

• 综述 •

病理状态对肠寡肽转运体 PEPT1 活性的调节

王 威, 刘克辛*

大连医科大学药学院 临床药理教研室, 辽宁 大连 116044

摘 要: PEPT1 是位于小肠刷状缘膜的寡肽转运体, 介导蛋白消化产物(如二肽和三肽)及类肽药物(如 β -内酰胺类抗生素)的摄取和转运。营养不良及代谢失调(如高蛋白饮食、禁食和糖尿病)均可引起 PEPT1 基因和蛋白表达发生变化, 一些临床常见病(如溃疡性结肠炎、克罗恩病、短肠综合征)也可诱导肠道 PEPT1 的表达和功能发生改变。检索 PubMed 数据库及参考互联网文献, 并进行分析综述, 探讨不同病理状态对 PEPT1 活性调节的机制, 为患者的营养支持及药物治疗方案提供理论依据。

关键词: PEPT1; 寡肽转运体; 基因表达; 病理状态; 营养不良; 代谢失调

中图分类号: Q591.2 R362 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2011)01-0039-05

Regulation of pathological state on activity of intestinal oligopeptide transporter PEPT1 in disease

WANG Wei, LIU Ke-xin

Department of Clinical Pharmacology, College of Pharmacy, Dalian Medical University, Dalian 116044, China

Abstract: The oligopeptide transporter 1 (PEPT1) is localized to the brush-border membrane and mediates the absorption and transportation of protein digestion products (i.g. dipeptides and tripeptides) and peptide-like drugs (i.g. β -lactam antibiotics). Malnutrition and metabolic disorder (such as high-protein diet, fasting, and diabetes) could induce the modulation of protein and gene expressions of PEPT1. The intestinal diseases in clinic (such as ulcerative colitis, Cohn's disease, and short-bowel syndrome) have shown the regulation of the PEPT1 expression and functional changes in their colon. Being analyzed and reviewed by searching PubMed Internet database and reference literature, some associated mechanisms of the regulation on PEPT1 activity by various pathological state have been studied to provide the theoretical basis for the nutritional support and pharmaceutical treatment programs.

Key words: PEPT1; oligopeptide transporter; gene expression; pathological state; malnutrition; metabolic disorder

小肠是食物进行消化吸收的主要场所, 小肠的这种消化吸收作用为机体提供了日常的能量与营养需求。迄今为止, 日常所需氨基酸主要来自于植物和动物的蛋白质。19 世纪, 对于这些蛋白质的吸收过程一直是科研界热衷讨论的话题。很长一段时期内, 普遍认为蛋白质在肠腔中完全水解成游离氨基酸继而被吸收摄取。近年来, 蛋白吸收的新理论开始形成, 在肠腔内蛋白消化的主要产物不是游离氨基酸而是二肽或三肽。一系列研究表明, 位于人体肠道中的二肽和三肽转运系统介导肽类物质的吸收^[1-2]。这一理论已经被动物肠道实验所证实^[3], 最

近克隆出的人体和动物的肠道寡肽转运体进一步印证了上述观点^[4]。

生理学及分子水平研究表明, 肠道上的寡肽转运体, 通常指的是 PEPT1, 主要位于小肠上皮细胞刷状缘膜上^[5]。有文献对 PEPT1 的分子结构、驱动力、特异性底物及功能有过描述^[5], 同时也阐明了 PEPT1 一些特点, 与其他转运体不同的是, 寡肽转运体具有广泛的底物专属性, 包括 400 多种二肽及 8 000 多种三肽。这些肽类从日常饮食、动物蛋白及很多药物中摄取消化而得, 如 β -内酰胺类抗生素、血管紧张素转化酶抑制剂等具有类似二肽及三肽结

收稿日期: 2010-11-05

作者简介: 王 威(1984—), 女, 山东人, 硕士研究生, 研究方向: 药物转运体与药代动力学。Tel: (0411)86110415 E-mail: wwbnws@163.com

*通讯作者 刘克辛, 男, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向: 药物转运体与药代动力学。Tel: (0411)86110407 E-mail: kexinliu@dlmedu.edu.cn

构的物质均为其底物。不同于其他以钠离子浓度梯度为驱动力的转运体, PEPT1 的独特性在于其是以氢离子作为驱动力的转运体, 属于寡肽转运体家族, 广泛地存在于小至细菌大到人类的所有物种中^[6-7]。

存在于肠道上的摄取型寡肽转运体在被发现的短时期内, 便有研究表明了这种摄取功能受营养状况、代谢情况、肠道疾病等各种各样的生理和外源性因素影响, 但是深入的机制并没有被明确阐明。目前比较明确的机制为: 1) PEPT1 利用刷状缘膜侧 Na^+/H^+ 交换转运体产生腔道向上皮细胞内的质子浓度梯度差; 2) Na^+/H^+ 交换转运体利用基底膜 $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPase}$ 产生的胞外向胞内 Na^+ 浓度梯度差

进行转运; 3) 细胞质上的肽酶可以抑制肽类物质在细胞内产生蓄积。进入细胞内的寡肽大部分被胞质肽酶水解为游离氨基酸, 水解的这部分氨基酸一部分被细胞利用, 另一部分则通过存在于基底膜上的氨基酸转运体转运入血。进入胞浆内未被水解的寡肽通过位于基底膜的另一肽转运体由胞内转运至血液中(图1)^[5,7]。图1表明 PEPT1 的活性调节受转运体表达量、 Na^+/H^+ 交换转运体、 $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPase}$ 、细胞质上的肽酶及基底膜外侧的寡肽转运体等因素影响。对于生理条件下影响转运体调节的因素及机制已有阐述, 本文主要探讨病理状态下对于 PEPT1 表达调节的影响。

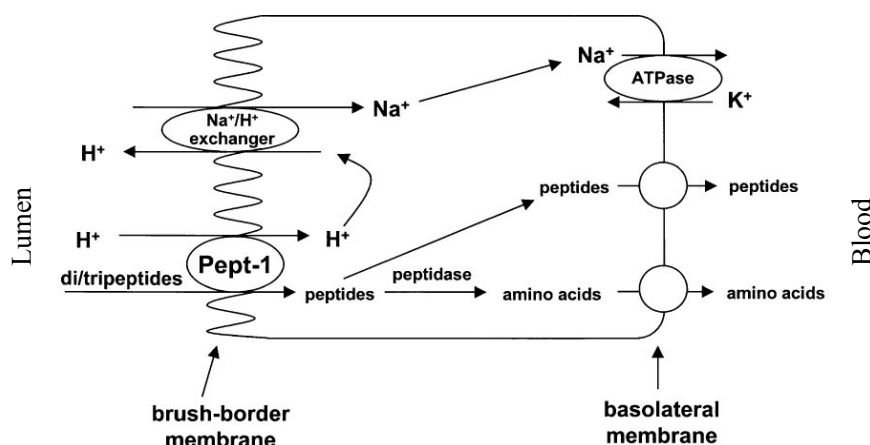


图1 PEPT1 跨小肠上皮细胞转运寡肽类物质的过程

Fig. 1 Process in transportation of oligopeptides by the intestinal epithelial cells of PEPT1

1 病理状态对 PEPT1 的调节

1.1 营养不良

患者短期禁食将会引起急性疾病, 这种营养不良的病理状态可对 PEPT1 的功能和表达产生影响^[8]。研究表明, 禁食 24 h 的大鼠小肠刷状缘膜囊 (brush-border membrane vesicle, BBMV) 摄取 Gly-Gln 的量显著增加。动力学分析表明, K_m 值无明显变化, V_{max} 增大 2 倍, Western blotting 分析短期禁食的大鼠空肠刷状缘膜的 PEPT1 蛋白表达量有所增加^[9]。这种短期禁食通过影响转运体的转录从而使 PEPT1 的基因表达也上调数倍。

早期有报道指出^[10], 用禁食 3~4 d 的仓鼠进行外翻肠囊实验, 结果显示减慢了对 Gly-Sar 的转运速率, 但是长期禁食是否会对 PEPT1 的表达产生影响还不明确。对于禁食 4 d 的大鼠进行研究^[11-12], 利用蛋白印迹法及免疫荧光图像分析得出 PEPT1

的蛋白表达显著上调。另外对禁食 4 d 及半禁食 10 d 的大鼠空肠进行实验, 结果表明 PEPT1 的 mRNA 和蛋白表达均有上调。早期的外翻肠囊实验^[10]和近期的 BBMV 实验^[9,11-12]均可证明无论是短期禁食还是长期禁食都会引起 PEPT1 的表达上调。

近期实验表明, 饥饿可诱导所有肠段上的 PEPT1 mRNA 表达上调, 但是中部和上部肠段表达的上调最为显著。饥饿状态下肠道吸收面积明显减少, 因此推测饥饿 14 d 可能使空肠对氨基酸和肽类物质的摄取下降。实际上, 对氨基酸的摄取确实下降而对肽类物质的摄取却无明显变化^[13]。饥饿状态下细胞 PEPT1 mRNA 表达增加说明了这种增加抵消了肠道吸收面积下降的作用, 从而使肽类物质的摄取无显著改变。

1.2 甲亢

甲状腺激素调控着机体大部分组织的发育、分

化、代谢平衡及生理功能^[14]。甲状腺功能亢进可引起胃肠道疾病,表现为腹泻、吸收不良等症状。

近期研究证实^[15],将甲状腺素(T_4)添加在饮水里让大鼠连续饮用21 d可诱导大鼠发生甲状腺功能亢进。用甲亢的大鼠进行外翻肠囊实验及肠环实验,结果显示对 Gly-Sar 的摄取显著减少,药动学分析表明, K_m 值无明显变化,而 V_{max} 显著增大。利用聚合酶链反应及 Western blotting 实验对甲亢的大鼠分析可得 PEPT1 的蛋白表达量与对照组相比下降了30%,另外 mRNA 的水平也明显降低,结果说明甲状腺激素可以直接或间接影响 PEPT1 的 mRNA 表达从而影响 PEPT1 的表达和功能。

1.3 糖尿病

胰岛素作用于 Caco-2 细胞可诱导 PEPT1 表达上调^[16],而糖尿病状态可能导致 PEPT1 表达下降。糖尿病模型大鼠禁用胰岛素 96 h 后,取空肠制备刷状缘膜囊(BBMV)来检测 PEPT1 转运二肽的活性,结果表明 PEPT1 的活性不仅没有下降反而显著上升,药动学分析表明, K_m 值无明显变化而 V_{max} 显著增大,Western blotting 证实了 PEPT1 表达量增加,相应的 mRNA 表达也有所增加。推断糖尿病大鼠不是在基因转录水平而是翻译水平上影响了 PEPT1 在膜上的表达,从而加强了 mRNA 的稳定性,因此提高了 PEPT1 的基因表达^[17]。为了探讨在糖尿病模型下除了对肠道上 PEPT1 产生影响外是否还影响其他组织上的转运体调节,对糖尿病大鼠的肾脏刷状缘膜囊(BBMV)也进行了相似的研究^[17],结果表明糖尿病可诱导肾脏 PEPT1 蛋白和 mRNA 表达上调,这种表达上调也不是通过影响基因转录水平所致。

研究显示,糖尿病状态可能还影响了其他组织上 PEPT1 的表达调节,并且有众多因素参与调节。总之,在糖尿病状态下 PEPT1 的表达上调意味着摄取底物能力也相应提高。

1.4 肠切除

将实验动物的近端小肠切除,可引起远端小肠黏膜增生,且结肠对营养物质的吸收略有增加^[18]。这种吸收的增加也包括二肽类物质^[19]。然而,对于施行肠切术的家兔,检测其回肠段的 PEPT1 的 mRNA 表达,发现并无显著变化^[20]。临床上切除了近端小肠而患短肠综合征的患者,检测其回肠段的 PEPT1 的蛋白和 mRNA 表达,同样无明显变化,但是这些患者结肠段的 PEPT1 的蛋白和 mRNA 表达

均显著增加^[21]。研究表明:1)切除近端小肠后引起远端小肠对二肽吸收增加并不是因为 PEPT1 表达上调;2)切除近端小肠后可诱导结肠上的 PEPT1 表达上调,机制有待于进一步研究。

1.5 小肠移植

小肠移植能够导致小肠吸收功能下降^[22]。将实验大鼠进行同源性小肠移植却能引起 PEPT1 蛋白表达上调,而 PEPT1 的 mRNA 水平并没有增加,所以蛋白水平的增加可能是由于抑制了蛋白降解^[23]。另外,进行了同种异体移植的大鼠,检测到 PEPT1 蛋白表达和 mRNA 水平均有所下降。小肠移植的排斥反应并没有抑制蛋白表达和 mRNA 水平的下降。研究结果说明小肠移植术后对 PEPT1 表达调节的机制较为复杂。

1.6 烫伤

创伤时机体蛋白分解产物的吸收和代谢对创伤治疗上起着关键作用,因此研究创伤时肽转运体如 PEPT1 对蛋白产物的吸收具有重要意义。研究证实^[24],烫伤大鼠肠系膜血管搏动明显减弱,血管变细,血液流速减慢,肠管色泽明显变淡,提示烫伤后胃肠道等内脏器官的血液供应减少;由于肠道黏膜上皮细胞绒毛的高度、隐窝深度及黏膜的厚度均较正常时明显下降,这从解剖结构上提示胃肠道的生物学功能将受到严重的影响。严重烫伤时肠上皮细胞 PEPT1 的摄取和转运二肽的功能均较正常时明显下降,其功能下降的本质可能是 PEPT1 mRNA 表达减少,导致 PEPT1 转运体的合成减少。

1.7 创伤性脑损伤(TBI)

研究证实 TBI 能显著诱导肠黏膜损伤并且破坏肠黏膜屏障功能^[25],包括引起肠上皮细胞脱落、绒毛缺失、局部溃疡、邻近的绒毛融合、中央乳糜管扩张、黏膜萎缩、破坏肠细胞的紧密连接及增加通透性。TBI 的大鼠模型在损伤发生的 3、12、24 h 内,PEPT1 转运和摄取底物的量均增加,而损伤发生 72 h 及 7 d 后的大鼠 PEPT1 转运和摄取底物的量均恢复到正常水平。在损伤发生的初期,PEPT1 的表达上调是通过补偿由于脑损伤而引起的严重的肠细胞损伤来维持二肽和三肽的正常摄取^[26]。

1.8 炎性肠病

肠道上的某些菌群如大肠杆菌能促进具有 *N*-甲酰基化的炎性肽类物质分泌。体内和体外实验研究表明,PEPT1 介导 *N*-甲酰基化肽类物质的转运,如 *N*-甲酰甲硫氨酰-亮氨酰-苯丙氨酸,可诱导肠道

产生炎症^[27-28]。有研究指出, 溃疡性结肠炎和克罗恩病能够诱导结肠中 PEPT1 的表达^[29]。其机制被推测为这类患者肠道菌群失调促使炎性肽类物质分泌过多, 作为 PEPT1 的底物诱导了 PEPT1 的异位表达。

1.9 小隐孢子虫感染

小隐孢子虫感染能够引起人类痢疾的现象在全世界范围内非常普遍。小隐孢子虫感染能够使体内吸收氨基酸、葡萄糖和钠的绒毛萎缩和减少。对于极易发生感染的幼鼠 ig 给予小隐孢子虫 10~12 d, 体内代谢消除 21 d 后, 检测幼鼠肠道 PEPT1 的表达, 结果显示 PEPT1 mRNA 水平在感染期显著提高, 体内代谢消除后又恢复正常。对整段小肠上的 PEPT1 进行免疫定位分析, 结果显示 PEPT1 蛋白表达始终保持在感染期的水平, 说明急性感染小隐孢子虫病是通过影响转录而使 PEPT1 表达上调的^[30]。

2 小结

近年来克隆出的 PEPT1 已经为在分子水平和细胞水平上阐明肠道寡肽转运体的调节机制奠定了坚实的基础。对于蛋白消化产物及调节代谢的激素类是通过影响编码 PEPT1 mRNA 的基因转录还是通过影响胞内 PEPT1 的蛋白转运或者是两者兼而有之, 尚处于探讨阶段。此外, 在病理状态下对 PEPT1 的影响, 如在炎症肠病中对结肠 PEPT1 的诱导效应对 PEPT1 表达上调来说是主要作用还是次要作用等也需要进一步研究。

在临床中关注 PEPT1 的表达调节有助于把握对患者的营养支持和药物治疗方案。如: 1) 对于临床常见病感染和高血压, 其诱导了 PEPT1 的高表达, 在这种情况下有利于对类肽药物的吸收, 从而可能提高药物疗效; 2) 降低 PEPT1 的表达有利于控制溃疡性结肠炎和克罗恩病的病情发展; 3) 对于糖尿病患者和感染性腹泻患者, 应使用含有二肽类的优质蛋白质来满足其肠道的营养需求。

参考文献

- [1] Rubio-Aliaga I, Daniel H. Peptide transporters and their roles in physiological processes and drug disposition [J]. *Xenobiotica*, 2008, 38(7/8): 1022-1042.
- [2] Ma K, Hu Y, Smith D E. Peptide transporter 1 is responsible for intestinal uptake of the dipeptide glycylsarcosine: Studies in everted jejunal rings from wild-type and Pept1 null mice [J]. *J Pharm Sci*, 2010, 100(2): 767-774.
- [3] Matthews D M, Adibi S A. Peptide absorption [J]. *Gastroenterology*, 1976, 71 (1): 151-161.
- [4] Fei Y J, Kanai Y, Nussberger S, *et al*. Expression cloning of a mammalian proton-coupled oligopeptide transporter [J]. *Nature*, 1994, 368 (6471): 563-566.
- [5] Adibi S A. The oligopeptide transporter (Pept-1) in human intestine: biology and function [J]. *Gastroenterology*, 1997, 113 (1): 332-340.
- [6] Zhang Q, Liu Q, Wu J, *et al*. PEPT1 involved in the uptake and transepithelial transport of cefditoren in vivo and in vitro [J]. *Eur J Pharmacol*, 2009, 612(1-3): 9-14.
- [7] Meredith D, Boyd C A R. Structure and function of eukaryotic peptide transporters [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2000, 57(5): 754-778.
- [8] Habold C, Reichardt F, Foltzer-Jourdainne C, *et al*. Morphological changes of the rat intestinal lining in relation to body stores depletion during fasting and after refeeding [J]. *Pflugers Arch*, 2007, 455(2): 323-332.
- [9] Thamotharan M, Bawani S Z, Zhou X, *et al*. Functional and molecular expression of intestinal oligopeptide transporter (Pept-1) after a brief fast [J]. *Metabolism*, 1999, 48(6): 681-684.
- [10] Schedl H P, Burston D, Taylor E, *et al*. Kinetics of uptake of an amino acid and a dipeptide into hamster jejunum and ileum: the effect of semistarvation and starvation [J]. *Clin Sci (Colch)*, 1979, 56(5): 487-492.
- [11] Ihara T, Tsujikawa T, Fujiyama Y, *et al*. Regulation of Pept1 peptide transporter expression in the rat small intestine under malnourished conditions [J]. *Digestion*, 2000, 61(1): 59-67.
- [12] Ogiyama H, Suzuki T, Nagamachi Y, *et al*. Peptide transporter in the rat small intestine: ultrastructural localization and the effect of starvation and administration of amino acids [J]. *Histochem J*, 1999, 31(3): 169-174.
- [13] Vazquez J A, Morse E L, Adibi S A. Effect of starvation on amino acid and peptide transport and peptide hydrolysis in humans [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 1985, 249(5 pt 1): G563-566.
- [14] Yen P M. Physiological and molecular basis of thyroid hormone action [J]. *Physiol Rev*, 2001, 81 (3): 1097-1142.
- [15] Ashida K, Katsura T, Saito H, *et al*. Decreased activity and expression of intestinal oligopeptide transporter PEPT1 in rats with hyperthyroidism *in vivo* [J]. *Pharm Res*, 2004, 21(6): 969-975.
- [16] Watanabe K, Terada K, Jinriki T, *et al*. Effect of insulin on cephalixin uptake and transepithelial transport in the human intestinal cell line Caco-2 [J]. *Eur J Pharm Sci*,

- 2004, 21(1): 87-95.
- [17] Gangopadhyay A, Thamotharan M, Adibi S A. Regulation of oligopeptide transporter (Pept-1) in experimental diabetes [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2002, 283(1): G133-G138.
- [18] O'Brien D P, Nelson L A, Huang F S, *et al.* Intestinal adaptation: structure, function, and regulation [J]. *Semin Pediatr Surg*, 2001, 10(2): 56-64.
- [19] Shi B, Song D, Xue H, *et al.* PepT1 mediates colon damage by transporting fMLP in rats with bowel resection [J]. *J Surg Res*, 2006, 136(1): 38-44.
- [20] Avissar N E, Ziegler T R, Wang H T, *et al.* Growth factors regulation of rabbit sodium-dependent neutral amino acid transporter ATB0 and oligopeptide transporter 1 mRNAs expression after enterectomy [J]. *J Parenter Enteral Nutr*, 2001, 25(2): 65-72.
- [21] Ziegler T R, Ferná'ndez-Estí'variz C, Gu L H, *et al.* Distribution of the H⁺/peptide transporter PepT1 in human intestine: upregulated expression in the colonic mucosa of patients with short-bowel syndrome [J]. *Am J Clin Nutr*, 2002, 75(5): 922-930.
- [22] Motohashi H, Masuda S, Katsura T, *et al.* Expression of peptide transporter following intestinal transplantation in the rat [J]. *J Surg Res*, 2001, 99(2): 294-300.
- [23] Motohashi H, Masuda S, Katsura T, *et al.* Expression of peptide transporter following intestinal transplantation in the rat [J]. *J Surg Res*, 2001, 99(2): 294-300.
- [24] 邵宁正, 章庆国, 孙炳伟, 等. 严重烫伤后大鼠小肠粘膜上皮细胞刷状缘二肽载体 (PepT1) 的生物学功能改变 [J]. *江苏大学学报*, 2005, 15(1): 10-16.
- [25] Hang C H, Shi J X, Li J S, *et al.* Alterations of intestinal mucosa structure and barrier function following traumatic brain injury in rats [J]. *World J Gastroenterol*, 2003, 9(12): 2776-2781.
- [26] 张庆灏, 刘克辛. 药物与肠道肽转运蛋白 PEPT1 的相互作用及影响因素 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2007, 12(3): 250-257
- [27] Buyse M, Tsocas A, Walker F, *et al.* PepT1-mediated fMLP transport induces intestinal inflammation in vivo [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2002, 283(6): C1795-C1800.
- [28] Merlin D, Steel A, Gewirtz A T, *et al.* hPepT1-mediated epithelial transport of bacteria-derived chemotactic peptides enhances neutrophil-epithelial interactions [J]. *J Clin Invest*, 1998, 102(11): 2011-2018.
- [29] Merlin D, Si-Tahar M, Sitaraman S V, *et al.* Colonic epithelial hPepT1 expression occurs in inflammatory bowel disease: transport of bacterial peptides influences expression of MHC class I molecules [J]. *Gastroenterology*, 2001, 120(7): 1666-1679.
- [30] Barbot L, Windsor E, Rome S, *et al.* Intestinal peptide transporter PepT1 is over-expressed during acute cryptosporidiosis in suckling rats as a result of both malnutrition and experimental parasite infection [J]. *Parasitol Res*, 2003, 89(5): 364-370.

中草药 杂志社 售过刊信息

天津中草药杂志社是经国家新闻出版总署批准于2009年8月在天津滨海新区注册成立。编辑出版《中草药》、Chinese Herbal Medicines、《现代药物与临床》(2009年由《国外医药·植物药分册》改刊)、《药物评价研究》(2009年由《中文科技资料目录·中草药》改刊)。欢迎投稿, 欢迎订阅。

《中草药》杂志合订本: 1974-1975年、1976年、1979年、1988-1993年(80元/年), 1996、1997年(110元/年), 1998年(120元/年), 1999年(135元/年), 2000年(180元/年), 2001-2003年(200元/年), 2004年(220元/年), 2005年(260元/年), 2006-2008年(280元/年), 2009-2010年(400元/年);

《中草药》增刊: 1996年(50元), 1997年(45元), 1998年(55元), 1999年(70元), 2000、2001年(70元), 2002-2007年(65元/年), 2008、2009年(55元/年)。凡订阅《中草药》杂志且提供订阅凭证者, 购买增刊7折优惠, 款到寄刊。

《现代药物与临床》合订本: 2009-2010年(100元/年)。

《国外医药·植物药分册》合订本: 1996~2008年(80元/年), 2006~2008年(90元/年)。

《药物评价研究》2009年单行本, 每册15.00元; 2010年合订本, 100元/年

《中文科技资料目录·中草药》: 1993-2006年合订本(全套2040元), 2007-2008年单行本, 每册定价30.00元, 全年订价210.00元(6期+年索引)

天津中草药杂志社

地址: 天津市南开区鞍山西道308号

邮编: 300193

电话: (022) 27474913 23006821

传真: (022) 23006821

电子邮箱: zcy@tiprpress.com

网址: www.中草药杂志社.中国或www.tiprpress.com

开户银行: 兴业银行天津南开支行 账号: 44114010010081504

户名: 天津中草药杂志社