

项平 保志军 主编

Progress of Diagnosis
and Treatment in Large Intestine Diseases

大肠疾病

XIII

诊断与治疗进展

Progress of Diagnosis and Treatment
in Large Intestine Diseases



上海科学技术文献出版社

大肠疾病诊断 与治疗进展

项 平 保志军 主编

上海科学技术文献出版社

图书在版编目(CIP)数据

大肠疾病诊断和治疗进展 / 项平等主编. —上海:
上海科学技术文献出版社, 2005.9
ISBN 7-5439-2663-6

I. 大... II. 项... III. 大肠—肠疾病—诊疗—进
展 IV. R574.6

中国版本图书馆CIP数据核字(2005)第089713号

责任编辑: 胡德仁

大肠疾病诊断与治疗进展

项 平 保志军 主编

*

上海科学技术文献出版社出版发行
(上海市武康路2号 邮政编码200031)

全国新华书店经销

江苏常熟人民印刷厂印刷

*

开本889×1194 1/32 印张12.125 字数356 000

2005年9月第1版 2005年9月第1次印刷

印数: 1—2 300

ISBN 7-5439-2663-6 / R·748

定价: 30.00元

<http://www.sstlp.com>

《大肠疾病诊断和治疗进展》

主 编 项 平 保志军

作者名单(按姓氏笔画为序)

- | | | |
|-----|-------------------------------|----------|
| 丁小龙 | 上海第二医科大学附属宝钢医院放射科 | 教授 |
| 卫 炜 | 上海第二医科大学附属仁济医院,
上海市消化疾病研究所 | 硕士 |
| 尹曙明 | 上海华东医院消化科 | 主治医师 |
| 戈之铮 | 上海第二医科大学附属仁济医院,
上海市消化疾病研究所 | 教授 |
| 方庆亮 | 上海华东医院放疗科 | 主治医师 |
| 王 虹 | 上海静安区中心医院 | 教授 |
| 王洛伟 | 第二军医大学附属长海医院 | 博士 |
| 冯 莉 | 上海瑞金医院集团闵行医院 | 硕士 副主任医师 |
| 孙 旭 | 复旦大学附属华山医院消化科 | 硕士 副教授 |
| 戎 兰 | 复旦大学附属华山医院消化科 | 硕士 副教授 |
| 朱 峰 | 北京协和医院消化科 | 博士 副教授 |
| 朱 琦 | 上海第二医科大学附属仁济医院,
上海市消化疾病研究所 | 博士 |
| 江学良 | 第二军医大学附属长海医院 | 博士 副教授 |
| 何 薇 | 上海华东医院核医学科 | 博士 副主任医师 |
| 吴 晰 | 北京协和医院消化科 | 硕士 |
| 吴云林 | 上海第二医科大学附属瑞金医院 | 教授 主治医师 |
| 张 伟 | 上海华东医院消化科 | 硕士 主治医师 |
| 张 颖 | 上海华东医院消化科 | 硕士 主治医师 |
| 张文俊 | 第二军医大学附属长海医院 | 博士 副教授 |
| 李 梅 | 上海第二医科大学附属宝钢医院放射科 | 硕士 副教授 |
| 李兆申 | 第二军医大学附属长海医院 | 教授 |

杨旅军	上海华东医院麻醉科	教授
沈俊	复旦大学附属肿瘤医院	教授
邹峻	上海华东医院消化科	硕士 主治医师
邹多武	第二军医大学附属长海医院	教授
陆星华	北京协和医院消化科	教授 博士
陈洁	复旦大学附属肿瘤医院	副教授
陈洁	上海华东医院消化科	硕士 主治医师
陈隆典	南京大学附属鼓楼医院消化科	教授
周平红	复旦大学附属中山医院内镜中心	博士 副教授
季大年	上海华东医院消化科	医师
宛建新	同济大学附属第十人民医院	教授
房殿春	第三军医大学西南医院消化内科	教授
欧阳钦	四川大学附属华西医院消化科	教授
竺越	上海华东医院	教授
郑萍	上海交通大学附属第一人民医院	教授
郑松柏	上海华东医院	教授
郑家驹	江苏省苏州市立医院(北区)消化科	教授
金震东	第二军医大学附属长海医院	教授
保志军	上海华东医院消化科	博士 副主任医师
姚礼庆	复旦大学附属中山医院内镜中心	教授
姚建凤	上海华东医院消化科	副主任医师
钟良	复旦大学附属华山医院消化科	博士 副教授
项平	上海华东医院消化内镜中心	教授
徐美东	复旦大学附属中山医院内镜中心	博士 主治医师
殷萍	上海市第一人民医院分院内镜室	副教授
顾同进	上海华东医院消化科	教授
曹忆嵘	上海华东医院消化科	主治医师
程时丹	上海第二医科大学附属瑞金医院	博士 副教授
蒋丽蓉	上海第二医科大学附属新华医院	
	上海儿童医学中心	教授
虞阳	上海华东医院消化科	硕士 主治医师

序

大肠疾病是严重影响我国人民健康的常见疾病之一。随着人民生活水平的提高、饮食结构的西化,以及20世纪80年代以来结肠镜在我国的逐渐推广和普及,各种大肠疾病的发病率及检出率呈明显上升趋势。这一方面可能与疾病谱的变化有关,另一方面也得益于结肠镜以及影像医学、分子生物科学的迅猛发展,使我们对这些疾病的认识与理解不断加深。

早期诊断和治疗将对大肠疾病患者的预后产生积极影响。然而,目前我们对大肠疾病的认识还很不够,有关的内容也鲜有针对大肠疾病的专著和论述,这远远不能满足目前临床和科研的需要。项平教授和保志军博士已从事消化疾病诊治工作多年,积累了丰富的临床实践和研究经验,组织了上海、北京、江苏、四川和重庆等地的消化学专家和富有朝气的青年学者编著了这本《大肠疾病诊断和治疗进展》,系统地对大肠疾病的临床表现、发病机制和治疗策略等方面的关键问题,尤其是对炎症性肠病、大肠癌等常见大肠疾病,进行了较为全面而深入的阐述。

该书内容新颖,是一本可读性很强的参考书,适合内、外科医师,特别是消化科专科医师、临床科研工作者阅读参考。我有幸先睹为快,欣然作序,并推荐给广大读者。

上海华东医院消化内镜中心主任
中华医学会消化内镜学会原副主任委员

徐富星

2005年8月

前 言

大肠疾病约占消化道疾病的 40%，严重影响着人们的身体健康。我院是全国最早在临床开展大肠疾病内镜研究的单位之一，早在 20 世纪 80 年代，徐富星教授就通过手把手、幻灯片等形式，教授来自全国各地的学员。近几年我们举办了 3 届国家级继续教育项目“大肠镜与大肠疾病诊治进展”，深受学员欢迎。为此，我们邀请了部分国内知名专家和一些青年学者，一起编著了这本《大肠疾病诊断和治疗进展》。值首届全国大肠镜及大肠疾病研讨会隆重召开之际，奉献给广大读者。

本书针对某些专题，就大肠疾病的临床表现、发病机制、诊断和治疗等进行了全面而深入的阐述。共分 5 个专题 47 章，各位作者查阅了大量国内外近期文献，着重于大肠疾病的最新进展，力求做到深入浅出，科学性与实用性相统一，便于临床和科研工作者参考，意在抛砖引玉，为提高我国大肠疾病的诊疗水平做一些有益的工作。鉴于编写时间较仓促，加之我们的水平有限，经验不足，出现遗漏或不当之处在所难免，敬请同道赐教指正。

最后，要对所有付出辛勤劳动的作者，上海科技文献出版社的领导、责任编辑胡德仁老师以及为本书出版做了大量具体工作的华东医院郑莉、杨轶伦女士和李大年医师表示诚挚的谢意。

华东医院 项 平 保志军
2005 年 8 月

目 录

第一篇 炎症性肠病专题	(1)
第 一 章 炎症性肠病的流行病学和遗传易感性	(1)
第 二 章 炎症性肠病相关基因研究进展	(6)
第 三 章 炎症性肠病的发病机制	(22)
第 四 章 Toll 样受体 4 在炎症性肠病发病中的 作用	(26)
第 五 章 炎症性肠病的诊断	(33)
第 六 章 提高炎症性肠病诊断准确性的几个问题	(46)
第 七 章 溃疡性结肠炎诊断与治疗进展	(52)
第 八 章 炎症性肠病的治疗	(61)
第 九 章 炎症性肠病药物治疗进展	(68)
第 十 章 造血干细胞移植与炎症性肠病	(74)
第十一章 中国溃疡性结肠炎临床研究的现状与 进展	(79)
第二篇 大肠肿瘤专题	(91)
第十二章 大肠腺瘤研究的进展	(91)
第十三章 肠间质瘤研究进展	(98)
第十四章 表皮生长因子受体家族在结直肠肿瘤 转化中的作用	(110)
第十五章 大肠侧向发育型肿瘤研究进展	(115)
第十六章 结肠癌研究现状	(121)
第十七章 大肠癌发生的分子基础	(125)
第十八章 大肠癌的筛查	(133)
第十九章 结直肠癌筛查临床进展	(141)
第二十章 早期大肠癌的诊断与治疗进展	(149)

第二十一章	大肠癌诊断和治疗策略	(156)
第三篇	肠道动力障碍性疾病专题	(169)
第二十二章	慢性便秘的诊治进展	(169)
第二十三章	肠易激综合征诊治进展	(181)
第四篇	其他大肠疾病专题	(189)
第二十四章	先天性巨结肠症	(189)
第二十五章	急性和慢性肠系膜缺血症	(196)
第二十六章	结肠缺血症	(205)
第二十七章	感染性结肠炎	(212)
第二十八章	肠结核的临床诊断进展	(220)
第二十九章	放射性肠炎	(226)
第三十章	门脉高压性大肠病	(232)
第三十一章	药物性肠病	(236)
第三十二章	老年人抗生素相关性腹泻	(247)
第三十三章	肠道疾病的肠外营养和肠内营养	(258)
第三十四章	几种少见的大肠疾病	(268)
第五篇	大肠疾病影像学检查和内镜诊治专题	(274)
第三十五章	大肠疾病的影像学诊断	(274)
第三十六章	CT 仿真结肠镜	(290)
第三十七章	超声内镜对大肠疾病的诊断进展	(295)
第三十八章	核医学在诊断肠道疾病中的应用	(303)
第三十九章	软式消化内镜的消毒	(311)
第四十章	结肠镜检查阴性或阳性后随访监测	(316)
第四十一章	大肠病变内镜治疗术	(329)
第四十二章	大肠肿瘤 EMR 和 ESD 治疗	(336)
第四十三章	内镜氩离子凝固术在下消化道疾病 治疗中的应用	(342)
第四十四章	下消化道狭窄的内镜治疗	(347)
第四十五章	直肠类癌的内镜诊断和治疗	(356)
第四十六章	结肠镜诊疗的并发症	(363)
第四十七章	无痛内镜检查的临床应用	(369)

第一篇 炎症性肠病专题

第一章 炎症性肠病的流行病学和遗传易感性

DIYIZHANG YANZHENGXING CHANGBING DE LIUXINGBINGXUE HE YICHUAN YIGANXING

炎症性肠病(inflammatory bowel diseases, IBD)包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)及克罗恩病(Crohn's disease, CD)。随着我国人民生活水平逐渐提高,生活方式及食品结构发生了变化,IBD 发病率是否也随之有所上升尚不清楚。正确认识 IBD 的流行病学特征和遗传因素,将会使我们更好地理解 IBD 的发病机制,也有助于疾病的诊断和新的治疗方法的研究。

一、流行病学特征

炎症性肠病(IBD)是世界范围的疾病,在不同地域、不同人群中的发病率差异很大。

1. 地理分布

IBD 发病有明显的地域差异,该病在欧美国家较常见,UC 及 CD 发病率分别为 13.9/10 万及 8.3/10 万,亚洲国家较少见。美国有关 IBD 临床流行病学研究显示,20 世纪 50 年代以前,美国 IBD 发病率也处于较低水平,50 年代以后呈上升趋势,至 80 年代达到高峰。北美发病率高于南美,亚、非洲国家 IBD 少见,据报道,日本 UC、CD 的发病率分别为每年 0.5/10 万人、0.08/10 万人。近年来,我国不少医生在临床工作中感觉到临床诊断 IBD 的病例数似有增多的趋势。究竟是 IBD 发病率真的有所上升,还是与广大医生对 IBD 的认识有所提高,加上临床诊断手段(如大肠镜)的普及,使确诊的病例数增多有关,目前还无法下结论。我国大陆尚未有 IBD 流行病学的研究报道,根据我国香港文献报道,CD 的发病率为 3.0/10 万。IBD 发病率还存在城乡差别,在城市的发病率较农村高,这与人口过度拥挤、暴露于传染源以及生活方式等因素有关。

2. 人群分布

青壮年为 IBD 高发年龄, IBD 发病率在 20~40 岁达到第一个高峰, 在 60~80 岁达到第二个较小的高峰, 呈双峰分布。有学者认为, 这种双峰分布是由于青少年 IBD 和老年人 IBD 的病因不同。青少年 IBD 主要由于遗传因素, 而老年人 IBD 是环境因素的长期影响所致。另有学者认为, 第二个高峰是由于缺血性肠炎误诊或检测住院患者所造成的结果。青少年以小肠 CD 多见, 老年人以结肠 CD 多见。青少年 UC 病情比成年人严重。在性别方面, 多数研究显示: UC 发病率在各个年龄阶段男女比例均为 1:1, CD 发病率女性高于男性, 女男之比为 (1.1~1.8):1。在种族方面, 黑人较白人 IBD 的发病率低, 一方面黑人感染性腹泻的发病率高, 使 IBD 的诊断复杂困难; 另一方面两种人群间医疗服务水平及医疗保障水平的差异不可忽视。大量研究表明, 在特定的地理区域内, 犹太人 IBD 发病率为其他人种的 2~4 倍, 但犹太人 IBD 发病率随地域不同而不同, 与普通人群 IBD 发病率分布相平行, 提示环境因素起着重要作用。另外, 移民入高危地区人群 IBD 发病率提高, 也提示环境因素对 IBD 的影响。UC 和 CD 均在较高社会经济地位和上层人群多见。推测从事体力劳动或户外暴露工作对 IBD 有预防作用, 而具备空调环境或工作不固定和无规律移动的工作者将增加 IBD 患病的危险性。

3. 环境因素与 IBD

在相关的环境因素中, 吸烟与 IBD 的关系较明确。吸烟与 CD 有关, 但对 UC 似乎具有保护作用。不仅主动吸烟者 UC 发病率比不吸烟者低, 而且在被动吸烟者中发病率也减少。然而, CD 吸烟者的临床及预后均较非吸烟者差。这种相反的结果提示: UC 和 CD 的发病机制有所不同。有研究发现: 在 CD 患者中吸烟者占 64%, 而 UC 为 23%。有学者发现: 麻疹患者中 CD 的发病率高, 并在 CD 患者结肠组织中发现麻疹病毒蛋白和 DNA, 在其血清中检测到抗麻疹病毒抗体, 提示麻疹病毒感染是发生 CD 的危险因素。还有学者提出, 副结核分支杆菌在 CD 的发生中发挥重要作用。另有学者报道, 表达特异黏附分子的大肠杆菌与 UC 有关。虽然许多病原体, 包括细菌、病毒、原虫、衣原体等曾被怀疑与 IBD 有关, 但至今尚缺乏足够的证据证明是 IBD

的特异性病原体。口服避孕药的女性,患 CD 的危险性高于无口服避孕药者,且与用药时间成比例。连续应用避孕药 5 年以上,患 CD 的危险明显增加。口服避孕药对 UC 发病率的影响研究结论不一致。常进食快餐者患 IBD 的危险性升高,高纤维素饮食对 IBD 有保护作用。还有学者研究了奶油、咖啡、酒精、蔬菜、水果等饮食结构与 IBD 的关系,未取得一致结论。此外,母乳喂养的婴儿发生 IBD 的危险性小,可能机制为母乳中的 IgA 对婴儿肠黏膜有免疫调节作用,母乳可直接促进肠黏膜的生长发育。据报道,阑尾切除者患 IBD 的危险性显著低于对照组,如这种联系成立,可考虑将阑尾切除作为 IBD 的一种治疗措施。

二、炎症性肠病的遗传易感性

1. IBD 的家族聚集性和阳性家族史

大量研究资料表明:IBD 有家族聚集性,5%~10%的患者中有 IBD 阳性家族史。IBD 患者的一级亲属发病率是普通人群的 30~100 倍,其子女、同胞和父母的发病率分别为 8.9%、8.8%和 3.5%,提示遗传因素在决定 IBD 的发病中有重要作用。家族聚集可反映共同的遗传和环境因素,其中最可靠的依据是对双胞胎共同发病的研究。单卵双生双胞胎的 CD 共同发病率为 42%~58%,而双卵双生双胞胎的共同发病率要低得多。单卵双生和双卵双生双胞胎的 UC 共同发病率,分别为 6%~17%和 0%~5%,因此非遗传因素(如环境因素)在 IBD 的发病机制中也具有重要作用。

仅有少数 IBD 患者有阳性家族史,因此需要研究家族性和散发性 IBD 的关系。家族性 CD 患者起病平均年龄为 22 岁,而散发性为 27 岁,家族性和散发性 UC 的起病年龄分别是 23.3 和 28.6 岁。家族性 IBD 患者的发病年龄早于散发者,这与人类遗传学理论相一致。IBD 患者的子女比父母发病年龄小,这种现象称作早现遗传。在家族性 IBD 中发现女性比例较高,家族性 CD 患者中,女性和男性比为(1.23~1.68):1,家族性 UC 患者中,女性发病率也高于男性,女性和男性之比为(1.3~1.5):1。

2. IBD 易患基因的鉴定

目前,大多数 IBD 的候选基因主要是免疫调节和炎症因子的相关基因。染色体 16q 存在 CD 易感基因 NOD2/CARD15。

NOD2/CARD15 在外周血单核细胞中表达,并介导机体对微生物病原体的抵抗。CD 患者的 NOD2/CARD15 编码区域存在多态性(如 R702W, G908R),能使 CD 发病危险性显著增加。NOD2 突变杂合子的患病危险性增加 3 倍,而突变纯合子可增加 23.4 倍。除了激活 NF- κ B 的表达,NOD2/CARD15 可能与细胞清除入侵细菌的始动过程有关。NOD2 的变异影响 NF- κ B 的活化,与 NOD2/CARD15 的结构域中富含亮氨酸重复序列有关。细胞外受体和细胞内 NOD2 共同参与黏膜对肠道微生物的先天免疫应答。NOD2 的 LRR 突变可引起 NF- κ B 表达下降。当发生移码突变 L1007fsinsC,脂多糖(LPS)诱导细胞 NF- κ B 的活化能力明显降低。在 R702W 和 G908R 变异中的情况也类似。因此,这 3 种变异结果都导致细菌成分对细胞 NF- κ B 的诱导作用下降,提示 NOD2/CARD15 变异与 CD 的发病机制相关。

肿瘤坏死因子 α (TNF α) 能上调肠上皮细胞 NOD2/CARD15mRNA 和蛋白的表达;若与 γ 干扰素 (IFN γ) 共同处理细胞,结果更加明显。而 TNF 缺陷的突变型小鼠 NF- κ B 活性下降,对病原体入侵的易感性增加。经研究发现,回肠型 CD 患者有较多的阳性家族史,起病年龄较早,并且这类患者可带有 1 个以上的 NOD2/CARD15 易患等位基因。单纯回肠型 CD、混合型 CD 和单纯结肠型 CD 患者中的易患基因,发生率分别为 26.9%,19.7%和 12.7%,提示 NOD2/CARD15 易患等位基因与回肠病变有密切关系。由于只有少数(10%~15%)CD 患者有阳性家族史,而且遗传连锁研究主要针对这部分患者,因此 NOD2/CARD15 与散发性 CD 的关系仍需进一步研究。

对人类白细胞抗原的研究大多集中在染色体 6p 部位,该部位含有多种介导机体炎症反应的基因,包括 HLA。大量研究提示:HLA I 和 II 与 IBD 的表型和肠外表现有关,尤其是 UC 患者。一些稀有的变异,如 HLADRB10103,在正常人群中的比例为 0.2%~3.2%,而 UC 患者中为 6%~10%,病变范围较广泛的 UC 患者中为 15.8%,重症需手术治疗 UC 患者为 14.1%~25.0%。近年来也有报道,5 号染色体中的一些区域与 CD 的易感性有关。通过连锁不平衡分析发现,5 号染色体某个区域存在细胞因子簇,能增加 CD 的易感性。杂合子和纯合子的患病危险性分别提高 2 和 6 倍。然而,该区域包含至少 11 个基因,

尚不清楚易患基因的确切定位。

流行病学数据显示,IBD发病主要原因在于遗传易感性,最大的危险因子是阳性家族史。近年来,在阐明IBD发病机制中的遗传基因、微生物、细胞学和分子学方面取得了巨大进步,尤其是认识到特异性CD相关的NOD2遗传的变异和染色体5q细胞因子簇,从根本上改变了目前对IBD发病机制、预后和治疗的观念。

参 考 文 献

1. Loftus EV, Sandborn WJ. Epidemiology of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am*,2002, 31:1~20
2. Ladas SD, Mallas E, Giorgiotis K, et al. Incidence of ulcerative colitis in Central Greece: a prospective study. *World J Gastroenterol*,2005, 11:1785~1787
3. Tsironi E, Feakins RM, Probert CS, et al. Incidence of inflammatory bowel disease is rising and abdominal tuberculosis is falling in Bangladeshis in East London, United Kingdom. *Am J Gastroenterol*,2004, 99:1749~1755
4. Leong RW, Lau JY, Sung JJ. The epidemiology and phenotype of Crohn's disease in the Chinese population. *Inflamm Bowel Dis*,2004, 10:646~651
5. Tezel A, Dokmeci G, Eskiocak M, et al. Epidemiological features of ulcerative colitis in Trakya, Turkey. *J Int Med Res*,2003, 31: 141~148
6. Stordal K, Jahnsen J, Bentsen BS, et al. Pediatric inflammatory bowel disease in south-eastern Norway: a five-year follow-up study. *Digestion*,2004, 70:226~230
7. Regueiro M, Kip KE, Cheung O, et al. Cigarette smoking and age at diagnosis of inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*,2005, 11:42~47
8. Birrenbach T, Bocker U. Inflammatory bowel disease and smoking: a review of epidemiology, pathophysiology, and therapeutic implications. *Inflamm Bowel Dis*, 2004, 10:848~859
9. Macfarlane S, Furrie E, Kennedy A, et al. Mucosal bacteria in ulcerative colitis. *Br J Nutr*,2005, 93 (suppl):67~72
10. Sugimura K, Taylor KD, Lin YC, et al. A novel NOD2/CARD15 haplotype conferring risk for Crohn disease in Ashkenazi Jews. *Am J Hum Genet*,2003, 72:509~518
11. Gazouli M, Zacharatos P, Mantzaris GJ, et al. Association of NOD2/CARD15 variants with Crohn's disease in a Greek population. *Eur J Gastroenterol Hepatol*,2004, 16: 1177~1182

第二章 炎症性肠病相关基因研究进展

DIERZHANG YANZHENGXING CHANGBING XIANGGUAN JIYIN YANJIU JINZHAN

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)包括克罗恩病(Crhn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)组成,是胃肠道的慢性非特异性炎性疾病。IBD 的病因及发病机制仍不明确,大量证据表明:它是由遗传因素、环境因素、自身免疫紊乱三者相互作用的结果,其中遗传易感因素在 CD 发病机制中起着重要的作用。其遗传易感性主要表现为家族聚集现象、单卵双生共患率及不同人群发病率、流行率差异较大。自 2001 年发现并证实人类 CD 第一个易感基因 NOD2/CARD15 以来,近年关于炎症性肠病相关基因的研究,已成为 IBD 研究领域的热点,本文就其研究进展作一综述。

一、NOD2/CARD15 基因的发现及证实

1996 年, Hugot 等采用非参数连锁分析(nonparametric linkage analysis, NLP)法,对 CD 同胞患者(affected sibling pairs, ASP)进行基因组位点的微卫星标记研究,发现 CD 的易感位点位于第 16 条染色体着丝点附近,将其命名为 IBD1 位点。该位点在不同人群的反复研究中得到证实,特别是被 IBD 国际基因协会证实,并确定其 LOD 值为 5.8。

2001 年,两个研究小组分别报道在 CD 家系 IBD1 位点的 NOD2 基因,从而发现了人类 CD 第一个易感基因。Hugot 等在 108 个 CD 家系中,采用 26 个微卫星标记精细地描绘了 IBD1 位点,采用传递不平衡试验(transmission disequilibrium test, TDT),确定了 D16S3136 微卫星标记的 207bp 等位基因与 CD 略有相关性($P < 0.05$)。在 76 个 CD 家系中重复实验,发现该微卫星标记的另一 205bp 等位基因也与 CD 有相关。进一步对含有该微卫星标记的细菌人造染色体(bacterial artificial chromosome, BAC)克隆进行测序,发现该序列上几个单核苷酸多态性(SNP)与 CD 有显著相关性,将该序列与人类白细胞 cDNA 库相比,发现了 NOD2 基因,现命名为 CARD15 基因。Hugot 等

对 50 个 CD 患者 NOD2 基因进行测序,发现其上有 3 个单核苷酸多态性 SNP 与 CD 有显著相关性,分别是:两个因氨基酸互换引起的 SNP(Arg720Trp, Gly908Arg),一个因胞嘧啶插入导致的移码突变 3020insC(各自 P 值为: $P=0.001$ 、 $P=0.003$ 、 $P=0.000\ 006$)。对 167 例 UC 患者的 NOD2 基因进行测序,发现这 3 个多态性在 UC 患者中的发生率与健康对照组无明显差异,说明 NOD2 基因与 UC 无相关性。

2001 年另一组研究中,Ogura 等应用候选基因的方法,也证实位于 IBD1 位点涉及先天免疫的 NOD2 基因是 CD 的易感基因,同样发现上述 3 个多态性 CD 的显著相关性。Hampe 等在德国和英国人群中,验证了 NOD2 移码突变与 CD 的相关性。随后,多个研究小组在荷兰、德国、挪威、意大利、西班牙等欧洲国家和加拿大及犹太人群中均证实上述相关性。

目前,在 NOD2 基因中检测出 100 个左右的序列变异,绝大多数是位于 LRR 区域极少见的突变。Lesage 在该基因中发现了 67 个序列改变,其中 9 个的基因频率大于 5%,这显示 NOD2 基因有高度的多态性。在这些等位基因中,R702W, G908R, 1007fs 与 CD 易感性有独立相关(等位基因频率分别为 11%, 6%, 11%)。另外,27 个少见的突变也被认为是潜在致病突变(DCMs)。3 个主要突变是 R702W, G908R, 1007fs 各自占总的 CD 突变的 32%, 18%, 31%,而 27 个罕见的突变占 19%。这些 NOD2 基因潜在的致病突变已被确认,但由于过于罕见,研究者无法进行与疾病易感性的统计学分析。

二、NOD2 基因结构及其蛋白的生理作用

(一) NOD2 基因结构特点及表达

NOD2 基因位于 16q12,包含着 12 个具有编码功能的外显子,分析其核苷酸的序列,其中一个较长的开放阅读框架(ORF)最常用,此区域编码的蛋白称 NOD2,另有两个潜在的 ORF,其翻译起始位置被 81 个核苷酸分离,它们编码的蛋白称 NOD2b,并发现这两个位点都能在细胞内被利用。Nod2cDNA 结构为: N 端 2 个 CARDs (capase recruitment domains)区(位于氨基酸残基 28~220 处)与中间的 1 个 NBD(nucleotide binding domain)区域连接(位于氨基酸残基 273~577 处),C 端由 10 个相

连的 LRRs(Leucine-rich repeats)的区域(位于氨基酸残基744~1 020处)组成。LRRs 区域以有 α 螺旋及 β 折叠,从而形成马蹄形结构。NOD2 蛋白由 1 013 个氨基酸组成,是参与细胞凋亡调控的 NOD1/Apaf-1 家族中的一员,与植物疾病抵抗基因的产物具有高度同源性。不同的是,NOD1 和 Apaf-1 在各种组织中广泛表达,而 NOD2 在外周血单核细胞中表达,在细胞质中对来源于细菌的致病成分起作用。它是第一个已知的含有 2 个 CARD 的蛋白质。研究表明,CD 患者小肠黏膜上皮细胞和回肠末端潘氏细胞也可检测到 NOD2 的大量表达。

(二) NOD2 蛋白生理作用

1. 调控细胞凋亡作用

NOD2 通过其上 CARD 参与细胞凋亡的调控。研究表明:NOD1, Apaf-1 通过诱导 Caspase-9 表达可促进凋亡的发生。同样也发现:NOD2 本身也不能诱导细胞凋亡,也是通过诱导 Caspase-9 进一步促进细胞的凋亡;NOD2 通过其上的 NBD 介导 NOD2 发生寡聚化,使之与其配位的 Caspase-9 发生 CARD-CARD 嗜同种相互作用,从而激活一系列半胱氨酸蛋白酶及非半胱氨酸蛋白酶的链锁反应,最终导致蛋白水解、细胞凋亡。

2. 对细菌成分的反应,诱导 NF- κ B 的激活

NOD2 能对细菌成分产生反应,可能是作为细菌成分 LPS 等的细胞内受体,在单核/巨噬细胞中传导信号,从而激活 NF- κ B。NF- κ B 是一种细胞内转录因子,它激活后可通过其信号传导途径激活一系列炎性细胞因子,这些细胞因子又会引起炎性细胞向病原体侵入部位趋化运动并释放炎性介质,从而引起局部的防御性炎性改变。在 CD 患者肠黏膜活检标本中,可检测到高浓度的 NF- κ B 及其所诱导的细胞因子,提示 NF- κ B 是许多炎性介质的共同通道,它在 CD 肠黏膜的炎性损伤中起十分重要的作用。

在 NOD2 激活 NF- κ B 的过程中,其上两个 CARD 充当效应器的作用。NOD2 通过其与 RICK(丝氨酸-苏氨酸激酶,serine-threonine kinase)之间 CARD-CARD 的嗜同种相互作用激活 NF- κ B。这两个 CARD 缺一不可,缺失一个或两个 CARD 均会导致 NF- κ B 活性的完全丧失。然而 2 个相连的 CARD 片段表达时,并不能激活 NF- κ B。由此可以提示:NOD2 的 CARD 区域