

董茗茗,柴秀坤,刘学臣,等. 胃食管反流病分子生物学的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(10): 148-154.
Dong MM, Chai XK, Liu XC, et al. Research progress on molecular biology of gastroesophageal reflux disease [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(10): 148-154.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2022.10.020

胃食管反流病分子生物学的研究进展

董茗茗,柴秀坤,刘学臣,何云,李艾迪,蒋树林*

(河北医科大学第二医院消化内科,石家庄 050000)

【摘要】 胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)是消化内科的常见疾病,临床表现容易反复发作,同时胃食管反流病被认为是食管腺癌(esophageal adenocarcinoma, EAC)发生的危险因素。家族研究显示 GERD 遗传率约为 30%, *COL3A1*、*ABAT* 基因与遗传风险显著相关;多种基因如 *IL-1* 基因簇、*GNB3*、*GSTP1* 与 GERD 发生风险密切相关。*TP53* 基因突变及 *EGF*、*MMP*、*CCND1*、*CDX2*、*COX-2* 的单核苷酸多态性会导致基因组不稳定,进而促使部分个体向 Barrett 食管及食管腺癌发展。本文就胃食管反流病发生及发展为食管腺癌过程中分子生物学的作用作一综述。

【关键词】 胃食管反流病; Barrett 食管; 食管腺癌; 分子生物学; 遗传风险位点; 单核苷酸多态性
【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2022) 10-0148-07

Research progress on molecular biology of gastroesophageal reflux disease

DONG Mingming, CHAI Xiukun, LIU Xuechen, HE Yun, LI Aidi, JIANG Shulin*

(Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, China)

【Abstract】 Gastroesophageal reflux disease (GERD) is a common disease in gastroenterology, and clinical manifestations are prone to recurrent attacks. It is considered a risk factor for the development of esophageal adenocarcinoma (EAC). Family studies have shown that GERD heritability is approximately 30%, *COL3A1* and *ABAT* genes are significantly associated with genetic risk. Several genes, such as the *IL-1* gene cluster, *GNB3* and *GSTP1*, are strongly associated with the risk of GERD. Mutations in *TP53* and single nucleotide polymorphisms of *EGF*, *MMP*, *CCND1*, *CDX2* and *COX-2* cause genomic instability and promote the development of Barrett's esophagus and EAC in some individuals. This article reviews the role of molecular biology in the occurrence and development of GERD into EAC.

【Keywords】 gastroesophageal reflux disease; Barrett's esophagus; esophageal adenocarcinoma; molecular biology; genetic risk loci; single nucleotide polymorphisms

胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)是胃内容物反流至食管、口腔等多器官导致一系列临床表现和并发症的疾病^[1]。依据胃镜表现,可将 GERD 分为非糜烂性胃食管反流病(non-erosive gastroesophageal reflux disease, NERD)、反流性食管炎(reflux esophagitis, RE)和 Barrett 食管

(Barrett's esophagus, BE)三种类型。据流行病学统计显示,以至少每周 1 次的反流和/或烧心为标准,GERD 在东亚人群患病率为 2.5%~7.8%,虽然低于世界范围内患病率 13.3%,但也有逐年上升的趋势^[2-3]。反复胃内容物反流引起食管粘膜的糜烂、溃疡,若损伤因素长期存在还可能发生化生^[4-5]。

[作者简介]董茗茗(1996—),女,硕士研究生,研究方向:胃食管反流病的发病机制及诊治。E-mail:mingmingdong21@126.com

[通信作者]蒋树林(1965—),男,博士,主任医师,研究方向:胃食管反流病的发病机制及诊治。E-mail:shulinjiang1@aliyun.com

在 GERD 患者中大约有 10%~15% 的 BE 患者,并以每年约 0.12%~0.6% 的速度进展到食管腺癌(esophageal adenocarcinoma, EAC)^[6-8]。EAC 的 5 年总生存率仅约为 10%~15%,而在过去三十年里 EAC 的发病率稳步上升,在一些国家已经超过鳞状细胞癌,成为食管恶性疾病中最常见的组织学类型^[9-10]。环境因素和导致基因组不稳定性的遗传倾向共同调节正常鳞状上皮-糜烂上皮-肠上皮化生-异型增生-腺癌的发生过程,既往国内外学者已经对其中的分子转化和进展机制进行了大量研究。本综述旨在描述 GERD 发生及发展为 EAC 过程中主要的分子生物学作用。

1 从鳞状上皮到肠上皮化生

1.1 遗传基因

COL3A1 基因位于染色体 2q32.2, 编码 III 型胶原 $\alpha 1$ 链(*COL3A1*), 胶原单体组成原纤维后可以聚集成纤维, 为中空器官提供组织支撑结构。在 2009 年, Asling 等^[11] 在 GERD 显性遗传家族基因检测中发现 *COL3A1* 与 GERD 发生显著相关, 且 *COL3A1* 在儿童和成人 GERD 中均为疾病相关基因, 男性患者食管活检组织中 III 型胶原蛋白含量更高 ($P=0.03$)。此次研究为 GERD 存在结缔组织薄弱成分这一概念提供分子支持, 同时体现出性别在 GERD 的遗传风险中存在差异。在后续研究中对 36 个显示 GERD 显性传播的家族进行全基因组基因分型和连锁分析, 又确定了 16 号染色体上的基因 4-氨基丁酸氨基转移酶(aminobutyrate aminotransferase, *ABAT*) 内含子中的一个单核苷酸在儿童中具有显著的遗传相关性, 并且在动物实验中, 通过选择性 *ABAT* 抑制剂减少了约 57% 暂时性食管下括约肌松弛(TLESRs), 胃内容物反流也减少 70% 左右。Jirholt 等^[12] 进行的两项双胞胎研究表明, GERD 的遗传率约为 30%。*COL3A1* 和 *ABAT* 基因的发现不仅对 GERD 的发生机制做出了贡献, 还为遗传性危险因素增添了新成员, 但 *ABAT* 等位基因在瑞典成人病例对照队列中并未发现是 GERD 遗传的危险因素, 应该在不同人种显性遗传的家族中进行更多研究。

1.2 白细胞介素-1 基因簇与 GERD

白细胞介素-1(interleukin-1, *IL-1*) 基因簇位于 2q12 染色体, 由 *IL-1A*、*IL-1B* 和 *IL-1RN* 3 个相关基因组成, 分别编码促炎细胞因子 $IL-1\alpha$ 和 $IL-1\beta$ 及

其内源性受体拮抗剂 $IL-1Ra$ ^[13]。*IL-1B* 在启动子 -511 和 -31 区域有两个双等位基因多态性, 分别代表 *C/T* 和 *T/C* 转换, 研究表明, 这两个区域的基因几乎处于完全连锁不平衡状态, 即基因并非完全随机组成单体型, 有些基因总是较多的在一起出现, 从而使某些单体型在群体中出现频率较高^[14]。而在 *IL-1RN* 的内含子中含有可变数量的串联重复多态性(VNTR), 串联重复指 DNA 短序列在特定的染色体位点以头到尾的方式重复, 每一个都是遗传等位基因, 共包括 5 种不同的等位基因, 即 *IL-1RN * 1* (4 次重复)、*IL-1RN * 2* (2 次重复)、*IL-1RN * 3* (5 次重复)、*IL-1RN * 4* (3 次重复) 和 *IL-1RN * 5* (6 次重复)。有研究称 *IL-1B-511 * T* 等位基因或 *IL-1B-31 * C* 等位基因的存在对 GERD 的发展具有保护作用, 不仅可能导致胃炎从而破坏壁细胞, 还能诱导胃体萎缩减少胃泌素刺激, 导致胃酸分泌减少从而降低 GERD 的严重程度^[15]。*IL-1RN * 2* 的存在与高 $IL-1Ra$ 和低 $IL-1\beta$ 释放有关, $IL-1\beta$ 和 $IL-1Ra$ 之间的平衡是局部组织炎症程度的决定因素, 已经证明在胃炎、胃癌、肠化生等多个疾病中起重要作用。Akçil 等^[16] 对不同程度的食管炎患者进行基因分析, 发现在幽门螺杆菌感染的情况下与对照组相比, RE 患者 *IL-1B-511 * TT* 基因型频率明显低于 NERD, 但在 *IL-1B-31* 和 *IL-1RN* 方面没有差异。同样, Ghoshal 等^[17] 在一项对 144 名 GERD 患者和 368 名来自印度的健康对照的研究中也证明了 *IL-1B-511 * T/IL-1RN * 1* 单倍型受试者患 GERD 的风险降低。但与前两项研究结果相反的是, 台湾一项研究表明 *IL-1B-511 * T/T* ($P=0.034$)、*IL-1B-31 * C/C* ($P=0.031$) 基因型和 *IL-1B-511 * T* ($P=0.044$) 和 *IL-1B-31 * C* ($P=0.040$) 等位基因与食管炎复发风险增加相关。为了明确 $IL-1$ 单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs) 及基因的单倍型在 GERD 发生发展中究竟是保护因素还是风险基因, 一项对白种人进行的前瞻性研究结果显示单倍型 *T(IL-1A-889)C(IL-1B-511)C(IL-1B-3953)L(IL-1RN)*、*C(IL-1A-889)C(IL-1B-511)C(IL-1B-3953)L(IL-1RN)* 与 GERD 和 RE 的发生风险增加相关, 而 *T(IL-1A-889)C(IL-1B-511)T(IL-1B-3953)L(IL-1RN)* 可减少粘膜化生发生率, 降低 BE 的发生风险^[18], 但在此研究中没有分析被研究人员幽门螺杆菌感染情况, 不能说明有无感染之间各种基因的差异。综上研究, 在 GERD 患者中不同的单倍型可

能参与从 GERD 到 RE 和 BE 的进展,评估 IL-1B、IL-1RN 及单核苷酸多态性是有必要的,以此发现有风险发展 BE 和 EAC 的患者。但幽门螺旋杆菌的感染、人种区别也可能会对最终结果产生影响,具体作用机制暂不清楚,因此感染、GERD 发生发展及基因型之间的关系还需在不同人种间做大样本的深入研究。

1.3 蛋白酶激活受体-2

蛋白酶激活受体-2(protease-activated Receptor-2, PAR2) 是一种 G-蛋白偶联受体,存在于多种细胞中,如免疫细胞 MCs、上皮细胞和嗜酸性粒细胞,并与细胞趋化、炎症、血管扩张等相关^[14]。PAR2 在食管上皮中表达,很容易与胃食管反流物(胃酸、胰蛋白酶)相互作用,参与 GERD 的粘膜免疫发病机制。在动物模型中,上皮暴露于反流事件后 PAR2 表达上调,可能通过引起紧密连接蛋白的重新分布而增加食管上皮的通透性,同时激活上皮细胞大量分泌 IL-8 并引发促炎性粘膜免疫反应,导致上皮细胞间空间增大和上皮屏障进一步破坏,引起 GERD 的发生、发展^[19]。研究者认为 GERD 患者中上皮内存在 T 细胞和 MCs 浸润,MCs 参与应激诱导的食管粘膜功能障碍,而 PAR2 是潜在的中间因子。Winkelsett 等^[20]、Keita 等^[21] 鉴定了人类食管上皮中 PAR2 的表达,并证明了 PAR2 介导的途径在 GERD 相关粘膜改变的发病机制中的功能重要性。以上研究证明了 GERD 发病机制中免疫介导粘膜炎症的假说,也说明需要更多的研究来充分了解基因、受体、传导通路的作用和具体的发病机制,帮助我们识别高危患者、确定治疗目标以帮助更多患者。

1.4 谷胱甘肽-S-转移酶与 GERD

谷胱甘肽-S-转移酶(glutathione s-transferase, GST) 是 II 期解毒酶,存在于许多物种和组织中,包括人类胃肠道的上皮组织中,可以催化谷胱甘肽对多种疏水亲电试剂的亲核攻击,产生毒性更小、水溶性更强的化合物,在保护细胞免受氧化应激产物的伤害方面及防止肿瘤发展中具有重要作用。在正常食管上皮组织中, GSTP1 是 GST 的主要亚型, GSTP1 编码区内核苷酸+313 处的 A 转换为 G, 104 密码子将从 ATC 变为 GTC, 这将导致 GST 活性降低^[17]。GSTP1 * B 的等位基因频率在正常东方人群中为 23%,在白种人中为 30%^[22]。有研究发现, GSTP1 * B 等位基因与 GERD 易感性及 BE 发生相关, BE 患者中 GSTP1 * B 等位基因携带者相比

GERD 患者(OR 2.10, 95% CI: 0.99 ~ 4.44) 和健康对照组(OR 2.56, 95% CI: 1.30 ~ 5.05) 发现频率显著增加。国内一项研究发现变异 GSTP1 基因型 A/B 在 RE 患者、NERD、健康对照组中出现频率分别为 40%、25% 和 22%, 具有显著差异($P < 0.05$); 且在 GSTP1 基因型变异的受试者中, RE 发生风险增加 2.42 倍(OR = 2.42; 95% CI: 1.22 ~ 4.80)^[23]。以上研究结果提示我们 GSTP1 基因多态性可能是 RE 发病机制的高易感性因素之一。

1.5 G 蛋白 β 亚单位基因与 GERD

G 蛋白 β 亚单位基因(guanine nucleotide binding protein(Gprotein), beta polypeptide 3, GNB3) 位于染色体 12p13。G 蛋白在信号传导过程中起“分子开关”作用,介导对酸、神经递质和调节食管感觉功能的某些体液因子的反应,而在 G 蛋白亚单位中, β 亚单位是 α 亚单位以及某些信号转导受体和效应器的重要调节因子。有研究表明食管症状严重程度与反流负荷之间并无直接相关性,部分原因可能是 GERD 患者对食管症状的感知存在差异,而这一过程与基因决定感知信号转导相关。2018 年的一项研究表明,在接受动态反流试验的患者和无食管症状的对照组之间, GNB3 内 3 个单核苷酸多态性的等位基因 Rs2301339 ($P = 0.040$)、Rs5443 ($P = 0.011$) 和 Rs5446 ($P = 0.016$) 之间存在显著差异,而且与显性纯合子相比,尽管食管酸暴露水平和症状反流相关程度相似,但是隐性等位基因携带者 Rs2301339 * A、Rs5443 * T、Rs5446 * T 的反流症状更重、心理健康相关生活质量和贝克抑郁量表得分更差^[24]。在另一项病例对照研究(363 名白人 GERD 患者和 373 名健康对照) 结果中, GNB3825 * TT 可预测 G 蛋白活化增强,从而增加细胞或生理反应; GNB3825 * CC 使信号转导反应减弱。最近有研究发现希腊、日本人群中的炎症基因多态性 GNB3 与功能性消化不良中的上腹部疼痛综合征患者相关。因此表明 GNB3 基因的多态性可能介导食管粘膜对酸性递质的反应,导致患者出现反酸、烧心、疼痛等多样的临床表现,也为 GERD 患者对治疗的不同敏感性提供理论依据。

2 从肠上皮化生到腺癌

2.1 环氧合酶-2

环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2) 基因位于 1q25.2-q25.3, 编码 COX-2 蛋白,在细胞因子、炎

症介质、内毒素等诱导刺激下催化花生四烯酸转化为前列腺素。COX-2 可以促进细胞增殖、降低凋亡率,还能刺激血管生成,因此在炎症和肿瘤发生中发挥着重要作用^[25-26]。在体外实验中,反流物可刺激诱导食管上皮细胞过表达 COX2,COX2 的表达与胃肠粘膜的化生、癌变相关,而应用 COX2 抑制剂后降低了大鼠模型中 EAC 的发生风险。基于体外实验的结果,研究人员开展了一项病例对照研究,结果发现 COX-2-8473 * C 等位基因的存在可能使个体易患 EAC,但与 BE 或 GERD 的发生无关。也有研究表示 COX-2 启动子区域的两种多态性 -765 C/G、-1195A/G 与 EAC 发生相关,亚洲人群中 -765 * C 等位基因可能是 EAC 发生的危险因素。COX-2 作为预测肿瘤进展的可能生物标志物及选择性抑制 COX-2 作为 BE 的防治方法受到了广泛关注。在最近的随机多中心研究中,研究者发现应用大剂量的埃索美拉唑和阿司匹林可以改善 BE 患者的预后^[27]。

2.2 表皮生长因子

表皮生长因子(epidermal growth factor,EGF)基因位于 4q25,表皮生长因子(EGF)及其受体(epidermal growth factor receptor,EGFR)属于酪氨酸激酶受体家族,结合后会发挥促进有丝分裂的作用,在粘膜损伤的保护和修复中具有重要作用,基因突变时会表达异常破坏上皮屏障的完整性,病理水平与胃肠道肿瘤发生相关。Cheung 等^[28]对 309 例 EAC 患者和 275 例健康对照者的 DNA 样本进行 EGF 基因分型,发现病例组中 EGF 变异(A/G 或 G/G)较对照组有显著差异($P=0.02$),且与 A/A 基因型相比,G/G 突变与 GERD 患者发生 EAC 风险显著增加相关($OR=9.7;95\%CI:3.8\sim 25.0;P<0.001$),同时 G/G 基因型与 GERD 存在高度显著的交互作用($P<0.001$)。Lanuti 等^[29]也提出与对照组相比,EGF-A61 * G/G 基因型会导致 EAC 发生风险增加约 2 倍($OR=1.81;95\%CI:1.2\sim 2.7$),且在伴有 BE 的 EAC 患者亚组中更高($OR=2.18;95\%CI:1.3\sim 3.7$)。2012 年,Menke 等^[30]为确定 EGF 基因多态性与 RE、BE、EAC 之间的关系,对荷兰白种人进行了队列研究,结果表示与 A/G($P=0.008$)和 A/A($P=0.002$)组相比,G/G 基因型的 EGF 表达显著降低。EGF 表达降低与 RE($OR=2.6;95\%CI:1.3\sim 5.2$)、BE($OR=3.0;95\%CI:1.5\sim 6.2$)和 EAC($OR=4.1;95\%CI:1.8\sim 9.7$)发生风险增加相关。体外研究发现,用酸性胆汁盐处理食管细胞可激活 EGFR

信号,而且在 22.2%~35% 的 BE 和 46.5%~80% 的 EAC 患者中发现 EGFR 蛋白表达增加^[31-32]。因此研究者认为 EGFR 信号的异常激活是由 EGFR 蛋白及其配体 TGF- α 和 EGF 的过度产生引起,在食管炎患者中 EGF 与 PG/COX-2 和 PPAR γ 系统相互作用,提出应用 EGFR 抑制剂和 PPAR γ 激动剂可以用来治疗进展为 BE 的慢性食管炎。

上述研究发现 EGF 的单核苷酸多态性也在食管粘膜上皮化生到异型增生以及随后转化为腺癌的进展中有一定作用,其中最主要的基因 G/G 突变,基因突变后遗传性 EGF 表达降低导致的粘膜保护减少可促进食管肿瘤的发展。因此基因分型可以用来识别 GERD 和 BE 中的高危患者,且 EGFR 的激活也与 BE 发生相关,阻断此信号传导途径可以用于治疗 BE。

2.3 TP53 基因

TP53 是位于染色体 17p13 的抑癌基因,又称原癌基因,TP53 基因编码的 p53 蛋白在调控细胞分裂、增殖、凋亡及 DNA 修复中有非常重要的作用。许多研究报告了 TP53 基因突变是迄今为止与癌症亚型(尤其实体瘤)关系最密切的基因^[33],该突变已被证明在绝大多数食管腺癌中发生,并且是 Barrett 食管向腺癌进展的潜在生物标志物^[34]。目前研究认为 TP53 在体内存在两条途径,一种是早期突变导致 TP53 失活,引起 p16 失活,最后激活 ERB-B2 原癌基因;另一种途径是 TP53 突变,随后全基因组加倍,最终基因组不稳定和原癌基因被激活^[35]。TP53 基因突变在进展为高度异型增生及 EAC 的 BE 患者中数量显著增加,使 BE 高度发育异常进展风险增加 13.8 倍($95\%CI:3.2\sim 61.0;P<0.001$)^[36-37]。研究表明,在酸性反流物刺激下,胃食管反流病患者中由自由基诱导的脂质过氧化和 COX2 酶产生的反应性异葡萄糖苷(reactive isolevuglandins,isoLG)会与 p53 结合导致 p53 活性被抑制^[27]。

2.4 基质金属蛋白酶

基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases,MMPs)属于锌依赖性内肽酶,在 1962 年首次确定为胶原蛋白水解酶之一,参与细胞外基质(extracellular matrix,ECM)的重塑。据报道基质金属蛋白酶参与调节肿瘤进展过程中的关键事件,如细胞存活和侵袭、转移发展和血管生成以及恶性转化等^[38]。在大约 MMP 的 30 种亚型中,小鼠 GERD 模型中 MMP3 和 MMP9 的水平上调,MMP1、MMP2、MMP7 和 MMP9 的表达与 BE 和 EAC 相关。由于发

现 *MMP* 基因多态性与 EAC 风险增加相关, Cheung 等^[39]对 309 名 EAC 患者和 279 名健康患者进行基因分型检测, 确定 *MMP-1* * 1G/2G (OR = 3.2, 95% CI: 2.0 ~ 5.1, $P < 0.001$) 和 *MMP-3* * 6A/5A (OR 1.8, 95% CI: 1.1 ~ 2.7, $P = 0.01$) 在 GERD 患者中与 EAC 风险增加独立相关, 且与不同严重程度 GERD 患者风险不同, 因此提出 *MMP-1* * 1G/2G、*MMP-3* * 6A/5A 的基因多态性与 GERD 病史相关, 并且协同增加了 EAC 的发生。另一项横断面研究也提出, 尽管 BE 患者组中没有上皮恶变, 但与对照组相比 BE 患者 *MMP-9* 和 *MMP-3* 表达增加。研究者通过动物实验提出通过抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路, 食管粘膜组织中的炎症因子 (*MMP3*、*MMP9*) 水平下调, 食管粘膜组织损伤减轻。无论是动物实验还是病例对照研究, 都证明了 *MMP* 基因多态性与 GERD、BE、EAC 相关, 不同的研究对表达调控的机制有一定帮助。

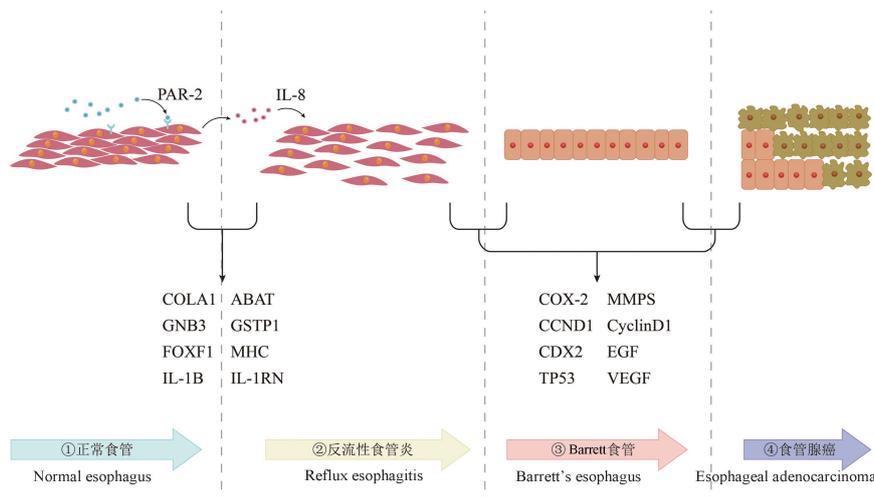
2.5 *CCND1* 基因与细胞周期蛋白 D1

细胞周期蛋白 D1 (cyclin D1) 由位于人类 11q13 染色体的 *CCND1* 基因编码, 与细胞周期蛋白依赖性激酶 (cyclin-dependent kinase, CDKs) 结合形成复合物后驱动细胞周期从 G1 期进展到 S 期增殖。*CCND1* 基因在外显子 4 (G870A) 中表现出单核苷酸多态性, *CCND1* * A/A 基因型的存在与 GERD、BE 和 EAC 的风险增加相关。研究人员发现与无症状患者相比, A/A 基因型与 GERD、BE 和 EAC 的发

生风险增加 3~6 倍, 而且 15 名 (20%) GERD 患者、14 名 (11%) BE 患者和 14 名 (25%) EAC 患者中细胞周期蛋白 D1 的过度表达也存在显著差异 ($P = 0.001$)。在另一项小型病例对照研究中, 进展为食管腺癌的 BE 患者中 67% 的食管活检组织染色中发现了细胞周期蛋白 D1, 而在未进展的 BE 患者中比例只有 29%。因此具有 *CCND1* * A/A 基因型的个体对 GERD、相关疾病有易感风险, 同时细胞周期蛋白 D1 的过度表达可以用于鉴别有恶性肿瘤发生风险的 BE 患者。但在有关研究中并未发现基因型和细胞周期蛋白 D1 过度表达之间存在相关性^[40], 也有研究者提出细胞周期蛋白 D1 的表达似乎不能预测 BE 患者的肿瘤进展, *CCND1* 基因型与细胞周期蛋白 D1 的表达在 GERD 发生发展的作用仍然存在争议。

2.6 尾侧相关同源盒转录因子 2

尾侧相关同源盒转录因子 2 (caudal-related homeobox transcription factor 2, *CDX2*) 是一种特异性转录因子, 正常情况下仅在肠道表达, 指导和维持肠细胞的分化、促进肠道发育^[41]。既往研究显示胆汁酸处理后正常胃黏膜上皮细胞化生, *CDX2*、粘蛋白 2 (mucin 2, *MUC2*) 表达增加^[42]。在最近的一项研究中, 在用胆汁反流建立的大鼠模型和酸性培养基中的人食管鳞状上皮细胞中, 检测发现 Krüppel-like factor 5 (*KLF5*)、*CDX2* 及肠道标志物表达均增加。同时将 *KLF5* 表达载体转染食管上皮细胞可促进其向柱状细胞的分化同时 *CDX2* 表达增



注: *COL3A1*、*ABAT*、*IL-1* 基因簇、*COX-2*、*GNB3* 等基因与反流性食管炎发生相关, 同时 *TP53* 基因突变及 *EGF*、*MMP*、*CCND1*、*CDX2*、*VEGF* 参与 Barrett 食管向食管腺癌进展。

图 1 GERD 发生发展中主要基因改变图示

Note. *COL3A1*, *ABAT*, *IL-1* gene cluster, *COX-2*, *GNB3* and other genes are related to the occurrence of reflux esophagitis, while *TP53* gene mutation and *EGF*, *MMP*, *CCND1*, *CDX2*, *VEGF* are involved in the progression of Barrett's esophagus to esophageal adenocarcinoma.

Figure 1 Illustration of major genetic alterations in the development of GERD

加,基因敲除 *KLF5* 后可阻断 *CDX2* 等相关蛋白的表达^[43]。在另一项研究中,小鼠模型中的食管鳞状上皮暴露于酸和胆汁酸时,炎症和组织损伤激活信号通路,如 *sonic hedgehog*、*bmp4* 和核因子 κ B 表达,并下调 Notch 信号,最终导致 *Sox9*(诱导柱状分化)和 *Foxa2*、*Cdx1* 和 *Cdx2*(诱导肠道分化)的表达增加^[44]。因此 *CDX2* 目前被认为是层状鳞状上皮化生为柱状上皮的转录调节因子之一,但具体通路的调节与多因子相关,且目前研究多为动物实验,尽管这些结果提示我们新的生物标记物,但在临床广泛推荐前仍需进行大规模前瞻性临床试验。

3 其他与 GERD 发生、发展相关研究

2020 年 Westra 等^[45]的研究结果发现,F 单倍体在 EAC、BE 和 GERD 患者中的表达比例分别为 34%、27%、23%,提出 F 单倍体组是 EAC 的危险因素(OR1.5; 95% CI: 1.03 ~ 2.19, $P = 0.03$)。Lam 等^[46]也证明 *FOXF1* rs9936833 * C、*MHC* rs9257809 * A、*IGF1*rs6214、*GH*rs6898743、*BARX1* 及 *ADAMTS17* 有可能和 GERD 发生有关。同时基于对两个多代 BE 和/或 EAC 家族的测序,Verbeek 等^[47]也已经确定了两个可能致病的基因变体 *VSIG10L* 和 *MSX1*。然而,以上研究中发现的相关基因只是初步的观察结果,还需进一步在人群中进行大量研究加以验证。

4 小结与展望

GERD 是一种与多个炎症和代谢生物标志物循环水平相关的疾病,症状反复发生降低了患者的生活质量,随着基因组学的快速发展,目前已经发现 *COL3A1*、*ABAT*、*IL-1* 基因簇、*PAR2*、*COX-2*、*GNB3* 等基因与 GERD 发生风险相关,同时 *TP53* 基因突变及 *EGF*、*MMP*、*CCND1*、*cyclin D1*、*CDX2*、*VEGF* 的单核苷酸多态性促使部分个体向 BE 及 EAC 进展(如图 1)。这些研究进展丰富了疾病在生物学方面的理解,为疾病的预防及诊疗提供了新思路。但是部分信号通路主要是在体外实验中研究,未来的研究应该从健康患者向疾病状态的转化去深入了解,同时在不同人群中重复,希望建立生物标记物为早期发现、临床干预及靶向治疗提供可靠依据。

参考文献:

[1] Ustaoglu A, Nguyen A, Spechler S, et al. Mucosal pathogenesis in gastro-esophageal reflux disease [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2020, 32(12): e14022.

[2] Eusebi LH, Ratnakumaran R, Yuan Y, et al. Global prevalence of, and risk factors for, gastro-oesophageal reflux symptoms: a meta-analysis [J]. *Gut*, 2018, 67(3): 430-440.

[3] El-Serag HB, Sweet S, Winchester CC, et al. Update on the epidemiology of gastro-oesophageal reflux disease: a systematic review [J]. *Gut*, 2014, 63(6): 871-880.

[4] Zavala-Solares MR, Fonseca-Camarillo G, Valdovinos M, et al. Gene expression profiling of inflammatory cytokines in esophageal biopsies of different phenotypes of gastroesophageal reflux disease: a cross-sectional study [J]. *BMC Gastroenterol*, 2021, 21(1): 201.

[5] Tack J, Pandolfino JE. Pathophysiology of Gastroesophageal Reflux Disease [J]. *Gastroenterology*, 2018, 154(2): 277-288.

[6] Menezes MA, Herbella FAM. Pathophysiology of gastroesophageal reflux disease [J]. *World J Surg*, 2017, 41(7): 1666-1671.

[7] Rubenstein JH, Shaheen NJ. Epidemiology, diagnosis, and management of esophageal adenocarcinoma [J]. *Gastroenterology*, 2015, 149(2): 302-317.

[8] Schlottmann F, Dreifuss NH, Patti MG. Obesity and esophageal cancer: GERD, Barrett's esophagus, and molecular carcinogenic pathways [J]. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 2020, 14(6): 425-433.

[9] Schlottmann F, Patti MG, Shaheen NJ. From heartburn to barrett's esophagus, and beyond [J]. *World J Surg*, 2017, 41(7): 1698-1704.

[10] Sami SS, Ragunath K, Iyer PG. Screening for Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma: rationale, recent progress, challenges, and future directions [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2015, 13(4): 623-634.

[11] Asling B, Jirholt J, Hammond P, et al. Collagen type III α 1 is a gastro-oesophageal reflux disease susceptibility gene and a male risk factor for hiatus hernia [J]. *Gut*, 2009, 58(8): 1063-1069.

[12] Jirholt J, Asling B, Hammond P, et al. 4-aminobutyrate aminotransferase (ABAT): genetic and pharmacological evidence for an involvement in gastro esophageal reflux disease [J]. *PLoS One*, 2011, 6(4): e19095.

[13] Argyrou A, Legaki E, Koutserimpas C, et al. Risk factors for gastroesophageal reflux disease and analysis of genetic contributors [J]. *World J Clin Cases*, 2018, 6(8): 176-182.

[14] Izakovicova Holla L, Borilova Linhartova P, Hrdlickova B, et al. Haplotypes of the IL-1 gene cluster are associated with gastroesophageal reflux disease and Barrett's esophagus [J]. *Hum Immunol*, 2013, 74(9): 1161-1169.

[15] Kim JJ, Kim N, Hwang S, et al. Relationship of interleukin-1 β levels and gastroesophageal reflux disease in Korea [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2013, 28(1): 90-98.

[16] Akçil G, Doğan İ, Cengiz M, et al. The role of interleukin-1 gene polymorphisms and *Helicobacter pylori* in gastroesophageal reflux disease [J]. *Turk J Gastroenterol*, 2014, 25(1): 81-85.

[17] Ghoshal UC, Chourasia D. Genetic factors in the pathogenesis of gastroesophageal reflux disease [J]. *Indian J Gastroenterol*, 2011, 30(2): 55-62.

- [18] Picos A, Vulturar R, Picos A, et al. Interleukin-1A and interleukin-1B gene polymorphisms in gastroesophageal reflux disease [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 20(4): 3394–3398.
- [19] Luskin KT, White AA, Lyons JJ. The genetic basis and clinical impact of hereditary α -tryptasemia [J]. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 2021, 9(6): 2235–2242.
- [20] Winkelsett L, Malfertheiner P, Wex T, et al. Mucosal two-step pathogenesis in gastroesophageal reflux disease; repeated weakly acidic stimulation and activation of protease-activated receptor-2 on mucosal interleukin-8 secretion [J]. *Digestion*, 2018, 98(1): 19–25.
- [21] Keita ÅV, Söderholm JD. Mucosal permeability and mast cells as targets for functional gastrointestinal disorders [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2018, 43: 66–71.
- [22] Zendejdel N, Biramijamal F, Zendejdel N, et al. The role and frequency of glutathione S-transferase P1 polymorphism in Iranian patients affected with reflux esophagitis [J]. *Dis Esophagus*, 2010, 23(7): 603–607.
- [23] Liu B, Fan YJ, Wang ML, et al. Genetic polymorphisms in glutathione S-transferases T1, M1 and P1 and susceptibility to reflux esophagitis [J]. *Dis Esophagus*, 2006, 19(6): 477–481.
- [24] Patel A, Hasak S, Nix BD, et al. Genetic risk factors for perception of symptoms in GERD; an observational cohort study [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2018, 47(2): 289–297.
- [25] Nejat Pish-Kenari F, Qujeq D, Maghsoudi H. Some of the effective factors in the pathogenesis of gastro-oesophageal reflux disease [J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22(12): 6401–6404.
- [26] Abdi E, Latifi-Navid S, Zahri S, et al. Risk factors predisposing to cardia gastric adenocarcinoma; insights and new perspectives [J]. *Cancer Med*, 2019, 8(13): 6114–6126.
- [27] Majka J, Wierdak M, Szlachcic A, et al. Interaction of epidermal growth factor with COX-2 products and peroxisome proliferator-activated receptor- γ system in experimental rat Barrett's esophagus [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2020, 318(3): G375–G389.
- [28] Cheung WY, Zhai R, Kulke MH, et al. Epidermal growth factor A61G gene polymorphism, gastroesophageal reflux disease and esophageal adenocarcinoma risk [J]. *Carcinogenesis*, 2009, 30(8): 1363–1367.
- [29] Lanuti M, Liu G, Goodwin JM, et al. A functional epidermal growth factor (EGF) polymorphism, EGF serum levels, and esophageal adenocarcinoma risk and outcome [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(10): 3216–3222.
- [30] Menke V, Pot RG, Moons LM, et al. Functional single-nucleotide polymorphism of epidermal growth factor is associated with the development of Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma [J]. *J Hum Genet*, 2012, 57(1): 26–32.
- [31] Pretto G, Gurski RR, Binato M, et al. Increase of epidermal growth factor receptor expression in progression of GERD, Barrett, and adenocarcinoma of esophagus [J]. *Dig Dis Sci*, 2013, 58(1): 115–122.
- [32] Caspa Gokulan R, Garcia-Buitrago MT, Zaika AI. From genetics to signaling pathways; molecular pathogenesis of esophageal adenocarcinoma [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2019, 1872(1): 37–48.
- [33] Hainaut P, Pfeifer GP. Somatic TP53 mutations in the era of genome sequencing [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2016, 6(11): a026179.
- [34] Li S, Chung DC, Mullen JT. Screening high-risk populations for esophageal and gastric cancer [J]. *J Surg Oncol*, 2019, 120(5): 831–846.
- [35] McDaniel M, Conran RM. Educational case; Barrett esophagus [J]. *Acad Pathol*, 2019, 6: 2374289519848089.
- [36] Cook MB, Thrift AP. Epidemiology of Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma; implications for screening and surveillance [J]. *Gastrointest Endosc Clin N Am*, 2021, 31(1): 1–26.
- [37] Runge TM, Abrams JA, Shaheen NJ. Epidemiology of Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma [J]. *Gastroenterol Clin North Am*, 2015, 44(2): 203–231.
- [38] Palumbo A Jr, Meireles Da Costa N, Pontes B, et al. Esophageal cancer development; crucial clues arising from the extracellular matrix [J]. *Cells*, 2020, 9(2): E455.
- [39] Cheung WY, Zhai R, Bradbury P, et al. Single nucleotide polymorphisms in the matrix metalloproteinase gene family and the frequency and duration of gastroesophageal reflux disease influence the risk of esophageal adenocarcinoma [J]. *Int J Cancer*, 2012, 131(11): 2478–2486.
- [40] Salem ME, Puccini A, Xiu J, et al. Comparative molecular analyses of esophageal squamous cell carcinoma, esophageal adenocarcinoma, and gastric adenocarcinoma [J]. *Oncologist*, 2018, 23(11): 1319–1327.
- [41] Yu JH, Zheng JB, Qi J, et al. Bile acids promote gastric intestinal metaplasia by upregulating CDX2 and MUC₂ expression via the FXR/NF- κ B signalling pathway [J]. *Int J Oncol*, 2019, 54(3): 879–892.
- [42] Ku HJ, Kim HY, Kim HH, et al. Bile acid increases expression of the histamine-producing enzyme, histidine decarboxylase, in gastric cells [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(1): 175–182.
- [43] Xia Y, Fang Y, Zhang H, et al. Role of kruppel-like factor 5 in deoxycholic acid-mediated intestinal transdifferentiation of esophageal squamous epithelium [J]. *J Cancer*, 2019, 10(22): 5597–5607.
- [44] Naini BV, Souza RF, Odze RD. Barrett's esophagus; a comprehensive and contemporary review for pathologists [J]. *Am J Surg Pathol*, 2016, 40(5): e45–e66.
- [45] Westra WM, Rygiel A, Mostafavi N, et al. The Y-chromosome F haplogroup contributes to the development of Barrett's esophagus-associated esophageal adenocarcinoma in a white male population [J]. *Wiley-Blackwell*, 2020(9): doaa011.
- [46] Lam C, Liu WF, Bel RD, et al. Polymorphisms of the FOXP₁ and MHC locus genes in individuals undergoing esophageal acid reflux assessments [J]. *Dis Esophagus*, 2017, 30(2): 1–7.
- [47] Verbeek RE, Spittuler LF, Peute A, et al. Familial clustering of Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma in a European cohort [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2014, 12(10): 1656–1663.