

· 综 述 ·

肠脂肪酸结合蛋白在缺血性肠病中的研究进展

石 卉, 吴本俨

(解放军总医院南楼消化内科, 北京 100853)

【摘 要】 近年来随着社会人口的日益老龄化, 动脉硬化所致的疾病发病率增加, 缺血性肠病的患病率也有所增加。由于临床症状不典型, 缺血性肠病的误诊率、漏诊率较高, 关于缺血性肠病的早期诊断手段尚在研究中。肠脂肪酸结合蛋白富含于小肠粘膜组织中, 具有以下特点: (1) 存在于胞浆中的可溶性蛋白; (2) 具有高组织特异性; (3) 组织含量丰富; (4) 分子质量低, 易于检测。目前肠脂肪酸结合蛋白广泛用于缺血性肠病诊断的研究。本文综述了肠脂肪酸结合蛋白的定义以及作用机制, 并且从动物实验和临床实验两方面总结了肠脂肪酸结合蛋白在缺血性肠病诊断中的研究进展。

【关键词】 缺血性肠病; 肠脂肪酸结合蛋白; 诊断

【中图分类号】 R574

【文献标识码】 A

【DOI】 10.3724/SP.J.1264.2011.00071

Role of intestinal fatty acid binding protein in ischemic bowel disease

SHI Hui, WU Benyan

(Department of Gastric Gastroenterology, Chinese PLA General hospital, Beijing 100853, China)

【Abstract】 With the progressive increase of aging population in recent years, the prevalence of ischemic bowel disease induced by arteriosclerosis has strikingly increased. However, this disorder has high rates of missed diagnosis and misdiagnosis because of its atypical clinical symptoms. Therefore, the early diagnosis of ischemic bowel disease needs further research. Intestinal fatty acid binding protein is abundant in small intestinal tissue and has the following characteristics: (1) a soluble protein in the cytoplasm; (2) high tissue specificity; (3) abundance in the tissue; (4) small molecular weight and easy detection. Currently, intestinal fatty acid binding protein is widely used in the research of diagnosis of ischemic bowel disease. In this paper, we summarized the definition and the mechanism through which intestinal fatty acid binding protein play its roles, and the research progress of its role in the diagnosis of ischemic bowel disease in view of animals experiments and clinical research.

【Key words】 ischemic bowel disease; intestinal fatty acid binding protein; diagnosis

This work was supported by Project of the "Eleventh Five-year Plan" for Medical Science Development of PLA (2006A105)

缺血性肠病是指结肠和(或)小肠因供血不足发生的缺血性肠道损害, 可分为急性肠系膜缺血、慢性肠系膜缺血及缺血性结肠炎。近年来随着社会人口的日益老龄化, 动脉硬化所致的疾病发病率增加, 缺血性肠病的患病率也有所增加^[1]。缺血性肠病临床症状不典型, 误诊率、漏诊率较高, 近些年来研究发现肠脂肪酸结合蛋白(intestinal fatty acid binding protein, I-FABP)可作为早期评价缺血性肠病患者肠粘膜损伤的指标。

1 概 述

1.1 脂肪酸结合蛋白的定义

肠脂肪酸结合蛋白属于细胞质脂肪酸结合蛋白家族成员, 广泛分布于哺乳动物的心肌、小肠、肝、

脂肪、脑和表皮等组织细胞中, 不同的组织有不同的类型。目前已分离出9种类型, 包括心肌型(H-FABP)、肠型(I-FABP)、肝型(L-FABP)、脂肪细胞型(A-FABP)、脑细胞型(B-FABP)、肾型(K-FABP)、骨骼肌型(S-FABP)、牛皮癣相关型(PA-FABP)和表皮型(E-FABP)^[2]。每种类型的FABP都有组织特异性, 细胞内半衰期稳定, 约为2~3 d。这些FABP属于细胞内脂质结合多基因家族。

FABP是根据其首次被发现的部位而命名的, I-FABP是首次从肠道中分离出的, 它占肠道蛋白的2%。I-FABP是由131个氨基酸残基组成的蛋白质, 分子质量为15 ku^[3], 其主体部分由10条逆平行β链组成, 依次形成一个局部扁平的β环。β环的内腔是配体结合区, 该结构决定了其与脂肪酸的结合情况。

收稿日期: 2010-11-11; 修回日期: 2011-04-26

基金项目: 军队“十一五”课题资助(2006A105)

通讯作者: 吴本俨, Tel: 010-66876366, E-mail: benyanwu@vip.sina.com

I-FABP基因结构的改变可能与胰岛素抵抗有关^[4]。随着人们对FABP的深入了解,发现同一种细胞中可表达多种FABP,除I-FABP外,L-FABP在肠道中也有较高浓度的表达,两者具有29%的同源性。I/L-FABP主要表达在绒毛细胞。它们在十二指肠至结肠的全段分布很相似,在空肠浓度最高。在小肠L-FABP含量约为I-FABP的40倍。FABP最基本的功能是促进细胞内长链脂肪酸(C16~20)的转运,其与长链脂肪酸(long chain fatty acid, LCFA)的结合为1:1,但L-FABP是个例外,它不仅能结合脂肪酸,而且还能结合其他酰基配体,与不饱和脂肪酸的结合力是I-FABP的5倍^[5]。

1.2 脂肪酸结合蛋白的作用机制

脂肪酸(fatty acid, FA)通过 β -氧化分解产生ATP,酯化为甘油和固醇。由于LCFA功能的多样性,包括组成膜的磷脂双分子层、提供代谢底物、作为信号分子的前体物质,并介导基因表达,还因其水溶性相对低,故此LCFA在细胞间和细胞内的转运有特殊的机制。目前,LCFA转运进入细胞有两种机制:一是FA经被动扩散穿过细胞膜;另一种是在蛋白质的参与下,完成FA的跨膜转运^[6]。FABP的分离成功,对FA的被动扩散机制造成了冲击。研究发现,FABP在细胞中的过度表达,可显著增加FA的摄取率。其原因可能在于FABP可增加LCFA从细胞膜上解离,增加LCFA的水溶性及其膜分配系数,并增加LCFA转运至受体膜的速率^[7]。FABP还有调节基因表达的作用,通过介导FA转导信号至过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferator activated receptor, PPAR),并对有高浓度LCFA的心肌起保护作用^[8]。尤其在缺血过程中,这种保护作用更明显。Glatz等^[2]发现,FA可在膜FABP的作用下进入细胞质内,然后与细胞内的FABP结合转运至细胞核,再与核内的FA活化受体(PPAR)结合,活化下游核因子信号转导途径。细胞内FABP的表达在转录水平即受到调节,从而可调节脂质代谢。FA从脂蛋白、膜、脂滴被脂酶活化后释放,或经膜转运体CD36转运至细胞内^[9]。FABP在炎症和代谢信号通路上的调控作用表现在:(1)通过与酶的直接作用,介导脂滴的产生、分配和耦合信号至其生物学靶点;(2)传递配体进入细胞核;(3)阻断脂质中间产物如FA、类花生酸物质和氧化固醇的产生。潜在的、脂质敏感的、与炎症反应和胰岛素信号传递相关的靶点包括应激活化的激酶,如c-Jun氨基末端激酶、核因子- κ B抑制蛋白激酶/核因子- κ B、核激素受体PPAR- γ 和肝X核受体。这个模型说明FABP控制炎症细胞和代谢细胞(如巨噬细胞和脂肪细胞)中的脂质平衡,以

改变代谢综合征中的组成成分^[10]。

Kinoshita等^[11]研究发现,短链脂肪酸可降低细胞间的通透性。这一过程是通过增强PPAR- γ 的活性完成的。在PPAR- γ 增效剂存在的情况下,Caco-2细胞的紧密连接蛋白ZO-1的表达随着时间的推移而增强。因此,PPAR- γ 与肠细胞间通透性的关系十分密切,间接说明了FABP与肠黏膜通透性的关系密切。通过监测FABP变化,能早期诊断肠黏膜通透性改变,并对改善肠黏膜通透性有指导意义。PPAR是核因子受体超家族成员,目前已分离出 α 、 β 和 γ 三种亚型。PPAR- γ 是脂肪细胞分化和脂质代谢的关键调控因子,能调节血糖。最近又发现,PPAR- γ 在缺血-再灌注损伤和重症急性胰腺炎模型中,有抑制炎症反应的作用。PPAR- γ 活化后下调肿瘤坏死因子- α 和细胞间黏附分子-1(可能是通过抑制核因子- κ B的作用),用PPAR- γ 激动剂预处理,可明显地减少中性粒细胞的浸润。PPAR- γ 的内源性配体包括长链多不饱和脂肪酸和二十二碳六烯酸和二十二碳五烯酸。而FA必须经FABP转运至细胞内,然后再与PPAR结合,激活PPAR- γ ,减少下游转录因子,如核因子- κ B、激活蛋白-1等,进而减少炎症因子、黏附分子的产生,最终减轻炎症反应。因此,FABP在n-3多不饱和脂肪酸的抗炎作用中可能起到中介作用^[12-16]。Pelsers等^[17]研究表明,L-FABP血浆浓度与年龄和性别无关,但可能有昼夜节律,夜间水平最高。这个昼夜节律的原因可能是FABP主要在肾清除,而肾小球滤过率在夜间降低。

2 肠脂肪酸结合蛋白在缺血性肠病诊断中的研究进展

2.1 动物实验研究

正常情况下,周围血管中检测不到I-FABP,但当遭受到缺氧、缺血及再灌注损害时,肠上皮细胞通透性增加,I/L-FABP释出,通过毛细血管及毛细淋巴管进入血循环,可在周围血中检测出^[18]。临床研究表明IFABP升高时间早,缺血15 min再灌注2 h达峰值,并维持较高水平^[19]。小肠缺血早期,血清和尿液中I/L-FABP即见增高,切除缺血坏死小肠后,I/L-FABP很快恢复正常,I/L-FABP诊断小肠缺血性损害敏感度达到100%,高于肠黏膜损害酶学指标乳酸脱氢酶、肌酸激酶等的敏感度,血清I-FABP对于肠缺血性损害有重要提示作用和鉴别诊断价值^[20]。

Sonnino等^[21]用ELISA法证实,血清I-FABP是一种对于肠黏膜损伤敏感且特异的生化指标,并可用于同种同基因肠移植的移植体或全身炎症反应综合征的监测。I/L-FABP不仅在肠损伤后外周血中可被检出,而且与肠缺血的程度有很好的相关性,但

未阐明其与预后是否相关。由于黏膜层对缺血最为敏感,在肠缺血的早期(<2 h)或炎症局限黏膜下层时,黏膜层就已有改变。因此,黏膜层酶的释放往往较肌层的酶早。而隐窝细胞仍完整时,若得到及时治疗,肠黏膜功能恢复很快。因此,I/L-FABP对于肠缺血的早期诊断和预后具有重要意义。有研究表明^[22]:由于I-FABP更多的位于绒毛的顶端,在缺血早期比L-FABP更早释放入血达到有效浓度。赵海东等^[23]用大鼠制作肠缺血模型,测定血清中的I-FABP含量,并与乳酸脱氢酶、肌酸激酶及其同工酶BB的含量进行比较,发现肠缺血45 min后血清I-FABP含量最高。刘牧林等应用大鼠缺血-再灌注模型,分别于肠缺血15 min,肠缺血45 min,肠缺血45 min再灌注2 h,肠缺血45 min再灌注6 h测定I-FABP浓度;发现缺血45 min I-FABP达峰值,而且I-FABP浓度与肠组织黏膜损伤程度呈正相关^[20]。

2.2 临床实验研究

近年来,关于I-FABP的临床实验广泛开展。2009年Derikx等收集了健康人胃肠道各部分组织标本,分别检测各组织中I-FABP浓度,结果发现空肠中I-FABP浓度最高,并且选取了13名乳糜泻患者,均有十二指肠黏膜萎缩的病理学证据,检测其血清I-FABP浓度,结果发现I-FABP浓度明显高于健康人,这说明I-FABP对人胃肠道损伤具有评估作用^[24]。Rahman等^[25]研究发现,急性胰腺炎患者24 h尿中的I/L-FABP含量明显升高,且升高程度与疾病严重程度呈正相关,同时发现I/L-FABP与肠黏膜通透性亦呈正相关。Mensink等^[26]于2009年收治了49名疑似慢性缺血性肠病的患者,所有患者均接受腹部血管超声、腹部血管造影以及小肠张力测定(tonometry, TM),分别于抽取TM前24h、TM后1, 2, 4h患者血清,检测I-FABP、D-二聚体以及脂多糖的浓度,并抽取6名正常患者血清作为空白对照,结果发现确诊慢性缺血性肠病的患者I-FABP浓度明显高于空白组,而且与TM测定的小肠内pH值具有明显相关性。而D-二聚体和脂多糖则没有类似差异。Kanda等^[27]选取96名患者,其中包括61名急性腹痛患者以及35名健康志愿者。61名急性患者中随后有13名确诊为缺血性肠病(其余病因为单纯肠梗阻、消化性溃疡、急性阑尾炎、急性肠炎、结肠憩室炎)。抽取所有患者血液标本,应用酶联免疫法测定血清中I-FABP含量,结果发现,正常人血清I-FABP<65 μg/L,急性腹痛的患者血清I-FABP在20~87 μg/L,与正常值无明显差异,而缺血性肠病患者血清I-FABP平均值为265.8 μg/L(20~1496 μg/L),明显高于正常值,研究结果表明I-FABP对于缺血性肠病具有良好的敏感

性。Cronk等^[28]收治了21例临床诊断为小肠梗阻的患者,年龄为18岁以上,其诊断标准为至少有下列4种体征或症状:腹胀、腹部压痛、呕吐、顽固性便秘、小肠气液平面(腹平片)、小肠跳跃征。采集患者血清及尿液标本(术前以及术后),采用酶联免疫法分析标本中I-FABP含量,尿液中I-FABP阈值>1000 ng/L,血清中I-FABP阈值>100 ng/L。患者分为术后小肠坏死组,术后小肠无坏死组,内科治疗组和健康对照组。研究结果发现,14名患者接受剖腹探查术,3名患者出现小肠坏死(14%),且血I-FABP及尿I-FABP明显高于正常值,在18名未出现小肠坏死的患者中,3名患者尿I-FABP阳性,4名患者血I-FABP阳性。

国内有综述总结,I-FABP具备作为缺血性肠病早期诊断指标的条件:(1)I-FABP仅存在于胃肠道中,具有较好的器官特异性。同时具有特异的抗原决定簇,可通过免疫学方法与其他组织产生的FABP区分;(2)I-FABP主要位于小肠黏膜层的肠上皮细胞液中,对肠缺血再灌注引发的损害非常敏感。而且I-FABP的相对分子质量小,当肠缺血早期,仅有黏膜上皮细胞受累时,血清I-FABP含量就会明显升高,敏感性好;(3)I-FABP占细胞液蛋白质的1%~2%,含量丰富,且为可溶性蛋白,使之很容易用酶联免疫法直接检测;(4)大多数血清酶是热不稳定酶,测定时需要保持酶活性,而血清I/L-FABP室温24h相对稳定,可保持总活性的95%,便于检测^[29]。

但是I-FABP对于诊断缺血性肠病缺乏特异性。近年来研究发现I-FABP与IL-6相关,de Haan等^[30]采集了96名腹部创伤患者的血清标本,采用休克指数评定入选患者的病情程度,测定I-FABP含量,通过与健康患者对比发现,腹部创伤患者I-FABP含量(41~84 242 ng/L)明显高于正常,研究还发现I-FABP与肠道炎症反应(白细胞介素-6、C反应蛋白浓度)呈正相关,而且出现休克的患者I-FABP异常升高(>1000 ng/L)。另有研究表明^[31]:I-FABP浓度的变化对于溃疡性结肠炎复发的预测有一定意义。IL-6是否是导致I-FABP升高的直接因素,目前还没有研究证实。

综上所述,I-FABP对于缺血性肠病的诊断具备良好的敏感性,在缺血性肠病早期,即肠黏膜炎症时I-FABP即可升高,而且能够评估肠黏膜细胞损害程度,对于疾病进展和预后有一定价值。但是I-FABP对于缺血性肠病的诊断缺乏特异性,不同程度的肠黏膜炎症均可引起I-FABP升高,因此I-FABP仅能作为评估肠黏膜损伤的指标,而不能用于缺血性肠病的诊断。此外,目前I-FABP的检测主

要是酶联免疫法,该方法较为繁琐,且费用较高,暂时还不能普及临床。

【参考文献】

- [1] Peppersack T. Colopathies of the old adults. *Acta Gastroenterol Belg*[J]. 2006, 69(3): 287-295.
- [2] Glatz J FC, van der, Vusse GJ. Cellular fatty acid-binding proteins: their function and physiological significance[J]. *Prog Lipid Res*, 1996, 35(3): 243-282.
- [3] Liu RZ, Denovan-Wright EM, Wright JM. Structure, mRNA expression and linkage mapping of the brain-type fatty acid-binding protein gene(FABP7)from zebrafish(*Danio rerio*)[J]. *Eur J Biochem*, 2003, 270(4): 715-725.
- [4] Baier IJ, Hanson RL. Genetic studies of the etiology of type 2 diabetes in Pima Indians: hunting for pieces to a complicated puzzle[J]. *Diabetes*, 2004, 53(5): 1181-1186.
- [5] Hsu KT, Storch J. Fatty acid transfer from liver and intestinal fatty acid-binding proteins to membranes occurs by different mechanisms[J]. *J Biol Chem*, 1996, 271(23): 13317-13323.
- [6] Glatz JF, Storch J. Unravelling the significance of cellular fatty acid-binding proteins[J]. *Curr Opin Lipidol*, 2001, 12(3): 267-274.
- [7] McArthur MJ, Atshaves BP, Frolov A, *et al.* Cellular uptake and intracellular trafficking of long chain fatty acids[J]. *J Lipid Res*, 1999, 40(8): 1371-1383.
- [8] Pelsers MM, Hermens WT, Glatz JF. Fatty acid-binding proteins as plasma markers of tissue injury[J]. *Clin Chim Acta*, 2005, 352(1-2): 15-35.
- [9] Storch J, Thumser AE. The fatty acid transport function of fatty acid-binding proteins[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1486(1): 28-44.
- [10] Makowski L, Hotamisligil GS. Fatty acid binding proteins The evolutionary crossroads of inflammatory and metabolic responses[J]. *J Nutr*, 2004, 134(9): 2464S-2468S.
- [11] Kinoshita M, Suzuki Y, Saito Y. Butyrate reduces colonic paracellular permeability by enhancing PPAR γ activation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 293(2): 827-831.
- [12] Michalik L, Wahli W. Involvement of PPAR nuclear receptors in tissue injury and wound repair[J]. *J Clin Invest*, 2006, 116(3): 598-606.
- [13] Abdelrahman M, Sivarajah A, Thiemermann C. Beneficial effects of PPAR- γ ligands in ischemia/reperfusion injury, inflammation and shock[J]. *Cardiovasc Res*, 2005, 65(4): 772-781.
- [14] Culman J, Zhao Y, Gohlke P, *et al.* PPAR- γ : therapeutic target for ischemic stroke[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2007, 28(5): 244-249.
- [15] Collino M, Aragno M, Mastrocola R, *et al.* Modulation of the oxidative stress and inflammatory response by PPAR- γ agonists in the hippocampus of rats exposed to cerebral ischemia/reperfusion[J]. *Eur J Pharmacol*, 2006, 530(1-2): 70-80.
- [16] Rollins MD, Sudarshan S, Firpo MA, *et al.* Anti-inflammatory effects of PPAR- γ agonists directly correlate with PPAR- γ expression during acute pancreatitis[J]. *J Gastrointest Surg*, 2006, 10(8): 1120-1130.
- [17] Pelsers MM, Namiot Z, Kisielewski W, *et al.* Intestinal type and liver type fatty acid binding protein in the intestine. Tissue distribution and clinical utility[J]. *Clin Biochem*, 2003, 36(7): 529-535.
- [18] Levy E, Ménard D, Delvin E, *et al.* Localization, function and regulation of the two intestinal fatty acid-binding protein types[J]. *Histochem Cell Biol*, 2009, 132(3): 351-367.
- [19] Boord JB, Fazio S, Linton MF. Cytoplasmic fatty acid-binding proteins: emerging roles in metabolism and atherosclerosis[J]. *Curr Opin Lipidol*, 2002, 13(2): 141-147.
- [20] 刘牧林, 张 嘉, 刘瑞林, 等. 肠脂肪酸结合蛋白和 D-乳酸早期诊断肠缺血-再灌注损害的实验研究[J]. *中华创伤杂志*, 2006, 22(10): 767-770.
- [21] Sonnino R, Ereso G, Arcuni J, *et al.* Human intestinal fatty acid binding protein in peritoneal fluid is a marker of intestinal ischemia[J]. *Transplant Proc*, 2000, 32(6): 1280.
- [22] Guttmann F, Borchers T, Wolfrum C, *et al.* Plasma concentration of intestinal- and liver-FABP in neonates suffering from necrotizing enterocolitis and in healthy preterm neonates[J]. *Mol Cell Biochem*, 2002, 239(1-2): 227-234.
- [23] 赵海东, 田晓峰, 郭 健, 等. 肠型脂肪酸结合蛋白对肠缺血早期诊断的意义[J]. *中国普通外科杂志*, 2004, 13(7): 513-516.
- [24] Derikx JP, Vreugdenhil AC, Van den Neucker AM, *et al.* A pilot study on the noninvasive evaluation of intestinal damage in celiac disease using I-FABP and L-FABP[J]. *J Clin Gastroenterol*, 2009, 43(8): 727-733.
- [25] Rahman SH, Ammori BJ, Holmfield J, *et al.* Intestinal hypoperfusion contributes to gut barrier failure in severe acute pancreatitis[J]. *J Gastrointest Surg*, 2003, 7(1): 26-36.
- [26] Mensink PB, Hol L, Borghuis-Koertshuis N, *et al.* Transient postprandial ischemia is associated with increased intestinal fatty acid binding protein in patients with chronic gastrointestinal ischemia[J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2009, 21(3): 278-282.
- [27] Kanda T, Fujii H, Tani T, *et al.* Intestinal fatty acid-binding protein is a useful diagnostic marker for mesenteric infarction in humans[J]. *Gastroenterology*, 1996, 110(2): 339-343.
- [28] Cronk DR, Houseworth TP, Cuadrado DG, *et al.* Intestinal fatty acid binding protein for the detection of strangulated mechanical small bowel obstruction[J]. *Current surgery*, 2006, 63(5): 322-325.
- [29] Wodzing KW, Pelsers MM, Vander Vusse GJ, *et al.* One-step enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA)for plasma fatty acid-binding protein[J]. *Ann Clin Biochem*, 1997, 34(Pt 3): 263-268.
- [30] de Haan JJ, Lubbers T, Derikx JP, *et al.* Rapid development of intestinal cell damage following severe trauma: a prospective observation cohort study[J]. *Crit care*, 2009, 13(3): R86.
- [31] Wiercinska-Drapalo A, Jaroszewicz J, Siwak E, *et al.* Intestinal fatty acid binding protein as a possible biomarker of ileitis in patients with ulcerative colitis[J]. *Regul pept*, 2008, 147(1-3): 25-28.

(编辑: 周宇红)