

多药耐药基因与溃疡性结肠炎的研究进展

马铭泽, 杨崇美

■背景资料

溃疡性结肠炎(UC)是一种常见的慢性非特异性肠道炎症性疾病, 发病率有上升趋势。近年来有研究表明多药耐药基因(MDR)的基因多态性与UC发病有关。研究MDR基因的多态性有助于揭示UC的病因和发病机制, 为UC的预防和治疗找到新的途径和药物作用靶点。

马铭泽, 杨崇美, 山东大学附属省立医院消化内科 山东省济南市 250021

山东省自然科学基金项目, No. Y2006C135

作者贡献分布: 本综述由马铭泽完成; 杨崇美审核。

通讯作者: 杨崇美, 主任医师, 250021, 山东省济南市, 山东大学附属省立医院消化内科. yangchongmei@medmail.com.cn
电话: 0531-85186355

收稿日期: 2009-09-06 修回日期: 2009-11-07

接受日期: 2009-11-09 在线出版日期: 2009-12-08

Advances in understanding the correlation between multi-drug resistance gene and ulcerative colitis

Ming-Ze Ma, Chong-Mei Yang

Ming-Ze Ma, Chong-Mei Yang, Department of Gastroenterology, Shandong Provincial Hospital, Affiliated to Shandong University, Jinan 250021, Shandong Province, China
Supported by: the Natural Science Foundation of Shandong Province, No. Y2006C135

Correspondence to: Chong-Mei Yang, Department of Gastroenterology, Shandong Provincial Hospital, Affiliated to Shandong University, Jinan 250021, Shandong Province, China. yangchongmei@medmail.com.cn

Received: 2009-09-06 Revised: 2009-11-07

Accepted: 2009-11-09 Published online: 2009-12-08

Abstract

The etiology and pathogenesis of ulcerative colitis remain unclear. It has been reported that multiple drug resistant 1a (MDR 1a) knockout mice are susceptible to developing a spontaneous ulcerative colitis (UC). The incidence of C3435T gene mutation in the MDR1 gene in UC patients is significantly higher than that in healthy controls. The C3435T gene mutation can lead to decreased expression of P-glycoprotein (P-gp). The expression of P-gp in the peripheral blood lymphocytes and intestinal mucosal epithelial cells is higher in hormone-resistant UC patients than in hormone-sensitive UC patients and healthy controls. Thus, a hypothesis was proposed that the MDR1 gene polymorphism may correlate with the occurrence and progression of UC and the sensitivity to hormone therapy in UC patients. However, this hypothesis is still controversial.

Key Words: Ulcerative colitis; MDR gene; P-glyco-

protein; Hormone resistance

Ma MZ, Yang CM. Advances in understanding the correlation between multi-drug resistance gene and ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(34): 3530-3533

摘要

溃疡性结肠炎(UC)的病因和发病机制尚不明确。针对MDR1基因敲除小鼠易发UC; MDR1发生C3435T基因变异在UC患者的发生率显著高于正常人; C3435T基因变异可导致P糖蛋白(P-gp)表达下降; 而在激素耐药的UC患者其外周血淋巴细胞及肠黏膜上皮细胞P-gp的表达量较药物敏感者及正常对照组高等现象, 提出MDR1基因多态性可能和UC的发生、发展以及激素的治疗反应有关的假说, 但也有不同的结论。

关键词: 溃疡性结肠炎; MDR基因; P糖蛋白; 激素耐药

马铭泽, 杨崇美. 多药耐药基因与溃疡性结肠炎的研究进展. 世界华人消化杂志 2009; 17(34): 3530-3533

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/3530.asp>

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种常见的慢性非特异性肠道炎症性疾病, 发病率有上升趋势。流行病学研究指出UC患者比一般人群发生结直肠癌的危险性高20-30倍, 文献报道UC相关的肠癌发病率在0.6%-17%, 但目前UC的病因和发病机制尚不明确。普遍认为UC是免疫、遗传、环境及肠道细菌等多因素共同作用的结果, 可能是肠道细菌及其代谢产物作用于基因易感宿主, 使之产生免疫应答, 三者炎症的开始和持续发展中起了重要协同作用。近年来有研究表明多药耐药(multi-drug resistance, MDR)基因的多态性与UC发病有关。MDR基因的表达产物P糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)与UC患者产生激素耐药密切相关。本文对有关多药耐药基因(MDR1)与UC发病及激素耐药机制的研究进

■同行评议者

戈之铮, 教授, 上海交通大学医学院附属仁济医院消化科

行综述如下。

1 MDR1的多态性

MDR是转运蛋白超家族成员之一P-gp的编码基因。人类MDR基因有: MDR1和MDR3(又称MDR2)基因, 其中以MDR1起主导作用; 小鼠MDR1基因又分为MDR1a(MDR3)和MDR1b(MDR1)2种亚型。人类MDR1基因、小鼠MDR1a和MDR1b基因表达产物与多药耐药有关, 是目前研究最多的基因型。人与鼠MDR1基因序列有高度同源性, 此外人MDR1基因与细菌转运蛋白基因也非常相似。人类MDR1基因位于第7号染色体q21.1段, MDR1 mRNA大小4.7 ku, 包含28个内含子, 编码1280个氨基酸, 编码区不到整个基因组的5%, 编码的蛋白产物为P-gp。他有2个同源结构, 各含有6个跨膜结构域和1个ATP结合位点, 是ATP结合盒(ABC)运输系统的重要一员, 属于ABCB1家族^[1]。

目前研究认为MDR1基因具有高度多态性, 不同个体中MDR1基因多态性与P-gp表达和功能的改变密切相关。人类的多药耐药基因(MDR1)已被发现有28个SNP(单核苷酸多态性)位点, SNP是指在基因组DNA某个位置处存在单个碱基的差异。他在人群中的发生频率超过1%, 人类基因组DNA序列90%多态性是由SNP造成的, 对基因组DNA序列进行多态性研究, 可以最终弄清生物体生物学性状差异及疾病发生的遗传基础。MDR1基因有7个SNP发生在内含子, 11个SNP导致了氨基酸的变化, 目前已知的MDR1基因的多态现象中, 第26外显子C3435T和第21外显子G2677T/A具有重要的功能意义。C3435T和G2677T/A SNPs可能与P-gp活性的关系较为密切。其中对C3435T多态性研究最多, 结论也较明确。C3435T变异是指MDR1基因的26外显子的3435位点的C被T代替, 氨基酸的组成没有发生改变, C3435T虽然是第26外显子上的一个同义突变但其显著影响P-gp的表达。梁剑宁 *et al*^[2]应用PCR技术对正常人MDR1C3435T基因进行扩增以Mbo I 进行限制性酶切图谱分析结果示汉族人MDR1C3435T基因中, 表现型T/T频率14.42%, 表现型T/C40.54%, 表现型C/C45.04%。MDR1C3435T基因T频率0.3469, 基因C频率是0.6531; 有学者证实TT3435基因型人群中, TT3435基因型患者表达的P-gp比纯合子低。在不同种族中, SNP发生率相差较大: 在非洲C3435C发生率高于高加索人和亚洲人, 这说明

干旱的地区C3435C基因型可起到很好的保护作用, 因为P-gp表达高使人们免受细菌的侵害。发生C3435T变异后的MDR1基因表达P-gp下降伴有P-gp的功能下降(Farnood^[3]), 由此可以改变一些药物的代谢。而对于G2677T/A单核苷酸多态性的研究较少, 对于G2677T/A单核苷酸多态性与P-gp表达及活性的关系尚不明确。C3435T及G2677T/A位点间有连锁关系。目前, 研究热点为寻找新的SNP位点、启动子和编码区SNP的功能研究, 以及SNP与基因表达关系的研究等。

2 P-gp的表达与功能

P-gp是相对分子质量为170 kDa的糖蛋白, 是MDR基因的表达产物, 于1976年在中国仓鼠的卵巢细胞秋水仙碱耐药株中首次被发现。约10年后, 从多药耐药的KB癌细胞中分离出了编码P-gp的MDR基因。P-gp是ATP依赖性的跨膜泵, 能够在底物或药物到达细胞质时识别并将其从脂质双层中泵出细胞外, 因此被认为是一个疏水的真空清洗机。其生理作用是保护细胞免受毒物或代谢废物的损害, 以保持内环境的稳定。P-gp有广泛的作用底物, 这些物质多是疏水分子或两性分子, 例如糖皮质激素和免疫抑制剂等。MDR1最初于研究肿瘤细胞耐药时提出, 表达的P-gp能够导致肿瘤细胞对多种药物产生耐药。然而P-gp不仅存在于肿瘤细胞, 而且也存在于正常组织中。Farnood *et al*研究发现健康人的结肠和小肠上皮细胞中有P-gp高浓度富集, P-gp有阻止肠腔内药物及毒素吸收的作用^[3,22], 缺乏P-gp, 肠黏膜上皮细胞的屏障功能受损, 肠腔内食物及细菌代谢废物在肠黏膜细胞内聚集, 可能与UC的发病有关。

3 MDR1多态性与UC

许冬梅 *et al*^[4]的研究提示MDR1基因敲除的小鼠有21%自发UC, 而对照组无1例小鼠发生UC, 这种发生在MDR1a基因敲除小鼠的结肠炎与人类UC的发病很相似, 提示UC的易感性与MDR1基因的功能及基因型有关。Panwala *et al*实验证实MDR1是小鼠肠道上皮细胞和外周T淋巴细胞唯一的P-gp表达基因^[5,21], 并建立了MDR1a^{-/-}小鼠炎症性肠病的动物模型。在药物诱导的UC小鼠模型中发现, MDR1在结肠黏膜上皮细胞的表达及活性下调。C3435T基因变异在UC患者的发生率显著高于正常($P = 0.001$), 由此证明C3435T与UC的发病可能相关^[3,6]。Cortada *et al*的研究

■研究前沿

目前针对UC的研究热点集中于胃肠道炎症成分的研究。研究最多的是局部分泌的调节黏膜微环境免疫反应的物质。这些物质包括免疫调节性细胞因子、免疫抑制性细胞因子、促炎症性细胞因子。中和这些因子可有效阻断炎症和诱导缓解。

■应用要点

本文总结了目前MDR基因多态性与UC相关性的研究成果,有助于揭示UC的病因和发病机制,为UC的预防和临床治疗找到新的途径和药物作用靶点。

表明MDR1-C3435T变异型通过减少表达P-gp并降低其功能导致对UC的易感以及患病后的表现^[7,20]。有关G2677T/A单核苷酸多态性与P-gp表达及活性的关系研究相对较少, G2677T/A单核苷酸多态性是指21号外显子的2677位点的丙氨酸被丝氨酸或苏氨酸替代,改变了氨基酸的组成,可能进而影响P-gp的表达与功能。不同位置的SNP有很多连锁关系,对MDR1基因的G2677T/A多态性的研究有助于进一步揭示UC发病。

4 P-gp的表达与激素疗效的关系

糖皮质激素是治疗UC的最基本的药物之一,肾上腺皮质激素治疗能使病情获得缓解。UC的预后在很大程度上取决于患者对糖皮质激素的反应。临床上部分患者足量应用后激素仍对无反应,称耐药,导致病情迁延不愈。

Huebner *et al*研究发现MDR1基因的SNP变异不仅导致对UC的易感^[8,19],还决定患者对激素的反应。Sapmaz *et al*^[9]研究表明激素治疗失败的UC患者外周血淋巴细胞的MDR1表达显著升高,而MDR1基因是外周血淋巴细胞和肠黏膜细胞中唯一的P-gp170表达基因,因而外周血淋巴细胞和肠黏膜细胞的MDR1基因表达在UC患者对激素治疗的反应情况中起重要作用,难治性UC可能归咎于MDR1过表达P-gp170。越来越多的研究表明, P-gp170可通过多重途径介导激素耐药。P-gp170可通过发挥药物转运泵及保护细胞凋亡而导致激素耐药。最新的研究表明, P-gp170也能通过在总体细胞免疫系统中发挥作用而介导激素耐药,如作用于免疫细胞和细胞因子发挥效应的某些环节。Juyal *et al*用植物血凝素刺激10名健康人外周血单个核细胞,并用P-gp170单克隆抗体阻断P-gp170的功能^[10,18],以流式细胞仪检测培养的上清液中IL-2、4、6、10、 γ 干扰素、肿瘤坏死因子- α 的水平,发现P-gp170 mAb抑制了IL-2、4、干扰素 γ 、肿瘤坏死因子- α 等细胞因子的释放。

P-gp170的表达水平虽与许多疾病激素耐药、激素的临床疗效及预后等有关,但就不同疾病而言,具体报道不一。某些疾病的激素耐药患者在应用激素治疗前即有较高的P-gp170表达水平,而在另外一些疾病患者P-gp170的表达水平与是否应用激素及其应用的剂量、疗程有关。Sapmaz *et al*和Sambuelli *et al*研究表明P-gp170在激素耐药的UC患者其外周血淋巴细胞及肠

黏膜上皮细胞P-gp170的表达量较药物敏感者及正常对照组高,MDR1的产物P-gp170过表达是导致UC患者激素治疗失败的原因之一^[9,11,14,17]。Yacyshyn *et al*用RT-PCR及罗丹明123释放试验分析证明未接受激素治疗的UC患者外周血、肠黏膜固有层及肠上皮内的淋巴细胞P-gp170的表达及活性低于正常对照组^[12,15]。然而Fiedler *et al*用RT-PCR技术对25例没用过激素的患者和25例用过激素的患者的外周血单核细胞中的MDR1 mRNA表达量进行测定,发现健康者与未用激素UC患者P-gp170的表达无显著差异,而外周血单核细胞MDR1 mRNA含量在接受过激素治疗的UC患者一组明显高于未使用过激素治疗的患者组($P = 0.0375$);接受过激素的UC患者的外周血单核细胞MDR1 mRNA表达量与激素的总用量显著正相关($P = 0.0175$);说明UC患者MDR1 mRNA的高表达不是自发的,而是应用大剂量激素治疗后诱发的反应^[13,16]。将上述矛盾的实验结果对比,可以说明MDR1基因及表达产物P-gp170与UC之间的关系尚不确定,有待进一步研究。

5 结论

UC患者MDR1基因多态性,以及P-gp表达异常或功能活性的改变和UC的发生、发展以及与激素的治疗反应的关系有待更多更深入的研究。研究MDR基因的多态性有助于揭示UC的病因和发病机制,为UC的预防和治疗找到新的途径和药物作用靶点。研究激素耐药的机制,有助于正确指导临床糖皮质激素的应用,具有重大的临床意义;进而通过干预其中某一个或几个环节而逆转激素耐药,必将对临床炎症、免疫性疾病的激素治疗产生深远影响。

6 参考文献

- 1 林莉, 刘晓晴, 王升启. 多药耐药基因的单核苷酸多态性研究进展. 国外医学·药学分册 2006; 33: 28-30
- 2 梁剑宁, 李耀明, 张惠文, 陈盛强. MDR1 C3435T基因多态性的检测. 现代临床医学生物工程学杂志 2003; 9: 221-236
- 3 Farnood A, Naderi N, Moghaddam SJ, Noorinayer B, Firouzi F, Aghazadeh R, daryani NE, Zali MR. The frequency of C3435T MDR1 gene polymorphism in Iranian patients with ulcerative colitis. *Int J Colorectal Dis* 2007; 22: 999-1003
- 4 许冬梅, 张源潮, 杨清锐. 多药耐药基因敲除小鼠结肠炎的免疫病理改变. 中华消化杂志 2005; 25: 71-74
- 5 Panwala CM, Jones JC, Viney JL. A novel model of inflammatory bowel disease: mice deficient for the multiple drug resistance gene, mdr1a, spontaneously develop colitis. *J Immunol* 1998; 161:

- 5733-5744
- 6 Li YH, Wang YH, Li Y, Yang L. MDR1 gene polymorphisms and clinical relevance. *Yichuan Xuebao* 2006; 33: 93-104
- 7 Cortada CM, Gil A, Goncalves S, Sambuelli A, Rubio MC, Carballo MA. [P-glycoprotein functional activity in peripheral blood lymphocytes in ulcerative colitis] *Medicina (B Aires)* 2009; 69: 437-441
- 8 Huebner C, Browning BL, Petermann I, Yeo Han D, Philpott M, Barclay M, Gearry R, McCulloch A, Demmers P, Ferguson LR. Genetic analysis of MDR1 and inflammatory bowel disease reveals protective effect of heterozygous variants for ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 1784-1793
- 9 Sapmaz A, Ozen Karatayli SC, Dagli U, Kiliç ZM, Törüner M, Celik Y, Ozkan M, Soykan I, Cetinkaya H, Ulker A, Ozden A, Bozdayi AM. Effects of polymorphism in G2677T/A triallelic region of MDR1 gene in Turkish patients with inflammatory bowel disease. *Turk J Gastroenterol* 2008; 19: 168-173
- 10 Juyal G, Midha V, Amre D, Sood A, Seidman E, Thelma BK. Associations between common variants in the MDR1 (ABCB1) gene and ulcerative colitis among North Indians. *Pharmacogenet Genomics* 2009; 19: 77-85
- 11 Sambuelli AM, Negreira SM, Gil AH, Huernos SP, Goncalves S, Toro MA, Kogan Z, Cabanne A, Camarero S, Bai JC, Lazarowski AJ. Multidrug resistance gene (MDR-1) expression in the colonic mucosa of patients with refractory ulcerative colitis. *Acta Gastroenterol Latinoam* 2006; 36: 23-32
- 12 Yacyshyn B, Maksymowych W, Bowen-Yacyshyn MB. Differences in P-glycoprotein-170 expression and activity between Crohn's disease and ulcerative colitis. *Hum Immunol* 1999; 60: 677-687
- 13 Fiedler T, Büning C, Reuter W, Pitre G, Gentz E, Schmidt HH, Büttner J, Ockenga J, Gerloff T, Meisel C, Lochs H, Roots I, Köpke K, John A. Possible role of MDR1 two-locus genotypes for young-age onset ulcerative colitis but not Crohn's disease. *Eur J Clin Pharmacol* 2007; 63: 917-925
- 14 Mir A, Minguez M, Tatay J, Pascual I, Peña A, Sanchiz V, Almela P, Mora F, Benages A. Elevated serum eotaxin levels in patients with inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1452-1457
- 15 Ardizzone S, Maconi G, Bianchi V, Russo A, Colombo E, Cassinotti A, Penati C, Tenchini ML, Bianchi Porro G. Multidrug resistance 1 gene polymorphism and susceptibility to inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 516-523
- 16 Daniel F, Lorient MA, Seksik P, Cosnes J, Gornet JM, Lémann M, Fein F, Vernier-Massouille G, De Vos M, Boureille A, Treton X, Flourie B, Roblin X, Louis E, Zerbib F, Beaune P, Marteau P. Multidrug resistance gene-1 polymorphisms and resistance to cyclosporine A in patients with steroid resistant ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 19-23
- 17 Annese V, Valvano MR, Palmieri O, Latiano A, Bossa F, Andriulli A. Multidrug resistance 1 gene in inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 3636-3644
- 18 Onnie CM, Fisher SA, Pattni R, Sanderson J, Forbes A, Lewis CM, Mathew CG. Associations of allelic variants of the multidrug resistance gene (ABCB1 or MDR1) and inflammatory bowel disease and their effects on disease behavior: a case-control and meta-analysis study. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 263-271
- 19 Osuga T, Sakaeda T, Nakamura T, Yamada T, Koyama T, Tamura T, Aoyama N, Okamura N, Kasuga M, Okumura K. MDR1 C3435T polymorphism is predictive of later onset of ulcerative colitis in Japanese. *Biol Pharm Bull* 2006; 29: 324-329
- 20 Wilk JN, Bilsborough J, Viney JL. The *mdr1a*/- mouse model of spontaneous colitis: a relevant and appropriate animal model to study inflammatory bowel disease. *Immunol Res* 2005; 31: 151-159
- 21 Potocnik U, Ferkolj I, Glavac D, Dean M. Polymorphisms in multidrug resistance 1 (MDR1) gene are associated with refractory Crohn disease and ulcerative colitis. *Genes Immun* 2004; 5: 530-539
- 22 Glas J, Török HP, Schiemann U, Folwaczny C. MDR1 gene polymorphism in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2004; 126: 367

■同行评价

本文对有关多药耐药基因(MDR1)与UC发病及激素耐药机制的研究进行了综述,为UC的预防和治疗找到新的途径和药物作用靶点提供理论依据。

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

●消息●

《世界华人消化杂志》入选《中国学术期刊评价研究报告—RCCSE权威、核心期刊排行榜与指南》

本刊讯 《中国学术期刊评价研究报告-RCCSE权威、核心期刊排行榜与指南》由中国科学评价研究中心、武汉大学图书馆和信息管理学院联合研发,采用定量评价和定性分析相结合的方法,对我国万种期刊大致浏览、反复比较和分析研究,得出了65个学术期刊排行榜,其中《世界华人消化杂志》位居396种临床医学类期刊第45位。(科学编辑:李军亮 2009-12-08)