

胆管结石形成机制的研究进展

黄丹, 宛新建*

上海交通大学医学院附属第六人民医院消化内镜中心, 上海

收稿日期: 2023年9月20日; 录用日期: 2023年10月19日; 发布日期: 2023年10月26日

摘要

胆管结石在我国是一种发病率较高、并发症多、治疗难度大的疾病, 多继发于细菌感染和胆汁淤积。内镜下胆道支架植入术是治疗胆管结石的有效手段, 但术后细菌感染所致的结石复发和支架堵塞仍旧是一大难题。本篇综述探讨了胆管结石(包括原发性胆管结石和胆道支架复发结石)的形成机制, 尤其是胆道微生物在其中所起的作用, 并总结了抗菌型胆道支架的最新研究进展。

关键词

胆管结石, 胆道微生物, 胆道支架

Research Progress in the Formation Mechanism of Bile Duct Stones

Dan Huang, Xinjian Wan*

Digestive Endoscopic Center, Shanghai Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai

Received: Sep. 20th, 2023; accepted: Oct. 19th, 2023; published: Oct. 26th, 2023

Abstract

Bile duct stone is a refractory disease with high incidence and many complications in China, which forms secondary to bacterial infections and cholestasis. Endoscopic biliary stent implantation is an effective method for the treatment of bile duct stones, but the stone recurrence and stent obstruction caused by postoperative bacterial infection are still thorny problems. This article reviewed the mechanisms in the formation of bile duct stones (including primary bile duct stones and recurrent biliary stent stones), especially the role of biliary microbiota. The latest studies of antibacterial biliary stents were also summarized.

*通讯作者。

Keywords

Bile Duct Stones, Biliary Microbiome, Biliary Stents

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

胆石症(gallstone disease, GSD)是消化系统的常见病和多发病。多年来, GSD 一直是一个高成本、具有重大社会意义的公共卫生问题。随着胆结石的发展, 患者可能会出现恶心、上腹绞痛、腹泻、厌食等症状。最终, 胆结石阻塞可导致危及生命的疾病, 如急性胆管炎、急性胆囊炎和胆源性胰腺炎[1]。

GSD 可以发生在人体胆道的任何部位, 包括胆囊和胆管。胆管结石根据位置又可分为肝外胆管结石(胆总管结石)和肝内胆管结石(肝胆管结石)。胆结石是由胆固醇、脂肪酸、糖蛋白和胆红素、磷酸盐、碳酸盐、棕榈酸盐的钙化合物组成的结晶团块[2] [3]。结石根据胆固醇和胆红素的含量可分为胆固醇结石、胆红素结石和混合型结石[4]。其中, 胆红素结石又可分为两类: 棕色色素结石(brown pigment stones, BPS)和黑色色素结石。胆固醇结石由 50%~90%的胆固醇以及钙盐、糖蛋白和胆红素组成。BPS 主要由未结合的胆红素、棕榈酸盐、碳酸盐、磷酸盐和硬脂酸盐的钙盐组成, 并含有细菌、糖蛋白等成分[5]。黑色色素结石含有胆红素聚合物、碳酸钙或磷酸钙以及一些胆固醇, 不含细菌。胆固醇结石和黑色色素结石主要发生在胆囊内, 而 BPS 则是原发性胆管结石的主要类型。

长期以来, 胆管结石在我国一直是一种治疗费用高、难治且复发率高的疾病。对于胆管结石, 经内镜逆行胰胆管造影术(Endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)是一种有效且重要的方法[6], 并且 ERCP 治疗后经常需要植入胆道支架, 以便胆汁顺利排出和减轻炎症。胆道支架因其许多优异的性能而被广泛应用于临床, 但其放置在胆道后的通畅时间较短, 因此需要频繁更换支架以防止其堵塞。胆道支架堵塞的原因主要是支架内细菌感染和生物膜形成所致的结石复发。因此, 开发抗菌型胆道支架具有非常重要的临床意义。

本篇综述首先探讨了原发性胆管结石的病因及详细作用机制, 随后总结了胆道支架细菌感染的机制以及关于抗菌型胆道支架的研究进展。

2. 原发性胆管结石的形成机制

胆汁成分(即胆固醇或胆红素)失衡是导致胆道结石形成的主要机制。胆固醇结石和黑色色素结石的形成在很大程度上取决于宿主脂质稳态和胆红素代谢。相比之下, BPS 的形成与胆道感染密切相关, 与胆汁中的胆固醇失衡无关, 而是由于未结合的胆红素过多所致。BPS 在东方国家的发病率远高于西方国家[7]。在胆道并发细菌定植、胆道慢性炎症、胆道梗阻和胆汁瘀积以及营养和环境因素引起的胆汁成分改变等情况下, 通常会形成 BPS [8]。

2.1. 细菌感染

随着先进技术的发展, GSD 患者胆道微生物群的存在已经通过不同的方法得到证实, 包括电子显微镜、细菌学培养和分子遗传学方法[9]。不同类型结石患者胆汁中的细菌培养阳性率分别是 BPS (53%至

100%)、胆固醇结石(9%至 34%)和黑色色素结石(9%至 19.6%) [10]。由此可见, BPS 的形成与细菌的作用密切相关。

2.1.1. 胆道微生物的来源及种类

1) 胆道中细菌的来源

细菌有多种可能的胆道迁移和定植途径: a) 通过 Oddi 括约肌从十二指肠易位; b) 血行感染: 细菌通过门静脉系统进入肝脏, 然后再排泄到胆汁中。

其中, 十二指肠中肠道细菌的逆行感染被认为是胆道感染最可能的主要来源[11]。Oddi 括约肌生理性连接十二指肠和胆道系统, 是肠道微生物上行感染的重要通道。Oddi 括约肌松弛(sphincter of Oddi laxity, SOL)导致肠道细菌的上行回流增强, 胆道微环境改变[12] [13], 从而促进 GSD 的形成。胆道和十二指肠微生物高度同源支持 GSD 患者存在细菌性十二指肠 - 胆道反流的理论[8]。

2) 胆道中细菌的种类

许多细菌已通过培养或聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)的方法在胆汁或胆结石标本中被鉴定出来, 这些细菌被认为与胆结石的形成有关, 如大肠杆菌、克雷伯氏菌、粪肠球菌、肠杆菌和铜绿假单胞菌。近期的一项研究[11]表明胆汁中有与十二指肠相似的微生物组成, 并且胆总管 BPS 患者胆汁中的肠球菌含量显著升高。此外, Leung 等人[14]的一项研究发现肠球菌是一种从 BPS 中分离出来的可产生大量 β -葡萄糖醛酸酶(beta-glucuronidase, β -G)的细菌。众所周知, β -G 与 BPS 的形成密切相关[5]。因此, 这些结果表明肠球菌可能在 BPS 的形成中发挥重要作用。

2.1.2. 胆道环境与胆道微生物的关系

1) 胆道系统的抗菌作用

胆道系统通常通过胆汁的持续冲洗作用和胆盐的抑菌作用保持无菌状态。此外, Oddi 括约肌通过调节胰液和胆汁的排泄来调节胆道内压力, 从而防止十二指肠 - 胆道反流, 充当防止细菌入侵、防止肠道上行感染的解剖学屏障。

胆汁由多种成分组成, 包括蛋白质、离子、色素、胆固醇和各种胆盐。其中, 胆汁酸是胆盐的重要组成部分, 具有抗菌特性, 在防止细菌增殖中起着关键作用。胆汁酸可损伤细菌细胞膜和 DNA, 引起细菌细胞内蛋白质的异常凝固和变性以及诱发氧化应激。此外, 在肝内胆道系统中还存在着一些广泛表达的抗菌肽[7]。

2) 胆道微生物的耐受机制

这些机制包括: a) 外排泵: 由 AcrAB 基因编码的外排泵可清除细菌内的胆盐, 构成了细菌最有效的胆汁耐受机制。b) TolC 蛋白: TolC 是一种外膜孔蛋白, 可调节 Acr 系统的功能并决定其胆汁抵抗力。c) 孔蛋白: 细菌膜孔蛋白可影响胆汁酸穿过细菌膜。细菌对胆汁的敏感性与孔蛋白直径相关。OmpF 是一种直径较大的孔蛋白, 细菌膜表达 OmpF 时更容易受到胆汁的影响。d) 脂多糖(lipopolysaccharides, LPS): 对于革兰阴性菌, LPS 是外膜外层的主要成分。当 LPS 分子的脂质 A 锚定在膜内时, O 抗原暴露在膜表面, 是抵御外部环境的主要屏障。e) 胆盐的修饰: 胆盐是一种影响胆道微生物生存的环境压力, 其中结合胆汁酸对细菌有毒, 但细菌可以通过分解胆汁成分来增加抗生素耐药性。胆盐水解酶(bilesalt hydrolases, BSH)可由肠球菌、李斯特菌、梭菌、类杆菌和双歧杆菌等分泌。f) 生物膜: 生物膜可以保护细菌对抗高浓度胆盐、抗生素以及吞噬细胞的损害。

2.1.3. 胆道微生物在胆结石发病机制中的作用

胆道细菌感染已被证明是 BPS 发病机制中的初始事件。胆道细菌作为成核因子, 可以通过促进 BPS 成分的合成和诱导 BPS 成分的整合来协同促进结石形成。

除了 Maki [5]首先提出的细菌性 β -G 以外, 磷脂酶和糖蛋白也是 BPS 形成过程中相当重要的细菌相关因素[15] [16]。此外, BPS 形成过程中的一些新机制也不断被提出, 如前列腺素(prostaglandins, PG)、氧自由基(oxygen free radicals, OFR)和 LPS 等。

1) β -葡萄糖醛酸酶

细菌产生的外源性 β -G 对胆汁的去结合作用是 BPS 形成最为广泛接受的机制[5]。 β -G 是水解胆红素二葡萄糖苷酸的关键酶, 可释放游离胆红素和葡萄糖醛酸。游离胆红素可与游离钙离子沉淀形成胆红素钙, 进而引起成核和结石形成。胆红素钙是 BPS 的主要成分。此外, 胆红素钙晶体可与细菌产生的阴离子糖蛋白结合, 导致胆红素钙晶体聚集成肉眼可见的结石。

2) 磷脂酶

磷脂酰胆碱(phosphatidylcholine, PC)在胆汁中的主要功能是与胆汁酸和胆固醇形成混合胶束, 这对脂肪的乳化至关重要。此外, PC 对于胆道上皮细胞也具有保护作用。PC 减少会破坏胶束的形成, 导致胆汁酸单体的形成, 胆汁酸单体对胆管细胞膜的毒性更大, 可诱导炎症发生。

PC 可被胆道感染常见细菌所产生的磷脂酶水解, 释放出大量饱和和不饱和脂肪酸以及溶血卵磷脂。在 BPS 形成过程中磷脂酶 A1 比磷脂酶 A2 的作用更为重要。游离脂肪酸(free fatty acids, FFA)是 BPS 的成分之一, FFA 可促进黏液分泌, 因此被认为是一个成核因素[17]。棕榈酸也是通过该过程产生的饱和 FFA 之一, 它可以与钙离子结合形成棕榈酸钙, 组成 BPS 的另一个关键成分。

3) 糖蛋白

细菌 β -G 很可能在许多 BPS 患者的发病机制中发挥作用, 但是在胆结石和胆汁中发现的一些其他常见的胆道细菌却不产生 β -G, 例如克雷伯氏菌、肠球菌、肠杆菌和假单胞菌, 这表明 BPS 形成过程中还存在着一些其他重要的机制。

黏蛋白是一种高分子糖蛋白, 可作为整合因子将无定形物质凝聚, 是胆结石的重要成分。黏蛋白与钙结合蛋白的相互作用可能引发磷酸钙沉淀, 进而形成 BPS。溶血卵磷脂、FFA、PG 和 LPS 等均影响黏蛋白的分泌。细菌 LPS 和脂磷壁酸与胆管上皮细胞膜上的 Toll 样受体结合, 激活细胞内信号分子, 增加黏蛋白的表达和胆管上皮炎性细胞因子的产生, 与结石形成和慢性胆道炎症有关。

糖萼(多糖蛋白复合物)在 BPS 的发病机制中发挥着更为重要的作用[18]。糖萼是大多数胆道细菌产生的一种阴离子糖蛋白, 可作为 BPS 中胆红素钙晶体的粘结剂或凝聚剂。此外, 糖萼可有助于细菌抵抗吞噬、抗体、表面活性剂和抗生素的作用, 为细菌生长提供保护环境。生物膜的形成是细菌在 BPS 形成中发挥作用的另一种机制[19]。生物膜主要由胆红素钙、棕榈酸钙和糖萼组成, 它们是细菌分泌或酶作用的主要产物, 在这种情况下 β -G 的作用相对较小, 而糖萼则是凝聚因子, 是促进许多成分凝结和整合的关键, 负责胆红素的沉淀和随后的凝聚, 从而促进胆结石的形成。然而, 结石的产生又为胆道细菌的附着和增殖提供物理表面, 进而促进生物膜的形成。可形成生物膜的细菌主要有克雷伯氏菌和肠球菌[19]。

4) 细菌水解酶

胆汁酸在肝细胞内由胆固醇合成, 并与甘氨酸或牛磺酸结合, 然后随胆汁分泌到小肠, 在脂肪乳化和吸收中起主要作用。胆汁酸几乎均以共轭形式存在, 共轭增加了胆汁酸分子的极性, 从而增加了其溶解度和在溶液中形成胶束的能力。但是在 BPS 中存在一定数量的游离胆汁酸。细菌水解酶可催化甘氨酸或牛磺酸结合的胆盐发生去结合反应, 以促进主动和被动吸收游离胆汁酸, 从而为形成 BPS 提供足够的游离胆汁酸。

5) 其他因素

a) PG: 细菌感染引起胆道 PG 合成和分泌增加。PG 可促进胆囊中黏蛋白的分泌, 促进结石形成。b) OFR: 细菌感染引起的炎症过程与吞噬细胞浸润相关, 并产生具有杀菌作用的活性氧(reactive oxygen

species, ROS)。胆道感染所致的氧化应激可引起与胆结石形成有关的代谢变化。OFR 可促进糖蛋白分泌, 并参与 BPS 的形成。c) LPS: 不仅可以促进胆管上皮细胞黏蛋白的分泌[20], 还可刺激内源性 β -G (由肝细胞、胆囊黏膜和胆管上皮细胞分泌) [21], 可能与胆结石形成有关。

在胆结石形成过程中, 以上这些细菌产物或酶均可参与其中, 各因素之间的相互作用也与最终形成的结石类型密切相关[22]。产生 β -G、磷脂酶和糖萼的细菌主要诱导胆色素结石的形成, 诱导混合型结石的细菌主要产生 β -G 和磷脂酶, 仅产生糖萼的细菌通常促进胆固醇结石的形成。

2.2. 胆汁淤积

胆汁淤积是 BPS 形成的另一必要条件。在正常胆汁流动的条件下, 胆道呈无菌状态, 并且胆道微环境被认为对大多数细菌不利[23]。然而, 在发生胆道阻塞时, 细菌可能会在相对停滞的胆汁环境中停留、定植和复制。胆汁淤积时, 胆汁发生浓缩, 浓缩的胆汁可: 1) 不仅刺激胆管黏膜发生炎症变化, 使白细胞、纤维蛋白、脱落的上皮细胞更容易沉淀; 2) 还可增加未结合胆红素、钙、糖蛋白和胆汁酸的浓度, 从而促进 BPS 的形成[24]。然而, BPS 形成后又会导致胆汁淤积加重, 从而进一步促进细菌在胆道环境中定植和存活。

2.3. 胆汁成分改变

胆汁由多种大分子组成, 包括胆汁酸、游离胆固醇、磷脂、胆红素和无机离子[25]。胆汁具有生物洗涤剂以及乳化和溶解脂质的作用, 在脂肪消化中起着重要作用。胆汁中的主要成分是胆汁酸(含量超过 50%), PC 则是胆汁中最主要的磷脂成分。PC 和胆汁酸协同作用以增加胆固醇在胆汁中的溶解度, 帮助其分泌到胆道中。胆红素是血红素分解代谢的废物, 未结合胆红素是一种对正常组织具有疏水性和毒性的产物, 其在肝细胞内与葡萄糖醛酸结合形成结合胆红素, 亲水性增加, 并随胆汁排泄入胆道系统。

结合胆红素含量减少, 游离胆红素含量增加; 胆汁酸含量的下降; 钙盐过饱和等都是 BPS 形成的促发因素。庄文等[26]观察到在兔胆色素结石形成过程中存在肝细胞膜钙泵和钠泵活性下降的情况, 引起肝细胞钙增多, 从而导致胆汁中钙升高, 促进结石形成。此外, 胆小管膜中参与分泌的转运蛋白 - 多药耐药蛋白(multidrug resistance proteins, MRPs)的变化也可引起胆汁成分发生改变。

3. 胆道支架的应用

ERCP 以其手术创伤小、术后患者恢复快、治愈率高、住院时间短等优点被广泛应用于临床治疗 GSD [6], 但 ERCP 治疗后常出现胆总管结石复发、胰腺炎、出血、感染等术后并发症[27] [28]。ERCP 治疗后的患者通常需要放置胆道支架, 以促进胆道引流并减轻炎症。目前临床上使用的胆道支架包括塑料支架(plastic stent, PS)和自膨式金属支架(self-expandable metal stent, SEMS)。胆道支架放置的主要限制是支架堵塞。尽管 PS 具有成本低且操作简单的优点, 但由于直径小, 其放置于胆道后的通畅时间很短。据报道, PS 的平均通畅期为 80 天至 126 天, 并且通常需要每隔 3 个月更换一次支架以防止支架堵塞[29]。相比之下, SEMS 的管腔较宽, 不太容易发生堵塞, 支架通畅时间更长, 但是其价格昂贵。支架堵塞可继发急性胆管炎和脓毒症而危及患者生命。留置胆道支架引起的胆汁淤积、细菌感染和生物膜形成通常导致 ERCP 术后结石复发[30], 是支架堵塞的主要因素。因此, 开发理想的抗菌型胆道支架具有重要意义。

3.1. 胆道支架感染及堵塞的机制

支架堵塞是由胆泥沉积引起的, 胆泥由胆固醇结晶、胆红素钙和棕榈酸钙、细菌和/或真菌、蛋白质、膳食纤维和糖蛋白组成。这主要是由于胆道支架植入后会影胆道动力学, 容易导致胆汁浓缩, 进而导致胆汁淤积。此外, 胆道支架植入术可因 Oddi 括约肌功能丧失和胆道压力降低, 导致十二指肠细菌反流

进入胆道, 从而导致胆道感染。医疗相关器械上生物膜的形成是非常普遍的, 这将导致植入物和导管器械发生严重感染或反复感染[31]。

细菌与材料表面接触引起的感染过程可分为四个阶段[32]: 1) 细菌的粘附和增殖; 2) 细菌的聚集和积累形成多层细胞膜; 3) 细胞膜成熟; 4) 向外释放游离细菌和毒素。其中, 细菌粘附过程可分为两个阶段[24]。第1阶段是通过范德华力、疏水性、表面电荷和表面张力之间相互作用的可逆附着阶段。该过程是不确定的、选择性的和可逆的。第2阶段是细菌与材料或组织表面的结合分子之间发生特异性和非特异性相互作用的不可逆阶段。在第2阶段过程中, 细菌附着于组织表面, 并分泌大量胞外代谢物, 从而形成生物膜。细菌粘附是多种因素综合作用的结果, 如细菌的种类、细菌之间的相互作用、细菌的表面特性、材料表面的物理化学性质。材料的亲水表面有利于细菌粘附和生物膜形成, 而疏水表面可以有效抑制细菌的粘附以及生物膜形成[31]。因此, 细菌在不同材料胆道支架表面的粘附能力与粗糙度、表面能和化学结构密切相关。

细菌粘附是胆泥形成的驱动力, 对生物膜感染具有决定性作用。当支架植入胆道内时, 细菌通过菌毛和/或糖萼附着在支架表面, 然后进行增殖并分泌大量胞外代谢物(如胞外 DNA、蛋白质)形成生物膜[31]。因此, 生物膜的主要组成是细菌群落和细胞外聚合物。这些细菌通常来源于肠道, 80%以上的胆道支架感染患者胆道革兰阴性菌培养呈阳性。革兰阴性菌是胆道支架感染中最常见的细菌, 例如大肠杆菌(25%~50%)、克雷伯氏菌(15%~20%)和肠杆菌(5%~10%), 而肠球菌(10%~20%)是胆道支架感染中最常见的革兰阳性菌。Lübbert 等人[33]的研究表明肠球菌在胆道支架中细菌定殖和生物膜形成过程中起着重要作用。通过形成生物膜, 细菌可以获得各种生存和代谢优势, 有助于在营养匮乏环境中生存、抵抗环境压力和杀菌剂、抗生素。

细菌在支架表面定殖后, 在 β -G 和磷脂酶等作用下导致胆红素钙和棕榈酸钙沉淀, 从而引起 ERCP 术后结石复发以及支架堵塞。

3.2. 抗菌型胆道支架

支架堵塞的原因是细菌感染导致生物膜形成, 因此在支架表面形成生物膜之前预防细菌感染对于实现支架的长期通畅至关重要。各种抗菌和抗生物膜材料可影响微生物粘附、生长、增殖和存活。根据化学成分, 抗菌材料主要分为无机抗菌材料、有机抗菌材料和天然产物抗菌材料。

3.2.1. 无机材料

一般来说, 无机抗菌剂包括金属抗菌剂和光催化抗菌剂[34]。其中, 最常用于胆道支架抗菌涂层的材料是银(包括离子、纳米颗粒和金属), 其通过与膜、酶和核酸结合发挥作用, 具有广谱杀菌作用且毒性低[35] [36]。纳米银(silver nanoparticles, AgNPs)具有很强的抗菌杀菌作用, 抗菌谱广, 无耐药性, 安全性高, 其杀菌效果是普通银的数百倍, 具有传统无机抗菌剂无可比拟的抗菌效果[37]。AgNPs 材料已广泛应用于医学中以预防感染, 特别是在植入式装置中的应用。1992 年, Leung 等人[38]首次报道了用银作为抗菌活性材料包被胆道支架, 这种设计可以有效减少粘附细菌的数量。从那时起, 银与多种材料的结合被应用于胆道支架的抗菌涂层[39]。例如, Wen 等人[40]建立了猪的细菌性胆管炎模型, 结果显示 AgNPs 涂层支架组的炎症反应明显减轻且粘附在支架表面的细菌减少。此外, Park 等人[41]报道了一种 AgNPs 涂层的金属支架网可在兔体内抑制肝外胆管支架诱导的组织增生和胆泥沉积。随后, 该研究团队报道了一系列基于 AgNPs 涂层的胆道支架。具有 AgNPs 涂层的 SEMS 能够成功抑制射频消融后立即放置支架所引起的炎症和细菌(大肠杆菌)反应[42]。

3.2.2. 有机材料

有机抗菌材料主要有季磷酸盐、季铵盐、酚酯类、胍类、咪唑类等。其中, 季铵盐因其广泛的抗菌

活性以及抗结核、抗孢子、抗真菌、抗病毒特性而备受关注[43] [44]。Ren 等人[45]将季铵化合物接枝到聚偏氟乙烯膜上, 该薄膜可破坏细胞完整性, 具有非常优异的抗菌性能, 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑制率分别高达 98.3%和 98.5%。此外, 抗生素也是常见的有机抗菌材料。例如, Obermeier 等人[46]报道了一种基于聚乳酸的新型抗菌涂层用于制备 PS, 以防止 ERCP 术后胆管炎的发生。支架涂层中分别含有奥替尼啶(Resomer-octenidine, RO)、奥替尼啶和柠檬酸(Resomer-octenidine and citrate, ROC)、三氯生(Resomer-triclosan, RT)和庆大霉素(Resomer-gentamicin, RG), 其中含有 ROC 涂层的 PS 具有最好的抗菌效果和生物相容性。虽然有机抗菌材料具有更优异的抗菌性能, 但其不能直接混入薄膜母粒或覆盖于薄膜上, 因此难以实现工业化生产。

3.2.3. 天然材料

考虑到化学合成抗菌材料的潜在危害, 研究者们开始将目光转向无毒无害的天然抗菌材料[47]。这些抗菌材料大多数是从植物中提取的。例如, 壳聚糖和纤维素改性材料已被证实具有良好的抗菌作用[48] [49]。天然抗菌材料(如壳聚糖)的聚阳离子特性会干扰细菌表面的负电荷。壳聚糖与细胞膜之间的相互作用可通过阻断细菌的新陈代谢来改变细菌的渗透性或抑制细菌的生长。但是壳聚糖抗菌能力有限, 且仅在酸性条件下才有抗菌活性, 这些缺点也限制了其应用, 可通过对胆道支架的壳聚糖涂层进行化学改性(如季铵化和碘化)以提高其抗菌性能。

4. 总结

GSD 在世界范围内普遍存在, 在发达国家中胆固醇结石是最常见的胆结石类型, 相比之下, 亚洲人群胆色素结石(主要是 BPS)的发病率远远高于西方, 主要发生于胆管内。近年来国内外许多学者针对 BPS 的发病机制展开了广泛的研究。目前, 普遍认为 BPS 的形成是一种涉及细菌感染、胆汁淤积、胆汁成分改变等多因素多机制参与的、极为复杂的病理过程。其中, 胆道微生物在 BPS 的发病机制中起着关键作用, 对胆道微生物的干预可能有利于预防和治疗 GSD。ERCP 被广泛应用于临床治疗 GSD, 术后通常需要植入胆道支架。目前, 传统胆道支架仍然存在抗菌活性差和抗胆汁粘附性能差的问题, 容易出现结石复发和支架堵塞。支架内细菌感染和生物膜形成是其堵塞的主要原因。目前, 已经制备出各种胆道支架抗菌涂层来抑制支架细菌感染, 许多新的研究成果也在不断涌现, 我们相信这些成果将有助于大大提高患者的生活质量。

参考文献

- [1] Tanaka, H., Imasato, M., Yamazaki, Y., *et al.* (2018) Claudin-3 Regulates Bile Canalicular Paracellular Barrier and Cholesterol Gallstone Core Formation in Mice. *Journal of Hepatology*, **69**, 1308-1316. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.08.025>
- [2] Gurusamy, K.S. and Davidson, B.R. (2014) Gallstones. *The BMJ*, **348**, g2669. <https://doi.org/10.1136/bmj.g2669>
- [3] O'connell, K. and Brasel, K. (2014) Bile Metabolism and Lithogenesis. *Surgical Clinics of North America*, **94**, 361-375. <https://doi.org/10.1016/j.suc.2014.01.004>
- [4] Sun, H., Warren, J., Yip, J., *et al.* (2022) Factors Influencing Gallstone Formation: A Review of the Literature. *Biomolecules*, **12**, Article 550. <https://doi.org/10.3390/biom12040550>
- [5] Maki, T. (1966) Pathogenesis of Calcium Bilirubinate Gallstone: Role of *E. coli*, β -Glucuronidase and Coagulation by Inorganic Ions, Polyelectrolytes and Agitation. *Annals of Surgery*, **164**, 90-100. <https://doi.org/10.1097/00000658-196607000-00010>
- [6] Donato, G., Occhipinti, P., Correale, L., *et al.* (2021) A Prospective Study on Quality in Endoscopic Retrograde Cholangiopancreatography (ERCP): Trend in Italy from the REQUEST Study. *Endoscopy International Open*, **9**, E1563-E1571. <https://doi.org/10.1055/a-1531-4691>
- [7] Wang, Y., Qi, M., Qin, C. and Hong, J.B. (2018) Role of the Biliary Microbiome in Gallstone Disease. *Expert Review*

- of Gastroenterology & Hepatology*, **12**, 1193-1205. <https://doi.org/10.1080/17474124.2018.1533812>
- [8] Han, J., Wu, S., Fan, Y., Tian, Y. and Kong, J. (2021) Biliary Microbiota in Choledocholithiasis and Correlation with Duodenal Microbiota. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **11**, Article 625589. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.625589>
- [9] Ramana Ramya, J., Thanigai Arul, K., Epple, M., *et al.* (2017) Chemical and Structural Analysis of Gallstones from the Indian Subcontinent. *Materials Science and Engineering: C*, **78**, 878-885. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.04.004>
- [10] Binda, C., Gibiino, G., Coluccio, C., *et al.* (2022) Biliary Diseases from the Microbiome Perspective: How Microorganisms Could Change the Approach to Benign and Malignant Diseases. *Microorganisms*, **10**, Article 312. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10020312>
- [11] Kim, B., Park, J.S., Bae, J. and Hwang, N. (2021) Bile Microbiota in Patients with Pigment Common Bile Duct Stones. *Journal of Korean Medical Science*, **36**, e94. <https://doi.org/10.3346/jkms.2021.36.e94>
- [12] Liang, T., Su, W., Zhang, Q., *et al.* (2016) Roles of Sphincter of Oddi Laxity in Bile Duct Microenvironment in Patients with Cholangiolithiasis: From the Perspective of the Microbiome and Metabolome. *Journal of the American College of Surgeons*, **222**, 269-280e10. <https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2015.12.009>
- [13] Ye, F., Shen, H., Li, Z., *et al.* (2016) Influence of the Biliary System on Biliary Bacteria Revealed by Bacterial Communities of the Human Biliary and Upper Digestive Tracts. *PLOS ONE*, **11**, e0150519. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150519>
- [14] Leung, J.W., Liu, Y.L., Leung, P.S., *et al.* (2001) Expression of Bacterial β -Glucuronidase in Human Bile: An *in Vitro* Study. *Gastrointestinal Endoscopy*, **54**, 346-350. <https://doi.org/10.1067/mge.2001.117546>
- [15] Nakano, T., Yanagisawa, J. and Nakayama, F. (1988) Phospholipase Activity in Human Bile. *Hepatology*, **8**, 1560-1564. <https://doi.org/10.1002/hep.1840080615>
- [16] Paumgartner, G. and Sauerbruch, T. (1991) Gallstones: Pathogenesis. *Lancet*, **338**, 1117-1121. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(91\)91972-W](https://doi.org/10.1016/0140-6736(91)91972-W)
- [17] Halpern, Z., Goldman, G., Peled, Y., *et al.* (1992) Free Fatty Acids Have Nucleating Effects in Model Biles. *Liver*, **12**, 107-111. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0676.1992.tb00566.x>
- [18] Stewart, L., Ponce, R., Oesterle, A.L., Griffiss, J.M. and Way, L.W. (2000) Pigment Gallstone Pathogenesis: Slime Production by Biliary Bacteria Is More Important than β -Glucuronidase Production. *Journal of Gastrointestinal Surgery*, **4**, 547-553. [https://doi.org/10.1016/S1091-255X\(00\)80100-6](https://doi.org/10.1016/S1091-255X(00)80100-6)
- [19] Kose, S.H., Grice, K., Orsi, W.D., Ballal, M. and Coolen, M.J.L. (2018) Metagenomics of Pigmented and Cholesterol Gallstones: The Putative Role of Bacteria. *Scientific Reports*, **8**, Article No. 11218. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29571-8>
- [20] Wu, X., Yao, C., Kong, J., *et al.* (2021) Molecular Mechanism Underlying miR-130b-Sp1 Transcriptional Regulation in LPS-Induced Upregulation of MUC5AC in the Bile Duct Epithelium. *Molecular Medicine Reports*, **23**, Article No. 106. <https://doi.org/10.3892/mmr.2020.11745>
- [21] Yao, D., Dong, Q., Tian, Y., *et al.* (2018) Lipopolysaccharide Stimulates Endogenous β -Glucuronidase via PKC/NF- κ B/c-myc Signaling Cascade: A Possible Factor in Hepatolithiasis Formation. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **444**, 93-102. <https://doi.org/10.1007/s11010-017-3234-3>
- [22] Stewart, L., Griffiss, J.M., Jarvis, G.A. and Way, L.W. (2006) Biliary Bacterial Factors Determine the Path of Gallstone Formation. *The American Journal of Surgery*, **192**, 598-603. <https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2006.08.001>
- [23] Schneider, J., De Waha, P., Hapfelmeier, A., *et al.* (2014) Risk Factors for Increased Antimicrobial Resistance: A Retrospective Analysis of 309 Acute Cholangitis Episodes. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **69**, 519-525. <https://doi.org/10.1093/jac/dkt373>
- [24] Wu, T., Yang, Y., Su, H., *et al.* (2022) Recent Developments in Antibacterial or Antibiofilm Compound Coating for Biliary Stents. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **219**, Article ID: 112837. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2022.112837>
- [25] Chang, C.M., Chiu, T.H.T., Chang, C.C., *et al.* (2019) Plant-Based Diet, Cholesterol, and Risk of Gallstone Disease: A Prospective Study. *Nutrients*, **11**, Article 335. <https://doi.org/10.3390/nu11020335>
- [26] Zhuang, W., Xiao, L., Zuo, F., *et al.* (2002) [The Effects of Activities of Ca(2+)-ATPase and Na(+)-K(+)-ATPase in Plasma Membranes of Hepatocytes on the Formation of Calcium Bilirubinate Gallstone]. *Journal of West China University of Medical Sciences*, **33**, 262-264.
- [27] Zimmer, V. (2022) Direct Cholangioscopy Using a Standard-Size Gastroscope to Guide Mechanical Lithotripsy after Failed ERCP-Based Basket Capture. *Gastroenterología y Hepatología*, **45**, 559-560. <https://doi.org/10.1016/j.gastrohep.2021.02.015>

- [28] Bures, C., Seika, P., Veltzke-Schliecker, W., *et al.* (2019) Intra-gastric Single-Port Surgery (IGS) Accesses the Gastric remnant and Allows ERCP for Common Bile Duct Stones after RYGB: A Simple Solution for a Difficult Problem. *Surgery for Obesity and Related Diseases*, **15**, 1326-1331. <https://doi.org/10.1016/j.soard.2019.04.022>
- [29] Yamabe, A., Irisawa, A., Kunogi, Y., *et al.* (2021) Development of Biliary Stent Applying the Antibacterial Activity of Silver: A Literature Review. *Bio-Medical Materials and Engineering*, **32**, 63-71. <https://doi.org/10.3233/BME-201163>
- [30] Yu, C.J., Yeh, H.J., Chang, C.C., *et al.* (2021) Lightweight Deep Neural Networks for Cholelithiasis and Cholecystitis Detection by Point-of-Care Ultrasound. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, **211**, Article ID: 106382. <https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2021.106382>
- [31] Maayan, M., Mani, K.A., Yaakov, N., *et al.* (2021) Fluorine-Free Superhydrophobic Coating with Antibiofilm Properties Based on Pickering Emulsion Templating. *ACS Applied Materials & Interfaces*, **13**, 37693-37703. <https://doi.org/10.1021/acsmami.1c10125>
- [32] Kreve, S. and Reis, A.C.D. (2021) Bacterial Adhesion to Biomaterials: What Regulates This Attachment? A Review. *Japanese Dental Science Review*, **57**, 85-96. <https://doi.org/10.1016/j.jdsr.2021.05.003>
- [33] Lübbert, C., Wendt, K., Feisthammel, J., *et al.* (2016) Epidemiology and Resistance Patterns of Bacterial and Fungal Colonization of Biliary Plastic Stents: A Prospective Cohort Study. *PLOS ONE*, **11**, e0155479. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155479>
- [34] Zhang, E., Zhao, X., Hu, J., *et al.* (2021) Antibacterial Metals and Alloys for Potential Biomedical Implants. *Bioactive Materials*, **6**, 2569-2612. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2021.01.030>
- [35] Shi, A., Zhu, C., Fu, S., *et al.* (2020) What Controls the Antibacterial Activity of Ti-Ag Alloy, Ag Ion or Ti₂Ag Particles? *Materials Science and Engineering: C*, **109**, Article ID: 110548. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110548>
- [36] An, X., Liu, L., Schaefer, M., *et al.* (2021) α -Lipoic Acid Prevents Side Effects of Therapeutic Nanosilver without Compromising Cytotoxicity in Experimental Pancreatic Cancer. *Cancers*, **13**, Article 4770. <https://doi.org/10.3390/cancers13194770>
- [37] Smith, J.N., Thomas, D.G., Jolley, H., *et al.* (2018) All That Is Silver Is Not Toxic: Silver Ion and Particle Kinetics Reveals the Role of Silver Ion Aging and Dosimetry on the Toxicity of Silver Nanoparticles. *Particle and Fibre Toxicology*, **15**, Article No. 47. <https://doi.org/10.1186/s12989-018-0283-z>
- [38] Leung, J.W., Lau, G.T., Sung, J.J. and Costerton, J.W. (1992) Decreased Bacterial Adherence to Silver-Coated Stent Material: An *in Vitro* Study. *Gastrointestinal Endoscopy*, **38**, 338-340. [https://doi.org/10.1016/S0016-5107\(92\)70428-3](https://doi.org/10.1016/S0016-5107(92)70428-3)
- [39] Luo, H., Yin, X.Q., Tan, P.F., *et al.* (2021) Polymeric Antibacterial Materials: Design, Platforms and Applications. *Journal of Materials Chemistry B*, **9**, 2802-2815. <https://doi.org/10.1039/D1TB00109D>
- [40] Wen, W., Ma, L.M., He, W., *et al.* (2016) Silver-Nanoparticle-Coated Biliary Stent Inhibits Bacterial Adhesion in Bacterial Cholangitis in Swine. *Hepatobiliary & Pancreatic Diseases International*, **15**, 87-92. [https://doi.org/10.1016/S1499-3872\(15\)60410-6](https://doi.org/10.1016/S1499-3872(15)60410-6)
- [41] Park, W., Kim, K.Y., Kang, J.M., *et al.* (2020) Metallic Stent Mesh Coated with Silver Nanoparticles Suppresses Stent-Induced Tissue Hyperplasia and Biliary Sludge in the Rabbit Extrahepatic Bile Duct. *Pharmaceutics*, **12**, Article 563. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12060563>
- [42] Park, Y., Won, D.S., Bae, G.H., *et al.* (2022) Silver Nanofunctionalized Stent after Radiofrequency Ablation Suppresses Tissue Hyperplasia and Bacterial Growth. *Pharmaceutics*, **14**, Article 412. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14020412>
- [43] Padnya, P.L., Terenteva, O.S., Akhmedov, A.A., *et al.* (2021) Thiocalixarene Based Quaternary Ammonium Salts as Promising Antibacterial Agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **29**, Article ID: 115905. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115905>
- [44] Kliewer, S., Wicha, S.G., Bröker, A., *et al.* (2020) Contact-Active Antibacterial Polyethylene Foils via Atmospheric Air Plasma Induced Polymerisation of Quaternary Ammonium Salts. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **186**, Article ID: 110679. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110679>
- [45] Ren, L., Ping, M. and Zhang, X. (2020) Membrane Biofouling Control by Surface Modification of Quaternary Ammonium Compound Using Atom-Transfer Radical-Polymerization Method with Silica Nanoparticle as Interlayer. *Membranes*, **10**, Article 417. <https://doi.org/10.3390/membranes10120417>
- [46] Obermeier, A., Würstle, S., Tübel, J., *et al.* (2019) Novel Antimicrobial Coatings Based on Polylactide for Plastic Biliary Stents to Prevent Post-Endoscopic Retrograde Cholangiography Cholangitis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **74**, 1911-1920. <https://doi.org/10.1093/jac/dkz128>
- [47] Zhang, H., Qiu, T., Bai, Y., *et al.* (2021) Enhanced Antibacterial Activity of Lysozyme Loaded Quaternary Ammonium Chitosan Nanoparticles Functionalized with Cellulose Nanocrystals. *International Journal of Biological Macromolecules*, **191**, 71-78. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.09.027>
- [48] Peng, Y., Zhou, H., Wu, Y., *et al.* (2022) A New Strategy to Construct Cellulose-Chitosan Films Supporting

Ag/Ag₂O/ZnO Heterostructures for High Photocatalytic and Antibacterial Performance. *Journal of Colloid and Interface Science*, **609**, 188-199. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2021.11.155>

- [49] Wei, X., Cai, J., Wang, C., *et al.* (2022) Quaternized Chitosan/Cellulose Composites as Enhanced Hemostatic and Antibacterial Sponges for Wound Healing. *International Journal of Biological Macromolecules*, **210**, 271-281. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.05.007>