

· 综述 ·

顶端 Na⁺依赖性胆汁酸转运体相关研究进展

葛茂旭, 王菊仙, 邵荣光, 何红伟*

(中国医学科学院、北京协和医学院医药生物技术研究所, 北京 100050)

摘要: 胆汁酸是体内维持脂质代谢稳态的关键物质, 而位于回肠末端黏膜上皮细胞刷状缘侧的顶端 Na⁺依赖性胆汁酸转运体 (ASBT) 是在肝肠循环中负责胆汁肠道重吸收的关键转运体, 对于维持机体代谢平衡具有重要意义。近年来, 随着关于 ASBT 调控相关机制研究的不断深入以及其在肠道炎症、肠道肿瘤、糖尿病、高脂血症等疾病治疗中发挥的重要作用被不断挖掘, 使其有望成为上述疾病治疗的新靶点。本文将综述 ASBT 表达调控及其在疾病治疗方面的相关研究进展。

关键词: 胆汁酸; 顶端 Na⁺依赖性胆汁酸转运体; 肠道肿瘤; 高脂血症; 糖尿病

中图分类号: R965

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2017) 02-0189-09

Advances in studies of ileal apical sodium-dependent bile acid transporter

GE Mao-xu, WANG Ju-xian, SHAO Rong-guang, HE Hong-wei*

(Institute of Medicinal Biotechnology, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract: Bile acids play critical roles in the regulation of metabolism and absorption of lipids. The ileal apical sodium-dependent bile acid transporter (ASBT) located at the enterocyte brush border is responsible for the reuptake of bile acids and the maintenance of bile acid homeostasis. Recently, a number of investigations have been made concerning the regulation and control of ASBT and the relationship between ASBT and intestinal inflammation, tumorigenesis, diabetes mellitus and hyperlipemia, which suggests ASBT as a potential therapeutic target of these diseases. In this review, advances in the study of above-mentioned issues were summarized.

Key words: bile acid; apical sodium-dependent bile acid transporter; intestinal tract tumor; hyperlipemia; diabetes mellitus

胆汁酸 (bile acid)^[1]是胆汁的主要成分, 是由胆固醇在肝脏中合成的一大类胆烷酸的总称, 常以钠盐或钾盐的形式存在。人体中胆固醇在肝细胞内经胆固醇 7 α -羟化酶 (cholesterol 7 α -hydroxylase, CYP7A1)

等催化生成初级胆汁酸 (包括胆酸和鹅脱氧胆酸) 并储存于胆囊中, 然后释放到小肠参与脂类物质的消化吸收, 并在肠内细菌的作用下 7 位脱羟基生成次级胆汁酸 (包括脱氧胆酸、石胆酸和酮基石胆酸)^[2]。肠道内 95% 以上的胆汁酸会经回肠末端黏膜上皮细胞刷状缘侧的顶端 Na⁺依赖性胆汁酸转运体 (apical sodium-dependent bile acid transporter, ASBT) 以及基膜的有机溶质转运体 (organic solute transporter, OST) 所介导主动转运重吸收入血, 经门静脉进入肝脏, 并再次排入肠腔, 此过程称为肝-肠循环 (enterohepatic circulation, EHC)。

收稿日期: 2016-07-01; 修回日期: 2016-07-24.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81473249, 81473098); 国家“重大新药创制”科技重大专项资助项目 (2014ZX09201042); 北京市自然科学基金资助项目 (7162130); 协和青年科研基金资助项目 (3332016066).

*通讯作者 Tel / Fax: 86-10-83166673,

E-mail: hehwei@imb.pumc.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2016-0654

胆汁酸在肠道内的重吸收主要是受到 ASBT 的调节。人类 ASBT 基因属于第十溶质转运蛋白家族第二成员 (SLC10A2), 位于染色体 13q33 上, 具有 6 个外显子结构; ASBT 是一种由 348 个氨基酸构成的主动转运体蛋白, 相对分子质量为 48 000, 主要分布于回肠末端刷状缘, 在胆管上皮和肾近端小管等处亦有分布, 并对结合型及游离型胆汁酸均有极高的亲和力^[3]。近年来, 关于 ASBT 调控相关机制研究的不断深入, 以及其在肠道炎症、肠道肿瘤、糖尿病、高脂血症等疾病治疗中的重要作用也被深入挖掘, ASBT 有望成为上述疾病治疗的新靶点。现就 ASBT 表达调控及其在疾病治疗方面的相关研究作一综述。

1 ASBT 的表达调控

随着相关研究的不断深入, 发现转录因子、核受体、RNA 结合蛋白等对其表达均有调控作用 (图 1)。

1.1 ASBT 与转录因子

1.1.1 ASBT 与 HNF1- α 肝细胞核因子 1- α (hepatocyte nuclear factor 1- α , HNF1- α) 是调控许多肝功能相关基因表达的重要转录因子, 具有 POU 同源异型结构域, 肝脏内含量较高, 同时在小肠、肾脏、胰腺等处也均有表达^[4]。研究发现, ASBT 基因启动子上存

在 3 个 HNF1- α 识别位点, 提示 ASBT 基因的表达可能与 HNF1- α 有关。Shih 等^[4]利用 HNF1- α 基因敲除小鼠证实小鼠小肠、肾脏等处均未检测出 ASBT, 指出 ASBT 的表达依赖于 HNF1- α , 且 HNF1- α 可以增强 ASBT 基因启动子活性。同时, 肠道内的一些细胞因子和炎症介质也可以通过降低 HNF1- α 的表达, 从而降低 ASBT 的表达。

1.1.2 ASBT 与 SREBPs 胆固醇调节元件结合蛋白 (sterol-regulatory element binding proteins, SREBPs) 是锚定于内质网中的细胞内胆固醇感受器, 具有碱性螺旋-环-螺旋-拉链结构域 (basic helix-loop-helix-zip domain), 属于转录因子家族成员, 包括 SREBP-1a、SREBP-1c 和 SREBP-2 等 3 种亚型。SREBPs 与胆固醇及脂质代谢密切相关, 现有研究证实给予 25-羟基胆固醇后可抑制小肠上皮细胞 ASBT 的活性, 抑制 ASBT 启动子活性及其 mRNA 水平^[5]。Thomas 等^[6]在体内外实验中证实上述固醇类物质对 ASBT 的调节作用与 SREBPs (尤其是 SREBP-2) 有关, 但 SREBP-2 并不是直接影响 ASBT 基因的表达, 而是与 HNF1- α 结合后发挥作用。胆固醇通过对 SREBPs 的水解修饰影响其转录活性^[7], 体内胆固醇

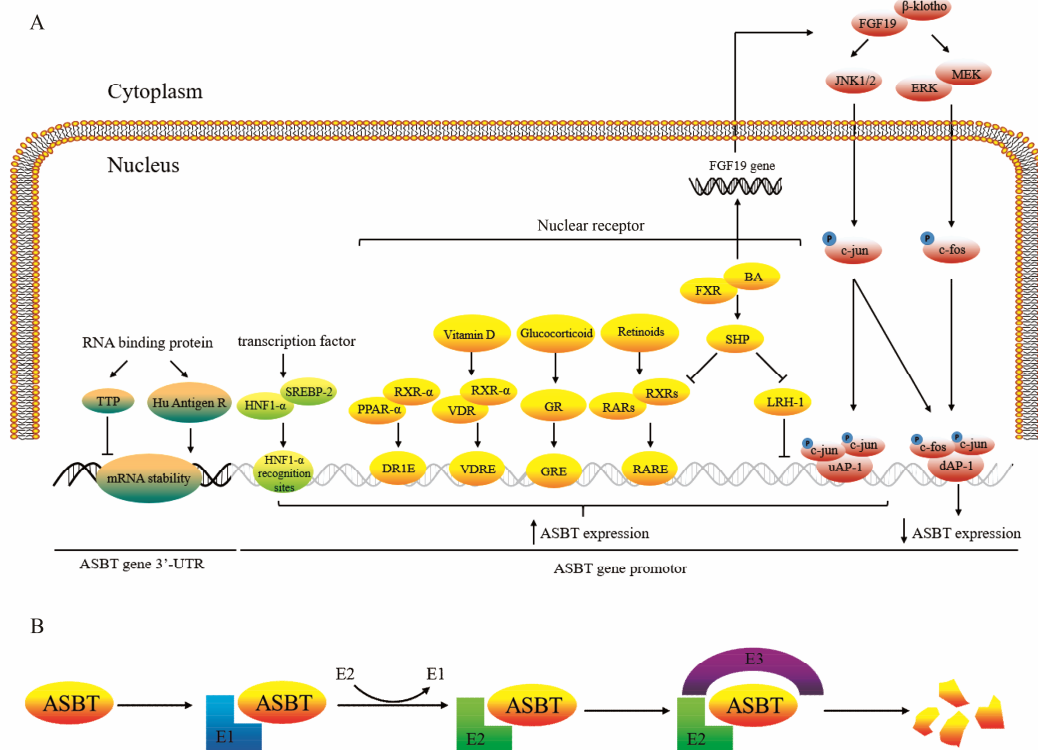


Figure 1 The advances in regulation mechanism of apical sodium-dependent bile acid transporter (ASBT). (A) The ASBT gene expression mediated by transcription factors, RNA-binding protein, nuclear receptor, fibroblast growth factor-19. (B) The ASBT protein expression regulated by regulation of protein ubiquitination and degradation pathway. E1: Ubiquitin-activating enzyme; E2: Ubiquitin-binding enzyme; E3: Ubiquitin-protein ligase

水平降低可导致 SREBPs 的 NH₂ 末端无效剪切, 产生失活突变的 SREBPs^[8], 最终减弱 SREBPs 与 HNF1- α 的结合能力, 导致 ASBT 表达下降, 体内胆汁酸外排减少, 阻止胆固醇水平持续降低, 维持机体稳态。

1.2 ASBT 与 RNA 结合蛋白

Tristetraprolin (TTP) 和 Hu Antigen R 是两种十分重要的 RNA 结合蛋白, 在调节 RNA 稳定性方面发挥着十分重要的作用。TTP 和 Hu Antigen R 为具有双锌指结构域的蛋白质, 可以与一些 3' 非翻译区 (3'-UTR) 富含 A、U 碱基的 mRNA 结合, 调节 mRNA 的稳定性。目前已知, 体内许多重要物质 (如 IFN^[9]、COX-2^[10]等) 的 mRNA 水平均受到 TTP 和 Hu Antigen R 的调节。Chen 等^[11]通过构建具有不同长度 3'-UTR 的 ASBT mRNA 证实: 随着 3'-UTR 长度的增加, ASBT mRNA 的半衰期逐渐降低。通过凝胶迁移实验发现上述实验中 ASBT mRNA 是通过结合 TTP 和 Hu Antigen R 来调节其稳定性的; 利用干扰 RNA 技术证实 TTP 可以降低 ASBT mRNA 的稳定性, 而 Hu Antigen R 则具有与其相反的作用。

1.3 ASBT 与核受体

1.3.1 ASBT 与 RAR 维甲酸受体包括维甲酸受体 (retinoic acid receptor, RAR) 和维甲酸 X 受体 (retinoid X receptor, RXR) 两类子受体家族, 其在代谢综合征、肿瘤、器官纤维化等多种疾病中发挥重要调节作用; RARs 与 RXRs 通常形成异源二聚体与靶基因启动子上的维甲酸反应元件 (retinoic acid responsive elements, RARE) 结合调节下游基因转录, 此外 RXRs 还可与其他核受体超家族 (如糖皮质激素受体、维生素 D 受体、过氧化物酶体增殖物激活受体) 等形成异源二聚体发挥作用^[12]。Neimark 等^[13]证实人类 ASBT 基因转录起始位点下游 118 bp 处存在 RAR/RXR 反应元件, 利用荧光素酶报告系统给予 9-顺式维甲酸或 11-全反式维甲酸后可上调 ASBT 启动子活性且这种激活作用可被小分子异源二聚体伴侣 (small heterodimer partner, SHP) 所拮抗。

1.3.2 ASBT 与 PPAR- α 过氧化物酶体增殖物激活受体 α (peroxisome proliferators-activated receptors α , PPAR- α) 是调节体内脂质代谢、胆酸合成、参与炎症反应的重要核受体。目前, 通过基因测序技术已确认 ASBT 基因转录起始位点-1 565~-1 577 位点上存在一段由 6 个核苷酸组成直接重复序列, 称为 DR1 元件 (AGGCCAgAGGCCA); DR1 元件是核受体与基因结合关键位置, 并且证实 PPAR- α 可以与 RXR- α 形成异源二聚体结合到 ASBT 基因上的 DR1 元件上,

反式激活 ASBT 基因表达, 促进胆汁酸的重吸收^[14]。

1.3.3 ASBT 与 GR 糖皮质激素受体 (glucocorticoid receptor, GR) 是核受体超家族的一员, 也是一种激素依赖的转录调节因子; 当和糖皮质激素结合后, 以同源二聚体的形式与靶基因启动子上的具有不完全回文结构的 DNA 共有序列即糖皮质激素反应元件 (glucocorticoid response element, GRE) 相互作用, 从而调节基因表达, 最终引起各种生物学效应。在大鼠实验中已证实糖皮质激素受体可以诱导 ASBT 的表达^[15]。近年来, Jung 等^[16]发现在 SLC10A2 基因启动子上存在两个具有 GRE 功能的基序; 分别为位于 -781~-795 位点的 IR3-A (AAAACAcgtTGTTCT) 和位于 -549~-563 位点的 IR3-B (AGGACAatcTGTTCT)。并在人体实验中证实应用地塞米松 (dexamethasone) 或布地奈德 (budesonide) 后, 回肠中 ASBT 表达增加。因此, 糖皮质激素受体可作为反式激活因子正向调节 SLC10A2 基因表达, 促进 ASBT 表达^[16, 17], 从而增加胆汁酸重吸收、提高血清胆汁酸水平。

1.3.4 ASBT 与 VDR 维生素 D 受体 (vitamin D receptor, VDR) 是一种包含 427 个氨基酸残基的亲核蛋白, 相对分子质量为 50 000, 属于类固醇激素/甲状腺激素受体超家族成员。VDR 介导维生素 D 生物活性形式 1,25(OH)₂D₃ 的重要生理功能, 经配体活化后, VDR 与 RXR 形成异源二聚体, 并与靶基因启动子上的维生素 D 受体反应元件 (vitamin D receptor response elements, VDREs) 结合, 调节靶基因的转录, 参与调节体内多种细胞增殖、分化、钙的动态平衡及某些重要蛋白质的表达^[18, 19]。目前发现 ASBT 基因启动子上游 (-2 131~2 117, 5'-AGAAGTGGGAGGA GA-3') 存在一段与 25-羟维生素 D₃-24 羟化酶基因 VDRE^[20]相似的序列。Chen 等^[21]利用酶切和点突变的方法处理上述序列, 将其转染入 Caco-2 细胞后发现 ASBT 基因启动子活性下降。在动物实验上, 给予 1,25(OH)₂D₃ 的 SD 大鼠与对照组相比, ASBT 蛋白和 mRNA 水平以及肠道胆酸吸收速率均呈上升趋势。证实了维生素 D 可以反式激活 ASBT 基因, 提高肠道对胆汁酸的吸收, 提示 VDR 在调节人体胆汁酸稳态方面具有重要的生理作用。

1.3.5 ASBT 与 FXR 法尼醇 X 受体 (farnesoid X receptor, FXR) 是核受体超家族成员之一, 与体内糖类、脂肪酸和胆固醇代谢密切相关。胆汁酸 (bile acids, BA) 是胆固醇代谢的终产物, 在脂肪代谢中发挥着十分重要的作用, 同时又是 FXR 的配体; 而 FXR 的相关生理功能受到胆汁酸的调节。现有研究

发现在大鼠体内胆汁酸不会影响回肠中 ASBT 的表达^[22],而在人类和小鼠体内却存在着胆汁酸对 ASBT 的负反馈调节^[13,23]。研究发现,小鼠体内胆汁酸通过与 FXR 结合,上调 SHP,从而抑制对 ASBT 转录发挥关键调控作用的肝受体同源物-1 (liver receptor homologue-1, LRH-1) 的表达,发挥对 ASBT 的负性调节作用^[24]。而在人体内则略有不同,胆汁酸通过 FXR/SHP 途径抑制 RAR/RXR 诱导的 ASBT 基因的转录激活^[13];胆汁酸与 FXR 结合后也可促进 FGF-19 基因的转录,减少 SHP 的降解从而拮抗 RXR,抑制 ASBT 的表达,促进胆汁酸的排出^[25]。

1.4 ASBT 与 FGF-19

成纤维细胞生长因子-19 (fibroblast growth factor, FGF-19) 是成纤维细胞因子家族成员之一,主要由肠细胞和胆管上皮细胞分泌;已有研究表明 FGF-19 在调节胆汁酸的体内平衡和“胆汁池”大小上起重要作用,并且还可以作为一种非胰岛素依赖的活性物质参与肝糖原和蛋白质的合成^[26]。

Ghosh 等^[27]发现 FGF-19 可通过调节 c-fos/c-jun 异源二聚体蛋白的形成调控回肠中 ASBT 的表达。FGF-19 与 FGF-R4/ β -klotho 复合物结合后通过下述两种方式调控 ASBT 的表达 (每个 FGF-19 家庭成员需要一个来自 klotho 家族跨膜蛋白的辅助因子;因 klotho 蛋白能把与其作用的 FGF 受体有效地转变为 FGF-19 成员的特异性受体)。首先,通过活化 JNK1/JNK2 磷酸化 c-jun 蛋白^[28] (JNK2 为 c-jun 的负性调节因子),入核后可分别与上游激活子蛋白-1 (upstream activator protein-1, uAP-1) 反应元件和下游激活子蛋白-1 (downstream activator protein-1, AP-1) 反应元件结合激活 SLC10A2 启动子,促进 ASBT 表达;也可通过激活 MEK/ERK 信号通路磷酸化 c-fos 蛋白^[29],进入细胞核以 c-fos/c-jun 的形式与下游 AP-1 反应元件结合,抑制 ASBT 的表达;亦可;两种调控方式中以 c-fos 蛋白调节为主。综上所述,FGF-19 负性调节 ASBT 的表达。

1.5 ASBT 与泛素化降解途径

泛素 (ubiquitin) 是一个由 76 个氨基酸组成的多肽链,真核生物中的异常或短寿蛋白质均通过泛素化途径进行降解,近年来研究发现机体内多种膜转运蛋白也是通过该途径降解^[30]。泛素化包括 3 个酶参与的 3 个反应,即由泛素激活酶 (ubiquitin-activating enzyme, E1)、泛素结合酶 (ubiquitin-conjugating enzyme, E2)、泛素-蛋白连接酶 (ubiquitin-protein ligase, E3) 催化的级联反应。Xia 等^[31]通过 protein turnover assay

和 Western blot 等方法测定 ASBT 的降解半衰期为 5.7 ± 1.2 h,为一种不稳定的短寿蛋白质,同时给予 MG132 (一种特异的蛋白酶体抑制剂) 处理后发现 ASBT 蛋白水平呈时间依赖性升高,提示 ASBT 可能通过泛素-蛋白酶体途径降解。

炎症细胞因子白介素-1 β (interleukin 1 β , IL-1 β) 可通过激活丝裂元活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPKs) 从而调节相关靶基因和转录因子的活性^[32]。在肠道内,IL-1 β 可通过升高 JNK 的活性,使 ASBT 的 335 位的丝氨酸 (S335A) 和 339 位的苏氨酸 (T339A) 磷酸化,从而触发泛素化作用,降解 ASBT^[31];由此可知,ASBT 的 S335A 和 T339A 位点对其稳定性至关重要。

近年来,有研究表明肠道胆汁酸中的某些成分与 ASBT 的降解有关;Miyata 等^[33]证实用氨苄西林预处理 C57BL/6N 小鼠可增加 ASBT 蛋白质表达水平但不影响其 mRNA 水平,再给予肠杆菌相关胆汁酸 (enterobacteria-associated bile acid),如牛磺去氧胆酸 (taurodeoxycholic acid, TDCA)、胆酸 (cholic acid, CA) 使 ASBT 蛋白表达水平显著下降,mRNA 水平无变化。可见,肠道内的某些胆汁酸成分是调节 ASBT 泛素化降解的重要因素,且为一种转录后调节方式;临床上也有望通过给予外源性胆酸来治疗 ASBT 表达增多所致的疾病,提高用药的安全性和有效性。从目前研究成果上看,体内胆汁酸可通过以下两种途径下调 ASBT 的表达:一是通过 FXR/SHP 途径在转录水平上调;二是泛素依赖的蛋白降解途径进行转录后调节。

2 ASBT 与疾病的发生和治疗

胆汁酸是调节机体代谢稳态的关键物质,而 ASBT 作为调控胆汁酸转运的重要转运体,其在疾病发生和治疗方面的作用越来越受到科研工作者的重视,相关研究也越来越多。

2.1 ASBT 与高脂血症

胆汁酸是调节机体脂质平衡和胆固醇稳态的关键物质,ASBT 则是胆汁酸肝肠循环过程中负责肠道重吸收胆汁酸的最主要的转运体。应用 ASBT 抑制剂 (2164U90^[34]、S-8921^[35]、R-146224^[36]、SC-435^[37,38]) 后可增加经肠道外排的胆汁酸含量,从而代偿性促进肝脏大量合成胆汁酸,致肝内胆汁酸合成限速酶 CYP7A1 活性提高,使得作为胆汁酸合成原料的胆固醇在体内的水平降低,起到降低胆固醇的作用 (表 1)。这一降胆固醇作用是通过调节胆汁酸与胆固醇间的代谢平衡而实现的^[39],与传统降胆固醇药物他汀类

Table 1 Main potential ASBT inhibitor drugs. UDCA: Ursodeoxycholic acid

Compound	Indication	Placebo control	Combination	Status
A3309	Chronic idiopathic constipation	+	-	Phase II
	Dyslipidemia	+	-	Phase II
A4250	Primary biliary cirrhosis	-	-	Recruiting
	Pediatric cholestasis	-	-	Recruiting
GSK2330672	Intrahepatic cholestasis	+	UDCA	Phase II
	Type 2 diabetes mellitus	+	-	Phase II
LUM001	Primary sclerosing cholangitis	-	-	Phase II
	Primary biliary cirrhosis	+	UDCA	Phase II
	Alagille syndrome	+	-	Phase II
	Progressive familial intrahepatic cholestasis	-	-	Not recruiting
SHP626	Nonalcoholic steatohepatitis	+	-	Not recruiting

化合物抑制 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶 (3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase, HMGCR) 的机制有所不同。ASBT 分布于回肠细胞表面, 因此药物无需经过胃肠道吸收进入循环系统发挥其抑制 ASBT 的作用^[37], 大大降低不良反应发生的风险, 成为了降胆固醇药物研究的新策略。

2.2 ASBT 与胆汁淤积性肝病

胆汁淤积性肝病是指各种病因所致的肝脏胆汁生成、分泌和排泄障碍, 使得胆汁不能正常流入十二指肠而进入血液的病理状态, 患者表现为皮肤瘙痒、乏力、尿色加深和黄疸等。胆汁淤积本身又可进一步加重肝脏损害, 严重者可导致肝衰竭甚至死亡。胆汁淤积性肝病按发生部位可分为肝内胆汁淤积 (包括肝细胞和胆管细胞) 以及肝外胆汁淤积, 而目前该疾病的治疗多采用“去除病因和对症治疗”的方式, 尚缺乏有效的治疗药物, FDA 仅批准熊去氧胆酸 (ursodeoxycholic acid, UDCA) 用于治疗原发性胆汁性肝硬化 (primary biliary cirrhosis, PBC) 和原发性硬化性胆管炎 (primary sclerosing cholangitis, PSC), UDCA 和处在 III 期临床试验的奥贝胆酸同为 FXR 的配体, 两者通过与 FXR 结合, 下调 ASBT 的表达, 对胆汁的肝肠循环进行调解。Hruz 等^[40]研究发现在阻塞性胆汁淤积性患者中 ASBT 的 mRNA 水平降低, 这可能是机体的一种代偿机制, 通过减少胆汁酸的重吸收, 减轻肝内的胆汁淤积程度。上述研究提示应用 ASBT 抑制剂后通过阻断胆汁的肝肠循环, 使得胆汁的流失大于其合成, 对胆汁淤积性疾病产生有益的作用; 并且目前已有 A4250、GSK2330672 和 LUM001 等 ASBT 抑制剂完成 II 期临床试验, 用于治疗多种类型的胆汁淤积性肝病 (表 2)^[34-38, 41, 42]。

2.3 ASBT 与糖尿病

糖尿病是一种以慢性血糖水平升高为特征的代

Table 2 Main potential ASBT inhibitor compounds

Compound	Function	Animal experiment
264W94 ^[41]	Therapeutic strategy for type 2 diabetes mellitus	Zucker diabetic fatty (zdf) rat
2164U90 ^[34]	Lowering of plasma cholesterol	Rat and mouse
R-146224 ^[36]	Reduction serum cholesterol levels	Hamster and monkey
S 0960 ^[42]	Inhibition extrahepatic cholestasis	Rat
SC-435 ^[37, 38]	Reduction total and LDL-cholesterol concentrations Abrogating progression of murine sclerosing cholangitis	Guinea pig Mdr2 (-/-) mouse
S-8921 ^[35]	Hypocholesterolemic action	Rat

谢性疾病, 患者体内的胰岛素水平失衡, 还会造成脂质、蛋白质和电解质等的代谢异常; 研究发现, 在糖尿病患者和多种糖尿病动物模型中均发现胆汁池“容积”增大^[43], 肠道胆汁酸吸收增加^[44]。多项临床研究也表明抑制糖尿病患者体内胆汁酸吸收有利于控制其血糖和血脂水平^[45, 46]。Annaba 等^[47]研究发现胰岛素可显著抑制 ASBT 的表达及其启动子活性, 在链脲霉素致大鼠糖尿病模型中发现 ASBT 的表达和对胆汁酸的重吸收能力均明显上调。Wu 等^[48]应用不溶性 ASBT 抑制剂 GSK2330672 后发现 SD 大鼠血清葡萄糖水平显著下降、胰岛素水平明显升高。进一步研究发现抑制 ASBT 后导致肠道内胆汁酸含量升高, 使得结肠内多种功能肽如胰高血糖素样肽-1 (glucagon-like peptide-1, GLP-1)、YY 肽 (peptide YY, PYY) 的分泌增加, 从而促进胰岛 B 细胞分泌胰岛素, 控制机体血糖水平。Chen 等^[49]在应用另一 ASBT 抑制剂 264W94 后发现升结肠内 G-蛋白偶联受体 (TGR-5) 表达增加, 加之 TGR-5 又是 GLP-1 分泌的正调控因子^[50], 因此推测 ASBT 抑制剂的降血糖作用主要是通过上调 TGR-5, 从而增加 GLP-1 分泌实现的。由此可见, ASBT 抑制剂有望成为控制糖尿病患者血糖水平

的新型干预手段, 开发成为安全有效的降糖药物。

2.4 ASBT 与炎症性肠病

炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) 是一组发生于肠道的慢性、反复发作的炎症性疾病的统称, 包括溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 和克罗恩病 (Crohn's disease, CD); 其临床表现为腹痛、腹泻、肠梗阻等。研究发现, 克罗恩病患者会出现严重的胆汁酸吸收障碍^[51]; 导致机体代偿增加胆汁分泌, 胆红素、胆盐水平升高, 加剧患色素性胆结石的风险^[52]。Wojtal 等^[53]发现在 107 例炎症性肠病患者中肠道 ASBT 的表达显著下调, 在这种异常的肠道炎症背景下, ASBT 的数量以及对胆汁酸的亲和性均显著下降^[54]。由此推测, 肠道内相关炎症细胞因子如白细胞介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、IL-6 等可抑制 ASBT 的表达, 其具体机制可能为上述炎症细胞因子触发 ASBT 的泛素化降解途径^[31]; 亦或是诱导 c-fos 和 c-jun 磷酸化, 进而抑制 ASBT 表达^[55]。目前临床上多用甲泼尼龙 (methylprednisolone, MP) 治疗炎症性肠病, 原因在于 MP 可广泛抑制多种炎症反应信号通路, 抑制肠道营养及电解质吸收不良^[56]。

2.5 ASBT 与便秘

胆汁酸作为维持人体稳态的关键物质, 除调节机体糖脂代谢, 参与肠道营养物质吸收和电解质转运外, 其在肠道内的浓度与肠道功能也密切相关。临床上胆汁反流性胃炎或胆汁淤积性肝病患者以及长期服用胆汁酸螯合剂如考来烯胺的高脂血症患者, 由于肠道内胆汁酸水平降低, 常会出现便秘的症状。胆汁酸作为肠道内重要的信号分子, 是 TGR-5 的内源性配体。有研究指出, TGR-5 与胆汁酸结合后, 可刺激 5-羟色胺 (5-HT) 和降钙素基因相关肽 (CGRP) 的分泌, 促进结肠蠕动。利用离体小鼠全段结肠研究发现, 与野生型小鼠相比, TGR-5 敲除小鼠的肠道蠕动和排便频率明显降低^[57], 同时也有类似研究发现 TGR-5 敲除后小鼠粪便水分含量明显低于野生型小鼠, 表明 TGR-5 参与调控肠道内水分及电解质的外排, 促进胃肠蠕动, 起到改善便秘的作用。Wong 等^[58]及 Simrén 等^[59]证实应用 ASBT 抑制剂后可减少肠道胆汁重吸收, 提高肠道胆汁浓度发挥胃肠促动力作用, 从而缓解慢性便秘症状。

2.6 ASBT 与肠道肿瘤

肠道内高浓度的胆汁酸尤其是次级胆汁酸 (如脱氧胆酸、石胆酸等) 与肠道黏膜的过度接触是肠道肿瘤发生的重要危险因素。胆汁酸可诱导细胞氧化应

激及亚硝基化应激, 造成细胞凋亡、DNA 损伤, 存活下来的细胞进行损伤修复; 未成功修复的细胞在反复接触胆汁酸后继续错配复制, 导致细胞突变积蓄, 抗凋亡及增殖能力提高, 在长期“自然选择”后最终发生癌变^[60, 61]。动物实验中发现肠内灌注外源性胆汁酸可致肠道上皮异常增生, 诱发癌变^[62]。Dawson 等^[63]发现, 与野生型小鼠相比, ASBT 基因缺陷小鼠粪便胆汁酸含量显著升高达 10 倍以上, 提示肠道胆汁酸转运体可能通过调控胆汁酸肝-肠循环参与肠道肿瘤的发生和发展中。Raufman 等^[64]比较野生型小鼠和 ASBT 缺陷小鼠偶氮甲烷诱导结肠癌模型中肿瘤的数量和体积, 发现后者较前者明显增加。在人结肠癌细胞系 H508 的研究中证实胆汁可激动毒蕈碱 M3 受体, 通过与表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptors, EGFR) 间的相互作用, 诱导基质金属蛋白酶-7 (matrix metalloproteinase-7, MMP7) 的表达^[65, 66], 促进结肠癌的发生。随着胆汁酸与肠道肿瘤发生机制研究的不断深入, 使得 ASBT 抑制剂的相关临床研究面临着一项重大挑战, 即长期应用 ASBT 抑制剂后会使得肠道和粪便中的胆汁酸增加, 此种变化是否会导致肠道肿瘤发生这一严重不良反应, 将是日后相关研究工作者需要重视的问题之一。

3 结语与展望

综上所述, ASBT 作为胆汁酸在肠道重吸收的关键转运体, 对于维持体内胆汁酸稳态乃至代谢平衡具有十分重要的意义。随着对 ASBT 调控机制探索的不断深入及其在高脂血症、糖尿病、炎症性肠病、便秘、肠道肿瘤等疾病治疗中的相关研究, 为 ASBT 成为疾病治疗的新靶点提供了可信、有力的理论基础和科学依据。通过 clinicaltrials 数据库 (<https://clinicaltrials.gov/>) 检索得知, 已有许多化合物进入到临床试验, 其中 A3390、GSK2330672、LUM001 等药物已经完成 II 期临床试验 (表 1)。同时一些候选化合物在动物实验中也取得了良好的疗效, 在治疗 II 型糖尿病、高脂血症等疾病方面具有极大的潜力 (表 2)。

References

- [1] Alrefai WA, Gill RK. Bile acid transporters: structure, function, regulation and pathophysiological implications [J]. *Pharm Res*, 2007, 24: 1803–1823.
- [2] Chiang JY. Regulation of bile acid synthesis: pathways, nuclear receptors, and mechanisms [J]. *J Hepatol*, 2004, 40: 539–551.

- [3] Craddock AL, Love MW, Daniel RW, et al. Expression and transport properties of the human ileal and renal sodium-dependent bile acid transporter [J]. *Am J Physiol*, 1998, 274: G157–G169.
- [4] Shih DQ, Bussen M, Sehayek E, et al. Hepatocyte nuclear factor-1 α is an essential regulator of bile acid and plasma cholesterol metabolism [J]. *Nat Genet*, 2001, 27: 375–382.
- [5] Alrefai WA, Sarwar Z, Tyagi S, et al. Cholesterol modulates human intestinal sodium-dependent bile acid transporter [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2005, 288: G978–G985.
- [6] Thomas C, Landrier JF, Gaillard D, et al. Cholesterol dependent downregulation of mouse and human apical sodium dependent bile acid transporter (ASBT) gene expression: molecular mechanism and physiological consequences [J]. *Gut*, 2006, 55: 1321–1331.
- [7] Alrefai WA, Annaba F, Sarwar Z, et al. Modulation of human Niemann-Pick C1-like 1 gene expression by sterol: role of sterol regulatory element binding protein 2 [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2007, 292: G369–G376.
- [8] Horton JD, Goldstein JL, Brown MS. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver [J]. *J Clin Invest*, 2002, 109: 1125–1131.
- [9] Herdy B, Karonitsch T, Vladimer GI, et al. The RNA-binding protein HuR/ELAVL1 regulates IFN- β mRNA abundance and the type I IFN response [J]. *Eur J Immunol*, 2015, 45: 1500–1511.
- [10] Giaginis C, Alexandrou P, Tsoukalas N, et al. Hu-antigen receptor (HuR) and cyclooxygenase-2 (COX-2) expression in human non-small-cell lung carcinoma: associations with clinicopathological parameters, tumor proliferative capacity and patients' survival [J]. *Tumour Biol*, 2015, 36: 315–327.
- [11] Chen F, Shyu AB, Shneider BL. Hu antigen R and tristetraprolin: counter-regulators of rat apical sodium-dependent bile acid transporter by way of effects on messenger RNA stability [J]. *Hepatology*, 2011, 54: 1371–1378.
- [12] le Maire A, Alvarez S, Shankaranarayanan P, et al. Retinoid receptors and therapeutic applications of RAR/RXR modulators [J]. *Curr Top Med Chem*, 2012, 12: 505–527.
- [13] Neimark E, Chen F, Li X, et al. Bile acid-induced negative feedback regulation of the human ileal bile acid transporter [J]. *Hepatology*, 2004, 40: 149–156.
- [14] Jung D, Fried M, Kullak-Ublick GA. Human apical sodium-dependent bile salt transporter gene (SLC10A2) is regulated by the peroxisome proliferator-activated receptor α [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277: 30559–30566.
- [15] Nowicki MJ, Shneider BL, Paul JM, et al. Glucocorticoids upregulate taurocholate transport by ileal brush-border membrane [J]. *Am J Physiol*, 1997, 273: G197–G203.
- [16] Jung D, Fantin AC, Scheurer U, et al. Human ileal bile acid transporter gene ASBT (SLC10A2) is transactivated by the glucocorticoid receptor [J]. *Gut*, 2004, 53: 78–84.
- [17] Out C, Dikkers A, Laskewitz A, et al. Prednisolone increases enterohepatic cycling of bile acids by induction of Asbt and promotes reverse cholesterol transport [J]. *J Hepatol*, 2014, 61: 351–357.
- [18] Imai Y, Youn MY, Inoue K, et al. Nuclear receptors in bone physiology and diseases [J]. *Physiol Rev*, 2013, 93: 481–523.
- [19] Heikkinen S, Vaisanen S, Pehkonen P, et al. Nuclear hormone 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ elicits a genome-wide shift in the locations of VDR chromatin occupancy [J]. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39: 9181–9193.
- [20] Kerner SA, Scott RA, Pike JW. Sequence elements in the human osteocalcin gene confer basal activation and inducible response to hormonal vitamin D₃ [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1989, 86: 4455–4459.
- [21] Chen X, Chen F, Liu S, et al. Transactivation of rat apical sodium-dependent bile acid transporter and increased bile acid transport by 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ via the vitamin D receptor [J]. *Mol Pharmacol*, 2006, 69: 1913–1923.
- [22] Arrese M, Trauner M, Sacchiero RJ, et al. Neither intestinal sequestration of bile acids nor common bile duct ligation modulate the expression and function of the rat ileal bile acid transporter [J]. *Hepatology*, 1998, 28: 1081–1087.
- [23] Figge A, Lammert F, Paigen B, et al. Hepatic overexpression of murine Abcb11 increases hepatobiliary lipid secretion and reduces hepatic steatosis [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279: 2790–2799.
- [24] Chen F, Ma L, Dawson PA, et al. Liver receptor homologue-1 mediates species- and cell line-specific bile acid-dependent negative feedback regulation of the apical sodium-dependent bile acid transporter [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278: 19909–19916.
- [25] Sinha J, Chen F, Miloh T, et al. β -Klotho and FGF-15/19 inhibit the apical sodium-dependent bile acid transporter in enterocytes and cholangiocytes [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2008, 295: G996–G1003.
- [26] Xu JN, Yin K, Zhang WP. The metabolic regulation function of human fibroblast growth factor 19 [J]. *Med Res*, 2012, 41: 3.
- [27] Ghosh A, Chen F, Banerjee S, et al. c-Fos mediates repression of the apical sodium-dependent bile acid transporter by fibroblast growth factor-19 in mice [J]. *Am J Physiol Gas-*

- trointest Liver Physiol, 2014, 306: G163–G171.
- [28] Bode AM, Dong Z. The functional contrariety of JNK [J]. *Mol Carcinog*, 2007, 46: 591–598.
- [29] Roskoski R Jr. ERK1/2 MAP kinases: structure, function, and regulation [J]. *Pharmacol Res*, 2012, 66: 105–143.
- [30] Hirano K, Zuber C, Roth J, et al. The proteasome is involved in the degradation of different aquaporin-2 mutants causing nephrogenic diabetes insipidus [J]. *Am J Pathol*, 2003, 163: 111–120.
- [31] Xia X, Roundtree M, Merikhi A, et al. Degradation of the apical sodium-dependent bile acid transporter by the ubiquitin-proteasome pathway in cholangiocytes [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279: 44931–44937.
- [32] O'Neill LA. Signal transduction pathways activated by the IL-1 receptor/toll-like receptor superfamily [J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2002, 270: 47–61.
- [33] Miyata M, Yamakawa H, Hayashi K, et al. Ileal apical sodium-dependent bile acid transporter protein levels are down-regulated through ubiquitin-dependent protein degradation induced by bile acids [J]. *Eur J Pharmacol*, 2013, 714: 507–514.
- [34] Hallen S, Björquist A, Ostlund-Lindqvist AM, et al. Identification of a region of the ileal-type sodium/bile acid cotransporter interacting with a competitive bile acid transport inhibitor [J]. *Biochemistry*, 2002, 41: 14916–14924.
- [35] Sakamoto S, Kusuhara H, Miyata K, et al. Glucuronidation converting methyl 1-(3,4-dimethoxyphenyl)-3-(3-ethylvaleryl)-4-hydroxy-6,7,8-trimethoxy-2-naphthoate (S-8921) to a potent apical sodium-dependent bile acid transporter inhibitor, resulting in a hypocholesterolemic action [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2007, 322: 610–618.
- [36] Kitayama K, Nakai D, Kono K, et al. Novel non-systemic inhibitor of ileal apical Na⁺-dependent bile acid transporter reduces serum cholesterol levels in hamsters and monkeys [J]. *Eur J Pharmacol*, 2006, 539: 89–98.
- [37] Bhat BG, Rapp SR, Beaudry JA, et al. Inhibition of ileal bile acid transport and reduced atherosclerosis in *apoE*^{-/-} mice by SC-435 [J]. *J Lipid Res*, 2003, 44: 1614–1621.
- [38] West KL, Zern TL, Butteiger DN, et al. SC-435, an ileal apical sodium co-dependent bile acid transporter (ASBT) inhibitor lowers plasma cholesterol and reduces atherosclerosis in guinea pigs [J]. *Atherosclerosis*, 2003, 171: 201–210.
- [39] Zhang EY, Phelps MA, Cheng C, et al. Modeling of active transport systems [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2002, 54: 329–354.
- [40] Hruz P, Zimmermann C, Gutmann H, et al. Adaptive regulation of the ileal apical sodium dependent bile acid transporter (ASBT) in patients with obstructive cholestasis [J]. *Gut*, 2006, 55: 395–402.
- [41] Ghosh A, Chen F, Soler DM, et al. Fibroblast growth factor (FGF) 19 inhibition of the apical sodium dependent bile acid transporter (ASBT) involves 2 distinct pathways: ERK-AP-1 and FXR-SHPLRH-1 [J]. *Hepatology*, 2012, 56: 540A.
- [42] Schlattjan JH, Fehsenfeld H, Greven J. Effect of the dimeric bile acid analogue S 0960, a specific inhibitor of the apical sodium-dependent bile salt transporter in the ileum, on the renal handling of taurocholate [J]. *Arzneimittelforschung*, 2003, 53: 837–843.
- [43] Bennion LJ, Grundy SM. Effects of diabetes mellitus on cholesterol metabolism in man [J]. *N Engl J Med*, 1977, 296: 1365–1371.
- [44] Caspary WF. Effect of insulin and experimental diabetes mellitus on the digestive-absorptive function of the small intestine [J]. *Digestion*, 1973, 9: 248–263.
- [45] Sonnett TE, Levien TL, Neumiller JJ, et al. Colesevelam hydrochloride for the treatment of type 2 diabetes mellitus [J]. *Clin Ther*, 2009, 31: 245–259.
- [46] Zema MJ. Colesevelam hydrochloride: evidence for its use in the treatment of hypercholesterolemia and type 2 diabetes mellitus with insights into mechanism of action [J]. *Core Evid*, 2012, 7: 61–75.
- [47] Annaba F, Ma K, Kumar P, et al. Ileal apical Na⁺-dependent bile acid transporter ASBT is upregulated in rats with diabetes mellitus induced by low doses of streptozotocin [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2010, 299: G898–G906.
- [48] Wu Y, Aquino CJ, Cowan DJ, et al. Discovery of a highly potent, nonabsorbable apical sodium-dependent bile acid transporter inhibitor (GSK2330672) for treatment of type 2 diabetes [J]. *J Med Chem*, 2013, 56: 5094–5114.
- [49] Chen L, Yao X, Young A, et al. Inhibition of apical sodium-dependent bile acid transporter as a novel treatment for diabetes [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2012, 302: E68–E76.
- [50] Thomas C, Gioiello A, Noriega L, et al. TGR5-mediated bile acid sensing controls glucose homeostasis [J]. *Cell Metab*, 2009, 10: 167–177.
- [51] Davie RJ, Hosie KB, Grobler SP, et al. Ileal bile acid malabsorption in colonic Crohn's disease [J]. *Br J Surg*, 1994, 81: 289–290.
- [52] Brink MA, Slors JF, Keulemans YC, et al. Enterohepatic cycling of bilirubin: a putative mechanism for pigment gallstone formation in ileal Crohn's disease [J]. *Gastroenterology*, 1999, 116: 1420–1427.
- [53] Wojtal KA, Eloranta JJ, Hruz P, et al. Changes in mRNA expression levels of solute carrier transporters in inflammatory bowel disease patients [J]. *Drug Metab Dispos*, 2009, 37:

- 1871–1877.
- [54] Sundaram U, Wisel S, Stengelin S, et al. Mechanism of inhibition of Na⁺-bile acid cotransport during chronic ileal inflammation in rabbits [J]. *Am J Physiol*, 1998, 275: G1259–G1265.
- [55] Neimark E, Chen F, Li X, et al. c-Fos is a critical mediator of inflammatory-mediated repression of the apical sodium-dependent bile acid transporter [J]. *Gastroenterology*, 2006, 131: 554–567.
- [56] Coon S, Kekuda R, Saha P, et al. Glucocorticoids differentially regulate Na-bile acid cotransport in normal and chronically inflamed rabbit ileal villus cells [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2010, 298: G675–G682.
- [57] Alemi F, Poole DP, Chiu J, et al. The receptor TGR5 mediates the prokinetic actions of intestinal bile acids and is required for normal defecation in mice [J]. *Gastroenterology*, 2013, 144: 145–154.
- [58] Wong BS, Camilleri M. Elobixibat for the treatment of constipation [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2013, 22: 277–284.
- [59] Simrén M, Bajor A, Gillberg PG, et al. Randomised clinical trial: the ileal bile acid transporter inhibitor A3309 vs. placebo in patients with chronic idiopathic constipation – a double-blind study [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2011, 34: 41–50.
- [60] Bernstein C, Holubec H, Bhattacharyya AK, et al. Carcinogenicity of deoxycholate, a secondary bile acid [J]. *Arch Toxicol*, 2011, 85: 863–871.
- [61] Bernstein H, Bernstein C, Payne CM, et al. Bile acids as endogenous etiologic agents in gastrointestinal cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2009, 15: 3329–3340.
- [62] Flynn C, Montrose DC, Swank DL, et al. Deoxycholic acid promotes the growth of colonic aberrant crypt foci [J]. *Mol Carcinog*, 2007, 46: 60–70.
- [63] Dawson PA, Haywood J, Craddock AL, et al. Targeted deletion of the ileal bile acid transporter eliminates enterohepatic cycling of bile acids in mice [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278: 33920–33927.
- [64] Raufman JP, Dawson PA, Rao A, et al. Slc10a2-null mice uncover colon cancer-promoting actions of endogenous fecal bile acids [J]. *Carcinogenesis*, 2015, 36: 1193–1200.
- [65] Cheng K, Xie G, Raufman JP. Matrix metalloproteinase-7-catalyzed release of HB-EGF mediates deoxycholytaurine-induced proliferation of a human colon cancer cell line [J]. *Biochem Pharmacol*, 2007, 73: 1001–1012.
- [66] Peng Z, Heath J, Drachenberg C, et al. Cholinergic muscarinic receptor activation augments murine intestinal epithelial cell proliferation and tumorigenesis [J]. *BMC Cancer*, 2013, 13: 204.