

ISSN 1009-3079 (print)
ISSN 2219-2859 (online)

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2020 年 12 月 28 日 第 28 卷 第 24 期 (Volume 28 Number 24)



24/2020

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议、开放获取和在线出版的学术刊物。本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录。



述评

- 1223 高甘油三酯血症性急性胰腺炎诊治进展
孙昀

基础研究

- 1229 胃食管反流病患者CYP2C19基因启动子的遗传变异和功能分析
王珏磊, 南寿山, 王柏清, 王超, 李朝霞, 窦广仙, 孙光斌
- 1235 下调CIC-3通过抑制细胞自噬增强结直肠癌细胞对奥沙利铂化疗敏感性
段琮, 陈斌辉, 林义

临床研究

- 1243 消化道异物的内镜取出109例临床总结
王寰, 林栋雷, 王晓枫, 屈亚威, 吴丽莎, 于鹏, 王伟岸
- 1249 新型抑酸剂沃诺拉赞与传统PPIs预防胃ESD术后迟发性出血和促进人造溃疡愈合比较的Meta分析: 2474例
陈旋, 徐梦婷, 文剑波

文献综述

- 1261 幽门螺杆菌感染与胃肠道微生态的关系
孙莹莹, 靖大道
- 1266 骶神经刺激的研究进展
张树辉, 陈艳

临床实践

- 1272 预切开内镜下黏膜切除术在结直肠侧向发育型肿瘤治疗中的应用价值
谈涛, 李蜀豫

消 息

- 1242 《世界华人消化杂志》栏目设置
1265 《肠道微生物与消化系统疾病》书讯
1271 《世界华人消化杂志》参考文献要求
1278 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

封面故事

阳学风, 南华大学附属南华医院消化内科博士、主任医师、教授、博士研究生导师, 教育部学位与研究生教育评审专家, 衡阳市领军人才, 衡阳市肝病专业委员会主任委员, 《世界华人消化杂志》、《中南医学科学》编委, 《临床肝胆病杂志》审稿专家. 主持国家、省自然科学基金等课题10余项, 发表学术论文110余篇. 培养硕士、博士研究生90余名.

本期责任人

编务 王栋梅; 送审编辑 张晗; 组版编辑 张砚梁; 英文编辑 王天奇;
形式规范审核编辑部主任 吴云晓健; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(半月刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2020-12-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编

党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科

姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

<https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

编辑部

马亚娟, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,

CA 94588, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,

CA 94588, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路
62号, 远洋国际中心D座903室
电话: +86-10-85381892

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录.

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<https://www.baishideng.com>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者和编者之间的信息反馈交流.

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.

定价

每期136.00元 全年24期3264.00元

© 2020 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.



Contents

Volume 28 Number 24 December 28, 2020

EDITORIAL

- 1223 Progress in diagnosis and treatment of hypertriglyceridemic acute pancreatitis

Sun Y

BASIC RESEARCH

- 1229 Functional genetic variations of *CYP2C19* promoter from patients with gastroesophageal reflux disease

Wang JL, Nan SS, Wang BQ, Wang C, Li ZX, Dou GX, Sun GB

- 1235 Down-regulation of CIC-3 enhances chemosensitivity of colorectal cancer cells to oxaliplatin by inhibiting autophagy

Duan Q, Chen BH, Lin Y

CLINICAL RESEARCH

- 1243 Endoscopic management of foreign bodies in the gastrointestinal tract: A retrospective study of 109 cases

Wang H, Lin DL, Wang XF, Qu YW, Wu LS, Yu P, Wang WA

- 1249 Meta-analysis of vonoprazan and PPIs in preventing delayed bleeding and facilitating ulcer healing after gastric endoscopic submucosal dissection

Chen X, Xu MT, Wen JB

REVIEW

- 1261 Relationship between *Helicobacter pylori* infection and gastrointestinal microecology

Sun YY, Jing DD

- 1266 Progress in research of sacral nerve stimulation

Zhang SH, Chen Y

CLINICAL PRACTICE

- 1272 Application value of pre-cutting endoscopic mucosal resection in treatment of colorectal laterally spreading tumors

Tan T, Li SY

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 28 Number 24 December 28, 2020

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Xue-Feng Yang, PhD, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Nanhua Hospital, Hengyang Medical College, University of South China, No.336 Dongfeng Road, Zhuhui District, Hengyang 421002, Hunan Province, China

Indexed/Abstracted by

Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, Abstract Journals, Scopus, CNKI, CSTJ and Superstar Journals Database.

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Dong-Mei Wang*

Review Editor: *Han Zhang*

Production Editor: *Yan-Liang Zhang*

English Language Editor: *Tian-Qi Wang*

Proof Editor: *Yun-Xiaojuan Wu*

Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date December 28, 2020

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

EDITOR-IN-CHIEF

Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

Jun-Ping Wang, Professor, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi,

Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Beijing Electric Power Hospital, Capital Medical University, Beijing 100073, China

EDITORIAL BOARD MEMBERS

All editorial board members resources online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

EDITORIAL OFFICE

Ya-Juan Ma, Director

World Chinese Journal of Digestology

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-85381892

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 136 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2020 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this open access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT

All articles published in journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, but not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/Nav/36>. If you do not have web access, please contact the editorial office.

胃食管反流病患者CYP2C19基因启动子的遗传变异和功能分析

王珏磊, 南寿山, 王柏清, 王超, 李朝霞, 窦广仙, 孙光斌

王珏磊, 南寿山, 王柏清, 王超, 李朝霞, 窦广仙, 孙光斌, 天津市第五中心医院消化内科 天津市 300450

王珏磊, 住院医师, 2013年解放军总医院硕士, 主要从事胃食管反流病的诊断与治疗方面的工作。

基金项目: 天津市滨海新区卫生和计划生育委员会科技项目, No. 2018BWKY025.

作者贡献分布: 此课题由王珏磊与孙光斌设计; 研究过程由王珏磊、王柏清、王超及李朝霞操作完成; 研究所用试剂由窦广仙提供; 数据分析由王珏磊与南寿山完成; 本论文写作由王珏磊完成。

通讯作者: 孙光斌, 主任医师, 天津市滨海新区浙江路41号, 天津市第五中心医院消化内科. sun19660901@sina.com

收稿日期: 2020-08-25

修回日期: 2020-10-14

接受日期: 2020-11-24

在线出版日期: 2020-12-28

Functional genetic variations of CYP2C19 promoter from patients with gastroesophageal reflux disease

Jue-Lei Wang, Shou-Shan Nan, Bai-Qing Wang, Chao Wang, Zhao-Xia Li, Guang-Xian Dou, Guang-Bin Sun

Jue-Lei Wang, Shou-Shan Nan, Bai-Qing Wang, Chao Wang, Zhao-Xia Li, Guang-Xian Dou, Guang-Bin Sun, Department of Gastroenterology, The Fifth Central Hospital of Tianjin, Tianjin 300450, China

Supported by: Science and Technology Project of Tianjin Binhai New Area Health and Family Planning Commission, No. 2018BWKY025.

Corresponding author: Guang-Bin Sun, Chief Physician, Department of Gastroenterology, The Fifth Central Hospital of Tianjin, No. 41 Zhejiang Road, Binhai New Area, Tianjin 300450, China. sun19660901@sina.com

Received: 2020-08-25

Revised: 2020-10-14

Accepted: 2020-11-24

Published online: 2020-12-28

Abstract BACKGROUND

Gastroesophageal reflux disease (GERD) is a chronic, progressive condition, and its prevalence is increasing worldwide. The risk factors for GERD are complex and the pathogenesis of GERD has not been fully elucidated. As acid-suppressive drugs, proton pump inhibitors (PPIs) are commonly used to treat GERD; after being metabolized by CYP2C19 in the human liver, the blood concentration of PPIs gradually decreases. Previous studies have shown that CYP2C19 gene polymorphism leads to considerable individual differences of PPIs in terms of metabolic rate and efficacy.

AIM

To identify potential variations in CYP2C19 promoter from patients (normal metabolizers, NMs, *1/*1) with GERD, verify the activity of promoter with variations in HEK 293T, and analyze the correlation between variations in CYP2C19 promoter and PPI treatment effect for GERD in the Chinese population.

METHODS

A total of 163 patients with sporadic GERD were collected. After diagnostic treatment with PPIs, the symptom score decreased by 50%, but the symptoms did not completely disappear in the study group ($n = 82$). In the control group ($n = 81$), the symptoms completely disappeared after treatment. The CYP2C19 genotype of all patients was detected as *1/*1. The PCR and Sanger sequencing were used to identify variations in the

CYP2C19 promoter. The luciferase activities of pGL3 basic-CYP2C19 promoters with or without variation were detected by dual-luciferase assay.

RESULTS

Three novel heterozygous variations were identified in the CYP2C19 gene promoters isolated from three NM patients with GERD: g.94761364 T>A, g.94762112 T>A, and g.94762514 G>T. Compared to the wild type, the transcriptional activity of the CYP2C19 promoter with g.94761364 T>A was significantly increased ($P = 0.034$).

CONCLUSION

The transcriptional activity of the CYP2C19 promoter is significantly increased in the presence of g.94761364 T>A, which may further affect the metabolism and blood concentration of PPIs. This finding provides a new insight for the medication and treatment of GERD patients in the Chinese population.

© The Author(s) 2020. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gastroesophageal reflux disease; CYP2C19 promoter; Variations; Proton pump inhibitors

Citation: Wang JL, Nan SS, Wang BQ, Wang C, Li ZX, Dou GX, Sun GB. Functional genetic variations of CYP2C19 promoter from patients with gastroesophageal reflux disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2020; 28(24): 1229-1234
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v28/i24/1229.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v28.i24.1229>

摘要

背景

胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)是一种慢性疾病,其发病率在世界范围内呈上升趋势。质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPIs)作为抑酸药物,在临床上常用于治疗GERD,经肝脏中CYP2C19代谢后,血药浓度逐渐降低。先前的研究已证明CYP2C19基因多态性导致PPIs在代谢速率、半衰期和药效等方面个体差异大,影响疗效。

目的

筛选正常代谢型(*1/*1)的GERD患者CYP2C19基因启动子区的变异,并在细胞水平验证基因变异对启动子功能的影响,进而分析CYP2C19启动子区功能改变与GERD经PPIs治疗效果的相关性。

方法

收集入院治疗的散发性GERD患者全血163例,实验组患者经PPIs诊断性治疗后,症状积分降低>50%,症状未完全消失($n = 82$);对照组患者治疗后症状完全消失($n = 81$);全部患者CYP2C19基因型经检测为

*1/*1。利用PCR扩增并结合Sanger测序筛选入组患者CYP2C19启动子区的基因变异;将CYP2C19启动子片段(野生型/变异型)克隆至pGL3 basic载体,并转染HEK 293T细胞,通过双荧光素酶报告基因系统,检测基因变异对启动子功能的影响。

结果

我们在3个正常代谢型GERD患者的CYP2C19基因启动子中分别发现了3个新的杂合变异: g.94761364 T>A, g.94762112 T>A, g.94762514 G>T;与野生型相比,携带g.94761364 T>A变异的CYP2C19启动子的转录活性显著升高($P = 0.034$)。

结论

变异位点g.94761364 T>A使得CYP2C19启动子转录活性在细胞水平升高,可能会进一步影响PPIs的代谢和血药浓度,这一发现为中国人人群中GERD患者的临床用药和治疗提供了新的思路。

© The Author(s) 2020. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 胃食管反流病; CYP2C19启动子; 基因变异; 质子泵抑制剂

核心提要: 本研究在3例正常代谢型胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)患者的CYP2C19基因启动子区发现的3个基因变异,均在细胞水平下调了CYP2C19启动子转录活性,可能进一步影响质子泵抑制剂的代谢和治疗效果,这一发现为中国人人群中GERD患者的临床用药和治疗提供了新的思路。

文献来源: 王珏磊, 南寿山, 王柏清, 王超, 李朝霞, 奚广仙, 孙光斌. 胃食管反流病患者CYP2C19基因启动子的遗传变异和功能分析. *世界华人消化杂志* 2020; 28(24): 1229-1234

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v28/i24/1229.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v28.i24.1229>

0 引言

胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)是一种常见的慢性进行性消化系统疾病,主要表现为胃内容物反流而引起的不适症状或并发症。近些年,GERD的发病率在世界范围内呈上升趋势^[1,2]。一项基于全球范围内GERD发病率的系统性回顾分析显示,北美发病率为18.1%-27.8%,欧洲8.8%-25.9%,东亚2.5%-7.8%,中东8.7%-33.1%,澳大利亚11.6%,南美23.0%^[3]。我国因上消化道症状于消化科门诊就诊的GERD患者占13%^[4]。

GERD的诊断主要依赖于上消化道内镜检查、食管高分辨测压、食管24 h pH-阻抗监测等^[5]。GERD典型症状为反酸、烧心,常伴有胸痛、嗝气、恶心、吞咽困

难等, 亦可伴有食管外症状如胸痛、咳嗽、哮喘、喉炎、牙蚀症等, 常见的并发症为反流性食管炎、消化道出血、消化道狭窄、Barrett食管和腺癌^[6]。GERD的危险因素复杂, 可大致分为环境因素和遗传因素, 包括吸烟、饮酒、幽门螺杆菌感染、心理因素、肥胖、年龄、性别、基因突变等^[7-9]。

质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPIs)是临床上用于GERD治疗的主要药物, 其中奥美拉唑、兰索拉唑、泮托拉唑等第一代PPIs, 通过抑制胃壁上分泌胃酸的质子泵发挥抑酸作用, 经肝脏中CYP2C19代谢后, 血药浓度逐渐降低^[10]。既往研究表明, CYP2C19基因具有高度多态性, 已发现超过25个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)^[11]。CYP2C19基因多态性与药物代谢能力相关, 显著影响PPIs如奥美拉唑、兰索拉唑、泮托拉唑等, 抗血小板药物氯吡格雷和部分抗抑郁药物的疗效和安全性^[11-14]。CYP2C19基因分型不同的患者, 其PPIs的药代动力学改变较大, 进而影响了GERD的治疗^[15]。中国人群中CYP2C19基因多态性位点主要包括*2 (G681A)、*3 (G636A), 这两个突变位点均可导致CYP2C19酶活性降低; 没有突变的野生型以*1表示。按照药物代谢动力学特征, 不同基因型对应的代谢类型分别为正常代谢型(*1/*1; normal metabolizers, NMs), 中间代谢型(*1/*2, *1/*3; intermediate metabolizers, IMs), 慢代谢型(*2/*2, *2/*3, *3/*3; poor metabolizers, PMs)^[16]。但是在临床上, 我们发现部分正常代谢型GERD患者, 经PPIs诊断性治疗后效果不明显, 说明可能还有其他因素发挥作用。

基因启动子区是控制基因表达的重要调控元件; CYP2C19启动子区如发生基因变异, 可能影响基因表达, 进而改变其生物学功能。在本研究中, 我们将筛选正常代谢型GERD患者CYP2C19基因启动子区的潜在变异, 并在细胞水平验证基因变异对CYP2C19启动子功能的影响, 进而分析CYP2C19启动子区功能改变与GERD患者经PPI治疗效果的相关性, 为中国人人群中GERD患者的临床用药和治疗提供了新的思路。

1 材料和方法

1.1 材料 研究对象: 收集2019-01/2020-06来我院治疗的经胃镜或24 h食管pH-阻抗监测确诊的散发性GERD患者全血163例, 经奥美拉唑2倍剂量治疗2 wk, 按烧心症状的严重程度及频率评分。其中实验组患者经PPIs诊断性治疗后, 症状积分降低>50%, 症状未完全消失($n=82$); 对照组患者治疗后症状完全消失($n=81$)。全部患者CYP2C19基因型经检测为*1/*1, 并按照种族、性别和年龄进行匹配。本研究方案符合《赫尔辛基宣言》的原

则, 经天津市第五中心医院人类伦理委员会批准, 所有受试者均获得知情同意。

1.2 方法 DNA序列分析及基因变异筛选: 按照BloodZol试剂盒(北京全式金生物科技有限公司)说明书操作, 从全部样本的外周血淋巴提取细胞基因组DNA。参考NCBI中从人类CYP2C19基因序列(NCBI, NC_000010.11), 设计PCR引物, 扩增CYP2C19基因启动子区(1665bp); PCR产物经ABI 3730基因分析仪进行Sanger测序分析并筛选基因变异。扩增和测序用引物序列在表1中。

1.3 细胞转染和双荧光素酶报告基因检测 将CYP2C19基因启动子片段(野生型/变异型)克隆到萤火虫荧光素酶报告基因载体pGL3 basic, 并分别转染HEK 293T细胞; 作为内参质粒, 表达海肾萤光素酶的载体pRL-TK同时进行共转染。细胞转染48 h后, 按照双荧光素酶报告基因检测试剂盒(北京全式金生物科技有限公司)操作说明, 检测萤火虫和海肾萤光素酶的荧光值。

统计学处理 以测定的萤火虫萤光素酶荧光值除以海肾萤光素酶的荧光值, 得到相对荧光值来反映CYP2C19基因启动子的转录活性, 所有的实验均独立进行3次。数据采用非配对t检验进行处理和分析, P 值小于0.05被认为具有统计学意义。

2 结果

2.1 3个新的基因变异被发现 本研究从3例实验组GERD患者CYP2C19基因(*1/*1)启动子序列中分别筛查并发现了3个新发杂合变异, g.94761364 T>A, g.94762112 T>A和 g.94762514 G>T, Sanger测序峰图如图1所示; 对照中没有发现基因变异。经NCBI dbSNP和PubMed数据库搜索比对, 这3个基因变异均未曾报道过。

2.2 双荧光素酶报告基因检测 为了研究CYP2C19启动子区的3个基因变异对其转录活性的影响, 我们构建了表达载体pGL3 basic-CYP2C19启动子(野生型/变异型), 并与内参质粒pRL-TK分别共转染到HEK 293T细胞中, 48 h后检测双荧光素酶的相对荧光值, 分别为pGL3-basic (0.31); pGL3-CYP2C19 (4.21); pGL3-94761364A (4.47); pGL3-94762112A (3.97); pGL3-94762514T (3.89), 用于评价CYP2C19启动子的转录活性。结果如图2所示, 携带基因变异的CYP2C19启动子的活性均受到影响; 其中携带94761364A变异位点的CYP2C19启动子, 与野生型相比, 其活性显著升高($P=0.034$)。

3 讨论

GERD是一种多因素疾病, 发病机制复杂。随着高通量测序技术的快速发展和测序成本的降低, 通过测序直接

表 1 用于PCR和Sanger测序的引物序列

| 引物名称 | 序列 | 长度(bp) |
|-------------------|-------------------------------------|--------|
| CYP2C19 promoter | F: 5'-AGACACCATGTTCTTGGCTACAG-3' | 1665 |
| | R: 5'-CTCCTCTTGTTAAGACAACCGT-3' | |
| | SF1: 5'-ACTGAATCACGAAATACTGAACCA-3' | 693 |
| Sanger sequencing | SR1: 5'-CTCCTGGTCTCCTCCAGACA-3' | 516 |
| | SF2: 5'-GACCAGGAGGTCAAGAAGCC-3' | |
| | SR2: 5'-ACACCTTTACCATTAAACCCCT-3' | 658 |
| | SF3: 5'-AGGGGGTTAAATGGTAAAGGTGT-3' | |
| | SR3: 5'-AGCACAAGGACCACAAAAGGA-3' | |

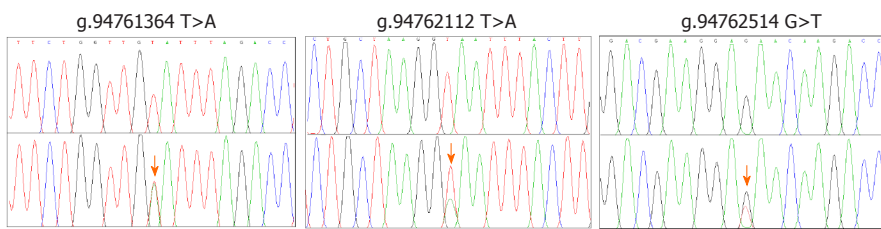
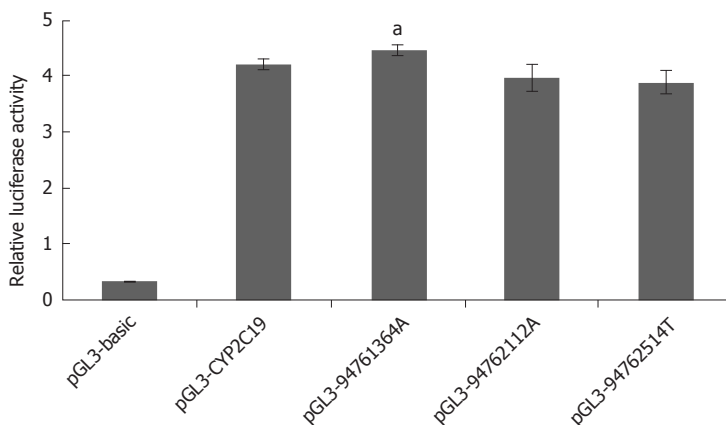


图 1 Sanger测序色谱图, 在3例胃食管反流病患者的CYP2C19启动子中发现了3个新的变异. 图中顶部为野生型, 底部为杂合型, 箭头指示突变套峰.

图 2 pGL3-CYP2C19启动子(野生型/变异型)的相对荧光素酶活性. ^a $P < 0.05$.

分析GERD的遗传因素成为可能, 越来越多与GERD发病相关的基因多态性或变异被发现^[17].

近期研究表明, 人的GNB3基因发生突变后, 将通过介导食管初级传入纤维末梢和中心对内脏刺激的反应, 从而提高食管黏膜对胃酸的敏感性, 可能成为GERD易感人群^[18]. 白细胞介素-1 (IL-1)基因多态性及其单倍型与GERD的发生密切相关, GERD患者中IL-1基因TCCL单体型频率明显高于对照组($P = 0.016$); 同时, GERD患者与对照组之间IL-1RN 1/2基因型差异有统计学意义^[19]. Lam发现FOXF1 rs9936833 (C allele)和MHC rs9257809 (A allele)的基因多态性与胃酸反流的存在相关性, 有可能是一个潜在的遗传水平的GERD发

病机制^[20]. BARX1基因和ADAMTS17基因在食管分化中起重要作用, Argrou对来自希腊人群的160名GERD患者和180名健康对照受试者进行了前瞻性队列研究, 发现了BARX1和ADAMTS17基因多态性(rs11789015和rs4965272)与GERD的发生发展显著相关^[21].

细胞色素P450酶系(CYP450)对目前临床广泛使用的约70-80%的药物代谢起重要作用. CYP2C19作为重要的药物代谢酶, 是CYP450超家族成员之一, 参与约10%药物的体内代谢^[22,23]. CYP2C19基因多态性显著影响许多药物的疗效和安全性. 例如, BMS-823778是治疗2型糖尿病的潜在候选药物, CYP2C19基因多态性显著影响该药物的在生物体内的代谢途径^[13]. CYP2C19基

因型与氯吡格雷的抗凝作用密切相关, 部分患者(*2/*2, *2/*3, *3/*3) 服用常规剂量氯吡格雷后会发生血栓性心血管不良事件; 因此, 对于经皮冠状动脉介入治疗合并药物洗脱支架植入术后的冠状动脉疾病患者, 在使用氯吡格雷药物前, 对患者进行CYP2C19基因多态性检测, 并指导其调整用药剂量, 具有重要的临床意义^[24]。

CYP2C19基因型与大多数主要通过CYP2C19代谢为非活性代谢物的PPIs的使用剂量、疗效和副作用密切相关。利用CYP2C19基因型数据指导PPI治疗的潜在好处包括: (1)通过基因型预测较低血药浓度的患者, 为其开出更高剂量的处方, 从而增加疗效的可能性; (2)通过基因型预测较高血药浓度的慢性治疗患者, 为其开出低剂量的处方, 以尽量减少与长期使用PPIs相关的毒性风险^[25]。

在本研究中, 我们分别在3例散发性正常代谢型(*1/*1) GERD患者CYP2C19启动子基因序列中发现了3个新的杂合变异。细胞功能验证结果表明, 三种变异均导致CYP2C19基因启动子转录活性的改变, 其中携带94761364 T>A变异位点的CYP2C19启动子, 其转录活性比野生型显著升高($P = 0.034$), 有可能加快PPIs的代谢, 并降低血药浓度, 可能是患者治疗效果较差的因素之一; 临床上可考虑更换非酶途径代谢的药物如雷贝拉唑等, 开展进一步治疗。

4 结论

本实验的结果表明, CYP2C19启动子区碱基发生变异, 也可能导致CYP2C19酶活性的改变, 具有一定的临床意义, 这一发现为中国人人群中GERD患者的临床指导用药和治疗提供了新的思路。

文章亮点

实验背景

胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)是一种慢性疾病, 主要治疗方法为口服质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPIs), 临床上常用的第一代PPIs, 经肝脏中CYP2C19代谢, 血药浓度逐渐降低。先前的研究已证明CYP2C19基因多态性导致PPIs在代谢速率、半衰期和药效等方面个体差异大, 影响疗效。

实验动机

基因启动子区是控制基因表达的重要调控元件; CYP2C19启动子区如发生基因变异, 可能影响基因表达, 进而改变其生物学功能及PPIs在体内的代谢速率。

实验目标

在本研究中, 我们将筛选正常代谢型(*1/*1)的GERD患者CYP2C19基因启动子区的变异, 并在细胞水平验证基因变异对启动子功能的影响, 进而分析CYP2C19启动子区功能改变与GERD经PPIs治疗效果的相关性。

实验方法

收集入院治疗的散发性GERD患者全血163例, 实验组患者经PPIs诊断性治疗后, 症状积分降低>50%, 症状未完全消失($n = 82$); 对照组患者治疗后症状完全消失($n = 81$); 全部患者CYP2C19基因型经检测为*1/*1。利用PCR扩增并结合Sanger测序筛选入组患者CYP2C19启动子区的基因变异; 将CYP2C19启动子片段克隆至pGL3 basic载体, 并转染HEK 293T细胞, 检测基因变异对启动子功能的影响。

实验结果

本研究在3个正常代谢型GERD患者的CYP2C19基因启动子中分别发现了3个新的杂合变异: g.94761364 T>A, g.94762112 T>A, g.94762514 G>T; 与野生型相比, 携带g.94761364 T>A变异的CYP2C19启动子的转录活性显著升高($P = 0.034$)。

实验结论

CYP2C19启动子区碱基发生变异可能影响其转录活性, 进而改变PPIs的代谢和血药浓度, 这一发现为中国人人群中GERD患者的临床用药和治疗提供了新的思路。

展望前景

本研究主要在分子和细胞水平对CYP2C19启动子区功能改变与GERD经PPIs治疗效果的相关性进行了研究, 具有一定的临床意义, 将为GERD的分子诊疗提供一定的理论依据。

5 参考文献

- Jeong ID. A Review of Diagnosis of GERD. *Korean J Gastroenterol* 2017; 69: 96-101 [PMID: 28239077 DOI: 10.4166/kjg.2017.69.2.96]
- Surdea-Blaga T, Negrutiu DE, Palage M, Dumitrascu DL. Food and Gastroesophageal Reflux Disease. *Curr Med Chem* 2019; 26: 3497-3511 [PMID: 28521699 DOI: 10.2174/0929867324666170515123807]
- El-Serag HB, Sweet S, Winchester CC, Dent J. Update on the epidemiology of gastro-oesophageal reflux disease: a systematic review. *Gut* 2014; 63: 871-880 [PMID: 23853213 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-304269]
- 周丽雅, 郝建宇, 李兆申, 陈旻湖, 姜泊, 李瑜元, 侯晓华, 唐承薇, 王邦茂, 牛占岳, 薛艳, 林三仁. 胃食管反流病量表和

- 质子泵抑制剂试验对胃食管反流病的诊断价值的多中心研究. 中华消化杂志 2016; 36: 241-245 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1432.2016.04.008]
- 5 Kethman W, Hawn M. New Approaches to Gastroesophageal Reflux Disease. *J Gastrointest Surg* 2017; 21: 1544-1552 [PMID: 28623447 DOI: 10.1007/s11605-017-3439-5]
- 6 林果为, 王吉耀, 葛均波. 实用内科学(15版). 北京: 人民卫生出版社 2017; 1494
- 7 Kellerman R, Kintanar T. Gastroesophageal Reflux Disease. *Prim Care* 2017; 44: 561-573 [PMID: 29132520 DOI: 10.1016/j.pop.2017.07.001]
- 8 Hunt R, Armstrong D, Katelaris P, Afihene M, Bane A, Bhatia S, Chen MH, Choi MG, Melo AC, Fock KM, Ford A, Hongo M, Khan A, Lazebnik L, Lindberg G, Lizarzabal M, Myint T, Moraes-Filho JP, Salis G, Lin JT, Vaidya R, Abdo A, LeMair A; Review Team.. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines: GERD Global Perspective on Gastroesophageal Reflux Disease. *J Clin Gastroenterol* 2017; 51: 467-478 [PMID: 28591069 DOI: 10.1097/MCG.0000000000000854]
- 9 Chen J, Brady P. Gastroesophageal Reflux Disease: Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment. *Gastroenterol Nurs* 2019; 42: 20-28 [PMID: 30688703 DOI: 10.1097/SGA.0000000000000359]
- 10 Jonaitis P, Jonaitis L, Kupcinskas J. Role of Genetic Polymorphisms of Cytochrome P450 2C19 in Pantoprazole Metabolism and Pantoprazole-based Helicobacter pylori Eradication Regimens. *Curr Drug Metab* 2020; [PMID: 32402766 DOI: 10.2174/1389200221666200514081442]
- 11 Scott SA, Sangkuhl K, Gardner EE, Stein CM, Hulot JS, Johnson JA, Roden DM, Klein TE, Shuldiner AR; Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for cytochrome P450-2C19 (CYP2C19) genotype and clopidogrel therapy. *Clin Pharmacol Ther* 2011; 90: 328-332 [PMID: 21716271 DOI: 10.1038/clpt.2011.132]
- 12 Karaźniewicz-Łada M, Krzyżańska D, Danielak D, Rzeźniczak J, Głowska F, Słomczyński M, Burchardt P. Impact of genetic variants of selected cytochrome P450 isoenzymes on pharmacokinetics and pharmacodynamics of clopidogrel in patients co-treated with atorvastatin or rosuvastatin. *Eur J Clin Pharmacol* 2020; 76: 419-430 [PMID: 31897532 DOI: 10.1007/s00228-019-02822-x]
- 13 Cheng Y, Wang L, Iacono L, Zhang D, Chen W, Gong J, Humphreys WG, Gan J. Clinical significance of CYP2C19 polymorphisms on the metabolism and pharmacokinetics of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type-1 inhibitor BMS-823778. *Br J Clin Pharmacol* 2018; 84: 130-141 [PMID: 28850715 DOI: 10.1111/bcp.13421]
- 14 Zhu WY, Zhao T, Xiong XY, Li J, Wang L, Zhou Y, Gong ZL, Cheng SY, Liu Y, Shuai J, Yang QW. Association of CYP2C19 Polymorphisms with the Clinical Efficacy of Clopidogrel Therapy in Patients Undergoing Carotid Artery Stenting in Asia. *Sci Rep* 2016; 6: 25478 [PMID: 27137706 DOI: 10.1038/srep25478]
- 15 Zheng CL, Alzghari SK. Putting Out the Fire: The Relationship of Pharmacogenetics and Proton Pump Inhibitors for the Treatment of Gastroesophageal Reflux Disease. *Cureus* 2018; 10: e2687 [PMID: 30050742 DOI: 10.7759/cureus.2687]
- 16 冯栋材, 韩业晨, 谢洪智. CYP2C19基因分型对氯吡格雷高反应性的影响. 中国医师杂志 2020; 22: 794-797
- 17 Böhmer AC, Schumacher J. Insights into the genetics of gastroesophageal reflux disease (GERD) and GERD-related disorders. *Neurogastroenterol Motil* 2017; 29: [PMID: 28132438 DOI: 10.1111/nmo.13017]
- 18 Patel A, Hasak S, Nix BD, Sayuk GS, Newberry RD, Gyawali CP. Genetic risk factors for perception of symptoms in GERD: an observational cohort study. *Aliment Pharmacol Ther* 2018; 47: 289-297 [PMID: 29148080 DOI: 10.1111/apt.14414]
- 19 Izakovicova Holla L, Borilova Linhartova P, Hrdlickova B, Marek F, Dolina J, Rihak V, Kala Z. Haplotypes of the IL-1 gene cluster are associated with gastroesophageal reflux disease and Barrett's esophagus. *Hum Immunol* 2013; 74: 1161-1169 [PMID: 23806268 DOI: 10.1016/j.humimm.2013.06.026]
- 20 Lam C, Liu WF, Bel RD, Chan K, Miller L, Brown MC, Chen Z, Cheng D, Patel D, Xu W, Darling GE, Liu G. Polymorphisms of the FOXP1 and MHC locus genes in individuals undergoing esophageal acid reflux assessments. *Dis Esophagus* 2017; 30: 1-7 [PMID: 26822871 DOI: 10.1111/dote.12456]
- 21 Argyrou A, Legaki E, Koutserimpas C, Gazouli M, Papaconstantinou I, Gkiokas G, Karamanolis G. Polymorphisms of the BARX1 and ADAMTS17 Locus Genes in Individuals With Gastroesophageal Reflux Disease. *J Neurogastroenterol Motil* 2019; 25: 436-441 [PMID: 31048564 DOI: 10.5056/jnm18183]
- 22 Lan T, Yuan LJ, Hu XX, Zhou Q, Wang J, Huang XX, Dai DP, Cai JP, Hu GX. Effects of CYP2C19 variants on methadone metabolism in vitro. *Drug Test Anal* 2017; 9: 634-639 [PMID: 27199033 DOI: 10.1002/dta.1997]
- 23 Damkier P, Kjærsgaard A, Barker KA, Cronin-Fenton D, Crawford A, Hellberg Y, Janssen EAM, Langefeld C, Ahern TP, Lash TL. CYP2C19*2 and CYP2C19*17 variants and effect of tamoxifen on breast cancer recurrence: Analysis of the International Tamoxifen Pharmacogenomics Consortium dataset. *Sci Rep* 2017; 7: 7727 [PMID: 28798474 DOI: 10.1038/s41598-017-08091-x]
- 24 Zhong Z, Hou J, Zhang Q, Li B, Li C, Liu Z, Yang M, Zhong W, He X, Wu H, Zhong M, Zhao P. Effect of cytochrome P450 2C19 polymorphism on adverse cardiovascular events after drug-eluting stent implantation in a large Hakka population with acute coronary syndrome receiving clopidogrel in southern China. *Eur J Clin Pharmacol* 2018; 74: 423-431 [PMID: 29243114 DOI: 10.1007/s00228-017-2393-1]
- 25 Lima JJ, Thomas CD, Barbarino J, Desta Z, Van Driest SL, El Rouby N, Johnson JA, Cavallari LH, Shakhnovich V, Thacker DL, Scott SA, Schwab M, Uppugunduri CRS, Formea CM, Franciosi JP, Sangkuhl K, Gaedigk A, Klein TE, Gammal RS, Furuta T. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for CYP2C19 and Proton Pump Inhibitor Dosing. *Clin Pharmacol Ther* 2020; [PMID: 32770672 DOI: 10.1002/cpt.2015]

科学编辑: 刘继红 制作编辑: 张砚梁





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,
CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
https://www.wjgnet.com



ISSN 1009-3079

