

· 论 著 ·

线粒体 DNA D-loop 区基因多态性 与溃疡性结肠炎的相关性

卢加杰, 刘晶, 木尼拉·买买提, 李紫琼, 冯燕, 高峰
新疆维吾尔自治区人民医院消化科, 新疆 乌鲁木齐 830001

摘要: **目的** 研究线粒体 DNA(mtDNA) D-loop 区的基因多态性与溃疡性结肠炎(UC)的相关性。**方法** 选择 2017 年 1 月至 2019 年 8 月诊治的 180 例 UC 患者的直肠病变黏膜组织(UC 组)及同期体检健康者 180 例的正常直肠黏膜组织(对照组),应用聚合酶链反应(PCR)对其 mtDNA D-loop 区进行扩增并测序,将测序结果与剑桥标准序列(rCRS)进行比对查找变异位点。**结果** UC 患者病变肠黏膜组织 mtDNA D-loop 区共发现 218 个变异位点,健康对照者正常肠黏膜组织 mtDNA D-loop 区发现了 203 个变异位点。两组中有 19 个变异位点发生率 > 10%,且在两组中均存在,其中 4 个位点的发生率差异有统计学意义:健康对照组 16520(T→C)的发生率显著高于 UC 组($\chi^2=6.890, P<0.01$), UC 组 311(T→CTC)、16299(T→C)、16320(G→A)的发生率显著高于健康对照组($\chi^2=58.973, P<0.01$; $\chi^2=141.917, P<0.01$; $\chi^2=20.238, P<0.01$)。UC 不同临床类型、不同病变范围、不同严重程度间变异位点的发生率差异均无统计学意义($P>0.05$)。**结论** mtDNA D-loop 区在 UC 中是一个具有高度多态性和较高突变率的区域,该部位的突变与 UC 发病相关,UC 患者病变肠黏膜组织线粒体酶呼吸链复合体活性下降及 ATP 含量匮乏可能均与此有关。

关键词: 溃疡性结肠炎; 线粒体脱氧核糖核酸; D-loop 区; 基因多态性; 肠黏膜屏障

中图分类号: R574.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2021)10-1297-05

Correlation between gene polymorphisms of mitochondrial DNA D-loop region and ulcerative colitis

LU Jia-jie, LIU Jing, Mnila Maimaiti, LI Zi-qiong, FENG Yan, GAO Feng

Department of Gastroenterology, People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi, Xinjiang 830001, China

Corresponding author: GAO Feng, E-mail: xjgf@sina.com

Abstract: Objective To study the relationship between gene polymorphisms of mitochondrial DNA (mtDNA) D-loop region and ulcerative colitis (UC). **Methods** The rectal mucosal tissues were taken respectively from 180 UC patients with mucosal lesions treated from January 2017 to August 2019 (UC group) and 180 physical examiners in the same period(control group). The mtDNA D-loop regions were amplified and sequenced by polymerase chain reaction (PCR) and were compared with the revised Cambridge reference sequence (rCRS) to find the mutation sites. **Results** In D-loop region of mtDNA, a total of 218 mutant sites and 203 mutant sites were found in UC group and control group, respectively. The incidence of more than 10% in 19 mutant sites was in both groups, and there was a statistical difference in the incidence of four mutant sites between two groups. Among them, the incidence [16520 (T→C)] in control group was significantly higher than that in UC group ($\chi^2=6.890, P<0.01$), and the incidences [311 (T→CTC), 16299 (T→C) and 16320 (G→A) in UC group were significantly higher than those in control group ($\chi^2=58.973, P<0.01$; $\chi^2=141.917, P<0.01$; $\chi^2=20.238, P<0.01$). There were no significant differences in the incidence of mutant sites among the different clinical type, the different extent of pathological changes and different severity for UC ($P>0.05$). **Conclusions** The mtDNA D-loop region in UC with high frequency of polymorphism and high rate of mutation is related to the pathogenesis of UC, and possibly related to the reduction in activity of mitochondrial respiratory

DOI: 10.13429/j.cnki.cjcr.2021.10.001

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目(2017D01C112)

通信作者: 高峰, E-mail: xjgf@sina.com

chain complexes and the lack of adenosinetriphosphate (ATP) content.

Keywords: Ulcerative colitis; Mitochondrial DNA; D-loop region; Gene polymorphisms; Intestinal mucosal barrier

Fund program: Supported by Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region (2017D01C112)

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 发病机制复杂, 遗传易感性是其重要的发病机制之一^[1]。全基因组关联研究 (GWAS) 使人们对 UC 的易感基因有了全面和快速的认识, 目前已经发现 160 个与 UC 相关的位点^[2], 它们主要是编码免疫应答介质 [如 IL10、IL23R、IL26 和主要组织相容性复合体 (MHC) 基因] 及上皮屏障功能的基因 [如细胞外基质蛋白 1 (ECM1)、钙黏蛋白基因 (CDH1)、肝细胞核因子 4 α (HNF4 α) 和层粘连蛋白 β 1 (LAMB1)]。然而, 这些遗传易感位点仅能解释 20%~25% 的遗传力, 低于疾病总体变异的 10%, 提示可能仍有很多 UC 相关的遗传因子尚待确认, 如罕见的变异、核外基因等^[3]。线粒体基因组, 即线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 是独立于细胞核染色体外的基因组, 也是唯一存在于细胞质中的 DNA 分子, 同样具有自我复制、转录和编码功能, 与细胞能量代谢密切相关。以往对 UC 遗传因素研究的焦点都在核内基因上, 对于 mtDNA 与 UC 发病的关系关注较少。D-loop 区是 mtDNA 唯一的非编码区, 是 mtDNA 复制和转录重要的调控序列, 存在着高度序列多态性, 本研究探讨 mtDNA D-loop 区基因多态性与 UC 的相关性。

1 资料与方法

1.1 临床资料 2017 年 1 月至 2019 年 8 月新疆维吾尔自治区人民医院诊治的 UC 患者 180 例, 其中男性 94 例, 女性 86 例; 年龄 18~77 (38.55 \pm 17.31) 岁; 病程 51 (22, 135) 个月。UC 的诊断符合《炎症性肠病诊断与治疗的共识意见 (2018 年, 北京)》^[4]。纳入标准: (1) 年龄 \geq 18 岁; (2) 明确诊断 UC; (3) 同意并自愿加入本研究。排除标准: (1) 不宜行结肠镜检查者; (2) 凝血机制障碍、口服抗凝药物等原因不宜活检者。选择同期本院体检肠黏膜正常的健康者 180 例, 其中男性 94 例, 女性 86 例, 年龄 18~76 (41.26 \pm 16.45) 岁。UC 患者结肠镜检查时在直肠 (距肛缘 10~15 cm) 取病变肠黏膜组织 4 块为 UC 组; 体检肠黏膜正常的健康者在直肠取正常肠黏膜组织 4 块为健康对照组。组织标本均经液氮速冻后于 -80 $^{\circ}$ C 保存。本研究经新疆维吾尔自治区人民医院伦理委员会审核批准 (伦理

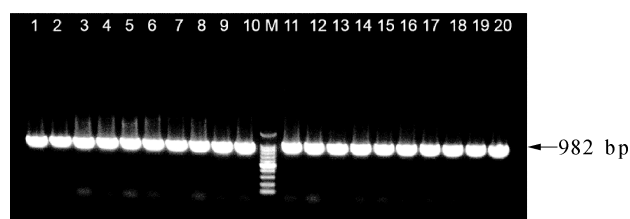
批准号: KY20180118144), 所有研究对象签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取 采用微量样品基因组 DNA 提取试剂盒 (DP316) (天根生化科技, 北京) 提取 UC 病变肠黏膜组织和正常肠黏膜组织全基因组 DNA, 按照试剂盒的说明书进行操作。提取的 DNA 置于 -20 $^{\circ}$ C 冻存储用。

1.2.2 引物合成及 PCR 扩增 参考文献 [5] 设计扩增线粒体 DNA D-loop 区的引物。扩增目的片段长度为 982 bp, 上游引物序列: 5'-CCC CAT GCT TAC AAG CAA GT-3'; 下游引物序列: 5'-GCT TTG AGG AGG TAA GCT AC-3'。引物的合成与纯化由上海生工生物工程技术有限公司完成。引物合成后用去离子水稀释至终浓度为 10 倍使用浓度, 于 -20 $^{\circ}$ C 冻存储用。PCR 反应体系包括: 2 \times EasyTaq[®]PCR SuperMix (全式金生物技术公司, 北京) 5 μ l, 引物 1 μ l, DNA 样品 1 μ l, 双蒸水 3 μ l, 反应体系总体积 10 μ l。反应程序为: 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 而后 95 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 58 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 共 30 个循环, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。

1.2.3 PCR 产物的鉴定、纯化和测序 取 2 μ l 扩增产物, 1% 琼脂糖凝胶电泳后用凝胶成像仪检测, 呈单一明亮条带, 其长度为 982 bp (图 1)。PCR 产物送至北京华世百奥生物技术公司进行纯化及测序。



注: M 表示 100 bp Marker; 1~10 为 UC 病变肠黏膜组织 mtDNA D-loop 区扩增产物; 11~20 为正常肠黏膜组织 mtDNA D-loop 区扩增产物。

图 1 部分样本 mtDNA D-loop 区扩增产物电泳图

1.2.4 PCR 产物测序及结果分析 测序委托北京华世百奥生物技术公司完成。测序反应所用引物与 PCR 反应引物相同, 所有样品均进行双向测序。将样本 D-loop 区的基因序列与剑桥标准序列 (revised Cambridge reference sequence, rCRS) 进行比对查找变异位点。

1.3 统计学方法 用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析。计数资料的组间比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组肠黏膜组织 mtDNA D-loop 区基因变异分析 两组所有样本均存在变异, UC 患者病变肠黏膜组织 mtDNA D-loop 区共发现 218 个变异位点, 健康对照者正常肠黏膜组织 mtDNA D-loop 区发现 203 个变异位点。表 1 可见, 两组中有 19 个变异位点发生率 $> 10\%$, 且在两组中均存在 (其余变异位点在两组中的发生率均 $< 5\%$)。其中 UC 组 16520 (T→C)、74 (A→G)、264 (A→G)、311 (T→CTC)、16299 (T→C)、16320 (G→A)、16363 (T→C)、151 (C→T)、250 (A→)、205 (T→C) 的发生率均 $> 30\%$ 。

2.2 两组肠黏膜组织 mtDNA D-loop 区基因变异差异性分析 UC 患者病变肠黏膜组织和健康对照者正常肠黏膜组织 mtDNA D-loop 区共同存在的 19 个变异位点中有 4 个变异位点发生率差异存在统计学意义: 对照组 16520 (T→C) 的发生率显著高于 UC 组 ($\chi^2 = 6.890, P < 0.05$), UC 组 311 (T→CTC)、16299 (T→C)、16320 (G→A) 的发生率显著高于对照组 ($\chi^2 = 58.973, P < 0.01; \chi^2 = 141.917, P < 0.01; \chi^2 = 20.238, P < 0.01$)。见表 1。

2.3 mtDNA D-loop 区基因变异与 UC 临床特征的关系 180 例 UC 患者的临床特征, 临床类型: 初发型者 73 例, 占 40.56%, 慢性复发型 107 例, 占 59.44%; 病变范围: 直肠型 25 例, 占 13.89%, 左半结肠型 86 例, 占 47.78%, 全结肠型 69 例, 占 38.33%; 严重程度: 轻度 104 例, 占 57.77%, 中度 55 例, 占 30.56%, 重度 21 例, 占 11.67%。进一步分析变异发生率均 $> 30\%$ 的 10 个位点: 16520 (T→C)、74 (A→G)、264 (A→G)、311 (T→CTC)、16299 (T→C)、16320 (G→A)、16363 (T→C)、151 (C→T)、250 (A→)、205 (T→C) 与 UC 临床特征的关系, 结果显示, 10 个变异位点在 UC 不同临床特征各组间差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2、表 3、表 4。

3 讨论

肠黏膜屏障功能异常是 UC 发生和发展的关键因素之一^[6-8]。肠黏膜屏障功能的维持呈能量依赖性^[9]。ATP 是生物体内最直接的能量来源, ATP 匮乏会导致肠黏膜上皮细胞萎缩、坏死、凋亡^[10], 肠黏膜上皮细胞的顶端连接复合体结构和功能障

碍^[11-12], 黏膜屏障功能受损下降。笔者既往研究显示, UC 患者病变肠黏膜组织 ATP 含量显著下降, 而远离炎症病变部位的正常肠黏膜组织 ATP 含量处于正常水平, 提示 ATP 合成不足在 UC 肠黏膜炎症过程中具有重要作用, 是 UC 的重要病因^[13]。

线粒体是合成 ATP 的主要场所, 依赖内膜上的五个呼吸链酶复合体, ATP 的合成过程与呼吸链的电子传递相偶联^[14]。mtDNA 编码区编码的 13 种多肽是组成氧化呼吸链酶复合体 I、复合体 III、复合体 IV 和复合体 V 的亚基^[15-16]。由于 DNA 合成活跃、缺少组蛋白保护、DNA 多聚酶 γ 校对功能不足、核苷酸切除修复功能缺失等原因, mtDNA 相对不稳定, 损伤后突变率比核基因高 10~17 倍^[17]。mtDNA 突变可引起线粒体氧化呼吸链酶复合体结构和功能障碍, 影

表 1 两组肠黏膜组织 mtDNA D-loop 区基因变异分析 [例(%)]

| 突变位点 | 核苷酸改变 | UC 组 (n=180) | 对照组 (n=180) | χ^2 值 | P 值 |
|-------|-------|--------------|-------------|------------|--------|
| 16520 | T→C | 113(62.78) | 136(75.56) | 6.890 | 0.009 |
| 74 | A→G | 178(98.89) | 171(95.00) | 4.595 | 0.061 |
| 264 | A→G | 165(91.67) | 174(96.67) | 4.096 | 0.070 |
| 311 | T→CTC | 79(43.89) | 15(8.33) | 58.973 | <0.001 |
| 16299 | T→C | 145(80.56) | 32(17.78) | 141.917 | <0.001 |
| 16320 | G→A | 56(31.11) | 21(11.67) | 20.238 | <0.001 |
| 153 | T→C | 48(26.67) | 43(23.89) | 0.368 | 0.544 |
| 16363 | T→C | 72(40.00) | 88(48.89) | 2.880 | 0.090 |
| 151 | C→T | 74(41.11) | 85(47.22) | 1.363 | 0.243 |
| 250 | A→ | 95(52.78) | 78(43.33) | 3.215 | 0.073 |
| 490 | T→C | 31(17.22) | 22(12.22) | 3.056 | 0.080 |
| 16328 | C→T | 25(13.89) | 22(12.22) | 0.729 | 0.393 |
| 16291 | C→T | 32(17.78) | 35(19.44) | 0.165 | 0.685 |
| 205 | T→C | 87(48.33) | 70(38.89) | 3.264 | 0.071 |
| 201 | A→G | 23(12.22) | 31(17.22) | 1.394 | 0.238 |
| 147 | T→C | 22(12.22) | 19(10.56) | 0.248 | 0.740 |
| 16305 | T→C | 20(11.11) | 20(11.11) | 0.000 | 1.000 |
| 236 | A→G | 23(12.22) | 19(10.56) | 0.431 | 0.623 |
| 200 | T→C | 19(10.56) | 25(13.89) | 0.932 | 0.421 |

表 2 不同临床类型 UC 患者肠黏膜组织 mtDNA D-loop 区基因变异分析 [例(%)]

| 突变位点 | 核苷酸改变 | 初发型 (n=73) | 慢性复发型 (n=107) | χ^2 值 | P 值 |
|-------|-------|------------|---------------|------------|-------|
| 16520 | T→C | 43(58.90) | 70(65.42) | 0.789 | 0.433 |
| 74 | A→G | 73(100.00) | 105(98.13) | 1.380 | 0.515 |
| 264 | A→G | 64(87.67) | 101(94.39) | 2.566 | 0.109 |
| 311 | T→CTC | 30(41.10) | 49(45.79) | 0.389 | 0.545 |
| 16299 | T→C | 62(84.93) | 83(77.57) | 1.501 | 0.254 |
| 16320 | G→A | 18(24.66) | 38(35.51) | 2.386 | 0.142 |
| 16363 | T→C | 30(41.10) | 42(39.25) | 0.061 | 0.877 |
| 151 | C→T | 29(39.73) | 45(42.06) | 0.097 | 0.877 |
| 250 | A→ | 45(61.64) | 50(46.73) | 3.873 | 0.068 |
| 205 | T→C | 33(45.21) | 54(50.47) | 0.481 | 0.545 |

表3 不同病变范围 UC 患者肠黏膜组织 mtDNA D-loop 区基因变异分析 [例(%)]

| 突变位点 | 核苷酸改变 | 直肠型(n=25) | 左半结肠型(n=86) | 全结肠型(n=69) | χ^2 值 | P 值 |
|-------|----------|-----------|-------------|------------|------------|-------|
| 16520 | T→C | 18(72.00) | 52(60.47) | 43(62.32) | 1.113 | 0.584 |
| 74 | A→G | 24(96.00) | 85(98.84) | 69(100.00) | 2.676 | 0.405 |
| 264 | A→G | 24(96.00) | 82(95.35) | 59(85.51) | 5.568 | 0.056 |
| 311 | T---→CTC | 11(44.00) | 38(44.19) | 30(43.48) | 0.008 | 1.000 |
| 16299 | T→C | 20(80.00) | 64(74.42) | 61(88.41) | 4.787 | 0.089 |
| 16320 | G→A | 7(28.00) | 29(33.72) | 20(28.99) | 0.532 | 0.776 |
| 16363 | T→C | 13(52.00) | 34(39.53) | 25(36.23) | 1.916 | 0.393 |
| 151 | C→T | 10(40.00) | 35(40.70) | 29(42.03) | 0.043 | 0.978 |
| 250 | A→-- | 13(52.00) | 42(48.84) | 40(57.97) | 1.289 | 0.529 |
| 205 | T→C | 14(56.00) | 38(44.19) | 35(50.72) | 1.339 | 0.518 |

表4 不同严重程度 UC 患者肠黏膜组织 mtDNA D-loop 区基因变异分析 [例(%)]

| 突变位点 | 核苷酸改变 | 轻度(n=104) | 中度(n=55) | 重度(n=21) | χ^2 值 | P 值 |
|-------|----------|------------|-----------|------------|------------|-------|
| 16520 | T→C | 71(68.27) | 30(54.55) | 12(57.14) | 3.223 | 0.079 |
| 74 | A→G | 103(99.04) | 54(98.18) | 21(100.00) | 0.507 | 1.000 |
| 264 | A→G | 95(91.35) | 52(94.55) | 18(85.71) | 1.585 | 0.499 |
| 311 | T---→CTC | 51(49.04) | 22(40.00) | 6(28.57) | 3.458 | 0.184 |
| 16299 | T→C | 78(75.00) | 49(89.09) | 18(85.71) | 4.964 | 0.086 |
| 16320 | G→A | 27(25.96) | 19(34.55) | 10(47.62) | 4.260 | 0.126 |
| 16363 | T→C | 41(39.42) | 22(40.00) | 9(42.86) | 0.086 | 0.975 |
| 151 | C→T | 43(41.35) | 20(36.36) | 11(52.38) | 1.616 | 0.437 |
| 250 | A→-- | 48(46.15) | 32(58.18) | 15(71.43) | 5.406 | 0.070 |
| 205 | T→C | 55(52.88) | 21(38.18) | 11(52.38) | 3.270 | 0.199 |

响 ATP 合成。笔者既往的研究结果显示 UC 患者病变肠黏膜组织呼吸链酶复合体 I 活性明显下降,而复合体 II、III、IV、V 活性无明显变化,提示线粒体酶复合体活性下降导致线粒体能量代谢障碍可能是 UC 重要的发病机制^[13]。mtDNA 基因多态性引起基因表达异常,导致线粒体呼吸链酶复合体结构和功能异常可能是线粒体呼吸链酶复合体活性下降的原因。目前已经发现 250 多种与 mtDNA 异常相关的疾病,其中也包括 UC^[18]。一项关于美国欧洲裔 UC 人群的研究显示 mtDNA 突变(mtSNP A10550G)可能通过影响肠内稳态参与 UC 发病^[3]。另一项研究显示,MT-ND4 11719 A/G 多态性与 UC 发病存在关联,而 MT-ND4 基因编码线粒体呼吸链复合体 I 的其中一个亚基^[19]。

D-loop 区是 mtDNA 的非编码区,是 mtDNA 复制和转录重要的调控序列,含有复制起点(OriH/OriL)和转录启动子(重链启动子 HSP 和轻链启动子 LSP)^[20]。mtDNA D-loop 区的突变会影响编码区基因的转录和翻译。本研究中对 180 例 UC 患者和健康对照者肠黏膜 mtDNA D-loop 区进行测序,结果显示每例样本中均存在变异位点,UC 患者病变肠黏膜组织中共发现 218 个变异位点,人均变异数为 1.21 个,健康对照者正常肠黏膜组织中共发现 203 个变异位点,人均变异数为 1.13 个,提示 D-loop 区存在高度

的多态性,与其他研究结果一致^[21-22]。在 UC 患者发生率>10%的 19 个变异位点中 311(T---→CTC)、16299(T→C)、16320(G→A)的发生率显著高于健康对照者,提示这些变异可能与 UC 发病相关,结合先前的研究结果^[12],笔者推测这些变异可能引起 UC 患者线粒体呼吸链酶复合体 I 活性下降,ATP 合成障碍,参与 UC 发病,这种推测需要做进一步的 mtDNA 基因表达研究进行确认。目前关于 mtDNA D-loop 区变异与 UC 关系的研究报道罕见。Kassem 等^[23]对结直肠癌(CRC)及其癌前病变,包括 UC 和腺瘤性息肉(AP)组织 mtDNA 的四个区段及 D-loop 区的两个区段(D-loop 1 和 D-loop 2)的研究发现,D-loop 区突变频率极高,mtDNA 的一些突变在癌前病变(UC 和 AP)和癌性病变中反复被检测到(如 T414G),提示 mtDNA 突变与癌前病变(AP 或 UC)导致 CRC 的转化有关,遗憾的是该研究未检测整个 D-loop 区域,且研究样本量小,也未设置健康对照组,因此无法获得 mtDNA 突变与 AP、UC 及 CRC 关系的结论。同时值得注意的是,本研究也发现健康对照者正常肠黏膜组织 16520(T→C)的变异发生率显著高于 UC 患者病变肠黏膜组织,提示其对 UC 发病可能具有保护作用,但是该突变在 UC 病变肠黏膜组织和健康人正常肠黏膜组织中发生率均超过 60%,笔者推测它可能是研究人群中普遍存在的突变现象,这种统

计学上的关联性可能与研究的样本量较小有关,有待进一步大样本的实验证实,关联的机制也有待进一步的研究。UC患者中 mtDNA D-loop 区突变与 UC 临床特征,如临床类型、病变范围、严重程度等相关性研究显示,两者均无明显相关性。既往的研究也发现 UC 患者病变肠黏膜组织 ATP 含量和线粒体呼吸链酶复合体 I 活性变化与 UC 的临床特征无明显关系^[13]。笔者推测 mtDNA D-loop 区突变在 UC 发病早期即参与其发病机制,但与病情进展可能无明显关系。

综上所述,本研究显示 mtDNA D-loop 区在 UC 中是一个具有高度多态性和较高突变率的区域,该部位的突变与 UC 发病相关,UC 患者病变肠黏膜组织线粒体呼吸链酶复合体活性下降及 ATP 含量匮乏可能均与此有关,这对明确 mtDNA 在 UC 发病机制中的作用具有一定意义。同时本研究也存在一定的局限性,研究的样本量相对较小,也未检测 mtDNA 的基因表达情况,有必要展开大样本的研究进一步明确相关的变异位点及这些变异对 mtDNA 编码区域基因表达的具体影响。

参考文献

- [1] Zeng Z, Mukherjee A, Zhang H. From genetics to epigenetics, roles of epigenetics in inflammatory bowel disease [J]. *Front Genet*, 2019, 10:1017.
- [2] Juval G, Negi S, Sood A, et al. Genome-wide association scan in north Indians reveals three novel HLA-independent risk loci for ulcerative colitis [J]. *Gut*, 2015, 64(4):571-579.
- [3] Rosa A, Abrantes P, Sousa I, et al. Ulcerative colitis is under dual (mitochondrial and nuclear) genetic control [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2016, 22(4):774-781.
- [4] 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2018年,北京) [J]. *中华消化杂志*, 2018, 38(5):292-311.
- [5] Máximo V, Soares P, Seruca R, et al. Comments on: mutations in mitochondrial control region DNA in gastric tumours of Japanese patients [J]. *Eur J Cancer*, 1999, 35(9):1407-1408.
- [6] Han CY, Guo L, Sheng YJ, et al. FoxO1 regulates TLR4/MyD88/MD2-NF- κ B inflammatory signalling in mucosal barrier injury of inflammatory bowel disease [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(6):3712-3723.
- [7] Michielan A, D'Inca R. Intestinal permeability in inflammatory bowel disease: pathogenesis, clinical evaluation, and therapy of leaky gut [J]. *Mediat Inflamm*, 2015, 2015:628157.
- [8] 吴晓敏, 全巧云, 刘伟. 益生菌治疗溃疡性结肠炎的研究现状与展望 [J]. *中国临床研究*, 2019, 32(9):1295-1298.
- [9] Turer E, McAlpine W, Wang KW, et al. Creatine maintains intestinal homeostasis and protects against colitis [J]. *PNAS*, 2017, 114(7):E1273-E1281.
- [10] Lemasters JJ, Qian T, Trost LC, et al. Confocal microscopy of the mitochondrial permeability transition in necrotic and apoptotic cell death [J]. *Biochem Soc Symp*, 1999, 66:205-222.
- [11] Rodgers LS, Fanning AS. Regulation of epithelial permeability by the actin cytoskeleton [J]. *Cytoskeleton (Hoboken)*, 2011, 68(12):653-660.
- [12] Söderholm JD, Olaison G, Peterson KH, et al. Augmented increase in tight junction permeability by luminal stimuli in the non-inflamed ileum of Crohn's disease [J]. *Gut*, 2002, 50(3):307-313.
- [13] 卢加杰, 刘晶, 李紫琼, 等. 线粒体呼吸链酶复合体活性变化与溃疡性结肠炎的关系 [J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2020, 34(12):1252-1255.
- [14] 于晓晴, 钟根深, 叶建平. 生理病理状态下线粒体合成 ATP 的动态调控机制 [J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2020, 36(2):127-134.
- [15] Peter B, Falkenberg M. TWINKLE and other human mitochondrial DNA helicases: structure, function and disease [J]. *Genes (Basel)*, 2020, 11(4):408.
- [16] Luo YD, Ma JJ, Lu WQ. The Significance of mitochondrial dysfunction in cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(16):5598.
- [17] Orekhov AN, Ivanova EA, Markin AM, et al. Genetics of arterial-wall-specific mechanisms in atherosclerosis: focus on mitochondrial mutations [J]. *Curr Atheroscler Rep*, 2020, 22(10):54.
- [18] Mancuso M, Filosto M, Choub A, et al. Mitochondrial DNA-related disorders [J]. *Biosci Rep*, 2007, 27(1/2/3):31-37.
- [19] Dankowski T, Schröder T, Möller S, et al. Male-specific association between MT-ND4 11719 A/G polymorphism and ulcerative colitis: a mitochondria-wide genetic association study [J]. *BMC Gastroenterol*, 2016, 16(1):118.
- [20] Shukla P, Mukherjee S, Patil A. Identification of variants in mitochondrial D-loop and OriL region and analysis of mitochondrial DNA copy number in women with polycystic ovary syndrome [J]. *DNA Cell Biol*, 2020, 39(8):1458-1466.
- [21] Li MW, Lin Q, Wang YZ, et al. Identification and phylogenetic analysis of the complete mitochondrial genome of Fuzhong buffalo (*Artiodactyla: Bovidae*) [J]. *Mitochondrial DNA Part B Resour*, 2020, 5(1):713-714.
- [22] Mohamed Yusoff AA, Mohd Khair SZN, Wan Abdullah WS, et al. Somatic mitochondrial DNA D-loop mutations in meningioma discovered: a preliminary data [J]. *J Cancer Res Ther*, 2020, 16(6):1517-1521.
- [23] Kassem AM, El-Guendy N, Tantawy M, et al. Mutational hotspots in the mitochondrial D-loop region of cancerous and precancerous colorectal lesions in Egyptian patients [J]. *DNA Cell Biol*, 2011, 30(11):899-906.

收稿日期:2021-02-17 修回日期:2021-04-07 编辑:石嘉莹