



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.02.006
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2019.02.006
Chinese Journal of General Surgery, 2019, 28(2):166-172.

· 基础研究 ·

核受体基因在家族遗传性胆囊胆固醇结石患者肝组织中表达的变化

李春艳¹, 赵欣¹, 樊宁², 胡勇¹, 李亮³, 高巧营⁴, 陈颖⁵, 王丽⁵, 崔云峰⁵

(1. 天津医科大学研究生院, 天津 300070; 天津市南开医院 3. 超声科 4. 中西医结合急腹症研究所 5. 肝胆胰外科一, 天津 300100; 2. 天津市北辰区中医医院 普通外科, 天津 300400)

摘要

目的: 探讨核受体 (NRs) 基因在汉族人群中家族遗传性胆囊胆固醇结石 (HCGD) 患者肝组织中表达的变化。

方法: 收集 9 例 HCGD 患者 (HCGD 组)、9 例散发性胆固醇结石患者 (SCGD, SCGD 组) 和 7 例无胆石病肝血管瘤患者 (对照组) 血液与手术肝组织标本。用酶法检测血清脂代谢相关指标, 用 qRT-PCR 测定肝组织肝 NRs: 肝 X 受体 (LXR α)、法尼醇 X 受体 (FXR)、甾醇调节元件结合蛋白 2 (SREBP2)、雌激素受体 α/β (ER α/β)、G 蛋白偶联受体 30 (GPR30)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ) mRNA 的表达。

结果: HCGD 组血清总胆汁酸 (TBA) 含量较对照组与 SCGD 组明显降低 (均 $P < 0.05$), 其余脂代谢相关指标各组间均无统计学差异 (均 $P > 0.05$)。与对照组比较, HCGD 组 ER α/β 、SREBP2、PPAR γ 的 mRNA 表达量明显升高, SCGD 组 FXR mRNA 明显升高 (均 $P < 0.05$); LXR α 和 GPR30 mRNA 在各组间均无统计学差异 (均 $P > 0.05$)。HCGD 组中 ER α 、ER β mRNA 表达与患者血清 TBA 水平呈负相关 ($r = -1.000, P = 0.000$; $r = -0.989, P = 0.011$)。

结论: ER α/β 、SREBP2、PPAR γ 基因在 HCGD 患者肝组织中表达上调, 其高表达可能参与了 HCGD 的发生发展。

关键词

胆囊结石病, 遗传性; 胆固醇; 受体, 胞质和核

中图分类号: R657.4

Changes in expressions of nuclear receptor genes in liver tissue of patients with hereditary cholesterol gallstone

LI Chunyan¹, ZHAO Xin¹, FAN Ning², HU Yong¹, LI Liang³, GAO Qiaoying⁴, CHEN Ying⁵, WANG Li⁵, CUI Yunfeng⁵

(1. Graduate School of Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 3. Department of Ultrasound 4. Institute of Acute Abdomen of integration of Chinese medicine and Western medicine 5. Division of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, Tianjin Nankai Hospital, Tianjin 300100, China; 2. Tianjin Beichen District Chinese Medicine Hospital, Tianjin 300400, China)

Abstract

Objective: To investigate the changes in gene expressions of nuclear receptors (NRs) in hepatic tissue of patients with hereditary cholesterol gallstone (HCGD) of Chinese Han nationality.

基金项目: 天津市科技计划重点基金资助项目 (14ZCDSY00021); 天津市卫生行业重点攻关基金资助项目 (16KG159)。

收稿日期: 2018-08-27; **修订日期:** 2019-01-15。

作者简介: 李春艳, 天津医科大学硕士研究生, 主要从事肝胆胰外科临床与基础方面的研究。

通信作者: 崔云峰, Email: nkyycyf@163.com

Methods: The blood samples and surgical specimens of hepatic tissue from 9 patients with HCGD (HCGD group), 9 patients with sporadic cholesterol gallstone (SCGD, SCGD group), and 7 hepatic hemangioma patients without gallstone (control group) were collected. The serum levels of lipid metabolism related indicators were determined by enzymatic assay, and mRNA expressions of NRs in liver tissues, which included liver X receptor (LXR α), farnesoid X receptor (FXR), sterol regulatory element binding protein 2 (SREBP2), estrogen receptors α and β (ER α/β), G protein-coupled receptor 30 (GPR30), peroxisome proliferator activated receptor γ (PPAR γ), were examined by qRT-PCR.

Results: The serum level of total bile acid (TBA) in HCGD group was significantly reduced compared with control group and SCGD group (both $P < 0.05$), while no significant differences were noted in other lipid metabolism related indicators among the three groups (all $P > 0.05$). Compared with control group, the mRNA expression levels of ER α/β , SREBP2, and PPAR γ in HCGD group were significantly increased in HCGD group, and the FXR mRNA expression level was significantly increased in SCGD group (all $P < 0.05$); the mRNA expression levels of LXR α and GPR30 showed no significant differences among the three groups (both $P > 0.05$). In HCGD group, the mRNA expressions of ER α and ER β were negatively correlated with the serum TBA level ($r = -1.000, P = 0.000; r = -0.989, P = 0.011$).

Conclusion: The genes expressions of ER α/β , SREBP2 and PPAR γ are up-regulated in the liver tissue of HCGD patients, which may play important roles in the pathogenesis of HCGD.

Key words

Cholecystolithiasis, Hereditary; Cholesterol; Receptors, Cytoplasmic and Nuclear

CLC number: R657.4

胆囊胆固醇结石病 (cholesterol gallstone disease, CGD) 是常见的消化系统疾病, 同时也是胆囊癌及胆系肿瘤的危险因素, 好发于成年女性^[1-2]。现今大量研究表明CGD的发生发展受到多个基因、环境和遗传因素等的相互作用调控, 是多因素决定的复杂性状疾病^[3]。国内外流行病学以及遗传学研究提示种族差异以及遗传异质性在CGD的发生发展过程中具有重要的作用^[4-5]。现今基于数量性状位点分析和全基因组关联研究等筛选出了60余个胆石病 (gallstone, GD) 的易感基因/位点^[6-7]。然而目前发现的大部分GD候选基因是基于小鼠GD模型发现的, 这些候选基因在家族遗传性CGD患者 (hereditary cholesterol gallstone, HCGD) 肝组织中的表达情况尚未见报道, 笔者的前期研究^[8]发现固醇携带蛋白2 (sterol carrier protein-2, SCP2) 在HCGD中高表达, 因此, 基于前期研究和查阅国内外相关文献^[3, 6, 8-10], 笔者在与GD相关核受体 (nuclear receptors, NRs) 基因、合成酶基因、膜转运体基因中筛选了7个与脂代谢相关的NRs基因: 肝X受体 α (liver X receptor α , LXR α)、法尼醇X受体 (farnesoid X receptor, FXR)、甾醇调节元件结合蛋白2 (sterol regulatory element binding protein 2, SREBP-2)、

雌激素受体 α/β (estrogen receptors α/β , ER α/β)、G蛋白偶联受体30 (G protein-coupled receptor 30, GPR30)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator activated receptor γ , PPAR γ) 基因, 并采用实时荧光定量聚合酶链反应 (real-time quantitative reverse transcriptase PCR, qRT-PCR) 检测其在汉族人群HCGD、散发性CGD患者 (sporadic cholesterol gallstone, SCGD) 和非胆结石患者 (gallstone-free controls, 对照组) 肝组织mRNA水平表达变化, 以期进一步从分子水平探讨HCGD发病机制奠定基础, 同时也为探寻早期治疗HCGD患者有效药物靶点提供参考。

1 资料与方法

1.1 研究对象和实验标本来源

收集自2016年9月—2017年9月于天津市南开医院肝胆胰外科一住院行手术治疗患者肝组织20~30 mg, 入选患者均为天津市汉族常住人口, 经空腹B超或手术诊断为胆囊胆固醇结石。本研究经医院学术伦理委员会的批准 (2017-020P), 患者均签署知情同意书。

纳入标准：(1) 年龄18~80周岁，性别不限；(2) HCGD组三代直系血亲中至少两代，且每代中至少有1例CGD患者（经空腹B超或手术诊断）；(3) SCGD组除患者本人外，三代直系血亲中经空腹B超诊断无胆囊胆固醇结石；(4) 对照组为肝血管瘤患者行手术治疗，并经空腹B超诊断无胆石病、无泌尿系结石的患者。排除标准：合并有与胆固醇代谢紊乱相关疾病，如肥胖、糖尿病、动脉粥样硬化疾病等；酗酒、药物（近1个月服用降低胆固醇的药物）、妊娠、严重的心血管疾病、恶性肿瘤等。最终纳入对照组患者7例，其中男2例，女5例；年龄30~77岁；HCGD组患者9例，其中男4例，女5例；年龄20~58岁；SCGD组9例，其中男3例，女6例；年龄31~66岁。

1.2 实验试剂

动物组织总RNA提取试剂盒（离心柱型，DP431）、SuperReal PreMix Plus（SYBR Green, FP205）均购自天根生物科技（北京）有限公司，TransScript® First-Strand cDNA Synthesis SuperMix（AT301）购自北京全式金生物技术（TransGen Biotech）有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 标本收集 (1) 血液标本的收集：各实验组患者于入院次日空腹平卧外周静脉采血，离心，取血清备用。(2) 肝组织标本收集：签署知情同意后，手术中取20~30 mg肝组织。

1.3.2 血脂的测定 使用全自动生化分析仪，酶法检测血清总胆固醇（total cholesterol, TC）、甘油三酯（triglyceride, TG）、高密度脂蛋白（high-density lipoprotein, HDL）、低密度脂蛋白（low-density lipoprotein, LDL）、载脂蛋白A1（apolipoprotein A1, ApoA1）、载脂蛋白B（apolipoprotein B, ApoB）、脂蛋白(a)[Lipoprotein(a), Lp(a)]、总胆汁酸（total bile acid, TBA）。

1.3.3 红外光谱法定性胆囊结石化学成分 收集术后患者胆囊结石，生理盐水反复冲洗干净，晾干研磨后称取结石1 mg和溴化钾粉末100 mg，充分混合均匀后采用红外光谱分析法检测胆囊结石成分以确定为胆固醇结石。

1.3.4 检测各实验组脂质代谢相关基因 mRNA 相对表达量 通过Primer 5.0软件设计脂质代谢相关引物，并通过Blast检测引物的特异性，引物列

见表1，由上海生工生物技术公司合成引物。使用动物组织总RNA提取试剂盒从人肝脏组织中提取总RNA。分别采用分光光度法和琼脂糖凝胶电泳检测RNA浓度、纯度和完整性。采用SYBR Green法进行qRT-PCR检测各组核受体LXR α 、FXR、SREBP2、ER α 、ER β 、GPR30、PPAR γ 基因mRNA的表达。具体步骤如下：反应体系总体积为20 μ L，包括2 \times SuperReal PreMix Plus 10 μ L，50 \times ROX Reference Dye 1 μ L，cDNA模板2 μ L，正反向引物各0.6 μ L和RNase-Free ddH₂O 5.8 μ L。反应条件：预变性95 $^{\circ}$ C 15 min，变性95 $^{\circ}$ C 10 s，退火59 $^{\circ}$ C 20 s，进行40个循环，终末延伸72 $^{\circ}$ C 32 s。ABI7500Fast实时定量PCR仪进行PCR反应，结束后读取Ct值。结果采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算基因的相对表达量。

表 1 相关基因引物序列

Table 1 Primer sequences of the studied genes

基因	登记号	序列
GAPDH	NM_001256799	正向 TGA CGT GGA CAT CCG CAA AG
		反向 CTG GAA GGT GGA CAG CGA GG
LXR α	NM_001130101	正向 CTG TGC CTG ACA TTC CTC CT
		反向 CAT CCT GGC TTC CTC TCT GA
FXR	NM_001206977	正向 GCT TCA GGA GCC ACTT CTT G
		反向 AGC GTG GTG ATG ATT GAA TG
SREBP2	NM_004599	正向 TGG CAG TGG TGG TAG TGG TA
		反向 GTG AAT GAC CGT TGC ACT GA
ER α	NM_000125	正向 ACA AGC GCC AGA GAG ATG AT
		反向 GGC CAG GCT GTT CTT CTT AG
ER β	XM_017021084	正向 AGC ACG GCT CGA TAT ACA TAC C
		反向 TGG ACC ACT AAA GGA GAA AGG T
GPR30	NM_001039966	正向 CAC CAG CAG TAC GTG ATC GG
		反向 CAT CTT CTC GCG GAA GCT GAT
PPAR γ	NM_001330615	正向 ACA GAT TGT CAC GGA ACA CG
		反向 AGT GGC TCA GGA CTC TCT GC

1.4 统计学处理

采用SPSS 19.0软件和Graph Pad Prism 7.04软件进行统计学分析和作图。正态分布计量资料采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示；组间差异比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA)，总体均数有差异的，进一步采用LSD分别检验两组间均数差异；计量变量比较采用 χ^2 检验进行分析；Spearman相关系数分析观测指标间的相关性。所有统计学检验均为双侧检验，以 $P < 0.05$ 作为有统计学差异的标准。

2 结果

2.1 研究对象一般资料

临床资料显示,对照组、HCGD组、SCGD组间性别组成、年龄、体质量指数(BMI)差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)(表2)。

表2 三组患者一般资料比较

Table 2 Comparison of the general data among the three groups of patients

资料	对照组 (n=7)	HCGD组 (n=9)	SCGD组 (n=9)	P
女性[n(%)]	5(71)	5(56)	6(67)	0.789
年龄(岁, $\bar{x}\pm s$)	50 \pm 15	46 \pm 14	48 \pm 11	0.856
BMI(kg/cm ² , $\bar{x}\pm s$)	25.48 \pm 3.26	27.00 \pm 4.77	23.89 \pm 2.33	0.231

2.2 血清脂代谢相关指标

HCGD组、SCGD组血清TC、TG、LDL、ApoA1、ApoB、Lp(a)含量较对照组升高, HDL含量较对照组降低,但各组间差异均无统计学意义(均 $P>0.05$); HCGD组TBA含量较对照组、SCGD组明显降低,差异有统计学意义(均 $P<0.05$)(表3)。

表3 三组血清脂代谢相关指标比较($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of the serum lipids metabolism related variables among the three groups ($\bar{x}\pm s$)

指标	对照组 (n=7)	HCGD组 (n=9)	SCGD组 (n=9)	P
TC(mmol/L)	4.09 \pm 0.77	4.49 \pm 1.02	4.81 \pm 1.00	0.335
TG(mmol/L)	1.40 \pm 0.38	1.69 \pm 0.54	1.53 \pm 0.59	0.592
HDL(mmol/L)	1.02 \pm 0.26	0.99 \pm 0.19	0.99 \pm 0.34	0.974
LDL(mmol/L)	2.29 \pm 0.31	2.76 \pm 0.83	2.86 \pm 0.82	0.277
ApoA1(g/L)	0.91 \pm 0.25	1.12 \pm 0.30	1.04 \pm 0.29	0.371
ApoB(g/L)	0.77 \pm 0.08	0.90 \pm 0.31	0.99 \pm 0.25	0.202
Lp(a)(mg/L)	104.26 \pm 80.17	219.66 \pm 263.41	182.10 \pm 180.26	0.513
TBA(μ mol/L)	4.37 \pm 1.64 ¹⁾	1.72 \pm 1.78	3.88 \pm 1.65 ¹⁾	0.011

注: 1) 与HCGD组比较, $P<0.05$

Note: $P<0.05$ vs. HCGD group

表5 三组SREBP2、ER α/β 、PPAR γ mRNA表达与血清TBA相关性分析

Table 5 Correlation analysis of mRNA expressions of SREBP2, ER α/β and PPAR γ with serum TBA in the three groups

基因	对照组(n=7)		HCGD组(n=9)		SCGD组(n=9)	
	r	P	r	P	r	P
SREBP2	0.690	0.129	-0.351	0.649	-0.285	0.642
ER α	0.776	0.224	-1.000	0.000	-0.148	0.852
ER β	0.437	0.563	-0.989	0.011	-0.057	0.927
PPAR γ	-0.925	0.249	-0.974	0.145	-0.509	0.381

2.3 调节肝脂质代谢 NRs mRNA 的表达

LXR α 和GPR30 mRNA在各组肝组织表达量无统计学差异(均 $P>0.05$);与对照组比较, ER α mRNA在HCGD组和SCGD组表达均明显上调(均 $P<0.01$),且HCGD组ER α mRNA相对表达量高于SCGD组($P<0.05$); FXR mRNA在SCGD组明显上调($P<0.05$),而在HCGD组无统计学差异($P>0.05$); ER β mRNA在HCGD组表达明显上调($P<0.05$),而在SCGD组无统计学差异($P>0.05$); SREBP2和PPAR γ mRNA在HCGD组表达均明显上调(均 $P<0.01$),而SCGD组均无统计学差异(均 $P>0.05$)(表4)。

表4 三组患者肝组织 NRs 基因相对表达量比较($\bar{x}\pm s$)

Table 4 Comparison of mRNA expressions of NRs among the three groups of patients ($\bar{x}\pm s$)

基因	对照组 (n=7)	HCGD组 (n=9)	SCGD组 (n=9)	F	P
LXR α	1.00 \pm 0.45	1.12 \pm 0.23	1.44 \pm 0.80	0.502	0.620
FXR	1.00 \pm 0.60	1.45 \pm 0.55	2.43 \pm 0.55 ¹⁾	5.442	0.032
SREBP2	1.00 \pm 0.36	2.72 \pm 0.53 ^{1,2)}	0.97 \pm 0.20	30.836	0.000
ER α	1.00 \pm 0.68	14.24 \pm 2.98 ^{1,2)}	10.99 \pm 1.88 ¹⁾	46.660	0.000
ER β	1.00 \pm 0.36	24.76 \pm 21.06 ¹⁾	20.82 \pm 11.21	3.400	0.079
GPR30	1.00 \pm 0.52	2.44 \pm 0.72	3.11 \pm 1.46	3.707	0.073
PPAR γ	1.00 \pm 0.46	11.71 \pm 6.90 ^{1,2)}	0.05 \pm 0.03	15.860	0.002

注: 1) 与对照组比较, $P<0.05$; 2) 与SCGD组比较, $P<0.05$

Note: 1) $P<0.05$ vs. control group; 2) $P<0.05$ vs. SCGD group

2.4 肝组织 SREBP2、ER α 、ER β 、PPAR γ mRNA 表达与血清 TBA 的相关性

分析结果显示,仅在HCGD组中ER α 、ER β mRNA表达与患者血清TBA水平呈明显负相关($r=-1.000$, $P=0.000$; $r=-0.989$, $P=0.011$)(表5)。

3 讨论

脂质代谢紊乱是CGD形成过程中肝细胞所发生的重要表型变化^[6, 11-12], 与高脂血症、代谢综合征、动脉粥样硬化、冠心病、肥胖、糖尿病、阿尔兹海默病、肿瘤等多种疾病相关^[13]。NRs不仅调节机体生长发育、细胞分化与增殖、免疫, 而且还参与机体内众多生理, 特别是代谢过程中的基因表达进行调控。与其它转录因子不同, NRs可直接与甾体、胆汁酸等配体结合^[9, 14]。笔者的前期研究^[5]发现GD具有家族聚集性且符合常染色体延迟遗传的特点。NRs在HCGD中的表达尚未见报道。本研究显示, 血清TC、TG、LDL、ApoA1、ApoB、Lp(a)在各组间无显著性差异, 与Jiang等^[15]的研究结果一致。

ER α 和ER β 属于经典的雌激素核受体, 通过调节下游靶基因的转录而发挥“基因型”调节作用^[16]。研究显示小鼠CGD动物模型中, 17 β -雌二醇主要通过雌激素受体(estrogen receptors, ERs)对靶基因转录调控在肝胆胆汁固醇的生物合成以及致石病理生理过程中起着至关重要的作用。此外, 小鼠肝脏的染色质免疫沉淀实验显示, 有43种脂质相关基因是由ER α 转录调控的^[17]。de Bari等^[18]在去卵巢选择性敲除ERs的ER(-/-)雌性小鼠中观察到, 其成石率较ER(+/-)组降低了70%, 提示靶向性的阻断ER α 基因表达, 可预防高脂饮食并且暴露于高水平雌激素的小鼠CGD的形成。本研究发现, HCGD组、SCGD组ER α mRNA表达水平明显高于对照组, 同时HCGD组ER α mRNA表达水平明显高于SCGD组, 提示ER α 基因不仅参与CGD发病, 而且可能在CGD的遗传中起着一定的作用, 具体的分子机制尚需进一步的研究。在本研究中, ER α mRNA在CGD中高表达, 这与大部分文献报道的一致。Wang等^[19]的研究发现CGD的发病与ER α 上调相关, 而与ER β 无关; 这可能与ER α 和ER β 具有不同的转录激活结构域、组织分布特异性以及不同的剪接变异有关。然而, 本研究发现, HCGD组中ER β mRNA表达水平明显高于对照组, 提示ER β 可能参与了高表达ER α 人群CGD遗传性。同时, 本研究还发现, HCGD组血清TBA比对照组、SCGD组显著降低, 并且相关性分析显示, HCGD组

血清TBA与ER α/β mRNA水平相关。GPR30是7次跨膜转运的受体蛋白, 属于G蛋白受体偶联超家族。目前, GPR30在胆石病中作用的研究还较少。有研究^[20]表明, 17 β -雌二醇不仅通过激活ER α 引起去卵巢小鼠胆汁胆固醇和胆盐代谢紊乱, 而且还通过GPR30途径参与胆固醇结晶的形成过程。在本研究中未发现GPR30 mRNA在对照组、HCGD组和SCGD组中显著差异表达。

SREBP2是肝胆固醇从头合成限速酶3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶A还原酶(3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase, HMGCR)的主要转录因子。笔者前期研究^[21]发现CGD患者肝组织HMGCR mRNA表达水平显著高于对照组患者。PPAR γ 调控异常与肥胖、2型糖尿病、动脉粥样硬化等糖脂代谢紊乱疾病相关, 在小鼠胆石模型中被确认为胆石易感基因^[22], 然而, Schafmayer等^[23]在德国人群中却未发现PPAR γ 与胆石易感的相关证据。在本研究中, HCGD组SREBP2、PPAR γ mRNA表达水平高于对照组和SCGD组; 然而, SCGD组SREBP2、PPAR γ mRNA表达水平与对照组间无统计学差异, 提示HCGD和SCGD可能存在不同的发病机制及CGD的遗传异质性; SREBP2、PPAR γ 可能参与了HCGD的发病, 然而SCGD人群CGD的发病可能是由其他与肝脂质代谢或肝胆胆汁酸代谢相关的基因发挥调控作用或者是由同一基因的不同突变类型诱导, 从而掩盖了SREBP2、PPAR γ 的调控效应, 说明CGD发病机制的复杂性。

LXR α 主要在肝脏、脂肪组织和小肠组织中表达^[24], 可调节胆固醇吸收、运输、排泄及转化为胆汁酸的蛋白质的基因表达。Jiang等^[15]发现中国CGD患者(非肥胖型、血脂正常)的核受体LXR α 比对照组的表达水平增加, 主要是通过调节下游靶基因ABCG5/G8实现的。然而, 本研究结果显示, LXR mRNA表达水平在对照组、HCGD组和SCGD组中均无统计学差异, 与杨士勇等^[25]的实验结果一致。FXR也称为胆汁酸受体, Moschetta等^[26]发现与野生型小鼠相比, FXR基因敲除小鼠喂食致石饲料仅1周后即表现出CGD的所有病理表型, 提示FXR的功能与CGD相关。其机制可能是FXR基因敲除后引起与胆汁酸转运相关基因ABCB11以及磷脂转运相关基因ABCB4的表达

下调,使胆汁酸和磷脂的转运受损;与胆汁酸合成的相关基因CYP27A1、CYP7A1和CYP8B1的表达上调引起胆固醇饱和指数增加,最终胆固醇结晶析出。本研究结果发现,SCGD组FXR mRNA表达水平高于对照组和HCGD组,而HCGD组FXR mRNA表达水平与对照组比较无统计学差异,提示FXR可能参与了SCGD的发生。然而杨士勇等^[25]的研究显示,CGD患者肝脏FXR mRNA的表达与胆固醇结石形成无关。这也从另一侧面提示SCGD人群和HCGD人群携带的FXR基因可能存在多态性。

综上所述,核受体基因ER α /ER β 、SREBP2、PPAR γ 与HCGD发病相关,这些基因可能在CGD的遗传中起着一定的作用。其中,SREBP2、PPAR γ 在HCGD发病与SCGD发病中可能存在不同的调控机制。肝脏中“ER α -SREBP2”的调节通路可能参与了HCGD的发生。进一步明确肝组织NRs基因FXR、ER α/β 、SREBP2和PPAR γ 在CGD形成过程中具有重要的作用,今后探寻这些基因间相互作用的重要调控点以及调控的下游靶基因,或可为防治CGD及其他脂质代谢紊乱疾病的药物靶点提供理论基础。肝NRs mRNA在CGD与非胆石肝组织中表达存在差异,而且SCGD和HCGD中也存在不同的基因表达。进一步证明CGD是微效多基因遗传性疾病。本研究仅在mRNA水平探寻与HCGD相关的核受体基因,尚需进一步进行Western blot和免疫组化等从蛋白水平证实NRs蛋白表达情况,以期进一步从转录后或翻译后水平探讨核受体在CGD中基因调控机制。

参考文献

- [1] Lazcano-Ponce EC, Miquel JF, Muñoz N, et al. Epidemiology and molecular pathology of gallbladder cancer[J]. CA Cancer J Clin, 2001, 51(6):349-364.
- [2] Shabanzadeh DM, Sørensen LT, Jørgensen T. Association Between Screen-Detected Gallstone Disease and Cancer in a Cohort Study[J]. Gastroenterology, 2017, 152(8):1965-1974. doi:10.1053/j.gastro.2017.02.013.
- [3] Rebholz C, Krawczyk M, Lammert F. Genetics of gallstone disease[J]. Eur J Clin Invest, 2018, 48(7):e12935. doi:10.1111/eci.12935.
- [4] Sarin SK, Negi VS, Dewan R, et al. High familial prevalence of gallstones in the first-degree relatives of gallstone patients[J]. Hepatology, 1995, 22(1):138-141.
- [5] Cui Y, Li Z, Zhao E, et al. Risk factors in patients with hereditary gallstones in Chinese pedigrees[J]. Med Princ Pract, 2012, 21(5):467-471. doi:10.1159/000337437.
- [6] Wang HH, Portincasa P, Afdhal NH, et al. Lith genes and genetic analysis of cholesterol gallstone formation[J]. Gastroenterol Clin North Am, 2010, 39(2):185-207. doi:10.1016/j.gtc.2010.02.007.
- [7] Ferkingstad E, Oddsson A, Gretarsdottir S, et al. Genome-wide association meta-analysis yields 20 loci associated with gallstone disease[J]. Nat Commun, 2018, 9(1):5101. doi:10.1038/s41467-018-07460-y.
- [8] Cui Y, Li Z, Zhao E, et al. Overexpression of Sterol Carrier Protein 2 in patients with hereditary cholesterol gallstones[J]. BMC Gastroenterol, 2011, 11:10. doi: 10.1186/1471-230X-11-10.
- [9] 程世海, 何金汗. 核受体在胆固醇性胆结石形成过程中的作用[J]. 生理科学进展, 2016, 47(2): 97-102.
Cheng SH, He JH. Actions of nuclear receptors in process of formation cholesterol calculus[J]. Progress in Physiological Sciences, 2016, 47(2):97-102.
- [10] Vázquez MC, Rigotti A, Zanlungo S. Molecular Mechanisms Underlying the Link between Nuclear Receptor Function and Cholesterol Gallstone Formation[J]. J Lipids, 2012, 2012:547643. doi:10.1155/2012/547643.
- [11] Tazuma S, Kanno K, Sugiyama A, et al. Nutritional factors (nutritional aspects) in biliary disorders: bile acid and lipid metabolism in gallstone diseases and pancreaticobiliary maljunction[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2013, 28(Suppl 4):103-107. doi:10.1111/jgh.12241.
- [12] 郭怀斌, 潘毓, 暴雷, 等. 瘦素对血脂及胆汁成分的调节在胆囊胆固醇结石形成中的作用[J]. 中国普通外科杂志, 2018, 27(2):204-209. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2018.02.012.
Guo HB, Pan Y, Bao L, et al. The regulation of leptin on blood lipids and bile components and its effect on gallbladder cholesterol stone formation[J]. Chinese Journal of General Surgery, 2018, 27(2):204-209. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2018.02.012.
- [13] Long J, Zhang CJ, Zhu N, et al. Lipid metabolism and carcinogenesis, cancer development[J]. Am J Cancer Res, 2018, 8(5):778-791.
- [14] Dhiman VK, Bolt MJ, White KP. Nuclear receptors in cancer - uncovering new and evolving roles through genomic analysis[J]. Nat Rev Genet, 2018, 19(3):160-174. doi:10.1038/nrg.2017.102.
- [15] 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. doi:10.1194/jlr.M700295-JLR200.
- [16] Arnal JF, Lenfant F, Metivier R, et al. Membrane and Nuclear Estrogen Receptor Alpha Actions: From Tissue Specificity to Medical Implications[J]. *Physiol Rev*, 2017, 97(3):1045–1087. doi:10.1152/physrev.00024.2016.
- [17] Gao H, Fält S, Sandelin A, et al. Genome-wide identification of estrogen receptor alpha-binding sites in mouse liver[J]. *Mol Endocrinol*, 2008, 22(1):10–22. doi: 10.1210/me.2007–0121.
- [18] de Bari O, Wang HH, Portincasa P, et al. The deletion of the estrogen receptor alpha gene reduces susceptibility to estrogen-induced cholesterol cholelithiasis in female mice[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1852(10 Pt A):2161–2169. doi: 10.1016/j.bbadis.2015.07.020.
- [19] Wang HH, Afdhal NH, Wang DQ. Estrogen receptor alpha, but not beta, plays a major role in 17beta-estradiol-induced murine cholesterol gallstones[J]. *Gastroenterology*, 2004, 127(1):239–249.
- [20] de Bari O, Wang TY, Liu M, et al. Estrogen induces two distinct cholesterol crystallization pathways by activating ERalpha and GPR30 in female mice[J]. *J Lipid Res*, 2015, 56(9):1691–1700. doi:10.1194/jlr.M059121.
- [21] 崔云峰, 崔乃强, 李东华, 等. 家族性胆固醇结石患者肝组织 HMGCR和SCP2mRNA的表达[J]. *世界华人消化杂志*, 2005, 13(9):1115–1118. doi:10.3969/j.issn.1009–3079.2005.09.016.
- Cui YF, Cui NQ, Li DH, et al. Expression of HMGCR, SCP2 mRNA in hereditary cholesterol gallstone patients[J]. *World Chinese Journal of Digestology*, 2005, 13(9):1115–1118. doi:10.3969/j.issn.1009–3079.2005.09.016.
- [22] Wang G, Han T, Wang S, et al. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-gamma Prevents Cholesterol Gallstone Formation in C57bl Mice by Regulating Bile Acid Synthesis and Enterohepatic Circulation[J]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018:7475626. doi:10.1155/2018/7475626.
- [23] Schafmayer C, Völzke H, Buch S, et al. Investigation of the Lith6 candidate genes APOBEC1 and PPARG in human gallstone disease[J]. *Liver Int*, 2007, 27(7):910–919. doi:10.1111/j.1478–3231.2007.01536.x.
- [24] 陈冠阳, 陈子华, 袁伟杰, 等. 肝X受体 α 与蛋白酶体激活因子 28 γ 在胃癌中的表达及其对胃癌细胞生长的影响[J]. *中国普通外科杂志*, 2018, 27(10):1295–1303. doi:10.7659/j.issn.1005–6947.2018.10.012.
- Chen GY, Chen ZH, Yuan WJ, et al. Expressions of liver X receptor α and proteasome activator 28 γ in gastric cancer and their effects on growth of gastric cancer cells[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2018, 27(10):1295–1303. doi:10.7659/j.issn. 1005–6947.2018.10.012.
- [25] 杨士勇, 王建承, 韩天权, 等. 胆固醇结石患者肝脏核受体基因表达的研究[J]. *中国普外基础与临床杂志*, 2008, 15(10):751–755.
- Yang SY, Wang JC, Han TQ, et al. mRNA Expression of Liver Nuclear Receptor Genes in Patients with Cholesterol Gallstone Disease[J]. *Chinese Journal of Bases and Clinics in General Surgery*, 2008, 15(10):751–755.
- [26] Moschetta A, Bookout AL, Mangelsdorf DJ. Prevention of cholesterol gallstone disease by FXR agonists in a mouse model[J]. *Nat Med*, 2004, 10(12):1352–1358. doi:10.1038/nm1138.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式: 李春艳, 赵欣, 樊宁, 等. 核受体基因在家族遗传性胆囊胆固醇结石患者肝组织中表达的变化[J]. *中国普通外科杂志*, 2019, 28(2):166–172. doi:10.7659/j.issn.1005–6947.2019.02.006

Cite this article as: Li CY, Zhao X, Fan N, et al. Changes in expressions of nuclear receptor genes in liver tissue of patients with hereditary cholesterol gallstone[J]. *Chin J Gen Surg*, 2019, 28(2):166–172. doi:10.7659/j.issn.1005–6947.2019.02.006