

胆汁的生成、分泌、排泄及胆汁淤积发生机制

申弘¹, 胡萌¹, 魏泽辉¹, 张冬¹, 张均倡², 田广俊¹

(1 广东省中医院珠海医院 肝病科, 广东 珠海 519015;

2 南方医科大学深圳医院 中医科, 广东 深圳 518000)

摘要: 正常的胆汁生成、分泌、排泄是机体重要的生理过程。胆汁在促进脂质消化和吸收、清除机体代谢废物、调节胆固醇代谢等方面发挥着重要作用。当各种原因引起胆汁生成、分泌或排泄发生障碍时,则出现急性或慢性胆汁淤积性病变。深入了解胆汁生成、分泌、排泄及胆汁淤积的发生机制对于开展胆汁淤积性肝病相关研究和指导临床实践具有重要的意义。

关键词: 胆汁淤积; 胆汁酸类和盐类; 综述

中图分类号: R575

文献标志码: A

文章编号: 1001-5256(2019)02-0431-07

Bile formation, secretion, and excretion and the pathogenesis of cholestasis

SHEN Hong, HU Meng, WEI Zehui, et al. (Department of Hepatology, Zhuhai Branch of Guangdong Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhuhai, Guangdong 519015, China)

Abstract: Normal bile formation, secretion, and excretion are important physiological processes in human body. Bile plays an important role in promoting lipid digestion and absorption, eliminating metabolic waste, and regulating cholesterol metabolism. Disorders in bile formation, secretion, or excretion due to various causes may lead to acute or chronic cholestatic diseases. A deep understanding of the role of bile formation, secretion, and excretion and the pathogenesis of cholestasis is of great significance in the research on cholestatic liver diseases and clinical practice.

Key words: cholestasis; bile acids and salts; review

胆汁由肝脏生成和分泌,由内源性的胆汁酸盐、结合胆红素、胆固醇、磷脂、类固醇、酶、氨基酸等和外源性的药物、环境毒素等组成的复杂水溶液^[1-3]。肝细胞生成的胆汁,流经肝内、外结构和功能正常的各级胆管树系统,被胆管细胞进一步加工修饰后,形成最终的胆汁流,流入胆囊储存,在胆囊收缩素刺激后,胆囊收缩,胆汁进入胆总管,同时 Oddi 括约肌松弛,使胆汁进入十二指肠腔,进一步流入空肠、回肠及大肠,促进脂质消化和吸收,清除机体代谢废物,调节胆固醇代谢等^[1-3]。

当各种原因引起胆汁生成、分泌或排泄障碍时,有毒性的胆汁及其他代谢物在肝脏蓄积,体循环中的胆汁酸及胆红素等水平增加,同时伴肠道胆汁缺乏,出现急性或慢性胆汁淤积性病变^[3-4]。胆汁淤积可以发生于任何年龄、性别的人群,但青少年、儿童及女性对特定疾病的易感性较高^[5]。在大多数情况下,胆汁淤积是良性病变,发病率或病死率不高,但是长期且严重的胆汁淤积可能在特定人群中,进展为肝纤维化、肝硬化、肝细胞癌或胆管癌,甚至死亡^[6]。近年来,随着分子生物学发展,胆汁的生成、分泌、排泄以及胆汁淤积发生机制的相关研究取得了显著进展。本文对胆汁的生成、分泌、排泄及胆汁淤积发生机制进行论述。

1 胆汁生成与分泌

doi: 10.3969/j.issn.1001-5256.2019.02.043

收稿日期: 2018-11-07; 修回日期: 2018-12-17。

基金项目: 国家自然科学基金(81273967)

作者简介: 申弘(1988-),男,主要从事中西医结合防治慢性肝病研究。

通信作者: 田广俊,电子邮箱: guangjuntian@126.com。

胆汁的生成与分泌是机体复杂的生理过程,有赖于结构和功能完整的肝细胞和胆管细胞共同完成。生理情况下,肝细胞生成及分泌胆汁的过程,包括肝细胞基底外侧膜(血窦侧)对胆汁成分的有效摄取、肝细胞内胆汁成分的生物转化与转运、肝细胞毛细胆管膜(顶端侧)的分泌、肝细胞基底外侧膜的外排转运4个密切联系的复杂生理过程^[1-3]。该过程主要依赖于肝细胞基底膜和毛细胆管膜上的胆汁转运体。其中占肝细胞表面积10%~15%的毛细胆管膜上的转运体通过能量依赖的主动运输、渗透和电化学梯度,逆浓度地将胆汁成分转运至2个相邻的肝细胞顶端膜组成的毛细胆管腔(直径<1 μm)的过程,是胆汁生成、分泌的关键环节^[1-2]。胆汁成分的转运过程,依赖ATP水解的能量,需要细胞骨架参与,与肝血窦灌注的血压无关^[7]。结合型胆汁酸盐分泌进入毛细胆管腔,是促成胆汁形成最重要的启动因素^[8]。相邻肝细胞之间存在由Occludins和Claudins蛋白组成的紧密连接屏障,防止毛细胆管腔中的胆汁返流至血液中。分泌至毛细胆管腔中的胆汁排空至赫林小管,进一步排泌至胆管树系统,在激素的调节下,不断地接受胆管细胞分泌的碳酸氢盐对其稀释和碱化,形成胆管的胆汁流,最终流入肠道。胆汁中约95%的胆汁酸从回肠重新吸收,返回肝脏,再次分泌至胆汁。成人每天大约分泌600 ml胆汁,其中75%来自肝细胞,25%来自胆管细胞。而肝细胞分泌的胆汁又分为两部分,50%为胆盐依赖性胆汁流,50%为非胆盐依赖性胆汁流(bile salt-independent bile flow, BSIF)^[9]。

1.1 肝细胞基底外侧膜有机溶质的摄取

肝细胞基底外侧膜从血窦中摄取有机溶质,是胆汁生成的

首要环节。肝细胞基底外侧膜上的转运体和酶类组成的转运系统,可以选择性吸收 Disse's 腔中的胆汁酸盐、胆红素、磷脂、胆固醇、激素、氨基酸、药物等有机溶质,然后进一步分泌于胆汁中^[2]。

1.1.1 钠离子/牛磺胆酸钠共转运多肽(sodium-taurocholate cotransporting polypeptide, NTCP) NTCP 基因名 SLC10A1,是溶质载体家族10(solute carrier family 10, SLC10)的成员之一,存在于整个肝小叶的肝细胞基底外侧膜上^[3]。研究^[7-8]表明,分布于汇管周围的肝细胞基底外侧膜上的 NTCP 是肝细胞摄取结合型胆汁酸盐最为重要的转运体。作为钠离子偶联转运蛋白,NTCP 依赖 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶维持的钠离子浓度梯度,从肝窦中摄取80%的结合型胆汁酸盐^[9]。除了胆汁酸盐外,NTCP 还是甾体激素和多种药物的转运体^[3]。近期研究^[9]发现,NTCP 亦是 HBV 和 HDV 病毒颗粒的主要受体。

研究^[2,10]表明,法尼酯衍生物 X 受体(FXR)的活化,可以诱导小分子异源二聚体伴侣(SHP)基因表达,进而抑制 NTCP 基因转录和蛋白表达,调节胆汁酸摄取;环磷酸腺苷(cAMP)可促进含有 NTCP 蛋白的细胞囊泡进入肝细胞膜,快速上调转录后的 NTCP 蛋白表达水平;而胆管结扎、妊娠、雌激素、内毒素等则可以下调 NTCP 蛋白的表达水平。近期国外学者研究^[11]发现,SLC10A1 基因的 c.755G>A, p. R252 H 纯合突变导致编码的 NTCP 蛋白缺乏,可引起牛磺胆酸的摄取水平显著降低,血清总胆汁酸浓度显著升高,并伴有轻度的黄疸、瘙痒、肝功能不全等临床表现。编码 NTCP 蛋白的基因突变可出现先天性胆汁酸转运障碍。

1.1.2 有机阴离子转运多肽(organic anion transporting polypeptides, OATP) 与结合型胆汁酸盐不同,未结合的胆汁盐摄入需要依赖肝细胞基底外侧膜上的 OATP 转运系统^[3]。作为溶质载体超家族成员,OATP 拥有广泛的特异性底物,可以非钠离子依赖摄入血窦中的胆汁酸(主要为非结合型胆汁酸)、胆红素、内源性激素、外源性药物和其他溶质^[3]。人类共有11个 OATPs,可分为6个家族(OATP1~6)。其中 OATP1B1(基因名 SLCO1B1)和 OATP1B3(基因名 SLCO1B3)蛋白主要表达于人类的肝细胞,前者表达于整个肝小叶的肝细胞基底外侧膜,后者则主要表达于肝小叶的中心区;二者具有相似的氨基酸序列,主要底物为内源性的胆汁盐、胆红素、甲状腺激素和类固醇结合物以及外源性药物等^[2,12]。研究^[13]表明,人类的 OATP1B1 蛋白转运硫酸化胆汁酸和胆汁酸盐的效率更高。OATP1B1 和 OATP1B3 的 mRNA 表达水平与年龄相关;双等位基因 OATP1B1 和 OATP1B3 缺陷,可以导致高结合型胆红素血症,表现为 Rotor 综合征^[2,14]。此外,肝脏特异性表达的 OATP1B1 和 OATP1B3 影响相关药物代谢,与药物副作用的发生相关^[3]。

1.1.3 有机阴离子转运体(organic anion transporters, OAT) 作为 SLC22A 超家族成员,OAT 表达于肝细胞基底外侧膜,可以转运分子量较小的内源和外源有机溶质,通常是亲水性有机阴离子^[3]。其底物主要为内源性的胆汁酸、环磷酸鸟苷及激素衍生物和外源性药物等^[15]。在人类肝脏中已经发现3种亚型:OAT2(基因名 SLC22A7)、OAT5(基因名 SLC22A10)和 OAT7

(基因名 SLC22A9)^[16]。OAT2 是一种非钠离子依赖转运多种特异性有机阴离子的转运蛋白,在肝脏中高表达;OAT5 是人类特有的,几乎只在胚胎和成人肝脏中表达^[16];OAT7 为肝脏特异性有机阴离子转运蛋白,与其他 OAT 拥有相似和重叠的底物^[16]。近期研究^[17]发现,甲吡啶诱导大鼠药物性肝损伤时,肝细胞 OAT 基因表达因适应性的保护机制被下调,以减少细胞毒性胆汁酸的摄入。

1.1.4 有机阳离子转运体(organic cation transporters, OCT) OCT1(基因名 SLC22A1)和 OCT3(基因名 SLC22A3)表达于肝细胞基底外侧膜,依赖电化学梯度转运多种内源性和外源性的小分子量阳离子溶质^[3]。研究^[3]表明,发生胆汁淤积时,人类和啮齿动物的 OCT1 和 OCT3 蛋白表达水平显著下调。此外,OCT1 和 OCT3 蛋白还可以介导二甲双胍、拉米夫定等阳离子药物的摄取,影响肝细胞内药物浓度和药效学^[18]。

1.2 胆汁酸、胆红素等胆汁成分的细胞内代谢与转运 胆汁酸及胆红素等胆汁中重要成分的代谢,需要经过肝脏的生物合成及转化。肝细胞内的胆固醇经典途径和替代途径合成的初级胆汁酸(鹅去氧胆酸和胆酸),在过氧化物酶体中,与甘氨酸或牛磺酸结合,经胆汁酸辅酶 A 合成酶和氨基酸-N-酰基转移酶催化,形成结合型初级胆汁酸,分泌入胆汁,进入肠道^[3];而具有潜在毒性的疏水性胆汁酸盐在肝细胞内则进一步经胆汁酸代谢及解毒酶的硫酸化、葡萄糖醛酸化及氧化作用来实现胆汁酸的解毒^[19]。脂溶性的非结合型胆红素被肝细胞摄入后,首先与胞浆中配体蛋白结合,被转运至内质网,在尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶的催化下,形成极性较强的水溶性结合型胆红素,而后进一步被转运、分泌入胆汁^[20]。这些重要的代谢过程使这些化合物无毒代谢,且能够更容易地被转运至肝细胞之外。

被摄取到肝细胞的胆汁成分,需要穿过细胞到达毛细胆管膜。该过程需要胞浆蛋白或细胞内膜(尤其内质网)或微管依赖的囊泡转运系统参与完成^[3]。转运至肝细胞内的胆汁酸盐和其他亲水性阴离子物质需要结合胞浆蛋白,然后迅速转运到毛细胆管膜,分泌至胆汁^[3]。胆红素等高疏水性溶质转运则需要细胞内膜的参与完成^[3]。而胆汁中转铁蛋白、去唾液酸糖蛋白、多聚免疫球蛋白 A、胆汁酸转运蛋白等蛋白质和大量有机溶质的细胞内转运,则需要微管依赖的囊泡转运系统参与完成^[3]。

1.3 肝细胞毛细胆管膜的分泌

位于毛细胆管膜顶端的转运体是胆汁分泌和组成的决定因素。大多数毛细胆管膜上的转运体属于三磷酸腺苷结合盒(ATP-binding cassette, ABC)超家族成员,并将有机溶质分泌到胆汁中。它们包括胆盐输出泵(bile salt export pump, BSEP, 基因名 ABCB11)、转运有机阳离子的多重耐药蛋白1(multidrug resistance protein 1, MDR1, 基因名 ABCB1)、转运多种特异性有机阴离子的多重耐药相关蛋白2(multidrug resistant associated protein 2, MRP2, 基因名 ABCC2)、转运磷脂的 MDR3(基因名 ABCB4)、乳腺癌耐药蛋白2(breast cancer resistance protein 2, BCRP2, 基因名 ABCG2)、甾醇蛋白1和2(Sterolin 1/Sterolin 2, 基因名 ABCG5/ABCG8)、多药及毒素外排转运蛋白1(multidrug and toxin extrusion transporters 1, MATE-1, 基因名 SLC47A1)、

家族性肝内胆汁淤积 1 蛋白(familial intrahepatic cholestasis 1, FIC1, 基因名 ATP8B1)、水通道蛋白(aquaporins, AQP)、氯化物/碳酸氢盐交换体 2(chloride/bicarbonate exchanger, AE2, 基因名 SLC4A2)以及其他转运体。

1.3.1 胆盐输出泵(BSEP)蛋白 BSEP 蛋白在肝脏中高表达,存在于整个肝小叶,位于毛细胆管膜上抗害蛋白富集的脂质微域中^[2]。BSEP 的特异性底物主要限于结合型胆汁酸。BSEP 转运结合型胆汁酸盐至毛细胆管腔的过程是胆盐依赖性胆汁流形成的重要影响因素^[2]。BSEP 蛋白的表达水平随着底物的增加可迅速上调,而当胆汁淤积发生时,其表达水平可以因细胞保护机制被下调^[2,21]。BSEP 是药物性胆汁淤积性肝损伤的主要靶点^[2]。动物实验^[2]表明,雌二醇-17 β -葡萄糖醛酸内酯、石胆酸盐、内毒素、缺氧可导致 BSEP 蛋白内吞至肝细胞膜的囊泡内,诱导啮齿动物发生胆汁淤积。该过程可能与细胞骨架相关蛋白结合物的相互作用相关^[2]。人类 BSEP 基因的表达高度受到转录机制的调控,而且个体之间差异很大。核受体 FXR 是 BSEP 最重要的转录调控因子^[2]。人类基因测序发现,BSEP 的突变在婴儿期可出现进行性家族性肝内胆汁淤积症 2 型(progressive familial intrahepatic cholestasis, PFIC-2)^[2]。

1.3.2 多重耐药蛋白 1(MDR1) MDR1 又称为 P 糖蛋白,是 ABC 转运体家族成员之一。其主要功能是向胆汁中转运疏水性化合物。MDR1 能够转运胆汁酸盐,但其亲和力比 BSEP 低 5 倍^[2]。在 BSEP 蛋白缺乏、胆管结扎、 α -萘硫异硫氰酸酯给药及部分肝切除术引起胆汁淤积时,MDR1 在一定程度上做出适应性反应,上调其表达水平,进而促进胆汁分泌^[2]。

1.3.3 多重耐药相关蛋白 2(MRP2) MRP2 又称多种特异性有机阴离子转运蛋白,是毛细胆管膜上的 ABC 转运体家族最主要的转运蛋白和 BSIF 形成的主要决定因素^[2]。MRP2 的功能是从肝细胞内转运大量不同的两性分子至胆汁。该转运蛋白的主要内源性底物包括胆红素葡萄糖醛酸内酯、胆汁酸盐、硫酸化和葡萄糖醛酸化底物、谷胱甘肽(GSH)结合物、氧化型谷胱甘肽、重金属以及多种药物复合物和一些其他外源化合物^[2]。MRP2 是结合型胆红素转运和分泌的最重要的转运体^[2]。该基因的突变可导致 Dubin-Johnson 综合征^[2]。此外,MRP2 也分布于与微管相关的囊泡里,在胆汁和胆汁淤积刺激下,可循环于肝细胞至毛细胆管膜间^[2]。胆管结扎、雌激素、牛磺熊去氧胆酸、内毒素、氧化应激等通过细胞内吞机制导致 MRP2 蛋白回收至细胞膜下的囊泡里,减少胆汁的分泌,可以诱导大鼠发生胆汁淤积^[2]。

1.3.4 多重耐药蛋白 3(MDR3) MDR3 是一种磷脂翻转酶,在毛细胆管上高度表达,负责将磷脂从毛细胆管膜转运至毛细胆管腔中,进一步与胆汁酸盐和胆固醇一起组成混合微粒,促进胆固醇的溶解,同时避免疏水性胆汁酸盐持续存在,直接毒性损伤胆管上皮细胞^[2]。在此过程中,MDR3 为磷脂向胆汁中排泄提供了通道。MDR3 是一种调节性转运蛋白,其表达水平可以被胆汁酸激活 FXR 信号通路上调^[2]。人类编码 MDR3 蛋白的 ABCB4 基因突变,可导致 PFIC-3^[2]。此外,ABCB4 基因缺陷还可能与妊娠肝内胆汁淤积症(ICP)、低磷脂相关胆石症

(LPAC)和原发性胆汁性胆管炎(PBC)相关^[2]。

1.3.5 乳腺癌耐药蛋白(BCRP) BCRP 在多种类型细胞的顶端膜上表达,保护这些细胞免受有毒化合物的伤害^[2]。BCRP 与 MRP2 和其他有机阴离子转运蛋白的功能类似,且底物特异性存在重叠,可以转运硫酸和葡萄糖醛酸化的胆汁酸结合物及其他有机离子等,但 BCRP 蛋白在人肝脏中的表达明显低于 MRP2^[2,13]。在胆管结扎和 BCRP 基因缺乏的小鼠中,BCRP 蛋白对肝内胆汁淤积未做出适应性反应,但可能影响溶质从肾脏和肠道的排泄^[2]。外源性苯巴比妥可诱导 BCRP 在肝细胞中的表达^[2]。

1.3.6 Sterolin 1 和 Sterolin 2 通过介导胆固醇胆汁排泄,在一定程度上可以调节机体胆固醇的稳态^[23]。ABCG5 和 ABCG8 基因缺失小鼠的胆汁中胆固醇排泄率显著降低^[23]。在人类中,ABCG5/ABCG8 与尼曼-匹克 C1 型类似蛋白 1(NPC1L1)共同作用从肝脏胆汁中重新吸收胆固醇,同时 ABCG5/ABCG8 与胆汁中的尼曼-匹克 C2 型蛋白(NPC2)共同作用促进胆固醇的分泌^[2]。胆固醇通过肝脏 X 受体信号通路正、反调控人类 ABCG5/ABCG8 和 NPC1L1 基因的表达水平^[2]。体外实验^[2]表明,胆汁酸盐和磷脂也可以分别正向和负向调控 ABCG5 和 ABCG8 基因的表达。

1.3.7 多药及毒素外排转运蛋白 1(MATE-1) 非钠离子依赖利用质子梯度转运肝细胞内的有机阳离子至毛细胆管腔胆汁中,尤其是阳离子药物,影响相关药物的胆汁排泄^[2,13]。MATE-1 的功能具有 pH 依赖性。细胞外酸化可以提高 MATE-1 的转运能力。pH 酸化通常发生在缺血组织中,而 MATE-1 蛋白表达增强对缺氧损伤提供保护^[17,24]。近期有研究^[24]表明,FXR 激动剂通过 MATE-1 途径促进肝脏缺血再灌注损伤时具有毒性作用的不对称二甲基精氨酸经胆汁排泄,进而减轻肝损伤。MATE-1 在胆汁生成、分泌中的作用仍需进一步探讨。

1.3.8 家族性肝内胆汁淤积 1 蛋白(FIC1) FIC1 是第四类 P 型 ATP 酶家族成员和三磷酸腺苷氨基磷脂电位转移酶,主要负责维持毛细胆管膜氨基磷脂双分子层的不对称结构,调节氨基磷脂转入细胞膜的内层^[2]。FIC1 蛋白缺乏,将导致毛细胆管膜的脂质不对称性被破坏和 BSEP 功能受损,出现胆汁淤积。ATP8B1 基因突变可导致 PFIC-1、良性复发性肝内胆汁淤积症(benign recurrent intrahepatic cholestasis, BRIC)和 ICP^[2]。

1.3.9 水通道蛋白(AQP) AQP 是细胞膜上转运水的特异性通道蛋白,在肝细胞膜内外水代谢和胆汁形成中发挥着重要作用。研究^[23]已表明,AQP7、AQP8、AQP9 在肝细胞表达。其中 AQP8 位于肝细胞的囊泡内,在受到利胆物质刺激后,可以重新分布到毛细胆管膜,是毛细胆管膜上水分泌的限速通道^[2,23]。雌激素给药、胆管结扎及脓毒症可以导致 AQP8 表达下调,毛细胆管膜上的水渗透性降低,发生胆汁淤积^[2]。AQP9 位于肝细胞基底外侧膜上,空腹时可以将脂肪组织分解的甘油转运至肝脏,用于肝脏糖异生,调节血糖水平^[23]。

1.3.10 氯化物/碳酸氢盐交换体 2(AE2) AE2 蛋白位于毛细胆管膜上的囊泡系统,分泌 HCO₃⁻ 进入毛细胆管腔,进而保护肝细胞免受过高 pH 的影响,同时可以刺激碱性胆汁的分泌,

是毛细胆管内 BSIF 的重要影响因素^[3]。此外,这种氯化物/碳酸氢盐交换器也存在于毛细胆管膜周围的囊泡里,受到细胞内 pH 升高、细胞肿胀或 cAMP 刺激后,移位至胆管细胞顶端膜。氯化物/碳酸氢盐交换器与顶端膜氯离子通道协同工作^[3]。

此外,相关研究^[24]表明,表达于肝细胞内质网膜上的微粒体环氧化物水解酶(microsomal epoxide hydrolase, mEH) II 型,可以靶向运动至肝细胞基底膜,钠离子依赖调节结合型胆汁酸的转运;人类 mEH 基因(EPHX1)的两个杂合子突变,可以导致 mEH 表达下降 95%,造成肝细胞摄取胆汁酸水平显著下降,血清胆汁酸水平增加 100 倍。

1.4 肝细胞基底外侧膜的外排转运 在肝细胞基底外侧膜上,除有关胆汁有机溶质摄入的转运体之外,还存在一些转运体代偿性外排转运肝细胞内蓄积的有毒化合物至胆汁或转运至血窦中,保护肝细胞免受损伤,维持胆汁生成、分泌与排泄的动态平衡^[2]。

作为肝脏中 ABC 超家族成员,MRP3(基因名 ABCC3)分布于肝小叶远端的肝细胞上,主要介导 GSH、葡萄糖醛酸和硫酸盐结合物(胆红素葡萄糖醛酸结合物、胆汁酸结合物等)的转运^[2,13]。MRP3 的主要功能是将肝细胞内超载的底物转运至血窦中,保护肝小叶近端的肝细胞免受其损害^[3]。MRP3 蛋白在生理情况下的表达水平通常很低,但发生胆汁淤积性肝损伤时,作为适应性反应,表达水平被上调^[3]。

MRP4(基因名 ABCC4)表达于肝细胞基底外侧膜上,可以将还原性 GSH 与甘氨酸和牛磺酸的结合物从肝细胞内协同转运至血窦中^[3]。MRP4 蛋白水平在肝脏中表达很低,但发生胆汁淤积时,可以做出适应性保护性反应,表达水平被上调;而 BSEP 缺乏时,MRP4 蛋白表达水平上调更加明显^[3]。临床应用熊去氧胆酸胶囊可以增加 MRP4 蛋白的表达,被广泛应用于治疗胆汁淤积性肝病^[27]。此外,相关研究^[3]表明,氧化应激反应可以导致 MRP4 表达水平适应性上调;而具有抗氧化作用的芳基羟受体和核因子 E2 相关因子 2 的激动剂则可以上调 MRP4 mRNA 和蛋白水平表达,用于治疗胆汁淤积。

有机溶质转运体(organic solute transporter, OST) α/β 是由 OST α 和 OST β 构成的异源二聚体,可以促进胆汁酸盐和其他甾醇根据电化学梯度双向穿过细胞膜^[3]。除了胆汁酸盐之外,OST α/β 还可以转运与硫酸或葡萄糖醛酸结合的甾醇^[3]。在发生胆汁淤积时,OST α/β 可以对肝内增加的高浓度胆盐做出适应性反应,将胆汁酸盐从肝脏排泄至体循环,减轻肝损伤^[28]。OST α/β 的表达水平可以被胆汁酸盐通过 FXR 应答元件调节^[28]。

1.5 胆管细胞分泌与重吸收 胆管细胞的主要功能是胆管上皮细胞分泌碳酸氢盐碱化毛细胆管腔内的胆汁,并使其具有流动性。该过程涉及胆管细胞分泌和吸收功能,受到内源性分子(胆汁酸、核苷酸、激素、神经递质)和外源性分子(微生物、药物)等介导的信号通路调控^[29]。胆汁酸及胆管细胞顶端膜上的初级纤毛可以调节胆管细胞分化、增殖及分泌^[29]。胆管细胞分泌和吸收功能为最终的胆汁量提供了可变因素,可修饰最终分泌到十二指肠的胆汁^[3]。胆管细胞只占肝组织细胞总数的 3%~5%,但每天胆管上皮细胞生成的胆汁量占人体胆汁生

成总量的 25%,是 BSIF 的重要组成部分^[3]。

胆管细胞顶端膜上 Na^+ 依赖胆盐转运体(apical sodium-dependent bile acid transporter, ASBT)、 Na^+/H^+ 交换器(Na^+/H^+ exchanger, NHE) 2、NHE3、 Na^+ 依赖性的葡萄糖共转运体 1、谷氨酸盐转运体及 AQP,分别可以重吸收胆汁酸、 Na^+ 、葡萄糖、谷氨酸及水^[29]。胆汁酸被胆管细胞顶端摄取后,进一步被转运至胆管细胞的基底膜,通过基底膜上剪切形式的 t-ASBT、OST α/β 、MRP3 进入相邻的胆管周围毛细血管丛,完成胆汁酸的重吸收过程^[29]。ASBT 蛋白从胆管细胞中重吸收胆汁酸,形成了胆汁肝分流通路,在梗阻性胆汁淤积时,表达水平上调^[3]。

HCO_3^- 和 Cl^- 的分泌受到内分泌、神经和旁分泌途径调节^[24]。胆管细胞表达促胰液素受体、囊性纤维化跨膜调节因子(CFTR)和 $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ 交换器,主要分泌 HCO_3^- 、 Cl^- 及水。其中 HCO_3^- 和 Cl^- 分别通过 AE2 和 CFTR 介导分泌。研究^[29]表明,促胰液素与胆管细胞基底膜上的 G 蛋白偶联受体结合,通过 cAMP-PKA 信号通路,促进碳酸氢盐的排泄,同时 cAMP 刺激 AQP 进入细胞膜,增加胆管上皮细胞的水渗透性,从而进一步促进液体流动。此外,血管活性肠肽、神经递质蛙皮素以及皮质类固醇可以促进胆管细胞的分泌;相反,生长抑素、胃泌素和胰岛素对胆管细胞分泌有抑制作用^[2,29]。编码 CFTR 的基因突变引起 Cl^- 分泌异常,可导致肝纤维化^[3]。

1.6 胆汁的肠肝循环 由于肝脏与肠道的特殊解剖结构,胆汁及经胆汁排泄的药物进入肠道后,经门静脉又返回肝脏,形成了机体的肠肝循环机制。其中胆汁中最主要成分胆汁酸及胆红素等机体内源性物质的肠肝循环,在一定程度上可进一步影响胆汁的生成与分泌。

进入肠道的部分结合型胆汁酸,在回肠末端和结肠上段肠道细菌的作用下解离成游离型胆汁酸,随之被细菌 7α -脱氢酶转化为次级胆汁酸,后进一步通过被动扩散的形式在结肠被重新吸收或通过粪便排出体外。而大部分结合型胆汁酸(牛磺胆酸、甘氨酸胆酸等)被回肠远端肠上皮细胞刷状缘侧顶端的 ASBT 主动重吸收,与回肠胆汁酸结合蛋白(ileal bile acid binding protein, IBABP)结合转运至基底膜,进一步由基底外侧膜上的 OST α/β 重吸收至门静脉血流,经肝细胞基底外侧膜上的 NTCP 摄取,与肝细胞内合成的结合型胆汁酸再次分泌至胆汁中^[4,29]。硬化性胆管炎动物实验^[30]表明,对 ASBT 蛋白的抑制,可以减少胆汁酸的重吸收,改变胆汁酸的组成,减轻胆汁淤积引起的肝细胞及胆管细胞的损伤。

肠肝循环中 95% 的胆汁酸被再循环回到肝脏,而约 5% 的胆汁酸经粪便排泄损失,需要通过肝脏的新合成补充^[4]。另外还有少量(0.5 mg/d)胆汁酸进入体循环,从尿液中清除^[4]。通过负反馈机制(FXR-FGF19-FGFR4-CYP7A1 信号通路),肠道中的胆汁酸调控肝脏胆汁酸的合成,维持恒定的胆汁酸池^[4]。

而流入肠道的结合胆红素排泄至肠道,在小肠上皮细胞和肠道细菌的作用下大部分被水解而脱去葡萄糖醛酸基,逐步被还原成胆素原。胆素原可进一步被氧化成胆素,随粪便、尿液排出,成为二者主要色素。在小肠下段生成的胆素原 10%~

20% 可被肠黏膜重吸收,再经门静脉入肝,重吸收的胆素原大部分以原形再排入胆道,形成胆红素的肠肝循环^[3]。

2 胆汁排泄

胆道通畅和胆汁顺利排泄进入肠道,是胆汁发挥其正常生理功能的重要条件。肝细胞生成、分泌胆汁至毛细胆管,进入赫林管,而后逐渐进入小叶间胆管、肝段胆管、肝叶胆管、左、右肝管及肝总管,经胆管细胞进一步加工修饰后,流入胆囊。胆囊收缩素刺激后,胆囊收缩,胆汁进入胆总管,同时 Oddi 括约肌松弛,使胆汁进入十二指肠腔,最终流入空肠、回肠及大肠^[3]。

当各种因素导致肝内外胆管病变,引起胆汁排泄受阻时,则出现梗阻性胆汁淤积^[3]。胆汁在肝外胆管排泄障碍,常见于肝外胆管阻塞病变,可见于胆总管结石、良性胆管狭窄、原发性或继发性硬化性胆管炎、Mirizzi 综合征、胆管癌、胰腺疾病、壶腹腺瘤/癌等;而肝内胆管病变,可见于原发性硬化性胆管炎、PBC 及与自身免疫性肝炎重叠综合征、特发性成人肝内胆管缺失症、管壁发育异常、囊性纤维化、药物性胆管病、移植物抗宿主病和继发性硬化性胆管炎等^[3,3]。

3 胆汁淤积

胆汁淤积可能是由于肝细胞和胆管细胞生成、分泌胆汁的功能损害和(或)胆汁排泄途径的任何部位阻塞所致,可以发生在肝细胞基底外侧膜至 Vater 壶腹之间的任何水平^[3,3]。根据胆汁流动受阻的情况,胆汁淤积总体可分为肝内胆汁淤积和肝外胆汁淤积^[3]。肝内胆汁淤积涉及肝细胞和(或)肝内胆管病变,其进一步可细分为肝小叶内(肝细胞损伤、胆汁转运体病变)和肝小叶外(肝内胆管病变)胆汁淤积^[3]。肝细胞基底膜和毛细胆管膜病变、肝细胞骨架改变、细胞间紧密连接损伤、胆汁成分相关转运体遗传缺陷或获得性病变(表1)、肝细胞内囊泡转运受损、毛细胆管管腔阻塞及肝内胆管病变是肝内胆汁淤积的主要发生机制^[3]。而肝外胆汁淤积主要是由于肝外胆管内的胆汁排泄阻塞所致。此外,胆汁酸的肠肝循环失调,可间接影响胆汁的生成、分泌,导致肝内胆汁淤积^[3,3]。持续的胆汁淤积,可进一步导致肝细胞和胆管细胞损伤,并导致胆汁成分反流入血液和淋巴液,同时伴肠道胆汁缺乏,可引起全身多系统的损害,且影响经胆汁排泄药物的清除。

4 总结

正常的胆汁生成、分泌、排泄是机体重要的生理过程。胆汁在促进脂质消化和吸收、清除机体代谢废物、调节胆固醇代谢等方面发挥着重要作用。当各种原因引起胆汁的生成、分泌或排泄发生障碍时,则出现急性或慢性胆汁淤积性病变。尽管当前胆汁生成、分泌、排泄及胆汁淤积机制研究不断取得新的进展,为临床治疗胆汁淤积性肝病及其并发症提供了潜在的作用靶点,但其相关机制及病因极其复杂,临床研究极其有限,仍需通过更多的体内、体外实验动物模型及多种实验技术全面、多角度(肝细胞炎症坏死、胆汁酸及胆红素代谢、脂质代谢、胆管细胞凋亡及增生、肝纤维化、肠-肝轴、细胞信号转导通路等)进一步探索并阐明胆汁代谢的生理机制,同时结合更多的临床研究深入揭示胆汁淤积性肝病的病理机制,进而研发相关药物,提高临床诊治水平。

参考文献:

- [1] HUNDT M, JOHN S. Physiology, Bile Secretion [M]. StatPearls Publishing, 2018.
- [2] BOYER JL. Bile formation and secretion [J]. Compr Physiol, 2013, 3(3): 1035–1078.
- [3] European Association for the Study of the Liver. EASL clinical practice guidelines: Management of cholestatic liver diseases [J]. J Hepatol, 2009, 51(2): 237–267.
- [4] LI T, CHIANG JY. Bile acid signaling in metabolic disease and drug therapy [J]. Pharmacol Rev, 2014, 66(4): 948–983.
- [5] SHAH R, JOHN S. Jaundice, Cholestatic (Cholestasis, Cholestatic Hepatitis) [M]. StatPearls Publishing, 2018.
- [6] POLLOCK G, MINUK GY. Diagnostic considerations for cholestatic liver disease [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2017, 32(7): 1303–1309.
- [7] SLIJEPCEVIC D, van de GRAAF SF. Bile acid uptake transporters as targets for therapy [J]. Dig Dis, 2017, 35(3): 251–258.
- [8] SLIJEPCEVIC D, ROSCAM ABBING RLP, KATAFUCHI T, et al. Hepatic uptake of conjugated bile acids is mediated by both sodium taurocholate cotransporting polypeptide and organic anion transporting polypeptides and modulated by intestinal sensing of plasma bile acid levels in mice [J]. Hepatology, 2017, 66(5): 1631–1643.
- [9] STICOVA E, JIRSA M, PAWŁOWSKA J. New insights in genetic cholestasis: From molecular mechanisms to clinical implications [J]. Can J Gastroenterol Hepatol, 2018, 2018: 2313675.
- [10] LI T, APTE U. Bile acid metabolism and signaling in cholestasis, inflammation, and cancer [J]. Adv Pharmacol, 2015, 74: 263–302.
- [11] VAZ FM, PAULUSMA CC, HUIDEKOPER H, et al. Sodium taurocholate cotransporting polypeptide (SLC10A1) deficiency: Conjugated hypercholanemia without a clear clinical phenotype [J]. Hepatology, 2015, 61(1): 260–267.
- [12] HAGENBUCH B, STIEGER B. The SLCO (former SLC21) superfamily of transporters [J]. Mol Aspects Med, 2013, 34(2–3): 396–412.
- [13] TÓTH B, JANI M, BEÉRY E, et al. Human OATP1B1 (SLC10B1) transports sulfated bile acids and bile salts with particular efficiency [J]. Toxicol In Vitro, 2018, 52: 189–194.
- [14] THOMSON MM, HINES RN, SCHUETZ EG, et al. Expression patterns of organic anion transporting polypeptides 1B1 and 1B3 protein in human pediatric liver [J]. Drug Metab Dispos, 2016, 44(7): 999–1004.
- [15] THAKKAR N, SLIZGI JR, BROUWER KLR. Effect of liver disease on hepatic transporter expression and function [J]. J Pharm Sci, 2017, 106(9): 2282–2294.
- [16] NIGAM SK, BUSH KT, MARTOVETSKY G, et al. The organic anion transporter (OAT) family: A systems biology perspective [J]. Physiol Rev, 2015, 95(1): 83–123.
- [17] SLOPIANKA M, HERRMANN A, PAVKOVIC M, et al. Quantitative targeted bile acid profiling as new markers for DILI in a model of methapyrilene-induced liver injury in rats [J]. Toxicology, 2017, 386(7): 1–10.
- [18] WAGNER DJ, HU T, WANG J. Polyspecific organic cation transporters and their impact on drug intracellular levels and pharmacodynamics [J]. Pharmacol Res, 2016, 111: 237–246.

表1 胆汁转运相关蛋白及其功能与关联疾病(病变)

蛋白	位置	作用	疾病(病变)
NTCP	肝细胞基底外侧膜	Na^+ 依赖转运结合型胆汁酸盐的主要载体; HBV 和 HDV 功能性受体	胆汁淤积症; 妊娠、胆管结扎、雌激素、内毒素等影响其表达
OATP1B1 / OATP1B3	肝细胞基底外侧膜	非 Na^+ 依赖转运阴离子的非结合胆汁酸盐、胆红素、内源性激素及药物等	胆汁淤积症、Rotor 综合征、相关药物肝脏代谢异常(他汀类等)
OAT2/OAT5 / OAT7	肝细胞基底外侧膜	转运内源性胆汁酸、环磷酸鸟苷、激素衍生物、前列腺素和外源性药物等阴离子	胆汁淤积症、药物性肝损伤、相关药物肝脏代谢异常
OCT1/OCT3	肝细胞基底外侧膜	依赖电化学梯度转运胆汁中多种内源性和外源性的阳离子溶质(阳离子药物等)	胆汁淤积症、相关药物肝脏代谢异常
MDR1	肝细胞毛细胆管膜、胆管细胞顶端膜	ATP 依赖转运胆汁酸盐、药物和毒素、甾体激素等; 胆管细胞屏障功能	胆汁淤积适应性改变; BSEP 蛋白缺乏、胆管结扎等影响其表达
MRP2	肝细胞毛细胆管膜、肝细胞囊泡	ATP 依赖转运胆红素葡萄糖醛酸内酯、胆汁酸盐、GSH 结合物等特异性有机阴离子	胆汁淤积症、Dubin - Johnson 综合征; 胆管结扎、雌激素等影响其表达
MDR3	肝细胞和胆管细胞基底膜	ATP 依赖将磷脂从肝细胞毛细胆管膜转运至毛细胆管腔	PFIC - 3、ICP、LPAC、PBC
BSEP	肝细胞毛细胆管膜	ATP 依赖转运结合型胆汁酸盐, 形成胆汁酸盐依赖性胆汁流	PFIC - 2、药物性胆汁淤积性肝损伤; 石胆酸盐、内毒素影响其表达
BCRP	肝细胞毛细胆管膜	转运硫酸和葡萄糖醛酸化的胆汁酸结合物及其他有机离子等	胆汁淤积适应性改变; 外源性苯巴比妥等影响其表达
Sterolin 1 / Sterolin 2	肝细胞毛细胆管膜	ATP 依赖转运胆固醇和植物甾醇, 调节机体胆固醇的代谢与稳态	谷甾醇血症、动脉粥样硬化等
MATE - 1	肝细胞毛细胆管膜	利用质子梯度转运有机阳离子(阳离子药物、内源性毒性物质等) 至胆汁	相关药物肝脏代谢异常
FIC - 1	肝细胞毛细胆管膜	ATP 依赖调节氨基磷脂转入细胞膜的内层	PFIC - 1、BRIC、ICP
AQP8	肝细胞毛细胆管膜、肝细胞囊泡	水通道作用, 促进渗透压驱动的水转运, 参与胆汁形成	胆汁淤积症; 雌激素给药、胆管结扎、脓毒症影响其表达
AE2	胆管细胞顶端膜	分泌 HCO_3^- 至胆汁, 不依赖于 Na^+ 的 $\text{Cl}^- / \text{HCO}_3^-$ 交换	胆管分泌功能障碍, 可引起 PBC
MRP3	肝细胞基底外侧膜	ATP 依赖转运肝细胞内超载的胆红素葡萄糖醛酸结合物、胆汁酸结合物等至肝血窦	胆汁淤积适应性改变(表达上调)
MRP4	肝细胞基底外侧膜	ATP 依赖转运肝细胞内超载的还原性 GSH、甘氨酸和牛磺酸的结合物等至肝血窦	胆汁淤积适应性改变(表达上调); 熊去氧胆酸胶囊、氧化应激影响其表达
OST α/β	肝、胆管、回肠上皮细胞基底膜	据电化学梯度双向转运胆汁酸盐和其他甾醇等	胆汁淤积适应性改变(表达上调)
ASBT	胆管及小肠上皮细胞的顶端膜	重吸收胆管腔中的胆汁酸、 Na^+ ; Na^+ 依赖将小肠腔内胆汁酸盐转运至肠上皮细胞内	胆汁酸胆管重吸收(胆汁肝分流) 与肠肝循环障碍, 可引起胆汁淤积症
t - ASBT	胆管细胞基底膜	转运胆管上皮细胞内的胆汁酸至静脉血流	胆汁酸胆管重吸收(胆汁肝分流) 障碍, 与胆汁淤积症相关
NHE2 / NHE3	胆管细胞顶端膜、肝细胞毛细胆管膜	重吸收 Na^+ , 交换 H^+ , 参与调节细胞内 pH, 并且重吸水	胆管 Na^+ 及水重吸收障碍, 可引起胆汁淤积症
CFTR	胆管细胞顶端膜	Cl^- 通道, cAMP 介导下向胆管腔中分泌 Cl^- 和水	囊性纤维化, 可引起胆汁淤积、肝纤维化及肝硬化
IBABP	回肠上皮细胞胞浆	将胆汁酸盐从回肠上皮细胞的顶端膜转运至基底膜	胆汁酸的小肠重吸收障碍, 与胆汁淤积症相关

- [19] ZOLLNER G, WAGNER M, FICKERT P, et al. Expression of bile acid synthesis and detoxification enzymes and the alternative bile acid efflux pump MRP4 in patients with primary biliary cirrhosis [J]. Liver Int, 2007, 27(7): 920–929.
- [20] MEMON N, WEINBERGER BI, HEGYI T, et al. Inherited disorders of bilirubin clearance [J]. Pediatr Res, 2016, 79(3): 378–386.
- [21] SOROKA CJ, BOYER JL. Biosynthesis and trafficking of the bile salt export pump, BSEP: Therapeutic implications of BSEP mutations [J]. Mol Aspects Med, 2014, 37(2): 3–14.
- [22] RIEDE J, POLLER B, HUWYLER J, et al. Assessing the risk of drug-induced cholestasis using unbound intrahepatic concentrations [J]. Drug Metab Dispos, 2017, 45(5): 523–531.
- [23] YU XH, QIAN K, JIANG N, et al. ABCG5/ABCG8 in cholesterol excretion and atherosclerosis [J]. Clin Chim Acta, 2014, 428(2): 82–88.
- [24] FERRIGNO A, DI PASQUA LG, BERARDO C, et al. The farnesoid X receptor agonist obeticholic acid upregulates biliary excretion of asymmetric dimethylarginine via MATE-1 during hepatic ischemia/reperfusion injury [J]. PLoS One, 2018, 13(1): e0191430.
- [25] TARDELLI M, CLAUDEL T, BRUSCHI FV, et al. Nuclear receptor regulation of aquaglyceroporins in metabolic organs [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(6): e1777.
- [26] PENG H, ZHU QS, ZHONG S, et al. Transcription of the human microsomal epoxide hydrolase gene (EPHX1) is regulated by PARP-1 and histone H1.2. association with sodium-dependent bile acid transport [J]. PLoS One, 2015, 10(5): e0125318.
- [27] KEPLER D. Cholestasis and the role of basolateral efflux pumps [J]. Z Gastroenterol, 2011, 49(12): 1553–1557.
- [28] HALILBASIC E, CLAUDEL T, TRAUNER M. Bile acid transporters and regulatory nuclear receptors in the liver and beyond [J]. J Hepatol, 2013, 58(1): 155–168.
- [29] CHEUNG AC, LORENZO PISARELLO MJ, LARUSSO NF. Pathobiology of biliary epithelia [J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2018, 1864(4 Pt B): 1220–1231.
- [30] LI XF, GONG JY, WANG JS. Association between enterohepatic circulation of bile acid and cholestatic liver disease [J]. J Clin Hepatol, 2017, 33(10): 1922–1927. (in Chinese)
李晓峰, 龚敬宇, 王建设. 胆汁酸的肠肝循环与胆汁淤积性肝病 [J]. 临床肝胆病杂志, 2017, 33(10): 1922–1927.
- [31] BAGHDASARYAN A, FUCHS CD, ÖSTERREICHER CH, et al. Inhibition of intestinal bile acid absorption improves cholestatic liver and bile duct injury in a mouse model of sclerosing cholangitis [J]. J Hepatol, 2016, 64(3): 674–681.
- [32] HAMOUD AR, WEAVER L, STEC DE, et al. Bilirubin in the liver – gut signaling axis [J]. Trends Endocrinol Metab, 2018, 29(3): 140–150.
- [33] LU LG. Hotspots and difficulties of clinical and basic research in cholestatic liver disease [J]. Chin J Hepatol, 2015, 23(8): 561–563. (in Chinese)
陆伦根. 胆汁淤积性肝病临床和基础研究热点和难点 [J]. 中华肝脏病杂志, 2015, 23(8): 561–563.
- 引证本文: SHEN H, HU M, WEI ZH, et al. Bile formation, secretion, and excretion and the pathogenesis of cholestasis [J]. J Clin Hepatol, 2019, 35(2): 431–437. (in Chinese)
申弘, 胡萌, 魏泽辉, 等. 胆汁的生成、分泌、排泄及胆汁淤积发生机制 [J]. 临床肝胆病杂志, 2019, 35(2): 431–437.

(本文编辑: 葛俊)

· 国外期刊精品文章简介 ·

特发性非肝硬化门静脉高压症的妊娠: 关于孕产妇和胎儿管理及结果的多中心研究

【据《J Hepatol》2018年12月报道】题: 特发性非肝硬化门静脉高压症的妊娠: 关于孕产妇和胎儿管理及结果的多中心研究(作者 Andrade F 等)

特发性非肝硬化门静脉高压症(INCPH)患者中有15%是育龄妇女。为确定INCPH女性妊娠的孕产妇和胎儿结局,来自葡萄牙佩德罗-希斯帕诺医院的Andrade等回顾性分析了VALDIG网络中心随访的INCPH妇女临床资料,这些女性在肝病随访期间怀孕次数≥1次。

16例妇女在确诊为INCPH后24个月(5~66个月)内共发生24例妊娠。4例在妊娠前有部分门静脉血栓形成。在妊娠时,16例女性中有2例出现腹水,其他均无症状。在这24例妊娠中,有4例流产,1例异位妊娠,1例在怀孕20周时医疗终止妊娠。在达到妊娠20周的其他18例中(14例患者),有9例早产和9例足月分娩。所有婴儿在分娩时均健康,但1例在第1天死于不明原因,1例在第22天死于感染性脑膜炎,二者都是早产儿。尽管在怀孕期间应用了非选择性β受体阻滞剂,但2例母亲腹水恶化,2例母亲静脉曲张出血。1例产妇在产后早期出现门静脉主干血栓。3例患者发生外阴出血,其中2例接受抗凝治疗。在最后一次分娩结束27个月(9~93个月)的中位随访后,16例女性均存活且无症状。研究表明,尽管与门静脉高压相关的并发症发生率很高,但INCPH妊娠患者的整体预后良好。胎儿结局在大多数妊娠达到20周时是有利的。

(吉林大学第一医院肝胆胰内科 高普均 赵优优 报道)