

文章编号:1005-6947(2006)03-0224-03

· 综述 ·

# 胆汁中蛋白成分对胆固醇结石形成的影响

刘为民 综述 彭彦辉 审校

(河北省人民医院 肝胆外科, 河北 石家庄 050000)

**摘要:** 胆囊胆固醇结石的形成常与胆汁成分改变有关,但其确切机制及其始动因素尚未完全明了,该文就近年胆汁中蛋白质成分改变对胆石形成的影响及其可能机制方面研究成果作一综述。

**关键词:** 胆结石/病因学; 胆汁/分析; 胆固醇结石; 综述文献

**中图分类号:** R575.62; Q592.9

**文献标识码:** A

胆石病是世界范围的常见病、多发病,且有逐渐增加趋势。而其确切发病机制尚未明了。既往研究主要集中在“胆固醇过饱和理论”、“成核理论”和“泡学说”,但是上述理论尚无法圆满解释结石形成及发展的所有现象。随着对胆石成因的深入研究,人们开始对胆汁中蛋白质成分在胆石形成中的作用产生了浓厚的兴趣,并进行了一定的研究。

## 1 黏蛋白

陈东风<sup>[1]</sup>应用免疫组化法检测胆囊黏膜中黏蛋白含量发现胆石组较对照组明显增高。黏蛋白是机体黏膜上皮细胞合成、分泌的一种蛋白质,生理状态下其对黏膜具有保护作用,但异常增高或减少常伴发相关疾病的发生。现已发现,人体内黏蛋白共13种<sup>[2]</sup>,其核心富含苏氨酸、丝氨酸和脯氨酸残基。各种黏蛋白之间结构差异很大,氨基酸残基从322个到13288个不等,但其间有许多序列结构相似

甚至完全相同的区域。其最显著的共同特征为均有数目不等的串联重复序列(tandem repeat TR)。根据黏蛋白存在的位置与状态不同,可将其分为膜结合型和分泌型两类。分泌型黏蛋白中除特征性数目不等的串联重复序列之外,其共同的结构特点是其结构与人类的vwf因子有较高的同源性<sup>[3]</sup>,即均包含有30个半胱氨酸残基组成的位于氨基末端D区和羧基末端的240~325位氨基酸残基之间,由29~33个半胱氨酸残基组成的CK区,这种结构特点与该型黏蛋白单体之间通过二硫键连接成二聚体和成熟多聚体密切相关。随着分子量的增大,形成不易溶解的结石核心。Lee<sup>[4]</sup>在胆石动物模型中发现黏蛋白可相互集聚形成不易溶解的胶样物质。孙立波<sup>[5]</sup>发现在仓鼠胆石模型成模过程中胆囊黏膜中黏蛋白浓度分泌明显增加。尽管国内外有关于黏蛋白对胆囊结石形成影响的研究大多数集中在动物试验上,而人类胆石形成与黏蛋白的关系、其形成的确切机制尚需进一步研究。

胆汁中黏蛋白产生的确切机制也尚不清楚。目前认为,黏蛋白增高者其血清中前列腺素E(PGE)明显增高。前列腺素E<sub>1</sub>、前列腺素E<sub>2</sub>和花生四烯酸水平增高可刺激上皮细胞使其第二

信使CAMP增高,启动相应基因转录分泌黏蛋白。Lee<sup>[6]</sup>在动物试验中观察到,服用阿斯匹林等非甾体抗炎药可抑制前列腺素E合成,同时黏蛋白分泌减少。但孙立波等<sup>[7]</sup>发现,实验动物用前列腺素E<sub>2</sub>干预后黏蛋白分泌确有增加,而成石率却呈下降趋势。因此,前列腺素E<sub>2</sub>,黏蛋白与胆固醇结石之间的联系尚需进一步研究。

## 2 免疫球蛋白

传统观念认为,肝内胆管结石和胆囊内胆色素结石的形成与细菌感染密切相关,而胆固醇结石主要与脂质代谢异常、胆汁中胆固醇浓度过高刺激胆囊黏膜引起黏蛋白等促成核蛋白有关。但Swidsinski等<sup>[8]</sup>对胆固醇结石中特异性扩增细菌16srRNA基因片断通过PCR产物克隆鉴定证明,多数胆固醇结石内存在细菌DNA残留。杨玉龙等<sup>[9]</sup>研究也发现胆囊胆固醇结石形成与胆囊细菌感染导致黏膜分泌蛋白质增加有关。

病原微生物感染可激发机体全身和局部免疫器官产生免疫球蛋白,其主要成分为IgA, IgG, IgM。人类胆汁中主要为IgA,其次为IgG, IgM,而肝胆汁中以IgG最高。主要原因为胆囊黏膜能分泌IgA,同时吸收IgG之故。

收稿日期:2005-07-13;

修订日期:2006-01-14。

**作者简介:** 刘为民,男,河北蠡县人,河北省人民医院副主任医师,主要从事肝胆外科方面的研究。

**通讯作者:** 彭彦辉 E-mail: yhpeng1858@sina.com。

Pamela<sup>[10]</sup>应用蛋白印迹技术发现胆石中均有分子量为22KD和28KD的免疫球蛋白Fab片段存在,其中后者能缩短成核时间,而普通商用Fab片段却无此种作用,因此推测结石中Fab片段是以抗原抗体复合物形式存在,并非单纯Fab片段。以抗原抗体复合物形式存在的这种交联的大分子形成难溶性沉淀物的可能性明显提高。郭吕等<sup>[11]</sup>发现胆石组患者胆汁中免疫球蛋白明显增高,并证明其与细菌感染有关。但国外动物实验发现<sup>[12]</sup>给大鼠喂以成石饲料后14d内,其胆汁免疫球蛋白水平明显低于正常水平。因此,胆汁中免疫球蛋白是否真正增高,以及其增高是否为胆石形成原因还是伴随因素尚待进一步研究。

### 3 氨基肽酶 N

氨基肽酶 N (aminopeptidase N, APN)是细胞表面表达的一种糖蛋白,曾用名氨基肽酶 M、亮氨酸氨肽酶、抗原 CD13,广泛存在于人体各组织,尤以肝脏、肾脏、小肠含量最高。氨基肽酶催化多肽氨基端,特别是催化中性氨基酸水解。胆汁中氨基肽酶 N 正常主要来源于胆小管上皮细胞膜表面。Zijlstra 等<sup>[13]</sup>证实了肝胆汁和胆囊胆汁中具促成核活性的糖蛋白是 APN。许漫山等<sup>[14]</sup>通过测定胆石患者和喂成石饮食饲养动物(兔)的胆囊、胆管胆汁中 APN 活性和酯质成分,以及 APN 活性在胆石患者及致石饮食组动物胆汁中的变化,发现胆石患者和结石形成前兔的胆囊、胆管胆汁 APN 活性均显著高于对照组,并与自身胆固醇饱和指数(cholesterol saturated index, CSI)呈显著的线性正相关。胆固醇结石患者胆囊胆汁的 APN 活性 $[(6.60 \pm 0.241) \text{ U/mL}]$ 较自身胆管胆汁 $[(38.4 \pm 0.94) \text{ U/mL}]$ 显著升高( $P <$

$0.05$ );且两者均明显高于对照组胆囊胆汁 $[(2.30 \pm 0.77) \text{ U/mL}]$ ( $P < 0.05$ )。李月廷等<sup>[15]</sup>采用1.2%胆固醇饮食4周,诱发新西兰兔胆囊结石形成。利用RT-PCR检测肝脏APNmRNA水平的变化,组织化学方法观察肝脏毛细胆管膜上APN的表达,胆汁中APN活性、胆脂、总蛋白含量的变化,发现经成石饲料饲养后,随着胆汁饱和度增加和APN活性加强,动物胆囊结石组肝脏APNmRNA水平较对照组明显增高,说明胆石形成与APN明显相关。

### 4 泡蛋白

胆汁泡是肝脏分泌过饱和胆固醇的主要载体形式,泡中含有胆固醇、磷脂及少量蛋白质。泡的聚集和融合是胆固醇成核的关键步骤,泡相蛋白是此过程的始动因素。Miquel 等<sup>[16]</sup>用超速离心技术结合ConA亲和层析分离出胆汁泡,SDSPAGE电泳示泡相蛋白群为 $200 \times 10^3$ ,  $130 \times 10^3$ ,  $114 \times 10^3$ ,  $66 \times 10^3$ ,  $60 \times 10^3$ 及 $52 \times 10^3$ 糖蛋白。除 $52 \times 10^3$ 糖蛋白外,余均为疏水性蛋白质。理化性质鉴定为 $130 \times 10^3$ ,  $114 \times 10^3$ ,  $86 \times 10^3$ 及 $(62 \sim 67) \times 10^3$ 的疏水性蛋白质分别为IgA, IgG, IgM和白蛋白。HRPConA染色借助扫描电镜证实泡蛋白参与泡的聚集和融合、增加泡相胆固醇饱和度,有利于胆固醇结晶的析出。蔡端等<sup>[17]</sup>应用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测胆囊胆汁及血清中泡蛋白含量,结果发现胆囊胆固醇结石患者胆汁及血清中33500泡蛋白量较对照组明显增高( $P < 0.01$ ),从而推测该蛋白与胆固醇结石形成可能相关。

### 5 载脂蛋白 A

最近 Secknus<sup>[18]</sup>发现载脂蛋白 A

(apoprotein, Apo)在胆石患者中胆汁中ApoA1含量仅为 $2.35 \text{ mg/mL}$ ,远低于正常人的 $9.4 \text{ mg/mL}$ ,且ApoA1低于 $5.0 \text{ mg/mL}$ 时能使胆汁中胆固醇含量明显增高。根据胆固醇过饱和理论,ApoA1则应为胆石形成的负相关因素。其机理可能为ApoA1能促使胆汁中胆固醇从黏膜向浆膜转运,降低胆固醇在胆汁中的浓度。

### 6 胆汁中凝血因子

Havranek 等<sup>[19]</sup>报道胆石患者胆囊胆汁中存在组织型纤溶酶原激活物和尿激酶型纤溶酶原激活物,同时胆汁中纤溶酶原激活物抑制剂明显高于正常胆汁,提示纤维蛋白可能参与胆石的形成。纤维蛋白是一种糖蛋白,在一定条件下很容易交联成丝网状结构,但交联纤维蛋白的形成除了受纤溶系统影响外,还受凝血系统影响。汤文浩等<sup>[20]</sup>对胆囊胆汁的凝血状态研究发现胆石组胆汁中纤维蛋白原抗原、凝血因子Ⅷ抗原、抗凝血酶Ⅲ抗原和组织因子抗原均高于非胆石组( $P < 0.01$ );两组间组织因子途径抑制物抗原和蛋白C抗原无显著差异。认为胆石患者胆囊胆汁中凝血活性增高,组织因子是胆石患者胆囊胆汁中凝血活性亢进的启动因子。

### 7 其他

由于近代对胆石成因深入、广泛研究和实验方法的长足进步,在胆石患者及模型动物胆汁中发现了相当数量的微量蛋白,但他们之中哪些是胆石形成的主要因素,哪些又是与胆石形成无关的伴随因素,以及成石的机制如何尚需进一步研究。晚近资料显示,90%以上的幽门螺杆菌菌株具有与氨基肽酶相似的肽酶活性。结合幽门螺杆菌感染后产生相应免疫球蛋白

和细胞毒相关蛋白(CagA蛋白)成石作用,我们有理由推测在众多纷繁复杂的成石因素之间可能存在着某一种因素介导的必然联系,而澄清这一联系或许会给胆石成因机制的彻底阐明带来一线曙光。

#### 参考文献:

- [1] 陈东风,郑伟,易平.黏蛋白在结石性胆囊炎中的变化和意义[J].第三军医大学学报,2002,24(2):197-199.
- [2] William AJ, McGuckin MA, Gotley DC, *et al.* Two novel mucin genes down-regulated in colorectal cancer identified by differential display [J]. *cancer Res*, 1999, 59(16):4083-4089.
- [3] Saddler JE. Von Willebrand factor [J]. *J biology chem*, 1991, 266(34):22777-22780.
- [4] Lee SP. Role of gallbladder mucus hypersecretion in the evolution of cholesterol gallstones [J]. *Clin Invest*. 1981, 67(6):1712-1723.
- [5] 孙立波. 前列腺素 E2 及黏蛋白在胆固醇结石形成过程中作用机理的探讨 [J]. *中华肝胆外科杂志*. 1999, 5(5):311-313.
- [6] Lee SP. Aspirin prevention of cholesterol gallstone formation in prairie dogs [J]. *Science*, 1981, 211(4489):1429-1431.
- [7] 孙立波,赵吉生,郑泽霖,等. 前列腺素 E2 及黏蛋白在胆固醇结石形成过程中作用机理的探讨 [J]. *中华肝胆外科杂志*, 1999, 16(8):490-492.
- [8] Swidsinski A, Ludwig N, Pahlig H, *et al.* Molecular genetic evidence of bacterial colonization of cholesterol gallstone [J]. *Gastroenterology*, 1995, 108(3):860-864.
- [9] 杨玉龙,刘小北,谭文翔,等. 胆固醇结石中的细菌及其在成石机制中的作用 [J]. *肝胆胰外科杂志*, 2005, 17(3):14-16.
- [10] Pamela A. Human gallstones contain pronucleating nonmucin glycoproteins that are immunoglobulins [J]. *Surg*, 1994, 219(1):25-33.
- [11] 郭吕,唐俐,郭新瑛,等. 胆石患者血清和胆汁中幽门螺杆菌相关蛋白免疫印迹检验 [J]. *临床消化杂志*, 2002, 14(4):168-170.
- [12] Van Erpecum KJ. Phenotypic characterization of Lith genes that determine susceptibility to cholesterol cholelithiasis in inbred mice: soluble pronucleating proteins in gallbladder and hepatic biles [J]. *Hepato*, 2001, 35(4):444-451.
- [13] Zijlstra AI, Offer GD, Afdhal NH, *et al.* The pronascentence of cholesterol nucleating glycoproteins in human bile [J]. *Gastroenterology*, 1996, 110(6):1926-1935.
- [14] 许漫山,祝学光,李月廷,等. 氨肽酶 N 与胆石形成关系的临床及实验室研究 [J]. *中华普通外科杂志*, 2001;16(8):490-492.
- [15] 李月廷,祝学光,赵昕亮,等. 氨肽酶 N 的表达及其与结石形成的关系 [J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2001, 17(4):425-429.
- [16] Miquel JF, Rigotti A, Rojas E, *et al.* Isolation and purification of human biliary vesicle with potent cholesterol nucleation-promoting activity [J]. *clinical science*, 1992, 82(2):175-180.
- [17] 蔡端,项建斌,张延龄,等. 胆汁泡蛋白酶免疫吸附检测法的建立与初步临床应用 [J]. *中西医结合学报*, 2003, 1(3):218-220.
- [18] Secknus R, Darby GH, Chernosky A *et al.* Apolipoprotein A-I in bile inhibits cholesterol crystallization and modifies transcellular lipid transfer through cultured human gall-bladder epithelial cells [J]. *Gastroenterol Hepatol*, 1999, 14(5):446-456.
- [19] Havranek EG, Tierney S, Man WK, *et al.* The role of fibrolytic system protein in cholesterol gallstone formation [J]. *Scand J Gastroenterology*, 1999, 34(5):516-519.
- [20] 汤文浩,唐兆贺,秦永林,等. 胆汁中凝血状态与胆囊结石形成关系的研究 [J]. *中国病理生理杂志*, 2003, 19(8):1070-1073.