

DOI: 10.13376/j.cbbs/2019146

文章编号: 1004-0374(2019)11-1185-07

离子通道蛋白在溃疡性结肠炎腹泻中的作用及调控机制

陈佳慧¹, 薛喆¹, 刘春迪², 杨海涛³, 张晓宏^{1*}

(1 宁波大学医学院, 浙江省病理生理学技术研究重点实验室, 宁波 315211;
2 中南大学湘雅口腔医学院, 长沙 410000; 3 浙江大学明州医院病理科, 宁波 315100)

摘要: 溃疡性结肠炎(UC)是炎症性肠病(IBD)的一种, 主要临床表现为迁延不愈的腹泻及便血。离子通道蛋白的表达和活性降低引起的肠腔水、电解质潴留是造成UC腹泻的主要原因。近年来, 关于离子通道蛋白的功能及其调控机制的研究取得了突破性的进展: 一方面, 掌握了炎症因子调控离子通道蛋白表达的确切证据; 另一方面, 明确了UC中离子通道蛋白与肠道菌群的相互作用机制。现就上述进展做一综述, 为发展新的UC治疗方法提供有用证据。

关键词: 溃疡性结肠炎; 离子通道蛋白; 肠道菌群

中图分类号: Q51; R151.3; R574.62 **文献标志码:** A

Research progress on the role of ion transporter in ulcerative colitis-associated diarrhea and its regulation mechanism

CHEN Jia-Hui¹, XUE Zhe¹, LIU Chun-Di², YANG Hai-Tao³, ZHANG Xiao-Hong^{1*}

(1 Zhejiang Key Laboratory of Pathophysiology, Medical School of Ningbo University, Ningbo 315211, China;
2 Xiangya School of Stomatology, Central South University, Changsha 410000, China;
3 Department of Pathology, Zhejiang University Mingzhou Hospital, Ningbo 315100, China)

Abstract: Ulcerative colitis (UC) is a type of inflammatory bowel disease (IBD) characterized by recurrent diarrhea and hemafecia. The main cause for UC-associated diarrhea is the retention of fluid and electrolyte in lumen triggered by the decreased expression and function of ion transporters. In recent years, breakthrough progresses have been achieved concerning the function of ion transporters and the underlying mechanism. The strong evidence supporting that inflammatory factors regulate the expression of ion transporters was obtained; while the interaction between ion transporters' activity and intestinal flora in UC patients or animal inflammatory models was uncovered. These advances have been reviewed to provide a clue to develop novel therapy strategy of UC.

Key words: ulcerative colitis; ion transporters; intestinal flora

正常人体肠道具有强大的液体吸收能力: 每日进入肠道的液体量约为 8~9 L (2 L 来自饮食与饮水, 其他来自唾液、胃液、胰液、胆汁和肠道分泌物), 其中只有 100~200 mL 从粪便排出体外, 其余均为肠道吸收。与小肠相比 (每日液体吸收量 6~7 L), 结肠的液体吸收量少 (每日液体吸收量 1.5~1.9 L)^[1], 但其缓冲能力强, 一日液体吸收量最大可达 4.5~5 L。在小肠吸收能力正常的情况下, 如果结肠吸收能力下降, 即可引起严重腹泻; 相反, 若小肠液体吸收障碍而结肠吸收功能正常, 则不会引起腹泻^[2]。由

此可见, 维持正常的结肠液体吸收功能对于预防腹泻具有重要意义。已知离子通道蛋白在调节结肠肠腔水、电解质稳态中起重要作用, 近年来有关离子通道蛋白功能及其调控机制的研究取得了积极的进展, 本文将着重就这些研究进展做一综述, 为制定

收稿日期: 2019-06-14; 修回日期: 2019-09-03

基金项目: 国家自然科学基金项目(81872620, 81673163);
宁波市自然科学基金项目(2018A610370); 宁波大学王
宽城基金项目

*通信作者: E-mail: Zhangxiaohong1@nbu.edu.cn

UC 防治策略提供新线索。

1 结肠离子通道蛋白、水通道蛋白与UC

位于肠黏膜上皮细胞顶膜的离子通道蛋白主动向内向转运电解质 (Na^+ 、 Cl^-)，由此产生的跨上皮电解质浓度差是驱动结肠液体重吸收的源动力。位于肠黏膜上皮细胞顶膜的水通道蛋白是水出入细胞的门户^[3]，在离子通道蛋白形成的渗透压差介导下，水和一些中性小分子溶质顺渗透压梯度通过水通道蛋白，以更高的效率穿透疏水性生物膜进入细胞内。

1.1 钠-氢交换体3

哺乳动物钠-氢交换体 (Na^+/H^+ exchangers, NHEs) 家族有 11 个成员。NHE1、NHE2、NHE3 和 NHE8 在肠组织表达^[4]。NHE1 是一种管家蛋白，存在于所有真核细胞膜，行使调节细胞内 pH 和维持细胞体积的功能^[5]。相对地，NHE2 的肠组织特异性强，主要定位于肠黏膜上皮细胞顶膜。关于 NHE2 与腹泻的关系目前报道不一。如 Amin 等^[6]报道炎症因子 TNF- α 处理的人结肠癌细胞 C2BBel NHE2 mRNA 和蛋白表达降低，提示炎症因子可能通过影响 NHE2 水平介导 UC 的进展。但是，Soleiman 等^[7]报道 NHE2^{-/-} 小鼠无腹泻症状。UC 患者的活检结肠组织和常用的致肠炎剂葡聚糖硫酸钠 (DSS) 诱导的 UC 小鼠结肠组织中均未见到 NHE2 蛋白水平的变化^[8]。NHE3 是目前已知的介导结肠 Na^+ 内向转运的主要转运蛋白。Janecke 等^[9]对 9 名先天性失钠腹泻 (congenital sodium diarrhea, CSD) 患者的研究显示，患者的腹泻症状与结肠组织 NHE3 功能丧失有关。Soleiman 等^[7]对 CD 和 UC 患者结肠活检组织的分析结果显示，UC 患者乙状结肠 NHE3 蛋白水平明显降低。Farkas 等^[10]发现 UC 患者乙状结肠和直肠上皮隐窝顶端和中间区域 NHE3 mRNA 水平变化不大，但是蛋白活性降低明显。Yeruva 等^[11]也报道，UC 患者乙状结肠 Na^+ 吸收障碍程度与 NHE3 蛋白表达水平无关，但与 NHE3 活性降低呈正相关。动物实验发现，NHE3^{-/-} 小鼠表现为自发性结肠炎 (症状为轻度腹泻、低血压和轻度代谢性酸中毒)，其他 NHEs 敲除小鼠则无此现象^[12]。该研究还发现，NHE3^{-/-} 小鼠对 DSS 高度易感：极低剂量的 DSS (0.5%) 即可使 NHE3^{-/-} 小鼠出现严重腹泻、肠道出血、低血容量性休克和败血症，动物的死亡率极高^[13]。然而，NHE2、NHE3 双敲除小鼠的腹泻症状与 NHE3^{-/-} 小鼠相比并未加重^[12]，进一步提示 NHE2 并不参与 UC 腹泻的发生。

NHE8 主要在生命早期表达，其对成人肠道功能的影响目前尚不清楚。有研究报道负责黏液分泌的杯状细胞可表达高水平的 NHE8^[14]，而 NHE8^{-/-} 小鼠结肠组织中黏蛋白 Muc2 表达显著降低，对 DSS 诱导的 UC 更敏感，提示 NHE8 可能具有促进黏蛋白合成的作用^[15]。

1.2 $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ 交换体

Cl^- 吸收障碍在 IBD 相关性腹泻中起重要作用，UC 患者结肠隐窝中 $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ 交换率显著降低，粪便 Cl^- 含量升高^[16]。介导哺乳动物肠上皮细胞顶膜 $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ 交换的转运蛋白为溶质载体 26A6 (the solute-linked carrier family 26 member A6, SLC26A6；又称 putative anion transporter-1, PAT-1) 和溶质载体 26A3 (the solute-linked carrier family 26 member A3, SLC26A3；又称 downregulated in adenoma, DRA)。PAT-1 在空肠和回肠表达。DRA 在空肠和回肠中表达量较少，主要在结肠和十二指肠表达。PAT-1^{-/-} 小鼠虽然肠上皮细胞顶膜 $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ 交换活性下调，但是不表现腹泻症状，提示 PAT-1 介导的 $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ 交换与结肠水分吸收无关^[17]。相反，DRA 则被证实可与 NHE3 偶联，介导电中性 NaCl 的吸收，进而驱动结肠的水分吸收。

Shao 等^[18]收集了 512 名 UC 患者和 658 名对照者 (非 IBD 患者) 活检结肠组织，对 SLC26A3 基因型进行单核苷酸基因多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNP) 分析，发现 UC 患者 rs2108225 的等位基因 G 和基因型 GG 的频率显著高于对照组，重度 UC 患者 rs17154444 的等位基因 C 和基因型 TC + CC 高于对照组。Lohi 等^[19]以 10 名 UC 患者和 4 名健康对照 (结肠黏膜无炎症) 为对象，收集了 42 个结肠组织样本，对 DRA mRNA 和蛋白质水平进行检测。结果发现，UC 患者结肠 DRA mRNA 表达较对照组降低了 62%，DRA 蛋白表达无明显下降。对 128 名健康个体和 69 名活动性 UC 患者的研究也报道，UC 患者结肠 Cl^- 吸收减少、隐窝 DRA mRNA 水平下降^[9]。Schweinfest 等^[20]报道 DRA^{-/-} 小鼠的结肠黏膜上皮顶端 $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ 交换率显著降低，表现为氯化物腹泻、结肠扩张、生长迟缓，寿命仅为 4~5 个月；同时，DRA^{-/-} 小鼠对 DSS 极为敏感，表现为严重腹泻，死亡率高。这提示 DRA 功能缺陷的情况下，结肠水分吸收障碍，腹泻发生风险升高。

研究报道，DRA^{-/-} 小鼠结肠杯状细胞数量与野生型小鼠无差别，但是内层黏液丧失^[1]；DRA^{-/-}

小鼠肠腔低 pH 环境抑制杯状细胞释放的黏蛋白颗粒吸水扩张和黏液片层结构的形成^[21]。Schweinfest 等^[20]的研究还发现 DRA^{-/-}小鼠结肠隐窝形态不规则, 隐窝开口处出现融合。DRA^{-/-}小鼠细胞增殖标志物, 如细胞周期素 A (cyclin A)、增殖性细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) 在隐窝中部、上部表达, 而野生型小鼠细胞增殖相关蛋白则在隐窝底部表达。DRA^{-/-}小鼠结肠上皮异常增殖的特点与结肠炎患者相类似。以上研究提示, DRA 除了影响结肠水分吸收外, 还可能通过调节肠上皮的增殖和黏液的形成影响 IBD 的发生。

1.3 水通道蛋白

水通道蛋白 (aquaporins, AQP) 是一系列成孔蛋白, 渗透压依赖性地介导水和其他中性小分子溶质进出细胞。已知 AQP 途径是水分跨上皮运输的最主要路径。已鉴定的哺乳动物 AQP 家族有 13 个成员 (AQP0~AQP12), AQP1、AQP3、AQP4、AQP8 在结肠表达^[3]。AQP1、AQP3、AQP4 和 AQP8 在肠道的定位决定了各自的功能。AQP1 主要在黏膜下层和黏膜肌层的毛细血管内皮细胞及淋巴管内皮细胞表达, 在上皮细胞中少有表达, 主要作用是介导水从组织液向血管的流动^[22]。此外, AQP1 也在小肠绒毛中央乳糜管的内皮细胞表达, 负责协助食物消化时乳糜微粒的形成。研究报道, AQP1^{-/-}小鼠表现为脂肪吸收障碍^[23]。AQP4 在结肠吸收上皮细胞基底膜表达, AQP4^{-/-}小鼠的粪便含水量与野生型小鼠无差异^[3], 提示 AQP4 不参与肠腔中液体向肠外的运输。AQP8 主要存在于十二指肠、空肠和结肠上皮细胞顶膜, AQP8^{-/-}小鼠粪便含水量与野生型小鼠无差别^[24], 提示 AQP8 并非肠道水分转运的主要途径, 其他 AQP 可充分代偿 AQP8 功能的不足。

AQP3 是迄今为止研究得最为透彻的水通道蛋白, 也是结肠水分运输任务的主要承担者, 在近端结肠和远端结肠的吸收上皮细胞顶膜及基底膜均有表达^[25]。Ricanek 等^[26]报道 IBD 患者结肠黏膜组织的 AQP3 mRNA 表达量下降, 提示 AQP3 参与炎症性肠病的发病。Ikarashi 团队对 AQP3 的水分转运作用进行了系列研究。已知严重便秘是口服强效镇痛药吗啡的副作用, Kon 等^[27]发现吗啡引起的大鼠便秘与结肠 AQP3 表达增加有关, 应用 AQP3 抑制剂 HgCl₂ 可改善吗啡所致的便秘。比沙可啶可在不改变结肠腔渗透压的情况下, 通过增强肠蠕动发挥导泻作用。Ikarashi 等^[28]发现, 灌胃给予比沙

可啶期间, 大鼠结肠 AQP3 表达降低与粪便含水量升高同步发生。给药后 2 h, 大鼠 AQP3 水平开始下降, 5 h AQP3 水平达到低谷, 同时粪便含水量达到高峰, 动物表现为严重腹泻。Ikarashi 等^[29]还发现应用 AQP3 抑制剂 HgCl₂ 或 CuSO₄ 1 h 后动物粪便含水量增加至对照组的 4 倍左右, 动物腹泻严重。以上研究提示, 在肠腔渗透压不变的情况下, AQP3 表达降低, 结肠水分吸收障碍引起腹泻。相反, 在肠腔高渗的情况下, AQP3 则介导水分向肠腔转移。Ikarashi 等^[30]灌胃给予大鼠硫酸镁 (一种渗透性致泻剂), 2 h 后大鼠结肠腔渗透压达峰值, 此时 AQP3 高表达, 但是水分仍然向肠腔内转移, 引起动物腹泻。可见, AQP3 具有双向转运作用, 其介导的水分向肠外或肠内的转移与肠腔渗透压有关。

2 炎症因子抑制离子通道蛋白表达

近年来的研究证实, UC 发生时, 肠黏膜屏障受损, 肠上皮与肠道病原微生物及其抗原接触机会增加, 诱导炎症细胞向肠组织浸润并释放炎症因子, 后者影响离子通道蛋白的含量及活性, 促进腹泻发生 (图 1)。

2.1 炎症因子抑制 NHE3 表达

UC 时, 结肠组织炎症因子干扰素- γ (IFN- γ)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 水平升高, 后者可抑制 NHE3 表达。Rocha 等^[31]发现 IFN- γ 可下调大鼠肠组织和人结肠癌细胞 C2BBel 中 NHE2 和 NHE3 的表达和活性。Amin 等^[32]报道 TNF- α 、IFN- γ 通过抑制特异性蛋白 1 (specificity protein 1, Sp1)、Sp3 蛋白与 NHE3 基因核心启动子区域 (-95 ~ +5 bp) 的结合, 降低 C2BBel 细胞中 NHE3 表达。该研究还发现, 5 mmol/L 丁酸钠处理 24 h 可使 NHE3 启动子活性升高 10 倍, 而炎症因子 (TNF- α 或 IFN- γ) 可使丁酸钠的作用降低 60%。Lenzen 等^[33]尝试应用 TNF- α 单克隆抗体治疗 DSS 诱导的小鼠 UC, 结果发现与模型对照组相比, TNF- α 单克隆抗体治疗组结肠组织 NHE3 表达升高, 结肠液体吸收增加。

2.2 炎症因子抑制 DRA 表达

炎症因子可影响 DRA 转录。Xiao 等^[34]研究指出 TNF- α 高表达的转基因小鼠 (TNF^{+AARE}) 结肠 DRA 表达降低。Ding 等^[35]发现应用 TNF- α 单克隆抗体可升高小鼠结肠 DRA 表达。Kumar 等^[36]通过体内和体外模型研究不仅证实了 TNF- α 可降低 DRA 的表达, 还进一步明确了 TNF- α 的作用机制: 即 TNF- α 激活 NF- κ B, NF- κ B p65 亚基进入细胞核

后直接与 *DRA* 的启动子 -935 ~ -629 bp 和 -375 ~ -84 bp 区域结合, 继而抑制 *DRA* 转录。

研究发现, $\text{IFN-}\gamma$ 通过 JAK/STAT1 途径降低人结肠细胞 Caco-2 *DRA* 启动子活性^[37]。炎症因子 $\text{IFN-}\gamma$ 被证实可与细胞表面的受体结合, 激活受体相关的酪氨酸激酶 JAK1 和 JAK2, 继而酪氨酸磷酸化的 JAK 激活 STAT1, 以 JAK/STAT1 异源二聚体的形式转位至细胞核^[38]。JAK/STAT1 二聚体与 *DRA* 启动子 -1183 ~ -790 bp 区域结合, 抑制 *DRA* 转录。通过对该区域进行序列分析, 鉴定出 -933 ~ -925 bp 区域含有 $\text{IFN-}\gamma$ 激活位点 (即 GAS 顺式元件)。研究报道, 若 Caco-2 细胞的 GAS 顺式元件突变, $\text{IFN-}\gamma$ 则不影响 *DRA* 表达^[39]。上述研究证实, GAS 元件是 $\text{IFN-}\gamma$ 抑制 *DRA* 启动子活性的作用靶点。

3 肠道微生物影响离子通道蛋白表达

肠道细菌与离子通道蛋白之间相互影响。离子通道蛋白调节水、电解质的跨上皮运输, 影响肠腔渗透压和 pH 值, 进而影响肠道菌群构成; 同时 UC 患者、模型动物的肠道菌群构成的改变, 以及

致病菌的入侵, 也可影响离子通道蛋白的表达与活性 (图 1)。

3.1 肠道共生菌及其代谢产物

3.1.1 丁酸盐与丁酸盐生成菌

已知肠道菌群可发酵膳食纤维产生短链脂肪酸, 如乙酸、丙酸、丁酸, 其中丁酸是结肠上皮细胞的首选燃料, 对维持肠上皮结构和功能具有重要意义^[40]。Musch 等^[41]用丁酸盐处理人结肠细胞 C2/BBE1, 发现细胞中 NHE3 mRNA 和蛋白质表达升高, NHE3 活性增强; 进一步给大鼠喂饲含 5% 果胶 (一种膳食纤维) 的饲料, 2 d 后大鼠结肠 NHE3 mRNA 和蛋白质水平升高, Na^+ 摄取增强。Amin 等^[32]报道丁酸盐可促进 C2/BBE1 细胞 Sp1 和 Sp3 与 NHE3 核心启动子区域 (-89 ~ -67 bp) 结合, 促进 NHE3 mRNA 表达。Alrefai 等^[42]指出, 丁酸钠处理的人结肠癌细胞 LS174T 中转录因子 YY1 和 GATA 与 *DRA* 启动子区的顺式元件结合增强, *DRA* 表达增加。研究指出, 如果 *DRA* 的 YY1 和 GATA 结合位点发生突变, 则丁酸盐活化 *DRA* 启动子活性作用显著降低, 进一步证实丁酸盐可通过促进转录因子 YY1 和 GATA 与 *DRA* 启动子区的结合, 增

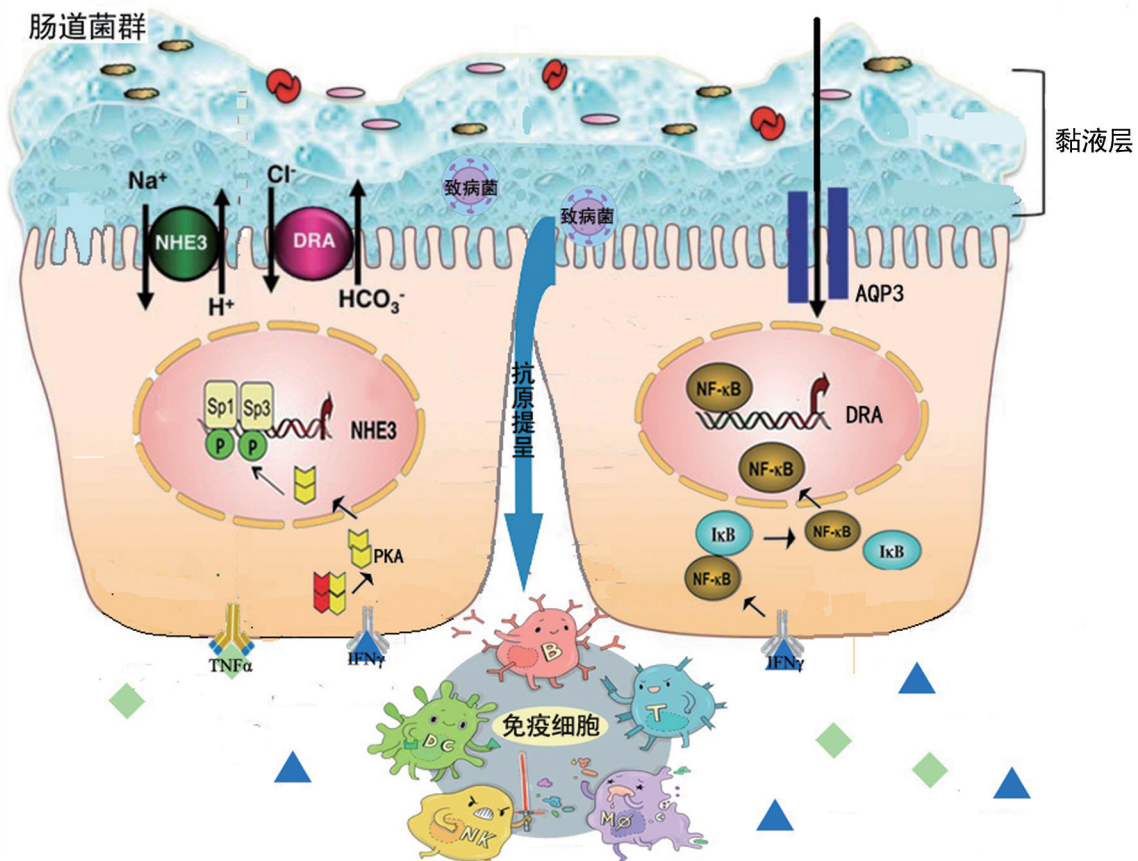


图1 炎症因子和细菌调节NHE3、DRA表达, 影响水、电解质跨上皮转运

强 DRA 表达。

健康个体的肠道菌群主要由厚壁菌门、拟杆菌门、变形菌门和放线菌门构成。其中厚壁菌门第 IV 组和 XIVa 组的梭菌属是肠道产丁酸盐的主要细菌^[40]。Forbes 等^[43]报道, 与非 IBD 患者相比, UC 患者厚壁菌门和拟杆菌门丰度降低, 变形菌门和放线菌门丰度增加。NHE3^{-/-}小鼠肠道菌群也存在相似的变化^[44]。Harrison 等^[45]报道 NHE3^{-/-}小鼠肠道产丁酸菌 *Lachnospiraceae* 和 *Ruminococcaceae* (*Clostridia* Clusters IV 和 XIVa) 丰度降低, 炎症相关的拟杆菌属丰度升高。他们将 NHE3^{-/-}小鼠粪便微生物组稳定移植到无菌的 Rag^{-/-} (缺少成熟的功能性 T、B 淋巴细胞) 和 IL-10^{-/-}小鼠肠道, 两种受体小鼠很快出现严重的腹泻。以上研究提示宿主离子通道蛋白功能改变也可影响肠道菌群构成, 促进腹泻的发生。

3.1.2 嗜酸乳杆菌

嗜酸乳杆菌 (*Lactobacillus acidophilus*, LA) 为厚壁菌门乳杆菌属, 是肠道微生物群落中主要的共生菌, 具有防治炎症相关性腹泻的作用。体内、体外研究均显示 LA 处理的细胞和小鼠结肠组织中 DRA mRNA 和蛋白质表达显著增加。研究报道, DSS 诱导的 UC 小鼠在灌胃给予 LA 活菌后, UC 症状明显减轻, 该现象与 LA 拮抗 UC 引起的 DRA mRNA 和蛋白水平下降有关^[46]。Kumar 等^[47]用感染鼠柠檬酸杆菌的方式诱导 FVB/N 小鼠结肠炎, 然后给予 LA, 结果发现 LA 处理的小鼠 DRA 和 NHE3 表达升高, 中性粒细胞浸润降低, 炎症因子 IL-1 β 、IFN- γ 和 CXCL1 mRNA 水平降低。Singh 等^[46]和 Raheja 等^[48]用 LA 活菌的培养上清 (culture supernatant, CS) 预处理 Caco-2 细胞 1 h 后, 再给予 IFN- γ 处理, 结果发现 IFN- γ 对 DRA 活性的抑制作用明显减轻, 提示 LA 的抗炎作用可能与其代谢产物有关。但是, LA 增强 DRA 和 NHE3 表达的机制尚有待于研究。

3.2 肠道致病菌

3.2.1 艰难梭菌

艰难梭菌感染 (*Clostridium difficile* infection, CDI) 所致腹泻, 根据临床症状可分为轻度、短暂性、自限性腹泻和可致命的严重腹泻^[49]。CDI 是炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) 急性发作的诱因之一, 多项研究证实 IBD 患者的 CDI 发生率高于无 IBD 患者, IBD 合并 CDI 者预后较差, 结肠切除率和死亡率增加^[50-51]。Axelrad 等^[52]对 214 名 IBD 患者的粪便进行病原体检测, 结果显示 79 名

患者存在肠道感染, 其中 CDI 38 名, 大肠埃希菌感染 21 名。多项研究报道, 与正常人相比, CDI 患者结肠离子通道蛋白 NHE3、DRA 表达明显降低^[53-54]。Coffing 等^[53]以艰难梭菌感染人结肠癌 Caco-2 细胞发现, 随着毒素 A 和毒素 B 浓度升高, DRA 蛋白表达显著降低。目前为止, 艰难梭菌影响 NHE3、DRA 表达的机制尚不清楚, 还需进一步研究。

3.2.2 致病性大肠埃希菌

致病性大肠埃希菌 (enteropathogenic *Escherichia coli*, EPEC) 是一种致病菌, 黏附于宿主细胞, 通过 3 型分泌系统 (type three secretion system, T3SS) 将毒力因子 Espf、Espg1 和 Espg2 等导入宿主细胞, 破坏细胞骨架^[55]。Axelrad 等^[56]检测了 300 名活动期 UC 患者及 33 234 名非 IBD 患者的粪便肠道菌群, 结果显示与非 IBD 患者相比, UC 患者粪便弯曲杆菌、邻单胞菌和大肠埃希菌的检出率较高。De La Fuente 等^[57]对 83 名 UC 患者和 29 名非 IBD 患者的结肠活检组织的分析发现, UC 患者 EPEC 检出率为 39.3%, 非 IBD 患者为 10.3%。在 EPECs 感染的结肠细胞 Caco-2、T-84 和 HT-29 中, NHE3 活性均显著下降^[58]。鼠柠檬酸杆菌 (*Citrobacter rodentium*, CR) 是唯一一种与 EPEC 相似的小鼠菌株。因此, CR 感染小鼠是研究 EPEC 致病机制的“金标准”动物模型。由于 CR 还影响结肠上皮屏障功能、黏膜愈合和共生菌的群落构成, CR 感染小鼠也是研究 IBD、肠道菌群失调和肠道肿瘤等人类肠道疾病的经典模型。Singh 等^[59]报道应用 CR 感染 FVB/N 小鼠构建结肠炎模型, 结果发现模型小鼠的结肠组织中 DRA、NHE3 表达显著降低, 提示 EPEC 感染引起的腹泻可能与离子通道蛋白 DRA、NHE3 表达降低有关, 但是其中的机制尚有待于挖掘。

4 展望

腹泻是溃疡性结肠炎患者的主要临床表现, 近年来的研究显示, 离子通道蛋白在溃疡性结肠炎相关腹泻发生中发挥重要作用, 并在离子通道蛋白的功能调控机制方面取得了可喜的进展, 揭示了炎症因子对离子通道蛋白功能活性的调控作用, 离子通道蛋白功能对肠道微环境的影响以及肠道细菌及其代谢物对离子通道蛋白功能的调控作用。本文为阐明溃疡性结肠炎的发病机制提供了新的视角, 为探寻溃疡性结肠炎相关腹泻的治疗靶点提供了科学方向。但是, 离子通道蛋白影响肠道菌群构成以及肠

道细菌影响离子通道蛋白功能的机制尚不清楚, 需要进一步研究加以解决。

[参 考 文 献]

- [1] Binder HJ. Mechanisms of diarrhea in Inflamm Bowel Dis. *Ann N Y Acad Sci*, 2010, 1165: 285-93
- [2] Priyamvada S, Gomes R, Gill RK, et al. Mechanisms underlying dysregulation of electrolyte absorption in IBD associated diarrhea. *Inflamm Bowel Dis*, 2015, 21: 2926
- [3] Zhu S, Ran J, Yang B, et al. Aquaporins in digestive system[M]//Yang B. Aquaporins. *Advances in experimental medicine and biology*. Dordrecht: Springer, 2017, 969:123-30
- [4] 邱晓媚, 余柳婷, 詹彦俐, 等. 钠氢交换体的结构、功能及其在疾病中的作用. *成都医学院学报*, 2014, 9: 480-4
- [5] Fuster DG, Alexander RT. Traditional and emerging roles for the Na^+/H^+ exchangers. *Pflugers Arch*, 2014, 466: 61-76
- [6] Amin MR, Orenuga T, Tyagi S, et al. Tumor necrosis factor- α represses the of NHE2 through NF- κ B activation in intestinal epithelial cell model C2BBel. *Inflamm Bowel Dis*, 2015, 17: 720-31
- [7] Soleiman AA, Thameem F, Khan I. Mechanism of down regulation of Na-H exchanger-2 in experimental colitis. *PLoS One*, 2017, 12: e0176767
- [8] Sean S, Philip A, Themos D, et al. Downregulation of sodium transporters and NHERF proteins in IBD patients and mouse colitis models: potential contributors to IBD-associated diarrhea. *Inflamm Bowel Dis*, 2010, 15: 261-74
- [9] Janecke AR, Heinzerian P, Müller T. Congenital sodium diarrhea: a form of intractable diarrhea, with a link to inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2016, 63: 170-6
- [10] Farkas K, Yeruva S, Zoltán R, et al. New therapeutic targets in ulcerative colitis: the importance of ion transporters in the human colon. *Inflamm Bowel Dis*, 2011, 17: 884-98
- [11] Yeruva S, Farkas K, Hubricht J, et al. Preserved Na^+/H^+ exchanger isoform 3 and localization, but decreased NHE3 function indicate regulatory sodium transport defect in ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*, 2010, 16: 1149-61
- [12] Ledoussal C, Woo AL, Miller ML, et al. Loss of the NHE2 Na^+/H^+ exchanger has no apparent effect on diarrheal state of NHE3-deficient mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2001, 281:1385-96
- [13] Kiela PR, Laubitz D, Larmonier CB, et al. Changes in mucosal homeostasis predispose NHE3 knockout mice to increased susceptibility to DSS-induced epithelial injury. *Gastroenterology*, 2009, 137: 965-75
- [14] Xu H, Li Q, Zhao Y, et al. Intestinal NHE8 is highly expressed in goblet cells and its is subject to TNF- α regulation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2016, 310: 64-9
- [15] Wang A, Li J, Zhao Y, et al. Loss of NHE8 impairs intestinal mucosal integrity. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2015, 309: 855-64
- [16] Barkas F, Liberopoulos E, Kei A, et al. Electrolyte and acid-base disorders in inflammatory bowel disease. *Ann Gastroenterol*, 2013, 26: 23-8
- [17] Xia W, Yu Q, Riederer B, et al. The distinct roles of anion transporters Slc26a3 (DRA) and Slc26a6 (PAT-1) in fluid and electrolyte absorption in the murine small intestine. *Pflügers Archiv*, 2014, 466: 1541-56
- [18] Shao XX, Lin DP, Sun L, et al. Association of ulcerative colitis with solute-linked carrier family 26 member A3 gene polymorphisms and its expression in colonic tissues in Chinese patients. *Int J Colorectal Dis*, 2018, 33: 1169-72
- [19] Lohi H, Mäkelä S, Pulkkinen K, et al. Upregulation of CFTR but not SLC26A3 and SLC9A3 in ulcerative colitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2002, 283: 567-75
- [20] Schweinfest CW, Spyropoulos DD, Henderson KW, et al. *slc26a3 (dra)*-deficient mice display chloride-losing diarrhea, enhanced colonic proliferation, and distinct up-regulation of ion transporters in the colon. *J Biol Chem*, 2006, 281: 37962-71
- [21] Xiao F, Yu Q, Li J, et al. Slc26a3 deficiency is associated with loss of colonic HCO_3^- secretion, absence of a firm mucus layer and barrier impairment in mice. *Acta Physiol (Oxf)*, 2014, 211: 161-75
- [22] Laforenza U. Water channel proteins in the gastrointestinal tract. *Mol Aspects Med*, 2012, 33: 642-50
- [23] 陈文锋, 宋丽军, 赵文昌. 水通道蛋白在腹泻中的研究进展. *医学综述*, 2018: 1041-6
- [24] Yang B, Song Y, Zhao D, et al. Phenotype analysis of aquaporin-8 null mice. *AJP Cell Physiol*, 2005, 288: 1161-70
- [25] Zhao GX, Dong PP, Peng R, et al. Expression, localization and possible functions of aquaporins 3 and 8 in rat digestive system. *Biotech Histochem*, 2016, 91: 269-76
- [26] Ricanek P, Lunde L, Frye S, et al. Reduced expression of aquaporins in human intestinal mucosa in early stage inflammatory bowel disease. *Clin Exp Gastroenterol*, 2015, 8: 49-67
- [27] Kon R, Ikarashi N, Hayakawa A, et al. Morphine-induced constipation develops with increased aquaporin-3 expression in the colon via increased serotonin secretion. *Toxicol Sci*, 2015, 145: 337-47
- [28] Ikarashi N, Baba K, Ushiki T, et al. The laxative effect of bisacodyl is attributable to decreased aquaporin-3 in the colon induced by increased PGE2 secretion from macrophages. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2011, 301: 887-95
- [29] Ikarashi N, Ushiki T, Mochizuki T, et al. Effects of magnesium sulphate administration on aquaporin 3 in rat gastrointestinal tract. *Biol Pharm Bull*, 2011, 34: 238-42
- [30] Ikarashi N, Kon R, Iizasa T, et al. Inhibition of Aquaporin-3 water channel in the colon induces diarrhea. *Biol Pharm Bull*, 2012, 35: 957-62
- [31] Rocha F, Musch MW, Lishanskiy L, et al. IFN- γ downregulates of Na^+/H^+ exchangers NHE2 and NHE3 in rat intestine and human Caco-2/bbe cells. *AJP Cell Physiol*, 2001, 280:

- 1224-32
- [32] Amin MR, Dudeja PK, Ramaswamy K, et al. Involvement of Sp1 and Sp3 in differential regulation of human NHE3 promoter activity by sodium butyrate and IFN- γ /TNF- α . *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2007, 293: 374-82
- [33] Lenzen H, Qian J, MannsMP, et al. Restoration of mucosal integrity and epithelial transport function by concomitant anti-TNF α treatment in chronic DSS-induced colitis. *J Mol Med*, 2018, 96: 831-43
- [34] Xiao F, Juric M, Li J, et al. Loss of downregulated in adenoma (DRA) impairs mucosal HCO $_3^-$ secretion in murine ileocolonic inflammation. *Inflamm Bowel Dis*, 2012, 18: 101-11
- [35] Ding X, Li D, Li M, et al. SLC26A3 (DRA) prevents TNF- α -induced barrier dysfunction and dextran sulfate sodium-induced acute colitis. *Lab Invest*, 2018, 98: 462-76
- [36] Kumar A, Chatterjee I, Gujral T, et al. Activation of nuclear factor- κ B by tumor necrosis factor in intestinal epithelial cells and mouse intestinal epithelia reduces expression of the chloride transporter SLC26A3. *Gastroenterology*, 2017, 153: 1338-50
- [37] Kato A, Romero MF. Regulation of electroneutral NaCl absorption by the small intestine. *Annu Rev Physiol*, 2011, 73: 261-81
- [38] Borenshtein D, Schlieper KA, Rickman BH, et al. Decreased of colonic Slc26a3 and carbonic anhydrase iv as a cause of fatal infectious diarrhea in mice. *Infect Immun*, 2009, 77: 3639-50
- [39] Saksena S, Singla A, Goyal S, et al. Mechanisms of transcriptional modulation of the human anion exchanger SLC26A3 gene by IFN- γ . *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2010, 298: 159-66
- [40] Ratajczak W, Rył A, Mizerski A, et al. Immunomodulatory potential of gut microbiome-derived short-chain fatty acids (SCFAs). *Acta Biochim Pol*, 2019, 66: 1-12
- [41] Musch MW, Bookstein C, Xie Y, et al. SCFA increase intestinal Na absorption by induction of NHE3 in rat colon and human intestinal C2/bbe cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2001, 280: 687-93
- [42] Alrefai WA, Wen X, Jiang W, et al. Molecular cloning and promoter analysis of downregulated in adenoma (DRA). *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2007, 293: 923-34
- [43] Forbes JD, Van DG, Bernstein CN. Microbiome survey of the inflamed and noninflamed gut at different compartments within the gastrointestinal tract of inflammatory bowel disease patients. *Inflamm Bowel Dis*, 2016, 22: 817-25
- [44] Larmonier CB, Laubitz D, Hill FM, et al. Reduced colonic microbial diversity is associated with colitis in NHE3-deficient mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2013, 305: 667-77
- [45] Harrison CA, Laubitz D, Ohland CL, et al. Microbial dysbiosis associated with impaired intestinal Na/H exchange accelerates and exacerbates colitis in ex-germ free mice. *Mucosal Immunol*, 2018, 11: 1329-41
- [46] Singh V, Kumar A, Raheja G, et al. *Lactobacillus acidophilus* attenuates downregulation of DRA function and in inflammatory models. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2014, 307: 623-31
- [47] Kumar A, Anbazhagan AN, Coffing H, et al. *Lactobacillus acidophilus* counteracts inhibition of NHE3 and DRA and alleviates diarrheal phenotype in mice infected with *Citrobacter rodentium*. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2016, 311: 817-26
- [48] Raheja G, Singh V, Ma K. *Lactobacillus acidophilus* stimulates the of SLC26A3 via a transcriptional mechanism. *Am J Physiol*, 2010, 298: 395-401
- [49] Mori N, Takahashi T. Characteristics and immunological roles of surface layer proteins in *Clostridium difficile*. *Ann Lab Med*, 2018, 38: 189-95
- [50] Razik R, Rumman A, Bahreini Z, et al. Recurrence of *Clostridium difficile* infection in patients with inflammatory bowel disease: the RECIDIVISM Study. *Am J Gastroenterol*, 2016, 111: 1141-6
- [51] Trifan A, Stanciu C, Stoica O, et al. Impact of *Clostridium difficile* infection on inflammatory bowel disease outcome: a review. *World J Gastroenterol*, 2014, 20: 11736-42
- [52] Axelrad JE, Joelson A, Nobel YR, et al. Enteric infection in relapse of inflammatory bowel disease: the utility of stool microbial PCR testing. *Inflamm Bowel Dis*, 2017, 23: 1034-9
- [53] Coffing H, Priyamvada S, Anbazhagan AN, et al. *Clostridium difficile*, toxins A and B decrease intestinal SLC26A3 protein. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2018, 315: 43-52
- [54] Engevik MA, Engevik KA, Yacyshyn MB, et al. Human *Clostridium difficile* infection: inhibition of NHE3 and microbiota profile. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2015, 308: 497-509
- [55] Gujral T, Kumar A, Priyamvada S, et al. Mechanisms of DRA recycling in intestinal epithelial cells: effect of enteropathogenic *E. coli*. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2015, 309: C835-46
- [56] Axelrad JE, Andrew J, Green PR, et al. Enteric infections are common in patients with flares of inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol*, 2018, 113: 1530-9
- [57] De La Fuente M, Chahuán I, Gutiérrez R, et al. Presence of intracellular *Escherichia coli* in patients with inflammatory bowel disease. *Rev Med Chil*, 2017, 145: 1129-36
- [58] Hecht G, Hodges K, Gill RK, et al. Differential regulation of Na $^+$ /H $^+$ exchange isoform activities by enteropathogenic *E. coli* in human intestinal epithelial cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2004, 287: 370-8
- [59] Singh V, Kumar A, Raheja G, et al. *Lactobacillus acidophilus* attenuates downregulation of DRA function and expression in inflammatory models. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2014, 307: 623-31