

· 基础研究 ·

胆囊结石与胆囊收缩素受体(CCK - A)和血管活性肠肽(VIP)的关系研究*

曹月敏 宁殿宾 张万星 谭文科 彭彦辉 郭怀斌 邢 颖

(河北省人民医院肝胆外科, 石家庄 050051)

【摘要】目的 探讨胆囊动力学异常在胆囊结石形成中的作用。方法 随意选择胆囊结石患者 35 例,胆囊息肉样病变患者 25 例,正常对照 30 例。B 超测空腹胆囊容积。放射免疫法测定血浆中血管活性肠肽(VIP)的浓度,逆转录 - 聚合酶链反应(rt - PCR)法测胆囊黏膜中胆囊收缩素(CCK - A)受体表达数目。结果 ①胆囊结石组胆囊空腹体积明显大于其它两组($F = 3.45$, $P = 0.039$);②胆囊结石组胆囊收缩率明显低于其它两组($F = 5.747$, $P = 0.005$);③三组之间餐后 VIP 升高量无明显差异($F = 0.768$, $P = 0.47$);④胆囊结石组胆囊收缩素(CCK - A)受体表达明显低于胆囊息肉样病变组($t' = 4.390$, $P = 0.022$),差异具有显著性。结论 ①胆囊结石组空腹胆囊体积增大与其胆囊结石形成有关;②胆囊结石组胆囊收缩功能下降导致结石形成;③胆囊收缩素(CCK - A)受体表达低,使胆囊收缩功能减弱,促进胆囊结石的形成;④血管活性肠肽(VIP)与胆囊结石的形成无明显关系。

【关键词】胆囊收缩素受体; 血管活性肠肽; 放射免疫分析; 基因表达

中图分类号: R657.4

文献标识: A

文章编号: 1009 - 6604(2005)10 - 0868 - 03

On the relationship between gallstones and cholecystokinin - A receptor and vasoactive intestinal poly - peptide Cao Yuemin , Ning Dianbin , Zhang Wanxing , et al. Department of Hepatobiliary Surgery , Hebei People 's Hospital , Shijiazhuang 050051 , China

【Abstract】Objective To discuss the effect of abnormal biliary dynamics on the formation of cholelithiasis. Methods A total of 35 cases of gallstone (Gallstone Group), 25 cases of gallbladder polypoid lesions (Polypus Group), and 30 normal cases (Control Group) were included in this study. The fasting gallbladder volume was measured with B - ultrasonography , the serum concentration of vasoactive intestinal poly - peptide (VIP) was determined with radioimmunoassay , and the expression of cholecystokinin - A (CCK - A) receptor in the gallbladder mucous membrane was detected with reverse transcriptase polymerase chain reactions (rt - PCR). Results ①The fasting gallbladder volume was significantly greater in the Gallstone Group than in the other two groups ($F = 3.45$, $P = 0.039$). ②The gallbladder contraction rate was significantly lower in the Gallstone Group than in the other two groups ($F = 5.747$, $P = 0.005$). ③The postprandial increases of VIP of the three groups were not of statistical significance ($F = 0.768$, $P = 0.47$). ④Compared with the Polypus Group , the expression of CCK - A receptor in the Gallstone Group was significantly decreased ($t' = 4.390$, $P = 0.022$). Conclusions ①The increase of the fasting gallbladder volume in the Gallstone Group is associated with the formation of gallstones. ②In the Gallstone Group , depressed gallbladder contraction results in the formation of gallstones. ③The decreased expression of CCK - A receptor leads to depressed gallbladder contraction , which facilitates the formation of gallstones. ④Serum VIP is not related to the formation of gallstones.

【Key Words】Cholecystokinin receptor ; Vasoactive intestinal poly - peptide ; Radioimmunoassay ; Gene expression

目前,国内外对胆囊收缩素(cholecystokinin , CCK)与胆囊收缩功能的关系研究较多,而对血管活性肠肽(vasoactive intestinal poly - peptide , VIP)与胆囊收缩功能的关系研究较少。我们应用放射免疫法测定胆囊结石组、胆囊息肉样病变组和正常对照组的血管活性肠肽,逆转录 - 聚合酶链反应检测三组的胆囊收缩素受体表达情况,以进一步研究胆囊结石的成因,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验对象的选择与分组

选择我院 2003 年 3 月 ~ 2004 年 3 月胆囊结石和胆囊息肉样病变患者共 60 例以及健康对照人群 30 例。①胆囊结石组(S):选择无内分泌疾病,胆囊内无合并息肉样病变,结石总体积 < 空腹胆囊 30% ,囊壁厚 < 4 mm 患者,共计 35 例(男 15 例,女

20 例),平均年龄 50 岁。② 胆囊息肉样病变组(P) 选择无内分泌疾病,胆囊内无结石,息肉直径 <1 cm,囊壁厚 <4 mm 患者,共计 25 例(男 12 例,女 13 例),平均年龄 47 岁。(3)对照组(C) :系本院健康职工,共计 30 例(男 15 例,女 15 例),平均年龄 50 岁。胆囊结石组和胆囊息肉样病变组均经术后病理证实,无恶性病变。

1.2 胆囊运动的影像学观察

清晨空腹时 B 超测胆囊容积(先测出长径 L,然后测出长径中点相互垂直之两横径 W 及 H,根据 Dodds^[1]公式 $V=0.52 \times L \times W \times H$ 计算)。进脂餐,脂餐后 15 min、30 min、45 min、60 min、75 min、90 min 分别测胆囊容积,方法同上。以胆囊空腹体积 - 胆囊残留体积(6 次体积中最小值),得出胆囊体积缩小值,以胆囊体积缩小值 ÷ 胆囊空腹体积 × 100% 得出胆囊收缩率(E)。

1.3 标本的采集

分别于清晨空腹和脂餐后 30 min 静脉采血 4 ml 2 ml 注入含有 10% EDTA - Na₂ 30 μL 及抑肽酶 1000 KIU 的离心管中,低温离心,将血浆保存于 -70 °C 冰箱内待测。胆囊结石和胆囊息肉样病变患者术中切除胆囊后,剪取颈部和体部各一块囊壁组织迅速送至 -70 °C 冰箱内保存待测。

1.4 标本的检测

① VIP 的检测 :取出冻存的血浆管,置于自来水中复融,按照说明书操作,采用放射免疫法,以 γ - 放射免疫计数器检测,计算机处理,给出样品浓度。② CCK - A 受体的检测 :目的基因 CCK - A 受体的上游引物为 :5' - GTCTGGGATG GTGACGGGTTC - 3',下游引物为 :5' - TGGAGGAGCA GGGAGGGAGT - 3',预扩增片段为 139bp。内对照 β - action C 预扩增片段为 443bp (上海生物合成公司)。取黏膜组织 1 g,按照说明书操作,经反转录及 PCR 反应后,反应产物 10 μL 于 1.5 % 琼脂糖凝胶电泳分析结果并照相。采用半定量法,扫描光密度值,与内标光密度值比较得出比值。

1.5 统计学分析

所有数据均以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组之间比较采用 t 检验,多组之间比较采用方差分析,组间比较方差齐时用 LSD 法检验,方差不齐时用 Tamhane 法检验。应用 SPSS11.5 统计软件处理。

2 结果

2.1 各组之间空腹胆囊体积的比较

三组之间差异有显著性($F=3.45, P=0.039$)。胆囊结石组空腹胆囊体积(BV)明显高于胆囊息肉样病变组($P=0.031$)和正常对照组($P=0.044$),差异有显著性,而胆囊息肉样病变组和正常对照组

之间差异无显著性($P=0.082$),见表 1。

表 1 各组之间空腹胆囊体积(BV)、胆囊收缩率(E)以及餐前后血管活性肠肽差值(ΔVIP)的比较

	BV	E(%)	ΔVIP	光密度比值
S(n=35)	38.7 ± 16.0 *	56.4 ± 19.8 *	51.0 ± 35.6	0.0116 ± 0.0028
P(n=25)	24.6 ± 9.3	72.6 ± 10.6	72.0 ± 42.7	0.1363 ± 0.0567
C(n=30)	26.3 ± 9.6	63.3 ± 17.1	52.1 ± 11.6	

注 S 为胆囊结石组 P 为胆囊息肉样病变组 C 为正常对照组

* 与其他各组比较,差异有显著性

2.2 各组之间胆囊收缩率的比较

三组之间差异有显著性($F=5.747, P=0.005$)。胆囊结石组胆囊收缩率 E 明显低于胆囊息肉样病变组($P=0.004$)和正常对照组($P=0.014$),差异具有显著性;而胆囊息肉样病变组和正常对照组之间差异无显著性($P=0.44$),见表 1。

2.3 各组之间餐前后 VIP 差值(餐后 - 餐前)的比较

三组之间差异无显著性($F=0.768, P=0.47$),见表 1。

2.4 结石组和息肉组之间胆囊收缩素受体水平的比较

因方差不齐($F=7.874, P=0.031$),采用 t' 检验($t'=4.390, P=0.022$)差异具有显著性,胆囊结石组胆囊壁上 CCK - R 表达明显低于胆囊息肉样病变组(表 1,图 1)。

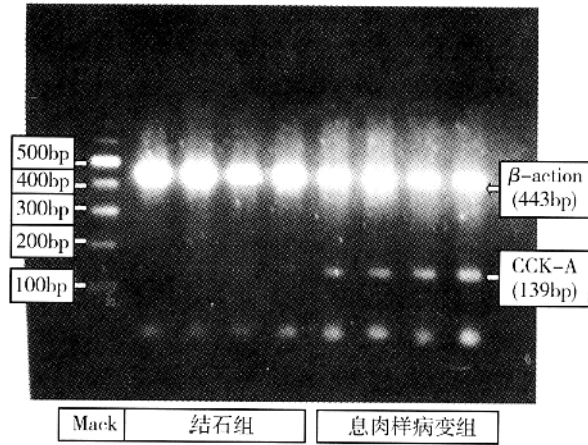


图 1 胆囊收缩素受体 CCK - A 的表达

3 讨论

胆囊结石到目前为止,其发病的机制尚不完全清楚。除了“胆囊内胆胆汁胆固醇(CH)过饱和、成核(nucleation)”理论和“胆固醇磷脂泡(cholesterol - phospholipid vesicles)”理论外,近 10 年来的研究日益重视胆囊在胆固醇结石形成中的病理意义。认为胆石的形成并不完全依赖于胆汁物理化学方面的改

变,胆囊本身尤其是胆囊收缩功能障碍在胆固醇结石的形成中也起着重要的作用。

3.1 空腹胆囊体积与胆囊结石

本研究通过 B 超观察实验空腹胆囊体积变化及胆囊收缩率结果表明,空腹胆囊结石组实验胆囊体积扩大,胆囊收缩率明显低于空腹胆囊息肉样病变组和正常对照组,差异有显著性。说明胆囊体积扩大,胆囊收缩功能降低可能与胆囊平滑肌功能缺陷有关。此影像学变化与 Zhu^[2]的研究及 Festi^[3]的研究结果相一致。胆石患者的空腹胆囊体积增大,收缩率下降,胆汁淤积,为结石产生提供了基础。

3.2 胆囊收缩素受体(CCK-R)与胆囊结石

朱铭岩等^[4]用反转录法测定胆囊结石患者胆囊 CCK-A 受体数明显低于正常对照组,且 CCK-A 受体数与胆囊排空功能损害有关。这些结果从蛋白质水平上说明,CCK-A 受体数的变化是导致胆石病胆囊收缩功能损害的重要原因。本研究结果表明,胆囊结石组的 CCK-A 受体表达明显低于胆囊息肉样病变组,差异有显著性。这与 Upp^[5]的研究结果相一致,提示 CCK-A 受体表达减弱是胆石病患者胆囊收缩功能减弱的重要原因,主要表现为胆汁淤积,胆固醇结晶析出,进而形成结石。朱铭岩等^[4]研究表明,胆囊结石患者 CCK-A 受体基因表达的变化与胆囊排空明显正相关,这与 CCK-A 受体蛋白质水平上的研究结果是一致的,有力地支持了 CCK-A 受体在胆石病胆囊运动功能损害中的重要作用。同时也说明 CCK-A 受体数的减少有其分子病理学基础,CCK-A 受体 mRNA 表达下调,蛋白质合成减少,从而胆囊对 CCK 敏感性降低,胆囊收缩减弱。

3.3 血管活性肠肽(VIP)与胆囊结石

血管活性肠肽(VIP)于 1970 年首先由 Said 和 Mutt 从猪的上段小肠分离出来。VIP 由 28 个氨基酸组成。胆囊产生的 VIP 主要是由胆囊壁内的 VIP 能神经纤维释放的。目前认为:当迷走神经受刺激

后,胆囊壁的 VIP 能神经释放 VIP 增加,并与胆囊上皮的特异性高亲和力受体结合,活化腺苷酸环化酶,使细胞内 cAMP 浓度增加。cAMP 又激活蛋白激酶,使某些蛋白质发生磷酸化,改变了这些蛋白质的功能,从而引起胆囊功能的变化。本研究结果显示,三组之间餐后血浆中 VIP 增加量无明显差异。提示增加的 VIP 量与胆囊结石患者结石形成关系不大,而可能与胆囊壁上的 VIP 受体功能有关^[6,7]。

本实验中血浆胆囊收缩素受体和血管活性肠肽无相关性,说明两者在数量上无相互影响,而是各自作为一个相对独立因素影响着胆囊的运动功能,但其功能是相互拮抗的。而胆囊运动功能除上述因素外,还受其他多种因素的共同影响。

总之,胆囊结石的形成并不是单一因素作用的结果,而是在多种因素(如胆汁成分改变、细菌等)共同作用下形成的。

参考文献

- 1 Dodds WJ, Groh WJ, Darweesh RMA, et al. Sonographic measurement of gallbladder volume. *AJR*, 1985, 145: 1009-1012.
- 2 Zhu J, Han Ta, Chen S, et al. Gallbladder motok function, plasma cholecystokinin and cholecystokinin receptor of gallbladder in cholesterol stone patients. *World J Gastroenterol*, 2005 11(11): 1685-1689.
- 3 Festi D, Frabboni R, Bazzoli F. Gallbladder mobility in cholesterol gallstone disease. *Gastroenterol*, 1990 99: 1779-1782.
- 4 朱铭岩, 王志伟, 陈锦鹏. 胆囊结石患者 CCK 受体 mRNA 测定的临床意义. *肝胆胰外科杂志* 2004 4: 255-257
- 5 Upp JR, Neadon WH, SiCgh P, et al. Correlation of cholecystokinin in receptors with gallbladder contractility in patients with gallstones. *Am Surg*, 1987 205: 641-648.
- 6 周文, 杨进清, 文亚渊, 等. 胆囊结石患者血浆、胆汁及胆囊组织中胃动素和血管活性肠肽的变化和意义. *中国普外基础与临床杂志* 2001 8(3): 171-172.
- 7 高戈, 丁志强, 邹声泉. 血管活性肠肽及其受体与胆囊胆固醇结石患者胆囊排空的相关研究. *临床外科杂志* 2004 12(4): 224-226.

(收稿日期 2005-01-20)

(修回日期 2005-08-19)

· 消 息 ·

《中国妇产科临床杂志》征订启事

《中国妇产科临床杂志》是由教育部主管,北京大学主办的妇产科学专业学术期刊。国内统一刊号 CN11-4967/R, 国际刊号 ISSN1672-1861。本刊以广大妇产科医师为主要读者对象,以临床实用性为主,主要面向临床应用及其相关基础研究,力求及时、准确地反映我国妇产科疾病诊治水平及新技术、新方法和新成果,同时介绍国内外最新进展,促进学术交流,提高妇产科医师的专业理论及临床经验,提高我国妇女疾病的诊治、防及保健水平。本刊设有述评、专家论坛、论著、短篇论著、临床病例讨论、病例报告、综述与讲座、会议(座谈)纪要、读者·作者·编者等栏目。

《中国妇产科临床杂志》为双月刊,大 16 开,每期 80 页,定价 8.00 元,全年 48.00 元。国内外公开发行,全国各地邮局均可订购,邮发代号 80-248,本刊地址:北京西城区西直门南大街 11 号北京大学人民医院内《中国妇产科临床杂志》编辑部。邮编 100044,联系电话 (010) 68792702、68792680, Fax 68792702、68792680, Email zgog@163.net

万方数据

《中国妇产科临床杂志》编辑部