

难治性胃食管反流病与 CYP2C19 基因多态性的相关性研究

肖茹萍 陈 阳 卜 平

摘 要 **目的** 对 CYP2C19 基因多态性于难治性胃食管反流病患者治疗的临床价值进行分析探究。**方法** 198 例难治性胃食管反流病患者行 CYP2C19 基因多态性检测及分析,根据基因分型分为强代谢组和弱代谢组,每位患者在 8 周 PPI 治疗前后均完成 RDQ 量表及内镜下 LA 分级(A~D 级)。**结果** 198 例患者中强代谢组共 160 例,平均年龄 53.23 ± 14.52 岁,弱代谢组共 38 例,平均年龄 52.11 ± 12.13 岁,所有患者经奥美拉唑 20mg(每日 2 次)治疗 8 周后,弱代谢组 RDQ 平均评分由 21.26 ± 9.81 下降至 16.11 ± 6.24 ,且内镜下观察食管黏膜损害明显改善,差异有统计学意义($P < 0.05$),而强代谢组治疗前后 RDQ 平均评分无明显降低,LA 分级差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 难治性胃食管反流病 CYP2C19 弱代谢型患者使用质子泵抑制剂可达到更好的疗效,理论上,强代谢型患者加大 PPI 剂量可获得预期效果,临床医师可依据代谢分型实现个体化用药,合理化用药。

关键词 难治性 胃食管反流病 CYP2C19 基因多态性

中图分类号 R4 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.11.015

Research on CYP2C19 Genetic Polymorphism with Refractory Gastroesophageal Reflux Disease. Xiao Ruping, Chen Yang, Bo Ping. Medical College of Yangzhou University, Jiangsu 225001, China

Abstract Objective To analyze and explore the clinical value of CYP2C19 genetic polymorphism in the treatment of refractory gastroesophageal reflux disease. **Methods** The CYP2C19 genetic polymorphism was detected and analyzed in 198 RGERD patients. According to genotyping, the patients were divided into extensive metabolism and poor metabolism. Each patient was filled in RDQ and LA Classification(from A to D) by endoscopy before and after 8 weeks of PPI treatment. **Results** There were 160 cases in EM group, mean age 53.23 ± 14.52 years old. There were 38 cases in PM group, mean age 52.11 ± 12.13 years old. And all patients were treated with omeprazole 20 mg (twice daily). The mean score of RDQ in the PM group was significantly decreased after 8 weeks, and the esophageal mucosal lesion was significantly improved by endoscopy($P < 0.05$), but there was no significant difference in EM group with RDQ and LA ($P > 0.05$). **Conclusion** The RGERD patients with poor metabolism group of CYP2C19 using proton pump inhibitors can achieve better efficacy. Theoretically, increasing the PPI dose can achieve the desired effect in the patients of EM group. So the clinician can be based on metabolic typing to achieve individualized medication and rationalization of medication.

Key words Refractory; Gastroesophageal reflux disease; CYP2C19; Genetic polymorphism

胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)是指胃、十二指肠内容物反流入食管引起的一系列症状,有报道显示我国胃食管反流病的发生率为 12.5%,且有逐年上升的趋势^[1,2]。但部分患者采用双倍剂量质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPI)治疗 8 周后反酸、反流等症状无明显改善,直接影响患者的生活质量,称为难治性胃食管反流病(refractory gastroesophageal reflux disease, RGERD)^[3,4]。

有研究报道 RGERD 与患者 CYP2C19 基因分型相关,为此展开进一步研究^[5,6]。

对象与方法

1. 研究对象:选取 2015 年 5 月~2016 年 5 月江苏省苏北人民医院消化科门诊诊断为难治性 GERD 患者 198 例。依据蒙特利尔定义,结合 2014 年中国胃食管反流病共识,入选标准^[4,7]:①患者年龄 20~70 岁;②有反酸、反食、胃灼痛等 GERD 症状,经奥美拉唑 20mg(每日 2 次)8 周治疗后症状无明显缓解;③胃镜下食管黏膜有损害,行洛杉矶分级(Los Angeles Classification, LA 分级),排除消化性溃疡、食管胃底静脉曲张、胃食管肿瘤及既往有胃食管手术史患者;④自愿接受 RDQ 量表问卷调查^[8]。本研究获得

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81673736);江苏省普通高校研究生实践创新计划项目(SJLX15-0680)

作者单位:225001 扬州大学医学院

通讯作者:卜平,教授、博士生导师,主任医师,电子信箱:boping@yzu.edu.cn

苏北人民医院伦理委员会批准,并填写知情同意书。

2. 主要试剂与仪器:QIAamp DNA Blood Mini Kit 试剂盒(德国 Qiagen 公司);Master Mix 试剂盒(赛默飞);内切酶 BamH I、Sma I;Pcr 引物合成由上海生工生物工程股份有限公司;Life ECO-96 PCR 仪(杭州博日科技有限公司);EPS300 电泳仪、UV-2000 紫外分析仪(上海天能科技有限公司)。

3. 标本采集:抽取患者空腹静脉血 2ml,置入 EDTA 抗凝管中,并置-80℃保存备用。

4. DNA 提取:采用 QIAamp DNA Blood Mimi Kit 试剂盒从全血中提取 DNA,置于-20℃冰箱保存。所有标本均统一集中进行基因分型检测。

5. CYP2C19 基因分型:采用聚合酶链式反应-限制性片段长度多态性方法(PCR-RFLP),进行 CYP2C19 基因多态性检测及分析。(1)CYP2C19(*2)突变:扩增外显子 5 上游序列:5'-TACAAC-CAGAGCTTGGCATA-3',下游序列:5'-GTAAAA-CATCCGTAGTAAACACA-3'。PCR 扩增后经内切酶 Sma I 酶切位点,纯合子野生型(GG)紫外灯下可见 226bp、115bp 2 个条带,杂合子型(GA)可见 341bp、226bp、115bp 3 个条带,纯合子突变型(AA)可见 341bp 1 个条带,详见图 1。(2)CYP2C19(*3)突变:扩增外显子 4 上游序列:5'-TTCCAATCATTTAGCT-TCACC-3',下游序列:5'-ACTTCAGGGCTTGGT-CAATA-3'。PCR 扩增后经内切酶 BamH I 酶切位点,纯合子野生型(GG)紫外灯下可见 168bp、96bp 2 个条带,杂合子型(GA)可见 264bp、168bp、96bp 3 个条带,纯合子突变型(AA)可见 264bp 1 个条带,详见图 2。

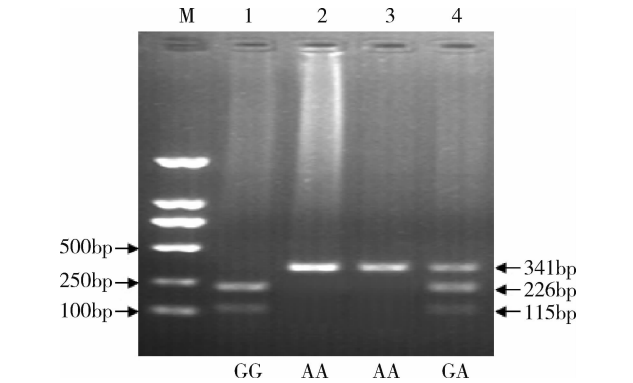


图 1 CYP2C19 (*2) 突变电泳分布图
M. DL2000 DNA ladder marker;第 1 泳道被 Sma I 切割成 115bp 和 226bp 2 个条带;第 2、3 泳道被 Sma I 切割成 341bp 1 个条带;第 4 泳道被 Sma I 切割成 115bp、226bp 和 341bp 3 个条带

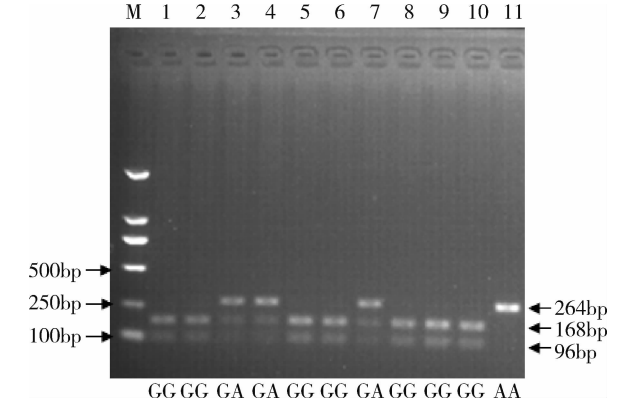


图 2 CYP2C19 (*3) 突变电泳分布图
M. DL2000 DNA ladder marker;第 1、2、5、6、8、9、10 泳道被 BamH I 切割成 96bp 和 168bp 2 个条带;第 3、4、7 泳道被 BamH I 切割成 96bp、168bp 和 264bp 3 个条带;第 11 泳道被 BamH I 切割成 264bp 1 个条带

6. 统计学方法:采用 SPSS 17.0 统计学软件进行数据统计学分析。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组均数比较采用 t 检验;计数资料采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

根据电泳结果进行代谢分型,强代谢型(extensive metabolism, EM)包括 GG/GG、GG/GA、GA/GG 3 种基因分型,弱代谢型(poor metabolism, PM)包括 GG/AA、GA/GA、AA/GG 3 种基因分型。在 198 例 RGERD 患者中,EM 组 160 例,占 80.81%,平均年龄 53.23 ± 14.52 岁,PM 组 38 例,占 19.19%,平均年龄 52.11 ± 12.13 岁,详见表 1。

表 1 CYP2C19 基因多态性分布情况				
组别	基因分型 (m1 突变/m2 突变)	例数 [n(%)]	总例数 [n(%)]	平均年龄 (岁)
EM 组	GG/GG	73(45.62)	160(80.81)	53.23 ± 14.52
	GG/GA	79(49.38)		
	GA/GG	8(5.00)		
PM 组	GG/AA	28(73.68)	38(19.19)	52.11 ± 12.13
	GA/GA	7(18.42)		
	AA/GG	3(7.90)		

PM 组患者治疗前 RDQ 平均评分为 21.26 ± 9.81 ,8 周 PPI 治疗后,RDQ 平均评分降低至 16.11 ± 6.24 ,差异有统计学意义($P < 0.05$),而 EM 组 RDQ 平均评分略有下降,但差异无统计学意义($P > 0.05$,表 2)。

表 2 两组患者 8 周前后 RDQ 平均评分比较

组别	n	RDQ 评分		t	P
		8 周前	8 周后		
EM 组	160	19.57 ± 5.83	19.08 ± 5.53	1.65	0.065
PM 组	38	21.26 ± 9.81	16.11 ± 6.24	1.69	0.000

所有患者治疗前后均行胃镜检查,根据食管黏膜破损的描述进行 LA 分级,PM 组患者在 PPI 治疗后,黏膜损伤较前明显好转,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 两组患者 8 周前后内镜下 LA 分级分布表

组别	时间	LA 分级				χ^2	P
		A	B	C	D		
EM 组	8 周前	51	13	46	50	5.20	0.158
	8 周后	57	19	51	33		
PM 组	8 周前	9	15	9	5	8.89	0.031
	8 周后	20	13	3	2		

A. ≥ 1 个食管黏膜破损,长径 $< 5\text{mm}$; B. ≥ 1 个黏膜破损,长径 $> 5\text{mm}$,但没有融合性病变; C. 黏膜破损有融合,但 $< 75\%$ 的食管周径; D. 黏膜破损融合,至少达到 75% 的食管周径

讨 论

细胞色素 P450 是参与药物代谢的主要酶系, CYP2C19 是其中重要的代谢酶之一。研究发现 CYP2C19 具有遗传多态性, 目前已知 CYP2C19 * 1 ~ CYP2C19 * 25 等 27 个等位基因, 其中最常见的是 CYP2C19 * 2 和 CYP2C19 * 3 等位基因突变, 有关文献表明, 这两种突变等位基因可解释超过 99% 东方人的 PM 表型。根据基因分型可分为强代谢型和弱代谢型, 在药物治疗和不良反应中具有显著的个体差异, 影响质子泵抑制剂、抗癫痫药、抗血小板聚集药等在体内的代谢, 进一步影响药物的治疗效果。

难治性胃食管反流病, 渐渐成为消化科的常见疾病之一, 其发病可能与持续性食管收缩、食管高敏性、食管上皮屏障功能障碍、酸反流有关^[9]。有文献报道 RGERD 也与遗传因素相关, 其中最主要的便是 CYP2C19 基因, 因其多态性可直接影响质子泵抑制剂在体内的血药浓度。质子泵抑制剂是 $\text{H}^+/\text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶抑制剂, 通过阻断胃壁细胞内 H^+ 与小管内 K^+ 交换而抑制胃酸分泌, 是治疗难治性胃食管反流病的常用药物, 但不同的质子泵抑制剂对 CYP2C19 有不同的依赖程度^[10], 有报道显示 CYP2C19 的基因多态性对奥美拉唑、兰索拉唑和泮托拉唑的代谢影响较大, 而对埃索美拉唑的代谢影响较小。还有研究发

现口服相同剂量的雷贝拉唑, 强代谢型血药浓度高于弱代谢型, 表明 CYP2C19 基因多态性可能影响质子泵抑制剂的疗效^[11,12]。也有文献分析, CYP2C19 基因多态性不影响 PPI 对胃食管反流病的治愈率, 研究结果的不同可能与 PPI 种类、样本量和地区差异有关^[13,14]。对于 CYP2C19 基因多态性在难治性胃食管反流病的治疗中的影响, 国内外研究较少, 但有研究表明 CYP2C19 基因多态性参与 PPI 治疗失败事件, 说明两者有着密切联系, 因此本文就 CYP2C19 基因多态性对 RGERD 患者治疗前后 RDQ 评分、食管黏膜损害的情况进行讨论。

RDQ 量表作为我国常用问卷之一, 是对 GERD 患者反流、反酸、胃灼痛等症状进行程度和频率的计分, 具有操作简便、无创等优点, 具有较强的客观性, 总分越高提示该疾病对患者身心的影响越大, 而难治性胃食管反流病患者是经双倍剂量 PPI 治疗 8 周, 症状仍不能缓解, 病程越长, 出现焦虑、抑郁等精神心理障碍的可能性也越大^[15~17]。本研究中弱代谢组在治疗后 RDQ 评分显著下降, 表明弱代谢组 CYP2C19 酶活性降低导致 PPI 的代谢过程较慢, 血药浓度相对较高, 维持时间较长, 故而有更好的治疗效果。近年来电子内镜技术的普遍开展对消化道疾病的诊治提供更加直接、客观的依据, LA 分级便是对食管黏膜损伤程度的评估方法之一, 分级越高, 病情越重^[18], 预后越差。

本研究中强代谢组经双倍剂量治疗后食管黏膜损伤程度较治疗前无显著改善, 基于 CYP2C19 基因突变的影响, 加快了 PPI 在体内的代谢, 只有少部分 PPI 抑制胃酸分泌, 仍有过多的酸性分泌物影响食管黏膜的愈合。有文献报道反流性食管炎患者使用 PPI40mg 和 20mg, 内镜证实第 8 周治愈率分别为 94.1%、89.9%, 表明通过增大 PPI 剂量来增加血药浓度可以提高愈合率, 为达到预期的疗效, 强代谢型患者或许需要更大的剂量或更长的疗程, 使得 PPI 在体内维持一定的药物浓度。弱代谢型患者治疗后虽然症状无明显改善, 但在内镜下笔者可以发现食管黏膜正在逐渐修复, 疗效是值得肯定的。所以笔者认为, 对于强代谢型患者, 理论上加大药物剂量, 提高 PPI 在体内的血药浓度, 可能会达到预期的治疗效果, 因本研究在诸多因素的影响下, 没有对强代谢型患者进行超常规 PPI 剂量的治疗, 也无法评估该治疗方案的可行性与治愈率, 还需要更多科研人员进一步探索与研究。

综上所述,PPI 主要经肝脏代谢,在药动学和药代学上存在显著的个人差异,所以临床上在使用质子泵抑制剂治疗难治性胃食管反流病时或许可以根据 CYP2C19 的基因分型来实现个体化用药,提高人们的生活质量,但值得注意的是,依据基因分型来个体化治疗难治性胃食管反流病,当前的研究远远不够,还需要开展大规模临床试验来进一步证实。

参考文献

- 1 Kahrilas PJ, Jonsson A, Denison H, *et al.* Impact of regurgitation on health - related quality of life in gastroesophageal reflux disease before and after short - term potent acid suppression therapy[J]. *Gut*, 2014, 63(5):720 - 726
- 2 屈坤鹏,成晓舟.我国部分地区胃食管反流病患率率的 Meta 分析[J]. *中华胃食管反流病电子杂志*, 2015, 2(1):34 - 44
- 3 Cicala M, Emerenziani S, Guarino MO, *et al.* Proton pump inhibitor resistance, the real challenge in gastro - esophageal reflux disease[J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(39):6529 - 6535
- 4 中华医学会消化病学分会. 2014 年中国胃食管反流病专家共识意见[J]. *中华消化杂志*, 2014, 10:649 - 661
- 5 Takeuchi T, Oota K, Harada S, *et al.* Characteristics of refractory gastroesophageal reflux disease (GERD) symptoms - is switching proton pump inhibitors based on the patient's CYP2C19 genotype an effective management strategy? [J]. *Int Med*, 2015, 54(2):97 - 105
- 6 Kuo CH, Lu CY, Shih HY, *et al.* CYP2C19 polymorphism influences *Helicobacter pylori* eradication[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(43):16029 - 16036
- 7 Katz PO, Gerson LB, Vela MF. Guidelines for the diagnosis and management of gastroesophageal reflux disease[J]. *Am J Gastroenterol*,

- 2013, 108(3):308
- 8 赵迎盼,廖宇,钟家珮,等.胃食管反流病问卷(GerdQ)与反流性疾病问卷(RDQ)的比较研究[J]. *胃肠病学和肝病学杂志*, 2015, 24(5):572 - 574
- 9 牛海静,胡海清,苏秉忠,等.难治性胃食管反流病研究进展[J]. *中华胃肠内镜电子杂志*, 2014, (1):15 - 18
- 10 刘英. CYP2C19 基因多态性指导消化溃疡质子泵抑制剂及抗 Hp 治疗的价值[J]. *海南医学*, 2014, 25(3):372 - 375
- 11 Hu YM, Xu JM, Mei Q, *et al.* Pharmacodynamic effects and kinetic disposition of rabeprazole in relation to CYP2C19 genotype in healthy Chinese subjects[J]. *Acta Pharmacol Sinic*, 2005, 26(3):384 - 388
- 12 邹科文,谢远辉,叶向明,等. PPI 治疗胃食管反流病 (GERD) 的临床研究[J]. *中国现代医生*, 2012, 50(8):68 - 69
- 13 吕秋菊,蒲强红. CYP2C19 基因多态性对质子泵抑制剂治疗胃食管反流病疗效影响的 Meta 分析[J]. *基层医学论坛*, 2016, 20(28):3918 - 3920
- 14 Ariizumi K, Ohara S, Koike T, *et al.* Therapeutic effects of 10 mg/day rabeprazole administration on reflux esophagitis was not influenced by the CYP2C19 polymorphism[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2006, 21(9):1428 - 1434
- 15 詹志刚,王妍. 反流性疾病问卷表在军人胃食管反流病中的诊断价值[J]. *临床消化病杂志*, 2014, 26(1):4 - 6
- 16 Patel A, Sayuk GS, Kushnir VM, *et al.* GERD phenotypes from pH - impedance monitoring predict symptomatic outcomes on prospective evaluation[J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2016, 28(4):513 - 521
- 17 刘敏,李建生. 黛力新在难治性胃食管反流病治疗中的效果观察[J]. *河南医学研究*, 2014, 23(3):41 - 43
- 18 唐利全,柯龙汉,李志华,等. 青少年胃食管反流病评分与胃镜表现特点的对照研究[J]. *医学临床研究*, 2014, 8:1511 - 1512, 1515
(收稿日期:2017 - 03 - 06)
(修回日期:2017 - 03 - 07)

(上接第 9 页)

- 11 Carino A, Graziosi L, D'Amore C, *et al.* The bile acid receptor GPBAR1 (TGR5) is expressed in human gastric cancers and promotes epithelial - mesenchymal transition in gastric cancer cell lines[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(38):61021 - 61035
- 12 Yoshimoto S, Loo TM, Atarashi K, *et al.* Obesity - induced gut microbial metabolite promotes liver cancer through senescence secretome[J]. *Nature*, 2014, 499(7456):97 - 101
- 13 Pattni SS, Brydon WG, Dew T, *et al.* Fibroblast growth factor 19 and 7 α - hydroxy - 4 - cholesten - 3 - one in the diagnosis of patients with possible bile acid diarrhea[J]. *Clin Transl Gastroen*, 2012, 3(7):e18
- 14 Frank DN, Amand ALS, Feldman RA, *et al.* Molecular - phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases[J]. *Proc Nat Acad Sci USA*, 2007, 104(34):13780
- 15 Wegielska I, Suliburska J. The role of intestinal microbiota in the pathogenesis of metabolic diseases[J]. *Acta Sci Polonorum Tech Aliment*, 2016, 15(2):201 - 211
- 16 Tilg H. Obesity, metabolic syndrome, and microbiota: multiple interactions[J]. *J Clin Gastroenterol*, 2010, 44 Suppl 1(8):S16 - 18
- 17 Vrieze A, Van NE, Holleman F, *et al.* Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome[J]. *Gastroenterology*, 2012, 143(4):913 - 916
- 18 Komaroff AL. The microbiome and risk for obesity and diabetes[J]. *JAMA*, 2017, 317(4):355 - 356

- 19 Ley RE, Bäckhed F, Turnbaugh P, *et al.* Obesity alters gut microbial ecology[J]. *PNAS*, 2005, 102(31):11070 - 11075
- 20 Joyce SA, Macsharry J, Casey PG, *et al.* Regulation of host weight gain and lipid metabolism by bacterial bile acid modification in the gut[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(20):7421 - 7426
- 21 Zampa A, Silvi S, Fabiani R, *et al.* Effects of different digestible carbohydrates on bile acid metabolism and SCFA production by human gut micro - flora grown in an in vitro semi - continuous culture[J]. *Anaerobe*, 2004, 10(1):19 - 26
- 22 Ridlon JM, Kang DJ, Hylemon PB, *et al.* Bile acids and the gut microbiome[J]. *Curr Opin Gastroen*, 2014, 30(3):332 - 338
- 23 Madsen D, Beaver M, Chang L, *et al.* Analysis of bile acids in conventional and germfree rats[J]. *J Lipid Res*, 1976, 17(2):107 - 111
- 24 Miyata M, Takamatsu Y, Kuribayashi H, *et al.* Administration of ampicillin elevates hepatic primary bile acid synthesis through suppression of ileal fibroblast growth factor 15 expression[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2009, 331(3):1079 - 1085
- 25 Li F, Jiang C, Krausz KW, *et al.* Microbiome remodelling leads to inhibition of intestinal farnesoid X receptor signalling and decreased obesity. [J]. *Nat Commun*, 2013, 4(3):259 - 270
- 26 Hylemon PB, Zhou H, Pandak WM, *et al.* Bile acids as regulatory molecules[J]. *J Lipid Res*, 2009, 50(8):1509 - 1520
(收稿日期:2017 - 02 - 28)
(修回日期:2017 - 03 - 07)