

2020,4(3):e87-e88.

[6] 靳英辉,蔡林,程真顺,等. 新型冠状病毒(2019-nCoV)感染的肺炎诊疗快速建议指南(标准版)[J/OL]. 解放军医学杂志, (2020-02-02) [2020-03-03]. <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/11.1056.r.20200201.1338.003.html>.

[7] HUANG C L, WANG Y M, LI X W, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China[J]. Lancet, 2020, 395(10223):497-506.

[8] CHEN N S, ZHOU M, DONG X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study [J]. Lancet, 2020, 395(10223):507-513.

[9] WANG D W, HU B, HU C, et al. Clinical Characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China [J]. JAMA, 323(11):1061-1069.

[10] LIU J Y, LIU Y, XIANG P, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts severe illness patients with 2019 novel coronavirus in the early stage[J/OL]. medRxiv preprint, [2020-02-26]. <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.02.10.20021584v1>.

[11] CAI Q X, HUANG D L, QU P C, et al. COVID-19 in a designated infectious diseases hospital outside Hubei Province, China [J/OL]. medRxiv preprint, [2020-02-26]. <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.02.17.20024018v1>.

[12] YANG X B, YU Y, XU J Q, et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study[J]. Lancet Resp Dis, 2020, 8(5):475-481.

[13] LI Q L, DING X L, XIA G Q, et al. A simple laboratory parameter facilitates early identification of COVID-19 patients[J/OL]. medRxiv preprint, [2020-02-27]. <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.02.13.2002>

2830v1.

[14] CHENG Y C, LUO R, WANG K, et al. Kidney impairment is associated with in-hospital death of COVID-19 patients[J/OL]. medRxiv preprint, [2020-03-01]. <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.02.18.20023242v1>.

[15] WANG L W, LI X, CHEN H, et al. SARS-CoV-2 infection does not significantly cause acute renal injury: an analysis of 116 hospitalized patients with COVID-19 in a single hospital, Wuhan, China[J/OL]. medRxiv preprint, [2020-03-01]. <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.02.19.20025288v1>.

[16] LIU Y X, YANG Y, ZHANG C, et al. Clinical and biochemical indexes from 2019-nCoV infected patients linked to viral loads and lung injury[J]. Sci China Life Sci, 2020, 63(3):364-374.

[17] LIU J, LI S M, LIU J, et al. Longitudinal characteristics of lymphocyte responses and cytokine profiles in the peripheral blood of SARS-CoV-2 infected patients[J/OL]. medRxiv preprint, [2020-02-26]. <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.02.16.20023671v2>.

[18] WAN S X, YI Q G, FAN S B, et al. Characteristics of lymphocyte subsets and cytokines in peripheral blood of 123 hospitalized 3 patients with 2019 novel coronavirus pneumonia (NCP) [J/OL]. medRxiv preprint, [2020-03-01]. <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.02.10.20021832v1>.

[19] DIAO B, WANG C H, TAN Y J, et al. Reduction and functional exhaustion of T cells in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) [J/OL]. medRxiv preprint, [2020-03-01]. <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.02.18.20024364v1>.

(收稿日期:2020-03-02 修回日期:2020-07-20)

• 综述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.18.045

人 ALDH2 基因多态性研究

罗云杰 综述, 成守金 审校

焦作煤业(集团)有限责任公司中央医院核医学科, 河南焦作 454000

关键词: 乙醛脱氢酶 2; 硝酸甘油; 心血管疾病; 肝脏疾病; 肿瘤

中图法分类号: R392.2

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2020)18-2729-04

为了阐述人类乙醛脱氢酶 2 (ALDH2) 目前的研究进展以及其与疾病的相关性, 为 ALDH2 进一步的研究奠定基础, 也为人们更好地运用 ALDH2 的功能提供依据, 本文从 ALDH2 的基因结构及多态性, 蛋白质的结构、功能, 以及 ALDH2 目前主要的检测方法、临床应用等方面进行了论述, 并对未来进行了展望。

1 ALDH2 基因结构及多态性

ALDH2 基因位于人类第 12 号染色体上, 全长

44 kb, 包括 13 个外显子及 12 个内含子。CDS 序列全长 1 554 bp, 包含终止密码子, 全长 517 个氨基酸。ALDH2 是核基因编码蛋白。有文献报道, ALDH2 存在 300 多个单核苷酸多态性 (SNP) 位点, 但目前多数文献中显示, ALDH2 存在 84 个 SNP 位点, 多数突变位点为无意义突变, 只有极少数位点突变具有一定的功能^[1]。黄辰宇等^[2]根据全基因组关联研究, 优选出 9 个 SNP 位点, 其中 8 个位于内含子区域, 1 个位

于外显子区域,通过检测基因型并分析其饮酒行为,发现总共有 5 个 SNP 位点与饮酒行为呈正相关,并指出与外显子上的突变位点 rs671 相关性最强。rs671 位于 12 号外显子上,野生型核酸为 G,突变型为 A,人群中由 3 种基因型别组成,野生型 ALDH2 * 1/* 1 GG,杂合型 ALDH2 * 1/* 2 GA,纯合突变型 ALDH2 * 2/* 2 AA。在全球范围内,ALDH2 基因突变约占 8%,且主要集中在东亚地区,中国和日本居多。

2 ALDH2 蛋白结构及功能

ALDH 家族有 19 个成员,常见的成员有 ALDH1、ALDH3、ALDH4、ALDH2。ALDH2 因其功能的重要性成为目前研究的热点。ALDH2 在人体内主要有 3 个方面的功能:酯酶、脱氢酶、还原酶活性。ALDH2 属于核基因编码蛋白,由多肽引入线粒体中发挥功能,其同源蛋白 ALDH1、ALDH3、ALDH4 存在于胞液中。ALDH2 在多个部位如肝脏、心脏、脑等都有表达。ALDH2 的 504 位谷氨酸(Glu)突变为赖氨酸(Lys)可导致蛋白功能丧失。ALDH2 由 4 个亚基组成,野生型 ALDH2 酶活性为 100%,杂合突变型酶活性仅有野生型的 6%,纯合突变型蛋白几乎无活性。

3 ALDH2 多态性目前的主要检测方法

3.1 限制性片段长度多态性聚合酶链反应(PCR-RFLP) 该方法主要技术原理是利用内切酶特异性识别固定位点,通过凝胶电泳分离出的条带大小进行判断。该方法主要优点是人工操作简单,对设备仪器要求不高,普通 PCR 仪及水浴锅即可完成,成本低,主要缺点是可能因酶切时间或其他酶切条件不适当造成星号活性,导致误判^[1]。

3.2 基因芯片 该方法主要技术原理是将带标记的目标扩增产物与芯片上特定的探针进行杂交,显色后,对芯片进行扫描,得到杂交图像,经过软件分析该图像,判断待检样品的基因型,主要生产厂家是上海百傲科技股份有限公司。基因芯片法主要优点是自动化程度较强,避免人工操作造成的污染,缺点是耗时较长,且对仪器要求高,另外,易产生假阳性。

3.3 直接测序法 该方法是 SNP 位点鉴定的金标准,但鉴定周期长,需要专业人员以及测序仪,测序仪价格昂贵。

3.4 等位基因差异法 该方法主要技术原理是利用引物末端碱基的差异进行扩增鉴定,引物末端的碱基对扩增的顺利进行较为重要,当末端碱基与模板不匹配时,可导致 PCR 扩增反应的终止。将 SNP 位点前 1~3 的碱基突变掉,可增加鉴定的准确性。该方法的主要缺点是对末端碱基要求高,若末端碱基为 AC 时,鉴定的准确度高,为 GT 时,易造成假阳性,因为 G 与 A 和 T 的氢键结合能力较强,易产生非特异扩增^[3]。

3.5 Taqman 探针 该方法主要技术原理是利用探

针与模板的匹配度,当探针与 DNA 序列匹配时,探针可以被 Taq 酶切断,产生荧光信号,反之,探针游离在体系中,荧光基团发出的光被淬灭基团淬灭,从而不产生荧光,Taqman-MGB 探针可以增强分型的准确度。Taqman 探针技术从 RT-PCR 演化而来,真正实现了闭管操作,防污染能力强,且在 PCR 扩增完成时即可出结果,耗时短。

3.6 SNaPshot 毛细管电泳 该方法主要优势在于分型准确,不受 SNP 位点多态性限制,但整个实验过程中需要 PCR 扩增、酶解消化、毛细管电泳检测,操作步骤多,耗时长。

3.7 高分辨率溶解技术 该方法的主要技术原理是基于 DNA 溶解温度的差异,可进行 SNP 的鉴定。优点是操作简单,对扩增引物要求低,闭管操作,防污染,但这种方法不能准确地鉴定出 SNP 位点的核酸类型,且对扩增仪器要求高,价格昂贵。

3.8 高效液相色谱法 该方法的主要技术原理是基于待测双链与色谱柱结合能力的强弱,错配的杂合双链与色谱柱结合能力降低,比完全匹配的双链优先洗脱出来,根据洗脱峰来判断是否存在突变。该方法需要标准样品,且不能确定突变的位置,需要精密的仪器及专业软件。

3.9 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 该方法属于物理检测方法,但质谱仪需专业人员操作,且仪器费用较高。

4 ALDH2 多态性检测的临床意义

4.1 ALDH2 参与药物及有毒醛类物质的代谢 硝酸甘油在人体内最终转化为一氧化氮,可舒张血管,增加血流量,但也有研究表明,一氧化氮并非最终作用物质,而是一氧化氮通过促进降钙素基因相关肽(CGRP)的释放来舒张血管,CGRP 是目前发现最强的血管舒张物质。硝酸甘油是临床上治疗心肌缺血的经典药物,但不同的患者可能存在疗效的差异。硝酸甘油的主要代谢酶是 ALDH2,野生型 ALDH2 * 1/* 1GG 代谢能力强,杂合型仅有野生型酶活性的 6%,纯合突变型酶活性几乎为 0,代谢能力极弱。因此,患者在服用硝酸甘油之前,最好进行 ALDH2 基因型检测,确定其硝酸甘油的代谢能力,使救命药真的能救命。

ALDH2 同时也是乙醇代谢途径中的关键酶,乙醇进入人体后,首先由 ALDH 代谢为乙醛,乙醛作为一种高反应性物质,可以穿透细胞膜,与 DNA 或蛋白相结合,产生对人体有害的物质,或有可能致癌。野生型 ALDH2 * 1/* 1GG,乙醛代谢能力强,乙醛在人体内停留时间短,杂合型 ALDH2 * 1/* 2GA 及纯合突变型 ALDH2 * 2/* 2AA,乙醛代谢能力极弱,饮酒者易出现脸红、恶心、心悸等症状,这类人群不适宜饮酒^[4-5]。

4.2 ALDH2 多态性与肝病相关性 肝脏疾病主要

包括酒精性肝病、脂肪性肝病、病毒性肝病等。大量饮酒与肝脏疾病的相关性也是肝病研究的重点之一。ALDH2 基因缺陷型人群大量饮酒后,体内乙醛的浓度是野生型人群的 10 倍以上,乙醛在体内累积,可与 DNA 或蛋白形成加合物,也可诱导活性氧的产生,加重对肝脏细胞的损害。ALDH2 基因多态性与肝脏炎症、肝脏纤维化及肝脏肿瘤都存在一定的联系。另外,我国也是病毒性肝炎的高发区,有研究表明,乙型肝炎表面抗原阳性,且是 ALDH2 缺陷型基因携带者,如果大量饮酒,发生肝癌的风险是野生型健康人群的 50 倍以上^[6-7]。

4.3 ALDH2 多态性与心血管疾病的相关性 研究表明,ALDH2 基因多态性与心血管疾病相关。李勇等^[8]研究报道,ALDH2 突变型人群更容易患冠状动脉慢血流。可能是因为突变型 ALDH2 酶活性下降,导致抗氧化及炎症的能力下降,加重细胞损伤,导致慢血流现象。俞佳艳等^[9]发现,ALDH2 的高表达可以使心肌梗死区域细胞凋亡减少,改善心脏功能,这一过程可能是通过抑制 p53 的表达来实现的。胡奉环等^[10]在论述中提到,心肌缺血区域 ALDH2 的 mRNA 表达水平降低,甲基化实验证明,ALDH2 表达过程中甲基化发生改变,这可能是 ALDH2 受抑制的原因,但还需要更多的研究来证实。另外,文章中也提到 ALDH2 可调控 PINK1/Parkin 依赖的线粒体自噬通路的激活,ALDH2 可改善心肌缺血再灌注带来的细胞凋亡,其机制可能与抑制线粒体自噬通路的激活有关^[11-13]。

4.4 ALDH2 多态性与癌症相关性 ALDH2 与多种恶性肿瘤如食管癌、肾癌、肝癌的发生相关^[14-15]。有报道显示,ALDH2 与胃癌的发生相关,但周正元等^[16]的研究中显示,ALDH2 多态性与胃癌的易感性无关,可能是因为样本量少,后期还需要进一步证实。多个研究显示,在癌区域,ALDH2 的表达水平下降^[17-18]。ALDH2 可能作为肿瘤特异的诊断标志物而成为一个研究热点。肾癌最常见的类型是透明细胞癌,因肾癌缺乏诊断标志物,在被发现时 20%~40% 的患者已经出现癌细胞转移。范龙龙等^[19]通过检测肾癌组织及癌旁组织中 ALDH2 的表达,发现 ALDH2 的表达水平均下降,但具体机制还有待研究。ALDH2 基因的多态性与肝癌的发生是目前研究较多的,ALDH2 基因多态性、大量饮酒与肝癌易感性间存在着明显的相关性,携带 ALDH2 变异基因型的饮酒者减少酒精饮用,将有助于降低其发生肝癌的危险性^[20]。

5 展 望

ALDH2 是人体乙醇代谢途径中的关键酶,主要负责将乙醛转化为乙酸,降低对人体细胞的损伤,同时 ALDH2 也是硝酸甘油的代谢酶,将硝酸甘油转化为一氧化氮,进而发挥舒张血管、改善血液流动障碍

的作用。但 ALDH2 基因存在多态性,主要集中在东亚地区,突变的 ALDH2 所编码的酶活性几乎完全丧失,达不到应有的功效,从而对人体产生危害。因此鉴定 ALDH2 的型别至关重要,且 ALDH2 型别的鉴定是一次性,受用终生。目前对 ALDH2 多态性的研究有很多,但大多数存在于宏观方面,具体调控机制的研究还不够,且部分文章因样本量少,所得结论还需进一步证实,在未来,对 ALDH2 更为深入的研究可使人们对其有更多的认识。

参考文献

- [1] 王慧,罗娥,欧雅文. 广东地区汉族人群乙醛脱氢酶 2 基因 Glu504Lys 多态性的研究[J]. 检验医学与临床, 2018, 15(21):3197-3199.
- [2] 黄辰宇,沈伟,朱猛,等. ALDH2 基因多态性与男性饮酒行为关系的分子流行病学研究[J]. 中华疾病控制杂志, 2015, 19(6):539-542.
- [3] 孙宇晶,线海鹏,刘向祎,等. 等位基因特异荧光 PCR 检测 ALDH2 基因多态性[J]. 检验医学, 2017, 32(4):267-271.
- [4] 薛淑慧. 乙醛脱氢酶 2 基因多态性与胃癌患病风险的相关性研究[J]. 贵州医科大学学报, 2018, 43(7):807-811.
- [5] 熊卉,王薇,叶懿,等. ALDH2 基因多态性与乙醇代谢及外周乙醛积蓄程度的关系[J]. 法医学杂志, 2014, 30(1):31-35.
- [6] 高沿航. ALDH2 缺陷促进酒精性肝癌的发生[J]. 临床肝胆病杂志, 2019, 35(8):1774-1775.
- [7] 李颖怡,郭翠芬,章瑞南,等. ALDH2 rs671 基因多态性与非酒精性脂肪性肝病相关性研究[J]. 实用肝脏病杂志, 2019, 22(6):848-851.
- [8] 李勇,陈玉国,徐峰,等. ALDH2 基因多态性与冠状动脉慢血流现象的相关性[J]. 山东大学学报(医学版), 2010, 48(7):91-94.
- [9] 俞佳艳,孙爱军,贾建国,等. 转染乙醛脱氢酶 2 基因对心肌梗死后心衰小鼠心功能的影响[J]. 中国临床医学杂志, 2008, 15(3):277-280.
- [10] 胡奉环,衣欣,杨跃进,等. 乙醇脱氢酶和乙醛脱氢酶基因多态性与冠心病及心肌梗死易感性关系的 Meta 分析[J]. 中国全科医学, 2013, 16(27):3211-3215.
- [11] 张恒,陶敏,康品方,等. 活化的乙醛脱氢酶 2 通过调节双孔钾离子通道 TASK-1 减轻糖尿病大鼠心肌损伤[J]. 中南大学学报(医学版), 2019, 44(1):14-21.
- [12] 刘美玲,张东梅,罗娥. 华南地区汉族人群心脑血管相关基因多态性分析[J]. 检验医学与临床, 2016, 13(9):1169-1171.
- [13] 吴和弟,许丽娃,吉家钗,等. 海南地区 2 型糖尿病并发冠心病老年患者 ALDH2 基因多态性特征及其对冠状动脉狭窄的影响[J]. 山东医药, 2019, 59(5):17-20.
- [14] 李凯咪,邓炯. 乙醛脱氢酶 2 型与乙醛在肿瘤发生发展中的作用[J]. 中国肿瘤, 2019, 28(1):42-48.
- [15] 闫海波,朱峰,李德香. ALDH9 A1、ALDH2 蛋白在脑膜瘤的表达情况及临床意义[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2018, 45(4):379-382.

- [16] 周正元,李建清,孙国祥,等. ADH2、ALDH2 基因多态性及饮酒和胃癌关联的研究[J]. 上海预防医学, 2010, 22(4):207-209.
- [17] 卢宇璇,周红梅,魏润新. 中国人群 ALDH2(E487K)基因多态性与肝细胞肝癌易感相关性研究的 Meta 分析[J]. 现代肿瘤医学, 2018, 26(10):1554-1558.
- [18] 张成禄,于新发,谢健敏,等. 鼻咽癌患者乙醛脱氢酶 2 基因 G1510A 突变及酶活性研究[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(2):178-179.
- [19] 范龙龙,王燕,史本涛,等. ALDH2 在肾透明细胞癌中的表达及其临床意义[J]. 现代泌尿外科杂志, 2018, 23(4):263-267.
- [20] 邵爽,刘春燕,孙晶,等. 乙醛脱氢酶 2 基因多态性与肝脏疾病[J]. 世界华人消化杂志, 2017, 25(33):2981-2986.

(收稿日期:2019-10-30 修回日期:2020-07-04)

• 综述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.18.046

胃镜、腹腔镜联合治疗上消化道溃疡出血的研究进展

朱代亮¹综述,王子卫^{2△}审校

1. 重庆市江津区中心医院普外科,重庆 402260; 2. 重庆医科大学附属第一医院胃肠外科,重庆 400016

关键词:胃镜; 腹腔镜; 消化道溃疡出血; 双镜联合

中图分类号:R573.2

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2020)18-2732-04

上消化道出血是指屈氏韧带以上的出血,急性上消化道出血是一种常见的急症,有报道称其发病率为(103~172)/10 万人次,且病死率高达 10%^[1]。其中溃疡出血是最常见的原因(31%~67%)^[2]。溃疡出血发病率高,病情发展迅速,而且患者很多为高龄,尽管近些年通过各种方法降低其发病率,但总病死率基本保持不变,且 75 岁以上患者病死率仍在增加^[3]。其中溃疡大出血是临床危急重症,对医务人员要求较高,需要医务人员短时间内对出血部位、性质作出判断,并进行再出血及死亡评估,甚至绝大部分情况需要多学科协作才能确保患者生命安全^[4]。因此,早期诊断、合理治疗是降低病死率的有效措施。

目前针对上消化道溃疡出血的治疗方式包括药物治疗、胃镜治疗、介入治疗及外科手术治疗。各种方式各有优缺点,疗效也各异。但手术治疗疗效确切,是目前临床对溃疡大出血治疗的首选方法,有资料显示手术治疗是临床现阶段治疗溃疡大出血最可靠、安全的方法,经对患者展开手术治疗,可彻底切除溃疡病灶,有效防止术后复发^[5]。因传统开腹手术存在诸多弊端,随着微创技术不断提高,应用胃镜、腹腔镜联合治疗上消化道溃疡出血已成为重要趋势。

1 胃镜治疗上消化道溃疡出血

自内镜技术问世以来,胃镜止血已成为上消化道溃疡出血的标准治疗方法,改善了患者的预后^[6]。胃镜在快速诊断、明确出血部位、判断是否活动性大出血以及快速做出相应处理中扮演着重要角色。目前常见的胃镜下止血方法包括:内镜下局部注射止血药物;利用夹子夹闭血管或周围组织实现止血效果;出血部位局部喷洒组织胶;氩气凝固等。有研究已经证明胃镜下止血钳的应用是控制传统内镜技术失败后消化道溃疡出血的一种有效的替代方法,可以从这项

新技术中获益^[7]。胃镜下可以通过不同的方法达到一定的止血效果,但会因各种因素影响,如消化道狭窄、胃肠腔内大量积血等,使得胃镜置入困难、视野不清。且胃镜干预需严格把握时机,以出血 24 h 内为佳,过早过迟均会影响治疗效果,必要时需再次复查^[3]。尽管胃镜疗效确切,但因血流动力学不稳、活动性出血、溃疡直径大于 2 cm、胃小弯侧溃疡以及十二指肠球后溃疡等各种因素的影响,临床中仍有约 13% 的患者发生再次出血,从而增加病死率^[8]。另外一旦遇到特殊位置的溃疡出血,或出血量较大影响视野,或难以保持胃镜下的稳定位置等情况时,不适合在胃镜下完成止血^[9]。CONRAD 等^[10]研究表明胃镜、腹腔镜联合治疗是可行的,能安全去除那些太大或部位特殊的良性病变或异物,而这种情况单用胃镜是无法完成的。

2 腹腔镜治疗上消化道溃疡出血

腹腔镜胃切除术始于 1992 年首次对 1 例慢性溃疡患者进行腹腔镜 Billroth II 型胃切除术^[11]。早期开始的腹腔镜胃疾病手术也包含有顽固性的经久不愈的消化道溃疡^[12]。REYES 等^[13]在对 36 例腹腔镜与开腹胃切除术患者的回顾性病例匹配分析研究中发现,腹腔镜切除术在恢复经口进食时间上平均较开腹手术提前 2.1 d(腹腔镜手术 4.7 d,开腹手术 6.8 d)。腹腔镜胃大部切除术对老年人同样是安全、有效的,并且术后预后良好^[14]。AGABA 等^[15]也证实,随着复杂性溃疡的并发症发生率不断上升(包括溃疡出血),腹腔镜手术提供了一种可供选择的治疗方法,可减少疼痛,缩短住院时间,减少并发症发生率。随着腹腔镜器械的不断改进以及技术的不断提高,腹腔镜胃切除术应用已越来越广泛,并且随着不断积累的腹腔镜手术经验,完全腹腔镜下的胃手术可能是未来的

△ 通信作者, E-mail:122507264@qq.com.