

文章编号:1005-6947(2007)02-0170-03

· 文献综述 ·

胆固醇胆石成因的研究进展

李哲夫¹ 综述 陈孝平² 审校

(1. 青岛大学医学院附属青岛市市立医院 肝胆外科, 山东 青岛 266011; 2. 华中科技大学同济医学院附属同济医院 肝胆胰研究所, 湖北 武汉 430030)

摘要: 复习历年来胆固醇胆石的相关文献, 综合分析了该课题的研究成果, 其对传统学说的某些观点提出了挑战。目前研究方向是胆固醇胆石相关基因与成石的关系。这一学说的进展对在易发人群中预测和预防胆固醇胆石的形成有重要意义。
[中国普通外科杂志, 2007, 16(2): 170-172]

关键词: 胆固醇; 胆结石/病因学; 综述文献

中图分类号: R657.4 **文献标识码:** A

胆固醇胆石的病因涉及遗传和环境两方面的因素, 以往认为环境因素为主, 有作者称近2/3胆固醇胆石与环境因素有关。但近年来通过对胆固醇胆石的流行病学调查和胆石病相关基因的研究, 已认识到遗传因素的作用可能更大, 现对该种疾病成因的研究进展综述如下。

1 胆固醇胆石成因研究的历史回顾

胆固醇胆石的成因包括胆汁中胆固醇过饱和^[1]、成核过程异常和胆囊功能异常。近年来的研究成果丰富和完善了传统的理论, 同时也对传统理论的某些观点提出了挑战。

1.1 胆汁胆固醇过饱和的机制

1968年Small和Admirand描述了胆盐、卵磷脂以及胆固醇之间的相互关系和关于胆固醇结石形成机制的著名假说^[2]。然而, 传统的微胶粒学说不能解释超过溶解范围的胆固醇并未马上沉淀形成结晶的现象。1983年Somjen和Gilat提出了关于胆固醇溶解和转运机制的新的学说——“泡”的概念。正常胆汁和异常胆汁的主要区别在于后者有泡的形

成、聚集以及胆固醇单水结晶(cholesterol monohydrate crystal, CMC)析出的速度大大高于前者。基于对上述认识的提高, 胆固醇饱和指数(CSL)将被Harvey提出的“泡相胆固醇饱和指数(VCSL)”所取代, 当胆固醇/磷脂比值大于1时, 泡处于不稳定状态, 即易于聚集、融合并析出胆固醇结晶。

1.2 胆囊结石的成核学说

胆汁中溶解状态的胆固醇形成CMC的过程称为成核。研究发现, Small所描述的胆固醇溶解区过大, 进一步提出胆固醇超饱和和有不稳定区(labile zone)和亚稳定区(metastable zone)的差异^[3-4], 前者可直接析出CMC而成核(又称均质成核); 后者单独依靠其本身的饱和程度析出结晶需要很长时间, 必须加入促进成核的物质才能成核(又称异质成核)。胆囊结石患者的胆汁饱和度大部分属于亚稳态者。

1979年, Holan等^[5]提出快速成核是胆固醇结石患者胆汁的重要特征。胆囊胆固醇结石患者的胆汁成核时间较快, 提示其胆汁中存在着影响胆汁成核的某些物质, 这些物质被称为成核因子。胆汁出现胆固醇结晶的速度与胆固醇饱和度无关, 而受胆汁中促成核和抗成核因子之间动态平衡的影响。

1.3 胆囊结石成核过程的影响因素

20世纪70年代末期以来, 已从

胆汁中分离出许多种作用不同的蛋白类物质(如黏液性糖蛋白等)有促成核作用; 而载脂蛋白A1和A2能抑制成核; 阿司匹林则能降低胆汁黏液性糖蛋白含量和胆汁黏稠度并延缓成核^[6-7]。氨肽酶(AP)N是一种非黏液性糖蛋白, 证实为一成核因子^[8]。除蛋白质外, 钙离子有促成核作用, 胆红素也有促成核活性作用^[9-10]。

1.4 胆囊功能及胆汁流变学说

1.4.1 胆囊动力功能异常 Miyasaka等^[11]研究显示: 在胆囊结石的小鼠中, 胆囊收缩素A受体(CCK-AR)基因的表达明显下降, 去除了CCK-AR基因的小鼠的胆囊结石发生率明显上升。临床还发现: 胆石病组CCK-AR mRNA表达量明显低于对照组($P < 0.01$), 收缩减弱组的mRNA表达又明显低于收缩正常组($P < 0.05$), 且CCK-AR mRNA表达的变化与胆囊排空率呈显著正相关^[12]。用放射配基法发现: 胆囊收缩减弱组的胆囊收缩素受体(CCK-R)含量和活性都显著低于正常对照组($P < 0.01$), 也低于收缩“正常”组; 而收缩正常组的CCK-R活性显著低于正常对照组($P < 0.01$), 但含量与正常对照组无明显差别。由此认为: 胆囊结石患者胆囊收缩减弱是胆囊CCK-R的活性和/或含量降低所致^[13]。全胃肠外营养(TPN)、胃肠道手术后禁食、胃大部分切除、孕激素和应用生长抑素

收稿日期: 2005-04-05;

修订日期: 2006-11-02。

作者简介: 李哲夫, 男, 湖南邵阳人, 青岛大学医学院附属青岛市市立医院副教授, 主要从事肝胆胰脾外科方面的研究。

通讯作者: 李哲夫

E-mail: lizhefu19652005@yahoo.com.cn。

等,都会影响胆囊收缩,导致胆囊结石的发生率明显增加。

1.4.2 胆囊黏膜功能异常 正常胆囊上皮有脂质吸收作用,而胆石病患者胆囊上皮细胞选择性吸收胆汁胆固醇和磷脂的能力降低。Conter 等^[14]认为胆囊结石形成早期磷脂与胆汁酸比值升高,胆汁浓缩,产生促成核作用。胆汁的浓缩伴随着胆汁的酸化,而酸化能提高钙在胆汁中的溶解度,有利于胆囊结石的形成。胆囊黏膜分泌蛋白在胆囊结石的形成过程中也具有重要的作用,其中黏糖蛋白是一种成核因子^[15]。

1.4.3 胆汁流变特性的改变 早在20世纪60年代,Maki已发现胆石的形成与胆道运动有一定关系。从20世纪80年代以来,国人研究了胆汁进出胆囊时的运动状态,认为胆汁被喷射入胆囊,因内腔突然变宽而产生漩涡,导致射流产生附壁效应。据此理论,在体外模拟实验中,可制成结石。运用B超、胆囊造影和CT检查,获得人体椭圆形胆囊边界收缩运动的数学模型,发现收缩胆囊的轴线附近存在着快速的胆汁流,在流场中心截面附近存在旋向相反的湍流区。胆汁进入胆囊时呈漩涡运动状态,排出胆囊时亦呈湍流状态;两者都能使致石胆汁成石。

1.5 胆固醇胆石细菌DNA的发现

Swidsinski 等^[16]检测出胆固醇结石中的细菌DNA,使人们重新考虑细菌是否参与胆固醇结石的形成。Kawai 等^[17]利用聚合酶链反应(PCR)技术检查纯胆固醇结石样本,在57%的样本中发现了细菌的DNA成分,且100%为革兰阳性细菌。有研究^[18-19]显示,螺杆菌DNA存在于胆囊结石、胆汁及胆囊黏膜中,螺杆菌感染和胆囊结石的形成有关。国内外学者开始认识到胆固醇结石和胆色素结石的形成机制有部分重叠的^[20]。胆汁细菌感染是发生在胆石形成前还是后仍不明了,但可以肯定胆固醇结石不是无菌的^[21-22]。

2 胆固醇结石的基因研究进展

流行病学研究表明胆固醇胆石具有家族性的特点,胆石病家系研究支持存在人类胆石基因(胆石相关基因又称胆石病候选基因或胆石基因)。

2.1 胆固醇胆石的候选基因

目前已知的45个胆石病候选基因,按其功能分为6大类。由于胆固醇胆石形成过程中,主要环节-胆汁胆固醇过饱和决定于胆汁脂类分泌的速率。因此调节脂类分泌速率的基因被认为是首选候选基因。MDR1,MDR2,MDR3是一组多药耐药基因,其中MDR2和MDR3影响肝细胞膜对磷脂的转运。Lucena 等^[23]报道1名47岁妇女在青春期发生胆石病,后来发生妊娠复发性肝内胆汁淤积,最终发生成年期胆汁性肝硬化。分析显示MDR3基因杂合子的错义突变,此突变发生在535密码子的14外显子,导致甘氨酸替代天冬氨酸。进一步分析患者家族中的7名成员,结果显示患者的女儿有同样的突变,在随访期间发生了妊娠胆汁淤积,并且在分娩后持续有血清 γ 谷氨酰转肽酶和碱性磷酸酶高水平。虽然MDR3缺陷伴有的胆汁性肝硬化多出现在25岁之前,而该病例50岁左右才出现明确的肝硬化,提示她出现33种与MDR3缺陷相关的临床特征。

2.2 研究胆固醇胆石候选基因的新方法

全基因组扫描和基因表达谱可能是探索胆石病候选基因的新途径。全基因组扫描研究提示^[24],胆石病家系的3号染色体D3S1266位点,4号染色体D4S406位点,9号染色体D9S1682位点和11号染色体D11S902位点支持连锁,该区域内存在胆囊收缩素基因、胆囊收缩素受体A基因、诱导7 α 羟化酶表达的核受体基因和分泌黏蛋白的基因。基因芯片提示^[24],胆石患者肝脏中存在80条共同差异表达基因,其中13条上调,32条下调;大部分涉及细胞结构、分泌和信号传导的生物过程,含24条

新基因和8条表达序列标签。其中2条下调的基因与脂类代谢调节有关,它们是核受体亚族2、F组6号和长链2脂肪酸辅酶A连接酶。

用微卫星位点为遗传标记对12个胆石病家系进行基因扫描,用非参数分析软件GHNEH UNTER和参数分析软件BATCLINK进行连锁分析,发现9号染色体存在与胆囊结石病相关的基因位点区域,初步提示该区域在D9S1682位点,9q33.1-9q34.2,核受体和前列腺素E合成酶2是可能的候选疾病基因^[25]。根据人类基因组资源(Human Genome Resources)的人类遗传学图谱,D9S1682位点在9q33.1-9q34.2。该区域含核受体基因,包括Retinoid X receptor α (NR281)。研究表明核受体调控胆固醇分解和在胆固醇结石的形成中起重要作用^[26-27]。转录因子核受体需配体激活,以二聚体形式与配体结合,影响相关基因的表达。D9S1682区域的另一候选基因可能是前列腺素E合成酶2。黏蛋白有促成核作用,胆囊上皮分泌黏蛋白由前列腺素E2介导^[28]。此外,前列腺素E2还可能在促进肝胆汁分泌及胆囊收缩、促进胆囊分泌氯离子等方面影响胆固醇结石的形成^[28-29]。

胆固醇结石的基因研究为最终揭示胆石的发病机制找到了一个突破口,它在理论上解释了胆固醇结石的发生为何具有一定的遗传倾向。已有的研究发现:有些基因,如载脂蛋白E,胆固醇载体蛋白2,低密度脂蛋白(LDL)受体,HMGC_oA还原酶,高密度脂蛋白(HDL),胆固醇脂转移因子,胆固醇7 α -羟化酶等基因影响胆固醇的代谢;有些基因,如MDR族基因影响磷脂的转运;有些基因则调节胆囊收缩素及其受体,以及胆汁黏蛋白等。目前认为胆固醇结石是多种基因相互作用的结果,这方面的研究进展将有助于筛选易发人群,对预测和预防胆固醇结石的发生有重要临床价值。

参考文献:

- [1] 赵纪春,舒晔,程南生,等. 胆囊结石中胆固醇代谢变化的实验研究[J]. 中国普通外科杂志, 2000,9(2):124-128.
- [2] Admirand WH, Small DM. The physiochemical basis of cholesterol gallstone formation in man [J]. *J Clin Invest*, 1968, 47(4):1043-1052.
- [3] Carey MC. Critical tables for calculating the cholesterol saturation of native bile [J]. *J Lipid Res*, 1978, 19(3):945-955.
- [4] Sedaghat A, Grundy SM. Cholesterol crystals and the formation of cholesterol gallstones [J]. *N Engl J Med*, 1980, 302(5):1274-1277.
- [5] Holan KR, Holzbach RT, Hermann RE, *et al.* Nucleation time: a key factor in the pathogenesis of cholesterol gallstone disease [J]. *Gastroenterology*, 1979, 77(2):611-617.
- [6] Kibe A, Holzbach RT, LaRusso NF, *et al.* Inhibition of cholesterol crystal formation by apolipoproteins in supersaturated model bile [J]. *Science*, 1984, 225(2):514-516.
- [7] Lee SP, Carey MC, LaMont JT. Aspirin prevention of cholesterol gallstone formation in prairie dogs [J]. *Science*, 1981, 211(5):1429-1431.
- [8] 陈祥柏,祝学光,张红军,等. 胆汁中氨肽酶 N 的分离、提纯及其成核作用的初步研究 [J]. 中国普通外科杂志, 2000,9(2):117-119.
- [9] 祝学光,涂向群,韩建德. 关于单结合胆红素水溶性的研究 [J]. 中华实验外科杂志, 1997, 14(5):289-291.
- [10] 王人颢,祝学光,刘玉京,等. 单结合胆红素对人胆囊胆汁成核时间的影响 [J]. 中华实验外科杂志, 1997, 14(2):77-78.
- [11] Miyasaka K, Takata Y, Funakoshi A. Association of cholecystokinin A receptor gene polymorphism with cholelithiasis and the molecular mechanisms of this polymorphism [J]. *J Gastroenterol*, 2002, 37 (Supple 14):102-107.
- [12] 帅建,张圣道,韩天权,等. 胆囊结石病胆囊排空与缩胆素受体基因表达关系的研究 [J]. 中华外科杂志, 1999, 37(5):292-294.
- [13] 朱坚,韩天权,陈胜,等. 胆石病患者胆囊收缩素受体与胆囊动力关系的研究—胆囊收缩“正常”与收缩减弱患者的病理改变 [J]. 外科理论与实践, 1999, 4(1):36-38.
- [14] Conter RL, Roslyn JJ, Porter Fink V, *et al.* Gallbladder absorption increase during early cholesterol gallstone formation [J]. *Am J Surg*, 1986, 151(1):184-188.
- [15] 刘为民,彭彦辉. 胆汁中蛋白成分对胆固醇结石形成的影响 [J]. 中国普通外科杂志, 2006, 15(3):224-226.
- [16] Swidsinski A, Ludwig W, Pablig H, *et al.* Molecular genetic evidence of bacterial colonization of cholesterol gallstones [J]. *Gastroenterology*, 1995, 108(3):860-864.
- [17] Kawai M, Iwahashi M, Uchiyama K, *et al.* Gram-positive cocci are associated with the formation of completely pure cholesterol stones [J]. *Am J Gastroenterol*, 2002, 97(1):83-88.
- [18] 田志杰,韩天权,胡厚佳,等. 胆囊结石病患者胆道系统的螺杆菌 DNA [J]. 中华消化杂志, 2003, 23(6):359-362.
- [19] 顾建平,黄桂余,徐子平. 胆固醇结石患者胆道系统幽门螺杆菌研究 [J]. 中国普通外科杂志, 2005, 14(8):618-620.
- [20] Swidsinski A, Lee SP. The role of bacteria in gallstone pathogenesis [J]. *Front Biosci*, 2001, 6(1):93-103.
- [21] 王学军,李玉民,李世雄. 细菌代谢产物在胆囊结石成石中的作用 [J]. 中国普通外科杂志, 2002, 11(2):76-79.
- [22] 卢云,石景森,卓健生. 结石性胆囊胆汁厌氧菌的检测 [J]. 中国普通外科杂志, 2000, 9(2):129-131.
- [23] Lucena JF, Herrero JI, Quiroga J, *et al.* A multidrug resistance 3 gene mutation causing cholelithiasis, cholestasis of pregnancy, and adulthood biliary cirrhosis [J]. *Gastroenterology*, 2003, 124(4):1037-1042.
- [24] 韩天权,张圣道. 胆石病基础研究发展中的几个问题 [J]. 中华肝胆外科杂志, 2004, 10(7):433-435.
- [25] 秦俭,韩天权,袁文涛,等. 胆囊结石病家系 9 号染色体基 N 定位研究 [J]. 中华肝胆外科杂志, 2004, 10(11):729-731.
- [26] Peet DJ, Turley SD, Ma W, *et al.* Cholesterol and bile acid metabolism are impaired in mice lacking the nuclear oxysterol receptor LXR alpha [J]. *Cell*, 1998, 93(3):693-704.
- [27] Wang H, Chen J, Hollister K, *et al.* Endogenous bile acids are ligands for the nuclear receptor FXR/BAR [J]. *Mol Cell*, 1999, 3(2):543-553.
- [28] Moser AJ, Abedin MZ, Morgenstern KE, *et al.* Endogenous prostaglandins modulate chloride secretion by prairie dog gallbladder [J]. *J Lab Clin Med*, 2000, 135(1):82-88.
- [29] Kaminski DL. Arachidonic acid metabolites in hepatobiliary physiology and disease [J]. *Gastroenterology*, 1989, 97(3):781-792.