB11 蛋白的表达水平影响着胆盐的分泌, 进而改变胆汁的形成, 形成胆汁淤积甚至胆结石。本文综合评述近年来 ABCB11 基因在胆石病中的相关研究进展, 为胆石病的病因探究及临床治疗提供一定的理论依据。

关键词: ABCB11; 胆石症; 基因; 综述

中图分类号: R657.4⁺2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-5817(2015)03-0493-03
doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2015.03.062

胆石病是外科的常见病, 是肝系组织内出现泥沙样甚至类似石头样的物质, 致使胆道梗阻、感染而出现一系列的临床表现和体征的病变, 给病人带来极大的痛苦^[1]。在西方国家白人中, 胆石病的发病率为 10%~15%, 而发展中国家胆石病的发病率可高达 60%~70%^[2], 我国胆石病平均发病率为 10%^[3]。ATP 结合盒 A 族成员 11(ATP binding cassette, sub-family B member 11, ABCB11)基因表达参与胆小管侧膜胆汁酸的分泌, 也是胆汁淤积及胆石病的重要影响因素, 对研究胆石病的发生机制有重要的意义。本文主要描述近年来关于 ABCB11 基因及其蛋白的研究报道, 为今后临床治疗在用药作用靶点上提供相关理论支持。

1 ABCB11 基因的一般特征

ABCB11 基因位于人类第二条染色体长臂上 2q24-31, 其表达的蛋白称为 ABCB11 蛋白, 也称胆汁盐输出泵 BSEP(bile salt export pump)^[4]。早在 1995 年, Childs 发现了 ABCB11 基因是 SPGP(sister P-glycoprotein)的一员, 同时获得了大鼠及小鼠的 BSEP 全长 cDNA^[5], 随后, 人类 ABCB11 基因序列也被发现, 且人类 BSEP 基因与小鼠 BSEP 基因证实具有同源性。ABCB11 基因归属 ATP 结合盒(ATP-binding cassette, ABC)转运蛋白家族, 主要在肝脏组织中细胞编码表达, 其两个跨膜结构域(TMD)和两个核苷酸结构域(NBD)可构成经典的 ABC 转运蛋白。但是不同的 ABC 转运蛋白的结构域因基因的不同而不同, 其核苷酸序列可达 30%~50%相同率^[6]。

ABCB11 是肝内特殊糖蛋白, 肝胆管细胞通过消耗 ATP, 将肝细胞中的胆盐分泌到毛细胆管形成胆汁, 在这一过程中 BSEP 发挥着至关重要的作用^[4,7-8]。ABCB11 基因的编码表达高度受到法尼醇 X 受体(farnesoid X receptor, FXR)和类视黄醇 X 受体 α -异二聚体(RXR)调节, FXR 是胆汁酸调节的重要转录因子, 胆汁酸的合成及转运均受其调控。BSEP

被招募到肝细胞内囊泡顶膜与具有 cAMP 和调控 PI3K 信号依赖的通路结合, 从而降低细胞内渗透压导致肝细胞肿胀及胆汁酸的分泌^[9]。BSEP 主要参与输送单价胆盐, 包括初级胆盐的胆酸(CA)和鹅脱氧胆酸(CDCA), 次级胆汁酸盐脱氧胆酸(DCA)及熊去氧胆酸(UDCA)等^[10]。

2 ABCB11 基因与胆汁改变

2.1 ABCB11 基因表达异常形成胆汁淤积 BSEP 基因的改变会直接影响其蛋白表达和功能, 并与多种淤积胆型肝炎疾病有联系。人类基因组测序发现 ABCB11 基因的表达异常引起的家族性肝内胆汁淤积, 其通常发生在婴儿期, 我们称之为进行性家族性肝内胆汁淤积症 II 型(PFIC2), 这是一种常染色体隐性遗传疾病。这一发现证实了 BSEP 被确定为胆汁盐依赖胆汁流动的决定因素, ABCB11 的额外突变和多态性被发现后, 也证实了 ABCB11 基因显著改变会导致 BSEP 的功能改变进而导致肝脏疾病, 这一系列从轻微到严重的病变逐步形成了胆汁淤积称为 BSEP 缺陷综合征^[11-12]。国内相关学者也提出以低谷氨酸转氨酶(GGT)为特征的 PFIC2 各型临床病变与肝细胞 ABCB11 和 ATP8B1 的基因改变相关^[13]。与 PFIC2 相类似的一个病变叫良性复发性肝内胆汁淤积(BRIC2), 此病变的病情稍稳定, 也是常染色体隐性遗传病变, 可发生在任何年龄段, 主要临床表现是黄疸和瘙痒反复发作, 病程可持续数周, 可自行缓解, 但病情严重后可发展为 PFIC2^[11]。同时有学者也提出以低谷氨酸转氨酶(GGT)为特征的 PFIC2 各型临床病变与肝细胞 ABCB11 和 ATP8B1 的基因改变相关^[13]。据报道, 临床上还有其他类型的胆汁淤积症, 比如妊娠期胆汁淤积症与 ABCB11 基因表达的改变也密切相关, 提示妊娠期这一获得性生理因素可能会抑制 BSEP 的功能而造成胆汁淤积^[14]。

2.2 胆汁淤积改变是形成胆石的重要因素 众所周知胆汁的淤积后使得胆盐不能及时进入肠肝循环, 胆

① 基金项目: 2014 年国家自然科学基金项目(81470198); 2014 年广西科学研究与技术开发计划项目(桂科能 14123006-3)

② 通讯作者, E-mail: htmgx@163.com

胆汁盐浓度下降,影响微粒胶的形成,有利于胆固醇的成核、析出,从而导致胆固醇结晶形成结石。实验证明胆汁分泌是在肝细胞和胆管细胞完成的,而胆固醇结石及胆色素结石患者的胆汁含有的胆汁酸量明显低于正常人^[15]。早有学者利用肝细胞在体外培养的方法,观察大鼠肝胆管结石模型胆汁的分泌情况,发现大鼠胆汁中的胆汁酸含量有所下降,且出现了较高浓度的胆红素(UCB),这提示胆汁盐输出泵的改变引起胆汁淤积带来胆汁酸比例变化,这种比例改变原胆汁具有形成胆结石的趋势。Satoko 等^[16]研究发现 ABCB11 基因在胆汁酸的形成和胆汁酸的代谢中扮演着至关重要的角色,且其受到 FXR 基因的调控,一旦 FXR 的改变也会造成胆汁淤积及胆汁酸的变化,其中胆盐比例的改变会降低胆固醇的溶解而导致胆固醇析出沉淀,这就是胆囊结石形成的重要危险因素。可以看出 ABCB11 基因的改变而引起肝内胆管胆汁淤积势必会胆汁酸成分的变化,因此为胆囊结石形成有利条件。

3 ABCB11 基因改变也是胆石形成的直接因素

早在 1995 年就有报道小鼠的致石基因—Lith 1 定位在小鼠 2 号染色体上,其遗传标记 D2mit44 的 LOD(Log odds score)值是 4.6,该基因片段与胆石病有关联的候选基因有可能包括 BSEP 基因。BSEP 基因改变使得肝脏分泌胆汁酸和胆盐减少,与此同时,胆汁酸内的胆固醇含量会增高 7 倍,这种改变使得胆汁胆固醇饱和度提高并易到达成石状态。Anne 等^[17]发现胆汁盐输出泵基因 ABCB11 基因映射到 Lith1 位点上,并且在实验过程中让小鼠 BSEP 过表达后发现小鼠胆固醇吸收增加及胆汁中胆固醇结晶增多,导致胆囊胆固醇结石的概率大大增加,这项研究强烈支持 ABCB11 是致石基因。ABCB11 蛋白主要作用就是参与分泌胆汁,但小鼠高表达后促进食源性肥胖和高胆固醇血症的形成,因为增加了疏水性胆汁酸的肠内胆固醇吸收并增加肠内脂肪的吸收,因此在这 ABCB11 基因超表达一系列的表达过程中为胆囊胆固醇结石加速形成创造了基础^[17-19]。科学家在给 C57L 小鼠喂高胆固醇饮食和研究肝细胞小管膜上的 BSEP 与 PKC α 和 HAX-1 的关系时发现胆固醇结石的形成与 BSEP 的表达下调有关,BSEP 和 HAX-1 的相互作用也有所增强^[20]。最近一项临床统计研究中发现在未超过 18 周岁的胆石症患者超过半数都提供了有 ABCB11 基因异常^[21]。国内学者也提出胆色素结石与肝细胞胆小管上的 ABCB11 和 ABCC2 基因有一定的相关性,肝细胞胆小管侧膜的转运蛋白改变后影响胆汁分泌功能,促进胆汁胆色素易成石性^[22]。

但是也有学者在研究小鼠 ABCB11 基因过表达时发现,过度的 ABCB11 基因表达显著地促进了胆汁胆盐和循环胆汁流量的增加,而胆固醇和磷脂的分泌及胆囊大小和收缩性与对照组基本相似,认为 ABCB11 基因对胆固醇结石可能没有太大影响^[23],对于这项研究成果尚未有过验证。

4 ABCB11 基因与胆石病的治疗

4.1 西医治疗 胆汁酸转运蛋白在胆汁的肠肝循环、胆汁排泄、肠道亲脂性营养物质的吸收和胆固醇的溶解排泄都发挥着重要作用,而其遗传或后天的缺陷都

会带来生理功能障碍而形成胆汁淤积和胆结石,因此药物作用 ABCB11 转运蛋白和监管核受体为临床治疗胆石病开创新思路^[24]。目前胆石病用药最多、疗效最确切的主要是熊去氧胆酸(USAD),它是亲水性胆汁盐,毒性较小,口服后可促进胆汁排泄,改善肝功能,但是对 ABCB11 基因蛋白缺陷引起的胆石症效果有限^[25]。另外有报道称胆汁转流术对 ABCB11 基因突变的 E297G 或者 D428G 的患者治疗效果较好^[26],胆汁转流术是干扰减少肠肝循环数,降低胆盐的重吸收以降低体内有毒胆盐的蓄积。Warner 等^[27]研究发现 BSEP 抑制剂似乎是亲脂性且要在一定的分子量范围,通常认为高分子疏水化合物是理想的 BSEP 抑制物,当分子量大于 309 且含更多的碱性化合物和更多的氢键共体化合物对 BSEP 的抑制作用越明显,这一发现为我们以后临床治疗 BSEP 过表达引起的胆石病提供新的思路。

4.2 中医药治疗 中医药是中国医学的瑰宝,能达到“简、便、效、廉”的理想效果。中医药在胆石症的治疗也积累了丰富的经验,但中药对致石基因 ABCB11 基因蛋白的调控机制的研究尚未明确,报道也较少,其作用机制尚未得到公认,国内只有少数学者研究。唐乾利教授在运用大黄灵仙胶囊治疗兔胆石症的实验过程中发现,大黄灵仙胶囊显著下调致石基因 CYP7A1 和 ABCB11 表达,总结出大黄灵仙胶囊能稳定肝细胞 ABCB11 的表达,改善兔肝胆固醇和胆汁代谢,有效地保护肝功能从而防治结石形成^[28-31]。王晖等^[32]在治疗 60 例胆结石患者中体会到中西医结合防治胆石病的效果更加显著。

5 小结

胆石的形成和发展是个极为复杂的问题,其发展机制还尚未完全明确,其关联的致石基因 ABCB11 也有所争议,到目前为止胆固醇结石基因虽然取得了小许成就,但是还未能确定哪些基因在胆石的行程中起到决定性的作用,基因的多态性研究将会成为胆石病中该基因调控机制及其临床治疗研究的突破口。在西药对胆石致石基因 ABCB11 治疗效果较局限的情况下,中药治疗有着独特的优势,但中医药在治疗胆石病的经验虽然非常丰富,且有强调调养、扶正祛邪、增强体质、不良反应少等优势,在胆石治疗方面能保护肝细胞、有效增加胆汁流量,改变胆汁成分,逐渐消除致石因素等特点,但是其治疗的具体机制及作用的 BSEP 基因靶点还尚未明确,在广大学者对中医药的分子领域深入研究下,明确相关中药对该基因蛋白的作用机理,将会对胆石症的防治产生深远意义。

参考文献:

- [1] Internal Clinical Guidelines Team. Gallstone Disease (UK): Diagnosis and Management of Cholelithiasis, Cholecystitis and Choledocholithiasis[M]. London: National Institute for Health and Care Excellence (UK): 2014.
- [2] Stinton LM, Myers RP, Shaffer EA. Epidemiology of gallstones[J]. Gastroenterol Clin North Am, 2010, 39(2): 157-169.
- [3] 黄志强. 胆道外科的现状与未来[J]. 中国实用外科杂志,

- 1999,19(1):17-18.
- [4] Stieger B, Meier Y, Meier PJ. The bile salt export pump [J]. *Pflugers Arch*, 2007, 453 (5): 611-620.
- [5] Childs S, Yeh RL, Georges E, et al. Identification of a sister gene to P-glycoprotein [J]. *Cancer Res*, 1995, 55 (10): 2029-2034.
- [6] Lzabella Klein, Balazs Sarkadi, Andras Varadi. An inventory of the human ABC proteins [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1999, 1461(2): 237-262.
- [7] Langmann T, Mauerer R, Zahn A, et al. Real-time reverse transcription-PCR expression profiling of the complete human ATP-binding cassette transporter superfamily in various tissues [J]. *Clin Chem*, 2003, 49 (2): 230-238.
- [8] Byrne S, Kearns J, Carolan R, et al. Refractory absence epilepsy associated with GLUT-1 deficiency syndrome [J]. *Epilepsia*, 2011, 52(2): 1021-1024.
- [9] Suchy FJ, Ananthanarayanan M. Bile salt excretory pump: biology and pathobiology [J]. *Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2006, 43(Suppl 1): 10-16.
- [10] Stieger B. The role of the sodium-taurocholate cotransporting polypeptide (NTCP) and of the bile salt export pump (BSEP) in physiology and pathophysiology of bile formation [J]. *Handbook Exp Pharmacol*, 2011 (201): 205-259.
- [11] Lam CW, Cheung KM, Lsui MS, et al. A patient with novel ABCB11 gene mutations with phenotypic transition between BRIC2 and PFIC2 [J]. *Hepatology*, 2006, 44(1): 240-242.
- [12] Strautnieks SS, Byme JA, Pawlikowska L, et al. Severe bile salt export pump deficiency 82 different ABCB11 mutations in 109 families [J]. *Gastroenterology*, 2008, 134(4): 1203-1214.
- [13] 陆怡, 刘丽艳, 王晓红, 等. 低血清谷氨酸转氨酶进行性家族性肝内胆汁淤积症 23 例临床分析 [J]. *Chin J Evid Based Pediatr*, 2012, 7(3): 172-176.
- [14] Yurong Lai. Transporters in Drug Discovery and Development. A volume in Woodhead Publishing Series in Biomedicine [M]. London: Elsevier Ltd, 2013: 327-352.
- [15] Esteller A. Physiology of bile secretion [J]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14(90): 5641-5649.
- [16] Satoko Hirobe-Jahn, Simone Harsch, Olga Renner, et al. Association of FXR gene variants with cholelithiasis [J]. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology*, 2014, 39(1): 67-79.
- [17] Henkel AS, Kavesh MH, Kriss MS. Hepatic overexpression of abcb11 promotes hypercholesterolemia and obesity in mice [J]. *Gastroenterology*, 2011, 141(4): 1404-1411.
- [18] 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.
- [19] Henkel A, Wei Z, Cohen DE. Mice overexpressing hepatic Abcb11 rapidly develop cholesterol gallstones [J]. *Mamm Genome*, 2005, 16(12): 903-908.
- [20] Jing Kong, Bin-Bin Liu, Shuo-Dong Wu, et al. Enhancement of interaction of BSEP and HAX-1 on the canalicular membrane of hepatocytes in a mouse model of cholesterol cholelithiasis [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(4): 1644-1650.
- [21] Bertrand Condat, David Zanditenas, Véronique Barbu, et al. Prevalence of low phospholipid-associated cholelithiasis in young female patients [J]. *Digestive and Liver Disease*, 2013, 45(11): 915-919.
- [22] 孔静, 吴硕东, 陈永生, 等. 胆色素结石肝细胞胆管侧膜转运蛋白 mRNA 表达的实验研究 [J]. *中国现代普通外科进展*, 2012, 15(12): 925-928.
- [23] Wang HH, Lamment F, Schmitz A, et al. Transgenic overexpression of Abcb11 enhances biliary bile salt outputs, but does not affect cholesterol cholelithogenesis in mice [J]. *European Journal Of Clinical Investigation*, 2010, 40(6): 541-551.
- [24] Emina Halilbasic, Thierry Claudel, Michael Trauner. Bile acid transporters and regulatory nuclear receptors in the liver and beyond [J]. *Journal of Hepatology*, 2013, 58(1): 155-168.
- [25] Pedersen JM, Matsson P, Bergström CA, et al. Early identification of clinically relevant drug interactions with the human bile salt export pump (BSEP/ABCB11) [J]. *Toxicological Sciences*, 2013, 136(2): 328-343.
- [26] Pawlikowska L, Strautnieks S, Jankowska I, et al. Differences in presentation and progression between severe FIC1 and BSEP deficiencies [J]. *J Hepatol*, 2010, 53(1): 170-178.
- [27] Warner DJ, Chen H, Cantin LD, et al. Mitigating the inhibition of human bile salt export pump by drugs: opportunities provided by physicochemical property modulation, in-silico modeling and structural modification [J]. *Drug Metab Dispos*, 2012, 40(12): 2332-2341.
- [28] 唐乾利, 黄炜, 黄名威, 等. 大黄灵仙胶囊对胆结石防治作用机制的实验研究 [J]. *中国临床新医学*, 2012, 5(2): 93-97.
- [29] 黄名威, 唐乾利, 赫军, 等. 豚鼠胆汁酸盐输出泵 (BSEP) 基因克隆及其在胆结石豚鼠肝组织中的表达分析 [J]. *基础医学与临床*, 2010, 30(7): 673-676.
- [30] 唐乾利, 俞渊, 黄欣, 等. 大黄灵仙胶囊防治兔胆石病的代谢组学及超微病理研究 [J]. *中华中医药杂志*, 2013, 28 (11): 3359-3362.
- [31] 李泉, 黄欣, 王兵, 等. 大黄灵仙胶囊预防胆取石术后结石复发的基础与临床研究 [J]. *右江民族医学院学报*, 2014, 36(2): 161-164.
- [32] 王晖, 杨玉龙. 中西医结合治疗胆石病 60 例临床体会 [J]. *中国医药指南*, 2013, 11(13): 667.

收稿日期: 2015-04-22