

## 综述

DOI: 10.3969/j.issn.0253-9802.2023.06.004

## 代谢组学在原发性胆汁性胆管炎中的研究进展

步金洋 喻晓 缪虹雨 潘洁露 张海燕 邢练军

**【摘要】** 原发性胆汁性胆管炎(PBC)是一种病因与发病机制尚未明确的疾病。近几年,通过研究PBC患者代谢物质的改变来寻找其潜在的发病机制和治疗靶点已成为热门。代谢组学通过质谱分析和核磁共振技术对PBC患者的代谢谱进行全面的分析,可以为PBC的诊断和治疗提供帮助。该文综述了近年来代谢组学在PBC中的研究进展,以期为PBC的临床诊断和治疗提供新的思路。

**【关键词】** 原发性胆汁性胆管炎;代谢组学;发病机制;治疗靶点

**Research progress on metabonomics in primary biliary cholangitis** Bu Jinyang, Yu Xiao, Miao Hongyu, Pan Jielu, Zhang Haiyan, Xing Lianjun. The Second Department of Digestive, Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China

Corresponding author, Xing Lianjun, E-mail: xingdoctor@126.com

**【Abstract】** Primary biliary cholangitis (PBC) is a disease with unclear etiology and pathogenesis. In recent years, it has become a hot topic to identify the potential pathogenesis and therapeutic targets of PBC by studying the changes of metabolic substances in PBC patients. Metabonomics are employed to comprehensively analyze the metabolic spectrum of PBC patients through mass spectrometry and nuclear magnetic resonance technology, providing assistance for the diagnosis and treatment of PBC. In this article, recent research progress upon metabonomics in PBC was reviewed, aiming to provide new ideas for clinical diagnosis and treatment of PBC.

**【Key words】** Primary biliary cholangitis; Metabonomics; Pathogenesis; Therapeutic targets

原发性胆汁性胆管炎(PBC)是一种以非化脓性破坏性小胆管炎为病理特征的慢性自身免疫性疾病。临床表现以乏力和皮肤瘙痒最为常见,中老年女性为主要患病人群。熊去氧胆酸(UDCA)是治疗该病的首选药物,但对UDCA应答不佳尤其是已出现肝硬化失代偿期的患者,仍缺乏安全有效的二线治疗药物。PBC的病因及发病机制尚未明确,主要认为与遗传和(或)环境所致的免疫紊乱有关。目前研究PBC主要的方向和难点是探索触发肝内胆管上皮的免疫应答机制和新的治疗靶点<sup>[1]</sup>。代谢组学通过检测刺激前后代谢物的动态变化来反映机体生理和病理状态的代谢改变,有利于对疾病的发病机制进行整体动态分析,从而找到新的诊断标志物和药物靶点。肝脏作为机体重要的代谢器官,承担了大部分物质的合成、分解和转化过程,应用代谢组学研究肝脏疾病具有一定的物质基础。因此,本文就近年来代谢组

学在PBC中的研究进行综述,为其诊断与治疗提供新的研究方向。

### 一、代谢组学概述

代谢组学是对生物细胞、组织和体液中相对分子质量小于1 500的小分子代谢物的分析,可作为发现生物标志物的工具。与基因组学、转录组学和蛋白质组学相比,其具有操作相对简单,检测物相对较少的优点。根据研究策略,代谢组学分为非靶向代谢组学和靶向代谢组学。非靶向代谢组学可测量得到更全面的代谢物,用于发现与研究背景相关的新代谢标志物。靶向代谢组学是对特定代谢物进行量化,灵敏度更高。代谢组学主要获取数据的方法是核磁共振(NMR)和质谱学(MS)系统[包括液相色谱(LC)-MS、气相色谱(GC)-MS、超高效液相色谱(UHPLC)-MS等]<sup>[2]</sup>。

## 二、代谢组学在 PBC 中的应用

目前发现与 PBC 相关的代谢标志物主要涉及胆汁酸代谢、脂质代谢、氨基酸代谢和葡萄糖代谢。主要的研究样本包括血液、尿液和粪便，其中尿液和粪便样本中因含有较多的细菌、真菌等微生物，故多与微生物组学联合研究。

### 1. 血液和组织样本

#### 1.1 胆汁酸代谢

胆汁酸的合成、转运和代谢失调是几乎所有人类肝病的常见病因，不同病因的慢性肝病患者中胆汁酸谱的组成也是不同的<sup>[3]</sup>。Walker 等<sup>[4]</sup>通过通路富集分析发现，与原发硬化性胆管炎（PSC）和 PBC 有关的代谢物主要集中在胆汁酸的生物合成通路上。Lian 等（2015 年）采用 UHPLC-MS 技术发现，介导胆汁酸代谢紊乱的途径可导致自身免疫性肝病（AILD）。Chen 等<sup>[5]</sup>采用 UHPLC-MS 进行血清代谢物分析发现，单纯 PBC 组血清中总胆汁酸谱（BAs）[胆酸、牛磺胆酸、甘胆酸、鹅去氧胆酸（CDCA）、牛磺鹅去氧胆酸和甘鹅脱氧胆酸]明显高于健康对照组，而总次级胆汁酸谱[脱氧胆酸、牛磺酸脱氧胆酸（TDCA）、甘氨酸脱氧胆酸（GDCA）、石胆酸和牛磺酸胆石酸]所占比例较低。Yang 等（2016 年）发现 BAs 通过调节肠道微生物组和特定分子的动态平衡，高度参与 PBC 的发生、发展，并在诱导肝星状细胞方面发挥重要作用。这提示调节 BAs 的变化有可能作为一种新的治疗方法来对抗、甚至逆转 PBC 的不可逆性肝硬化。

胆酸和 CDCA 是人体肝脏中合成的主要初级胆汁酸，经过酶修饰成为次级胆汁酸。CDCA 和胆酸在肠中经过脱羟基，形成的石胆酸和脱氧胆酸具有诱导肝细胞癌变、调节宿主代谢和免疫反应的作用。石胆酸是一羟胆酸，疏水性强，较其他胆酸毒性较强，可被用作诱发小鼠肝内胆淤积的诱导剂。脱氧胆酸和石胆酸及其衍生物是循环胆汁酸池的主要成分，该池的大小和组成是治疗 PBC 和非酒精性脂肪肝的靶点<sup>[6]</sup>。

GSK2330672 是回肠胆汁酸转运蛋白抑制剂，可以阻断胆汁酸的肠肝循环，从而缓解胆汁淤积。2017 年一项关于 GSK2330672 治疗 PBC 的 II 期临床实验，证明了其可以降低 PBC 患者的瘙痒严重程度，且可使血清总胆汁酸下降 50%，有望成为治疗 PBC 的潜在药物。

由此可见，对胆汁酸的代谢图谱和代谢通路的

深入探索仍是未来研究 PBC 诊断和治疗的热点方向。

#### 1.2 脂质代谢

Lian 等（2015 年）研究发现，PBC 患者有明显的脂质代谢紊乱，其中血清游离脂肪酸、磷脂酰胆碱、溶血卵磷脂和鞘磷脂水平明显较正常人和自身免疫性肝炎（AIH）患者降低。Li 等<sup>[7]</sup>建立的 4 种胆汁淤积小鼠模型中均观察到神经酰胺和乙酰肉碱的蓄积。神经酰胺是脂毒性的关键分子，通过增加线粒体外膜通透性，减少线粒体呼吸，导致细胞凋亡<sup>[8]</sup>。Walker 等<sup>[4]</sup>用 GC-MS 分析技术发现 5-脂氧合酶信号转导通路可能与 PSC 和 PBC 的发病机制有关。5-脂氧合酶可以通过两种方式调节细胞死亡，一种是炎症，另一种是脂质过氧化。其主要通过刺激白三烯代谢产生促炎细胞因子和二十碳五烯酸的抗炎代谢物来调节炎症和免疫反应。

#### 1.3 氨基酸和葡萄糖代谢

Vignoli 等<sup>[9]</sup>发现，PBC 患者血清代谢谱中丙酮酸、柠檬酸、谷氨酸、谷氨酰胺、丝氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸和乳酸水平较健康人升高。丙酮酸是碳水化合物、蛋白质和脂肪代谢的中间代谢物，由丙酮酸脱氢酶（PDC-E2）调节。严重的肝脏氧化损伤会导致抗线粒体抗体（AMA）的产生。AMA 可以识别 PDC-E2 亚基的硫辛酰结构域，但 E2 亚基可以被化学修饰并引发耐受性破坏，这有助于对 PBC 发病机制的研究。Bell 等（2015 年）发现，PBC 患者色氨酸衍生的代谢物犬尿氨酸升高，脂加氧酶衍生的类花生酸 12-HETE 降低。大部分色氨酸在肝脏中被色氨酸双加氧酶降解，但小部分也可被促炎细胞因子刺激的高度诱导酶吡啶胺 2, 3-双加氧酶代谢，这与 PBC 的炎症特征有关。Hao 等（2017 年）发现 PBC 患者代谢途径的改变与葡萄糖、脂肪酸和氨基酸代谢产物有关，并根据这一发现设计了一个包含 4 种代谢物（4-羟基脯氨酸、3-羟基异戊酸、柠康酸和丙酮酸）的诊断模型，可以有效地鉴别 PBC、AIH 和乙型肝炎病毒引起的肝硬化（HBC）。马振华<sup>[10]</sup>采用 UHPLC-MS 技术对 54 例 PBC 患者、26 例 AIH 患者和 39 例健康对照者的血清样品进行代谢组学分析发现，PBC 与 AIH 患者在苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸的生物合成上存在差异代谢物质。这为 PBC 的鉴别诊断提供了研究方向。

以上研究表明，PBC 涉及多种物质的代谢改变，进一步研究相关代谢物的代谢通路对研究

PBC的发病机制、诊断、鉴别诊断和治疗具有重要意义。

## 2. 尿液样本

相比于血清样本代谢组学,尿液样本代谢组学具有样本收集简便、无创等优点。钱婷婷等<sup>[11]</sup>研究发现,在肝损伤代谢组学模型研究中,以尿液为样本的代谢组学疗效评价灵敏度明显高于血清学检测。

PBC是遗传易感性和环境因素相互作用引起的多因素疾病,细菌感染是PBC的主要环境因素。日本的一项流行病学研究表明,儿童时期环境卫生差可能是日本PBC发展的危险因素<sup>[12]</sup>。且已有多项研究表明尿路感染(UTI)与PBC的发生密切相关,在大多数UTI患者中,大肠杆菌是主要的病原体。Yang等<sup>[13]</sup>发现大肠杆菌会引发针对大肠杆菌丙酮酸脱氢酶复合物的特异性抗体,从而导致决定因子扩散和针对人丙酮酸脱氢酶复合物的经典自身抗体,并认为这是导致PBC发展的第一步。此外,中老年女性是PBC的主要患病人群,此类人群也更易发生尿路感染。对单纯UTI患者与PBC合并UTI患者的尿液差异代谢物分析,也将有利于PBC尿液代谢组学的研究。

除细菌等微生物外,人体尿液还含有许多可溶性元素。有研究发现,PBC患者尿液中葫芦巴碱和马尿酸水平低于健康人<sup>[9]</sup>。马尿酸是最丰富的微生物-宿主共代谢产物之一,由甘氨酸和微生物苯甲酸酯在肝脏和肾脏中通过第2阶段解毒结合产生,高浓度尿液马尿酸盐是代谢健康的一般标志<sup>[14]</sup>。Lv等(2016年)发现PBC患者的尿液代谢物中,与L-色氨酸代谢途径相关的代谢物发生了明显变化,且GDCA和甘鹅脱氧胆酸浓度增加。已有研究表明,部分细菌可以将色氨酸转化为吲哚和吲哚衍生物,包括吲哚乙醇、吲哚丙烯酸、吲哚乙酸等。Schirmer等(2016年)发现负责将色氨酸转化为吲哚乙醇的细菌基因与IFN- $\gamma$ 的产生之间存在负相关性,这表明吲哚乙醇具有抗炎特性。Wlodarska等(2017年)发现吲哚丙烯酸可通过激活NRF2-ARE途径促进小鼠的抗氧化和抗炎免疫应答。Krishnan等(2018年)发现吲哚乙酸可以减弱小鼠肝细胞培养中的促炎细胞因子反应。这些研究表明色氨酸分解代谢物可能通过影响人体的炎症反应和氧化应激反应,进而影响PBC的发生和发展。针对PBC的治疗也可从细菌

与色氨酸代谢的相互作用入手。现有对PBC尿液代谢组学的研究主要集中在丙酮酸和氨基酸的代谢方面。迄今为止,已在尿液中检测到超过2600种化合物,相比于其他代谢组学涉及的化合物相对较少。我们仍需对PBC患者尿液中其他物质,尤其是细菌代谢物的更多样本的研究。

## 3. 粪便样本

粪便样本的代谢组学的研究主要是针对粪便中的肠道微生物菌群代谢物的研究。已有研究表明,重建、优化肠道微生态,抑制、阻断微生态失衡,在防治非酒精性脂肪性肝病方面有重大意义<sup>[15]</sup>。这同样适用于PBC的防治。最新研究发现,肠道微生物代谢物,如胆汁酸和色氨酸代谢物,影响宿主代谢和免疫系统,这可能间接影响肝脏损伤和再生<sup>[16]</sup>。

### 3.1 胆汁酸代谢

与血清胆汁酸谱相似,未经治疗的PBC患者粪便中也发现了总的初级胆汁酸谱升高和总的次级胆汁酸谱降低<sup>[5]</sup>。肠道微生物群依赖性次级胆汁酸的产生可以通过胆汁酸受体TGR5依赖性调节胆汁酸以及T<sub>3</sub>和肠胰高血糖素样肽-1的产生来减少炎症反应并促进肝脏再生<sup>[17]</sup>。2013年一项体内实验证明了肠道微生物群会导致胆汁酸池的疏水性增加,这可能导致胆汁淤积性肝损伤。

### 3.2 短链脂肪酸(SCFA)代谢

Lammert等<sup>[18]</sup>用16S rRNA测序和核磁共振波谱,对23例PBC患者进行横断面研究发现,进展期肝纤维化患者粪便中乙酸盐和SCFA含量较高。SCFA是未消化的膳食纤维经肠道微生物发酵而成。SCFA可以激活宿主G蛋白偶联受体41/43,有助于肠道屏障保护、代谢稳态和免疫调节,减轻肝脏损伤,促进肝脏再生<sup>[17]</sup>。其中,丁酸盐具有潜在的免疫调节特性,通过调节Treg/Th17增强肠屏障功能,缓解肝脏炎症并降低转氨酶水平<sup>[19]</sup>。然而,Singh等(2018年)在另一项体外实验中发现,在次级胆汁酸存在的情况下,丁酸盐可诱导肝细胞死亡。因此,SCFA在PBC中的作用还有待进一步研究。

### 3.3 其他代谢物

HLA易感基因是PBC的主要遗传危险因素。具有5个HLA DRB1高危等位基因(FHRAC)阳性患者的微生物群落丰度明显低于FHRAC阴性患者<sup>[21]</sup>。在FHRAC阳性患者中,毛螺菌属明显减少,

其可能通过影响糖胺聚糖代谢来影响 PBC 患者的肝功能<sup>[21]</sup>。

对于 PBC 患者粪便样本的研究主要停留在微生物组学层面, 相关的肠道菌群变化, 使得保护性代谢物水平降低和破坏性代谢物水平升高。

### 三、总结与展望

目前对 PBC 代谢组学的研究, 集中在胆汁酸代谢、脂质代谢、氨基酸代谢、葡萄糖代谢和细菌代谢产物上。不足之处是, 尿液和粪便样本虽更容易获得, 但它们的微生物区系不能完全反映黏膜微生物区系的概况。且目前研究得到的结果可能会受环境和饮食等混杂因素的影响, 对于女性来说, 阴道菌群的影响也不可忽视。此外, 我们还缺少关于尿液和粪便样本中共生病毒或真菌群落的分析, 他们对肝脏的影响还属于未知。因此, 我们需要更多的样本来建立更全面的 PBC 代谢物数据库。研究如何将差异代谢物作为一种新的诊断性生物标志物和治疗靶点应用于 PBC 的预防、诊断和疗效评估也是一个重要的挑战。

总之, 代谢组学采用质谱分析或核磁共振技术研究, 对 PBC 患者体液样品的小分子内源性代谢物及变化趋势进行分析, 能够清楚地区分疾病状况, 并寻找疾病进展过程中的生物标志物和微生物组的靶标。将代谢组学 II 应用于 PBC 具有巨大的研究潜力和发展优势。

### 参 考 文 献

- [1] 中华医学会肝病学会. 原发性胆汁性胆管炎的诊断和治疗指南 (2021). 中华肝脏病杂志, 2022, 30 (3): 264-275.
- [2] Muthubharathi B C, Gowripriya T, Balamurugan K. Metabolomics: small molecules that matter more. Mol Omics, 2021, 17 (2): 210-229.
- [3] Sang C, Wang X, Zhou K, et al. Bile acid profiles are distinct among patients with different etiologies of chronic liver disease. J Proteome Res, 2021, 20 (5): 2340-2351.
- [4] Walker D I, Juran B D, Cheung A C, et al. High-resolution exposomics and metabolomics reveals specific associations in cholestatic liver diseases. Hepatol Commun, 2022, 6 (5): 965-979.
- [5] Chen W, Wei Y, Xiong A, et al. Comprehensive analysis of serum and fecal bile acid profiles and interaction with gut microbiota in primary biliary cholangitis. Clin Rev Allergy Immunol, 2020, 58 (1): 25-38.
- [6] Funabashi M, Grove T L, Wang M, et al. A metabolic pathway for bile acid dehydroxylation by the gut microbiome. Nature, 2020, 582 (7813): 566-570.
- [7] Li W, Chen H, Qian Y, et al. Integrated lipidomics and metabolomics study of four chemically induced mouse models of acute intrahepatic cholestasis. Front Pharmacol, 2022, 13: 907271.
- [8] Chaurasia B, Summers S A. Ceramides in metabolism: key lipotoxic players. Annu Rev Physiol, 2021, 83: 303-330.
- [9] Vignoli A, Orlandini B, Tenori L, et al. Metabolic signature of primary biliary cholangitis and its comparison with celiac disease. J Proteome Res, 2019, 8 (3): 1228-1236.
- [10] 马振华. 代谢组学方法应用于 DILI、PBC 及 AIH 代谢特征的研究. 长春: 吉林大学, 2019.
- [11] 钱婷婷, 朱旭婷, 卢吟秋, 等. 肝损伤代谢组学模型的构建及其中药提取物水飞蓟宾治疗的评价. 分析科学学报, 2021, 37 (5): 581-586.
- [12] Matsumoto K, Ohfuji S, Abe M, et al. Environmental factors, medical and family history, and comorbidities associated with primary biliary cholangitis in Japan: a multicenter case-control study. J Gastroenterol, 2022, 57 (1): 19-29.
- [13] Yang Y, Choi J, Chen Y, et al. *E. coli* and the etiology of human PBC: antimicrobial antibodies and spreading determinants. Hepatology, 2022, 75 (2): 266-279.
- [14] Briat F, Chilloux J, Nielsen T, et al. Human and preclinical studies of the host-gut microbiome co-metabolite hippurate as a marker and mediator of metabolic health. Gut, 2021, 70 (11): 2105-2114.
- [15] 陈金华, 刘欢宇, 陈思玮, 等. 益生菌对非酒精性脂肪性肝病的干预效果. 新医学, 2019, 50 (5): 384-387.
- [16] Van Treuren W, Dodd D. Microbial contribution to the human metabolome: implications for health and disease. Annu Rev Pathol, 2020, 15: 345-369.
- [17] Zheng Z, Wang B. The gut-liver axis in health and disease: the role of gut microbiota-derived signals in liver injury and regeneration. Front Immunol, 2021, 12: 775526.
- [18] Lammert C, Shin A, Xu H, et al. Short-chain fatty acid and fecal microbiota profiles are linked to fibrosis in primary biliary cholangitis. FEMS Microbiol Lett, 2021, 368 (6): fnab038.
- [19] Zhang H, Liu M, Liu X, et al. *Bifidobacterium animalis* ssp. Lactis 420 mitigates autoimmune hepatitis through regulating intestinal barrier and liver immune cells. Front Immunol, 2020, 11: 569104.
- [20] Huang C Y, Zhang H P, Han W J, et al. Disease predisposition of human leukocyte antigen class II genes influences the gut microbiota composition in patients with primary biliary cholangitis. Front Immunol, 2022, 13: 984697.

(收稿日期: 2023-01-13)

(本文编辑: 杨江瑜)