

ISSN 1009-3079 (print)
ISSN 2219-2859 (online)

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2019年9月8日 第27卷 第17期 (Volume 27 Number 17)



17/2019

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议、开放获取和在线出版的学术刊物。本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录。

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

述评

1043 姜黄素抗肝细胞癌作用机制新进展

李苗, 任正刚, 崔杰峰

1050 组蛋白乙酰化与DNA甲基化的交互调控在肝脏炎症反应中的作用

王瑶, 龚作炯

基础研究

1055 *ELMO1*基因甲基化检测在胃癌早期诊断中的价值

宋健, 黎萍, 袁桂红, 贾真, 张荣琳, 王发宝, 钟国柄, 李依倪, 钟敦璟

1062 胃泌素在结肠癌患者中的表达及其受体拮抗剂对人结肠癌细胞株的抑制作用及其对P38信号转导通路的影响

王斌峰, 郑丽芳, 徐秀华, 黄锋

文献综述

1070 miR-155在炎症性肠病中的免疫作用机制研究进展

朱凤, 范恒, 刘星星

1076 核苷酸结合寡聚化结构域样受体含pyrin结构域蛋白6在炎症性肠病中作用机制研究进展

朱凤, 刘星星, 范恒

1083 FHL2在消化系统恶性肿瘤中的研究进展

朱翠翠, 康海锋, 仇建伟, 钱俊波, 刘宏斌, 张冬梅

1088 失重环境对消化系统创伤和应激损伤及修复研究进展

李彬彬, 陈正阳, 郭松, 孙宏伟, 崔彦

1095 消化性溃疡合并高血压诊疗现状及其免疫功能研究进展

徐思楠, 陈鑫, 孙倚天, 李国熊

临床实践

1100 慢性乙型肝炎合并非酒精性脂肪性肝病与甲状腺功能的关系

刘良, 李萍, 宓余强, 刘勇钢, 张鹏

消 息

- 1049 《世界华人消化杂志》修回稿须知
1069 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费
1087 《世界华人消化杂志》栏目设置
1099 《世界华人消化杂志》参考文献要求

封面故事

元海成, 南开大学附属南开医院胃肠疝外科副主任医师, 天津市中西医结合学会外科并发症专业委员会副主委、世界华人消化杂志编委, 论文、著作、科研成果: 第一作者在本专业核心期刊发表论文20篇, SCI论文6篇; 影响因子总计为9.776。中华牌核心期刊论文3篇; 核心期刊11篇。支持参与多项省市级临床研究课题5项。获得“一种胆囊管撑开装置”的实用新型发明专利。主持策划“腹腔镜胆囊切除术日间病房”及“无痛病房”组建工作。组建天津市南开医院临床肠内肠外营养规范治疗小组, 开展微创外科“三师”(医师, 营养师, 护师)查房。开展腹腔镜疝修补技术, 覆盖全部腹外疝病种, 丰富南开医院收治病种等。

本期责任人

编务 李香; 送审编辑 崔丽君; 组版编辑 刘继红; 英文编辑 王天奇; 形式规范审核编辑部主任 马亚娟; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(半月刊)

创刊 1993-01-15

改刊 1998-01-25

出版 2019-09-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编

程英升, 教授, 200233, 上海市, 上海交通大学附属第六人民医院放射科

党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科

姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

<https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

编辑部

马亚娟, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: wjgd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物。本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录。

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<https://www.baishideng.com>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者和编者之间的信息反馈交流。

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明。本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换。

定价

每期136.00元 全年24期3264.00元

© 2019 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Contents

Volume 27 Number 17 Sept 8, 2019

EDITORIAL

1043 Advances in understanding of mechanism of anti-hepatocellular carcinoma effects of curcumin

Li M, Ren ZG, Cui JF

1050 Role of histone acetylation and DNA methylation in hepatic inflammatory response

Wang Y, Gong ZJ

BASIC RESEARCH

1055 Value of *ELMO1* gene methylation detection in early diagnosis of gastric cancer

Song J, Li P, Yuan GH, Jia Z, Zhang RL, Wang FB, Zhong GB, Li YN, Zhong DJ

1062 Expression of gastrin in colon cancer and its effect on human colon cancer cell proliferation and P38 signal transduction pathway

Wang BF, Zheng LF, Xu XH, Huang F

REVIEW

1070 Role of miR-155 in pathogenesis of inflammatory bowel disease

Zhu F, Fan H, Liu XX

1076 Role of NLRP6 in inflammatory bowel disease

Zhu F, Liu XX, Fan H

1083 Role of FHL2 in digestive system malignancies

Zhu CC, Kang HF, Qiu JW, Qian JB, Liu HB, Zhang DM

1088 Progress in research of digestive system trauma and stress injury under microgravity environment

Li BB, Chen ZY, Guo S, Sun HW, Cui Y

1095 Peptic ulcer complicated with hypertension: Diagnosis, treatment, and changes in immunologic function

Xu SN, Chen X, Sun YT, Li GX

CLINICAL PRACTICE

1100 Relationship between thyroid function and nonalcoholic fatty liver disease in patients with chronic hepatitis B

Liu L, Li P, Mi YQ, Liu YG, Zhang P

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Yuan Hai-Cheng, Associate Chief Physician, Department of Minimally Invasive Surgery, Department of Gastrointestinal Surgery, Tianjin Nankai Hospital, No. 122, Sanwei Road, Nankai District, Tianjin 300100, China

Indexed/Abstracted by

Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, Abstract Journals, Scopus, CNKI, CSTJ and Superstar Journals Database.

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Xiang Li* Review Editor: *Li-Jun Cui* Electronic Editor: *Ji-Hong Liu* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Proof Editor: *Ya-Juan Ma* Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date September 8, 2019

NAME OF JOURNAL
World Chinese Journal of Digestology

ISSN
 ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

EDITOR-IN-CHIEF
Ying-Sheng Cheng, Professor, Department of Radiology, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China

Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

Jun-Ping Wang, Professor, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Beijing Electric Power Hospital, Capital Medical University, Beijing 100073, China

EDITORIAL BOARD MEMBERS
 All editorial board members resources online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

EDITORIAL OFFICE
 Ya-Juan Ma, Director
World Chinese Journal of Digestology
 Baishideng Publishing Group Inc
 7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA
 Fax: +1-925-223-8242
 Telephone: +1-925-223-8243
 E-mail: wjcd@wjgnet.com
<https://www.wjgnet.com>

PUBLISHER
 Baishideng Publishing Group Inc
 7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242
 Telephone: +1-925-223-8243
 E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<https://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER
 Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
 Telephone: +86-10-85381892
 Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION
 RMB 136 Yuan for each issue
 RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT
 © 2019 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this open access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT
 All articles published in journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, but not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS
 Full instructions are available online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/Nav/36>. If you do not have web access, please contact the editorial office.

姜黄素抗肝细胞癌作用机制新进展

李 苗, 任正刚, 崔杰峰

李苗, 任正刚, 崔杰峰, 复旦大学附属中山医院肝癌研究所 上海市 200032

李苗, 主治医师, 主要从事肝癌侵袭转移的研究.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目, No. 81573019.

作者贡献分布: 李苗文献准备与文章撰写; 崔杰峰与任正刚审阅修改.

通讯作者: 崔杰峰, 研究员, 200032, 上海市徐汇区斜土路1609号, 复旦大学附属中山医院肝癌研究所. cui.jiefeng@zs-hospital.sh.cn

收稿日期: 2019-04-06

修回日期: 2019-05-11

接受日期: 2019-06-04

在线出版日期: 2019-09-08

Advances in understanding of mechanism of anti-hepatocellular carcinoma effects of curcumin

Miao Li, Zheng-Gang Ren, Jie-Feng Cui

Miao Li, Zheng-Gang Ren, Jie-Feng Cui, Liver Cancer Institute, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81573019.

Corresponding author: Jie-Feng Cui, Researcher, Liver Cancer Institute, Zhongshan Hospital, Fudan University, 1609 Xietu Road, Shanghai 200032, China. cui.jiefeng@zs-hospital.sh.cn

Received: 2019-04-06

Revised: 2019-05-11

Accepted: 2019-06-04

Published online: 2019-09-08

Abstract

With the application of traditional drugs in the treatment of hepatocellular carcinoma (HCC), such as natural

medicinal herbs and metabolic regulators, the new functions of traditional drugs have been revealed in the study of anti-HCC drug therapy. Curcumin, a plant-derived drug with hypolipidemic and anti-inflammation effects, has recently been found to exhibit anti-cancer activity due to its inhibitory effects on HCC growth and metastasis. Therefore, it may act as a potential anti-cancer drug for HCC treatment. This article summarizes the advances in the understanding of the action mechanism of curcumin on HCC.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Curcumin; Hepatocellular carcinoma; Anti-tumor; Mechanism

Li M, Ren ZG, Cui JF. Advances in understanding of mechanism of anti-hepatocellular carcinoma effects of curcumin. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(17): 1043-1049

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1043.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i17.1043>

摘要

随着天然药物, 代谢调控药物等传统药物在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)治疗的应用报道, 老药新用途成为HCC药物治疗研究的新亮点. 具有降脂, 抗炎作用的植物源性药物姜黄素近来被发现可抑制HCC生长, 转移而呈现抗癌活性, 成为潜在的抗HCC治疗药物. 本文针对姜黄素抗HCC作用机制的新进展进行总结, 综述.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 姜黄素; 肝细胞癌; 抗肿瘤; 机制

核心提要: 本文对姜黄素抗肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)作用机制的研究进展进行了总结综述, 重点介绍其抑制HCC生长, 侵袭转移, 干性, 血管生成, 肝星状细胞活性, 乙肝病毒表达复制的作用机制, 提出姜黄素抗HCC研究面临的问题及未来发展方向。

李苗, 任正刚, 崔杰峰. 姜黄素抗肝细胞癌作用机制新进展. 世界华人消化杂志 2019; 27(17): 1043-1049

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1043.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i17.1043>

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是消化系统最常见的恶性肿瘤之一, 在世界范围内其发病率位列恶性肿瘤第六位, 癌症相关死亡原因位列第二位, 且近年呈增长趋势^[1,2]. HCC起病隐匿, 早期无明显临床症状, 诊断时往往已处中晚期. 中晚期HCC治疗手段目前主要以肝动脉化疗栓塞, 索拉非尼, 化疗(奥沙利铂, 氟尿嘧啶, 顺铂, 多柔比星等)为主, 但预后不佳^[3-8]. 靶向药物(如仑伐替尼, 瑞戈非尼, 卡博替尼等)及免疫治疗药物(如PD-1抗体, PD-L1抗体)在部分中晚期HCC患者中虽然显示出一定疗效, 但与索拉非尼相比, 靶向药物总生存期(overall survival, OS)并无明显优势, 中位生存期也仅11 mo左右^[9]. 而免疫治疗药物无论单独应用, 亦或与靶向药物或血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)抑制剂等联合应用, 应答率也仅处10%-40%之间^[10]. 药物毒副作用, 耐药, 以及应答患者比例偏低依然是HCC药物治疗亟待解决的主要问题^[11].

随着天然药物, 代谢调控药物等传统药物(姜黄素, 二甲双胍等)在HCC治疗的应用报道, 老药新用途逐渐成为近年HCC药物治疗研究的新亮点. 植物源性的天然药物具有低毒副作用, 较高抗癌效果等特征, 长期以来一直是抗肿瘤药物筛选宝库. 姜黄素是从姜科姜黄属植物姜黄根茎中提取的一种酚类色素^[12]. 传统医学认为姜黄有通经止痛, 活血行气, 驱寒消炎等功效, 广泛用于降血脂, 消炎利胆, 保肝等^[13]. 近年研究显示姜黄素可调控细胞周期, 抑制肿瘤发生, 转移而呈现抗癌活性^[14-18], 且其对正常细胞毒性低, 副作用小^[15], 成为肿瘤干预潜在的药物治疗选择. 本文针对姜黄素抗HCC作用机制的研究新进展进行总结, 综述.

1 姜黄素抑制HCC细胞增殖, 诱导HCC细胞凋亡

细胞生命活动基于完整细胞周期, 当某些因素导致G1/S和G2/M检测点控制功能阻断, 会使细胞持续增殖而失去控制, 细胞增殖与凋亡失去平衡, 导致肿瘤发生^[19]. 研

究显示, 姜黄素可阻滞HCC细胞周期, 使其不能进行有效有丝分裂, 也可调控一些蛋白和基因产物的表达(如Cyclin-D1, Bcl-2, Bax, caspase-3等), 干扰或阻断肿瘤细胞增殖及凋亡信号转导, 导致HCC细胞增殖抑制, 凋亡增加, 且作用呈时间, 剂量依赖性^[20,21]. 报道发现, 姜黄素可活化HCC细胞SMMC-7721中JNK信号通路, 抑制ERK和p38 MAPK信号通路, 下调Bcl-2和Survivin表达, 同时上调Bax和半胱天冬酶-3(caspase-3)表达, 而抑制HCC细胞增殖, 增加其凋亡^[22,23]. 其他研究也显示, 姜黄素抑制HCC细胞SMMC-7721增殖, 促进其凋亡, 并发现姜黄素处理组HCC细胞Notch表达降低, 认为Notch信号通路可能参与姜黄素对HCC细胞的抑制作用^[24]. 姜黄素也可刺激HCC细胞MHCC97H活性氧(reactive oxygen species, ROS)生成, 以浓度依赖性方式抑制细胞增殖, 同时胞内ROS增加激活TLR-4/MyD-88信号通路, 使caspase-8和caspase-3活化, 导致HCC细胞凋亡增加^[25]. HCC细胞HepG2的相关研究发现, 姜黄素显著降低HepG2细胞内热休克蛋白70(heat shock protein 70, HSP70)和TLR4水平, 使HepG2保持在DNA合成S期, 抑制HepG2细胞增殖, 并促进细胞凋亡^[26]. 姜黄素还可下调GPC3/wnt/ β -catenin信号通路抑制HCC细胞HepG2增殖, 诱导凋亡, 并降低自噬途径标记蛋白Sequestosome-1(SQSTM1)浓度, 提示自噬途径激活可能参与姜黄素诱导HCC细胞凋亡过程^[27,28]. 姜黄素与甘草酸联合应用使HCC细胞HepG2阻滞于G1期, 细胞增殖受阻, 且细胞凋亡增加, 裸鼠皮下移植瘤模型证实姜黄素和甘草酸通过上调PTEN表达, 抑制PI3K/Akt通路活化, 发挥抗癌作用^[29]. 此外, 姜黄素诱导细胞色素C(cytochrome C), caspase-3, caspase-9释放和聚ADP核糖聚合酶(poly ADP-ribose polymerase, PARP)裂解, 通过线粒体凋亡途径诱导HCC细胞H22凋亡^[30]. 姜黄素也可抑制头颈部鳞状细胞癌转录因子NF- κ B的转录活性, 使其下游基因产物(COX-2, Cyclin-D1)表达降低, 从而显著降低癌细胞增殖^[31].

2 姜黄素抑制HCC细胞侵袭转移

侵袭转移是肿瘤细胞重要恶性特征之一, 也是绝大多数肿瘤致死原因, 能否降低, 抑制肿瘤细胞侵袭转移是抗癌药物评估的关键. Lin等^[32]发现, 姜黄素抑制基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinases 9, MMP-9)分泌, 从而抑制HCC细胞SK-Hep-1侵袭转移能力. 应用姜黄素类似物处理HCC细胞Huh7和HepG2, HCC细胞MMP-2, MMP-9和N-钙粘蛋白表达明显减少, 而E-钙粘蛋白表达上调, HCC细胞迁徙转移能力显著降低, 上述改变与ROS依赖性JNK通路活化关联, 而姜黄素抑制剂可逆转上述改变, 恢复HCC细胞运动, 转移能力^[33]. 另一种姜黄

素类似物二苯基二氟酮(diphenyl difluoroketone, EF24), 可减少HCC细胞HCCLM-3和HepG2膜表面丝状伪足形成, 还可抑制HCC细胞中整合素-细胞外基质相互作用信号通路的关键调节因子Src磷酸化, 而抑制HCC迁移、侵袭^[34].

上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transitions, EMT)是肿瘤侵袭转移的早期分子事件. TGF- β 1通过Smad依赖性和Smad非依赖性途径诱导HCC EMT发生, 姜黄素被发现通过抑制Smad2磷酸化及核转位, 下调Snail转录表达, 逆转TGF- β 1诱导的HCC细胞EMT^[35]. 此外, 姜黄素通过分别抑制MAPK/AP-1信号通路激活, 阻断PI3K/Akt/NF- κ B信号通路活化, 抑制c-Met 依赖性PI3K/Akt/mTOR信号通路活化, 导致E-钙粘蛋白表达增加, N-钙粘蛋白和波形蛋白表达降低, 而相应地逆转乳腺癌^[36], 胰腺癌^[37]和肺癌^[38]细胞EMT发生.

3 姜黄素抑制HCC干细胞干性特征

肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)能够维持肿瘤形成和分化, 具有自我更新特征, 是肿瘤复发和治疗抵抗的重要原因^[39]. Wang等^[40]评估姜黄素对HCC干细胞(liver cancer stem cells, LCSCs)增殖和凋亡的影响, 发现姜黄素通过抑制PI3K/AKT/mTOR信号通路活化而抑制LCSCs增殖, 同时上调凋亡相关蛋白(caspase-3, caspase-9, Bax)表达, 下调Bcl-2表达, 释放细胞色素C, 诱导LCSCs凋亡. 也有报道显示, 在对姜黄素敏感HCC细胞(Huh7, PLC)中, 姜黄素可导致CSCs选择性耗竭, 包括侧群细胞减少, 成球减少, CSCs标志物下调及致瘤性抑制等, 并认为该作用是通过抑制NF- κ B活化, 降低组蛋白去乙酰化酶活性实现的^[41]. 还有研究发现, 姜黄素通过抑制芳香烃受体表达及其下游ERK, SK1磷酸化, 进而抑制邻苯二甲酸酯诱导的HCC细胞(Huh7, PLC/PRF/5)中CSC样细胞比例增加及CSC样细胞干性特征增强^[42].

4 姜黄素抑制肿瘤血管生成

肿瘤的发生, 进展与其诱发新生血管的生成密切相关. VEGF/VEGFR通路是血管内皮细胞生长, 增殖, 迁移最重要分子调控信号^[43,44]. 研究显示, 姜黄素能显著下调HCC细胞HepG2和H22中VEGF表达, 抑制血管生成进而抑制HCC进展^[21,45]. 在HCC细胞SK-Hep-1中的研究发现, 姜黄素通过降低AKT和STAT3磷酸化而抑制AKT/STAT3活化, 抑制肿瘤血管形成^[46]. Tang等^[47]联合应用姜黄素和黄芪多糖干预HepG2来源裸鼠HCC原位移植瘤, 发现肿瘤血管稀疏, 生长均匀, 形态规则且有完整血管壁, 血管分支较少, 血管内皮细胞排列紧密, CD31表达降低, 硫酸软骨素蛋白多糖2(neuron-gial antigen 2, NG2)

表达增加, 提示干预后的肿瘤组织血管趋于正常化. 故姜黄素除对血管生成有抑制作用外, 还可诱导肿瘤血管正常化, 改善肿瘤血管形态结构, 促进肿瘤血管成熟.

5 姜黄素抑制肝星状细胞的作用

肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)是HCC微环境重要细胞组分, 其活化及其表型改变在HCC侵袭转移中发挥重要作用, 静息HSCs在肝纤维化期间被激活, 分泌生长因子和细胞因子, 且过度生成胞外基质蛋白, 促进癌细胞的侵袭和增殖^[48,49]. 姜黄素可通过多途径, 靶向多位点抑制HSCs活化, 如血小板衍生生长因子- β 受体(platelet-derived growth factor- β receptor, PDGF- β R), toll样受体(toll-like receptors, TLRs), MMPs, 过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferator-activated receptors, PPARc), 炎性细胞因子等; 姜黄素还可阻断HSCs瘦素信号通路; 调节HSCs葡萄糖代谢, 脂质代谢; 调节组织MMP抑制剂(tissue inhibitor of matrix metalloproteinases, TIMPs)和MMPs平衡^[49], 进而影响HCC侵袭转移. 研究发现, 活化HSCs分泌可溶性因子如白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6), VEGF和基质衍生因子-1(stromal-derived factor-1, SDF-1), 促进HCC细胞 HepG2进展; 活化的HSCs还可促进HepG2细胞ROS产生, 上调缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)表达, 促进血管生成, EMT及侵袭能力; 姜黄素可显著抑制HSCs的上述作用, 减少HepG2细胞 ROS和HIF-1 α 表达, 在HepG2细胞中敲除HIF-1 α 或其下游基因结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)可逆转姜黄素的抑制作用; 此外, 姜黄素可上调核因子E2相关因子2(nuclear factor E2-related factor 2, Nrf2)和谷胱甘肽诱导ROS清除, 降低HIF-1 α 稳定性以抑制CTGF表达, 从而起到干预HCC作用^[50]. Jin等^[48]研究分析姜黄素对活化HSCs衰老的影响, 发现姜黄素上调衰老标志物P16, P21和Hmgal表达诱导HSCs衰老, 同时下调HSCs活化标志物 α -平滑肌肌动蛋白和 α 1(1)前胶原含量, 认为姜黄素诱导HSCs衰老与PPAR γ 激活依赖性机制促进P53表达有关^[50].

6 姜黄素抑制乙肝病毒基因表达和复制

乙肝病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是我国HCC患者主要病因, HBV基因复制与HCC不良预后相关^[51,52], 针对HBV治疗可减少HCC肺转移^[52], 改善HCC预后^[53]. 姜黄素可通过抑制HBV基因表达和复制发挥抑制HCC进展作用. 研究发现, 姜黄素治疗降低HBsAg和HBeAg表达, 以及细胞内HBV DNA复制中间体和HBV cccDNA, 且该作用呈时间, 剂量依赖性; 此外, 姜黄素处理后, 组蛋

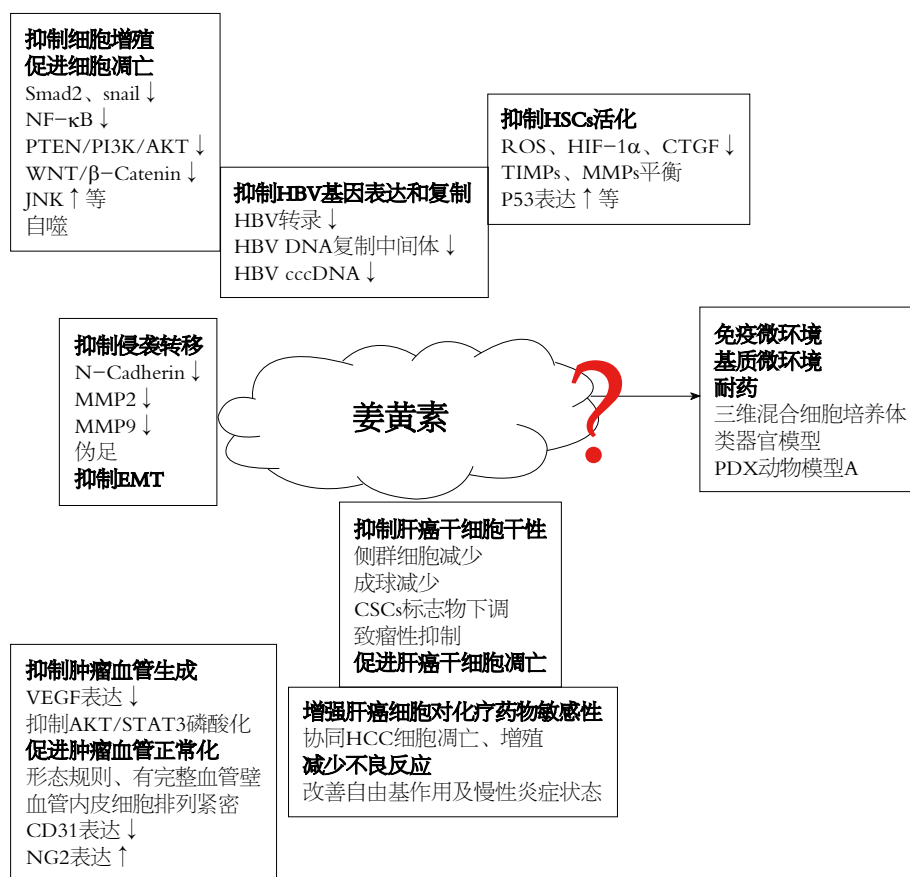


图1 姜黄素抑制肝癌作用机制示意图。HSCs: 肝星状细胞; ROS: 活性氧; HIF-1 α : 缺氧诱导因子-1 α ; CTGF: 结缔组织生长因子; HBV: 乙肝病毒; CSCs: 肿瘤干细胞; NG2: 硫酸软骨素蛋白多糖2; MMP: 基质金属蛋白酶。

白H3乙酰化水平降低, 并伴随H3-和H4-结合的cccDNA减少, 提示姜黄素通过下调cccDNA结合的组蛋白乙酰化抑制HBV基因复制^[54]。过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子1 α (peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 α , PGC-1 α)是一种饥饿诱导蛋白质, 可启动糖原异生级联, 有效地共激活HBV转录, 有研究认为姜黄素通过下调PGC-1 α 抑制HBV基因表达和复制^[55]。故姜黄素可作为HBV补充治疗, 通过控制HBV感染间接对HCC发挥抑制作用。

7 姜黄素增强HCC细胞对化疗药物敏感性

姜黄素可增强HCC细胞对化疗药物敏感性。姜黄素与化疗药物顺铂^[56], 多柔比星^[57,58]等制成共载脂质体联合应用, 比化疗药物单独使用具有更强抗肿瘤活性, 更高的细胞毒性及更低的IC₅₀。其中原因可能与姜黄素协同HCC细胞凋亡, 抑制HCC增殖和血管生成有关, 研究显示, 与多柔比星单药比较, 姜黄素与多柔比星联合用药, HCC细胞SMC 7721 Caspase-3和Bax/Bcl-2比例明显增加, C-myc, PCNA和VEGF表达明显降低^[57]。其他学者相关研究还发现, 与多柔比星单药比较, 姜黄素与多柔比星联合用药组HCC细胞BEL7402的MDR1, Bcl-2和HIF-

1 α 基因mRNA水平以及P-gp, Bcl-2和HIF-1 α 蛋白水平均明显降低, 提示姜黄素可能参与逆转多柔比星耐药^[58]。此外, 姜黄素具有抗炎作用, 靶向各种炎症介质, 如环氧合酶-2, 诱导型一氧化氮合酶和NF- κ B, 削弱促炎和促纤维化细胞因子释放, 抑制自由基产生, 改善自由基作用及慢性炎症状态, 增强HCC细胞对化疗药物敏感性, 减少不良反应^[59]。

8 结论

尽管植物源性的天然药物姜黄素抑制HCC机制研究取得一些进展, 但由于HCC发生与进展多伴随炎症(HBV/丙型肝炎病毒)和硬度背景(纤维化/硬化), 加之HCC细胞周边物化微环境调控认识的相对滞后与不足, 姜黄素对HCC细胞抑制研究目前依然多集中于其对HCC细胞增殖, 凋亡的体外细胞机制研究(图1)。而姜黄素对HCC基质微环境, 免疫微环境的影响, 炎性, 硬度背景对姜黄素抑制作用的抵抗, 以及姜黄素体内药物敏感情况及耐受机制等研究尚处于探索起步阶段。随着三维混合细胞培养体系, 组织硬度模拟培养平台, 类器官模型及人源肿瘤异种移植模型(PDX动物模型)等新型研究手段的成熟与应用, 必将极大地推动姜黄素对HCC抑制作用机

制再认识, 加速其抗HCC治疗的临床应用.

9 参考文献

- Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2015; 65: 87-108 [PMID: 25651787 DOI: 10.3322/caac.21262]
- Mak LY, Cruz-Ramón V, Chinchilla-López P, Torres HA, LoConte NK, Rice JP, Foxhall LE, Sturgis EM, Merrill JK, Bailey HH, Méndez-Sánchez N, Yuen MF, Hwang JP. Global Epidemiology, Prevention, and Management of Hepatocellular Carcinoma. *Am Soc Clin Oncol Educ Book* 2018; 38: 262-279 [PMID: 30231359 DOI: 10.1200/edbk_200939]
- Colombo M, Sangiovanni A. Treatment of hepatocellular carcinoma: beyond international guidelines. *Liver Int* 2015; 35 Suppl 1: 129-138 [PMID: 25529098 DOI: 10.1111/liv.12713]
- European Association For The Study Of The Liver; European Organisation For Research And Treatment Of Cancer. EASL-EORTC clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2012; 56: 908-943 [PMID: 22424438 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.12.001]
- Goossens N, Koessler T, Spahr L, Negro F. [Hepatocellular carcinoma: updated management guidelines]. *Rev Med Suisse* 2018; 14: 1508-1511 [PMID: 30156784]
- Lu X, Zhao H, Yang H, Mao Y, Sang X, Miao R, Xu Y, Du S, Xu H, Chi T, Yang Z, Zhong S, Huang J. A prospective clinical study on early recurrence of hepatocellular carcinoma after hepatectomy. *J Surg Oncol* 2009; 100: 488-493 [PMID: 19653238 DOI: 10.1002/jso.21354]
- Drews RE, Shulman LN. Update in hematology and oncology. *Ann Intern Med* 2010; 152: 655-662 [PMID: 20410447 DOI: 10.7326/0003-4819-152-10-201005180-00244]
- Bruix J, Gores GJ, Mazzaferro V. Hepatocellular carcinoma: clinical frontiers and perspectives. *Gut* 2014; 63: 844-855 [PMID: 24531850 DOI: 10.1136/gutjnl-2013-306627]
- Bruix J, Qin S, Merle P, Granito A, Huang YH, Bodoky G, Pracht M, Yokosuka O, Rosmorduc O, Breder V, Gerolami R, Masi G, Ross PJ, Song T, Bronowicki JP, Ollivier-Hourmand I, Kudo M, Cheng AL, Llovet JM, Finn RS, LeBerre MA, Baumhauer A, Meinhardt G, Han G; RESORCE Investigators. Regorafenib for patients with hepatocellular carcinoma who progressed on sorafenib treatment (RESORCE): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* 2017; 389: 56-66 [PMID: 27932229 DOI: 10.1016/s0140-6736(16)32453-9]
- Okusaka T, Ikeda M. Immunotherapy for hepatocellular carcinoma: current status and future perspectives. *ESMO Open* 2018; 3: e000455 [PMID: 30622744 DOI: 10.1136/esmoopen-2018-000455]
- Eso Y, Marusawa H. Novel approaches for molecular targeted therapy against hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res* 2018; 48: 597-607 [PMID: 29689631 DOI: 10.1111/hepr.13181]
- Gupta SC, Kismali G, Aggarwal BB. Curcumin, a component of turmeric: from farm to pharmacy. *Biofactors* 2013; 39: 2-13 [PMID: 23339055 DOI: 10.1002/biof.1079]
- Khan H, Ullah H, Nabavi SM. Mechanistic insights of hepatoprotective effects of curcumin: Therapeutic updates and future prospects. *Food Chem Toxicol* 2019; 124: 182-191 [PMID: 30529260 DOI: 10.1016/j.fct.2018.12.002]
- Bose S, Panda AK, Mukherjee S, Sa G. Curcumin and tumor immune-editing: resurrecting the immune system. *Cell Div* 2015; 10: 6 [PMID: 26464579 DOI: 10.1186/s13008-015-0012-z]
- Sak K. Chemotherapy and dietary phytochemical agents. *Chemother Res Pract* 2012; 2012: 282570 [PMID: 23320169 DOI: 10.1155/2012/282570]
- Park W, Amin AR, Chen ZG, Shin DM. New perspectives of curcumin in cancer prevention. *Cancer Prev Res (Phila)* 2013; 6: 387-400 [PMID: 23466484 DOI: 10.1158/1940-6207.capr-12-0410]
- Chikara S, Nagaprashantha LD, Singhal J, Horne D, Awasthi S, Singhal SS. Oxidative stress and dietary phytochemicals: Role in cancer chemoprevention and treatment. *Cancer Lett* 2018; 413: 122-134 [PMID: 29113871 DOI: 10.1016/j.canlet.2017.11.002]
- Li W, Guo Y, Zhang C, Wu R, Yang AY, Gaspar J, Kong AN. Dietary Phytochemicals and Cancer Chemoprevention: A Perspective on Oxidative Stress, Inflammation, and Epigenetics. *Chem Res Toxicol* 2016; 29: 2071-2095 [PMID: 27989132 DOI: 10.1021/acs.chemrestox.6b00413]
- Rawat D, Shrivastava S, Naik RA, Chhonker SK, Mehrotra A, Koiri RK. An Overview of Natural Plant Products in the Treatment of Hepatocellular Carcinoma. *Anticancer Agents Med Chem* 2018; 18: 1838-1859 [PMID: 29866017 DOI: 10.2174/1871520618666180604085612]
- You Z, Li B, Xu J, Chen L, Ye H. Curcumin suppress the growth of hepatocellular carcinoma via down-regulating SREBF1. *Oncol Res* 2018 [PMID: 29615146 DOI: 10.3727/096504018x15219173841078]
- Pan Z, Zhuang J, Ji C, Cai Z, Liao W, Huang Z. Curcumin inhibits hepatocellular carcinoma growth by targeting VEGF expression. *Oncol Lett* 2018; 15: 4821-4826 [PMID: 29552121 DOI: 10.3892/ol.2018.7988]
- Zhang YJ, Xiang H, Liu JS, Li D, Fang ZY, Zhang H. Study on the mechanism of AMPK signaling pathway and its effect on apoptosis of human hepatocellular carcinoma SMMC-7721 cells by curcumin. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2017; 21: 1144-1150 [PMID: 28338175]
- Yu J, Zhou X, He X, Dai M, Zhang Q. Curcumin induces apoptosis involving bax/bcl-2 in human hepatoma SMMC-7721 cells. *Asian Pac J Cancer Prev* 2011; 12: 1925-1929 [PMID: 22292626]
- Liu ZC, Yang ZX, Zhou JS, Zhang HT, Huang QK, Dang LL, Liu GX, Tao KS. Curcumin regulates hepatoma cell proliferation and apoptosis through the Notch signaling pathway. *Int J Clin Exp Med* 2014; 7: 714-718 [PMID: 24753768]
- Li PM, Li YL, Liu B, Wang WJ, Wang YZ, Li Z. Curcumin inhibits MHCC97H liver cancer cells by activating ROS/TLR-4/caspase signaling pathway. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014; 15: 2329-2334 [PMID: 24716979]
- Ren B, Luo S, Tian X, Jiang Z, Zou G, Xu F, Yin T, Huang Y, Liu J. Curcumin inhibits liver cancer by inhibiting DAMP molecule HSP70 and TLR4 signaling. *Oncol Rep* 2018; 40: 895-901 [PMID: 29901164 DOI: 10.3892/or.2018.6485]
- Elmansi AM, El-Karef AA, Shishtawy MMEI, Eissa LA. Hepatoprotective Effect of Curcumin on Hepatocellular Carcinoma Through Autophagic and Apoptotic Pathways. *Ann Hepatol* 2017; 16: 607-618 [PMID: 28611265 DOI: 10.5604/01.3001.0010.0307]
- Hu P, Ke C, Guo X, Ren P, Tong Y, Luo S, He Y, Wei Z, Cheng B, Li R, Luo J, Meng Z. Both glypican-3/Wnt/ β -catenin signaling pathway and autophagy contributed to the inhibitory effect of curcumin on hepatocellular carcinoma. *Dig Liver Dis* 2019; 51: 120-126 [PMID: 30001951 DOI: 10.1016/j.dld.2018.06.012]
- Chang M, Wu M, Li H. Curcumin combined with glycyrrhetic acid inhibits the development of hepatocellular carcinoma cells by down-regulating the PTEN/PI3K/AKT signalling pathway. *Am J Transl Res* 2017; 9: 5567-5575 [PMID: 29312508]
- Zhang Z, Luo D, Xie J, Lin G, Zhou J, Liu W, Li H, Yi T, Su Z, Chen J. Octahydrocurcumin, a final hydrogenated metabolite of curcumin, possesses superior anti-tumor activity through induction of cellular apoptosis. *Food Funct* 2018; 9: 2005-2014 [PMID: 29616245 DOI: 10.1039/c7fo02048a]
- Wang D, Veena MS, Stevenson K, Tang C, Ho B, Suh JD,

- Duarte VM, Faull KF, Mehta K, Srivatsan ES, Wang MB. Liposome-encapsulated curcumin suppresses growth of head and neck squamous cell carcinoma in vitro and in xenografts through the inhibition of nuclear factor kappaB by an AKT-independent pathway. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 6228-6236 [PMID: 18829502 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-5177]
- 32 Lin LI, Ke YF, Ko YC, Lin JK. Curcumin inhibits SK-Hep-1 hepatocellular carcinoma cell invasion in vitro and suppresses matrix metalloproteinase-9 secretion. *Oncology* 1998; 55: 349-353 [PMID: 9663426 DOI: 10.1159/000011876]
- 33 Wang L, Han L, Tao Z, Zhu Z, Han L, Yang Z, Wang H, Dai D, Wu L, Yuan Z, Chen T. The curcumin derivative WZ35 activates ROS-dependent JNK to suppress hepatocellular carcinoma metastasis. *Food Funct* 2018; 9: 2970-2978 [PMID: 29766185 DOI: 10.1039/c8fo00314a]
- 34 Zhao R, Tin L, Zhang Y, Wu Y, Jin Y, Jin X, Zhang F, Li X. EF24 Suppresses Invasion and Migration of Hepatocellular Carcinoma Cells In Vitro via Inhibiting the Phosphorylation of Src. *Biomed Res Int* 2016; 2016: 8569684 [PMID: 27999817 DOI: 10.1155/2016/8569684]
- 35 Cao MT, Liu HF, Liu ZG, Xiao P, Chen JJ, Tan Y, Jiang XX, Jiang ZC, Qiu Y, Huang HJ, Zhang QG, Jiang GM. Curcumin downregulates the expression of Snail via suppressing Smad2 pathway to inhibit TGF- β 1-induced epithelial-mesenchymal transitions in hepatoma cells. *Oncotarget* 2017; 8: 108498-108508 [PMID: 29312546 DOI: 10.18632/oncotarget.22590]
- 36 Coker-Gurkan A, Bulut D, Genc R, Arisan ED, Obakan-Yerlikaya P, Palavan-Unsal N. Curcumin prevented human autocrine growth hormone (GH) signaling mediated NF- κ B activation and miR-183-96-182 cluster stimulated epithelial mesenchymal transition in T47D breast cancer cells. *Mol Biol Rep* 2019; 46: 355-369 [PMID: 30467667 DOI: 10.1007/s11033-018-4479-y]
- 37 Li W, Jiang Z, Xiao X, Wang Z, Wu Z, Ma Q, Cao L. Curcumin inhibits superoxide dismutase-induced epithelial-to-mesenchymal transition via the PI3K/Akt/NF- κ B pathway in pancreatic cancer cells. *Int J Oncol* 2018 [PMID: 29512729 DOI: 10.3892/ijo.2018.4295]
- 38 Jiao D, Wang J, Lu W, Tang X, Chen J, Mou H, Chen QY. Curcumin inhibited HGF-induced EMT and angiogenesis through regulating c-Met dependent PI3K/Akt/mTOR signaling pathways in lung cancer. *Mol Ther Oncolytics* 2016; 3: 16018 [PMID: 27525306 DOI: 10.1038/mto.2016.18]
- 39 Zendejdel E, Abdollahi E, Momtazi-Borojeni AA, Korani M, Alavizadeh SH, Sahebkar A. The molecular mechanisms of curcumin's inhibitory effects on cancer stem cells. *J Cell Biochem* 2019; 120: 4739-4747 [PMID: 30269360 DOI: 10.1002/jcb.27757]
- 40 Wang J, Wang C, Bu G. Curcumin inhibits the growth of liver cancer stem cells through the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B/mammalian target of rapamycin signaling pathway. *Exp Ther Med* 2018; 15: 3650-3658 [PMID: 29545895 DOI: 10.3892/etm.2018.5805]
- 41 Marquardt JU, Gomez-Quiroz L, Arreguin Camacho LO, Pinna F, Lee YH, Kitade M, Dominguez MP, Castven D, Breuhahn K, Conner EA, Galle PR, Andersen JB, Factor VM, Thorgeirsson SS. Curcumin effectively inhibits oncogenic NF- κ B signaling and restrains stemness features in liver cancer. *J Hepatol* 2015; 63: 661-669 [PMID: 25937435 DOI: 10.1016/j.jhep.2015.04.018]
- 42 Tsai CF, Hsieh TH, Lee JN, Hsu CY, Wang YC, Kuo KK, Wu HL, Chiu CC, Tsai EM, Kuo PL. Curcumin Suppresses Phthalate-Induced Metastasis and the Proportion of Cancer Stem Cell (CSC)-like Cells via the Inhibition of AhR/ERK/SK1 Signaling in Hepatocellular Carcinoma. *J Agric Food Chem* 2015; 63: 10388-10398 [PMID: 26585812 DOI: 10.1021/acs.jafc.5b04415]
- 43 Fu X, Yang Y, Li X, Lai H, Huang Y, He L, Zheng W, Chen T. RGD peptide-conjugated selenium nanoparticles: antiangiogenesis by suppressing VEGF-VEGFR2-ERK/AKT pathway. *Nanomedicine* 2016; 12: 1627-1639 [PMID: 26961468 DOI: 10.1016/j.nano.2016.01.012]
- 44 Lee WS, Pyun BJ, Kim SW, Shim SR, Nam JR, Yoo JY, Jin Y, Jin J, Kwon YG, Yun CO, Nam DH, Oh K, Lee DS, Lee SH, Yoo JS. TTAC-0001, a human monoclonal antibody targeting VEGFR-2/KDR, blocks tumor angiogenesis. *MAbs* 2015; 7: 957-968 [PMID: 25942475 DOI: 10.1080/19420862.2015.1045168]
- 45 Wang F, He Z, Dai W, Li Q, Liu X, Zhang Z, Zhai D, Chen J, Chen W. The role of the vascular endothelial growth factor/vascular endothelial growth factor receptors axis mediated angiogenesis in curcumin-loaded nanostructured lipid carriers induced human HepG2 cells apoptosis. *J Cancer Res Ther* 2015; 11: 597-605 [PMID: 26458588 DOI: 10.4103/0973-1482.159086]
- 46 Chiablaem K, Lirdprapamongkol K, Keeratichamroen S, Surarit R, Svasti J. Curcumin suppresses vasculogenic mimicry capacity of hepatocellular carcinoma cells through STAT3 and PI3K/AKT inhibition. *Anticancer Res* 2014; 34: 1857-1864 [PMID: 24692720]
- 47 Tang D, Zhang S, Shi X, Wu J, Yin G, Tan X, Liu F, Wu X, Du X. Combination of Astragali Polysaccharide and Curcumin Improves the Morphological Structure of Tumor Vessels and Induces Tumor Vascular Normalization to Inhibit the Growth of Hepatocellular Carcinoma. *Integr Cancer Ther* 2019; 18: 1534735418824408 [PMID: 30762443 DOI: 10.1177/1534735418824408]
- 48 Jin H, Lian N, Zhang F, Chen L, Chen Q, Lu C, Bian M, Shao J, Wu L, Zheng S. Activation of PPAR γ /P53 signaling is required for curcumin to induce hepatic stellate cell senescence. *Cell Death Dis* 2016; 7: e2189 [PMID: 27077805 DOI: 10.1038/cddis.2016.92]
- 49 Tang Y. Curcumin targets multiple pathways to halt hepatic stellate cell activation: updated mechanisms in vitro and in vivo. *Dig Dis Sci* 2015; 60: 1554-1564 [PMID: 25532502 DOI: 10.1007/s10620-014-3487-6]
- 50 Shao S, Duan W, Xu Q, Li X, Han L, Li W, Zhang D, Wang Z, Lei J. Curcumin Suppresses Hepatic Stellate Cell-Induced Hepatocarcinoma Angiogenesis and Invasion through Downregulating CTGF. *Oxid Med Cell Longev* 2019; 2019: 8148510 [PMID: 30800209 DOI: 10.1155/2019/8148510]
- 51 Jiang Y, Tang H, Wang Z, Sun Y, Meng W, Wang G, Li H, Yi S, Wang G, Yang Y, Chen G. Two Nomograms to Select Hepatocellular Carcinoma Patients with Macroscopic Vascular Invasion for Hepatic Resection. *J Cancer* 2018; 9: 3287-3294 [PMID: 30271488 DOI: 10.7150/jca.25899]
- 52 Wang F, Lv H, Li Y, Han T, Liu H, Jia K, Liu F, Gao Y, Wang F. Complete cure of a patient with HBV-associated hepatocellular carcinoma with lung metastasis using interferon and survival up to 108 months: A case report and literature review. *Oncol Lett* 2018; 16: 2979-2988 [PMID: 30127887 DOI: 10.3892/ol.2018.9033]
- 53 Zhang M, Wang D, Liu H, Li H. Tenofovir decrease hepatocellular carcinoma recurrence in chronic hepatitis B patients after liver resection. *Infect Agent Cancer* 2018; 13: 19 [PMID: 29977330 DOI: 10.1186/s13027-018-0191-8]
- 54 Wei ZQ, Zhang YH, Ke CZ, Chen HX, Ren P, He YL, Hu P, Ma DQ, Luo J, Meng ZJ. Curcumin inhibits hepatitis B virus infection by down-regulating cccDNA-bound histone acetylation. *World J Gastroenterol* 2017; 23: 6252-6260 [PMID: 28974891 DOI: 10.3748/wjg.v23.i34.6252]
- 55 Rechtman MM, Har-Noy O, Bar-Yishay I, Fishman S, Adamovich Y, Shaul Y, Halpern Z, Shlomai A. Curcumin inhibits hepatitis B virus via down-regulation of the metabolic coactivator PGC-1 α . *FEBS Lett* 2010; 584: 2485-2490 [PMID: 20434445 DOI: 10.1016/j.febslet.2010.04.067]
- 56 Cheng Y, Zhao P, Wu S, Yang T, Chen Y, Zhang X, He C,

- Zheng C, Li K, Ma X, Xiang G. Cisplatin and curcumin co-loaded nano-liposomes for the treatment of hepatocellular carcinoma. *Int J Pharm* 2018; 545: 261-273 [PMID: 29730175 DOI: 10.1016/j.ijpharm.2018.05.007]
- 57 Zhang J, Li J, Shi Z, Yang Y, Xie X, Lee SM, Wang Y, Leong KW, Chen M. pH-sensitive polymeric nanoparticles for co-delivery of doxorubicin and curcumin to treat cancer via enhanced pro-apoptotic and anti-angiogenic activities. *Acta Biomater* 2017; 58: 349-364 [PMID: 28455219 DOI: 10.1016/j.actbio.2017.04.029]
- 58 Zhao X, Chen Q, Li Y, Tang H, Liu W, Yang X. Doxorubicin and curcumin co-delivery by lipid nanoparticles for enhanced treatment of diethylnitrosamine-induced hepatocellular carcinoma in mice. *Eur J Pharm Biopharm* 2015; 93: 27-36 [PMID: 25770771 DOI: 10.1016/j.ejpb.2015.03.003]
- 59 Farhood B, Mortezaee K, Goradel NH, Khanlarkhani N, Salehi E, Nashtaei MS, Najafi M, Sahebkar A. Curcumin as an anti-inflammatory agent: Implications to radiotherapy and chemotherapy. *J Cell Physiol* 2019; 234: 5728-5740 [PMID: 30317564 DOI: 10.1002/jcp.27442]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2019 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

本刊讯 为了保证作者来稿及时发表, 同时保护作者与《世界华人消化杂志》的合法权益, 本刊对修回稿要求如下。

1 修回稿信件

来稿包括所有作者签名的作者投稿函。内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该文代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版出版权转让给本刊编辑部。

2 稿件修改

来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者复核要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期发回的, 作重新投稿处理。

3 版权

本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须经得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有。编辑部可将文章在《中国学术期刊光盘版》等媒体上长期发布; 作者允许该文章被美国《化学文摘》、荷兰《医学文摘库/医学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》等国外相关文摘与检索系统收录。

组蛋白乙酰化与DNA甲基化的交互调控在肝脏炎症反应中的作用

王瑶, 龚作炯

王瑶, 龚作炯, 武汉大学人民医院感染科 湖北省武汉市 430060

龚作炯, 教授. 主要从事慢性肝病的防治研究.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目, No. 81870413.

作者贡献分布: 此研究设计由龚作炯提供; 研究过程由王瑶与龚作炯完成; 论文写作由王瑶与龚作炯完成; 研究过程与论文写作由龚作炯提供技术支持和指导.

通讯作者: 龚作炯, 教授, 430060, 湖北省武汉市武昌区解放路238号, 武汉大学人民医院感染科. zjgong@163.com
电话: 027-8041911-88385

收稿日期: 2019-04-03

修回日期: 2019-05-17

接受日期: 2019-06-05

在线出版日期: 2019-09-08

Role of histone acetylation and DNA methylation in hepatic inflammatory response

Yao Wang, Zuo-Jiong Gong

Yao Wang, Zuo-Jiong Gong, Department of Infectious Diseases, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81371789.

Corresponding author: Zuo-Jiong Gong, Professor, Department of Infectious Diseases, Renmin Hospital of Wuhan University, 238 Jiefang Road, Wuhan 430060, Hubei Province, China. zjgong@163.com

Received: 2019-04-03

Revised: 2019-05-17

Accepted: 2019-06-05

Published online: 2019-09-08

Abstract

In recent years, many studies have confirmed that the interaction between histone acetylation and DNA methylation plays an important role in the process of hepatic inflammatory response. This article systematically introduces the role of histone acetylation and DNA methylation in the liver inflammatory response, as well as the current research status, existing problems, and corresponding solutions, with an aim to help find new potential intervention strategies for the control of hepatic inflammatory response.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Histone acetylation; DNA methylation; Hepatic inflammatory response

Wang Y, Gong ZJ. Role of histone acetylation and DNA methylation in hepatic inflammatory response. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(17): 1050-1054

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1050.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i17.1050>

摘要

近年来, 许多研究证实, 组蛋白乙酰化与DNA甲基化的交互调控在肝脏炎症反应过程中发挥了重要作用. 本文较系统地介绍了组蛋白乙酰化与DNA甲基化在肝脏炎症反应中的研究现状、存在的问题及相应的解决方案, 为肝脏炎症反应的控制寻找新的潜在干预策略.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 组蛋白乙酰化; DNA甲基化; 肝脏炎症

核心提要: 肝脏炎症反应是肝脏疾病过程中常见的病理反应, 也是肝脏疾病转归的关键因素. 近年来, 许多研究证实, 组蛋白乙酰化与DNA甲基化调控在肝脏炎症的发病机制中发挥了重要作用.

王瑶, 龚作炯. 组蛋白乙酰化与DNA甲基化的交互调控在肝脏炎症反应中的作用. 世界华人消化杂志 2019; 27(17): 1050-1054

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1050.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i17.1050>

0 引言

肝脏炎症反应包括无菌性炎症和感染性炎症, 而持续性的炎症反应可促进肝脏疾病的进展^[1]. 研究表明, 以通过蛋白质复合物的翻译后修饰而不改变基础遗传DNA序列而发生的遗传基因表达变化为特点的表观遗传学对肝脏炎症反应有着复杂的调控机制^[2], 这些翻译后修饰包括乙酰化、甲基化、磷酸化、SUMO化(sumoylation)、泛素化、羧基化和糖基化, 以及DNA甲基化修饰^[3,4]. 而组蛋白乙酰化与DNA甲基化的交互调控通过调控基因的转录和沉默来影响疾病的发生发展^[5]. 本文就组蛋白乙酰化和DNA甲基化的交互调控对肝脏炎症反应的影响作一述评, 以期深入阐明表观遗传调控肝脏炎症反应的分子机制.

1 组蛋白乙酰化调控肝脏炎症反应

组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylases, HDACs), 顾名思义是修饰结合染色体上的经典组蛋白分子的酶, 包括组蛋白H3、组蛋白H4, 这些组蛋白上存在丰富的赖氨酸(lysine, 缩写为“K”)位点, 如H3上的第9个赖氨酸位点H3K9容易被乙酰化(acetylation, 缩写为“ac”)修饰, 则简称为“H3K9ac”. 但随着深入的研究发现, HDACs也可修饰非组蛋白, 这些组蛋白/非组蛋白上存在着数量不一的赖氨酸位点, 这些位点被乙酰化修饰的程度也各不相同. 例如, 作为晚期炎症介质的非组蛋白的高迁移率族蛋白B1(high mobility group box 1, HMGB1)同样也可以受乙酰化调控, 当核定位序列(nuclear localization sequence, NLS)中的lysine被高度乙酰化时, 其与染色质结合疏松, 可由细胞核转移入细胞质, 并使其在细胞质内聚集从而不能进入细胞核, 此时分泌至胞外的HMGB1增多, 诱导的炎症反应也随之增强^[6].

本课题组长期从事组蛋白乙酰化调控与肝脏炎症反应的相关研究, 肝衰竭的发生发展的实质是肝脏内巨噬细胞参与的“二次打击”^[7], 我们发现不管是广谱的

HDACs抑制剂Entinostat(MS-275)、Trichostatin A(TSA)、I类HDAC分子HDAC2的特异性抑制剂Santacruzamate A(CAY10683), 还是II类HDAC分子HDAC6的特异性抑制剂Ricolinostat(ACY-1215)均可抑制肝衰竭过程中内毒素(lipopolysaccharide, LPS)诱导的M1型巨噬细胞活化^[8-11]. 深入的机制研究发现, 这些HDACs酶或是调控组蛋白H3/H4, 或是调控非组蛋白核转录因子 κ B(nuclear transcription factor- κ B, NF- κ B)来影响炎症相关途径^[9]. 组蛋白乙酰化调控肝脏炎症反应的过程中也存在诸多值得深入研究的问题, 如组蛋白H3/H4本身也可作为炎性因子诱导肝脏炎症反应^[12], 但这些组蛋白是否源于细胞核, 其出核外释放的机制是否与HMGB1类似除了被乙酰化修饰, 其他类型的表观遗传修饰是否也可诱导这些组蛋白胞质移位越来越多参与炎症反应的分子, 如三羧酸循环中与M1型巨噬细胞活化能量代谢有关的关键调控分子异柠檬酸脱氢酶-1(isocitrate dehydrogenase-1, IDH1)也可直接受乙酰化调控, 但这些分子上的哪些赖氨酸位点容易受乙酰化调控都值得深入研究.

同时对于肝脏感染性炎症, 我们发现乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)患者肝脏炎症反应越严重, 其血液、外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)及肝脏组织内的HDACs活性越高^[8,13,14], 且经恩替卡韦(entecavir, ETV)抗病毒治疗24 wk后, 慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者肝脏的炎症程度明显降低并伴有HDAC2、HDAC6及组蛋白H3的水平下降, 这说明在在抗病毒治疗过程中乙肝病毒的脱氧核糖核酸(HBV DNA)的变化与组蛋白H3乙酰化程度有关^[14]. 至于组蛋白H3的乙酰化修饰主要发生在HBV复制过程中哪一个关键分子(如乙HBV X基因(HBx)、前基因组RNA(pregenomicRNA, pgRNA)、环状DNA分子(covalently closed circular DNA, cccDNA)上; H3上几号赖氨酸位点容易发生乙酰化修饰; 除了乙酰化修饰H3上的赖氨酸位点, 其他修饰方式如甲基化修饰是否也改变H3的构象; 除H3之外的其他组蛋白是否同样也被修饰, 都有待进一步研究. 但可以肯定的是, 自Pollicino等^[15]首次发现组蛋白H3与H4均可直接与cccDNA发生结合, 改变H3/H4的乙酰化程度就可间接地调控HBV cccDNA微小染色体的转录水平以来. 科学家得出启示, 只要改变结合在cccDNA上H3/H4的水平就可影响cccDNA的转录水平, 不管是乙酰化还是其他方式的表观遗传调控. 故Rivière等^[16]发现组蛋白甲基转移酶SETDB1对组蛋白H3上第9号赖氨酸进行3甲基化修饰(简称“H3K9me3”)来改变cccDNA染色质结构, 进而调控HBV cccDNA转录水平.

2 DNA甲基化调控肝脏炎症反应

DNA甲基化是指基因组CpG岛二核苷酸第5位碳原子在DNA甲基转移酶(DNA methylation, DNMT)的催化下结合一个甲基基团, 其产物称为5-甲基胞嘧啶(5-mC)。CpG岛是人类基因组二核苷酸富含序列, 通常位于基因启动子区域。甲基化程度越高, 其转录活性越低; 而去甲基化可使基因的转录活性增强。越来越多的证据表明, DNA甲基化调控巨噬细胞在慢性炎症、炎症性疾病中发挥着重要作用^[17]。而肝脏炎症反应对于肝衰竭、肝纤维化、非酒精性脂肪肝等疾病的发生发展都明显的促进作用。

DNMT1抑制剂5-aza-2'-deoxycytidine(5-azadC)干预LPS诱导的RAW264. 7巨噬细胞中发现, 细胞因子信号传导抑制因子1(suppressor of cytokine signaling 1, SOCS1)启动子甲基化水平减少, SOCS1表达升高, 抑制Janus激酶2(janus kinase 2, JAK2)/信号转导子和转录激活子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)信号通路, 减少了炎症因子肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor alpha, TNF- α)、白细胞介素6(interleukin 6, IL-6)的释放, 抑制组织炎症损伤^[18]。因此, 在肝脏炎症反应过程中运用DNMT1抑制剂是否可以减轻炎症损伤则有待进一步研究。

分离四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl₄)诱导的肝纤维化小鼠的肝脏巨噬细胞, 通过DNA甲基化测序发现了与CpG岛相关的26个基因启动子区域的甲基化状态, 其中鉴定出的脯氨酸-丝氨酸-苏氨酸磷酸酶相互作用蛋白2(proline serine threonine phosphatase interacting protein 1, PSTPIP2)基因高甲基化状态由DNMT3a和DNMT3b介导, PSTPIP2的去甲基化状态可增强PSTPIP2的表达, 诱导替代性活化巨噬细胞(M2型巨噬细胞)极化抑制肝纤维化中经典活化巨噬细胞(M1型巨噬细胞)极化, 来减轻小鼠肝脏炎症反应, 进而缓解肝纤维化^[19]。故DNMT同样可以通过调控巨噬细胞的极化影响肝纤维化的转归。

同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)是H₂S的前体, 其通过胱硫醚 β -合酶(cystathionine β -synthase)和胱硫醚 γ -裂解酶(cystathionine γ -lyase, CSE)催化的转硫途径形成, 并且可用作炎症的新型调节剂。Hcy可抑制巨噬细胞中CSE的表达和H₂S的产生, 引起CSE启动子区DNMT和DNA甲基化水平的增加^[20]。深入研究发现, CSE启动子区富含CpG岛, 可被DNA甲基化修饰, 有助于巨噬细胞中CSE转录和H₂S产生的减少, 从而促进动脉粥样硬化的发展^[21]; 同样地, 在肝脏脂质代谢障碍引起的炎症反应过程中, 甲基化修饰CSE是否也可作为肝脏脂质代谢类疾病潜在的治疗靶点则有待进一步研究。

3 DNA甲基化与乙酰化交互调控肝脏炎症反应

早在1998年*Nature*发文报道了DNA甲基化与乙酰化交互作用的物质基础, 即基因启动子区域的CpG岛被甲基化修饰时, 甲基化DNA特异性的转录抑制分子甲基CpG结合蛋白2(methyl CpG binding protein 2, MeCP2)则可与甲基化的CpG结合, 随后与SIN3转录调控蛋白家族成员A(SIN3 transcription regulator family member A, Sin3A)结合, 并进一步与异二聚体Mad/Max形成复合物, 募集HDACs^[22]。但进一步研究发现, DNA甲基化与组蛋白乙酰化直接存在更直接的关联: DNMT1 686-812氨基酸残基可与HDAC1直接结合, HDAC1催化区域内的150-242氨基酸残基可与DNMT1结合^[23]。

除了此之外参与DNA羟甲基化过程的DNA去甲基化酶(ten-eleven translocation, TET)同样也可以与HDAC直接相互作用, 而DNA羟甲基化是指5-mC在DNA TET2的作用加一个羟基形成5-羟甲基胞嘧啶(5-hmC)。研究发现, TET2特异性识别CpG的半胱氨酸(cysteine, Cys)与双链B螺旋(double stranded b helix, DSBH)两个锌指结构可与HDAC2结合^[24]。并在LPS诱导的机体免疫应答期间, TET2的缺失会导致晚期炎症介质IL-6的升高, 深入研究发现, TET2能特异性靶向调控IL-6启动子核因子 κ B抑制因子 ζ (nuclear factor-kappa B inhibitor kinase ζ , I κ B ζ), 而此过程并不赖DNA甲基化和羟甲基化作用, 而是通过募集组蛋白去HDAC2抑制IL-6的转录^[24]。HDAC抑制剂(HDAC inhibitor, HDACi)可以使哺乳动物基因组去甲基化, 研究表明, DNMT1的表达虽然不受HDACi depsipeptide影响, 但depsipeptide对p16、SALL3和GATA4基因甲基化的影响包括以下两方面: (1)depsipeptide可以直接减少DNMT1与多种肿瘤抑制基因1(multiple tumor suppressor 1, MTS1, 也称p16)、转录因子Sal-likeprotein3(SALL3)和GATA结合蛋白4(GATA4)等基因启动子的结合, 引起这些分子的去甲基化; (2)通过抑制组蛋白DNMT G9a和SUV39H1的表达, 导致这些基因启动子周围H3K9的二甲基化和三甲基化程度的降低, 进而引起这些分子表达的增加^[25]。

DNA甲基化与组蛋白乙酰化可联合调控疾病的发生发展。研究发现, DNMT抑制剂(DNMT inhibitor, DNMTi)5-Aza 2-deoxycytidine与HDACi TSA联合运用可通过抑制c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)-细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)通路和激活STAT3-组蛋白TET JMJD3(JmjC domain containing protein 3)通路, 减轻内毒素血症引起的急性肺损伤(acute lung injury, ALI)^[26]。由于HDACi和DNMTi被证明能够影响免疫系统, 表观遗传药物和免疫抑制剂的组合被认为是一种有前景的癌症

治疗^[27,28]. 其他临床前研究与临床试验表明HDACi是化学增敏剂, 增加了化疗药的治疗下癌细胞的敏感性^[29-31]. HDACi和DNMTi治疗在与化疗药物联合使用时已显示出疗效^[32]. 目前, HDACi与DNMTi的联合运用治疗急性髓细胞性白血病(acute myeloid leukemia, AML)已进入临床试验阶段^[33,34], 但联合运用的机制仍在争论中, 但可以肯定的, 联合治疗对转录本的影响明显大于任一处理单独调节的基因的总和, HDACi与DNMTi的联合运用具有协同效应^[35].

对于肝脏相关炎症的干预, 通过调控乙酰化来影响DNA甲基化或是通过DNA甲基化影响乙酰化的报道较少, HDACi与DNMTi的联合运用也尚处于空白阶段. 因此, 在肝脏炎症反应过程中, 单独通过改变组蛋白乙酰化或是DNA甲基化则势必影响对方的生物学效应改变, 研究表观遗传调控的交互作用势在必行. 表观遗传调控的交互作用在免疫抑制剂治疗肝脏自身免疫性肝炎的过程中是否同样可以加用HDACi或是DNMTi, 或是HDACi与DNMTi的联合运用? 肝脏内的“二次打击”引起的免疫炎症级联反应是否同样也适用? 病毒性肝炎活动期肝细胞受损过程中HDACi与DNMTi的联合调控是否可减轻肝脏受损程度? 都值得深入研究.

4 结论

肝脏炎症反应是肝脏疾病慢性化的关键诱导因素, 调控炎症相关分子的表达对炎症的发生尤为重要. 肝脏炎症反应过程中的表观遗传调控特别是组蛋白乙酰化的正调控与DNA甲基化负调控, 可从蛋白质的翻译水平即DNA的转录水平影响基因的表达. 组蛋白乙酰化与DNA甲基化之间无明确的级联调控关系, 一般可通过交互作用或协同作用影响基因的表达. 同时, HDACi与DNMTi的联合运用具有协同效应, 两者联用抑或是配合其他化疗药物的实用, 在治疗恶性肿瘤的临床实验阶段中已初具成效. 但在肝脏炎症甚至是肝脏疾病中的研究, HDACi与DNMTi的联合运用尚处于空白阶段. 因此对于肝脏炎症反应过程, 分别明确组蛋白乙酰化与DNA甲基化的基础调控作用, 深化探讨两者交互作用的分子机制, 明确HDACi与DNMTi联合用药的科学内涵, 则有着广阔的运用前景.

5 参考文献

- Bishayee A. The role of inflammation and liver cancer. *Adv Exp Med Biol* 2014; 816: 401-435 [PMID: 24818732 DOI: 10.1007/978-3-0348-0837-8_16]
- Khan O, La Thangue NB. HDAC inhibitors in cancer biology: emerging mechanisms and clinical applications. *Immunol Cell Biol* 2012; 90: 85-94 [PMID: 22124371 DOI: 10.1038/icb.2011.100]
- Nightingale KP, O'Neill LP, Turner BM. Histone modifications: signalling receptors and potential elements of a heritable

- epigenetic code. *Curr Opin Genet Dev* 2006; 16: 125-136 [PMID: 16503131 DOI: 10.1016/j.gde.2006.02.015]
- Bolden JE, Peart MJ, Johnstone RW. Anticancer activities of histone deacetylase inhibitors. *Nat Rev Drug Discov* 2006; 5: 769-784 [PMID: 16955068 DOI: 10.1038/nrd2133]
- Vaissière T, Sawan C, Herceg Z. Epigenetic interplay between histone modifications and DNA methylation in gene silencing. *Mutat Res* 2008; 659: 40-48 [PMID: 18407786 DOI: 10.1016/j.mrrev.2008.02.004]
- Wang Y, Wang L, Gong Z. Regulation of Acetylation in High Mobility Group Protein B1 Cytosol Translocation. *DNA Cell Biol* 2019; 38: 491-499 [PMID: 30874449 DOI: 10.1089/dna.2018.4592]
- 王瑶, 龚作炯. 肝衰竭过程中乙酰化调控和细胞焦亡. *世界华人消化杂志* 2018; 26: 633-638 [DOI: 10.11569/wcjd.v26.i11.633]
- Zhang H, Li X, Zhang Q, Yang F, Chu X, Zhang D, Wang L, Gong Z. Role of histone deacetylase expression levels and activity in the inflammatory responses of patients with chronic hepatitis B. *Mol Med Rep* 2017; 15: 2744-2752 [PMID: 28447718 DOI: 10.3892/mmr.2017.6290]
- Zhang Q, Yang F, Li X, Wang L, Chu X, Zhang H, Gong Z. Trichostatin A inhibits inflammation in phorbol myristate acetate-induced macrophages by regulating the acetylation of histone and/or non-histone proteins. *Mol Med Rep* 2016; 13: 845-852 [PMID: 26647731 DOI: 10.3892/mmr.2015.4594]
- Wang Y, Chen H, Chen Q, Jiao FZ, Zhang WB, Gong ZJ. The Protective Mechanism of CAY10683 on Intestinal Mucosal Barrier in Acute Liver Failure through LPS/TLR4/MyD88 Pathway. *Mediators Inflamm* 2018; 2018: 7859601 [PMID: 29725271 DOI: 10.1155/2018/7859601]
- Zhang WB, Zhang HY, Jiao FZ, Wang LW, Zhang H, Gong ZJ. Histone deacetylase 6 inhibitor ACY-1215 protects against experimental acute liver failure by regulating the TLR4-MAPK/NF- κ B pathway. *Biomed Pharmacother* 2018; 97: 818-824 [PMID: 29112935 DOI: 10.1016/j.biopha.2017.10.103]
- Zhao H, Huang H, Alam A, Chen Q, Suen KC, Cui J, Sun Q, Ologunde R, Zhang W, Lian Q, Ma D. VEGF mitigates histone-induced pyroptosis in the remote liver injury associated with renal allograft ischemia-reperfusion injury in rats. *Am J Transplant* 2018; 18: 1890-1903 [PMID: 29446207 DOI: 10.1111/ajt.14699]
- 张银华, 陈悦, 孟忠吉, 龚作炯. 组蛋白去乙酰化酶1与乙型肝炎病毒性肝病病情的关系. *中西医结合肝病杂志* 2011; 21: 40-42 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-0264.2011.01.014]
- Zhang D, Wang Y, Zhang HY, Jiao FZ, Zhang WB, Wang LW, Zhang H, Gong ZJ. Histone deacetylases and acetylated histone H3 are involved in the process of hepatitis B virus DNA replication. *Life Sci* 2019; 223: 1-8 [PMID: 30862568 DOI: 10.1016/j.lfs.2019.03.010]
- Pollicino T, Belloni L, Raffa G, Pediconi N, Squadrito G, Raimondo G, Levrero M. Hepatitis B virus replication is regulated by the acetylation status of hepatitis B virus cccDNA-bound H3 and H4 histones. *Gastroenterology* 2006; 130: 823-837 [PMID: 16530522 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.01.001]
- Rivière L, Gerossier L, Ducroux A, Dion S, Deng Q, Michel ML, Buendia MA, Hantz O, Neuveut C. HBx relieves chromatin-mediated transcriptional repression of hepatitis B viral cccDNA involving SETDB1 histone methyltransferase. *J Hepatol* 2015; 63: 1093-1102 [PMID: 26143443 DOI: 10.1016/j.jhep.2015.06.023]
- Vento-Tormo R, Álvarez-Errico D, Garcia-Gomez A, Hernández-Rodríguez J, Buján S, Basagaña M, Méndez M, Yagüe J, Juan M, Aróstegui JJ, Ballestar E. DNA demethylation in inflammasome-associated genes is enhanced in patients with cryopyrin-associated periodic syndromes. *J Allergy Clin Immunol* 2017; 139: 202-211.e6 [PMID: 27394913 DOI: 10.1016/

- jjaci.2016.05.016]
- 18 Cheng C, Huang C, Ma TT, Bian EB, He Y, Zhang L, Li J. SOCS1 hypermethylation mediated by DNMT1 is associated with lipopolysaccharide-induced inflammatory cytokines in macrophages. *Toxicol Lett* 2014; 225: 488-497 [PMID: 24440346 DOI: 10.1016/j.toxlet.2013.12.023]
 - 19 Yang Y, Wu XQ, Li WX, Huang HM, Li HD, Pan XY, Li XF, Huang C, Meng XM, Zhang L, Lv XW, Wang H, Li J. PSIP2 connects DNA methylation to macrophage polarization in CCL4-induced mouse model of hepatic fibrosis. *Oncogene* 2018; 37: 6119-6135 [PMID: 29993036 DOI: 10.1038/s41388-018-0383-0]
 - 20 Li JJ, Li Q, Du HP, Wang YL, You SJ, Wang F, Xu XS, Cheng J, Cao YJ, Liu CF, Hu LF. Homocysteine Triggers Inflammatory Responses in Macrophages through Inhibiting CSE-H2S Signaling via DNA Hypermethylation of CSE Promoter. *Int J Mol Sci* 2015; 16: 12560-12577 [PMID: 26047341 DOI: 10.3390/ijms160612560]
 - 21 Du HP, Li J, You SJ, Wang YL, Wang F, Cao YJ, Hu LF, Liu CF. DNA methylation in cystathionine- γ -lyase (CSE) gene promoter induced by ox-LDL in macrophages and in apoE knockout mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2016; 469: 776-782 [PMID: 26692478 DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.11.132]
 - 22 Nan X, Ng HH, Johnson CA, Laherty CD, Turner BM, Eisenman RN, Bird A. Transcriptional repression by the methyl-CpG-binding protein MeCP2 involves a histone deacetylase complex. *Nature* 1998; 393: 386-389 [PMID: 9620804 DOI: 10.1038/30764]
 - 23 Fuks F, Burgers WA, Brehm A, Hughes-Davies L, Kouzarides T. DNA methyltransferase Dnmt1 associates with histone deacetylase activity. *Nat Genet* 2000; 24: 88-91 [PMID: 10615135 DOI: 10.1038/71750]
 - 24 Zhang Q, Zhao K, Shen Q, Han Y, Gu Y, Li X, Zhao D, Liu Y, Wang C, Zhang X, Su X, Liu J, Ge W, Levine RL, Li N, Cao X. Tet2 is required to resolve inflammation by recruiting Hdac2 to specifically repress IL-6. *Nature* 2015; 525: 389-393 [PMID: 26287468 DOI: 10.1038/nature15252]
 - 25 Wu LP, Wang X, Li L, Zhao Y, Lu S, Yu Y, Zhou W, Liu X, Yang J, Zheng Z, Zhang H, Feng J, Yang Y, Wang H, Zhu WG. Histone deacetylase inhibitor depsipeptide activates silenced genes through decreasing both CpG and H3K9 methylation on the promoter. *Mol Cell Biol* 2008; 28: 3219-3235 [PMID: 18332107 DOI: 10.1128/MCB.01516-07]
 - 26 Samanta S, Zhou Z, Rajasingh S, Panda A, Sampath V, Rajasingh J. DNMT and HDAC inhibitors together abrogate endotoxemia mediated macrophage death by STAT3-JMJD3 signaling. *Int J Biochem Cell Biol* 2018; 102: 117-127 [PMID: 30010012 DOI: 10.1016/j.biocel.2018.07.002]
 - 27 Mazzone R, Zwergel C, Mai A, Valente S. Epi-drugs in combination with immunotherapy: a new avenue to improve anticancer efficacy. *Clin Epigenetics* 2017; 9: 59 [PMID: 28572863 DOI: 10.1186/s13148-017-0358-y]
 - 28 Topper MJ, Vaz M, Chiappinelli KB, DeStefano Shields CE, Niknafs N, Yen RC, Wenzel A, Hicks J, Ballew M, Stone M, Tran PT, Zahnow CA, Hellmann MD, Anagnostou V, Strissel PL, Strick R, Velculescu VE, Baylin SB. Epigenetic Therapy Ties MYC Depletion to Reversing Immune Evasion and Treating Lung Cancer. *Cell* 2017; 171: 1284-1300.e21 [PMID: 29195073 DOI: 10.1016/j.cell.2017.10.022]
 - 29 Tang F, Choy E, Tu C, Hornicek F, Duan Z. Therapeutic applications of histone deacetylase inhibitors in sarcoma. *Cancer Treat Rev* 2017; 59: 33-45 [PMID: 28732326 DOI: 10.1016/j.ctrv.2017.06.006]
 - 30 Diyabalanage HV, Granda ML, Hooker JM. Combination therapy: histone deacetylase inhibitors and platinum-based chemotherapeutics for cancer. *Cancer Lett* 2013; 329: 1-8 [PMID: 23032720 DOI: 10.1016/j.canlet.2012.09.018]
 - 31 Hu B, Younes A, Westin JR, Turturro F, Claret L, Feng L, Fowler N, Neelapu S, Romaguera J, Hagemester FB, Rodriguez MA, Samaniego F, Fayad LE, Copeland AR, Nastoupil LJ, Nieto Y, Fanale MA, Oki Y. Phase-I and randomized phase-II trial of panobinostat in combination with ICE (ifosfamide, carboplatin, etoposide) in relapsed or refractory classical Hodgkin lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2018; 59: 863-870 [PMID: 28792260 DOI: 10.1080/10428194.2017.1359741]
 - 32 Jones PA, Issa JP, Baylin S. Targeting the cancer epigenome for therapy. *Nat Rev Genet* 2016; 17: 630-641 [PMID: 27629931 DOI: 10.1038/nrg.2016.93]
 - 33 Wouters BJ, Delwel R. Epigenetics and approaches to targeted epigenetic therapy in acute myeloid leukemia. *Blood* 2016; 127: 42-52 [PMID: 26660432 DOI: 10.1182/blood-2015-07-604512]
 - 34 Tan P, Wei A, Mithraprabhu S, Cummings N, Liu HB, Perugini M, Reed K, Avery S, Patil S, Walker P, Mollee P, Grigg A, D'Andrea R, Dear A, Spencer A. Dual epigenetic targeting with panobinostat and azacitidine in acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndrome. *Blood Cancer J* 2014; 4: e170 [PMID: 24413064 DOI: 10.1038/bcj.2013.68]
 - 35 Blagitko-Dorfs N, Schlosser P, Greve G, Pfeifer D, Meier R, Baude A, Brocks D, Plass C, Lübbert M. Combination treatment of acute myeloid leukemia cells with DNMT and HDAC inhibitors: predominant synergistic gene downregulation associated with gene body demethylation. *Leukemia* 2019; 33: 945-956 [PMID: 30470836 DOI: 10.1038/s41375-018-0293-8]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



ELMO1基因甲基化检测在胃癌早期诊断中的价值

宋健, 黎萍, 袁桂红, 贾真, 张荣琳, 王发宝, 钟国柄, 李依倪, 钟敦璟

宋健, 黎萍, 袁桂红, 张荣琳, 李依倪, 钟敦璟, 海南省肿瘤医院消化内镜科 海南省海口市 570123

贾真, 海南省肿瘤医院麻醉科 海南省海口市 570123

王发宝, 海南省肿瘤医院病理科 海南省海口市 570123

钟国柄, 海南省肿瘤医院中心实验室 海南省海口市 570123

宋健, 主任医师, 研究方向为消化道肿瘤的早期诊治。

基金项目: 海南省科技厅社会发展重点研发项目, No. ZDYF2017118.

作者贡献分布: 课题设计、实验指导、文章起草、修改及审阅由宋健完成; 材料收集、实验及数据分析主要由黎萍、袁桂红、贾真、张荣琳、王发宝、钟国柄、李依倪及钟敦璟完成。

通讯作者: 宋健, 主任医师, 570123, 海南省海口市秀英区长滨西四街6号, 海南省肿瘤医院消化内镜科. songjian0532@sina.com
电话: 0898-36392089

收稿日期: 2019-06-10

修回日期: 2019-08-13

接受日期: 2019-08-26

在线出版日期: 2019-09-08

Value of of *ELMO1* gene methylation detection in early diagnosis of gastric cancer

Jian Song, Ping Li, Gui-Hong Yuan, Zhen Jia, Rong-Lin Zhang, Fa-Bao Wang, Guo-Bing Zhong, Yi-Ni Li, Dun-Jing Zhong

Jian Song, Ping Li, Gui-Hong Yuan, Rong-Lin Zhang, Yi-Ni Li, Dun-Jing Zhong, Department of Digestive Endoscopy, Hainan Cancer Hospital, Haikou 570123, Hainan Province, China

Zhen Jia, Department of Anesthesiology, Hainan Cancer Hospital, Haikou 570123, Hainan Province, China

Fa-Bao Wang, Department of Pathology, Hainan Cancer Hospital, Haikou 570123, Hainan Province, China

Guo-Bing Zhong, Central Laboratory of Hainan Cancer Hospital, Haikou 570123, Hainan Province, China

Supported by: Key Research and Development Projects of Social Development of Hainan Science and Technology Department, No. ZDYF2017118.

Corresponding author: Jian Song, Chief Physician, Department of Digestive Endoscopy, Hainan Cancer Hospital, No. 6, Xisi Street, Changbin, Xiuying District, Haikou 570123, Hainan Province, China. songjian0532@sina.com

Received: 2019-06-10

Revised: 2019-08-13

Accepted: 2019-08-26

Published online: 2019-09-08

Abstract BACKGROUND

Gastric cancer (GC) is a malignant tumor that seriously endangers human health. Its morbidity and mortality rank second and first, respectively, among malignant tumors in China. It is difficult to diagnose early. Therefore, finding new markers for GC diagnosis is very important to improve the early detection rate and prognosis of GC. At present, there are few reports on the diagnostic value of engulfment and cell motility 1 (*ELMO1*) gene methylation in GC.

AIM

To explore the relationship between the methylation of *ELMO1* gene and GC in order to provide new ideas for early diagnosis of this malignancy.

METHODS

From January 2017 to August 2018, 20 cases of chronic superficial gastritis, 20 cases of chronic atrophic gastritis, and 37 cases of GC (15 cases of early GC and 22 cases of advanced GC) were selected. The gastric juice and biopsy were collected at the same time. Methylation-specific polymerase chain reaction was used to detect the methylation level of *ELMO1* gene in the three groups,

and the correlation between *ELMO1* gene methylation and the occurrence, stage, and metastasis of GC was analyzed.

RESULTS

The methylation rate of *ELMO1* gene in tissues and gastric juice of chronic superficial gastritis, chronic atrophic gastritis, and GC were 0%, 20.5%, and 93.3% ($P < 0.01$), and 0%, 12.3%, and 76.7% ($P < 0.05$), respectively. The methylation rate of *ELMO1* gene in adjacent tissue DNA was 96.7%, which was not significantly different from that in the GC group ($P > 0.05$). The methylation rates of *ELMO1* gene in gastric juice of patients with early GC and advanced GC were 73.3% and 80.0%, respectively. The methylation rates of *ELMO1* gene in the two tissues were 86.7% and 100%, respectively. There was no significant difference between them in both gastric juice and tissues ($P > 0.05$).

CONCLUSION

The promoter region of *ELMO1* gene in gastric juice DNA and pathological tissues of patients with GC is hypermethylated, which has high consistency. *ELMO1* gene methylation can be used as a molecular target for early diagnosis of GC, and gastric juice can be used as a good clinical sample for detection of *ELMO1* gene methylation.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: *ELMO1*; Methylation; Gastric carcinoma; Gastric juice; Diagnosis

Song J, Li P, Yuan GH, Jia Z, Zhang RL, Wang FB, Zhong GB, Li YN, Zhong DJ. Value of *ELMO1* gene methylation detection in early diagnosis of gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(17): 1055-1061

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1055.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i17.1055>

摘要

背景

胃癌(gastric cancer, GC)是严重危害人体健康的恶性肿瘤,其发病率和死亡率分别占中国恶性肿瘤的第2位和第1位,早期诊断困难,因此,寻找GC诊断的新标志物对于提高GC的早期发现率及改善患者预后至关重要。目前,吞噬细胞运动蛋白1(engulfment and cell motility 1, *ELMO1*)基因甲基化在GC中诊断价值研究鲜有报道。

目的

探讨*ELMO1*基因甲基化与GC的关系,旨在为GC早期诊断提供新思路。

方法

选取海南省肿瘤医院内镜中心2017-01/2018-08诊治的慢性非萎缩性胃炎20例、慢性萎缩性胃炎20例、GC37例(早期GC15例,进展期GC22例),胃镜检查同时收集胃液及活组织检查收集病理组织标本。通过甲基化特异聚合酶链反应检测三组患者*ELMO1*基因甲基化水平,并进行组间对比分析,并分析*ELMO1*基因甲基化与GC的发生、分期及转移的关系。

结果

*ELMO1*基因甲基化率在病理组织DNA中依次为慢性浅表性胃炎组0%,慢性萎缩性胃炎20%,GC组93.3%,差异显著($P < 0.01$);在胃液DNA中依次为:慢性浅表性胃炎组0%,慢性萎缩性胃炎组12.3%,GC组76.7%,差异显著($P < 0.05$)。癌旁组织DNA中*ELMO1*基因甲基化率为96.7%,与GC组比较差异不显著($P > 0.05$);早期GC与进展期GC患者胃液中*ELMO1*基因甲基化率分别为73.3%、80.0%,两者组织中*ELMO1*基因甲基化率分别为86.7%、100%,两者在胃液及组织中比较均无显著差异($P > 0.05$)。

结论

GC患者病理组织及胃液DNA中*ELMO1*基因启动子区均呈高甲基化状态,并有较高的一致性,并且在早期GC中即明显升高,*ELMO1*基因甲基化可作为GC早期诊断的分子靶标,并且胃液可用于*ELMO1*基因甲基化检测的良好临床标本。

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: *ELMO1*基因; 甲基化; 胃癌; 胃液; 诊断

核心提要: 胃癌(gastric cancer, GC)组织及胃液DNA中吞噬细胞运动蛋白1(engulfment and cell motility 1, *ELMO1*)基因启动子区均呈高甲基化状态,在早期GC中即明显升高,具有较好的特异性和敏感性。*ELMO1*基因甲基化可作为GC早期诊断的分子靶标,检测胃液DNA中*ELMO1*基因甲基化可用于GC的早期诊断。

宋健, 黎萍, 袁桂红, 贾真, 张荣琳, 王发宝, 钟国柄, 李依倪, 钟敦璟. *ELMO1*基因甲基化检测在胃癌早期诊断中的价值. *世界华人消化杂志* 2019; 27(17): 1055-1061

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1055.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i17.1055>

0 引言

胃癌(gastric cancer, GC)是一种消化道常见的恶性肿瘤,其发病率在我国居第二位,死亡率居第一位,早期诊断

困难. GC的发病机制与基因启动子甲基化等表观遗传学改变密切相关^[1-3], 近几年国外有研究表明, 吞噬细胞运动蛋白1(engulfment and cell motility 1, *ELMO1*)基因在GC患者中呈高甲基化状态, 但能否作为GC的分子诊断靶标尚无定论^[4,5]. 胃液中含有大量的胃黏膜脱落细胞及其DNA, 检测胃液中的DNA甲基化能较病理活检具有更好的敏感性^[6]. 本研究对慢性浅表性胃炎、慢性萎缩性胃炎、GC患者病理组织及胃液中*ELMO1*基因甲基化水平进行检测, 旨在探讨*ELMO1*基因甲基化能否作为GC的分子诊断标记物, 为GC的早期诊断提供理论依据.

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 病例入组及取材: 本研究选取2017-01/2018-08海南省肿瘤医院内镜中心诊治的胃病患者77例, 其中男性40例, 女性37例, 年龄35-75岁, 平均年龄56.3岁±12.5岁; 所有患者在此之前均未接受放射、化学治疗及生物免疫治疗. 纳入标准: 经病理诊断为慢性浅表性胃炎、慢性萎缩性胃炎及GC患者, 前两组各20例. GC组37例, 其中早期GC15例及进展期GC22例. 胃炎的诊断标准按中华医学会消化病学分会. 中国慢性胃炎共识意见(2017年, 上海)^[7], GC的诊断标准按中国临床肿瘤学会. 原发性GC诊疗指南(2017.V1)^[8]. 排除患有其他系统肿瘤、其他胃肠系统疾病及其他器官衰竭等疾病的患者. 在胃镜检查过程中用集液器收集每例患者胃液10 mL置于15 mL冻存管, 同时用活检钳钳取每例患者的病理组织, 胃炎患者病理标本取胃窦、胃体各2块, GC患者取病变部位5块, 距离病变部位5 cm处2块. 胃液标本-80 °C保存备用, 胃炎组织标本留取胃窦1块10%甲醛固定行病理检查, GC组织标本留取2块10%甲醛固定后行病理检查, 其余组织标本-80 °C保存备用. 此研究符合医学研究伦理规范, 获海南省肿瘤医院伦理委员会批准, 所有患者知情同意并签署知情同意书. 三组患者在一般基线资料上无明显差异($P>0.05$), 具有可比性(表1).

1.1.2 主要仪器和试剂: PCR扩增仪(Long Gene公司MyGene MG96+型); 离心机(北京京立离心机有限公司LG16-WA型); 凝胶电泳仪(北京六一仪器厂DYY-6C型); 凝胶成像仪(Gel Oculentuteon system Beosens SC 805型). EZ DNA Methylation-Gold™ Kit (zyzo research Catalog Nos. D5005); ZymoTaq PreMix (zyzo research Catalog Nos. E2003); Quick-DNA™ Universal Kit (zyzo research Catalog Nos. D4068)

1.2 方法 将各组胃液于4 °C, 1000 g, 离心10 min, 弃掉残渣留上清液, 将上清液再次于4 °C, 10000 g, 离心20 min,

留取沉淀物用于DNA抽提. 各组组织样本保存在DNA保护剂中, 提取DNA. 步骤详见说明书Quick-DNA™ Universal Kit (zyzo research Catalog Nos. D4068). DNA纯度分析采用核酸蛋白分析仪, 采用凝胶电泳进行质量检测. 之后进行DNA亚硫酸盐修饰, 针对修饰前后的序列差异用MethPrimer软件设计甲基化与未甲基引物, 进行PCR扩增, 引物序列(表2). 本研究采用双蒸水作为空白对照. PCR反应采用ZymoTaq™ Pre Mix试剂盒, 反应体系为25μL, 反应条件为: 95 °C, 预变性5 min, 循环体系为94 °C变性30 s, 55 °C退火30 s, 72 °C延伸30 s, 共进行40个循环, 之后72 °C延伸10 min, 4 °C保存. PCR产物经琼脂糖凝胶电泳进行检测.

统计学处理 本研究数据采用SPSS 22统计学软件进行分析, 计量资料以mean±SD表示, 采用 t 检验; 计数资料采用卡方检验、Mann-Whitney U 检验及Fisher's精确检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义.

2 结果

2.1 各组病理组织中*ELMO1*基因甲基化水平 各组病理组织中*ELMO1*基因MSP电泳结果(图1和图2). 慢性非萎缩性胃炎组、慢性萎缩性胃炎组、GC组及癌旁组织*ELMO1*基因甲基化率分别为0%、20%、93.3%、96.7%, 前三者两两比较差异显著($P<0.01$); GC与癌旁组织DNA中无显著差异($P>0.05$).

2.2 各组胃液中*ELMO1*基因甲基化水平 各组胃液中*ELMO1*基因MSP电泳结果(图3). 在胃液DNA中*ELMO1*基因甲基化率分别为: 慢性浅表性胃炎组0%, 慢性萎缩性胃炎组10%, GC组76.7%, 前二者比较显著差异($P<0.05$), 前两者分别与GC组比较差异显著($P<0.01$). 早期GC与进展期GC患者胃液*ELMO1*基因甲基化率分别为73.3%、80.0%, 两者比较差异不显著($P>0.05$).

2.3 GC患者*ELMO1*基因启动子区甲基化与临床病理因素的关系 15例早期GC与22例进展期GC患者组织中*ELMO1*基因甲基化率分别为86.7%、100%, 两者无显著差异($P>0.05$), 与肿瘤临床分期、大小及淋巴结转移等无明显相关性(表3).

统计分析: Mann-Whitney U 检验(年龄); Fisher's精确检验(性别, 肿瘤分期, 肿瘤大小, 淋巴结转移)

3 讨论

近年研究表明, 早期GC患者的5年生存率超过90%, 中晚期GC患者的5年生存率则降至20%-30%^[9,10]. 早期干预对于GC患者具有重要意义, 但由于缺乏GC早期的独特临床诊断特征及指标, 早期GC的诊断率不到15%, 多数患者确诊时已处于中晚期, 大大降低了生存率, 因此, 寻找有效的早期诊断指标对于提高GC患者的生存率具

表 1 患者的一般资料情况

项目		非萎缩性胃炎	萎缩性胃炎	早期胃癌	进展期胃癌
性别/例	男	10	10	8	12
	女	10	10	7	10
	总计	20	20	15	22
年龄/岁	范围	35-69	43-74	42-75	41-71
	平均	55.2 ± 13.5	57.7 ± 14.7	56.5 ± 13.6	55.7 ± 14.6

表 2 *ELMO1*引物序列

引物名称	引物序列
<i>ELMO1</i> -M-F	5'-AGTAGCGGTAGTCGGCGGTGTAG-3'
<i>ELMO1</i> -M-R	5'-AATCGCAAAACAACAACGACAAA-3'
<i>ELMO1</i> -U-F	5'-AGTAGTGGTAGTTGGTGGTGTAG-3'
<i>ELMO1</i> -U-R	5'-AATTGCAAAACAACAATGACAAA-3'

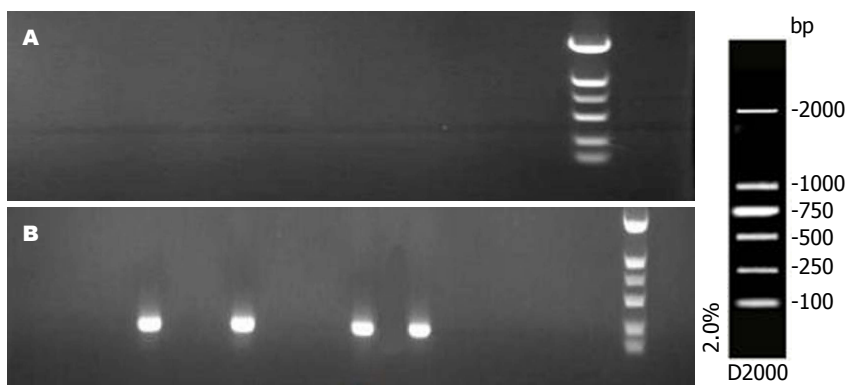


图 1 非萎缩性胃炎及萎缩性胃炎组织*ELMO1*甲基化特异性PCR电泳结果. A: 非萎缩性胃炎; B: 萎缩性胃炎.

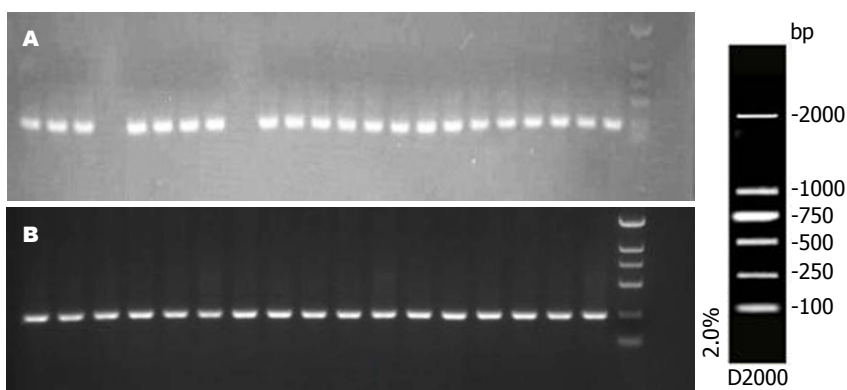


图 2 胃癌及癌旁组织*ELMO1*甲基化特异性PCR电泳结果. A: 胃癌组织; B: 癌旁组织.

有重要意义^[11,12]. 目前GC的早期诊断依赖于对包括慢性胃炎黏膜萎缩、肠上皮化生及异常增生等在内的癌前病变的追踪随访. 近年来研究发现, 以DNA甲基化为代表的表观遗传学可在肿瘤的诊断及预后中具有重要作用^[13,14]. *ELMO1*基因, 是进化上非常保守的一种序列, 主

要介导细胞的吞噬、移动和形态改变. *ELMO1*在包括肺癌、乳腺癌、食管腺癌、卵巢癌、甲状腺癌、横纹肌肉瘤和神经胶质瘤等多种恶性肿瘤中有不同程度的异常表达, 且与肿瘤的临床分期及预后密切相关, 是与肿瘤细胞迁移相关的基因之一^[15-20], 其在GC发生中的作

表 3 胃癌*ELMO1*甲基化与临床病理因素关系

临床参数		总数	<i>ELMO1</i>	<i>ELMO1</i>	P值
		37例	高甲基化35例	非甲基化2例	
平均年龄(岁)(范围)		56.3 (35-75)	57.5 (38-75)	52.6 (36-67)	0.895
性别, 例(%)	男	20 (54.05)	19 (54.29)	1 (50.0)	0.675
	女	17 (45.95)	16 (45.71)	1 (50.0)	
肿瘤分期	早期胃癌	15 (40.54)	13 (37.14)	2 (100.0)	1.000
	进展期胃癌	22 (59.45)	22 (62.86)	0 (0)	
肿瘤位置	胃窦	20 (54.05)	19 (54.29)	1 (50.0)	0.675
	胃体	17 (45.95)	16 (45.71)	1 (50.0)	
淋巴结转移	有	27 (72.97)	27 (72.97)	0 (0)	1.000
	无	10 (27.03)	10 (27.03)	2 (100)	

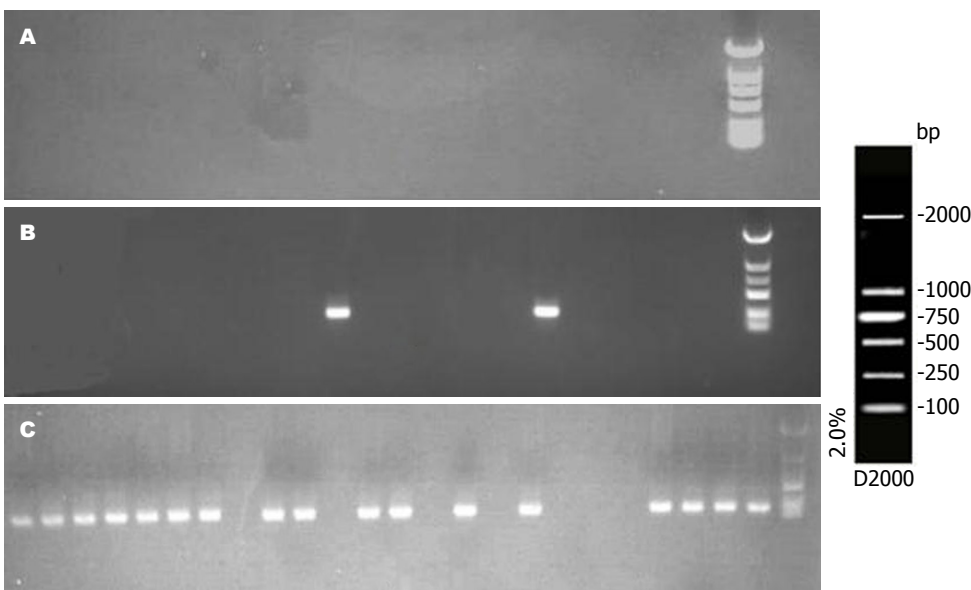


图 3 *ELMO1*甲基化特异性PCR检测各组胃液中的结果. A: 非萎缩性胃炎组; B: 萎缩性胃炎组; C: 胃癌组.

用机制还不清楚.

GC的甲基化异常基因能否作为GC的分子诊断靶标文献报道较少, 目前还没文献报道有明确可靠的甲基化分子靶标用于GC的基因诊断. 2017年Pirini等^[4]报道, 通过对胃镜活检标本进行全基因组甲基化指数(GDMI)及联合检测*IRF4*, *ELMO1*, *CLIP4* and *MSC*启动子区甲基化, 发现GDMI大于4及*IRF4*, *ELMO1*, *CLIP4* and *MSC*启动子区高甲基化对于GC风险的预测具有较大的价值.

胃液中含有大量的胃黏膜脱落细胞及其DNA, 易于获取, 是进行GC分子诊断的良好标本. 在我国人口众多, GC是高发肿瘤, 但现有的GC筛查方法包括血清学及胃镜检查费用较高, 且不易在人群中推广和接受, 如能在胃液中找到理想的GC诊断分子靶标, 通过胃管法获取胃液进行GC分子靶标的检测, 对于人群GC的筛查具有更好的接受度和社会经济效益比. 2016年Yamamoto等^[6]报道, 通过对GC患者组织及胃液DNA中

*BARHL2*基因甲基化研究发现: *BARHL2*基因甲基化异常在GC患者中敏感性达到90%, 特异性达到100%, 但未见后续研究报道. 我们也进行了该基因的同研究, 但结果是*BARHL2*基因在GC、癌旁及慢性胃炎中均呈高甲基化状态, 没有特异性, 不能作为GC的分子诊断靶标.

本文研究了*ELMO1*基因在慢性非萎缩性胃炎、慢性萎缩性胃炎及GC和癌旁组织及相应胃液中该基因甲基化情况, 及其与GC患者肿瘤分期、淋巴结转移及预后的关系. 研究结果表明: GC患者病理组织及胃液DNA中*ELMO1*基因启动子区均呈高甲基化状态, 并有较高的一致性, 并且在早期GC中即明显升高, 在慢性非萎缩性胃炎患者中无甲基化发生, 在慢性萎缩性胃炎患者中有少量甲基化发生, 在GC患者中*ELMO1*几乎均发生甲基化, 提示*ELMO1*基因甲基化可作为GC的分子诊断靶标. 我们的研究结果表明在早癌GC患者胃液中进行*ELMO1*基因甲基化检测具有较高的敏感性和特异性,

可作为早期GC的诊断方法. *ELMO1*在萎缩性胃炎的患者中也有20%的甲基化率, 提示该基因甲基化对GC的发生有一定的预警作用. GC患者*ELMO1*基因启动子区甲基化与性别、临床病理分期、肿瘤部位及淋巴结转移等无明显相关性. 另外癌旁组织中*ELMO1*基因同样发生高甲基化, 并与癌组织基本一致, 其发生机制尚不明确, 需要进一步研究.

综上所述, *ELMO1*基因启动子区甲基化在GC组织中具有很高的发生率, 并且在早癌GC中既可发生, 可作为GC早期诊断的分子靶标. 在胃液中检测*ELMO1*基因甲基化可用于GC的早期诊断; 在胃镜检查的同时留取胃液检测*ELMO1*甲基化的改变有助于提高GC的诊断率及预测GC的发生风险. 同时, 可通过胃管法留取胃液进行GC的无症状人群筛查, 避免胃镜检查的痛苦及提高经济效益. *ELMO1*基因启动子区CpG岛也可作为GC治疗的一个潜在药物靶点, 为GC的早期诊断和治疗提供新的思路与理论依据.

文章亮点

实验背景

胃癌(gastric cancer, GC)是我国发病率和死亡率分别位于第二位和第一位的恶性肿瘤, GC的预后与诊断时的疾病阶段密切相关. 在早期发现时, GC通常是可治愈的, 5年生存率大于90%, 而晚期GC的预后很差, 5年生存率仅为20-30%. 早期GC被定义为癌组织局限于胃黏膜或黏膜下层(不论有无淋巴结转移), 由于没有特异性症状, 仅有不到20%的GC被诊断为早期GC. 胃镜是目前GC早期诊断的金标准, 但由于我国人口众多、胃镜检查接受度差及内镜医师缺乏等, 不能作为GC早筛、早诊的手段. 近年来肿瘤基因甲基化的研究为肿瘤早期诊断带来了曙光, 部分肿瘤的甲基化基因诊断已进入临床应用, 并取得了较好的经济社会效益. 近年有文献报道吞噬细胞运动蛋白1(engulfment and cell motility 1, *ELMO1*)基因在GC患者中呈高甲基化状态, 但能否作为GC的分子诊断靶标尚无定论. 本文对慢性浅表性胃炎、慢性萎缩性胃炎、GC患者病理组织及胃液中*ELMO1*基因甲基化水平进行研究, 旨在探讨*ELMO1*基因甲基化能否作为GC的分子诊断标记物以及胃液能否用于检测标本.

实验动机

本文研究的主题是*ELMO1*基因在慢性浅表性胃炎、慢性萎缩性胃炎、GC组织及胃液DNA中甲基化变化情况. 拟解决的关键问题是*ELMO1*基因甲基化是否具有GC特异性和敏感性, 在胃液DNA中可否检测到*ELMO1*基因甲基化, 以及其能否作为GC的分子诊

断靶标. 问题的解决将为GC的早期诊断提供一种新的方法.

实验目标

本研究的主要目标是*ELMO1*基因甲基化是否具有GC特异性和敏感性, 对于早期GC是否具有诊断价值, 以及胃液可否用于*ELMO1*基因甲基化诊断标本. 如实验达成这三个目标, 将为早期GC的分子靶标诊断研究及临床应用奠定基础.

实验方法

以慢性非萎缩性胃炎、慢性萎缩性胃炎、GC患者(包括早期GC及进展期GC)为研究对象, 胃镜检查同时收集胃液及组织标本. 通过甲基化特异聚合酶链反应(MSP)检测三组患者组织及胃液DNA中*ELMO1*基因甲基化水平, 并进行组间对比分析, 并分析*ELMO1*基因甲基化与GC的发生、分期及转移的关系等.

实验结果

本实验的结果是*ELMO1*基因甲基化率在慢性浅表性胃炎、慢性萎缩性胃炎及GC组分别为0%、20%、93.3%, 差异显著($P<0.01$); 在胃液DNA中依次为: 0%、12.3%、76.7%, 差异显著($P<0.05$). 癌旁组织DNA中*ELMO1*基因甲基化率为96.7%, 与GC组比较差异不显著($P>0.05$); 早期GC与进展期GC患者组织中*ELMO1*基因甲基化率分别为86.7%、100%, 两者胃液中*ELMO1*基因甲基化率在分别为73.3%、80.0%, 两者在胃液及组织中比较均无显著差异($P>0.05$). *ELMO1*基因甲基化与GC的临床分期、大小及淋巴结转移等无明显相关性. 本实验达成了实验目标, *ELMO1*基因甲基化在GC患者组织及胃液DNA中具有较高的特异性和敏感性, 为早期GC的分子靶标诊断研究及临床应用奠定了基础.

实验结论

GC *ELMO1*基因启动子区甲基化具有特异性, 在GC组织及胃液中检测其甲基化具有敏感性, 并且在早期GC中也具有较高敏感性, *ELMO1*基因甲基化可作为GC早期诊断的分子靶标, 并且胃液可作为*ELMO1*基因甲基化检测的良好标本. 本研究为GC的分子靶标诊断及临床应用进行了探索, 为以后GC甲基化分子靶标在粪便及血液等标本的检测研究奠定了基础.

展望前景

本研究入组实验样本数偏少, 需要进一步扩大样本量验证实验结果, 需要更进一步细化研究, 如慢性萎缩性胃炎中不典型增生或肠上皮化生与早期GC的差异, 为临床提供更科学的数据支撑. 下一步将扩大样本量研究,

并进一步研究血液及粪便中该基因甲基化异化情况, 并建立该基因甲基化高通量定量检测方法, 为临床应用奠定基础。

4 参考文献

- 1 杨梦迪, 王学红, 张梅. 表观遗传学在胃癌中的研究进展. 癌症进展 2019; 17: 503-506 [DOI: 10.11877/j.issn.1672-1535.2019.17.05.02]
- 2 Sapari NS, Loh M, Vaithilingam A, Soong R. Clinical potential of DNA methylation in gastric cancer: a meta-analysis. *PLoS One* 2012; 7: e36275 [PMID: 22558417 DOI: 10.1371/journal.pone.0036275]
- 3 易默, 周健, 李颖, 史丽萍, 何小勤. hMLH1基因甲基化在胃癌早期诊断中的应用价值. 国际消化病杂志 2016; 36: 299-302 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-534X.2016.05.011]
- 4 Pirini F, Noazin S, Jahuirra-Arias MH, Rodriguez-Torres S, Friess L, Michailidi C, Cok J, Combe J, Vargas G, Prado W, Soudry E, Pérez J, Yudin T, Mancinelli A, Unger H, Ili-Gangas C, Brebi-Mieville P, Berg DE, Hayashi M, Sidransky D, Gilman RH, Guerrero-Preston R. Early detection of gastric cancer using global, genome-wide and IRF4, ELMO1, CLIP4 and MSC DNA methylation in endoscopic biopsies. *Oncotarget* 2017; 8: 38501-38516 [PMID: 28418867 DOI: 10.18632/oncotarget.16258]
- 5 Anderson BW, Suh YS, Choi B, Lee HJ, Yab TC, Taylor WR, Dukek BA, Berger CK, Cao X, Foote PH, Devens ME, Boardman LA, Kisiel JB, Mahoney DW, Slettedahl SW, Allawi HT, Lidgard GP, Smyrk TC, Yang HK, Ahlquist DA. Detection of Gastric Cancer with Novel Methylated DNA Markers: Discovery, Tissue Validation, and Pilot Testing in Plasma. *Clin Cancer Res* 2018; 24: 5724-5734 [PMID: 29844130 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-3364]
- 6 Yamamoto H, Watanabe Y, Oikawa R, Morita R, Yoshida Y, Maehata T, Yasuda H, Itoh F. BARHL2 Methylation Using Gastric Wash DNA or Gastric Juice Exosomal DNA is a Useful Marker For Early Detection of Gastric Cancer in an H. pylori-Independent Manner. *Clin Transl Gastroenterol* 2016; 7: e184 [PMID: 27441821 DOI: 10.1038/ctg.2016.40]
- 7 中华医学会消化病学分会. 中国慢性胃炎共识意见(2017年, 上海). 中华消化杂志 2017; 37: 721-738 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1432.2017.11.001]
- 8 中国临床肿瘤学会指南工作委员会. 中国临床肿瘤学会(CSCO)原发性胃癌诊疗指南(2017.V1). 人民卫生出版社 2017; 07 ISBN: 9787117243803
- 9 朱敏, 张澍田. 内镜技术预测早期胃癌浸润深度的研究进展. 中华消化内镜杂志 2019; 36: 58-61 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-5232.2019.01.016]
- 10 黄莎, 戴璿, 高娟娟, 游伟程, 潘凯枫, 李文庆. 胃癌分子流行病学研究进展. 中国肿瘤临床 2019; 46: 16-21 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-8179.2019.01.848]
- 11 郑潇豪, 解亦斌. 中国晚期胃癌的诊疗现状. 癌症进展 2019; 17: 13-19, 48 [DOI: 10.11877/j.issn.1672-1535.2019.17.01.04]
- 12 Ding Y, Yang Q, Wang B, Ye G, Tong X. The Correlation of MGMT Promoter Methylation and Clinicopathological Features in Gastric Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One* 2016; 11: e0165509 [PMID: 27824946 DOI: 10.1371/journal.pone.0165509]
- 13 高哈尔, 张阳, 周静, 李哲轩, 马峻岭, 刘卫东, 邓大君, 游伟程, 潘凯枫. p16基因甲基化与胃黏膜异型增生恶性转化的关系. 中华肿瘤防治杂志 2017; 24: 431-436 [DOI: 10.16073/j.cnki.cjpt.2017.07.001]
- 14 王崇宇. RUNX3与CHFR基因甲基化提示胃癌癌前病变的研究. 基因组学与应用生物学 2017; 36: 1301-1306 [DOI: 10.13417/j.gab.036.001301]
- 15 Jarzynka MJ, Hu B, Hui KM, Bar-Joseph I, Gu W, Hirose T, Haney LB, Ravichandran KS, Nishikawa R, Cheng SY. ELMO1 and Dock180, a bipartite Rac1 guanine nucleotide exchange factor, promote human glioma cell invasion. *Cancer Res* 2007; 67: 7203-7211 [PMID: 17671188 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-0473]
- 16 Kristensen LS, Søres S, Hansen LL. ELMO3: a direct driver of cancer metastasis? *Cell Cycle* 2014; 13: 2483-2484 [PMID: 25486185 DOI: 10.4161/15384101.2014.947228]
- 17 Søres S, Daugaard IL, Sørensen BS, Carus A, Mattheisen M, Alsner J, Overgaard J, Hager H, Hansen LL, Kristensen LS. Hypomethylation and increased expression of the putative oncogene ELMO3 are associated with lung cancer development and metastases formation. *Oncoscience* 2014; 1: 367-374 [PMID: 25594031 DOI: 10.18632/oncoscience.42]
- 18 Li H, Yang L, Fu H, Yan J, Wang Y, Guo H, Hao X, Xu X, Jin T, Zhang N. Association between Gai2 and ELMO1/Dock180 connects chemokine signalling with Rac activation and metastasis. *Nat Commun* 2013; 4: 1706 [PMID: 23591873 DOI: 10.1038/ncomms2680]
- 19 Abu-Thuraia A, Gauthier R, Chidiac R, Fukui Y, Screatton RA, Gratton JP, Côté JF. Axl phosphorylates Elmo scaffold proteins to promote Rac activation and cell invasion. *Mol Cell Biol* 2015; 35: 76-87 [PMID: 25332238 DOI: 10.1128/MCB.00764-14]
- 20 Peng HY, Yu QF, Shen W, Guo CM, Li Z, Zhou XY, Zhou NJ, Min WP, Gao D. Knockdown of ELMO3 Suppresses Growth, Invasion and Metastasis of Colorectal Cancer. *Int J Mol Sci* 2016; 17 [PMID: 27999268 DOI: 10.3390/ijms17122119]

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红



胃泌素在结肠癌患者中的表达及其受体拮抗剂对人结肠癌细胞株的抑制作用及其对P38信号转导通路的影响

王斌峰, 郑丽芳, 徐秀华, 黄锋

王斌峰, 郑丽芳, 徐秀华, 金华市中心医院金西院区/金华市婺城区第一人民医院检验科 浙江省金华市 321075

黄锋, 天津市东丽医院消化科 天津市 300300

王斌峰, 主管技师, 研究方向为免疫学检验.

作者贡献分布: 王斌峰负责课题设计和研究主要事项及论文写作; 郑丽芳与徐秀华负责课题材料提供; 黄锋负责数据整理分析.

通讯作者: 王斌峰, 主管技师, 321075, 浙江省金华市汤溪镇琳湖街829号, 金华市中心医院金西院区/金华市婺城区第一人民医院检验科.
nllrlp@163.com
电话: 0579-82669612

收稿日期: 2019-04-12

修回日期: 2019-07-02

接受日期: 2019-08-26

在线出版日期: 2019-09-08

Expression of gastrin in colon cancer and its effect on human colon cancer cell proliferation and P38 signal transduction pathway

Bin-Feng Wang, Li-Fang Zheng, Xiu-Hua Xu, Feng Huang

Bin-Feng Wang, Li-Fang Zheng, Xiu-Hua Xu, Department of Clinical Laboratory, Jinxi Hospital of Jinhua City Center, First People's Hospital, Xiangcheng District, Jinhua 321075, Zhejiang Province, China

Feng Huang, Department of Gastroenterology, Tianjin Dongli Hospital, Tianjin 300300, China

Corresponding author: Bin-Feng Wang, Chief Technician, Department of Clinical Laboratory, Jinxi Hospital of Jinhua City Center, First People's Hospital, Xiangcheng District, No. 829, Linhu Street, Tangxi Town, Jinhua 321075, Zhejiang Province, China. nllrlp@163.com

Received: 2019-04-12

Revised: 2019-07-02

Accepted: 2019-08-26

Published online: 2019-09-08

Abstract BACKGROUND

Colon cancer (CC) is a common malignant tumor of the digestive system in China. The early diagnosis is low due to nonspecific symptoms, which leads to the loss of chance of radical surgery and a high mortality rate, greatly harming patients' life and health. Gastrin is a hormone that is mainly secreted from G cells in the gastrointestinal tract. Upon binding to gastrin receptors, it stimulates gastric acid secretion and promotes gastrointestinal mucosal growth. Mitogen-activated protein kinases (MAPKs) are a group of serine-threonine protein kinases that are activated by hormones such as gastrin and are responsible for signal transduction between the cell surface and the nucleus.

AIM

To analyze the expression of gastrin in CC patients, and to investigate the inhibitory effect of gastrin receptor antagonist on human CC cell line and the P38 signal transduction pathway.

METHODS

From January 2016 to October 2018, 30 CC specimens collected from the Department of Pathology of our hospital were divided into poorly, moderately, and highly differentiated specimens according to the criteria of the World Health Organization's malignant tumor differentiation. The immunohistochemical technique was used to detect the expression of gastrin in these specimens. The human CC cell line SW480 was cultured *in vitro*, and the cells were divided into a control group (no drug treatment), a gastrin group (6.25-200.00 mg/L of gastrin

was added), a proglumide group (8.00-256.00 mg/L of proglumide for treatment), and a gastrin plus proglumide group (12.5 mg/L gastrin and 8.00-256.00 mg/L proglumide for treatment). The expression of gastrin receptor/cholecystokinin-B receptor in SW480 cells was detected, and SW480 cell viability, proliferation index, and expression of P38 signal transduction pathway molecules (P38 protein, phosphorylated P38 protein, Bcl-2, and BAX) in different groups were compared.

RESULTS

The higher the degree of differentiation of CC tissues, the higher the positive rate of gastrin expression. The OD values of SW480 cells treated with gastrin at concentrations ranging from 6.25 to 200.00 mg/L were significantly higher than those in control cells ($P < 0.05$). Gastrin at a concentration of 12.50 mg resulted in the highest OD value in SW480 cells ($P < 0.05$). There was no significant difference in OD values of SW480 cells treated with gastrin at concentrations between 25.00 and 200.00 mg/L ($P > 0.05$). There was no significant difference in OD values of SW480 cells treated with glutamine at concentrations of 8.00-256.00 mg/L ($P > 0.05$). Gastrin at 12.50 mg/L combined with 16.00 mg/L of proglumide resulted in the lowest OD value in SW480 cells, which was significantly lower than that in the control group ($P < 0.05$), but this significant difference disappeared with the increase of proglumide concentration ($P > 0.05$). The cell proliferation index of the gastrin group (12.50 mg/L) was significantly higher than those of the proglumide group (16.00 mg/L) and the gastrin plus proglumide group (12.5 mg/L + 16.00 mg/L) ($P < 0.05$). The levels of P38 protein expression and phosphorylation and BAX protein expression in the gastrin group (12.50 mg/L) were significantly lower than those of the control group, proglumide group (16.00 mg/L), and gastrin plus proglumide group (12.5 mg/L + 16.00 mg/L), while Bcl-2 protein expression was significantly higher than in the control group, proglumide group (16.00 mg/L), and gastrin plus proglumide group (12.5 mg/L + 16.00 mg/L) ($P < 0.05$).

CONCLUSION

Gastrin can inhibit the apoptosis of human CC cell line SW480, and its expression in CC is related to the degree of tumor differentiation. The higher the degree of differentiation, the higher the expression level. Gastrin receptor antagonist can antagonize the proliferative effect of gastrin via mechanisms possibly related to up-regulation of P38 expression, phosphorylation of P38, and BAX expression and down-regulation of Bcl-2 expression.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key words: Gastrin receptor antagonist; Gastrin; Human colon cancer cell line; P38 signal transduction pathway; SW480

Wang BF, Zheng LF, Xu XH, Huang F. Expression of gastrin in colon cancer and its effect on human colon cancer cell proliferation and P38 signal transduction pathway. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(17): 1062-1069

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1062.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i17.1062>

摘要 背景

结肠癌(colon cancer, CC)是我国常见消化系统恶性肿瘤,早期缺乏特异性症状诊断率较低,导致患者丧失根治性机会,病死率较高,极大危害患者生命健康。胃泌素主要是由胃肠道G细胞分泌一种激素,与胃泌素受体结合后可刺激胃酸分泌,促进胃肠道黏膜生长。丝裂原活化蛋白激酶是一组能被胃泌素等激素激活的丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶,负责细胞表面与细胞核内部分信号传递。

目的

分析胃泌素在CC患者中的表达,并探讨其受体拮抗剂对人CC细胞株的抑制作用及对P38信号转导通路的影响。

方法

将2016-01/2018-10我院病理科30例CC组织标本根据世界卫生组织恶性肿瘤分化程度标准分为低分化标本、中分化标本、高分化标本,采用免疫组化技术检测观察胃泌素在CC组织中表达情况,体外培养人CC细胞株SW480,将细胞分为对照组(不进行任何药物处理)、胃泌素组(分别加入6.25-200.00 mg/L胃泌素进行处理)、丙谷胺组(分别加入8.00-256.00 mg/L丙谷胺进行处理)、胃泌素联合丙谷胺组(加入12.5 mg/L胃泌素与8.00-256.00 mg/L丙谷胺进行处理),统计SW480中胃泌素受体/胆囊收缩素-B受体表达情况,比较各组CC细胞株SW480活力、细胞增殖指数、P38信号转导通路表达情况P38蛋白、磷酸化-P38蛋白、B淋巴细胞瘤-2(B lymphocyte tumor-2, SBcl-2)、细胞凋亡促进基因(BAX)。

结果

CC组织分化程度越高,胃泌素表达阳性率越高;胃泌素组6.25-200.00 mg/L范围内SW480 OD值均高于对照组($P < 0.05$);胃泌素组12.50 mg/L时SW480 OD值最高($P < 0.05$);胃泌素组25.00-200.00 mg/L范围内SW480 OD值比较差异无统计学意义($P > 0.05$);丙谷胺组8.00-256.00 mg/L范围内SW480 OD值比较差异无统计学意义($P > 0.05$);胃泌素组联合丙谷胺组在

12.50 mg/L胃泌素联合16.00 mg/L丙谷胺时, SW480 OD值最低, 低于对照组($P<0.05$), 之后随着丙谷胺浓度增加, SW480 OD值比较差异无统计学意义($P>0.05$); 胃泌素组(12.50 mg/L)细胞增殖指数高于丙谷胺组(16.00 mg/L)、胃泌素组联合丙谷胺组(12.5 mg/L+16.00 mg/L)($P<0.05$); 胃泌素组(12.50 mg/L)P38蛋白、磷酸化-P38蛋白、BAX蛋白低于对照组、丙谷胺组(16.00 mg/L)、胃泌素组联合丙谷胺组(12.5 mg/L+16.00 mg/L), Bcl-2蛋白表达高于对照组、丙谷胺组(16.00 mg/L)、胃泌素组联合丙谷胺组(12.5 mg/L+16.00 mg/L)($P<0.05$).

结论

胃泌素可抑制人CC细胞株SW480的凋亡, 且在CC组织中的表达与肿瘤分化程度有关, 分化程度越高, 其表达量越高, 胃泌素受体拮抗剂在一定浓度范围内可拮抗胃泌素促增殖效应, 其机制与上调P38、磷酸化-P38、BAX表达及下调Bcl-2表达有关.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 胃泌素受体拮抗剂; 胃泌素; 人结肠癌细胞株; P38信号转导通路; SW480

核心提要: 胃泌素在结肠癌组织中的表达与肿瘤分化程度有关, 分化程度越高, 其表达量越高, 胃泌素受体拮抗剂在一定浓度范围内可拮抗胃泌素促增殖效应, 其机制与上调P38、磷酸化-P38、BAX表达及下调Bcl-2表达有关.

王斌峰, 郑丽芳, 徐秀华, 黄锋. 胃泌素在结肠癌患者中的表达及其受体拮抗剂对人结肠癌细胞株的抑制作用及其对P38信号转导通路的影响. 世界华人消化杂志 2019; 27(17): 1062-1069

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1062.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i17.1062>

0 引言

结肠癌(colon cancer, CC)是我国常见消化系统恶性肿瘤, 早期缺乏特异性症状诊断率较低, 导致患者丧失根治性机会, 病死率较高, 极大危害患者生命健康. 胃泌素主要是由胃肠道G细胞分泌一种激素, 与胃泌素受体结合后可刺激胃酸分泌, 促进胃肠道黏膜生长. 既往研究证实, 部分结肠肿瘤细胞株能产生胃泌素, 且大肠癌细胞表面表达有胃泌素受体, 因此推测癌细胞能通过自身分泌的胃泌素与对应受体作用, 实现相应生物学效应, 影响着肿瘤细胞增殖, 但其详细作用及机制尚未明确^[1,2]. 丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)是一组能被胃泌素等激素激活的丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶, 负责细胞表面与细胞核内部间信号传递^[3].

而P38 MAPK是一种重要细胞内信号转导分子, 与凋亡的启动、细胞周期的静止等息息相关^[4]. 本研究选取30例CC患者, 分析胃泌素在CC患者中的表达, 并探讨其受体拮抗剂对人结肠癌细胞株的抑制作用及对P38信号转导通路的影响, 报道如下.

1 材料和方法

1.1材料 胃泌素受体/胆囊收缩素-B受体(cholecystokinin-B receptor, CCK-BR)mRNA扩增引物(上海生工生物公司); 人大肠癌细胞株SW480(中国科学院上海生命科学研究院); 荧光染料(Biosharp公司); 胎牛血清与RPMI-1640培养基(美国Hyclone公司); 逆转录试剂盒(加拿大Fermentas公司); 胰蛋白酶(碧云天公司); Trizol试剂(美国Invitrogen公司); 5-肽胃泌素(Biosharp公司); P38与磷酸化P38兔抗人多克隆抗体(美国Cell Signaling technology公司); 丙谷胺(中国药品生物检定所); β -肌动蛋白抗体(碧云天公司); 噻唑兰(MTT, Bio-sharp公司); ECL化学发光试剂(Millipore公司); 细胞周期染色试剂盒(凯基公司); 兔抗人多克隆抗体(Biosharp公司); 羊抗小鼠多克隆抗体、PVDF膜(上海户实); 离心机(湖南恒诺仪器设备有限公司); 液氮箱(上海京灿); 流式细胞仪(美国贝克曼); 酶标仪(BIOBASE-EL10A, 济南来宝医疗器械).

1.2 方法

1.2.1免疫组化检测胃泌素表达: 取2016-01/2018-10我院病理科30例CC患者结肠癌组织标本根据世界卫生组织恶性肿瘤分化程度标准分为低分化标本、中分化标本、高分化标本, 同时选取癌旁肠黏膜组织标本, 切片常规脱蜡、复水, 缓冲液清洗2次, 滴甲醇配制0.3%过氧化氢阻断液, 10 min后缓冲液清洗, 滴加一抗工作液(稀释度1:200)37 °C孵育1-2 h, 缓冲液清洗, 滴加抗体增强剂, 室温放置20 min, 缓冲液清洗, 滴加二抗, 室温放置30 min, 缓冲液清洗, 滴加1-2滴DAB Plus Chromogen, 自来水冲洗, 复染, 脱水, 透明, 封片, 观察不同分化程度患者结肠癌组织中胃泌素表达.

1.2.2 SW480结肠癌细胞株培养: (1)细胞复苏: 培养基、PBS于37 °C恒温水浴预热备用, 取出SW480细胞冷冻管, 立即放入37 °C水槽中快速解冻, 离心, 弃上清, 加入培养基, 吹打, 移入培养瓶中, 加入适量培养基, 放入CO₂培养箱中培养, 瓶壁长满>80%时, 进行细胞传代; (2)细胞传代: 弃去长满细胞培养瓶中原培养液, 加入0.5 ml胰蛋白酶, 瓶口塞好橡皮塞, 放在倒置镜下观察细胞, 贴壁细胞逐渐趋于圆形, 于未漂起时弃去胰蛋白酶, 加入10 ml培养液终止消化, 用吸管将贴壁的细胞吹打成悬液, 分装后继续培养; (3)细胞冻存: 工作台与细胞室以紫外线进行15 min照射, 预热小牛血清、胰蛋白酶、培养液等备

用, 收集处于对数生长期细胞(冻存前日最好进行换液), 用吸管吸出培养瓶中细胞培养液, PBS洗2遍, 吸出冲洗液, 加入胰蛋白酶消化处理, 弃去消化液, 加入少量新培养液, 吸管吸取培养液对瓶壁上细胞进行拍打, 至细胞悬液后, 加入培养液至冻存管中, 1000 r/min离心10 min, 去上清, 加入冻存液, 吹打成均匀状态, 放置冻存管至4 °C 10 min、-20 °C 30 min、-80 °C 16-18 h、液氮槽长期保存。

1.2.3 分组: 将细胞分为对照组(不进行任何药物处理)、胃泌素组(分别加入6.25、12.50、25.00、50.00、100.00、200.00 mg/L胃泌素进行处理)、丙谷胺组(分别加入8.00、16.00、32.00、64.00、128.00、256.00 mg/L丙谷胺进行处理)、胃泌素联合丙谷胺组(加入12.5 mg/L胃泌素与8.00、16.00、32.00、64.00、128.00、256.00 mg/L丙谷胺进行处理)。

1.2.4 检测CCK-BR表达: Trizol试剂提取总RNA, 加入逆转录试剂盒合成cDNA, 以cDNA为模板进行PCR反应, 条件为: 共39个循环, 预变性95 °C 30 s, 之后每一步变性95 °C 15 s, 退火延伸53.9 °C 30 s, 制作溶液曲线, 95 °C变性30 s, 冷却至65 °C, 从65 °C 10 s开始, 每步增加0.5 °C, 至95 °C 10 s, β -肌动蛋白引物序列上下游分别为5'-TGACGTGGACATCGCAAG-3、5'-CTGGAAGGTGGACAGCGAGG-3, CCK-BR引物序列上下游分别为5'-TCTCGCGAGCTCTACTTAGGG-3、5'-AC-CGACGATGCACGTTGAAG-3, 扩增产物为203 bp、185 bp。

1.2.5 检测结肠癌细胞株SW480活力: 取对数生长期SW480细胞, 加入胰蛋白酶消化处理成单细胞悬液, 应用含胎牛血清10%培养液调整细胞为 5×10^4 个/ml浓度, 以每孔200 μ l接种于96孔培养板, 24 h细胞贴壁后, 去培养液, PBS洗2遍, 加入无血清培养液继续培养, 24 h后再以每孔200 μ l 10%胎牛血清加入。各组按照预设方法方法与浓度进行对应处理, 分别设6个复孔, 培养48 h, 每孔加入10 μ l浓度为5 mg/ml MTT, 放入孵育箱孵育(4 h, 37 °C), 去培养液, 各孔加入DMSO 150 μ l, 震荡处理后应用酶标仪检测光吸收值(OD), 以492 nm下OD表示SW480活力。

1.2.6 细胞增殖检测: 采用与1.5相同方法调整细胞浓度为 1.7×10^5 个/ml, 以每孔2 ml接种于6孔培养板, 培养24 h, 更换无血清培养液继续培养, 24 h后去上清液, 以每孔2 ml加入含有处理因素1%胎牛血清, 胃泌素组(12.50 mg/L)、丙谷胺组(16.00 mg/L)、胃泌素联合丙谷胺组(12.5 mg/L胃泌素与16.00 mg/L丙谷胺)均设复孔5个, 进行48 h培养, 消化离心后去上清, 加入1 ml冷PBS震荡, 离心, 去上清, 滴入70% 1 ml冷乙醇进行固定, 过夜(4 °C), 实施DNA、蛋白质染色, 流式细胞仪检测细胞增殖情况。

1.2.7 P38信号转导通路检测: 细胞总蛋白样品实施电

泳处理后, 转移至PVDF膜上, 封闭120 min, TBST漂洗2次, 应用5%胎牛血清稀释至1:2000, 加入一抗, 4 °C过夜, TBST漂洗3次, 加入二抗(辣根过氧化物酶标记过), 孵育120 min, TBST漂洗3次, 应用ECL显影, 放于全自动发光图像系统内成像, 分析平均光密度, 最终结果根据目标基因/ β -肌动蛋白确定。

1.2.8 观察指标: (1)观察结肠癌组织中胃泌素表达; (2)统计SW480中CCK-BR表达情况; (3)比较各组结肠癌细胞株SW480活力; (4)比较各组细胞增殖指数; (5)比较各组P38信号转导通路表达情况: P38蛋白、磷酸化-P38蛋白、B淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)、细胞凋亡促进基因(BAX)。

统计学处理 采用SPSS 22.0统计学软件处理数据, 计量资料以(mean \pm SD)表示, 多组间比较以单因素方差进行分析, 两两比较以LSD-*t*检验。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 结肠癌组织中胃泌素表达情况 胃泌素阳性反应着色于细胞质, 细胞核未见染色, 分化程度越高, 胃泌素表达阳性率越高, 而在癌旁肠黏膜组织中几乎不表达(图1-4)。

2.2 CCK-BR表达情况 SW480中CCK-BR PCR扩增产物为185 bp, 表达量为(1.57 \pm 0.15)。

2.3 结肠癌细胞株SW480活力 胃泌素组、胃泌素联合丙谷胺组不同浓度范围内SW480 OD值比较差异具有统计学意义(P<0.05); 胃泌素组6.25-200.00 mg/L范围内SW480 OD值均高于对照组(P<0.05); 胃泌素组12.50 mg/L时SW480 OD值最高(P<0.05); 胃泌素组25.00-200.00 mg/L范围内SW480 OD值比较差异无统计学意义(P>0.05); 丙谷胺组8.00-256.00 mg/L范围内SW480 OD值比较差异无统计学意义(P>0.05); 胃泌素联合丙谷胺组在12.50 mg/L胃泌素联合16.00 mg/L丙谷胺时, SW480 OD值最低, 低于对照组(P<0.05), 之后随着丙谷胺浓度增加, SW480 OD值比较差异无统计学意义(P>0.05)。(表1、图5)。

2.4 细胞增殖情况 各组细胞增殖指数比较差异具有统计学意义(P<0.05); 丙谷胺组(16.00 mg/L)细胞增殖指数与对照组相比差异无统计学意义(P>0.05); 胃泌素组(12.50 mg/L)细胞增殖指数高于丙谷胺组(16.00 mg/L)、胃泌素联合丙谷胺组(12.5 mg/L+16.00 mg/L)(P<0.05)。(表2)。

2.5 P38信号转导通路 各组P38蛋白、磷酸化-P38蛋白、Bcl-2蛋白、BAX蛋白表达比较差异具有统计学意义(P<0.05); 胃泌素组(12.50 mg/L)P38蛋白、磷酸化-P38蛋白、BAX蛋白低于对照组、丙谷胺组(16.00 mg/L)、胃泌素联合丙谷胺组(12.5 mg/L+16.00 mg/L), Bcl-2蛋白表达高于对照组、丙谷胺组(16.00 mg/L)、胃泌素组联

表 1 比较各组结肠癌细胞株SW480活力(mean ± SD)

组别	浓度	样本	OD值	组别	浓度	样本	OD值	组别	浓度	样本	OD值
对照组		8	0.48 ± 0.03					胃泌素组			
胃泌素组	6.25	8	0.49 ± 0.04	丙谷胺组	8.00	8	0.47 ± 0.04	(12.5 mg/L)联合丙谷胺组	8.00	8	0.51 ± 0.03
	12.50	8	0.57 ± 0.02		16.00	8	0.47 ± 0.03		16.00	8	0.42 ± 0.02
	25.00	8	0.52 ± 0.03		32.00	8	0.48 ± 0.04		32.00	8	0.55 ± 0.03
	50.00	8	0.51 ± 0.02		64.00	8	0.48 ± 0.03		64.00	8	0.54 ± 0.05
	100.00	8	0.51 ± 0.03		128.00	8	0.47 ± 0.04		128.00	8	0.54 ± 0.06
	200.00	8	0.51 ± 0.04		256.00	8	0.47 ± 0.03		256.00	8	0.54 ± 0.06
	<i>F</i>		6.886				0.191				9.688
	<i>P</i> 值		0.000				0.978				0.000

表 2 比较各组细胞增殖指数(mean ± SD, %)

组别	样本	细胞增殖指数
对照组	8	29.16 ± 1.74
胃泌素组 (12.50 mg/L)	8	33.91 ± 1.55
丙谷胺组 (16.00 mg/L)	8	28.01 ± 2.16
胃泌素组联合丙谷胺组 (12.5 mg/L+16.00 mg/L)	8	28.29 ± 1.97
<i>F</i> 值		17.384
<i>P</i> 值		0.000

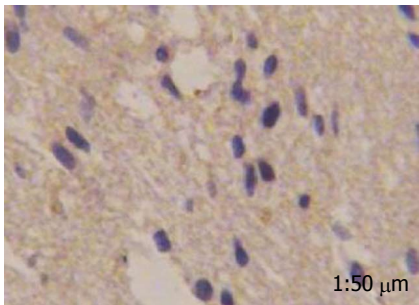


图 1 正常癌旁肠黏膜组织中胃泌素表达情况.

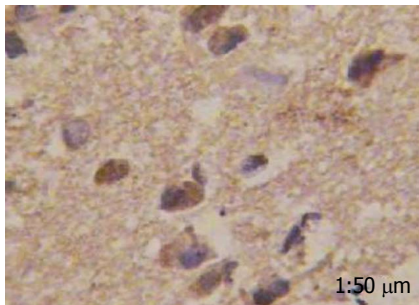


图 3 中分化程度结肠癌组织中胃泌素表达情况.

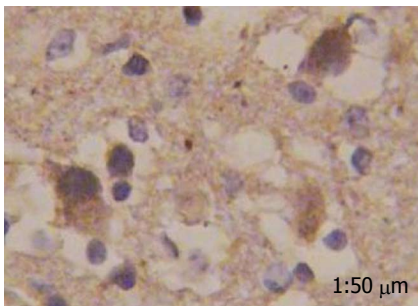


图 2 低分化程度结肠癌组织中胃泌素表达情况.

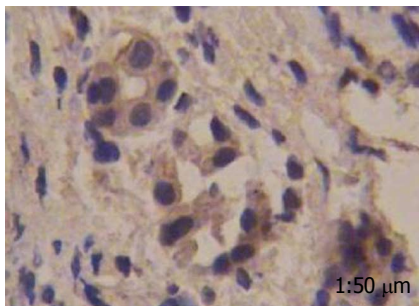


图 4 高分化程度结肠癌组织中胃泌素表达情况.

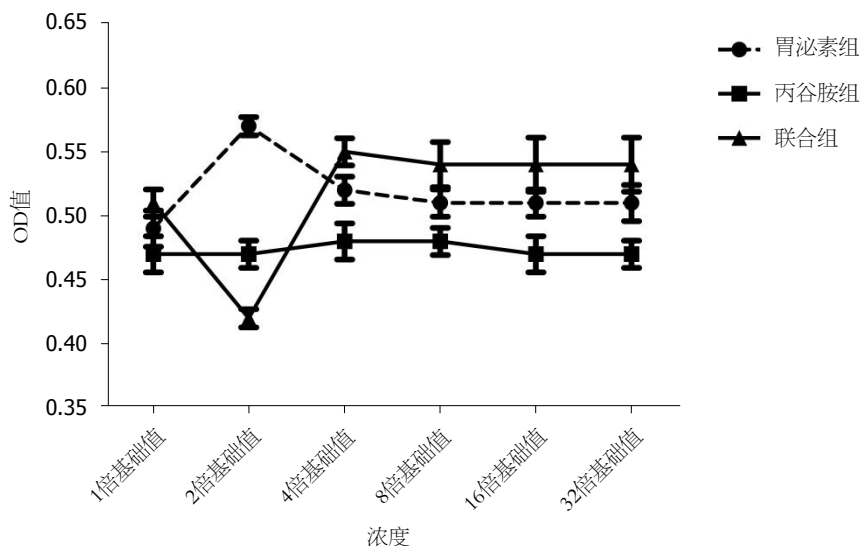


图 5 各组结肠癌细胞株SW480活力. 胃泌素组、丙谷胺组、联合组浓度基础值分别为6.25、8.00、8.00.

合丙谷胺组(12.5 mg/L+16.00 mg/L)($P<0.05$). (表3).

3 讨论

胃泌素广泛存在于胰腺组织、胃肠道内, 是一种单拷贝基因, 由G细胞转录后, 在粗面内质网中翻译生成前胃泌素原, 并经蛋白酶切割与氨基酸衍生化作用完成翻译加工, 形成胃泌素^[5]. 动物学实验表明, 胃泌素可通过与自身受体结合促进正常胃肠道黏膜生长^[6]. 国外学者研究证实, 胃泌素在CC患者血清中呈高表达状态^[7,8]. 近年来人们发现胃泌素除了这种经典远距分泌外, 还拥有其他分泌途径^[9-11]. 如Rai等^[12]研究指出, 胃癌患者肿瘤组织细胞膜表面存在胃泌素受体, 并推测这可能参与了恶性肿瘤细胞生长的调控. 本研究应用PCR检测CC癌细胞组织CCK-BR表达, 发现结肠癌细胞株SW480中存在CCK-BR, 提示胃泌素能通过旁分泌途径发挥生物学效应, 即胃泌素不仅能作用于自身细胞上该因子受体, 参与恶性肿瘤发生, 同时癌细胞产生胃泌素亦能与其表达胃泌素受体结合, 调控恶性肿瘤增殖过程. 同时本研究通过免疫组化染色发现, 分化程度越高, CC组织中胃泌素表达阳性率越高, 提示CC对胃泌素存在依赖性.

体外研究证实, 胃泌素异常表达造成的细胞生长失控可被胃泌素受体拮抗剂抑制^[13,14]. 丙谷胺系抗酸药及治疗消化性溃疡药物, 具有抗胃泌素作用^[15,16]. 本研究结果显示, 胃泌素组6.25-200.00 mg/L范围内SW480 OD值均高于对照组($P<0.05$), 提示胃泌素可促进CC细胞株SW480的表达, 抑制细胞凋亡. 且胃泌素组12.50 mg/L时SW480 OD值最高($P<0.05$), 而25.00-200.00 mg/L范围内SW480 OD值比较差异无统计学意义($P>0.05$), 说明胃泌素12.50 mg/L时促增生能力最强, 继续增加胃泌素剂量

抑制凋亡作用不再持续增强. 分析原因发现, 正常情况下机体胃泌素与其受体处于动态平衡中, 发生病变时这种平衡被打破, 持续高表达胃泌素不断与受体结合, 使受体减少, 当胃泌素到达一定浓度, 由于受体数量限制, 其促进恶性肿瘤细胞增殖作用亦趋于平衡^[17-19]. 同时本研究还发现, 丙谷胺组8.00-256.00 mg/L范围内SW480 OD值比较差异无统计学意义($P>0.05$), 而12.50 mg/L胃泌素联合16.00 mg/L丙谷胺SW480 OD值最低, 低于对照组($P<0.05$), 之后随着丙谷胺浓度增加, SW480 OD值比较差异无统计学意义($P>0.05$), 提示丙谷胺在16.00 mg/L时可拮抗胃泌素促增殖效应, 继续增加浓度, 受其受体饱和影响, 不会增加拮抗效应, 这可为临床治疗CC提供思路与参考.

此外胃泌素组(12.50 mg/L)细胞增殖指数高于丙谷胺组(16.00 mg/L)、胃泌素组联合丙谷胺组(12.5 mg/L+16.00 mg/L)($P<0.05$), 直接佐证了胃泌素能促进CC细胞增殖, 但其作用机制目前尚未明确. P38信号通路是MAPK四个亚家族之一, 信号传导过程精确、复杂, 不同刺激因素可传递不同信息, 其中BAX是BCL-2基因家族中细胞凋亡促进基因, 其高表达可拮抗BCL-2促使细胞发生凋亡^[20-23]. 邹存华等^[24]报道发现, P38可通过上调uPA表达促进卵巢癌细胞侵袭、转移. 隋欣等^[25]研究指出, P38阳性高表达是胃癌预后生存期有利因素. 可见在不同疾病中P38信号通路具有不同生物学效应, 因此有必要探究其在CC中作用. 本研究结果显示, 胃泌素组P38蛋白、磷酸化-P38蛋白、BAX蛋白低于对照组、丙谷胺组、胃泌素组联合丙谷胺组, Bcl-2蛋白表达高于对照组、丙谷胺组、胃泌素组联合丙谷胺组($P<0.05$), 提示胃泌素能下调P38、磷酸化-P38、BAX表达及上调

表 3 比较各组P38信号转导通路表达情况(mean ± SD)

组别	样本	P38蛋白	磷酸化-P38蛋白	Bcl-2蛋白	BAX蛋白
对照组	8	0.59 ± 0.02	0.64 ± 0.09	0.19 ± 0.03	0.47 ± 0.04
胃泌素组 (12.50 mg/L)	8	0.48 ± 0.03	0.36 ± 0.05	0.31 ± 0.04	0.32 ± 0.03
丙谷胺组 (16.00 mg/L)	8	0.59 ± 0.03	0.62 ± 0.03	0.22 ± 0.03	0.48 ± 0.04
胃泌素组联合丙谷胺组 (12.5 mg/L+16.00 mg/L)	8	0.60 ± 0.02	0.61 ± 0.04	0.21 ± 0.02	0.49 ± 0.05
F值		39.795	42.728	23.790	31.354
P值		0.000	0.000	0.000	0.000

Bcl-2表达, 这可能是其促进CC增殖机制. 值得注意的是, 目前已明确人结肠癌细胞株有HCT116、HT-29等多种, 本研究仅对SW480进行探索, P38信号通路在其他类型是否具有相似影响有待后续基础实验及临床实验验证.

综上所述, 胃泌素可抑制人结肠癌细胞株SW480的凋亡, 且在结肠癌组织中的表达与肿瘤分化程度有关, 分化程度越高, 其表达量越高, 胃泌素受体拮抗剂在一定浓度范围内可拮抗胃泌素促增殖效应, 其机制与上调P38、磷酸化-P38、BAX表达及下调Bcl-2表达有关.

文章亮点

实验背景

结肠癌为临床多见恶性肿瘤, 由于患者前期缺少特异性症状, 造成多数患者在就诊时已失去最佳手术时机, 对患者身心健康造成了严重影响.

实验动机

胃泌素和其受体能够刺激分泌胃酸, 加速胃肠道内黏膜的生长, 相关研究显示, 胃泌素对肿瘤细胞增殖可能有促进作用.

实验目标

探究结肠癌患者癌组织中胃泌素的表达情况, 分析胃泌素拮抗剂对人结肠癌细胞株抑制影响和相关的可能机制.

实验方法

免疫组化检测临床结肠癌患者癌组织标本内胃泌素阳性表达, 检测丙谷胺组对人大肠癌SW480细胞活力、增殖和P38信号转导通路影响.

实验结果

结肠癌患者癌组织分化程度越高则胃泌素的阳性率也越高, 丙谷胺可有效抑制SW480细胞增殖.

实验结论

胃泌素拮抗剂可抑制SW480细胞的增殖, 其作用机制可能和下调Bcl-2表达及上调P38、磷酸化-P38、BAX表达有联系.

展望前景

今后还需进一步分析其他肠癌细胞如CaCo2、HT29、HCT116等的胃泌素表达水平, 为阐释胃泌素对结肠癌患者癌细胞的影响提供更有有力佐证.

4 参考文献

- 1 郭家定, 胡迪, 吴佩. 胃泌素调控ERK信号通路在促进大肠癌CACO2细胞增殖中的作用. 中国临床药理学与治疗学 2017; 22: 401-405
- 2 姜云璐, 王正文, 程葆华, 白波, 陈京. 食欲素1受体与胆囊收缩素2受体在细胞内的相互作用分析. 中国生物化学与分子生物学报 2017; 33: 789-798 [DOI: 10.13865/j.cnki.cjbm.2017.08.07]
- 3 Chen S, Wang Y, Zhang JH, Xia QJ, Sun Q, Li ZK, Zhang JG, Tang MS, Dong MS. Long non-coding RNA PTENP1 inhibits proliferation and migration of breast cancer cells via AKT and MAPK signaling pathways. *Oncol Lett* 2017; 14: 4659-4662 [PMID: 29085464 DOI: 10.3892/ol.2017.6823]
- 4 汪斌. 胃泌素在结肠癌组织中的表达和意义. 安徽医学 2014; 7: 869-871 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-0399.2014.07.002]
- 5 Rao SV, Solum G, Niederdorfer B, Nørsett KG, Bjørkøy G, Thommesen L. Gastrin activates autophagy and increases migration and survival of gastric adenocarcinoma cells. *BMC Cancer* 2017; 17: 68 [PMID: 28109268 DOI: 10.1186/s12885-017-3055-5]
- 6 杨莹莹, 吴会超, 穆媛媛, 苏薇. 胃泌素及其受体拮抗剂对人胃癌细胞株MKN45增殖及TFF1、TFF3表达的影响. 肿瘤防治研究 2014; 41: 545-548 [DOI: 10.3971/j.issn.1000-8578.2014.06.008]
- 7 Marshall KM, Laval M, Estacio O, Hudson DF, Kalitsis P, Shulkes A, Baldwin GS, Patel O. Activation by zinc of the human gastrin gene promoter in colon cancer cells in vitro and in vivo. *Metalomics* 2015; 7: 1390-1398 [PMID: 26404630 DOI: 10.1039/c5mt00147a]
- 8 Jin G, Sakitani K, Wang H, Jin Y, Dubeykovskiy A, Worthley DL, Tailor Y, Wang TC. The G-protein coupled receptor 56, expressed in colonic stem and cancer cells, binds progastrin to promote proliferation and carcinogenesis. *Oncotarget* 2017; 8: 40606-40619 [PMID: 28380450 DOI: 10.18632/oncotarget.16506]
- 9 罗振国, 朱国琴, 许海尘, 徐伟. 胃泌素通过JAK2/STAT3信号通路调控胃癌细胞上皮间质转化. 南京医科大学学报 2017; 37: 1557-1561 [DOI: 10.7655/NYDXBNS20171204]

- 10 Giraud J, Failla LM, Pascucci JM, Lagerqvist EL, Ollier J, Finetti P, Bertucci F, Ya C, Gasmi I, Bourgaux JF, Prudhomme M, Mazard T, Ait-Arsa I, Houhou L, Birnbaum D, Pélegrin A, Vincent C, Ryall JG, Joubert D, Pannequin J, Hollande F. Autocrine Secretion of Progastrin Promotes the Survival and Self-Renewal of Colon Cancer Stem-like Cells. *Cancer Res* 2016; 76: 3618-3628 [PMID: 27197176 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-15-1497]
- 11 武平, 茆家定. JNK信号通路在胃泌素促进大肠癌细胞增殖中的作用. *胃肠病学和肝病学杂志* 2016; 25: 126-129
- 12 Rai R, Kim JJ, Tewari M, Shukla HS. Heterogeneous expression of cholecystokinin and gastrin receptor in stomach and pancreatic cancer: An immunohistochemical study. *J Cancer Res Ther* 2016; 12: 411-416 [PMID: 27072272 DOI: 10.4103/0973-1482.168970]
- 13 苗欣, 赵家义, 范银星, 李佳浓, 韩一平. 循环肿瘤细胞联合血清胃泌素释放前肽及神经元特异性烯醇化酶水平对SCLC化疗疗效的评估意义. *中国肿瘤生物治疗杂志* 2017; 24: 362-366 [DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2017.04.005]
- 14 汪闯, 周建浆, 谢渊, 赵艳. 胃泌素/CCK-B受体环对多种肿瘤细胞生长和凋亡的影响. *广东医学* 2016; 37: 332-335
- 15 方兴国, 赵逵, 朱蓉, 付晓霏, 王红. 胃泌素受体拮抗剂丙谷胺和选择性COX2抑制剂塞来昔布对人胃癌细胞株BGC-823增殖和PGE2分泌的影响. *世界华人消化杂志* 2015; 23: 719-727
- 16 袁航. 阻断胃泌素受体对胃癌细胞增殖和凋亡及其信号通路的影响. *重庆医学* 2017; 46: 2017-2020 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-8348.2017.15.001]
- 17 Boyce M, van den Berg F, Mitchell T, Darwin K, Warrington S. Randomised trial of the effect of a gastrin/CCK₂ receptor antagonist on esomeprazole-induced hypergastrinaemia: evidence against rebound hyperacidity. *Eur J Clin Pharmacol* 2017; 73: 129-139 [PMID: 27796466 DOI: 10.1007/s00228-016-2150-x]
- 18 Varasteh Z, Mitran B, Rosenström U, Velikyan I, Rosestedt M, Lindeberg G, Sörensen J, Larhed M, Tolmachev V, Orlova A. The effect of macrocyclic chelators on the targeting properties of the 68Ga-labeled gastrin releasing peptide receptor antagonist PEG2-RM26. *Nucl Med Biol* 2015; 42: 446-454 [PMID: 25684649 DOI: 10.1016/j.nucmedbio.2014.12.009]
- 19 杨光, 茆家定. 胃泌素与微小RNA在促大肠癌细胞增殖中的关系. *国际肿瘤学杂志* 2014; 41: 775-778 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-422X.2014.10.017]
- 20 Sui Y, Zheng X, Zhao D. Rab31 promoted hepatocellular carcinoma (HCC) progression via inhibition of cell apoptosis induced by PI3K/AKT/Bcl-2/BAX pathway. *Tumour Biol* 2015; 36: 8661-8670 [PMID: 26044564 DOI: 10.1007/s13277-015-3626-5]
- 21 Fan Y, Yang F, Cao X, Chen C, Zhang X, Zhang X, Lin W, Wang X, Liang C. Gab1 regulates SDF-1-induced progression via inhibition of apoptosis pathway induced by PI3K/AKT/Bcl-2/BAX pathway in human chondrosarcoma. *Tumour Biol* 2016; 37: 1141-1149 [PMID: 26276357 DOI: 10.1007/s13277-015-3815-2]
- 22 Wang Q, Zhang L, Yuan X, Ou Y, Zhu X, Cheng Z, Zhang P, Wu X, Meng Y, Zhang L. The Relationship between the Bcl-2/Bax Proteins and the Mitochondria-Mediated Apoptosis Pathway in the Differentiation of Adipose-Derived Stromal Cells into Neurons. *PLoS One* 2016; 11: e0163327 [PMID: 27706181 DOI: 10.1371/journal.pone.0163327]
- 23 Song S, Jacobson KN, McDermott KM, Reddy SP, Cress AE, Tang H, Dudek SM, Black SM, Garcia JG, Makino A, Yuan JX. ATP promotes cell survival via regulation of cytosolic [Ca²⁺] and Bcl-2/Bax ratio in lung cancer cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2016; 310: C99-114 [PMID: 26491047 DOI: 10.1152/ajpcell.00092.2015]
- 24 邹存华, 王宏, 宋冬冬. P38MAPK信号通路与uPA在卵巢癌细胞及组织中表达的相关性. *中国癌症杂志* 2015; 25: 572-578
- 25 隋欣, 孙纲, 关宏伟, 韩大跃. 人胃腺癌p38MAPK信号通路表达规律与多药耐药相关因子、病理情况及化疗后预后的相关性研究. *现代医学* 2017; 45: 256-259

编辑: 马亚娟 电编: 刘继红



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2019 Baishideng Publishing Group Inc.
All rights reserved.

• 消息 •

《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (《世界华人消化杂志》编辑部)

miR-155在炎症性肠病中的免疫作用机制研究进展

朱凤, 范恒, 刘星星

朱凤, 范恒, 刘星星, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科 湖北省武汉市 430022

朱凤, 研究方向为中西医结合消化系统疾病.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目, No. 81573784.

作者贡献分布: 本文思路由范恒指导; 朱凤与刘星星查找相关文献; 本文写作由朱凤完成.

通讯作者: 范恒, 教授, 430022, 湖北省武汉市江岸区解放大道1277号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科. fanheng009@aliyun.com

收稿日期: 2019-06-13

修回日期: 2019-08-08

接受日期: 2019-09-02

在线出版日期: 2019-09-08

Role of miR-155 in pathogenesis of inflammatory bowel disease

Feng Zhu, Heng Fan, Xing-Xing Liu

Feng Zhu, Heng Fan, Xing-Xing Liu, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81573784

Corresponding author: Fan Heng, Professor, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, No. 1277, Jiang'an District, Wuhan 430022, Hubei Province, China. fanheng009@aliyun.com

Received: 2019-06-13

Revised: 2019-08-08

Accepted: 2019-09-02

Published online: 2019-09-08

Abstract

Inflammatory bowel disease (IBD) is a non-infectious, non-

specific intestinal inflammatory disease, and its incidence is increasing year by year. A better understanding of the pathogenesis of IBD can help to find more suitable treatment methods for this disease. Recently, a large number of studies have shown that miR-155 plays an important role in the pathogenesis of IBD. It can regulate TH17 differentiation through the Jarid2/notch1 signaling pathway and by regulating type 2 macrophage differentiation. It also regulates T-regulatory cells by inhibiting cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4; intestinal myelofibrosis through suppressor of cytokine signaling 1; and DNA double-strand break deposition to affect intestinal inflammation. This article reviews the immune mechanism of action of miR-155 in IBD.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Inflammatory bowel disease; Ulcerative colitis; Crohn's disease; miR-155; Jarid2

Zhu F, Fan H, Liu XX. Role of miR-155 in pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(17): 1070-1075
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1070.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i17.1070>

摘要

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种原因未明的肠道非特异性炎症性疾病, 其发病率逐年升高, 对IBD的发病机制研究有待进一步深入, 找到合适的治疗方法亟待解决. 近期研究表明miR-155在IBD中的作用不可小觑, 可通过Jarid2/notch1信号通路及促进2型巨噬细胞分化来调节TH17分化, 并通过抑制细胞毒T淋巴细胞相关抗原4调节Treg、通过细胞信号传导的抑制因子1调节肠成纤维细胞和肌成纤维细胞以及通过调节DNA双链断裂沉积来影响肠道炎症, 本文就miR-155在IBD中的免疫作用机制作一综述.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 炎症性肠病; 溃疡性结肠炎; 克罗恩病; miR-155; Jarid2

核心提要: miR-155通过Jarid2/notch1信号通路及促进2型巨噬细胞分化来调节Th17分化, 并通过抑制细胞毒T淋巴细胞相关抗原4调节Treg、通过细胞信号传导的抑制因子1调节肠成纤维细胞和肌成纤维细胞以及通过调节DNA双链断裂沉积来影响炎症性肠病发生发展。

朱凤, 范恒, 刘星星. miR-155在炎症性肠病中的免疫作用机制研究进展. 世界华人消化杂志 2019; 27(17): 1070-1075

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1070.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i17.1070>

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)为累及回肠、结肠、直肠的一种特发性肠道炎症性疾病, 主要包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(crohn's disease, CD), 其病因及发病机制尚未完全明确, 目前普遍认为IBD的发病机制是由遗传、环境因素和肠道菌群共同作用, 激活遗传易感个体肠道黏膜的免疫应答, 引发一系列的炎症反应. 除了明显的遗传危险因素, 全基因组关联研究已经确定了许多常见的基因调控靶点, 尽管在此方面研究激烈, 炎症基因表达的调控仍然没有完全清楚, 而了解这些基因是怎样监管、调控IBD的发生发展具有重要意义.

microRNA是广泛存在于真核生物中的非编码小RNA, 长度为19-24nt, 它能在转录后水平抑制靶基因的表达或翻译. 近年来研究显示, miR-155是一个典型的多功能基因, 由其下游基因介导, 参与多种生理病理过程, 如炎症、免疫和肿瘤的发生发展. 本文就miR-155对IBD的免疫调节作用的研究进展作一综述.

1 IBD

IBD是一种慢性非特异性肠道炎症性疾病, 包括UC和CD, 其临床表现以腹痛、腹泻及黏液脓血便为主, 症状易反复发作, 难以治愈^[1]. 该病多发于青少年, 在欧美国家发病率较高. 但随着中国经济社会的发展及人民生活方式的改变, 我国发病率较前明显增加^[2]. IBD的病因尚不明确, 多数学者认为, IBD是由多因素综合作用导致. 因此, 找到治疗IBD的有效的治疗方法亟待解决. 目前, IBD的医疗管理的主要依据是5-氨基水杨酸制剂, 皮质类固醇, 硫嘌呤, 甲氨蝶呤, 抗肿瘤坏死因子, 抗α4β7整联蛋白和抗白细胞介素(interleukin, IL)-12/IL-23

疗法. 发现涉及IBD发病机制的新途径导致新药靶向Janus激酶/信号转导物和转录激活因子, IL-6, 鞘氨醇-1-磷酸和磷酸二酯酶4等. 这些新疗法可能会带来更有利的安全性^[3]. 近来许多研究表明miR-155在IBD的发病机制中占重要地位, 而了解发病机制可以更好地选择治疗靶点.

2 miR-155的生物学作用

miR-155是一个典型的多功能miRNA, 越来越多的实验研究表明miR-155参与了炎症、免疫、肿瘤及血细胞生成等多种生物学过程. miR-155位于人类21号染色体的非编码转录本B细胞整合簇基因(B-cell integration cluster, BIC)第三个外显子内^[4], 其表达水平受BIC的转录水平和miRNA加工等调控. BIC是一个不含开放读码框的基因, 过表达BIC可促进细胞异常增殖. Leng等^[5]证实miR-155被编码在BIC, miR155HG的区域内, 该区域最初被鉴定为禽白血病病毒的常见整合位点. miR-155参与多种炎症病变过程. Lu等^[6]研究发现miR-155在脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激的单核细胞中上调. Hu等^[7]发现miR-155抑制剂可降低LPS诱导的巨噬细胞炎症和NF-κB通路活化, 但可增加细胞信号传导的抑制因子1(suppressor of cytokine signaling1, SOCS1)的表达, 并得出miR-155抑制剂可通过SOCS1/NF-κB通路减少巨噬细胞炎症, 减轻心肌梗死后内质网应激诱导的心肌细胞凋亡. Li^[8]等研究表明miR-155-5p通过调节肿瘤蛋白p53诱导核蛋白1的表达来调节宫颈癌细胞的发育. 目前已有大量的实验证据表明miRNAs也可以由病毒基因组编码. 到目前为止, 已知的病毒miRNAs来源于双链DNA病毒—疱疹病毒属, 多瘤病毒属以及腺病毒属. 病毒miRNAs可以干扰受感染细胞的mRNAs, 从而调节基因表达. Wood等^[9]发现Epstein-Barr(EB)病毒携带的两个基因(潜伏膜蛋白1和EB病毒核心抗原2)上调miR-155表达, 并且miR-155表达是EBV感染的B细胞生长所必需的. 我们显示EBV转录因子EB病毒核心抗原2通过激活miR-155宿主基因(miR-155HG)上游的增强子来上调miR-155表达, miR-155来源miR-155宿主基因. 而且研究显示EB病毒核心抗原2还通过增强子介导的干扰素调节因子4活化间接激活miR-155表达, 然后独立于EBNA2激活miR-155HG启动子和上游增强子. 综上所述, miR-155参与各种疾病的病理生理过程, 因此, 对其在IBD中的作用有待深入研究.

3 miR-155通过Jarid2/notch1信号通路调节IBD

Th17/Treg失衡在IBD结肠黏膜免疫紊乱和炎症状态中起重要作用, 找到影响Th17细胞分化的机制将帮助我们

找到治疗IBD的新靶点. Liu等^[10]研究表明, miR-155在调节免疫系统功能中具有重要作用, 在IBD结肠组织中也被检测到显著上调. Escobar等^[11]揭示miR-155的缺失导致Jarid2表达增加, 并增加核心蛋白复合体2(polycomb repressive complex 2, PRC2). PRC2招募, 减少了IL-22转录; 而在Jarid2缺陷型Th17细胞中, PRC2募集率降低. Mysliwiec等^[12]报道Jarid2占据内源性Notch1基因座的调控区域, 表明Jarid2直接控制小鼠胚胎心脏组织中的Notch1表达, 由配体激活的Notch1释放出一个细胞内片段(notch1 intracellular domain, NICD)直接结合ROR- γ t和IL-17启动子并调节Th17分化. Liu等^[10]通过使用由慢病毒载体递送的miR-155抑制序列, 其显示抑制miR-155可以改善TNBS诱导的实验性结肠炎. 进行相关检测发现在TNBS+miR-155抑制剂组中, Th17细胞在脾脏和肠系膜淋巴结中的比例和结肠组织中Th17细胞相关细胞因子IL-6, IL-17A, IL-17F和IL-21的水平显著减少, 表明抑制miR-155调节Th17细胞的功能. 通过免疫组织化和蛋白印迹法发现Jarid2显著升高, miR-155抑制和notch1表达与Jarid2呈负相关. 这项研究表明通过调节抑制miR-155可以改善TNBS诱导的结肠炎, 且Th17细胞分化和功能与Jarid2/notch1密切相关. 因此我们可以知道, miR-155可以通过Jarid2/notch1调节TH17分化, 从而影响IBD发生发展.

4 miR-155通过调节M2分化来调节IBD

IBD与肠黏膜中的先天性和适应性免疫应答的失调有关. MicroRNA(miR-155)在许多免疫细胞中表达并起作用. 除了其在适应性免疫中的功能外, miR-155是巨噬细胞、树突状细胞甚至上皮细胞中先天免疫应答的关键调节剂. 由于内在分子调节和外在环境差异, 未分化的巨噬细胞可以极化为促炎性M1巨噬细胞或抗炎M2巨噬细胞, 巨噬细胞对维持肠道稳态至关重要^[13]. 在结肠炎免疫反应的早期阶段, 血液单核细胞以细胞表面趋化因子受体2依赖性方式从中招募炎性巨噬细胞, 并在发炎的黏膜中积累和产生促炎介质^[14]. 如果炎症性巨噬细胞反应不受控制, 则随后引起适应性免疫反应和炎症性T细胞, 包括Th1细胞和Th17细胞, 被招募致病现场, 这些细胞可进一步加重结肠炎症损伤. 在一些条件下, 肠道中的巨噬细胞可能被迫通过内在因素和外因素转变为M2表型, 诱导的M2巨噬细胞在化学诱导的结肠炎中显示出巨大的治疗潜力^[15,16]. Li等^[17]发现miR-155在结肠炎中是一种强有力的调节因子去调节巨噬细胞极化(图1), 其缺乏可导致巨噬细胞M1型转变成M2型. M2在结肠中的优势可导致肠道免疫细胞增殖受抑制并抑制CD4⁺T细胞向Th1和Th17极化. 因此, miR-155可通过调

节M2极化来调节TH17分化并影响IBD的发生发展.

5 miR-155通过抑制CTLA-4来调节Treg细胞, 进一步调节肠道免疫及IBD发生发展

研究表明, miR-155的过表达增强了CD8⁺T细胞的抗原特异性免疫应答和克隆增殖, 它的缺陷导致T细胞的抗肿瘤免疫功能减弱, 并可通过细胞毒T淋巴细胞相关抗原4(cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4, CTLA-4)抗体重新储存^[18,19]. CTLA-4是免疫检查点阻滞(immune checkpoint blocker, ICB)治疗的一个重要的目标, 这表明miR-155对CTLA-4具有潜在的调节作用. 最近, 研究表明miR-155以竞争内源性RNA(ceRNA)的形式与CTLA-4 mRNA 3'UTR结合, 增强辅助性T细胞的增殖反应^[20]. CTLA-4也被认为在IBD的进展中起关键作用. 例如, SOCS1缺陷小鼠中的CTLA-4下调会诱导严重的IBD^[21], 并且CTLA-4缺乏与早发型CD之间存在相关性^[22], 此外, CTLA-4-ICB治疗可引起严重胃肠道溃疡的不良反应^[23]. CTLA-4是一种由T细胞表达的共抑制分子, 是一种重要的免疫调节因子和炎症抑制剂^[24]. Chao等^[25]通过研究表明, miR-155模拟剂和抑制剂可分别下调和上调CTLA-4蛋白和mRNA的表达. 这些结果表明miR-155可直接靶向抑制CTLA-4的表达. 滤泡调节性T细胞(follicular regulatory T cells, Tfr)通过调节滤泡辅助性T细胞(follicular helper CD4 T cells, Tfh)依赖性生发中心反应, 抑制B细胞反应并防止幽门自身免疫介导的肠损伤. Tfr细胞的缺乏可能是CTLA-4缺乏引起的IBD免疫抑制的原因. miR-155可以靶向CTLA-4在cTreg和Tfr中的表达, 直接抑制Tfr细胞的产生并促进增强生发中心B细胞活化和自身抗体过量产生. 因此可以说明, miR-155可以通过调节CTLA-4表达来调节肠道免疫功能及肠黏膜损伤, 为治疗IBD提供新的思路.

6 miR-155作用于SOCS1来调节IMF产生, 影响IBD

越来越多的证据表明间充质细胞, 如肠成纤维细胞和肌成纤维细胞(intestinal myelofibrosis, IMF), 正在积极参与肠黏膜的炎症过程^[26]. 持续炎症期间其表型和功能的稳定改变可通过促进组织破坏、支持免疫细胞的募集, 并通过产生各种细胞因子保留和活化免疫细胞等方式向慢性肠道炎症转变. IMF是感应和应对各种压力来保持肠黏膜稳态的塑料细胞^[27]. 然而, 在IBD中, IMF在持续炎症性刺激时获得活化的表型并大量增殖, 导致不必要的细胞外基质重塑, 并产生一个过量的可溶性介质, 如炎症细胞因子, TGF- β 1和Wnts配体, 其深刻影响邻近的上皮细胞、间充质和免疫细胞. Pathak等^[28]研究揭示, 分离正常对照组、UC组、CD组结肠的IMF, 发现

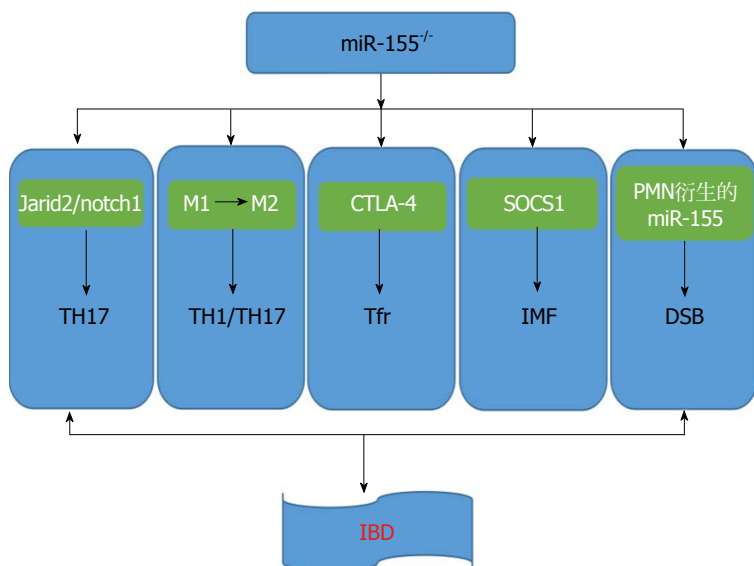


图 1 miR-155在IBD中的免疫作用机制. CTLA-4: 细胞毒T淋巴细胞相关抗原4; SOCS1: 细胞信号传导的抑制因子1; PMN: 多形核白细胞; IMF: 肠成纤维细胞和肌成纤维细胞; DSB: DNA双链断裂; IBD: 炎症性肠病.

与对照组及CD组患者相比, miR-155在UC患者的IMF中显著上调. 它在IMF中的表达受促炎调节信号的作用, 如TNF- α 和LPS, 但不是促纤维蛋白原介质, 如TGF- β 1. miR-155在对照IMF中的过表达表明了UC衍生的IMF的促炎表型, 而在UC衍生的IMF中miR-155敲低可以纠正它们的促炎表型. 而且, 进一步研究发现了miR-155直接靶向SOCS1, 其表达显著下调UC衍生的IMF. IMF是导致IBD黏膜损伤的关键细胞群, miR-155在对照IMF中增强细胞因子的异位表达和释放, 而它下调SOCS1表达, UC-IMF中的miR-155敲低减少细胞因子的产生并增强SOCS1表达, 荧光素酶基因测定报告证明miR-155直接靶向SOCS1. 而且, 沉默控制IMF中SOCS1的表达显著增加IL-6和IL-8的释放. 总之, miR-155可以通过抑制SOCS1表达, 调节IMF炎症表型, 从而影响UC发生发展.

7 PMN衍生的miR-155调节DSB积累影响肠道炎症反应, 调节IBD进程

由于炎症加剧导致的上皮损伤反应是胃肠道的常见病理特征, 包括IBD^[29,30]. 肠黏膜中的炎症反应不可避免地导致中性粒细胞的募集[多形核白细胞(polymorphonuclear leukocyte, PMN)]. 黏膜上皮细胞炎症部位的PMN的募集, 其对组织微环境和促进上皮恢复的意义重大^[31]. PMN在宿主防御中起着至关重要的作用, 失调的PMN募集可导致组织损伤. 因此, 在IBD中, 肠黏膜中的PMN的数量与疾病严重程度相关^[32]. PMN的病理学影响主要归因于释放可溶性介质, 包括基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs), 中性粒细胞弹性蛋白酶和髓过氧化物酶^[33]. 虽然氧化还原信号是

细胞更新、迁移和增殖的重要组成部分^[34], 但过量的活性氧(reactive oxygen species, ROS)可以破坏组织平衡^[35]. ROS对DNA糖磷酸盐骨的攻击可以诱导单链和/或双链断裂(DNA double-strand breaks, DSBs)的形成^[36]. DSB积累可诱导细胞凋亡或衰老, 导致基因组不稳定, 是癌症发生的标志^[37]. 高效的伤口愈合对于组织稳态修复至关重要^[38]. 最近研究表明, 免疫细胞, 特别是PMN, 有助于调节涉及上皮愈合反应的关键过程, 包括迁移和增殖^[39]. 这种调节的新机制, 即组织浸润PMN释放细胞外囊泡或微粒(PMN-MPs), 提供各种生物功能分子, 如MMPs或过氧化物酶可主动调节上皮屏障功能和伤口愈合^[40,41]. Butin-Israeli等^[42]使用IBD临床样本和在体外和体内损伤模型中, 显示PMN衍生的miR-23a和miR-155通过诱导核纤层蛋白B1依赖性复制叉崩溃和抑制同源重组(homologous recombination, HR), 针对HR调节器重组蛋白A, 促进DSB的积累. 受损上皮中的DSB积累导致结肠愈合和基因组不稳定性受损. 在培养的肠上皮细胞和急性损伤的黏膜中, 靶向抑制miR-23a和miR-155减少了PMN的有害作用并增强组织愈合反应. 所以, 抑制PMN衍生的miR-155可以减少DSB积累, 促进肠黏膜愈合, 可以作为治疗IBD的新思路.

8 结论与展望

肠黏膜屏障破坏、通透性增加、黏膜NF- κ B活化、炎症细胞因子分泌增多等均是IBD发病及反复发作、迁延不愈以致癌变的原因. 由上可知, 抑制miR-155可以促进Jarid2/notch1信号通路传导, 从而抑制TH17产生, 调节肠道免疫功能; miR-155^{-/-}可以促进M1向M2转化, 而

M2可抑制免疫细胞增殖, 减少TH1、TH17产生; 同时, miR-155还可以抑制CTLA-4及SOCS1, 调节IMF炎症表型, 从而影响IBD发生发展; PMN衍生的miR-155可以促进DSB在肠道黏膜沉积, 加重黏膜组织损伤, 从而加重IBD症状(图1)。miR-155可以通过各种机制达到影响IBD的作用, 但它们不是独立的, 而是共同发挥作用, 但目前起主要作用的机制并未研究透彻。由此, 我们可以知道miR-155是一个重要的、多效的microRNA。尽管microRNA许多的功能和表达调节机制至今没有完全清楚, 但是miR-155在许多炎症及肿瘤组织的过表达让我们意识到其在炎症和肿瘤诊断及治疗中的重要意义。Borghesi^[43]使用单链DNA探针和DNA/RNA异源双链相互作用的碲化镉量子点聚集的miRNA识别的光谱方法用于测定人乳腺癌MCF-7细胞和正常人胚肾细胞系中的miR-155。因此, miR-155在IBD的发生发展中占据重要地位, 为后期治疗IBD及相关肿瘤疾病上拓宽了视野, 也提供了新的治疗思路。

9 参考文献

- Márquez L, Shen C, Cleyne I, De Hertogh G, Van Steen K, Machiels K, Perrier C, Ballet V, Organe S, Ferrante M, Henckaerts L, Galicia G, Rutgeerts P, Ceuppens JL, Vermeire S. Effects of haptoglobin polymorphisms and deficiency on susceptibility to inflammatory bowel disease and on severity of murine colitis. *Gut* 2012; 61: 528-534 [PMID: 21708824 DOI: 10.1136/gut.2011.240978]
- Cui G, Yuan A. A Systematic Review of Epidemiology and Risk Factors Associated With Chinese Inflammatory Bowel Disease. *Front Med (Lausanne)* 2018; 5: 183 [PMID: 29971235 DOI: 10.3389/fmed.2018.00183]
- Sabino J, Verstockt B, Vermeire S, Ferrante M. New biologics and small molecules in inflammatory bowel disease: an update. *Therap Adv Gastroenterol* 2019; 12: 1756284819853208 [PMID: 31205488 DOI: 10.1177/1756284819853208]
- Weber MJ. New human and mouse microRNA genes found by homology search. *FEBS J* 2005; 272: 59-73 [PMID: 15634332 DOI: 10.1111/j.1432-1033.2004.04389.x]
- Leng RX, Pan HF, Qin WZ, Chen GM, Ye DQ. Role of microRNA-155 in autoimmunity. *Cytokine Growth Factor Rev* 2011; 22: 141-147 [PMID: 21703910 DOI: 10.1016/j.cytogfr.2011.05.002]
- Lu D, Yamawaki T, Zhou H, Chou WY, Chhoa M, Lamas E, Escobar SS, Arnett HA, Ge H, Juan T, Wang S, Li CM. Limited differential expression of miRNAs and other small RNAs in LPS-stimulated human monocytes. *PLoS One* 2019; 14: e0214296 [PMID: 30908559 DOI: 10.1371/journal.pone.0214296]
- Hu J, Huang CX, Rao PP, Cao GQ, Zhang Y, Zhou JP, Zhu LY, Liu MX, Zhang GG. MicroRNA-155 inhibition attenuates endoplasmic reticulum stress-induced cardiomyocyte apoptosis following myocardial infarction via reducing macrophage inflammation. *Eur J Pharmacol* 2019; 857: 172449 [PMID: 31207208 DOI: 10.1016/j.ejphar.2019.172449]
- Li N, Cui T, Guo W, Wang D, Mao L. MiR-155-5p accelerates the metastasis of cervical cancer cell via targeting TP53INP1. *Onco Targets Ther* 2019; 12: 3181-3196 [PMID: 31118671 DOI: 10.2147/OTT.S193097]
- Wood CD, Carvell T, Gunnell A, Ojeniyi OO, Osborne C, West MJ. Enhancer Control of MicroRNA miR-155 Expression in Epstein-Barr Virus-Infected B Cells. *J Virol* 2018; 92: e00716-18 [PMID: 30021904 DOI: 10.1128/jvi.00716-18]
- Liu Y, Dong Y, Zhu X, Fan H, Xu M, Chen Q, Nan Z, Wu H, Deng S, Liu X, Zuo D, Yang J. MiR-155 inhibition ameliorates 2, 4, 6-Trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS)-induced experimental colitis in rat via influencing the differentiation of Th17 cells by Jarid2. *Int Immunopharmacol* 2018; 64: 401-410 [PMID: 30253332 DOI: 10.1016/j.intimp.2018.09.007]
- Escobar TM, Kanellopoulou C, Kugler DG, Kilaru G, Nguyen CK, Nagarajan V, Bhairavabhotla RK, Northrup D, Zahr R, Burr P, Liu X, Zhao K, Sher A, Jankovic D, Zhu J, Muljo SA. miR-155 activates cytokine gene expression in Th17 cells by regulating the DNA-binding protein Jarid2 to relieve polycomb-mediated repression. *Immunity* 2014; 40: 865-879 [PMID: 24856900 DOI: 10.1016/j.immuni.2014.03.014]
- Mysliwiec MR, Bresnick EH, Lee Y. Endothelial Jarid2/Jumonji is required for normal cardiac development and proper Notch1 expression. *J Biol Chem* 2011; 286: 17193-17204 [PMID: 21402699 DOI: 10.1074/jbc.M110.205146]
- Shouval DS, Biswas A, Goettel JA, McCann K, Conaway E, Redhu NS, Mascanfroni ID, Al Adham Z, Lavoie S, Ibourk M, Nguyen DD, Samsom JN, Escher JC, Somech R, Weiss B, Beier R, Conklin LS, Ebens CL, Santos FG, Ferreira AR, Sherlock M, Bhan AK, Müller W, Mora JR, Quintana FJ, Klein C, Muise AM, Horwitz BH, Snapper SB. Interleukin-10 receptor signaling in innate immune cells regulates mucosal immune tolerance and anti-inflammatory macrophage function. *Immunity* 2014; 40: 706-719 [PMID: 24792912 DOI: 10.1016/j.immuni.2014.03.011]
- Zigmond E, Varol C, Farache J, Elmaliah E, Satpathy AT, Friedlander G, Mack M, Shpigel N, Boneca IG, Murphy KM, Shakhar G, Halpern Z, Jung S. Ly6C hi monocytes in the inflamed colon give rise to proinflammatory effector cells and migratory antigen-presenting cells. *Immunity* 2012; 37: 1076-1090 [PMID: 23219392 DOI: 10.1016/j.immuni.2012.08.026]
- Hunter MM, Wang A, Parhar KS, Johnston MJ, Van Rooijen N, Beck PL, McKay DM. In vitro-derived alternatively activated macrophages reduce colonic inflammation in mice. *Gastroenterology* 2010; 138: 1395-1405 [PMID: 20044996 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.12.041]
- Weisser SB, Kozicky LK, Brugger HK, Ngoh EN, Cheung B, Jen R, Menzies SC, Samarakoon A, Murray PJ, Lim CJ, Johnson P, Boucher JL, van Rooijen N, Sly LM. Arginase activity in alternatively activated macrophages protects PI3Kp110δ deficient mice from dextran sodium sulfate induced intestinal inflammation. *Eur J Immunol* 2014; 44: 3353-3367 [PMID: 25124254 DOI: 10.1002/eji.201343981]
- Li J, Zhang J, Guo H, Yang S, Fan W, Ye N, Tian Z, Yu T, Ai G, Shen Z, He H, Yan P, Lin H, Luo X, Li H, Wu Y. Critical Role of Alternative M2 Skewing in miR-155 Deletion-Mediated Protection of Colitis. *Front Immunol* 2018; 9: 904 [PMID: 29774026 DOI: 10.3389/fimmu.2018.00904]
- Dudda JC, Salaun B, Ji Y, Palmer DC, Monnot GC, Merck E, Boudousquie C, Utzschneider DT, Escobar TM, Perret R, Muljo SA, Hebeisen M, Rufer N, Zehn D, Donda A, Restifo NP, Held W, Gattinoni L, Romero P. MicroRNA-155 is required for effector CD8+ T cell responses to virus infection and cancer. *Immunity* 2013; 38: 742-753 [PMID: 23601686 DOI: 10.1016/j.immuni.2012.12.006]
- Huffaker TB, Lee SH, Tang WW, Wallace JA, Alexander M, Runtsch MC, Larsen DK, Thompson J, Ramstead AG, Voth WP, Hu R, Round JL, Williams MA, O'Connell RM. Antitumor immunity is defective in T cell-specific microRNA-155-deficient mice and is rescued by immune checkpoint blockade. *J Biol Chem* 2017; 292: 18530-18541 [PMID: 28912267 DOI: 10.1074/jbc.M117.117249]

- 10.1074/jbc.M117.808121]
- 20 Zhang Y, Sun E, Li X, Zhang M, Tang Z, He L, Lv K. miR-155 contributes to Df1-induced asthma by increasing the proliferative response of Th cells via CTLA-4 downregulation. *Cell Immunol* 2017; 314: 1-9 [PMID: 28110885 DOI: 10.1016/j.cellimm.2017.01.005]
 - 21 Inagaki-Ohara K, Sasaki A, Matsuzaki G, Ikeda T, Hotokezaka M, Chijiwa K, Kubo M, Yoshida H, Nawa Y, Yoshimura A. Suppressor of cytokine signalling 1 in lymphocytes regulates the development of intestinal inflammation in mice. *Gut* 2006; 55: 212-219 [PMID: 16120757 DOI: 10.1136/gut.2004.062653]
 - 22 Zeissig S, Petersen BS, Tomczak M, Melum E, Huc-Claustre E, Dougan SK, Laerdahl JK, Stade B, Forster M, Schreiber S, Weir D, Leichtner AM, Franke A, Blumberg RS. Early-onset Crohn's disease and autoimmunity associated with a variant in CTLA-4. *Gut* 2015; 64: 1889-1897 [PMID: 25367873 DOI: 10.1136/gutjnl-2014-308541]
 - 23 Soularue E, Lepage P, Colombel JF, Coutzac C, Faleck D, Marthey L, Collins M, Chaput N, Robert C, Carbonnel F. Enterocolitis due to immune checkpoint inhibitors: a systematic review. *Gut* 2018; 67: 2056-2067 [PMID: 30131322 DOI: 10.1136/gutjnl-2018-316948]
 - 24 Wing K, Yamaguchi T, Sakaguchi S. Cell-autonomous and -non-autonomous roles of CTLA-4 in immune regulation. *Trends Immunol* 2011; 32: 428-433 [PMID: 21723783 DOI: 10.1016/j.it.2011.06.002]
 - 25 Chao G, Li X, Ji Y, Zhu Y, Li N, Zhang N, Feng Z, Niu M. MiR-155 controls follicular Treg cell-mediated humoral autoimmunity intestinal injury by inhibiting CTLA-4 expression. *Int Immunopharmacol* 2019; 71: 267-276 [PMID: 30927737 DOI: 10.1016/j.intimp.2019.03.009]
 - 26 Asmuth DM, Pinchuk IV, Wu J, Vargas G, Chen X, Mann S, Albanese A, Ma ZM, Saroufeem R, Melcher GP, Troia-Cancio P, Torok NJ, Miller CJ, Powell DW. Role of intestinal myofibroblasts in HIV-associated intestinal collagen deposition and immune reconstitution following combination antiretroviral therapy. *AIDS* 2015; 29: 877-888 [PMID: 25784439 DOI: 10.1097/QAD.0000000000000636]
 - 27 Owens BM, Simmons A. Intestinal stromal cells in mucosal immunity and homeostasis. *Mucosal Immunol* 2013; 6: 224-234 [PMID: 23235744 DOI: 10.1038/mi.2012.125]
 - 28 Pathak S, Grillo AR, Scarpa M, Brun P, D'Inca R, Nai L, Banerjee A, Cavallo D, Barzon L, Palù G, Sturniolo GC, Buda A, Castagliuolo I. MiR-155 modulates the inflammatory phenotype of intestinal myofibroblasts by targeting SOCS1 in ulcerative colitis. *Exp Mol Med* 2015; 47: e164 [PMID: 25998827 DOI: 10.1038/emmm.2015.21]
 - 29 Ma TY. Intestinal epithelial barrier dysfunction in Crohn's disease. *Proc Soc Exp Biol Med* 1997; 214: 318-327 [PMID: 9111522 DOI: 10.3181/00379727-214-44099]
 - 30 Maloy KJ, Powrie F. Intestinal homeostasis and its breakdown in inflammatory bowel disease. *Nature* 2011; 474: 298-306 [PMID: 21677746 DOI: 10.1038/nature10208]
 - 31 Hall CHT, Campbell EL, Colgan SP. Neutrophils as Components of Mucosal Homeostasis. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* 2017; 4: 329-337 [PMID: 28884136 DOI: 10.1016/j.jcmgh.2017.07.001]
 - 32 Brazil JC, Louis NA, Parkos CA. The role of polymorphonuclear leukocyte trafficking in the perpetuation of inflammation during inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 1556-1565 [PMID: 23598816 DOI: 10.1097/MIB.0b013e318281f54e]
 - 33 Kolaczowska E, Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat Rev Immunol* 2013; 13: 159-175 [PMID: 23435331 DOI: 10.1038/nri3399]
 - 34 Holmström KM, Finkel T. Cellular mechanisms and physiological consequences of redox-dependent signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014; 15: 411-421 [PMID: 24854789 DOI: 10.1038/nrm3801]
 - 35 Bani D, Bencini A. Developing ROS scavenging agents for pharmacological purposes: recent advances in design of manganese-based complexes with anti-inflammatory and antinociceptive activity. *Curr Med Chem* 2012; 19: 4431-4444 [PMID: 22830332]
 - 36 Maynard S, Schurman SH, Harboe C, de Souza-Pinto NC, Bohr VA. Base excision repair of oxidative DNA damage and association with cancer and aging. *Carcinogenesis* 2009; 30: 2-10 [PMID: 18978338 DOI: 10.1093/carcin/bgn250]
 - 37 Ceccaldi R, Rondinelli B, D'Andrea AD. Repair Pathway Choices and Consequences at the Double-Strand Break. *Trends Cell Biol* 2016; 26: 52-64 [PMID: 26437586 DOI: 10.1016/j.tcb.2015.07.009]
 - 38 Costanzo M, Cesi V, Palone F, Pierdomenico M, Colantoni E, Leter B, Vitali R, Negroni A, Cucchiara S, Stronati L. Krill oil, vitamin D and *Lactobacillus reuteri* cooperate to reduce gut inflammation. *Benef Microbes* 2018; 9: 389-399 [PMID: 29633636 DOI: 10.3920/BM2017.0078]
 - 39 Sumagin R, Robin AZ, Nusrat A, Parkos CA. Activation of PKC β II by PMA facilitates enhanced epithelial wound repair through increased cell spreading and migration. *PLoS One* 2013; 8: e55775 [PMID: 23409039 DOI: 10.1371/journal.pone.0055775]
 - 40 Butin-Israeli V, Houser MC, Feng M, Thorp EB, Nusrat A, Parkos CA, Sumagin R. Deposition of microparticles by neutrophils onto inflamed epithelium: a new mechanism to disrupt epithelial intercellular adhesions and promote transepithelial migration. *FASEB J* 2016; 30: 4007-4020 [PMID: 27553226 DOI: 10.1096/fj.201600734R]
 - 41 Dalli J, Montero-Melendez T, Norling LV, Yin X, Hinds C, Haskard D, Mayr M, Perretti M. Heterogeneity in neutrophil microparticles reveals distinct proteome and functional properties. *Mol Cell Proteomics* 2013; 12: 2205-2219 [PMID: 23660474 DOI: 10.1074/mcp.M113.028589]
 - 42 Butin-Israeli V, Bui TM, Wiesolek HL, Mascarenhas L, Lee JJ, Mehl LC, Knutson KR, Adam SA, Goldman RD, Beyder A, Wiesmuller L, Hanauer SB, Sumagin R. Neutrophil-induced genomic instability impedes resolution of inflammation and wound healing. *J Clin Invest* 2019; 129: 712-726 [PMID: 30640176 DOI: 10.1172/JCI122085]
 - 43 Borghei YS, Hosseini M. A New Eye Dual-readout Method for MiRNA Detection based on Dissolution of Gold nanoparticles via LSPR by CdTe QDs Photoinduction. *Sci Rep* 2019; 9: 5453 [PMID: 30931995 DOI: 10.1038/s41598-019-41898-4]

编辑:王禹乔 电编:刘继红



核苷酸结合寡聚化结构域样受体含pyrin结构域蛋白6在炎症性肠病中作用机制研究进展

朱凤, 刘星星, 范恒

朱凤, 刘星星, 范恒, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科 湖北省武汉市 430022

朱凤, 研究方向为中西医结合消化系统疾病.

基金项目: 国家自然科学基金, No.81503416.

作者贡献分布: 朱凤与范恒对此文所作贡献均等; 本文思路由刘星星指导; 朱凤与范恒查找相关文献; 本论文写作由朱凤完成.

通讯作者: 刘星星, 讲师, 430022, 湖北省武汉市江岸区解放大道1277号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科. 277258255@qq.com

收稿日期: 2019-06-13

修回日期: 2019-08-08

接受日期: 2019-09-03

在线出版日期: 2019-09-08

Role of NLRP6 in inflammatory bowel disease

Feng Zhu, Xing-Xing Liu, Heng Fan

Feng Zhu, Xing-Xing Liu, Heng Fan, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No.81503416.

Corresponding author: Xing-Xing Liu, Lecturer, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, No. 1277, Jiang'an District, Wuhan 430022, Hubei Province, China. 277258255@qq.com

Received: 2019-06-13

Revised: 2019-08-08

Accepted: 2019-09-03

Published online: 2019-09-08

Abstract

Inflammatory bowel disease (IBD) is a chronic intestinal inflammatory disease of unknown etiology. The symptoms of IBD are prone to recurrent episodes, and there is currently limited treatment and efficacy. Recently, there have been many studies showing that the nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor containing the pyrin domain containing protein (NLR family, pyrin domain containing 6, NLRP6) regulates intestinal immunity and microorganisms in inflammatory bowel disease and related tumors. NLRP6 promotes the secretion of interleukin (IL)-18 and antimicrobial peptides, and IL-18 can inhibit the production of IL-22BP, enhance the role of IL-22, and promote the proliferation of epithelial cells through the MyD88 pathway. NLRP6 also regulates the secretion of mucoprotein 2 by goblet cells via Toll-like receptors, clears intestinal bacteria, regulates intestinal immune function, and maintains intestinal flora. Because IBD is associated with a tendency of malignant transformation, and researchers have found that NLRP6 can act on NOTCH and Wnt, activate chemokine ligand 5 and IL-6 signaling, regulate epithelial cell proliferation, and affect the development of IBD-related colorectal cancer. This article reviews the role of NLRP6 in IBD.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Inflammatory bowel disease; Ulcerative colitis; NLRP6; IL-18; Research progress

Zhu F, Liu XX, Fan H. Role of NLRP6 in inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(17): 1076-1082
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1076.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i17.1076>

摘要

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种病因未明的慢性肠道炎症性疾病, 症状易反复发作, 迁延不愈, 治疗手段及疗效有限. 近期有较多研究表明核苷酸结合寡聚化结构域样受体含pyrin结构域蛋白6(NLR family, pyrin domain containing6, Nlrp6)在IBD及相关肿瘤方面具有调节肠道免疫及微生物菌群的重要作用, Nlrp6促进白细胞介素(interleukin, IL)-18及抗菌肽的分泌, IL-18可抑制IL-22BP的产生, 增强IL-22作用, 并通过MyD88通路来促进上皮细胞增殖; Nlrp6还可通过Toll-like receptors调节杯状细胞分泌Mucoprotein2, 清除肠道细菌, 调节肠道免疫功能及维持肠道菌群稳态. 由于IBD有一定癌变倾向, 研究人员发现Nlrp6可作用于NOTCH及Wnt靶点, 激活趋化因子配体5及IL-6信号通路, 调节上皮细胞增殖, 影响IBD相关性结直肠癌. 本文就Nlrp6在IBD中的作用机制作一综述.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 炎症性肠病; 溃疡性结肠炎; Nlrp6; IL-18; 研究进展

核心提要: 核苷酸结合寡聚化结构域样受体含pyrin结构域蛋白6(NLR family, pyrin domain containing6, Nlrp6)促进IL-18及抗菌肽的分泌, IL-18可抑制IL-22BP的产生, 增强IL-22作用, 并通过MyD88通路来促进上皮细胞增殖; Nlrp6还可通过Toll-like receptors调节杯状细胞分泌Mucoprotein2, 清除肠道细菌, 调节肠道免疫功能及维持肠道菌群稳态.

朱凤, 刘星星, 范恒. 核苷酸结合寡聚化结构域样受体含pyrin结构域蛋白6在炎症性肠病中作用机制研究进展. 世界华人消化杂志 2019; 27(17): 1076-1082

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1076.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i17.1076>

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)为累及回肠、结肠、直肠的一种特发性肠道炎症性疾病, 主要包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(crohn's disease, CD). 其临床表现以腹痛、腹泻及黏液脓血便为主, 症状易反复发作, 难以治愈, 且有一定的癌变倾向^[1]. 该病多发于青少年, 在欧美国家发病率较高. 近年我国发病率有增加趋势, 可能与我国人民生活方式改变有关^[2]. 目前普遍认为IBD的发病机制是由环境因素和肠道菌群共同作用, 激活遗传易感个体肠道黏膜的免疫应答, 引发一系列的炎症反应, 使肠黏膜中的抗炎和促炎介质失衡, 导致肠黏膜的病理改变. IBD目前的

药物治疗主要包括氨基水杨酸制剂、糖皮质激素、免疫调节剂等, 配合调整患者生活方式, 但治疗效果不理想, 且存在一定的副作用. 因此, 深入研究IBD的发病机制对于创新治疗方法及治疗药物具有重要的临床意义.

固有免疫应答是机体抵抗病原体的第一道防线, 亦是获得性免疫应答的基础. 核苷酸结合寡聚化结构域样受体(nucleotide-binding and oligomerization domain-like receptors, NLRs)家族是近年来研究比较多的一个参与免疫应答的庞大的炎症蛋白家族, 在细胞凋亡、炎症、肿瘤等方面发挥着重要作用. 核苷酸结合寡聚化结构域样受体含pyrin结构域蛋白6(NLR family, pyrin domain containing6, Nlrp6)是NLRs家族中一个比较特殊的成员, 目前对其有一定的研究, 但其功能和作用机理尚未完全明确. 本文就Nlrp6在IBD中的作用机制研究进展作一综述.

1 NLRs家族

NLRs家族是一类存在于细胞质内的模式识别受体, 可以识别结合某些病原体或其产物所共有的高度保守的病原相关分子模式, 通过激活NF- κ B、IFN γ 和其它炎症信号来促进免疫反应, 参与机体免疫应答^[3]. 目前发现NLRs家族蛋白在人类有23种, 在小鼠有34种^[4,5]. NLRs家族主要由氨基端(N端)结构域、NOD结构域、羧基端(C端)富含亮氨酸的重复序列三部分组成. N端为效应结构域, 介导蛋白质相互作用, 参与免疫应答^[6]. 不同类型NLRs分子因为其N端结构域不同, 有其特定下游信号转导通路. 根据N端结构域不同, 目前NLRs家族分子分成四类^[7]: (1)II类反式激活因子, 调节主要组织相容性复合体MHC II类分子的表达; (2)NOD1和NOD2, 主要功能是识别细菌肽聚糖亚单位, 并激活NF- κ B信号通路发生免疫应答^[8]; (3)白细胞介素-1 β 转化酶蛋白激酶激活因子; (4)NLR家族含pyrin结构域蛋白(NLR family, pyrin domain containing, NLRP). NLRs家族主要参与调节肠道的免疫信号通路和微生物菌群, 影响肠道的炎症的发生^[9,10].

2 Nlrp6蛋白的结构及功能

Nlrp6是第一个被发现的抑制天然免疫反应相关信号通路的NLRs蛋白家族成员, 其编码基因位于人11号染色体. 在肠道组织中, Nlrp6高表达于肠上皮细胞和肌成纤维细胞等非造血细胞^[11]. Nlrp6可与含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶(cysteiny l aspartate specific proteinase-1, Caspase-1)和含CARD结构域的凋亡相关颗粒样蛋白(apoptosis associated speck-like protein containing CARD, ASC)通过N端PYD结构域的蛋白-蛋白连接作用组成细胞内多聚蛋白复合物(即Nlrp6炎症小体), 最终产生白细

胞介素(interleukin, IL)-1 β 、IL-18等细胞因子, 参与炎症反应和免疫应答^[12,13].

在Nlrp6缺失型小鼠中观察到Nlrp6的功能是抑制NF- κ B和MAPK的活化, 从而发挥促进凋亡、抑制炎症及肠道组织增殖的作用^[14,15]. Nlrp6缺失型小鼠体内的巨噬细胞在细菌感染时对NF- κ B的激活增加, 并伴有NF- κ B和MAPK依赖性细胞因子、趋化因子分泌增加, 免疫细胞数目明显增加, 通过激活Toll样受体(multiple toll-like receptors, TLR), 增强NF- κ B和MAPK信号转导的活化, 说明Nlrp6可能在识别病原体后抑制TLR通路, 防止炎症扩大^[16]. NF- κ B相关细胞因子如肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和IL-6在Nlrp6缺失型小鼠体内显著升高^[11], TNF- α 和IL-6可以激活肠上皮细胞STAT3途径促进肿瘤的发生^[17,18]. ASC与其他Nlrp蛋白共表达并不能激活Caspase-1前体, 表明Nlrp6能够有效地激活Caspase-1前体, 促使细胞发生凋亡, 阻止细胞的无限增殖, 抑制肿瘤发生^[19].

近年来, Ranson等^[20]观察到Nlrp6在人类CD中上调, 但在人类UC中没有显著程度上调. 相反, Alipour等^[21]发现IBD亚群中Nlrp6表达有降低的趋势, 但这没有达到统计学意义. 进一步研究表明, 在CD和UC患者的上皮层中Nlrp6的表达降低. 动物模型进一步证实了Nlrp6表达与肠屏障完整性之间的关联. 在小鼠的WAS(避水应激)诱导的小肠炎症(肠炎)中报道了Nlrp6水平降低^[22]. 然而, 在结肠炎小鼠模型中Nlrp6的表达尚不完全清楚. 由此可见, Nlrp6在调节肠道免疫功能和维持肠道菌群稳态中的作用日益受到重视, 研究Nlrp6炎性小体及其配体有助于深入探讨UC的发病机制.

3 Nlrp6/IL-18信号通路在调节IBD肠道免疫功能和维持肠道菌群稳态中发挥重要作用

Nlrp6炎性小体导致蛋白水解切割和激活caspase-1, 之后释放促炎细胞因子IL-18^[23]. 为了评估Nlrp6对结肠炎的影响, 进行了几种使用Nlrp6^{-/-}小鼠的研究^[24,25]. 在该实验中, Nlrp6^{-/-}小鼠显示出对DSS诱发的结肠炎增强的易感性. 研究人员还观察到IL-18的水平降低了. 此外, 使用16SrRNA分析肠道菌群组成揭示了Nlrp6^{-/-}小鼠肠道中更多的致癌微生物群. 我们了解到, 炎症小体的激活导致多重下游效应, 包括通过蛋白水解切割产生活化形式的前IL-18. Levy等^[26]发现敲除IL-18导致结肠炎严重程度和肠道细菌群落的显著恶化, 类似于Nlrp6^{-/-}小鼠. 这些结果表明, Nlrp6对肠道细菌群落的影响可能部分取决于IL-18, 且IL-18在DSS诱导的结肠炎中具有保护作用. Kempster等^[27]认为病态的IL-18过度激活存在差异. 然而, IL-18的不同表达也可能导致关于IL-18

在NEC中的作用的“冲突”. 观察发生在回肠中的环状物, 而不是它在DSS诱导的结肠炎中的作用(大多数严重的远端结肠). 为此, Nlrp6在小鼠结肠上皮细胞中的缺乏改变了粪便微生物, 其特征是细菌门拟杆菌和TM7^[11]. Seregin等^[28]证明使用不依赖于上皮损伤和修复的IBD替代模型, Nlrp6通过限制IL-10^{-/-}小鼠致结肠炎病菌 *A. muciniphila* 的定植来预防结肠炎的发展. 在肠道中, AMP是参与该组织的先天免疫系统的关键组成部分. Nlrp6可以调节“健康”宿主-微生物界面的机制, 从IgA和粘液分泌到AMP产生^[29,30].

由此可见在IBD中, Nlrp6炎性小体信号通路主要是通过产生细胞因子IL-18来介导免疫功能和维持肠道菌群稳态. 深入研究Nlrp6/IL-18通路的作用机制, 有利于揭示肠道免疫紊乱和菌群失调在UC发病中的作用.

4 Nlrp6-Muc2轴对结肠上皮细胞免疫功能和微生物菌群的影响

在UC患者和DSS诱导的结肠炎小鼠中, 可以观察到结肠上皮细胞中杯状细胞通常被耗尽, 粘液合成和分泌减少^[31,32]. 在肠道病原体清除实验中, 固有层物质会被微生物和病原体穿透^[33]. Wlodarska等^[9]观察到与野生型小鼠相比, Nlrp6缺陷小鼠的 *C. rodentium* 负荷和病理变化增加. ASC^{-/-}和caspase-1/11^{-/-}小鼠也表现出无法清除 *C. rodentium*. 这些结果表明Nlrp6炎性小体激活是宿主防御A/E病原体感染的关键. Muc2粘蛋白是由杯状细胞产生的大型糖蛋白, 形成先天宿主防御的第一线^[34]. Muc2^{-/-}小鼠会发生自发性结肠炎并且不能阻止从黏膜表面附着和去除粘附的病原体^[35]. Nlrp6在整个肠黏膜中高表达, 特别是在杯状细胞中. 该发现表明Nlrp6调节粘液分泌, 进一步的研究表明, Nlrp6^{-/-}小鼠的肠上皮细胞表现出显着的杯状细胞增生. 然而, 杯状细胞粘液颗粒分泌受到抑制, 缺乏厚的连续覆盖的内部黏膜层^[9].

有报道指出, Nlrp6仅调节粘液颗粒和肠上皮的融合以及粘液的分泌, 但不影响粘液的表达. 自噬对于Paneth细胞、破骨细胞和肥大细胞的功能至关重要^[36-38]. 同样, 在Nlrp6^{-/-}小鼠的上皮中缺乏可见的自噬体形成, 表明自噬过程是由Nlrp6介导的粘液颗粒分泌所必需的过程. 此外, caspase-1/11^{-/-}和ASC^{-/-}小鼠的杯状细胞显示明显缺乏粘液分泌.

通常, 肠道内部粘液层将结肠细胞与微生物群分离, 这样就可以阻止细菌接触隐窝, 破坏其结构及功能^[39]. Birchenough等^[40]报道细菌的流入增加了隐窝附近TLR配体的浓度并激活了前杯状细胞(sentinel goblet cells, senGCs), 这是在Nlrp6炎性小体激活之前, 由内吞作用下游的TLR-MyD88信号通路传导引起的. 这导致Ca²⁺信号

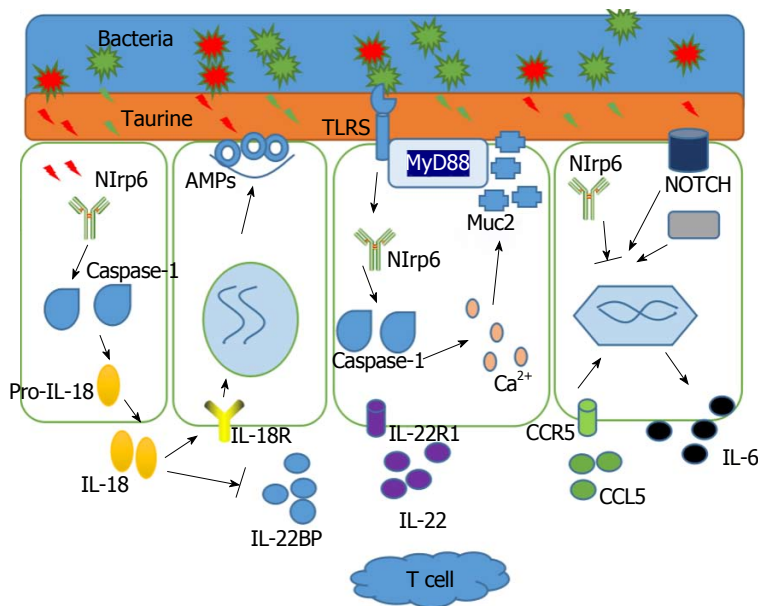


图 1 Nlrp6调节肠道免疫功能和维持肠道菌群稳态的多种机制. Bacteria: 细菌; Taurine: 牛磺酸; Nlrp6: 核苷酸结合寡聚化结构域样受体含pyrin结构域蛋白6; Caspase-1: 含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶; Pro-IL-18: 白介素18前体; IL-18: 白介素18; AMPs: 抗菌肽; IL-18R: 白介素18受体; IL-22BP: 白介素22结合蛋白; IL-22: 白介素22; IL-22R1: 白介素22受体1; TLRs: Toll样受体; MYD88: 髓样分化因子; Muc2: 粘蛋白; CCR5: 趋化因子受体5; CCL5: 趋化因子配体5; IL-6: 白介素6.

传导驱动化合物Muc2分泌、GJ依赖性细胞信号传导的产生、功能性GC的Muc2分泌和活化的senGC的排出。这种方式清除了隐窝中的细菌，从而保护下部隐窝和肠干细胞免受细菌侵入。Nlrp6控制senGC排出，并促进活化的senGC诱发细胞间信号传导，最终诱导相邻功能性GC中的Muc2分泌。

由此可见，Nlrp6对于肠道上皮细胞的杯状细胞表达Muc2粘液蛋白具有重要作用，而Muc2可以调节肠道免疫及微生物，保护肠道黏膜，故Nlrp6-Muc2轴对治疗IBD可以提供新的治疗思路。

5 Nlrp6在IBD炎症相关性结肠癌中的调节作用

众所周知，IL-22可以促进上皮细胞增殖^[41]。作为可溶性IL-22受体，IL-22BP特异性结合IL-22并阻止IL-22与IL-22的结合膜结合IL-22R1可抑制上皮细胞增殖^[42]。Castleman等^[43]表明人肠道微生物群(包括共生细菌)间接调节结肠ILC3功能以诱导IL-22，IL-22通过其对上皮屏障的功能性作用促进肠内稳态。当肠道上皮屏障完整性受损时，例如人类免疫缺陷病毒感染和IBD，来自肠腔的微生物易位到固有层中，诱导多种潜在的致病性免疫应答。Huber等^[44]发现Nlrp6炎性小体导致IL-18依赖性降低，IL-22BP的下调，从而增加上皮细胞增殖。此外，IL-18还通过MyD88信号通路促进上皮细胞增殖。通过用AOM或DSS治疗诱导的结肠炎相关癌症小鼠模型，Nlrp6^{-/-}小鼠比野生型小鼠发展出更多更大的肿瘤^[45]。在该研究中，作者首次阐述了Nlrp6在肿瘤发展中的保护

作用。进一步的研究表明，Nlrp6下调上皮细胞增殖的相关因子，包括Wnt和肿瘤中的Notch靶基因^[46]。正如上述研究报道的那样，Nlrp6可调节肠道菌群的组成。在Nlrp6^{-/-}小鼠中携带的致结肠炎肠道微生物群落和微生物群诱导的趋化因子(C-C基序)配体5(CCL5)一起通过IL-6途径局部激活促进上皮细胞增殖^[47]。

结直肠癌(CRC)是消化系统最常见的癌症之一，但很多有关CRC发展的潜在分子机制仍然未知^[48]。一个主要的风险因素CRC的发展是IBD的延长。进一步证明NF-κB激酶依赖性途径的经典抑制剂对于肿瘤的生长和进展至关重要，突出了CRC发病过程中炎症的重要性^[49,50]。肠道微生物群落使一个复杂的生态系统，最近显示出对动物模型和人类的健康和疾病有很大的影响^[51-54]。肠道微生物群被认为影响IBD的发病机制，因为抗生素和益生菌的治疗可以改善某些IBD亚组患者的疾病症状^[55]。此外，最近证实IBD患者的肠道微生物群的一些成员丰度降低，包括厚壁菌门和拟杆菌^[56,57]。牛链球菌/溶血弧菌，产肠毒素细菌脆弱体和大肠杆菌NC101已被认为是CRC的危险因素^[58,59]。此外，一些小鼠模型中的自发性肠炎在无菌环境中无法发展^[60]。Hu等^[46]证明了Nlrp6^{-/-}和ASC^{-/-}小鼠含有一种在WT小鼠中可传染的肠道菌群微生物群落，它可以导致结肠炎恶化。在这里，使用(AOM)-DSS诱导的结肠炎相关CRC模型(CAC)，证明了WT小鼠与Nlrp6^{-/-}和ASC^{-/-}共养发展为炎症诱导的CRC作用的戏剧性增强趋势，其通过诱导IL-18改变其介导的微生物群落和由此诱导的CCL5依赖性结肠炎症和

IL-6途径的激活. 由于IBD的持续炎症刺激容易导致癌变, 形成CRC, 因此, 预防和及时治疗IBD可以有效控制CRC的发生. 由此可知, Nlrp6通过IL-18影响肠道微生物菌群, 进一步通过CCL-5及IL-6的激活影响IBD相关性CRC的发生发展. 因此, 此实验研究对于我们治疗IBD相关性CRC具有临床指导意义.

6 结论与展望

Nlrp6通过作用于caspase-1产生IL-18, 从而促进AMPs的分泌, 清除肠道细菌, 调节肠道免疫功能及维持肠道菌群稳态; IL-18还可抑制IL-22BP的产生, 增强IL-22作用, 并通过MyD88通路来促进上皮细胞增殖; Nlrp6通过TLR调节杯状细胞分泌Muc2粘蛋白, Muc2也可调节肠道免疫及微生物, 保护肠黏膜(图1). Nlrp6可通过各种途径影响肠道免疫及菌群稳态, 而这正是IBD的主要致病原因. 因此, 深入研究Nlrp6作用机制, 有助于揭示IBD发病机制. 由于IBD有一定癌变倾向, Hu^[46]发现Nlrp6可作用于NOTCH及Wnt靶点, 激活CCL5及IL-6信号通路, 调节上皮细胞增殖, 影响IBD相关性CRC. Nlrp6在肿瘤的形成中也具有保护作用. Nlrp6的表达已被人提出作为结肠腺癌检测的诊断标记物^[61]. 由上可知, 目前的研究证据显示Nlrp6参与维持上皮屏障的完整性、促进肠上皮伤口愈合、抑制肠上皮过度增殖和细胞凋亡, 并在炎症、肿瘤等多种疾病发生发展中具有抑制作用. 因此, Nlrp6及其相应细胞因子的表达水平可以作为IBD及相关肿瘤的一个很有价值的生物标记物和治疗的靶点.

7 参考文献

- Márquez L, Shen C, Cleynen I, De Hertogh G, Van Steen K, Machiels K, Perrier C, Ballet V, Organe S, Ferrante M, Henckaerts L, Galicia G, Rutgeerts P, Ceuppens JL, Vermeire S. Effects of haptoglobin polymorphisms and deficiency on susceptibility to inflammatory bowel disease and on severity of murine colitis. *Gut* 2012; 61: 528-534 [PMID: 21708824 DOI: 10.1136/gut.2011.240978]
- Cui G, Yuan A. A Systematic Review of Epidemiology and Risk Factors Associated With Chinese Inflammatory Bowel Disease. *Front Med (Lausanne)* 2018; 5: 183 [PMID: 29971235 DOI: 10.3389/fmed.2018.00183]
- Kanneganti TD, Lamkanfi M, Núñez G. Intracellular NOD-like receptors in host defense and disease. *Immunity* 2007; 27: 549-559 [PMID: 17967410 DOI: 10.1016/j.immuni.2007.10.002]
- Kanneganti TD. Central roles of NLRs and inflammasomes in viral infection. *Nat Rev Immunol* 2010; 10: 688-698 [PMID: 20847744 DOI: 10.1038/nri2851]
- Rathinam VA, Vanaja SK, Fitzgerald KA. Regulation of inflammasome signaling. *Nat Immunol* 2012; 13: 333-342 [PMID: 22430786 DOI: 10.1038/ni.2237]
- Schroder K, Tschopp J. The inflammasomes. *Cell* 2010; 140: 821-832 [PMID: 20303873 DOI: 10.1016/j.cell.2010.01.040]
- Ting JP, Lovering RC, Alnemri ES, Bertin J, Boss JM, Davis BK, Flavell RA, Girardin SE, Godzik A, Harton JA, Hoffman HM, Hugot JP, Inohara N, Mackenzie A, Maltais LJ, Nunez G,

- Ogura Y, Otten LA, Philpott D, Reed JC, Reith W, Schreiber S, Steimle V, Ward PA. The NLR gene family: a standard nomenclature. *Immunity* 2008; 28: 285-287 [PMID: 18341998 DOI: 10.1016/j.immuni.2008.02.005]
- Kobayashi K, Inohara N, Hernandez LD, Galán JE, Núñez G, Janeway CA, Medzhitov R, Flavell RA. RICK/Rip2/CARDIAK mediates signalling for receptors of the innate and adaptive immune systems. *Nature* 2002; 416: 194-199 [PMID: 11894098 DOI: 10.1038/416194a]
- Wlodarska M, Thaiss CA, Nowarski R, Henao-Mejia J, Zhang JP, Brown EM, Frankel G, Levy M, Katz MN, Philbrick WM, Elinav E, Finlay BB, Flavell RA. NLRP6 inflammasome orchestrates the colonic host-microbial interface by regulating goblet cell mucus secretion. *Cell* 2014; 156: 1045-1059 [PMID: 24581500 DOI: 10.1016/j.cell.2014.01.026]
- Chen GY. Role of Nlrp6 and Nlrp12 in the maintenance of intestinal homeostasis. *Eur J Immunol* 2014; 44: 321-327 [PMID: 24338634 DOI: 10.1002/eji.201344135]
- Elinav E, Strowig T, Kau AL, Henao-Mejia J, Thaiss CA, Booth CJ, Peaper DR, Bertin J, Eisenbarth SC, Gordon JI, Flavell RA. NLRP6 inflammasome regulates colonic microbial ecology and risk for colitis. *Cell* 2011; 145: 745-757 [PMID: 21565393 DOI: 10.1016/j.cell.2011.04.022]
- Lamkanfi M, Dixit VM. Mechanisms and functions of inflammasomes. *Cell* 2014; 157: 1013-1022 [PMID: 24855941 DOI: 10.1016/j.cell.2014.04.007]
- Chen GY, Liu M, Wang F, Bertin J, Núñez G. A functional role for Nlrp6 in intestinal inflammation and tumorigenesis. *J Immunol* 2011; 186: 7187-7194 [PMID: 21543645 DOI: 10.4049/jimmunol.1100412]
- Meixenberger K, Pache F, Eitel J, Schmeck B, Hippenstiel S, Slevogt H, N'Guessan P, Witzenthalm M, Netea MG, Chakraborty T, Suttrop N, Opitz B. *Listeria monocytogenes*-infected human peripheral blood mononuclear cells produce IL-1beta, depending on listeriolysin O and NLRP3. *J Immunol* 2010; 184: 922-930 [PMID: 20008285 DOI: 10.4049/jimmunol.0901346]
- Normand S, Delanoye-Crespin A, Bressenot A, Huot L, Grandjean T, Peyrin-Biroulet L, Lemoine Y, Hot D, Chamailard M. Nod-like receptor pyrin domain-containing protein 6 (NLRP6) controls epithelial self-renewal and colorectal carcinogenesis upon injury. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 9601-9606 [PMID: 21593405 DOI: 10.1073/pnas.1100981108]
- Anand PK, Malireddi RK, Lukens JR, Vogel P, Bertin J, Lamkanfi M, Kanneganti TD. NLRP6 negatively regulates innate immunity and host defence against bacterial pathogens. *Nature* 2012; 488: 389-393 [PMID: 22763455 DOI: 10.1038/nature11250]
- Grivnennikov SI, Karin M. Dangerous liaisons: STAT3 and NF-kappaB collaboration and crosstalk in cancer. *Cytokine Growth Factor Rev* 2010; 21: 11-19 [PMID: 20018552 DOI: 10.1016/j.cytogfr.2009.11.005]
- Grivnennikov S, Karin E, Terzic J, Mucida D, Yu GY, Vallabhapurapu S, Scheller J, Rose-John S, Cheroutre H, Eckmann L, Karin M. IL-6 and Stat3 are required for survival of intestinal epithelial cells and development of colitis-associated cancer. *Cancer Cell* 2009; 15: 103-113 [PMID: 19185845 DOI: 10.1016/j.ccr.2009.01.001]
- Grenier JM, Wang L, Manji GA, Huang WJ, Al-Garawi A, Kelly R, Carlson A, Merriam S, Lora JM, Briskin M, DiStefano PS, Bertin J. Functional screening of five PYPAF family members identifies PYPAF5 as a novel regulator of NF-kappaB and caspase-1. *FEBS Lett* 2002; 530: 73-78 [PMID: 12387869 DOI: 10.1016/s0014-5793(02)03416-6]
- Ranson N, Veldhuis M, Mitchell B, Fanning S, Cook AL,

- Kunde D, Eri R. Nod-Like Receptor Pyrin-Containing Protein 6 (NLRP6) Is Up-regulated in Ileal Crohn's Disease and Differentially Expressed in Goblet Cells. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* 2018; 6: 110-112.e8 [PMID: 29928676 DOI: 10.1016/j.cjcmgh.2018.03.001]
- 21 Alipour M, Zaidi D, Valcheva R, Jovel J, Martínez I, Sergi C, Walter J, Mason AL, Wong GK, Dieleman LA, Carroll MW, Huynh HQ, Wine E. Mucosal Barrier Depletion and Loss of Bacterial Diversity are Primary Abnormalities in Paediatric Ulcerative Colitis. *J Crohns Colitis* 2016; 10: 462-471 [PMID: 26660940 DOI: 10.1093/ecco-jcc/jjv223]
- 22 Sun Y, Zhang M, Chen CC, Gilliland M 3rd, Sun X, El-Zaatri M, Huffnagle GB, Young VB, Zhang J, Hong SC, Chang YM, Gumucio DL, Owyang C, Kao JY. Stress-induced corticotropin-releasing hormone-mediated NLRP6 inflammasome inhibition and transmissible enteritis in mice. *Gastroenterology* 2013; 144: 1478-1487, 1487.e1-1487.e8 [PMID: 23470617 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.02.038]
- 23 Sellin ME, Maslowski KM, Maloy KJ, Hardt WD. Inflammasomes of the intestinal epithelium. *Trends Immunol* 2015; 36: 442-450 [PMID: 26166583 DOI: 10.1016/j.it.2015.06.002]
- 24 Anand PK, Kanneganti TD. NLRP6 in infection and inflammation. *Microbes Infect* 2013; 15: 661-668 [PMID: 23811097 DOI: 10.1016/j.micinf.2013.06.009]
- 25 Vladimer GI, Marty-Roix R, Ghosh S, Weng D, Lien E. Inflammasomes and host defenses against bacterial infections. *Curr Opin Microbiol* 2013; 16: 23-31 [PMID: 23318142 DOI: 10.1016/j.mib.2012.11.008]
- 26 Levy M, Thaiss CA, Zeevi D, Dohnalová L, Zilberman-Schapira G, Mahdi JA, David E, Savidor A, Korem T, Herzig Y, Pevsner-Fischer M, Shapiro H, Christ A, Harmelin A, Halpern Z, Latz E, Flavell RA, Amit I, Segal E, Elinav E. Microbiota-Modulated Metabolites Shape the Intestinal Microenvironment by Regulating NLRP6 Inflammasome Signaling. *Cell* 2015; 163: 1428-1443 [PMID: 26638072 DOI: 10.1016/j.cell.2015.10.048]
- 27 Kempster SL, Belteki G, Forhead AJ, Fowden AL, Catalano RD, Lam BY, McFarlane I, Charnock-Jones DS, Smith GC. Developmental control of the Nlrp6 inflammasome and a substrate, IL-18, in mammalian intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2011; 300: G253-G263 [PMID: 21088234 DOI: 10.1152/ajpgi.00397.2010]
- 28 Seregin SS, Golovchenko N, Schaf B, Chen J, Pudlo NA, Mitchell J, Baxter NT, Zhao L, Schloss PD, Martens EC, Eaton KA, Chen GY. NLRP6 Protects Il10^{-/-} Mice from Colitis by Limiting Colonization of Akkermansia muciniphila. *Cell Rep* 2017; 19: 2174 [PMID: 28591587 DOI: 10.1016/j.celrep.2017.05.074]
- 29 Williams H, Campbell L, Crompton RA, Singh G, McHugh BJ, Davidson DJ, McBain AJ, Cruickshank SM, Hardman MJ. Microbial Host Interactions and Impaired Wound Healing in Mice and Humans: Defining a Role for BD14 and NOD2. *J Invest Dermatol* 2018; 138: 2264-2274 [PMID: 29723492 DOI: 10.1016/j.jid.2018.04.014]
- 30 Hooper LV, Littman DR, Macpherson AJ. Interactions between the microbiota and the immune system. *Science* 2012; 336: 1268-1273 [PMID: 22674334 DOI: 10.1126/science.1223490]
- 31 Swidsinski A, Loening-Baucke V, Theissig F, Engelhardt H, Bengmark S, Koch S, Lochs H, Dörffel Y. Comparative study of the intestinal mucus barrier in normal and inflamed colon. *Gut* 2007; 56: 343-350 [PMID: 16908512 DOI: 10.1136/gut.2006.098160]
- 32 Gersemann M, Becker S, Kübler I, Koslowski M, Wang G, Herrlinger KR, Griger J, Fritz P, Fellermann K, Schwab M, Wehkamp J, Stange EF. Differences in goblet cell differentiation between Crohn's disease and ulcerative colitis. *Differentiation* 2009; 77: 84-94 [PMID: 19281767 DOI: 10.1016/j.diff.2008.09.008]
- 33 Schneider H, Pelaseyed T, Svensson F, Johansson MEV. Study of mucin turnover in the small intestine by in vivo labeling. *Sci Rep* 2018; 8: 5760 [PMID: 29636525 DOI: 10.1038/s41598-018-24148-x]
- 34 Tawiah A, Cornick S, Moreau F, Gorman H, Kumar M, Tiwari S, Chadee K. High MUC2 Mucin Expression and Misfolding Induce Cellular Stress, Reactive Oxygen Production, and Apoptosis in Goblet Cells. *Am J Pathol* 2018; 188: 1354-1373 [PMID: 29545196 DOI: 10.1016/j.ajpath.2018.02.007]
- 35 Wenzel UA, Magnusson MK, Rydström A, Jonstrand C, Hengst J, Johansson ME, Velcich A, Öhman L, Strid H, Sjövall H, Hansson GC, Wick MJ. Spontaneous colitis in Muc2-deficient mice reflects clinical and cellular features of active ulcerative colitis. *PLoS One* 2014; 9: e100217 [PMID: 24945909 DOI: 10.1371/journal.pone.0100217]
- 36 DeSelm CJ, Miller BC, Zou W, Beatty WL, van Meel E, Takahata Y, Klumperman J, Toozé SA, Teitelbaum SL, Virgin HW. Autophagy proteins regulate the secretory component of osteoclastic bone resorption. *Dev Cell* 2011; 21: 966-974 [PMID: 22055344 DOI: 10.1016/j.devcel.2011.08.016]
- 37 Cadwell K, Liu JY, Brown SL, Miyoshi H, Loh J, Lennerz JK, Kishi C, Kc W, Carrero JA, Hunt S, Stone CD, Brunt EM, Xavier RJ, Sleckman BP, Li E, Mizushima N, Stappenbeck TS, Virgin HW 4th. A key role for autophagy and the autophagy gene Atg16l1 in mouse and human intestinal Paneth cells. *Nature* 2008; 456: 259-263 [PMID: 18849966 DOI: 10.1038/nature07416]
- 38 Ushio H, Ueno T, Kojima Y, Komatsu M, Tanaka S, Yamamoto A, Ichimura Y, Ezaki J, Nishida K, Komazawa-Sakon S, Niyonsaba F, Ishii T, Yanagawa T, Kominami E, Ogawa H, Okumura K, Nakano H. Crucial role for autophagy in degranulation of mast cells. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 127: 1267-76.e6 [PMID: 21333342 DOI: 10.1016/j.jaci.2010.12.1078]
- 39 Johansson ME, Phillipson M, Petersson J, Velcich A, Holm L, Hansson GC. The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 15064-15069 [PMID: 18806221 DOI: 10.1073/pnas.0803124105]
- 40 Birchenough GM, Nyström EE, Johansson ME, Hansson GC. A sentinel goblet cell guards the colonic crypt by triggering Nlrp6-dependent Muc2 secretion. *Science* 2016; 352: 1535-1542 [PMID: 27339979 DOI: 10.1126/science.aaf7419]
- 41 Witte E, Witte K, Warszawska K, Sabat R, Wolk K. Interleukin-22: a cytokine produced by T, NK and NKT cell subsets, with importance in the innate immune defense and tissue protection. *Cytokine Growth Factor Rev* 2010; 21: 365-379 [PMID: 20870448 DOI: 10.1016/j.cytogr.2010.08.002]
- 42 Wei CC, Ho TW, Liang WG, Chen GY, Chang MS. Cloning and characterization of mouse IL-22 binding protein. *Genes Immun* 2003; 4: 204-211 [PMID: 12700595 DOI: 10.1038/sj.gene.6363947]
- 43 Castleman MJ, Dillon SM, Purba CM, Cogswell AC, Kibbie JJ, McCarter MD, Santiago ML, Barker E, Wilson CC. Commensal and Pathogenic Bacteria Indirectly Induce IL-22 but Not IFN γ Production From Human Colonic ILC3s via Multiple Mechanisms. *Front Immunol* 2019; 10: 649 [PMID: 30984202 DOI: 10.3389/fimmu.2019.00649]
- 44 Huber S, Gagliani N, Zenewicz LA, Huber FJ, Bosurgi L, Hu B, Hedl M, Zhang W, O'Connor W Jr, Murphy AJ, Valenzuela DM, Yancopoulos GD, Booth CJ, Cho JH, Ouyang W, Abraham C, Flavell RA. IL-22BP is regulated by the inflammasome and modulates tumorigenesis in the intestine. *Nature* 2012; 491: 259-263 [PMID: 23075849 DOI: 10.1038/nature11535]
- 45 Karki R, Man SM, Kanneganti TD. Inflammasomes and Cancer. *Cancer Immunol Res* 2017; 5: 94-99 [PMID: 28093447 DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-16-0269]

- 46 Hu B, Elinav E, Huber S, Strowig T, Hao L, Hafemann A, Jin C, Wunderlich C, Wunderlich T, Eisenbarth SC, Flavell RA. Microbiota-induced activation of epithelial IL-6 signaling links inflammasome-driven inflammation with transmissible cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110: 9862-9867 [PMID: 23696660 DOI: 10.1073/pnas.1307575110]
- 47 Weir HK, Thun MJ, Hankey BF, Ries LA, Howe HL, Wingo PA, Jemal A, Ward E, Anderson RN, Edwards BK. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2000, featuring the uses of surveillance data for cancer prevention and control. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 1276-1299 [PMID: 12953083 DOI: 10.1093/jnci/djg040]
- 48 Popivanova BK, Kitamura K, Wu Y, Kondo T, Kagaya T, Kaneko S, Oshima M, Fujii C, Mukaida N. Blocking TNF-alpha in mice reduces colorectal carcinogenesis associated with chronic colitis. *J Clin Invest* 2008; 118: 560-570 [PMID: 18219394 DOI: 10.1172/JCI32453]
- 49 Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell* 2010; 140: 883-899 [PMID: 20303878 DOI: 10.1016/j.cell.2010.01.025]
- 50 Henaoui-Mejia J, Elinav E, Jin C, Hao L, Mehal WZ, Strowig T, Thaiss CA, Kau AL, Eisenbarth SC, Jurczak MJ, Camporez JP, Shulman GI, Gordon JI, Hoffman HM, Flavell RA. Inflammasome-mediated dysbiosis regulates progression of NAFLD and obesity. *Nature* 2012; 482: 179-185 [PMID: 22297845 DOI: 10.1038/nature10809]
- 51 Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease. *Lancet* 2003; 361: 512-519 [PMID: 12583961 DOI: 10.1016/s0140-6736(03)12489-0]
- 52 Wen L, Ley RE, Volchkov PY, Stranges PB, Avanesyan L, Stonebraker AC, Hu C, Wong FS, Szot GL, Bluestone JA, Gordon JI, Chervonsky AV. Innate immunity and intestinal microbiota in the development of Type 1 diabetes. *Nature* 2008; 455: 1109-1113 [PMID: 18806780 DOI: 10.1038/nature07336]
- 53 Wang Z, Klipfell E, Bennett BJ, Koeth R, Levison BS, Dugar B, Feldstein AE, Britt EB, Fu X, Chung YM, Wu Y, Schauer P, Smith JD, Allayee H, Tang WH, DiDonato JA, Lusis AJ, Hazen SL. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature* 2011; 472: 57-63 [PMID: 21475195 DOI: 10.1038/nature09922]
- 54 Gionchetti P, Rizzello F, Helwig U, Venturi A, Lammers KM, Brigidi P, Vitali B, Poggioli G, Miglioli M, Campieri M. Prophylaxis of pouchitis onset with probiotic therapy: a double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology* 2003; 124: 1202-1209 [PMID: 12730861 DOI: 10.1016/s0016-5085(03)00171-9]
- 55 Frank DN, St Amand AL, Feldman RA, Boedeker EC, Harpaz N, Pace NR. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 13780-13785 [PMID: 17699621 DOI: 10.1073/pnas.0706625104]
- 56 Davis CD, Milner JA. Gastrointestinal microflora, food components and colon cancer prevention. *J Nutr Biochem* 2009; 20: 743-752 [PMID: 19716282 DOI: 10.1016/j.jnutbio.2009.06.001]
- 57 Goodwin AC, Destefano Shields CE, Wu S, Huso DL, Wu X, Murray-Stewart TR, Hacker-Prietz A, Rabizadeh S, Woster PM, Sears CL, Casero RA Jr. Polyamine catabolism contributes to enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*-induced colon tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 15354-15359 [PMID: 21876161 DOI: 10.1073/pnas.1010203108]
- 58 Abdulmir AS, Hafidh RR, Abu Bakar F. The association of *Streptococcus bovis/galloyticus* with colorectal tumors: the nature and the underlying mechanisms of its etiological role. *J Exp Clin Cancer Res* 2011; 30: 11 [PMID: 21247505 DOI: 10.1186/1756-9966-30-11]
- 59 Arthur JC, Perez-Chanona E, Mühlbauer M, Tomkovich S, Uronis JM, Fan TJ, Campbell BJ, Abujamel T, Dogan B, Rogers AB, Rhodes JM, Stintzi A, Simpson KW, Hansen JJ, Keku TO, Fodor AA, Jobin C. Intestinal inflammation targets cancer-inducing activity of the microbiota. *Science* 2012; 338: 120-123 [PMID: 22903521 DOI: 10.1126/science.1224820]
- 60 Elson CO, Cong Y, McCracken VJ, Dimmitt RA, Lorenz RG, Weaver CT. Experimental models of inflammatory bowel disease reveal innate, adaptive, and regulatory mechanisms of host dialogue with the microbiota. *Immunol Rev* 2005; 206: 260-276 [PMID: 16048554 DOI: 10.1111/j.0105-2896.2005.00291.x]
- 61 Ahmed FE, Vos P. Molecular markers for human colon cancer in stool and blood identified by RT-PCR. *Anticancer Res* 2004; 24: 4127-4134 [PMID: 15736463]

编辑:王禹乔 电编:刘继红



FHL2在消化系统恶性肿瘤中的研究进展

朱翠翠, 康海锋, 仇建伟, 钱俊波, 刘宏斌, 张冬梅

朱翠翠, 康海锋, 仇建伟, 钱俊波, 南通大学第二附属医院消化内科 江苏省南通市 226000

刘宏斌, 南通大学第二附属医院病理科 江苏省南通市 226000

张冬梅, 南通大学第二附属医院临床医学研究中心 江苏省南通市 226000

朱翠翠, 消化内科方向.

作者贡献分布: 本论文写作由朱翠翠完成; 康海锋、仇建伟、刘宏斌及张冬梅指导; 钱俊波审核.

通讯作者: 钱俊波, 副教授, 主任医师, 226000, 江苏省南通市孩儿巷北路6号, 南通大学第二附属医院消化内科. ntyyqjb@163.com
电话: 0513-85061265

收稿日期: 2019-07-19

修回日期: 2019-08-16

接受日期: 2019-09-02

在线出版日期: 2019-09-08

Role of FHL2 in digestive system malignancies

Cui-Cui Zhu, Hai-Feng Kang, Jian-Wei Qiu, Jun-Bo Qian, Hong-Bin Liu, Dong-Mei Zhang

Cui-Cui Zhu, Hai-Feng Kang, Jian-Wei Qiu, Jun-Bo Qian, Department of Gastroenterology and Hepatology, the Second Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226000, Jiangsu Province, China

Hong-Bin Liu, Department of Pathology, the Second Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226000, Jiangsu Province, China

Dong-Mei Zhang, Clinical Medical Research Center, the Second Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226000, Jiangsu Province, China

Corresponding author: Jun-Bo Qian, Associate Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology and Hepatology, the Second Affiliated Hospital of Nantong University, No. 6, North Haiexiang Road, Nantong 226000, Jiangsu Province, China. ntyyqjb@163.com

Received: 2019-07-19

Revised: 2019-08-16

Accepted: 2019-09-02

Published online: 2019-09-08

Abstract

FHL2 is a scaffold protein that regulates signal transduction and gene transcription, and it has typical structural features of FHL proteins. Each FHL protein contains four half-LIM domains, and different LIM domains can bind to different proteins, which can activate or inhibit the activities of transcription factors such as P53 and serum response factors, and then influences the development of tumors. Previous studies have found that FHL2 has a complex biological role in tumorigenesis, and may promote or suppress tumor development in different types of tumors. In this article, we review the role of FHL2 in digestive system malignancies.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: FHL2; Digestive system; Malignancies

Zhu CC, Kang HF, Qiu JW, Qian JB, Liu HB, Zhang DM. Role of FHL2 in digestive system malignancies. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(17): 1083-1087

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1083.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i17.1083>

摘要

FHL2是一种参与信号转导和基因转录的支架蛋白, 具有FHL蛋白典型的结构特征. FHL2含有四个半LIM结构域, 不同的LIM结构域可以与不同的蛋白质结合, 从而激活或者抑制转录因子如P53、血清应答因子等的活性, 进而影响肿瘤的发生发展. 既往研究发现, FHL2在肿瘤发生发展中具有复杂的生物学作用,

在不同类型肿瘤中发挥促癌或抑癌的作用. 本文就FHL2在消化系统恶性肿瘤中的研究进展作一概述.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: FHL2; 消化系统; 恶性肿瘤

核心提要: FHL2是一种重要的支架蛋白, 本文主要研究FHL2在消化系统恶性肿瘤中的表达. 目前已知FHL2在结直肠癌、胃癌、胰腺癌、胆管癌中高表达, 在肝癌中低表达, 而在食管癌中没有研究. 食管癌发病率高, 研究FHL2在食管癌中的表达有一定的临床意义.

朱翠翠, 康海峰, 仇建伟, 钱俊波, 刘宏斌, 张冬梅. FHL2在消化系统恶性肿瘤中的研究进展. 世界华人消化杂志 2019; 27(17): 1083-1087

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1083.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i17.1083>

0 引言

近年来, 全球恶性肿瘤的总体发病率呈逐年上升趋势, 而我国恶性肿瘤的发病率以年均3%-5%的速度增长, 其中消化系统恶性肿瘤表现尤为明显^[1]. 食管癌、胃癌、肝癌、结直肠癌这四种消化系统恶性肿瘤占前十位恶性肿瘤死亡总数的40.75%^[2]. 随着我国内镜、手术、放疗等治疗手段的不断进步, 消化系统恶性肿瘤患者的预后已得到了很大的改善, 但是整体预后仍不理想, 死亡率仍居高不下, 因此我们有必要来探索消化系统恶性肿瘤的潜在生物标志物和治疗靶点. 恶性肿瘤的发病机制包括原癌基因的激活、抑癌基因的失活、凋亡调控基因与DNA修复基因的异常等. FHL2作为重要的细胞增殖、凋亡、分化调节蛋白, 与恶性肿瘤的关系逐渐受到关注, 其在宫颈癌^[3]、舌鳞状细胞癌^[4]、白血病^[5,6]、胶质母细胞瘤^[7]等恶性肿瘤中均有相关研究, 本文主要阐述FHL2在消化系统恶性肿瘤中的表达及功能.

1 FHL2的生物学特性

1.1 FHL2的结构 FHL蛋白家族共发现5个成员: FHL1、FHL2、FHL3、FHL4和FHL5, 其中FHL1、FHL2在不同的组织中均有表达, 目前发现FHL1、FHL2、FHL3主要在肌肉中表达, FHL4和FHL5只在睾丸中表达, 其中以FHL2研究最为深入^[8]. FHL2是FHL蛋白家族的第二个成员, 又称为DRAL或SLIM3, 该蛋白由*fh2*基因编码, 定位于染色体2q12-14的区域, 由7个外显子和6个内含子组成, 其中前3个外显子为非编码序列, 后4个外显子为编码序列, 被翻译成279个氨基酸的蛋白质^[9]. 该基因有两种启动子, 分别为启动子1a和启动子1b, 启动子1a

调控*fh2*转录变异体4, 启动子1b调控转录变异体1、2、3、5, 其中启动子1b的活性显著高于1a^[10]. FHL2相对分子量仅有32 kDa, 由四个半富含半胱氨酸的LIM结构域构成(图1), 这种独特的结构可以与50多种不同的蛋白质分子相互作用, 发挥衔接蛋白或支架蛋白的作用, 参与调节信号转导, 细胞存活, 运动与粘附等进程^[11-17].

1.2 FHL2的生物学功能 FHL2作为衔接子或支架蛋白参与调节多个细胞内信号通路和基因转录, 发挥重要的生物学功能. FHL2在体内受许多肿瘤相关因子的调控, 目前已知的有p53、血清反应因子(serum response factors, SRF)、细胞外信号调节激酶2(extracellular regulated protein kinases, ERK2)、周期蛋白D1(cyclin D1)等^[9]. FHL2蛋白定位于黏着斑、细胞质和细胞核中, *fh2*基因启动子区含有抑癌基因p53作用位点, p53的表达可激活*fh2*基因的转录, 这主要是通过启动子1a来完成的^[9]. 在恶性肿瘤中, FHL2具有组织依赖或细胞依赖性, 在不同的组织或细胞中所发挥的作用不同, 引起的效应也不同. FHL2这种双重性质的主要原因是FHL2可以作为多种转录因子的转录共激活因子促进雄激素受体、AP-1、CREB、BRCA1和WT-1等的活性, 也可作为多种转录因子的转录共抑制因子抑制ERK2、PLZF、Nur77、E4F1、FOXO1等的活性^[3]. FHL2蛋白含有磷酸化位点和糖基化位点, 但目前关于FHL2翻译后修饰和突变仍是个谜. 此外, FHL2还可以参与Rho信号途径、Wnt信号途径等.

2 FHL2在消化系统肿瘤中的研究现状

2.1 FHL2与结直肠癌 Wang等^[18]通过免疫印迹和免疫组织化学检测了15例结直肠癌患者和15例正常患者, 研究发现, 与癌旁组织相比, FHL2在结直肠癌中表达显著增高. Verset等^[19]通过免疫组织化学检测了296例结直肠癌患者, 结果证实了FHL2高表达与结直肠癌手术患者的总体生存率、淋巴转移相关^[20]. 这是由于FHL2在上皮-间质转化(epithelial to mesenchymal transition, EMT)中发挥了关键作用.

转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β)是一种EMT诱导剂, 可促进FHL2和波形蛋白(vimentin)的表达, 抑制E-钙粘蛋白(E-cadherin)的表达^[17]. 其中TGF-β1是促进结直肠癌侵袭的信号分子, 诱导EMT的发生^[21]. 进一步研究发现Krüppel样转录因子8(Krüppel-like factor 8, KLF8)是FHL2的转录因子: TGF-β1可通过刺激转录因子KLF8诱导FHL2的表达, 即FHL2表达受TGF-β1的正向调控, 促进结直肠癌细胞的增殖及EMT, 这可能是结直肠癌侵袭和转移的主要调控机制^[21]. FHL2 siRNA转染的SW480细胞中显示E-cadherin高表达, 而



图 1 FHL2蛋白由四个半LIM结构域构成, 含有279个氨基酸。

Vimentin、MMP-9、twist和Snail为低表达, 但是在DLD1中诱导FHL2的过表达时, 却获得了相反的结果^[17]。转录因子Snail1是EMT过程中的主要调节因子之一, 可抑制E-cadherin并在几种肿瘤类型中过表达^[22]。研究发现FHL2与Snail1相互作用, 促进Snail核积聚, 进而调节结直肠癌中E-cadherin的转录表达^[23]。FHL2也能够与β-连环蛋白相互作用, 在结肠癌细胞中FHL2能够通过阻止其磷酸化介导的降解来诱导β-连环蛋白的核积累^[17]。

此外, FHL2的高表达对结直肠癌细胞维持其恶性表型是必需的: 抑制Lovo结直肠癌细胞中的FHL2表达可诱导细胞分化, 抑制原癌基因(survivin, cox-2, hTERT, c-jun等)转录, 抑制肿瘤细胞体外增殖活性及体内致癌能力^[18]。FHL2在结直肠细胞系HT-29中过表达时, 可导致细胞周期的停滞^[21]。然而, 当在HT29中建立FHL2的过表达时, 发现与对照组相比, 促进E-钙粘蛋白表达, 抑制FHL2表达细胞的增殖^[24]。因此, FHL2在结直肠癌细胞系中作为诱导细胞分化的癌基因发挥作用^[21]。

另一方面, FHL2也可通过调节蛋白质复合物的磷酸化状态来抑制膜相关E-钙粘蛋白-β-连环蛋白复合物的形成。膜相关的E-钙粘蛋白-β-连环蛋白复合物的结构完整性是诱导EMT的重要决定因素, 这就阐明了FHL2在癌症迁移和侵袭中的作用^[21]。

2.2 FHL2与胃癌 FHL2在胃癌组织中呈现高表达, 发挥癌基因活性作用。刘霖^[25]采用了免疫组化染色法检测了41例胃癌患者和36例慢性胃炎患者的胃黏膜组织中的FHL2蛋白的表达情况, 结果显示胃癌组织中FHL2的表达阳性率达到85.4%, 显著高于对照组慢性胃炎组织($P < 0.05$), 结果提示FHL2蛋白过表达与胃癌发生发展密切相关。

在胃癌AGS细胞系中, FHL2可以与XIAP相关因子1(X-linked inhibitor of apoptosis protein-associated factor 1, XAF1)相互作用, 其中XAF1被称为肿瘤抑制因子, 位于N末端的锌指簇是唯一的结构域结构。Zhang等^[26]使用酵母双杂交系统检测发现, 肿瘤抑制因子XAF1和FHL2相互作用, 认为FHL2是XAF1的结合蛋白, 且发现XAF1可通过降低TCF/β-连环蛋白转录复合物启动子的活性

从而降低FHL2的转录活性。

2.3 FHL2与肝癌 与结直肠癌相反, FHL2蛋白在肝细胞癌组织及细胞株中均呈现低表达^[27]。在肝癌细胞Hep3B中, 过表达FHL2可下调cyclin D1、促进p21和p27表达, 导致细胞周期阻滞、细胞运动的降低和细胞凋亡的抑制。此外, 过表达FHL2可通过抑制EMT而减弱细胞迁移、侵袭, 进一步发现FHL2在抑制肝癌细胞增殖的同时也可对抗多柔比星诱导的细胞凋亡^[27]。Ding等^[28]在HepG2肝癌细胞中同样证实了FHL2的这种抗增殖的特性, 且发现FHL2通过酪蛋白激酶1/Smad通路促进抑癌基因p21转录、抑制原癌基因c-myc表达, 进而发挥抑癌作用。

FHL2在肝癌细胞中表现出抗增殖的特性, 同时又发挥抗凋亡功能, 这种维持稳态的双向调控作用在FHL2转基因小鼠中得到更为直观的体现。Apo-FHL2小鼠模型显示肝脏中FHL2转录水平较野生型增加11至17倍, 通过诱导肝细胞增殖和凋亡而加速肝细胞转换使得肝脏大小基本正常。Apo-FHL2小鼠肝细胞促增殖基因cyclin D1及促凋亡基因p53同时出现高表达水平, 肝脏部分切除术后再生能力加快。上调FHL2后发现炎症及肝硬化指标均明显增加。虽然Apo-FHL2小鼠没有自发肿瘤, 但在合并其他易感基因累积突变情况下, 致肝癌风险增加^[29]。

2.4 FHL2与胰腺癌 FHL2蛋白在胰腺导管腺癌组织中高表达。与癌旁组织相比, 胰腺癌组织内有高水平FHL2 mRNA; 免疫组织化学证实FHL2主要定位于细胞质和细胞核。敲除FHL2可抑制胰腺癌细胞存活、增殖及放射抗性, 促进细胞凋亡。与此同时, FHL2缺失可致细胞内MEK/ERK信号传导增强, 且可强烈诱导cyclin D1, cyclin E, cyclin A和cyclin B1的表达; 联合敲除FHL2和MEK1对于胰腺癌细胞恶性表型的抑制效果好于单独FHL2的缺失, 表明MEK1位于FHL2调控通路的下游^[14]。KRAS突变常见于胰腺导管腺癌^[30,31]。然而, 目前尚缺乏FHL2参与KRAS信号传导的相关数据。

2.5 FHL2与胆管癌 FHL2在胆管癌细胞中高表达。用免疫组织化学方法检测了35例胆管癌组织、10例正常胆管

黏膜组织中的FHL2蛋白的表达, 在胆管癌组织中FHL2蛋白阳性表达率达91.4%, 显著高于胆管正常黏膜组织的10.0%, 且其阳性表达率随胆管癌的淋巴转移和周围组织浸润深度而增加^[32]. 这就提示FHL2可协同Snail1负性调控钙粘蛋白从而促进肿瘤细胞的生物学行为.

3 总结

FHL2是重要的支架蛋白和衔接蛋白, 通过调节信号传导和基因转录参与细胞黏附、侵袭、增殖、凋亡以及分化等生理病理过程. 除了上文我们所提及的, FHL2在宫颈癌、舌鳞状细胞癌、急性白血病、胶质母细胞瘤中均为高表达, 即促进肿瘤细胞的增殖、侵袭、转移. 而在神经母细胞瘤中, FHL2通过抑制Id2促进细胞分化, 发挥抑癌活性的作用. 总之, FHL2在不同肿瘤中的表达水平不同, 发挥着促癌或抑癌活性的作用, FHL2这种双重特性可能与其在不同细胞类型中与不同功能的蛋白相互作用有关.

消化系统肿瘤中FHL2既有促癌作用也有抑癌作用, 迄今为止, 没有相关文献报道过FHL2在食管癌中的表达情况. 全球食管癌的发病率位列全部恶性肿瘤的第六位, 死亡率位居第四位, 而我国食管癌占全球的70%以上^[33]. 我国食管癌90%以上病理类型是鳞状细胞癌, FHL2在宫颈鳞癌、舌鳞状细胞癌中均为高表达, 所以我们推断FHL2在食管鳞状细胞癌中的表达可能为高表达, 当然这需要相关实验数据来佐证. 此外, 目前也没有相关文献提及与FHL2相关的外周血的检测, 是否可以通过检测FHL2相关的可溶性分子来间接检测FHL2? 比如FHL2可调节ADAM-17质膜定位, 而后者是一个剪切酶, 可以促进IL-6、EGFR等的脱落, 那么我们是否可以通过检测这些分子来判断食管鳞癌患者的预后? 食管鳞癌患者FHL2蛋白的测定是否可以对治疗方案有帮助还需进一步研究. 综上, 进一步深入研究FHL2在食管鳞状细胞癌中的表达及相关信号通路将有助于阐明FHL2在食管鳞状细胞癌中发生发展的分子机制, 并为食管鳞状细胞癌的临床诊疗提供新的理论依据及潜在分子治疗靶点.

4 参考文献

- 董颖, 杨文君. 消化道恶性肿瘤流行病学特征与发病现状分析. *医学综述* 2014; 20: 429-431 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2014.03.015]
- 陈万青, 张思维, 郑荣寿, 曾红梅, 邹小农, 赵平, 吴良有, 李光琳, 赫捷. 中国2009年恶性肿瘤发病和死亡分析. *中国肿瘤* 2013; 22: 2-12
- Jin X, Jiao X, Jiao J, Zhang T, Cui B. Increased expression of FHL2 promotes tumorigenesis in cervical cancer and is correlated with poor prognosis. *Gene* 2018; 669: 99-106 [PMID: 29800735 DOI: 10.1016/j.gene.2018.05.087]
- Wang Q, Wang X, Tian X, Tang R, Xu X. Four and a half LIM domains 2 contributes to the development of human tongue squamous cell carcinoma. *J Mol Histol* 2016; 47: 105-116 [PMID: 26759260 DOI: 10.1007/s10735-016-9654-7]
- Lu W, Yu T, Liu S, Li S, Li S, Liu J, Xu Y, Xing H, Tian Z, Tang K, Rao Q, Wang J, Wang M. FHL2 interacts with iASPP and impacts the biological functions of leukemia cells. *Oncotarget* 2017; 8: 40885-40895 [PMID: 28402264 DOI: 10.18632/oncotarget.16617]
- Cheng Z, Dai Y, Pang Y, Jiao Y, Zhao H, Zhang Z, Qin T, Hu N, Zhang Y, Ke X, Chen Y, Wu D, Shi J, Fu L. Enhanced expressions of FHL2 and iASPP predict poor prognosis in acute myeloid leukemia. *Cancer Gene Ther* 2019; 26: 17-25 [PMID: 29910468 DOI: 10.1038/s41417-018-0027-0]
- Sun L, Yu S, Xu H, Zheng Y, Lin J, Wu M, Wang J, Wang A, Lan Q, Furnari F, Cavenee W, Purow B, Li M. FHL2 interacts with EGFR to promote glioblastoma growth. *Oncogene* 2018; 37: 1386-1398 [PMID: 29321665 DOI: 10.1038/s41388-017-0068-0]
- Shi X, Bowlin KM, Garry DJ. Fhl2 interacts with Foxk1 and corepresses Foxo4 activity in myogenic progenitors. *Stem Cells* 2010; 28: 462-469 [PMID: 20013826 DOI: 10.1002/stem.274]
- 卢文婷, 王敏. FHL2基因及其相关疾病的研究进展. *医学综述* 2017; 23: 645-649 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2017.04.005]
- 蔡婷, 何伟春, 骆静, 袁琦, 孟美娟, 杨俊伟. FHL2蛋白在肿瘤中的转录调控及其分子生物学机制. *现代生物医学进展* 2016; 16: 1958-1961 [DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2016.10.042]
- Xue YL, Meng XQ, Ma LJ, Yuan Z. Plumbagin exhibits an anti-proliferative effect in human osteosarcoma cells by downregulating FHL2 and interfering with Wnt/ β -catenin signaling. *Oncol Lett* 2016; 12: 1095-1100 [PMID: 27446400 DOI: 10.3892/ol.2016.4725]
- Hua G, He C, Lv X, Fan L, Wang C, Remmenga SW, Rodabaugh KJ, Yang L, Lele SM, Yang P, Karpf AR, Davis JS, Wang C. The four and a half LIM domains 2 (FHL2) regulates ovarian granulosa cell tumor progression via controlling AKT1 transcription. *Cell Death Dis* 2016; 7: e2297 [PMID: 27415427 DOI: 10.1038/cddis.2016.207]
- Yan Q, Zhang W, Wu Y, Wu M, Zhang M, Shi X, Zhao J, Nan Q, Chen Y, Wang L, Cheng T, Li J, Bai Y, Liu S, Wang J. KLF8 promotes tumorigenesis, invasion and metastasis of colorectal cancer cells by transcriptional activation of FHL2. *Oncotarget* 2015; 6: 25402-25417 [PMID: 26320172 DOI: 10.18632/oncotarget.4517]
- Zienert E, Eke I, Aust D, Cordes N. LIM-only protein FHL2 critically determines survival and radioresistance of pancreatic cancer cells. *Cancer Lett* 2015; 364: 17-24 [PMID: 25917075 DOI: 10.1016/j.canlet.2015.04.019]
- Ebrahimian T, Arfa O, Simeone S, Lemarié CA, Lehoux S, Wassmann S. Inhibition of four-and-a-half LIM domain protein-2 increases survival, migratory capacity, and paracrine function of human early outgrowth cells through activation of the sphingosine kinase-1 pathway: implications for endothelial regeneration. *Circ Res* 2014; 114: 114-123 [PMID: 24084691 DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.113.301954]
- Boateng LR, Bennin D, De Oliveira S, Huttenlocher A. Mammalian Actin-binding Protein-1/Hip-55 Interacts with FHL2 and Negatively Regulates Cell Invasion. *J Biol Chem* 2016; 291: 13987-13998 [PMID: 27129278 DOI: 10.1074/jbc.M116.725739]
- Zhang W, Jiang B, Guo Z, Sardet C, Zou B, Lam CS, Li J, He M, Lan HY, Pang R, Hung IF, Tan VP, Wang J, Wong BC. Four-and-a-half LIM protein 2 promotes invasive potential and epithelial-mesenchymal transition in colon cancer. *Carcinogenesis* 2010; 31: 1220-1229 [PMID: 20460358 DOI: 10.1093/carcin/bgq094]
- Wang J, Yang Y, Xia HH, Gu Q, Lin MC, Jiang B, Peng Y, Li G, An X, Zhang Y, Zhuang Z, Zhang Z, Kung HF, Wong BC. Suppression of FHL2 expression induces cell differentiation and inhibits gastric and colon carcinogenesis. *Gastroenterology*

- 2007; 132: 1066-1076 [PMID: 17383428 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.12.004]
- 19 Verset L, Tommelein J, Moles Lopez X, Decaestecker C, Mareel M, Bracke M, Salmon I, De Wever O, Demetter P. Epithelial expression of FHL2 is negatively associated with metastasis-free and overall survival in colorectal cancer. *Br J Cancer* 2013; 109: 114-120 [PMID: 23756870 DOI: 10.1038/bjc.2013.290]
- 20 Al-Nomani L, Friedrichs J, Schüle R, Büttner R, Friedrichs N. Tumoral expression of nuclear cofactor FHL2 is associated with lymphatic metastasis in sporadic but not in HNPCC-associated colorectal cancer. *Pathol Res Pract* 2015; 211: 171-174 [PMID: 25554651 DOI: 10.1016/j.prp.2014.12.001]
- 21 Cao CY, Mok SW, Cheng VW, Tsui SK. The FHL2 regulation in the transcriptional circuitry of human cancers. *Gene* 2015; 572: 1-7 [PMID: 26211626 DOI: 10.1016/j.gene.2015.07.043]
- 22 De Craene B, Berx G. Regulatory networks defining EMT during cancer initiation and progression. *Nat Rev Cancer* 2013; 13: 97-110 [PMID: 23344542 DOI: 10.1038/nrc3447]
- 23 Zhang W, Wang J, Zou B, Sardet C, Li J, Lam CS, Ng L, Pang R, Hung IF, Tan VP, Jiang B, Wong BC. Four and a half LIM protein 2 (FHL2) negatively regulates the transcription of E-cadherin through interaction with Snail1. *Eur J Cancer* 2011; 47: 121-130 [PMID: 20801642 DOI: 10.1016/j.ejca.2010.07.045]
- 24 Amann T, Egle Y, Bosserhoff AK, Hellerbrand C. FHL2 suppresses growth and differentiation of the colon cancer cell line HT-29. *Oncol Rep* 2010; 23: 1669-1674 [PMID: 20428824 DOI: 10.3892/or.00000810]
- 25 刘霖. FHL-2和COX-2在胃癌组织中表达及相关性分析. *现代肿瘤医学* 2011; 19: 733-735
- 26 Zhang W, Yang Y, Jiang B, Peng J, Tu S, Sardet C, Zhang Y, Pang R, Hung IF, Tan VP, Lam CS, Wang J, Wong BC. XIAP-associated factor 1 interacts with and attenuates the trans-activity of four and a half LIM protein 2. *Mol Carcinog* 2011; 50: 199-207 [PMID: 21104993 DOI: 10.1002/mc.20705]
- 27 Ng CF, Ng PK, Lui VW, Li J, Chan JY, Fung KP, Ng YK, Lai PB, Tsui SK. FHL2 exhibits anti-proliferative and anti-apoptotic activities in liver cancer cells. *Cancer Lett* 2011; 304: 97-106 [PMID: 21377781 DOI: 10.1016/j.canlet.2011.02.001]
- 28 Ding L, Wang Z, Yan J, Yang X, Liu A, Qiu W, Zhu J, Han J, Zhang H, Lin J, Cheng L, Qin X, Niu C, Yuan B, Wang X, Zhu C, Zhou Y, Li J, Song H, Huang C, Ye Q. Human four-and-a-half LIM family members suppress tumor cell growth through a TGF-beta-like signaling pathway. *J Clin Invest* 2009; 119: 349-361 [PMID: 19139564 DOI: 10.1172/JCI35930]
- 29 Nouët Y, Dahan J, Labalette C, Levillayer F, Julien B, Jouvion G, Cairo S, Vives FL, Ribeiro A, Huerre M, Colnot S, Perret C, Nhieu JT, Tordjmann T, Buendia MA, Wei Y. The four and a half LIM-only protein 2 regulates liver homeostasis and contributes to carcinogenesis. *J Hepatol* 2012; 57: 1029-1036 [PMID: 22796152 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.06.035]
- 30 Reid MD, Saka B, Balci S, Goldblum AS, Adsay NV. Molecular genetics of pancreatic neoplasms and their morphologic correlates: an update on recent advances and potential diagnostic applications. *Am J Clin Pathol* 2014; 141: 168-180 [PMID: 24436263 DOI: 10.1309/AJCP0FKDP7ENVKEV]
- 31 Heestand GM, Kurzrock R. Molecular landscape of pancreatic cancer: implications for current clinical trials. *Oncotarget* 2015; 6: 4553-4561 [PMID: 25714017 DOI: 10.18632/oncotarget.2972]
- 32 田舍, 张弛, 孙跃明. FHL2在人胆管癌组织中的表达及其临床意义. *江苏医药* 2012; 38: 1413-1414
- 33 Li F, Zhu D, Yang Y, Wu K, Zhao S. Overexpression of calcyphosine is associated with poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncol Lett* 2017; 14: 6231-6237 [PMID: 29113272 DOI: 10.3892/ol.2017.6973]

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2019 Baishideng Publishing Group Inc.
All rights reserved.

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 文献综述, 研究快报, 临床实践, 病例报告, 会议跟踪. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确.

失重环境对消化系统创伤和应激损伤及修复研究进展

李彬彬, 陈正阳, 郭松, 孙宏伟, 崔彦

李彬彬, 安徽医科大学解放军306临床学院普通外科 北京市 100101

陈正阳, 郭松, 北京大学解放军306医院教学医院普通外科 北京市 100101

孙宏伟, 崔彦, 解放军第306医院普通外科 北京市 100101

李彬彬, 主治医师, 主要从事消化外科的临床和基础研究.

基金项目: 全军试验技术研究计划重点项目, No. SYFD1500128.

作者贡献分布: 本课题由崔彦设计; 由李彬彬、陈正阳、郭松及孙宏伟共同收集资料和分析; 论文撰写由李彬彬完成; 崔彦指导论文写作.

通讯作者: 崔彦, 主任医师, 教授, 100101, 北京市朝阳区安翔北里9号, 解放军第306医院普通外科. dryancui@aliyun.com
电话: 010-66356138

收稿日期: 2019-06-15

修回日期: 2019-08-12

接受日期: 2019-08-26

在线出版日期: 2019-09-08

Progress in research of digestive system trauma and stress injury under microgravity environment

Bin-Bin Li, Zheng-Yang Chen, Song Guo, Hong-Wei Sun, Yan Cui

Bin-Bin Li, Department of General Surgery, The PLA 306 Teaching Hospital of Anhui Medical University, Chaoyang District, Beijing 100101, China

Zheng-Yang Chen, Song Guo, Department of General Surgery, The 306 Hospital of PLA-Peking University Teaching Hospital, Chaoyang District, Beijing 100101, China

Hong-Wei Sun, Yan Cui, Department of General Surgery, The 306 Hospital of PLA, Chaoyang District, Beijing 100101, China

Supported by: The Key Program of PLA Technology Research Plan, No. SYFD1500128.

Corresponding author: Yan Cui, chief Physician, Professor, Department of General Surgery, The 306 Hospital of PLA, Chaoyang District, Beijing 100101, China. dryancui@aliyun.com

Received: 2019-06-15

Revised: 2019-08-12

Accepted: 2019-08-26

Published online: 2019-09-08

Abstract

The last two decades have witnessed the rapid development of China's manned spaceflight industry. Studies have showed that the weightlessness environment has a series of adverse effects on the human body. Due to the complexity of the structure and function of the digestive system, the impact of weightlessness on the digestive system has certain particularity. How to ensure the steady state of the digestive system during astronaut's space mission and in the training under simulated weightlessness needs to be studied urgently. This review focuses on the progress in the research of digestive system trauma, stress injury, and repair under microgravity environment.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Microgravity; Digestive system; Trauma; Stress injury

Li BB, Chen ZY, Guo S, Sun HW, Cui Y. Progress in research of digestive system trauma and stress injury under microgravity environment. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(17): 1088-1094
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1088.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i17.1088>

摘要

20世纪90年代以来, 中国载人航天事业发展迅猛, 航天医学研究亦取得长足进步. 研究证实, 失重环境对机体产生了一系列不良影响. 由于消化系统结构和功能的复杂性, 失重对消化系统的影响具有一定特殊性. 如何保障航天员在执行航天任务及参加模拟

失重训练过程中消化系统的稳定状态, 亟待深入研究. 本文围绕失重环境对消化系统创伤和应激损伤与修复的研究新进展作一论述.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 失重; 消化系统; 创伤; 应激损伤; 修复

核心提要: 本文复习相关文献, 综述了近年来微重力和消化系统关联性研究进展, 就失重环境对消化系统创伤和应激损伤与修复等方面的研究进展作一综述, 为进一步相关研究提供依据和思路.

李彬彬, 陈正阳, 郭松, 孙宏伟, 崔彦. 失重环境对消化系统创伤和应激损伤及修复研究进展. 世界华人消化杂志. 2019; 27(17): 1088-1094
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1088.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i17.1088>

0 引言

自上世纪90年代以来, 中国载人航天事业发展迅猛, 航天医学研究亦取得长足进步. 研究证实, 失重环境对机体各系统器官产生了一系列不良影响. 由于消化系统结构和功能的复杂性, 失重对消化系统的影响具有一定特殊性^[1-3]. 保障航天员在执行航天任务及参加模拟失重训练过程中消化系统的稳定状态, 明确微重力环境对消化系统创伤与应激损伤及修复的特点和机理及应对措施, 亟待深入研究^[4]. 本文围绕失重环境对消化系统创伤和应激损伤及修复的研究新进展作一论述.

1 失重环境对口腔的影响

口腔是消化系统的起始部位, 口腔健康对于航天员来说至关重要. 怀旭等^[5]研究地面模拟失重状态对唾液分泌型免疫球蛋白A(salivary secretory immunoglobulin A, SIgA)分泌的影响, 14名男性志愿者头低位-6°模拟失重30 d, 分别在实验前3天、第3天、15天、30天及实验后恢复第3天对受试者采集10 min唾液, 测定SIgA含量并计算SIgA分泌率, 发现受试者唾液流量表现出先下降再恢复的特点, 唾液SIgA浓度和分泌率明显增加, 受试结束后各指标恢复到受试前水平, 研究结果提示受试者对失重环境产生免疫应激和适应性反应. Mednieks等^[6]研究微重力对唾液腺分泌蛋白的影响, 对搭乘美国空间飞行器小鼠的唾液蛋白成分变化进行分析, 发现实验小鼠腺泡细胞分泌的淀粉酶和脯氨酸富集蛋白的含量较对照组明显降低, 分析可能与模拟失重环境对cAMP信号调节通路有关, 并认为特殊唾液蛋白的生化检测可作为空间飞行及地面事件应激的潜在生物学指标. 李彦等^[7]

研究微重力环境下Smads信号通路对人牙周膜干细胞成骨向分化的影响, 发现实验组Smads 2、3、4 mRNA的表达量与对照组相比明显增加, 在2 h达到峰值, 随后呈下降趋势; p-Smads(磷酸化Smads)表达量呈上升趋势, 2 h达峰值; 加入Smads抑制剂后p-Smads表达下降, 同时成骨标志物胶原蛋白1(collagen1, COL1)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、骨钙素(osteocalcin, OCN)表达量明显降低, 研究表明, 在模拟微重力环境下, Smads信号通路参与并促进人牙周膜干细胞成骨向分化, 这与Li等^[8]研究的结果基本一致. 研究还发现, 模拟微重力环境下人类牙髓干细胞的增殖和粘附能力增强, 而细胞的迁移能力降低, 同时, 整合素 α 6、整合素 α 5、整合素 β 1、层粘连蛋白 β 1、细胞粘素C等表达明显升高^[9]. 另外, 袁林天等^[10]研究模拟失重条件下钙、磷代谢变化及转化生长因子 β 1(transforming growth factor- β , TGF- β 1)、c-fos及I和IV型胶原蛋白在牙髓、牙周组织中的功能效应, 发现失重引起牙本质矿化不良, 1.5 G对抗措施能改善其对牙体组织矿物质代谢带来的不利影响, 并认为TGF- β 1、c-fos和胶原I分泌减少是导致矿化不良的重要原因. Rai等^[11]通过男女各10名志愿者-6°头低位卧床30 d试验研究发现, 无论男性或女性下颌骨和牙槽骨的骨密度、骨矿物质含量均较正常对照组显著降低, 而龈沟液中组织蛋白、骨钙蛋白、基质金属蛋白酶-8(matrix metalloproteinase-8, MMP-8)和基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)含量较对照组显著增高, 结论认为组织蛋白、骨钙蛋白可能与微重力环境导致骨丢失有关; 而基质金属蛋白酶MMP-8和MMP-9是机体的防御蛋白, 其含量增高可能与微重力环境导致细菌的毒力增加有关. 汤楚华等^[12]研究模拟失重后再超重对猴牙龈组织的影响, 发现模拟失重30 d后再超重环境中猴牙龈组织结构未见明显改变, 但牙龈组织趋化因子CCL20(chemokine ligand 20, CCL20)及趋化因子受体6(chemokine receptor 6, CCR6)表达明显增强. 师天鹏等^[13]研究30 d头低位卧床对男性牙龈色彩的影响, 分别在实验前3 d、实验第20天、第30天及实验后第3天检测游离龈和附着龈的色彩, 发现与实验前相比, 在实验的第20天和第30天游离龈和附着龈发生明显的炎症反应, 这说明微重力可引发或加重口腔炎症. 张凯等^[14]研究模拟失重对大鼠咬肌超微结构的影响, 发现实验组大鼠咬肌的肌纤维在1 wk时出现了部分溶解现象, 而咬肌溶解情况在第2周得到减轻, 于第4周基本缓解, 认为模拟失重环境对大鼠咬肌造成的损伤随时间延长可发生逆转. 一系列研究表明, 失重对口腔微生态、唾液成分、牙龈组织、咀嚼肌等确有重要影响, 但具体机制有待于进一步的研究.

2 失重环境对胃肠道损伤和修复的影响

2.1 失重环境对胃肠的影响 胃肠道黏膜在各种应激反应过程中容易产生大量氧自由基, 进而导致胃肠黏膜细胞损伤并引发溃疡形成^[15]. 失重环境对于机体来说是一种特殊的应激源. 李成林等^[16]进行尾大鼠悬吊法模拟失重实验, 探讨模拟失重条件下健康大鼠肠道黏膜组织中核因子- κ B(nuclear factor - κ B, NF- κ B)的表达变化及其意义, 结果发现0.5 d、1 d、2 d、7 d和21 d模拟失重组大鼠肠道组织NF- κ B表达水平均显著升高, 模拟失重0.5 d组肠道组织NF- κ B表达开始升高, 2 d组达高峰, 随模拟失重时间的延长, NF- κ B表达水平依次下降, 21 d组仍然高于相应对照组. 结论认为, 尾悬吊模拟失重大鼠肠道组织NF- κ B表达水平明显上调, 提示肠道组织NF- κ B表达变化与失重应激反应和失重耐受有密切关系. 郭彪等^[17]研究尾悬吊模拟失重环境中大鼠血清胃泌素含量波动和胃黏膜腺区热休克蛋白70(heat shock protein70, Hsp70)表达变化, 发现尾悬吊早期大鼠胃黏膜屏障会受到源自局部和全身性的应激损伤, 而在失重暴露急性期之后机体则可通过多种机制对失重得以适应. 进一步研究发现, 尾悬吊模拟失重大鼠胃黏膜组织超微结构和氧化应激状态亦产生重要影响, 透射电镜下可见尾悬吊模拟失重大鼠胃黏膜部分腺细胞核皱缩畸形, 染色质浓缩边聚、线粒体肿胀、嵴断裂、溶解、空泡变性和粗面内质网扩张; 其次, 实验组大鼠胃黏膜组织中NOS2和COX2表达呈现出一定规律的波动, 并与NO含量变化趋势具有一致性, 这可能与胃黏膜组织中存在急相失重应激反应向慢相失重应激反应的过渡, 在应激消耗与提升应激耐力之间、应激损伤与应激复原之间存在交织和综合效应关系. 结论认为, 持续尾悬吊可造成细胞膜脂质过氧化物堆积, 胃黏膜细胞超微结构出现应激损伤改变, 胃黏膜层变薄, 分泌及屏障等功能受损, 进而有可能形成不可逆的不良后果^[18]. 王利芳等^[19]通过大鼠实验研究失重对消化系统功能的影响, 观察模拟失重条件下大鼠胃黏膜瘦素及瘦素受体表达的变化, 发现瘦素及其受体免疫反应阳性细胞均分布于胃底腺的中下部区域, 阳性物质主要定位于主细胞和壁细胞, 并且模拟失重大鼠胃黏膜瘦素免疫反应阳性细胞密度显著增加, 因此认为28 d尾悬吊模拟失重可致大鼠胃黏膜瘦素及其受体表达增加, 提示瘦素可能参与失重过程中消化道功能紊乱的调节.

胃肠道不仅消化和吸收营养物质, 而且还具有高效的屏障功能. 研究证实, 失重对胃肠黏膜结构、屏障功能、通透性、微生态等均造成一定影响. Rivera等^[20]进行地面模拟失重动物实验研究, 发现微重力环境下胃肠道蠕动紊乱和菌群移位, 肠黏膜屏障受到损害, 导致

内毒素成分进入门静脉而对肝脏造成损伤. 周金莲等^[21]研究进一步证实, 尾悬吊模拟失重可导致大鼠门静脉内毒素血症. 内毒素是存在于革兰氏阴性杆菌菌体细胞壁内的脂多糖, 其在细菌死亡、细胞壁崩解时释出. 消化道革兰氏阴性菌主要寄生在回肠和结肠. 分析认为, 在失重不良刺激作用下, 胃肠道应激反应、蠕动紊乱、血管床瘀血和微生态失调等一系列因素造成肠黏膜屏障受损, 使得细菌和细菌产物更容易进入门静脉. Ying等^[22]的研究表明, 尾悬吊模拟失重14 d和21 d小鼠的小肠黏膜紧密连接蛋白表达显著下降, 导致小肠黏膜通透性增加, 影响肠道微环境稳定, 损害肠黏膜屏障, 导致毒素或微生物及代谢物移位, 引发局部及全身反应, 导致不良后果. Smith等^[23]报道, 在美国宇航局的极限环境任务V中, 通过对4男2女14 d空气饱和潜水研究表明, 航天飞行与潜水任务均使乘员能量摄入减少并导致体重下降, 认为该地基模拟环境可作为评估机体生理效应和营养状态及研究针对性措施的有效模型. Shi等^[24]进行后肢悬吊小鼠模拟微重力实验, 研究发现微重力条件导致小鼠肠道微生态失调, 厚壁菌增多, 拟杆菌减少, 结肠上皮细胞内稳态发生变化, 上皮细胞复制率降低, 杯状细胞数量减少, 防御和炎症反应相关基因表达减少, 右旋糖酐硫酸钠的肠上皮损伤敏感性增加, 胃肠动力受影响, 屏障功能受损, 结肠炎易感性增加, 因此强调长期空间飞行过程中评估航天员肠道微生态稳定的必要性. 鲍时明等^[25]研究模拟失重环境对腹腔感染大鼠肠黏膜屏障的损害作用及抗感染治疗效果, 发现模拟失重大鼠回肠黏膜和黏膜下层出现明显的间质水肿和血管充血, 黏膜层炎性细胞浸润, 肠绒毛排列紊乱, 黏膜上皮脱落, 部分黏膜固有层腺体局灶性坏死; 模拟失重大鼠回肠黏膜Occludin和ZO-1蛋白表达稀少, Occludin和ZO-1蛋白表达量处于低谷水平; Fas、FasL和Bax mRNA表达增强, 经尾静脉注射盐酸莫西沙星氯化钠注射液治疗组大鼠回肠黏膜病变较轻及相应指标明显缓解, 故认为模拟失重环境导致盲肠结扎穿孔术所致腹腔感染大鼠肠黏膜屏障损害进一步加剧, 静脉用盐酸莫西沙星对其有确定治疗效果.

2.2 失重环境对肠道微生物的影响 人体肠道内寄生有大量的微生物, 肠道菌群的稳态性对机体营养、代谢、免疫等至关重要. 在肠道微环境中, 微生物菌群可以直接或间接影响机体的生物化学、生理和免疫途径, 具有调节肠道屏障功能的重要作用^[26,27]. 有关空间环境及模拟微重力环境对微生物生物学性状的影响、应用及其分子遗传机制等一直是该领域研究的热点问题. 有关失重导致肠道微生态失调的国内外早期研究, 笔者先作过综述^[3]. Ritchie等^[28]进行微重力、饮食铁以及放射线

等影响结肠菌群和结肠功能的动物实验, 发现空间飞行和地面模拟微重力均引起梭状菌增加, 乳杆菌减少, 提示重力对结肠菌群产生重要影响. Li等^[29]研究报道, 模拟微重力环境影响小鼠小肠菌群及免疫系统, 造成肠道微生态紊乱, 并强调应对长期空间飞行过程中炎症肠病进行研究评估. Yang等^[30]研究发现, 模拟微重力环境中小鼠肠道菌群移位, 脆弱拟杆菌、大肠杆菌、巨核梭杆菌数量增加, 双歧杆菌数量减少, 而肌肉注射雌激素具有抑制大肠杆菌和降低脂多糖血浆浓度的作用. Jiang等^[31]研究发现21 d回转器模拟微重力可加速白色假丝酵母菌SC5314的生长速度, 促进菌丝生长, 同时能增加菌株对氟康唑的敏感性.

大肠埃希菌是最常见的条件致病菌. Li等^[32]研究搭载飞船17 d的大肠埃希菌菌株LCT-EC52和LCT-EC59, 发现空间环境中菌株在代谢、转录和蛋白组水平发生广泛而显著的变化, 这对认识大肠杆菌的空间适应变异及危害有重要意义. 刘蓉等^[33]采用二代测序技术研究模拟失重下空间诱变大肠杆菌(T1-13)感染巨噬细胞RAW264.7后差异表达的miRNAs及其意义, 发现模拟失重下空间诱变大肠杆菌感染巨噬细胞后miRNAs表达出现显著差异, 这些miRNAs可能通过调控丝裂原活化蛋白激酶、WNT以及TGF- β 等通路参与失重条件下炎症反应的发生. 姚静等^[34]观察空间诱变大肠杆菌感染尾吊模拟失重小鼠后炎症反应变化, 发现空间诱变大肠杆菌感染尾吊小鼠后可显著升高血浆及肠道组织中炎症因子表达, 导致更严重的肠道黏膜屏障受损, 这提示尾悬吊模拟失重动物感染诱变大肠杆菌可加重机体的炎症反应.

嗜酸乳酸杆菌作为一种人类典型的益生菌, 在微重力环境下亦发生重要变化. Shao等^[35]研究表明, 在模拟微重力条件下尽管其形态未发生重要变化, 但生长周期加速, 耐酸能力加强, 对头孢阿列辛、硫酸庆大霉素、青霉素钠盐等的敏感度下降, 并通过调节肝HepG2细胞中胆固醇代谢基因CYP7A1、ABCB11、LDLR和HMGCR的表达而提高嗜酸乳酸杆菌体外降胆固醇的能力.

一系列研究表明, 在空间飞船特殊环境中, 局限性的生活方式、极端的环境应激等众多因素会打破机体与微生物之间的平衡, 微生物群发生变化及变异, 部分微生物的毒力增强, 机体免疫系统失调, 众多因素导致航天员面对微生物感染的风险增加. 微重力对肠道微生物的影响列表见表1. 显然, 通过饮食和益生菌疗法维护航天员肠道微生态非常重要^[36,37].

3 失重环境对肝脏损伤和修复的影响

肝脏的功能极其复杂, 研究失重对肝脏造成的损伤及机

制相对较为困难. 在失重环境中, 肝脏受到瀑布式的直接和间接的应激作用, 正常生理机能受到影响. 国内外学者早年在失重影响肝功能方面进行过一系列实验研究^[3]. 后续有学者进行尾悬吊同时进行对抗训练2 mo的模拟失重动物实验, 进一步证实, 长时间失重对肝脏造成明显损伤, 触发肝细胞凋亡, 而对抗训练在一定程度上具有改善肝脏损害的作用^[38].

微重力环境还可以对肝脏代谢造成一定的影响. Anselm等^[39]研究搭载飞船“Bion-M 1”30 d飞行小鼠的肝脏代谢特点, 蛋白组学分析结果显示218种蛋白上调, 224种蛋白下调, 7 d地面适应后氨基酸代谢相关蛋白水平呈现高表达, 过氧化物酶增殖激活受体通路恢复正常, 前者提示糖异生过程加速, 后者提示肝脏的脂质过氧化应激反应减轻, 而且, 在跨膜蛋白和CYP超家族蛋白恢复的基础上, 胆汁酸分泌趋于正常, 研究结果提示, 30 d飞行小鼠返回地面后一周内肝脏的药理反应复原, 肝脏脂质氧化毒性下降, 糖异生波动, 葡萄糖摄取应予监测. Jonscher等^[40]应用代谢组学和转录组学技术以及拉曼显微镜, 研究搭载Space Transportation System -135太空飞行13 d小鼠的肝脏脂代谢特点, 发现失重小鼠体重减轻, 脂类重新分布, 肝细胞内视黄醇生成和储存缺乏, 后者与过氧化物酶体增殖物激活受体- α 介导通路和肝星状细胞激活有关, 伴有胆汁酸分泌增加及肝损害早期特征, 分析认为, 虽然13 d短期太空飞行不足以形成肝组织纤维化, 但视黄醇生成和储存缺乏, 加之细胞外基质重构标记物的变化, 提示长期太空环境暴露下肝脏有可能发生进行性损害, 增加罹患非酒精性脂肪肝的风险.

失重不仅影响肝细胞代谢, 同时也可以改变肝细胞的增殖能力. Chen等^[41]研究发现, 悬尾模拟微重力14、28和42 d动物的肝细胞增殖因子Ki67、PCNA和PH3等表达显著下降, 细胞周期调节因子Ccn2、Ccn1、Cdk1、Cdk2和cyclin D3等亦显著下调, 进一步研究发现, 失重环境下肝细胞增殖受到抑制与miR-223表达上调有密切关系, 而miR-223抑制肝细胞增殖的直接靶点为细胞周期蛋白依赖激酶2(cyclin-dependent kinase 2, CDK2)和促血管增生卡林蛋白1, 后者与阻滞肝细胞增殖的p27呈负相关. 亦有学者研究CL-1肝细胞跟人肝星形细胞(hepatic stellate cells, HSC)进行微载体微重力共培养来提高CL-1肝细胞的活力与功能的可行性, 结论认为, 人肝细胞、HSC微载体微重力共培养研究有利于维持及增强旋转生物反应器的肝细胞活力及功能, 对人工肝的培养模式发展具有重要意义^[42]. 田西朋等^[43]探讨细胞回旋培养系统模拟微重力对小鼠肝kupffer细胞增殖及相关基因表达的影响, 结果显示小鼠肝kupffer细胞在失重应激损伤期, 其增殖功能受到抑制, 一定时相后

表 1 微重力对肠道微生物的影响

细菌	培养条件	细菌对微重力的反应	参考文献
长双歧杆菌	模拟失重(尾悬吊)	细胞数量显著减少	[30]
乳杆菌	太空飞行(Space flight)	失重能够减少的乳杆菌在肠道中的比例	[28]
巨核梭杆菌	模拟失重(尾悬吊)	细胞增值周期缩短, 细胞数量增加	[30]
	模拟失重(尾悬吊)	基因表达增加细胞增值周期缩短和细胞数量增加	[30]
	太空飞行(Space flight)	短期太空飞行对大肠杆菌表型、基因组、转录组和蛋白质组了产生显著的影响	[32]
	太空飞行(Space flight)	模拟失重下空间诱变大肠杆菌感染巨噬细胞后miRNAs表达出现显著差异	[33]
大肠杆菌	模拟失重(尾悬吊)	模拟失重可导致细菌的致病能力增强, 炎症因子表达增强	[34]
	模拟失重(RCCS)	模拟微重力增加细胞的生长速度和菌丝的形成并对氟康唑的敏感性增强	[31]
嗜酸乳酸杆菌	模拟失重(RCCS)	细胞的生长周期加速, 耐酸能力加强对部分抗生素敏感性降低	[35]

RCCS: 旋转细胞培养系统.

其增殖能力伴随相关基因变化得以恢复并被激活强化, 提示肝脏kupffer细胞可能在分子基因水平通过调整吞噬和分泌机制, 在刺激应答、调节炎症反应介质、维护细胞功能、防御级联损伤等环节中发挥作用, 这对失重乃至机体内外各种不良环境和应激情况下肝脏kupffer细胞发挥免疫调节、抵御感染及损伤修复等方面具有重要意义.

对失重环境影响肝脏的情况采取针对性措施, 亦是学术界探讨的重要问题之一. 宋艳等^[44]观察预针刺和针刺治疗对模拟失重大鼠肝脏超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-PX)活力、丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量及Hsp70表达的影响, 大鼠尾部悬吊4 wk复制模拟失重模型, 预针刺组在尾部悬吊前1 wk, 电针刺刺激双侧“肾俞”、“脾俞”和“三阴交”穴, 30 min/次, 每日1次, 发现预针刺可以明显抑制大鼠尾部悬吊引起的肝HSP 70表达的上调, 其他指标亦有不同程度的改善, 提示预针刺可能有利于提高肝脏的抗氧化能力. 邓忠伟等^[45]采用尾悬吊法建立模拟失重Wistar大鼠模型, 盲肠结扎穿孔术(cecal ligation and puncture, CLP)建立腹腔感染模型, 研究模拟失重环境下腹腔感染大鼠肝脏微循环变化及经尾静脉注射盐酸莫西沙星抗感染治疗效果, 研究结果提示模拟失重环境下CLP所致腹腔感染可造成肝脏微循环障碍, 静脉用盐酸莫西沙星对改善肝脏微循环障碍及损伤有确定效果.

肝脏作为人体最重要的生化代谢和免疫调节以及解毒器官, 在机体应对特殊环境及生理病理演变过程中起着至关重要的作用^[46]. 一系列研究表明, 长期太空飞行对机体多系统器官造成一定影响, 肝脏是最容易累及的器官之一. 相关机理研究及针对性措施方面, 尚待深入研究.

4 失重环境下对胰腺损伤和修复的影响

胰腺为人体主要的分泌性腺体, 主要包括外分泌和内分泌两大功能^[47]. 尽管失重对胰腺影响的研究报道不多, 但前期研究表明失重对胰腺体积和重量、血清淀粉酶和脂肪酶、胰岛素和胰高血糖素及生长抑素分泌、血糖代谢以及胰腺组织应激反应等造成明确影响^[3]. 进一步研究表明, 失重对胰腺确有重要影响. Proshchina等^[48]观察搭载飞船Bion-M1 Space Mission的小鼠, 研究长时间空间飞行对胰腺的影响, 通过形态计量及统计学分析, 发现小鼠的胰岛体积与体重密切相关, 无论作为搭载空间飞行动物还是地面对照动物, 运动机能减退及强化营养对此起重要作用. 借助微重力三维培养技术亦可观察细胞与细胞以及细胞与环境之间的交互关系. Samuelson等^[49]研究发现, 相比二维培养, 在微重力三维培养环境中, 胰腺前体细胞的生长和功能得到改善, 细胞增殖加速, 转录信号强化, 基因转译改善, 细胞对葡萄糖刺激发生反应, 研究结果提示微重力三维培养器堪比具有糖尿病治疗潜在价值的胰腺细胞壁龛. 上述研究结果表明, 失重对胰腺组织结构和功能均可造成一定的影响, 但具体机制有待进一步探讨.

5 展望

随着我国载人航天事业的迅猛发展, 航天医学研究和保障面临重大的机遇与挑战. 失重作为一种极为特殊的环境因素, 可造成消化系统一系列生理性和/或病理性改变, 包括对消化液和消化道激素分泌、胃肠黏膜屏障、口腔和肠道微生态、胃肠道血液及淋巴循环、药物药动学和药效学以及肝脏和胰腺等的影响. 如何保障航天员在执行航天任务及参加模拟失重训练过程中消化系统的稳态平衡, 意义重大. 由于消化系统结构和功能十分复杂, 国内外在这方面的研究相对滞后. 失重环境对

消化系统创伤和应激损伤及修复的特点和机理以及应对措施, 将是下一步研究的重点。

6 参考文献

- Wang L, Li Z, Tan C, Liu S, Zhang J, He S, Zou P, Liu W, Li Y. Physiological effects of weightlessness: countermeasure system development for a long-term Chinese manned spaceflight. *Front Med* 2019; 13: 202-212 [PMID: 29693211 DOI: 10.1007/s11684-017-0587-7]
- Hodkinson PD, Anderton RA, Posselt BN, Fong KJ. An overview of space medicine. *Br J Anaesth* 2017; 119: i143-i153 [PMID: 29161391 DOI: 10.1093/bja/ae336]
- 郭彪, 李成林, 崔彦. 失重对消化系统影响的研究进展. *胃肠病学和肝病学杂志* 2013; 22: 482-487
- 李雨霁, 孙宏伟, 崔彦. 失重环境中创伤和应激损伤与修复的研究进展. *解放军医药杂志* 2015; 27: 19-22 [DOI: 10.3969/j.issn.2095-140X.2015.06.005]
- 怀旭, 沈嵩, 石宁, 刘国印, 顿桓桓, 许欣. 地面模拟失重状态对唾液分泌型免疫球蛋白A分泌率的影响. *中国医药* 2012; 7: 887-890 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4777.2012.07.042]
- Mednieks M, Khatri A, Rubenstein R, Bursleson JA, Hand AR. Microgravity alters the expression of salivary proteins. *Oral Health Dent Manag* 2014; 13: 211-216 [PMID: 24984624]
- 李彦, 李石, 牛忠英, 包博, 石馨. 微重力环境下Smads信号通路对人牙周膜干细胞成骨向分化的影响. *上海口腔医学* 2012; 21: 246-250
- Li S, Ma Z, Niu Z, Qian H, Xuan D, Hou R, Ni L. NASA-approved rotary bioreactor enhances proliferation and osteogenesis of human periodontal ligament stem cells. *Stem Cells Dev* 2009; 18: 1273-1282 [PMID: 19327006 DOI: 10.1089/scd.2008.0371]
- Li Y, He L, Pan S, Zhang L, Zhang W, Yi H, Niu Y. Three-dimensional simulated microgravity culture improves the proliferation and odontogenic differentiation of dental pulp stem cell in PLGA scaffolds implanted in mice. *Mol Med Rep* 2017; 15: 873-878 [PMID: 28000851 DOI: 10.3892/mmr.2016.6042]
- 袁林天, 文玲英, 罗亚宁, 胡沛臻, 蒋维中, 吴兴裕. 尾悬吊大鼠牙体、牙髓、牙周组织的变化. *航天医学与医学工程* 2003; 16: 248-252 [DOI: 10.3969/j.issn.1002-0837.2003.04.004]
- Rai B, Kaur J, Catalina M. Bone mineral density, bone mineral content, gingival crevicular fluid (matrix metalloproteinases, cathepsin K, osteocalcin), and salivary and serum osteocalcin levels in human mandible and alveolar bone under conditions of simulated microgravity. *J Oral Sci* 2010; 52: 385-390 [PMID: 20881330 DOI: 10.2334/josnusd.52.385]
- 汤楚华, 牛忠英, 郑燕华, 包博, 洪彪, 陈宇晖. 模拟失重30 d后再超重对猴牙龈组织趋化因子CCL20及其受体CCR6表达的影响. *上海口腔医学* 2014; 23: 273-279
- 师天鹏, 牛忠英, 施生根, 包博, 汤楚华, 陈宇晖. 30d头低位卧床对男性牙龈色彩的影响. *航天医学与医学工程* 2012; 25: 135-137
- 张凯, 牛忠英, 王睿, 张建中, 司少艳. 模拟失重大鼠咬肌超微结构的影响. *口腔颌面修复学杂志* 2013; 14: 74-77 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-3761.2013.02.003]
- 蔡小玲, 白燕青, 徐倩. 黄芪防治应激性溃疡的研究现状及理论探讨. *中国现代医药杂志* 2017; 19: 106-108 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-9463.2017.11.035]
- 李成林, 张铭, 周金莲, 崔彦, 余佩武. 模拟失重大鼠肠黏膜NF- κ B表达的影响. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 3328-3331 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-3079.2008.29.016]
- 郭彪, 李正鹏, 杨建武, 周金莲, 杨鹤鸣, 董满库, 王平, 张宏文, 李成林, 崔彦. 尾悬吊模拟失重大鼠血清GAS含量和胃黏膜Hsp70及其基因表达的影响. *胃肠病学和肝病学杂志* 2013; 22: 755-758
- 郭彪, 李正鹏, 周金莲, 杨建武, 赵燕, 刘子沛, 付晓艳, 董满库, 崔彦. 尾悬吊模拟失重大鼠胃黏膜超微结构改变并氧化应激损伤. *中华生物医学工程杂志* 2014; 20: 179-184 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-1927.2014.03.001]
- 王利芳, 张金山, 孙岚, 张远强, 赵洁. 模拟失重大鼠胃黏膜瘦素及其受体表达的影响. *医学研究生学报* 2007; 20: 799-801 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-8199.2007.08.005]
- Rivera CA, Tcharmtchi MH, Mendoza L, Smith CW. Endotoxemia and hepatic injury in a rodent model of hindlimb unloading. *J Appl Physiol* (1985) 2003; 95: 1656-1663 [PMID: 12794033 DOI: 10.1152/japplphysiol.00302.2003]
- 周金莲, 李成林, 易勇, 周立艳, 段育忠, 刘子沛, 吉敏, 张涛, 崔彦. 模拟失重导致门静脉内毒素血症和肝脏超微结构改变. *胃肠病学和肝病学杂志* 2011; 20: 1140-1143 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-5709.2011.12.022]
- Ying C, Chunmin Y, Qingsen L, Mingzhou G, Yunsheng Y, Gaoping M, Ping W. Effects of simulated weightlessness on tight junction protein occludin and Zonula Occluden-1 expression levels in the intestinal mucosa of rats. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci* 2011; 31: 26-32 [PMID: 21336719 DOI: 10.1007/s11596-011-0145-5]
- Smith SM, Davis-Street JE, Fesperman JV, Smith MD, Rice BL, Zwart SR. Nutritional status changes in humans during a 14-day saturation dive: the NASA Extreme Environment Mission Operations V project. *J Nutr* 2004; 134: 1765-1771 [PMID: 15226467 DOI: 10.1093/jn/134.7.1765]
- Shi J, Wang Y, He J, Li P, Jin R, Wang K, Xu X, Hao J, Zhang Y, Liu H, Chen X, Wu H, Ge Q. Intestinal microbiota contributes to colonic epithelial changes in simulated microgravity mouse model. *FASEB J* 2017; 31: 3695-3709 [PMID: 28495755 DOI: 10.1096/fj.201700034R]
- 鲍叶叶, 邓忠伟, 杨建武, 李晓鸥, 董满库, 周金莲, 杨鹤鸣, 李成林, 崔彦. 模拟微重力环境下腹腔感染大鼠肠黏膜屏障损害及抗感染疗效. *世界华人消化杂志* 2015; 23: 3203-3212
- Okumura R, Takeda K. Maintenance of intestinal homeostasis by mucosal barriers. *Inflamm Regen* 2018; 38: 5 [PMID: 29619131 DOI: 10.1186/s41232-018-0063-z]
- 田慧, 赵红靓, 杨琳, 王娜. 肠道微生态与肠黏膜屏障研究进展. *基础医学与临床* 2018; 38: 418-421 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-6325.2018.03.027]
- Ritchie LE, Taddeo SS, Weeks BR, Lima F, Bloomfield SA, Azcarate-Peril MA, Zwart SR, Smith SM, Turner ND. Space Environmental Factor Impacts upon Murine Colon Microbiota and Mucosal Homeostasis. *PLoS One* 2015; 10: e0125792 [PMID: 26083373 DOI: 10.1371/journal.pone.0125792]
- Li P, Shi J, Zhang P, Wang K, Li J, Liu H, Zhou Y, Xu X, Hao J, Sun X, Pang X, Li Y, Wu H, Chen X, Ge Q. Simulated microgravity disrupts intestinal homeostasis and increases colitis susceptibility. *FASEB J* 2015; 29: 3263-3273 [PMID: 25877215 DOI: 10.1096/fj.15-271700]
- Yang Y, Qu C, Liang S, Wang G, Han H, Chen N, Wang X, Luo Z, Zhong C, Chen Y, Li L, Wu W. Estrogen inhibits the overgrowth of Escherichia coli in the rat intestine under simulated microgravity. *Mol Med Rep* 2018; 17: 2313-2320 [PMID: 29207065 DOI: 10.3892/mmr.2017.8109]
- Jiang W, Xu B, Yi Y, Huang Y, Li XO, Jiang F, Zhou J, Zhang J, Cui Y. Effects of simulated microgravity by RCCS on the biological features of Candida albicans. *Int J Clin Exp Pathol* 2014; 7: 3781-3790 [PMID: 25120754 DOI: 10.1016/B978-0-12-80092-2.00013-7]
- Li TZ, Chang D, Xu HW, Chen JP, Su LX, Guo YH, Chen ZH, Wang YJ, Wang L, Wang JF, Fang XQ, Liu CT. Impact of a short-term exposure to spaceflight on the phenotype, genome, transcriptome and proteome of Escherichia coli. *Int J Astrobiol* 2015; 14: 435-444 [DOI: 10.1017/S1473550415000038]
- 刘蓉, 程江, 裴雪枫, 王静宇, 袁敏, 贾茗雯, 刘长庭, 袁明. 模拟失重下空间诱变菌感染巨噬细胞炎症相关microRNAs的筛选

- 及生物信息学分析. *航天医学与医学工程* 2017; 30: 1-6 [DOI: 10.16289/j.cnki.1002-0837.2017.01.001]
- 34 姚静, 程江, 裴雪枫, 王静宇, 王俊锋, 张学林, 刘长庭, 袁明. 尾吊小鼠感染空间诱变大肠杆菌炎症反应增强. *中国比较医学杂志* 2016; 26: 1-5
- 35 Shao D, Yao L, Riaz MS, Zhu J, Shi J, Jin M, Huang Q, Yang H. Simulated microgravity affects some biological characteristics of *Lactobacillus acidophilus*. *Appl Microbiol Biotechnol* 2017; 101: 3439-3449 [PMID: 28013406 DOI: 10.1007/s00253-016-8059-6]
- 36 黄玉玲, 杨建武, 易勇, 崔彦. 微重力及太空飞行对微生物影响的研究进展. *北京生物医学工程* 2014; 33: 84-88
- 37 Cervantes JL, Hong BY. Dysbiosis and Immune Dysregulation in Outer Space. *Int Rev Immunol* 2016; 35: 67-82 [PMID: 25970037 DOI: 10.3109/08830185.2015.1027821]
- 38 Du F, Ding Y, Zou J, Li Z, Tian J, She R, Wang D, Wang H, Lv D, Chang L. Morphology and Molecular Mechanisms of Hepatic Injury in Rats under Simulated Weightlessness and the Protective Effects of Resistance Training. *PLoS One* 2015; 10: e0127047 [PMID: 26000905 DOI: 10.1371/journal.pone.0127047]
- 39 Anselm V, Novikova S, Zgoda V. Re-adaption on Earth after Spaceflights Affects the Mouse Liver Proteome. *Int J Mol Sci* 2017; 18 [PMID: 28805685 DOI: 10.3390/ijms18081763]
- 40 Jonscher KR, Alfonso-Garcia A, Suhaimi JL, Orlicky DJ, Potma EO, Ferguson VL, Bouxsein ML, Bateman TA, Stodieck LS, Levi M, Friedman JE, Gridley DS, Pecaut MJ. Spaceflight Activates Lipotoxic Pathways in Mouse Liver. *PLoS One* 2016; 11: e0152877 [PMID: 27097220 DOI: 10.1371/journal.pone.0152877]
- 41 Chen Y, Xu J, Yang C, Zhang H, Wu F, Chen J, Li K, Wang H, Li Y, Li Y, Dai Z. Upregulation of miR-223 in the rat liver inhibits proliferation of hepatocytes under simulated microgravity. *Exp Mol Med* 2017; 49: e348 [PMID: 28642576 DOI: 10.1038/emm.2017.80]
- 42 潘康明, 周煥城, 张志, 高毅, 徐小平. 旋转生物反应器内微载体共培养CL-1肝细胞与人肝星形细胞. *南方医科大学学报* 2013; 33: 902-905 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-4254.2013.06.25]
- 43 田西朋, 孙宏伟, 周金莲, 李雨霏, 闫洪峰, 徐冰心, 董满库, 张宏文, 崔彦. 模拟微重力对小鼠肝kupffer细胞增殖及相关基因表达的影响. *中华肝胆外科杂志* 2016; 22: 557-561 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-8118.2016.08.014]
- 44 宋艳, 赵国桢, 赵百孝, 嵇波, 汪德生, 张鹤, 毛颖秋, 张平, 许咏思. 不同时机介入电针对模拟失重大鼠肝脏HSP 70、MDA、SOD和GSH-PX的影响. *针刺研究* 2015; 40: 383-387 [DOI: 10.13702/j.1000-0607.2015.05.008]
- 45 邓忠伟, 鲍时明, 孙宏伟, 姜福全, 徐冰心, 周金莲, 王平, 张宏文, 崔彦. 模拟失重环境下腹腔感染大鼠肝脏微循环障碍及抗感染疗效. *中华肝胆外科杂志* 2015; 21: 559-564 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-8118.2015.08.013]
- 46 Li S, Tan HY, Wang N, Zhang ZJ, Lao L, Wong CW, Feng Y. The role of oxidative stress and antioxidants in liver diseases. *Int J Mol Sci* 2015; 16: 26087-26124 [DOI: 10.3390/ijms161125942]
- 47 Chandra R, Liddle RA. Modulation of pancreatic exocrine and endocrine secretion. *Curr Opin Gastroenterol* 2013; 29: 517-522 [PMID: 23817137 DOI: 10.1097/MOG.0b013e3283639326]
- 48 Proshchina AE, Krivova YS, Saveliev SC. Pancreas of C57 black mice after long-term space flight (Bion-M1 Space Mission). *Life Sci Space Res (Amst)* 2015; 7: 22-26 [PMID: 26553634 DOI: 10.1016/j.lssr.2015.09.001]
- 49 Samuelson L, Gerber DA. Improved function and growth of pancreatic cells in a three-dimensional bioreactor environment. *Tissue Eng Part C Methods* 2013; 19: 39-47 [PMID: 22712746 DOI: 10.1089/ten.TEC.2012.0236]

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红



消化性溃疡合并高血压诊疗现状及其免疫功能研究进展

徐思楠, 陈鑫, 孙倚天, 李国熊

徐思楠, 陈鑫, 孙倚天, 李国熊, 杭州师范大学附属医院消化内科 浙江省杭州市 310015

徐思楠, 住院医师, 研究方向为消化内科.

作者贡献分布: 本文综述主要由徐思楠完成, 陈鑫和孙倚天参与; 李国熊审校.

通讯作者: 李国熊, 教授, 主任医师, 310015, 浙江省杭州市拱墅区温州路126号, 杭州师范大学附属医院消化内科. guoxiongli849@hotmail.com
电话: 0571-88303656

收稿日期: 2019-07-26

修回日期: 2019-08-27

接受日期: 2019-09-02

在线出版日期: 2019-09-08

Peptic ulcer complicated with hypertension: Diagnosis, treatment, and changes in immunologic function

Si-Nan Xu, Xin Chen, Yi-Tian Sun, Guo-Xiong Li

Si-Nan Xu, Xin Chen, Yi-Tian Sun, Guo-Xiong Li, Department of Gastroenterology, The Affiliated Hospital of Hangzhou Normal University, Hangzhou 310015, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Guo-Xiong Li, Professor, Chief physician, Department of Gastroenterology, The Affiliated Hospital of Hangzhou Normal University, No. 126, Wenzhou Street, Gongshu District, Hangzhou 310015, Zhejiang Province, China. guoxiongli849@hotmail.com

Received: 2019-07-26

Revised: 2019-08-27

Accepted: 2019-09-02

Published online: 2019-09-08

Abstract

Peptic ulcer (PU) and hypertension, known as two clinically common diseases, often develop simultaneously. This paper introduces the status quo of the diagnosis and treatment of hypertensive patients with PU, and

also expounds the progress in the understanding of the changes in the mucosal immune function and cellular immune function, with an aim to shed some light on the clinical diagnosis and treatment of PU with hypertension.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Peptic ulcer; Hypertension; Immunity; *Helicobacter pylori*

Xu SN, Chen X, Sun YT, Li GX. Peptic ulcer complicated with hypertension: Diagnosis, treatment, and changes in immunologic function. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(17): 1095-1099
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1095.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i17.1095>

摘要

消化性溃疡(peptic ulcer, PU)和高血压病(hypertension, HTN)是两种常见病,临床上两者常有合并.本文介绍PU合并HTN患者的诊疗现状,并阐述了其非特异性免疫中黏膜免疫功能变化和特异性免疫中细胞免疫功能变化研究进展,以为临床诊治提供一定参考.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 消化性溃疡; 高血压病; 免疫; 幽门螺杆菌

核心提要: 消化性溃疡和高血压病在临床上常合并存在,本文介绍了此类患者目前诊疗现状,包括好发人群、无痛胃镜的运用、治疗药物选择等,以及其黏膜免疫和体液免疫功能改变情况,以为临床诊治提供一定参考.

徐思楠, 陈鑫, 孙倚天, 李国熊. 消化性溃疡合并高血压诊疗现状及其免疫功能研究进展. *世界华人消化杂志* 2019; 27(17): 1095-1099

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1095.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i17.1095>

0 引言

消化性溃疡(peptic ulcer, PU)和高血压病(hypertension, HTN)均是常见病,且临床上两者常有合并。幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染是PU的首要致病因素,与人体调节T细胞(regulatory T cell, Treg)引起的免疫调控和*H. pylori*自身产生的细胞毒素相关蛋白A(cytotoxin-associated protein A, CagA)及空泡细胞毒素A(vacuolating cytotoxin gene A, VacA)引起的炎症反应密切相关。HTN是一种以动脉血压持续升高为特征的“心血管综合征”,该病可能因机体细胞及体液免疫功能改变,致一系列炎症反应形成。

1 PU合并HTN的诊疗现状

临床上PU合并HTN患者不在少数,尤以老年人群中多见。Mitsutake等^[1]对2013-09/2014-08居住于日本东京的1311116名75岁以上老年人罹患多种慢性病情况的研究结果显示,65.0%的老年人同时患有3种或者以上慢性疾病,其中12.4%男性同时患者HTN、PU、心脏病,12.8%女性同时患有HTN、PU、血脂异常,HTN及PU合并存在时患者临床治疗难度及诊治费用较高。国内亦有报道^[2]表明在年龄大于55岁的PU患者中,约98.3%的人同时患有的一种及以上心脑血管疾病,如高血压、心脏病、脑卒中等。老年HTN患者,更易合并溃疡,且一旦并发上消化道出血,病情凶险,不易止血。马素云等^[3]将112例HTN患者作为研究组,对照组为170例非HTN患者,比较两组PU检出率,发现在*H. pylori*感染无明显统计学差异下,研究组PU检出率为16.1%,明显高于对照组4.7%($P < 0.01$, $\chi^2 = 9.30$),尤其是胃溃疡检出率达10.7%,对照组仅3.5%,其原因可能是长期高血压致心功能不全,使肝淤血加重,门脉压力升高,消化道黏膜进而缺血缺氧,削弱黏膜保护能力;且大部分HTN患者长期服用钙通道阻滞剂,以致胆汁和胃酸返流及胃排空延迟,促使溃疡形成。

有研究^[4,5]发现在PU和HTN患者中往往出现人体免疫功能异常,PU患者外周血中IgG水平较正常人高,CD3、CD4、CD4/CD8、CD19、CD56、C3、C4水平较正常人低,且当合并有上消化道出血时这种差异更加明显,这表明机体免疫功能紊乱致消化道黏膜更易受损,并且在出血时免疫抑制更加严重,而进一步合并HTN后,由于细胞免疫功能紊乱加剧,使患者胃黏膜血管内炎症加重,致局部血管内皮细胞损伤,血栓形成,可引起微循环障碍,若在治疗PU同时合理控制血压,将有助于溃疡愈合。

近年来,无痛胃镜检查因其诸多优点,在PU合并HTN患者中运用越来越多见。2016年李艳等^[6]将80例75

岁以上HTN患者随机分为无痛胃镜组和常规胃镜组,比较两组患者PU检出率、检查过程中不良反应(恶心呕吐、躁动、咳嗽等)、术前及术中血压情况,结果显示无痛胃镜组溃疡检出率95.0%,明显高于常规胃镜组52.5%,且不良反应较常规胃镜组少,值得注意的是无痛胃镜组患者检查过程中血压较检查前有所下降,而常规胃镜则较检查前上升,提示无痛胃镜应用在HTN合并PU患者中更安全。其他研究^[7]也认为高龄患者往往存在多种心脑血管疾病的潜在风险,胃镜作为侵入性检查,对消化道存在明显的刺激,常规胃镜检查可引起患者精神紧张、不安、恐惧等负面心理,导致血压升高,而无痛胃镜则利用较低剂量的丙泊酚全身麻醉,使患者处于浅睡眠状态,有效降低呼吸道周围平滑肌和神经对胃镜软管的应激反应,使心率及血压稳定,利于检查。

治疗方面,除了针对PU的规范化治疗外,合理选用降压药物很关键。柏铁君^[8]将70例PU合并HTN患者随机对等分为两组,均以奥美拉唑肠溶胶囊治疗PU,比较硝苯地平(对照组)与氯压定(观察组)的疗效,发现观察组不仅HTN改善优于对照组($P < 0.05$),且溃疡疗效优于对照组($P = 0.023$, $\chi^2 = 5.185$),两种疾病治疗总有效率达88.57%,明显高于对照组65.71%;观察组的药物不良反应发生率为2.86%,显著低于对照组22.86%。其原因与氯压定可有效抑制交感神经,减少胃酸分泌,而硝苯地平可导致胃排空延迟和胃酸反流,使PU发生风险增加有关。有报道氯沙坦也是一种合适的选择。因人体胃酸分泌受大脑迷走神经区域孤束核和背侧运动核的调控,这些区域血管紧张素II 1型受体(angiotensin II type 1 receptor, AT-1)密集,氯沙坦可通过血脑屏障阻断AT-1受体,减少胃酸和胃蛋白酶等侵袭性因子释放,促进溃疡愈合^[9]。除上述药物干预外,有研究^[10]还发现饮用硫酸矿水可促进溃疡愈合和控制血压,这主要归功于其中的活性分子硫化氢(H_2S),它作为人体的一种信号分子,可通过硫化作用,轻易穿过皮肤和黏膜,在许多细胞保护性的生化反应中发挥作用,目前发现其有以下三个作用:(1)通过增加血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)受体的表达和活化来促进新血管生长,进而改善局部血供,促进黏膜修复;(2)可去除血管内皮细胞中存在的一氧化氮合成酶抑制因子L-NAME,有助于舒张血管;(3)抗炎作用,主要通过影响MAP激酶信号传导使外周血淋巴细胞分泌白介素(interleukin, IL)-2及IL-8减少,并减少细胞毒性反应。

2 PU合并HTN患者非特异性免疫功能变化

非特异性免疫应答又称为固有免疫,是人体长期进化过程中逐渐形成的天然免疫防御体系,主要包括组织屏

障、固有免疫细胞和固有免疫分子,而在胃肠道主要以黏膜屏障的免疫作用为主。

众所周知, *H. pylori*是PU的首要病因, 它可影响人体Treg细胞功能和产生CagA及VacA来引起强烈的免疫反应, 破坏黏膜防护屏障。Robinson等^[11]通过检测人黏膜内IL-10、Th1、Th2及CD4⁺等水平发现, 在*H. pylori*感染但未发生PU的患者中, 由于Treg细胞诱导释放高水平的抑炎因子IL-10及CD4⁺, 抑制IL-8等促炎因子作用, 减轻了*H. pylori*侵入黏膜后所造成的局部炎症反应, 达到免疫稳态, 相反的, 在发生PU的患者中, Treg细胞呈现下调免疫的作用, IL-10水平降低2.4倍, Th1和Th2等释放促炎因子的细胞水平分别提高3.2倍和6.1倍, 释放更多炎症介质, 打破免疫稳态, 剧烈炎症反应致溃疡形成。另外, *H. pylori*感染后可致T细胞免疫调节功能缺陷, 黏膜内大量低活性、低表达IL-10的Treg细胞无效积聚本身亦可引起急性炎症反应损伤组织细胞, 破坏胃肠道黏膜, 严重时出现溃疡^[12]。*H. pylori*除通过影响Treg细胞功能外, 还通过释放两种毒素(CagA、VacA)破坏黏膜免疫。研究^[13]表明, CagA是一种由致病性染色体岛(Cag-PAI)末端的cagA基因编码的分子量为128 kDa的免疫显性抗原, Cag-PAI中还可编码IV型分泌系统, *H. pylori*可通过该系统黏附到细胞上, 然后将CagA转移至宿主细胞的细胞质, 在那里CagA被Abl激酶或Src激酶磷酸化后, 干扰细胞内信号传导, 导致上皮细胞形态和功能改变, 此外, CagA还可直接以非磷酸化状态作用于宿主细胞, 影响细胞间紧密连接、细胞极性、细胞增殖和分化、细胞内部微结构、诱导炎症反应以及细胞纤维化; VacA除可破坏黏膜上皮细胞间的紧密连接外, 还可抑制T细胞增殖、活化和效应功能, 从而改变宿主炎症反应, 使细菌长期生存, 而且该毒素本身即可通过激活核因子NF- κ B上调IL-8水平, 来诱导黏膜炎症反应发生, 目前认为上述两种毒素均与PU和慢性萎缩性胃炎的严重程度, 乃至胃癌发生上呈正相关。

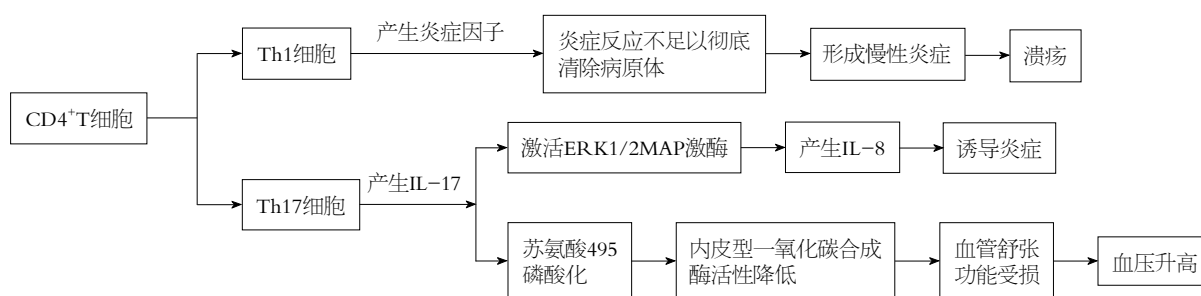
近年来诸多研究^[14,15]表明*H. pylori*与心血管疾病发生具有相关性, *H. pylori*感染5年内心血管病发生风险增加15%, 它诱导炎症因子释放, 引起局部强烈炎症反应破坏血管内皮细胞, 损伤黏膜血管, 使微循环障碍, 黏膜缺血缺氧严重, 导致了HTN、周围动脉疾病(peripheral arterial disease, PAD)等发生。Sawayama等^[16]筛查了69例PAD患者*H. pylori*感染情况, 发现其感染率高达79.7%, 尤其在男性患者中更是达到84.8%, 认为*H. pylori*感染导致局部慢性炎症, 长此以往引起全身性慢性炎症, 使动脉斑块的不稳定, 增加PAD发病风险, 是PAD发病的独立危险因素。我国一项针对5246例成年人的横断面研究^[17]发现*H. pylori*感染与HTN发病呈正相关(OR = 1.23;

95%CI: 1.04-1.46), 也认为*H. pylori*是HTN的独立危险因素; 与*H. pylori*阴性者相比, *H. pylori*感染者舒张压增加了0.735 mmHg(95%CI: 0.101-1.369), 平均动脉压增加0.723 mmHg(95%CI: 0.034-1.413), 其原因与*H. pylori*感染后机体释放肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、IL-6和C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)等炎症因子, 引起胰岛素抵抗, 进一步致动脉粥样硬化, 动脉弹性降低致外周血管阻力增加相关。如果早期根治*H. pylori*(尤其是年龄小于65岁)可以有效降低冠心病发病风险, 这与长期感染*H. pylori*可诱导局部炎症反应, 内皮损伤, 凝血级联的慢性低级激活, 脂质代谢失调和高同型半胱氨酸血症等原因相关, 根除*H. pylori*则可以提高HDL水平, 降低CRP和纤维蛋白原水平^[18]。

3 PU合并HTN患者特异性免疫功能变化

特异性免疫又称为适应性免疫或获得性免疫, 主要包括由T细胞介导的细胞免疫和B细胞介导的体液免疫。目前研究认为在PU合并HTN患者体内主要由*H. pylori*、CagA及各类炎症介质等引起特异性免疫反应。

3.1 细胞免疫功能变化 CD4⁺T细胞(主要是Th1细胞和Th17细胞)在免疫过程中起关键作用, 如图1。巴西一项针对554名胃肠病患者的前瞻性研究^[19]发现, *H. pylori*阳性的PU患者胃黏膜内 γ 干扰素(interferon- γ , IFN- γ)及IL-12水平分别高达1335 pg/mg \pm 1.52 pg/mg和108 pg/mg \pm 1.40 pg/mg, 而IL-4及IL-10水平低下, 这使得CD4⁺T细胞在受外界因素刺激后, 易分化为Th1细胞, 而此类细胞并不能彻底清除*H. pylori*等病原体, 反而导致炎症状态持续存在, 疾病慢性化, 乃至加重恶化。同样, 胃黏膜中Th17细胞数及其表达的IL-17水平也与慢性炎症程度正相关, 当*H. pylori*感染及患PU时其细胞数明显增加, 炎症因子水平明显提高, 其产生的IL-17可以激活胃上皮细胞中ERK1/2MAP激酶, 促进促炎因子IL-8分泌, 诱导黏膜长期慢性炎症发生^[20]。此外, 一些研究^[21,22]还发现, 内皮细胞分泌的一氧化氮可以舒展血管, 在防止白细胞黏附与外渗以及调节血压上起作用, 但IL-17可使肽链上苏氨酸495磷酸化, 致合成的内皮型一氧化氮合成酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)活性降低, 即IL-17降低eNOS活性, 导致内皮依赖性血管舒张功能受损, 引起血压升高, 而血压过高又会作用于血管壁导致管壁机械应力改变, 促进大血管的周期性伸展, 延伸的管壁可以增加内皮细胞的生成, 并释放IL-6、IL-8、活性氧类(reactive oxygen species, ROS)、内皮素等促炎介质, 另外, 延伸的管壁还会增加血管细胞黏附分子、细胞内粘附分子和CD40的表达, 这些因素激活单核细胞、巨噬细胞和树突状细胞并浸润, 引起局部乃至全身

CD4⁺T细胞在细胞免疫中的作用图1 CD4⁺T细胞在细胞免疫过程中的作用. IL: 白介素.

炎症反应, 损伤黏膜微循环, 使局部缺血缺氧, 增加PU风险.

3.2 体液免疫功能变化 对于体液免疫改变的报道鲜见, 现有文献主要是关于其伴发其他并发症(如消化道出血)时的免疫情况. 刘建生等^[23]在其研究中发现当PU并发出血时, 人体IgA、IgM、IgG、C3和C4水平下降, 其原因是机体损伤出血后皮质醇及细胞因子的大量释放, 与细胞的相应受体结合而干预前B细胞增殖分化, 影响成熟B细胞功能, 从而导致免疫球蛋白的改变, C4参与经典途径中的激活过程, 而C3则在补体激活的经典途径与旁路途径中起作用, 出血后的免疫抑制, 能激活经典途径和旁路途径.

4 结论

PU合并HTN已逐渐成为临床上常见的一种慢病合并模式, 目前对其诊疗上, 无痛胃镜因安全性高等优点已逐渐得到认可, 氯压定、氯沙坦既可有效控制血压, 亦能减少胃酸分泌, 促进黏膜修复, 国外研究更是发现长期饮用含硫磺矿水可同时防治PU和HTN, 但结合此类患者本身黏膜免疫、特异性免疫等改变情况, 未来也许还可将其免疫数据变化作为评估病情及预后的一部分, 亦可继续完善相关实验研究, 充分明确其免疫功能变化, 从免疫靶向角度出发研制新型药物, 更有效的改善病症.

5 参考文献

- Mitsutake S, Ishizaki T, Teramoto C, Shimizu S, Ito H. Patterns of Co-Occurrence of Chronic Disease Among Older Adults in Tokyo, Japan. *Prev Chronic Dis* 2019; 16: E11 [PMID: 30703000 DOI: 10.5888/pcd16.180170]
- 贾勇, 梅祎祎, 盛楚乔, 潘雅洁, 程增霞, 程繁银. 55岁及以上城市居民慢性病共病现状调查及相关性分析. *中国全科医学* 2016; 19: 683-687 [DOI: 10.3969/j.issn.1007-9572.2016.06.012]
- 马素云, 王雪梅, 陈美月. 高血压病合并消化性溃疡临床分析. *卫生职业教育* 2015; 15: 144-145
- 吴蓉, 李国熊, 李丽, 周刚, 吴建良, 陈晶. 消化性溃疡患者外周血细胞免疫及体液免疫功能变化分析. *中国全科医学* 2016; 19: 2481-2485 [DOI: 10.3969/j.issn.1007-9572.2016.20.025]
- Fomina LA, Chernin VV. [Pathogenetic bases and efficacy

of slow calcium channel blockers in the therapy of recurrent peptic ulcer disease associated with hypertension]. *Ter Arkh* 2017; 89: 10-14 [PMID: 28281509 DOI: 10.17116/terarkh201789210-14]

- 李艳. 无痛胃镜在消化性溃疡伴发轻度高血压高龄患者中应用的安全性分析. *中国医药指南* 2016; 14: 140-141 [DOI: 10.15912/j.cnki.gocm.2016.06.112]
- 迟增凤, 高兰美, 石祖辉. 无痛胃镜在消化性溃疡伴发轻度高血压高龄患者中应用的安全性分析. *世界最新医学信息文摘* 2017; 22: 39
- 柏铁君. 高血压病合并消化性溃疡的分析与治疗研究. *临床医药文献杂志* 2018; 5: 43-45 [DOI: 10.16281/j.cnki.jocml.2018.35.025]
- Merai AH, Asad M, Prasad VS. Effect of centrally administered losartan on gastric and duodenal ulcers in rats. *Pharmacology* 2009; 84: 93-98 [PMID: 19602912 DOI: 10.1159/000228726]
- Carbajo JM, Maraver F. Sulphurous Mineral Waters: New Applications for Health. *Evid Based Complement Alternat Med* 2017; 2017: 8034084 [PMID: 28484507 DOI: 10.1155/2017/8034084]
- Robinson K, Kenefeck R, Pidgeon EL, Shakib S, Patel S, Polson RJ, Zaitoun AM, Atherton JC. Helicobacter pylori-induced peptic ulcer disease is associated with inadequate regulatory T cell responses. *Gut* 2008; 57: 1375-1385 [PMID: 18467372 DOI: 10.1136/gut.2007.137539]
- Bagheri N, Azadegan-Dehkordi F, Rahimian G, Rafieian-Kopaei M, Shirzad H. Role of Regulatory T-cells in Different Clinical Expressions of Helicobacter pylori Infection. *Arch Med Res* 2016; 47: 245-254 [PMID: 27664483 DOI: 10.1016/j.armed.2016.07.013]
- Nejati S, Karkhah A, Darvish H, Validi M, Ebrahimpour S, Nouri HR. Influence of Helicobacter pylori virulence factors CagA and VacA on pathogenesis of gastrointestinal disorders. *Microb Pathog* 2018; 117: 43-48 [PMID: 29432909 DOI: 10.1016/j.micpath.2018.02.016]
- Sun J, Rangan P, Bhat SS, Liu L. A Meta-Analysis of the Association between Helicobacter pylori Infection and Risk of Coronary Heart Disease from Published Prospective Studies. *Helicobacter* 2016; 21: 11-23 [PMID: 25997465 DOI: 10.1111/hel.12234]
- Jiang J, Chen Y, Shi J, Song C, Zhang J, Wang K. Population attributable burden of Helicobacter pylori-related gastric cancer, coronary heart disease, and ischemic stroke in China. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2017; 36: 199-212 [PMID: 27771779 DOI: 10.1007/s10096-016-2810-x]
- Sawayama Y, Hamada M, Otaguro S, Maeda S, Ohnishi H, Fujimoto Y, Taira Y, Hayashi J. Chronic Helicobacter pylori infection is associated with peripheral arterial disease. *J Infect Chemother* 2008; 14: 250-254 [PMID: 18574664 DOI: 10.1007/s10156-008-0613-4]

- 17 Wan Z, Hu L, Hu M, Lei X, Huang Y, Lv Y. Helicobacter pylori infection and prevalence of high blood pressure among Chinese adults. *J Hum Hypertens* 2018; 32: 158-164 [PMID: 29289960 DOI: 10.1038/s41371-017-0028-8]
- 18 Wang JW, Tseng KL, Hsu CN, Liang CM, Tai WC, Ku MK, Hung TH, Yuan LT, Nguang SH, Yang SC, Wu CK, Chiu CH, Tsai KL, Chang MW, Huang CF, Hsu PI, Wu DC, Chuah SK. Association between Helicobacter pylori eradication and the risk of coronary heart diseases. *PLoS One* 2018; 13: e0190219 [PMID: 29293574 DOI: 10.1371/journal.pone.0190219]
- 19 Vinagre RMDF, Vinagre IDF, Vilar-E-Silva A, Fecury AA, Martins LC. HELICOBACTER PYLORI INFECTION AND IMMUNE PROFILE OF PATIENTS WITH DIFFERENT GASTRODUODENAL DISEASES. *Arq Gastroenterol* 2018; 55: 122-127 [PMID: 30043859 DOI: 10.1590/S0004-2803.201800000-21]
- 20 Bagheri N, Razavi A, Pourgheysari B, Azadegan-Dehkordi F, Rahimian G, Pirayesh A, Shafiqh M, Rafieian-Kopaei M, Fereidani R, Tahmasbi K, Shirzad H. Up-regulated Th17 cell function is associated with increased peptic ulcer disease in Helicobacter pylori-infection. *Infect Genet Evol* 2018; 60: 117-125 [PMID: 29481961 DOI: 10.1016/j.meegid.2018.02.020]
- 21 Norlander AE, Madhur MS, Harrison DG. Correction: The immunology of hypertension. *J Exp Med* 2018; 215: 719 [PMID: 29305396 DOI: 10.1084/jem.2017177301022018c]
- 22 Jufri NF, Mohamedali A, Avolio A, Baker MS. Mechanical stretch: physiological and pathological implications for human vascular endothelial cells. *Vasc Cell* 2015; 7: 8 [PMID: 26388991 DOI: 10.1186/s13221-015-0033-z]
- 23 刘建生, 肖红兵, 傅极. 消化性溃疡出血期血清免疫球蛋白、补体和C-反应蛋白变化的意义. *内科急危重症杂志* 2001; 7: 126-127 [DOI: 10.3969/j.issn.1007-1024.2001.03.003]

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2019 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

本刊讯 本刊采用“顺序编码制”的著录方法,即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序.提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映,并在文内引用处右上角加方括号注明角码.文中如列作者姓名,则需在“Pang等”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注角码.如马连生^[1]报告……,研究^[2-5]认为……;PCR方法敏感性高^[6,7].文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8].所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准.通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献,包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和World Journal of Gastroenterology(<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>).期刊:序号,作者(列出全体作者).文题,刊名,年,卷,起页-止页, PMID编号;书籍:序号,作者(列出全部),书名,卷次,版次,出版地,出版社,年,起页-止页.

慢性乙型肝炎合并非酒精性脂肪性肝病与甲状腺功能的关系

刘良, 李萍, 宓余强, 刘勇钢, 张鹏

刘良, 张鹏, 天津医科大学研究生院 天津市 300070

刘良, 李萍, 宓余强, 刘勇钢, 张鹏, 天津市第二人民医院, 天津市肝病医学研究所 天津市 300192

刘良, 主要从事各种原因引起的肝病的诊断和治疗.

基金项目: 国家“十三五”重大科技专项资助项目, No. 2017ZX10203202.

作者贡献分布: 课题设计、论文写作及修改由李萍与刘良完成; 数据收集由刘良与张鹏完成; 数据分析由刘良, 张鹏, 刘勇钢及宓余强完成.

通讯作者: 李萍, 主任医师, 300192, 天津市南开区苏堤南路7号, 天津市第二人民医院, 天津市肝病医学研究所. tjplxg@163.com
电话: 022-27468232

收稿日期: 2019-07-12

修回日期: 2019-08-16

接受日期: 2019-09-03

在线出版日期: 2019-09-08

Relationship between thyroid function and nonalcoholic fatty liver disease in patients with chronic hepatitis B

Liang Liu, Ping Li, Yu-Qiang Mi, Yong-Gang Liu, Peng Zhang

Liang Liu, Peng Zhang, Graduate School, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Liang Liu, Ping Li, Yu-Qiang Mi, Yong-Gang Liu, Peng Zhang, Tianjin Second People's Hospital, Tianjin Research Institute of Liver Diseases, Tianjin 300192, China

Supported by: National Science and Technology Major Project, No. 2017ZX10203202.

Corresponding author: Ping Li, Chief Physician, Tianjin Second People's Hospital, Tianjin Research Institute of Liver Diseases, 7 Sudi South Road, Nankai District, Tianjin 300192, China. tjplxg@163.com

Received: 2019-07-12

Revised: 2019-08-16

Accepted: 2019-09-03

Published online: 2019-09-08

Abstract

BACKGROUND

Chronic hepatitis B (CHB) combined with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a common form of chronic liver disease in China. Thyroid hormones play an important role in fat mobilization, lipolysis, and lipid oxidation. The relationship between thyroid function and NAFLD is still unclear.

AIM

To explore the relationship between thyroid function and NAFLD in CHB patients with normal thyroid function.

METHODS

The clinical data of CHB subjects with normal thyroid function were collected. Patients with NAFLD were included as a case group. Age- and gender-matched CHB patients without NAFLD were randomly selected as a control group. The general clinical data and some pathological features of the two groups were compared and analyzed.

RESULTS

A total of 248 subjects were included. There were 124 cases in the case group and 124 in the control group. The body mass index (BMI), triglyceride, low-density lipoprotein, and thyroid stimulating hormone (TSH) levels in the case group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). The history of diabetes, total cholesterol, free triiodothyronine, free

thyroxine (FT4), virological indicators, and liver damage were comparable between the two groups ($P > 0.05$). Logistic regression analysis showed an independent correlation between BMI, TSH, or FT4 and NAFLD. In addition, the difference in TSH between the mild steatosis group and the moderate-to-severe steatosis group was statistically significant ($\chi^2 = 8.438, P < 0.01$).

CONCLUSION

In patients with CHB, elevated TSH and decreased FT4 levels can be used as independent predictors of NAFLD development, and early detection of NAFLD can help to formulate suitable antiviral treatment strategy, especially in patients with hypothyroidism.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Chronic hepatitis B; Fatty liver; Thyroid function

Liu L, Li P, Mi YQ, Liu YG, Zhang P. Relationship between thyroid function and nonalcoholic fatty liver disease in patients with chronic hepatitis B. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(17): 1100-1106
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1100.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i17.1100>

摘要

背景

慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)合并非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是国内慢性肝病的一种常见形式. 甲状腺激素在脂肪动员、脂肪分解和脂质氧化方面扮有重要的角色. 对于甲状腺功能和NAFLD之间的关联, 目前尚不清楚.

目的

在甲状腺功能正常的CHB合并NAFLD患者中, 探讨甲状腺功能参数与NAFLD的关系.

方法

收集天津市第二人民医院甲状腺功能正常的CHB患者的临床资料, 其中合并NAFLD的患者作为病例组, 同时随机选取单一的CHB患者作为对照组, 按照年龄 ± 3 、性别相同进行1:1配对, 对两组一般临床资料及病理特征进行比较分析.

结果

共纳入248例研究对象, 病例组和对照组各124例, 病例组的体重指数(body mass index, BMI)、甘油三酯、总胆固醇、低密度脂蛋白及促甲状腺激素(thyroid stimulating hormone, TSH)水平均显著高于对照组, 而高密度脂蛋白、游离甲状腺素(free thyroxine, FT4)水平显著低于对照组, 差异均具有统计学意义(均 $P < 0.05$), 而在糖尿病史、游离三碘甲状腺原氨酸、

病毒学指标及肝损伤程度与对照组相比差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$). LOGISTIC回归分析显示BMI、TSH、FT4与NAFLD的发生独立相关, 另外在病例组中轻度脂肪变组和中重度脂肪变组在不同的TSH水平上, 两者差异具有显著的统计学意义($\chi^2 = 8.438, P < 0.01$).

结论

在CHB患者中, 升高的TSH和降低的FT4可以作为NAFLD发生的独立预测因子, NAFLD的尽早发现也有助于降低CHB患者的心血管和癌症风险以及做出合理的抗病毒治疗策略, 特别是在甲状腺功能减退的患者中.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 慢性乙型肝炎; 脂肪肝; 甲状腺功能

核心提要: 我们的研究通过匹配两组的年龄和性别后, 探讨了甲状腺功能和非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的关联. 我们的研究发现在甲状腺功能正常的慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者中, 升高的促甲状腺激素和降低的游离甲状腺素是NAFLD发生的独立预测因素, 并且促甲状腺激素水平也和肝脂肪变严重程度相关. 该研究结果有助于我们在CHB患者中对NAFLD发生的早期预测, 因其合并NAFLD会干扰抗病毒疗效, 同时NAFLD的早期发现也有助于降低心血管和癌症风险, 特别是在甲状腺功能减退的患者中.

刘良, 李萍, 宓余强, 刘勇钢, 张鹏. 慢性乙型肝炎合并非酒精性脂肪性肝病与甲状腺功能的关系. *世界华人消化杂志* 2019; 27(17): 1100-1106
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1100.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i17.1100>

0 引言

慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)是国内常见的慢性肝病. 随着生活水平的提高, 非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的患病率也在逐年上升. 有研究表明, 大约有25%-30%的CHB患者并存NAFLD^[1], 故CHB合并NAFLD是中国慢性肝病的一大特征. 甲状腺激素在脂肪动员、脂肪分解和脂质氧化方面扮有重要的角色. 虽然一些研究已经表明了明显的甲状腺功能异常和NAFLD之间的关联^[2,3], 但是对于甲状腺功能在正常范围内的波动和NAFLD之间的关联却罕见报道. 考虑到甲状腺功能在正常范围内的波动也会造成许多健康问题, 如引起动脉粥样硬化和心血管疾病风险增加^[4,5], 故在甲状腺功能正常的人群中研究甲状腺功能参数和NAFLD之间的关联显得非常重要. 更重

要的是,相比于CHB患者甲状腺功能异常在丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)患者中更常见且严重,故CHB患者甲状腺功能异常更少见^[6]。因此,本研究的目的就是在甲状腺功能正常的CHB患者中,探讨NAFLD和甲状腺功能参数之间的关联。

1 材料和方法

1.1 材料 回顾性收集2016-01/2018-08在天津市第二人民医院进行肝活组织检查的所有临床诊断为CHB患者。以CHB合并NAFLD为病例组,同时进行1:1匹配随机选取年龄±3、性别相同的单一CHB患者作为对照组。NAFLD的诊断符合《非酒精性脂肪性肝病防治指南(2018更新版)》^[7], CHB诊断均符合《慢性乙型肝炎防治指南(2015更新版)》的标准^[8]。排除合并有其他病毒性肝炎、自身免疫性肝病、药物性肝病、酒精性肝炎、肝豆状核变性、肝脏的恶性肿瘤和胆道感染等疾病。排除游离三碘甲状腺原氨酸(free triiodothyronine, FT3)、游离甲状腺素(free thyroxine, FT4)、促甲状腺激素(thyroid stimulating hormone, TSH)水平超出正常参考范围者,以及服用甲状腺素或抗甲状腺药物者。排除接受了抗病毒药物治疗以及使用了胺碘酮、碘对比剂、雌激素、他莫昔芬、干扰素等影响甲状腺功能的药物的患者。所有入组患者均知情同意,且获医院伦理委员会审核批准。

1.2 方法

1.2.1 一般临床资料: 纳入的所有资料完整的患者均做了病史采集、体重指数测量、血脂、甲状腺功能、病毒学指标检测。通过身高体质量测量仪测量身高、体重,计算体重指数(body mass index, BMI) = 体重(kg)/身高(m)²。丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、血脂、血糖均由医院全自动生物化学分析仪(日本,日立公司, 7060)测定,检测试剂盒购自德国Roche公司。甲状腺功能和HBV标志物检测: 采用电化学发光法,检测仪器和试剂购自瑞士Roche公司,该研究中FT3的正常参考范围为3.10-6.80 pmol/L, FT4的正常参考范围为12.0-22.0 pmol/L, TSH的正常参考范围为0.27-4.20 mIU/L。HBV-DNA载量检测: 采用荧光定量PCR法,检测仪器为Applied Biosystems 5700荧光定量扩增仪(购自美国应用生物系统公司)。

1.2.2 组织病理学: 采用MAXCORE一次性全自动活组织检查针(16G, 美国巴德公司产品)行经皮肝穿刺活检获取肝组织标本,4%中性甲醛固定。每份肝组织标本长度均≥1.5 cm并包含6个以上汇管区。常规脱水、石蜡包埋,连续切片(厚约4 μm),常规HE染色和网状纤维

染色。由2位病理科医师盲法独立阅片,如诊断不一致时重复阅片以达成共识。肝脏炎症水平(G)及纤维化程度(S)的病理学分级、分期标准参照《病毒性肝炎防治方案》^[9]。肝脂肪变程度分级参照《非酒精性脂肪性肝病防治指南(2018更新版)》^[7]: 无脂变(<5%),轻度脂变(5%-33%),中度脂变(34%-66%);重度脂变(>66%)。

统计学处理 计数资料用率表示,计量资料用mean ± SD表示,每两组间均数差异的比较,采用t检验,率的比较采用 χ^2 检验,我们也进行了相关性分析及采用了LOGISTIC多元回归分析。采用SPSS 22统计软件进行统计,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者一般临床资料和病理特征比较 在肝活检确诊的CHB患者中,作为病例组的CHB合并NAFLD的患者有124例(男82例,女42例),年龄为36.72岁±10.59岁,与之年龄、性别匹配的对照组CHB患者有124例(男82例,女性42例),年龄为36.47岁±10.73岁。病例组的BMI、TG、TC、LDL均显著高于对照组,差异具有统计学意义(均 $P < 0.05$),而在糖尿病患者比例、HBeAg阳性比例、HBV-DNA、ALT、AST水平、肝组织病理学特征上与对照组相比差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)(表1, 2)。在甲状腺功能方面,病例组的FT3水平与对照组相比差异无统计学意义(均 $P > 0.05$),而病例组的TSH水平显著高于对照组,FT4水平显著低于对照组,差异均具有统计学意义(均 $P < 0.05$)(表3)。另外我们对甲状腺功能参数和NAFLD的发生两者之间进行了相关性分析,结果表明TSH和NAFLD的发生呈显著正相关,而FT4和NAFLD的发生呈显著负相关(表4)。同时我们采用LOGISTIC回归进行多因素分析,结果表明BMI、FT4、TSH是CHB患者合并NAFLD的独立预测因素(表5)。

2.2 CHB合并NAFLD患者不同程度肝脂肪变的甲状腺功能资料的比较 中重度脂肪变组的TSH水平显著高于轻度脂肪变组,且TSH水平和肝脂肪变程度呈剂量反应关系,差异具有统计学意义($P < 0.01$)(表6, 7)。

3 讨论

本研究探讨了在甲状腺功能正常的CHB患者中,甲状腺功能指标和NAFLD之间的关联。我们的研究结果表明在CHB合并NAFLD患者中,其血清TSH水平显著高于单纯CHB患者,而FT4水平显著低于单纯CHB患者。为了校正代谢性因素对NAFLD的影响,我们进行了多因素的LOGISTIC回归分析,结果表明BMI和TSH水平的增加,以及FT4水平的降低均是CHB患者合并NAFLD的独立危险因素。

表 1 慢性乙型肝炎合并肝脂肪变组和无肝脂肪变组一般临床资料的比较

组别	肝脂肪变组	无肝脂肪变组	统计量值	P值
例数	124	124		
年龄(岁)	36.72 ± 10.59	36.47 ± 10.73	0.185	0.854
性别(男/女)	82/42	82/42	0.0001	1
BMI (kg/m ²)	26.36 ± 4.65	22.91 ± 2.79	7.084	<0.001
HBeAg阳性, n (%)	80 (64.5)	71 (57.2)	1.371	0.242
HBV-DNA (log ₁₀ 拷贝/mL)	5.91 ± 2.44	5.54 ± 2.35	1.207	0.229
DM, n (%)	8 (6.5)	3 (2.4)	2.378	0.123
ALT (U/L)	91.26 ± 83.01	77.52 ± 84.93	1.288	0.199
AST (U/L)	54.53 ± 52.34	44.42 ± 31.30	1.845	0.066
TC (mmol/L)	4.58 ± 1.01	4.30 ± 0.91	2.301	0.022
TG (mmol/L)	1.24 ± 0.64	0.91 ± 0.37	4.922	<0.001
HDL (mmol/L)	1.10 ± 0.30	1.24 ± 0.33	-3.541	<0.001
LDL (mmol/L)	2.57 ± 0.76	2.30 ± 0.73	2.893	0.004

BMI: 体重指数; HBeAg: 乙型肝炎e抗原; HBV-DNA: 乙型肝炎病毒DNA; DM: 糖尿病; ALT: 丙氨酸氨基转移酶; AST: 天冬氨酸氨基转移酶; TC: 总胆固醇; TG: 甘油三酯; HDL: 高密度脂蛋白; LDL: 低密度脂蛋白。

表 2 慢性乙型肝炎合并肝脂肪变组和无肝脂肪变组病理学炎症和纤维化分期的比较

组别	例数	G ≥ 2	S ≥ 2
肝脂肪变组	124	78 (62.9%)	46 (37.1%)
无肝脂肪变组	124	69 (55.6%)	48 (38.7%)
统计量值		1.353	0.069
P值		0.245	0.793

G: 肝脏炎症水平; S: 及纤维化程度。

表 3 慢性乙型肝炎合并肝脂肪变组和无肝脂肪变组甲状腺功能资料的比较

组别	例数	FT3 (pmol/L)	FT4 (pmol/L)	TSH (mIU/L)
肝脂肪变组	124	4.93 ± 0.65	15.67 ± 2.23	2.03 ± 1.08
无肝脂肪变组	124	4.90 ± 0.66	16.42 ± 2.06	1.62 ± 0.79
统计量值		0.296	-2.737	3.426
P值		0.768	0.007	0.001

FT3: 游离三碘甲状腺原氨酸; FT4: 游离甲状腺素; TSH: 促甲状腺激素。

Xu等^[10]进行的一项研究表明在甲状腺功能正常的NAFLD患者中, 随着TSH水平的增加以及FT4水平的降低, NAFLD的发生率也逐渐升高, 但是该研究局限在其纳入的人群都是基于影像诊断的NAFLD且都是65岁以上的老年人。Zhang等^[11]进行的一项研究表明在甲状腺功能正常的患有NAFLD的女性患者中, 其TSH水平显著高于非NAFLD患者, 但是该研究纳入的人群都是基于超声诊断的NAFLD, 未行肝脏病理组织学检查, 而对于轻度的脂肪变超声的敏感度很低, 特异性亦有待提

高^[12]。Liu等^[13]进行的一项研究表明在甲状腺功能正常的中年人群中, 较高水平的FT3和NAFLD的发生呈显著相关, 并且该相关性独立于已知的代谢性危险因素, 但是该研究没有排除影响甲状腺功能的药物以及研究人群仅限于中年人。而在我们的研究中, 纳入的均是肝活检确诊的NAFLD的患者, 同时排除了服用可能影响甲状腺功能药物的患者。一项纳入3664例甲状腺功能正常人群的横断面研究表明, TSH在正常范围内的升高和脂质代谢密切相关, 并且该相关性独立于FT4对脂质代谢

表 4 甲状腺功能资料和非酒精性脂肪性肝病的发生相关性分析

甲状腺功能项目	r值	P值
FT3	0.018	0.774
FT4	-0.16	0.012
TSH	0.177	0.005

FT3: 游离三碘甲状腺原氨酸; FT4: 游离甲状腺素; TSH: 促甲状腺激素.

表 5 慢性乙型肝炎合并非酒精性脂肪性肝病的LOGISTIC回归分析

变量	b	Wald	P值	OR	95%CI
BMI	0.257	19.778	<0.001	1.293	1.154-1.447
DM	0.969	1.583	0.208	2.636	0.582-11.932
TC	-0.169	0.305	0.581	0.844	0.463-1.540
TG	0.525	1.689	0.194	1.691	0.766-3.736
HDL	-0.368	0.308	0.579	0.692	0.189-2.537
LDL	0.577	2.742	0.098	1.78	0.899-3.524
FT3	0.066	0.07	0.791	1.068	0.658-1.732
FT4	-0.149	4.225	0.04	0.861	0.747-0.993
TSH	0.478	7.045	0.008	1.614	1.133-2.297

BMI: 体重指数; DM: 糖尿病; TC: 总胆固醇; TG: 甘油三酯; HDL: 高密度脂蛋白; LDL: 低密度脂蛋白; FT3: 游离三碘甲状腺原氨酸; FT4: 游离甲状腺素; TSH: 促甲状腺激素.

表 6 慢性乙型肝炎合并非酒精性脂肪性肝病组中甲状腺功能资料的比较

组别	例数	FT3	FT4	TSH
轻度脂肪肝	104	4.96 ± 0.64	15.74 ± 2.27	1.92 ± 1.07
中重度脂肪肝	20	4.76 ± 0.64	15.30 ± 2.01	2.64 ± 0.98
统计量值		1.288	0.814	-2.813
P值		0.2	0.417	0.006

FT3: 游离三碘甲状腺原氨酸; FT4: 游离甲状腺素; TSH: 促甲状腺激素.

的影响. 研究还表明TSH影响脂质代谢的机制可能有两点: 一是TSH直接作用于肝细胞的TSH受体进而影响肝内脂质代谢; 二是TSH通过影响甲状腺激素的水平从而间接影响肝内脂质代谢^[14]. 因此, 我们推测TSH和FT4可能通过不同的通路来影响肝内的脂质代谢, 进而引起肝内脂肪蓄积, 从而使得随着TSH水平的升高和FT4水平的降低, NAFLD的发生率也随之增加.

另外, 我们的研究还发现在NAFLD患者中, 中重度脂肪变组的TSH水平显著高于轻度脂肪变组. 有研究报道建议将TSH的正常上限设为2.5 mIU/L^[15,16], 故我们根据TSH水平进一步将甲状腺功能正常(TSH: 0.27-4.2 mIU/L)的患者分为低水平TSH组(TSH: 0.27-2.5 mIU/L)和高水平TSH组(TSH: 2.5-4.2 mIU/L), 结果仍然显示肝脂肪变

的程度和TSH水平在正常范围内的升高存在一定关联, 且和TSH的浓度呈剂量反应关系即随着TSH水平的升高, 肝脂肪变的程度可能会加重. 一项研究表明, 在甲状腺功能正常的人群中, 和较低TSH水平(TSH: 0.27-2.5 mIU/L)的人相比, 处于较高TSH水平(TSH: 2.5-4.2 mIU/L)的人更倾向于肥胖同时患代谢综合征可能性也更高^[17], NAFLD肝脂肪变的严重程度与肥胖、代谢综合征等密切相关, 故该研究的结果和我们的结论是类似的. 有研究表明其可能的机制在于TSH直接或间接作用于肝脏, 使得肝内脂质蓄积继而伴随胰岛素抵抗的增加, 从而使外周脂肪脂肪组织分解增加, 血液中游离的脂肪酸被肝脏摄取增多, 使得肝脏脂肪变的程度逐渐加重^[18]. 由于本研究纳入的NAFLD患者中重度肝脂肪变患者样本

表 7 慢性乙型肝炎合并非酒精性脂肪性肝病组中不同程度肝脂肪变的TSH水平的比较

组别	例数	TSH 0.27–2.5 mIU/L	TSH 2.5–4.2 mIU/L
轻度脂肪肝	104	80	24
中重度脂肪肝	20	9	11
统计量值	8.438		
P值	0.004		

TSH: 促甲状腺激素.

量较少, 故仍需进一步大样本的前瞻性研究来验证甲状腺功能和NAFLD患者肝脂肪变程度之间的关联.

综上所述, 我们的研究发现在甲状腺功能正常的CHB患者中, 升高的TSH和降低的FT4水平很可能是NAFLD发生的独立预测因素, 并且TSH水平也和肝脂肪变严重程度相关. 这些研究结果有助于我们在CHB患者中预测NAFLD的发生, 因为合并的NAFLD会干扰抗病毒疗效, 同时NAFLD的早期发现也有助于降低CHB患者心血管和癌症风险, 特别是在甲状腺功能减退的患者中, 因为其发生NAFLD的可能性更大. 但鉴于本研究是一项回顾性研究, 无法说明因果联系, 故仍需后续研究来进一步验证.

文章亮点

实验背景

慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)是国内最常见的慢性肝病之一, 随着生活水平的改善, 非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的发生率正在逐年增加, 两者共存的现象在临床上变得越来越普遍. 甲状腺激素在脂质代谢方面扮演着重要的角色, 一些研究已表明其在正常范围内的波动也会造成一系列的健康问题, 如动脉粥样硬化等, 故对于甲状腺功能和NAFLD之间的关联也逐渐成为现在的研究热点.

实验动机

NAFLD的早期诊断有利于评估CHB患者抗病毒疗效, 以及降低其心血管疾病的发生. 一些学者已报道甲状腺功能减退症和NAFLD的发生密切相关, 由于在CHB患者中出现甲状腺功能异常患者较少见, 故在甲状腺功能正常的CHB患者中, 探讨甲状腺功能参数和NAFLD之间的关联是迫切需要的.

实验目标

在甲状腺功能正常的CHB患者中, 探讨NAFLD和甲状腺功能参数之间的关联. 我们的研究确定了促甲状腺

激素(thyroid stimulating hormone, TSH)、游离甲状腺素(free thyroxine, FT4)和NAFLD之间存在独立相关, 未来是否可将其并入NAFLD的无创诊断预测模型, 还有待进一步探索.

实验方法

本研究所有入组患者均进行肝组织病理活检, 并对入选患者进行了年龄、性别相匹配, 采用电化学发光法测定甲状腺功能, 组间的比较采用 t 检验或 χ^2 检验, 采用LOGISTIC回归分析进行多变量分析.

实验结果

本研究的结果表明在甲状腺功能正常的CHB患者中, 其血清TSH水平明显高于单纯CHB患者, 而FT4水平明显低于单纯CHB患者. 同时我们的多因素LOGISTIC回归分析结果也表明TSH水平的增加和FT4水平的降低是CHB患者合并NAFLD的独立危险因素.

实验结论

我们的研究发现在甲状腺功能正常的CHB患者中, 升高的TSH和降低的FT4水平很可能是NAFLD发生的独立危险因素, 并且TSH水平也和肝脂肪变严重程度相关. 该发现有助于在CHB患者中预测NAFLD的发生, 从而有助于抗病毒治疗策略的合理选择, 以及降低CHB患者心血管和癌症风险, 同时也为NAFLD的药物治疗提供了潜在的干预靶点.

展望前景

本研究属于单中心回顾性研究, 未来是否应该考虑将甲状腺功能参数并入无创诊断评分模型, 以用于在CHB患者中对NAFLD进行筛选, 还有待更大样本量的、多中心、前瞻性的临床研究来进一步验证.

4 参考文献

- 1 Spradling PR, Bulkow L, Teshale EH, Negus S, Homan C, Simons B, McMahan BJ. Prevalence and causes of elevated serum aminotransferase levels in a population-based cohort of

- persons with chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2014; 61: 785-791 [PMID: 24911461 DOI: 10.1016/j.jhep.2014.05.045]
- 2 Pagadala MR, Zein CO, Dasarathy S, Yerian LM, Lopez R, McCullough AJ. Prevalence of hypothyroidism in nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 528-534 [PMID: 22183820 DOI: 10.1007/s10620-011-2006-2]
 - 3 Chung GE, Kim D, Kim W, Yim JY, Park MJ, Kim YJ, Yoon JH, Lee HS. Non-alcoholic fatty liver disease across the spectrum of hypothyroidism. *J Hepatol* 2012; 57: 150-156 [PMID: 22425701 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.02.027]
 - 4 van Tienhoven-Wind LJ, Dullaart RP. Low-normal thyroid function and novel cardiometabolic biomarkers. *Nutrients* 2015; 7: 1352-1377 [PMID: 25690422 DOI: 10.3390/nu7021352]
 - 5 Dullaart RP, de Vries R, Roozendaal C, Kobold AC, Sluiter WJ. Carotid artery intima media thickness is inversely related to serum free thyroxine in euthyroid subjects. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2007; 67: 668-673 [PMID: 17596198 DOI: 10.1111/j.1365-2265.2007.02943.x]
 - 6 Di Domenicantonio A, Politti U, Marchi S, De Bortoli N, Giuggioli D, Antonelli A, Ferri C. A review on thyroid autoimmune disorders and HCV chronic infection. *Clin Ter* 2014; 165: e376-e381 [PMID: 25366958 DOI: 10.7417/T.2014.1768]
 - 7 National Workshop on Fatty Liver and Alcoholic Liver Disease, Chinese Society of Hepatology, Chinese Medical Association. Fatty Liver Expert Committee, Chinese Medical Doctor Association. Guidelines of prevention and treatment for nonalcoholic fatty liver disease: a 2018 update. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi* 2018; 26: 195-203 [PMID: 29804393 DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2018.03.008]
 - 8 Chinese Society of Hepatology, Chinese Medical Association, Chinese Society of Infectious Diseases, Chinese Medical Association, Hou JL, lai W. The guideline of prevention and treatment for chronic hepatitis B: a 2015 update. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi* 2015; 23: 888-905 [PMID: 26739464 DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2015.12.002]
 - 9 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学会. 病毒性肝炎防治方案. *中华肝脏病杂志* 2000; 8: 324-329 [DOI: 10.3760/j.issn.1007-3418.2000.06.001]
 - 10 Xu C, Xu L, Yu C, Miao M, Li Y. Association between thyroid function and nonalcoholic fatty liver disease in euthyroid elderly Chinese. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2011; 75: 240-246 [PMID: 21521285 DOI: 10.1111/j.1365-2265.2011.04016.x]
 - 11 Zhang J, Sun H, Chen L, Zheng J, Hu X, Wang S, Chen T. Relationship between serum TSH level with obesity and NAFLD in euthyroid subjects. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci* 2012; 32: 47-52 [PMID: 22282244 DOI: 10.1007/s11596-012-0008-8]
 - 12 Bohte AE, van Werven JR, Bipat S, Stoker J. The diagnostic accuracy of US, CT, MRI and 1H-MRS for the evaluation of hepatic steatosis compared with liver biopsy: a meta-analysis. *Eur Radiol* 2011; 21: 87-97 [PMID: 20680289 DOI: 10.1007/s00330-010-1905-5]
 - 13 Liu G, Zheng X, Guan L, Jiang Z, Lin H, Jiang Q, Zhang N, Zhang Y, Zhang X, Yu C, Guan Q. Free triiodothyronine levels are positively associated with non-alcoholic fatty liver disease in euthyroid middle-aged subjects. *Endocr Res* 2015; 40: 188-193 [PMID: 25531861 DOI: 10.3109/07435800.2014.987399]
 - 14 Wang F, Tan Y, Wang C, Zhang X, Zhao Y, Song X, Zhang B, Guan Q, Xu J, Zhang J, Zhang D, Lin H, Yu C, Zhao J. Thyroid-stimulating hormone levels within the reference range are associated with serum lipid profiles independent of thyroid hormones. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97: 2724-2731 [PMID: 22730515 DOI: 10.1210/jc.2012-1133]
 - 15 Brabant G, Beck-Peccoz P, Jarzab B, Laurberg P, Orgiazzi J, Szabolcs I, Weetman AP, Wiersinga WM. Is there a need to redefine the upper normal limit of TSH? *Eur J Endocrinol* 2006; 154: 633-637 [PMID: 16645008 DOI: 10.1530/eje.1.02136]
 - 16 Wartofsky L, Dickey RA. The evidence for a narrower thyrotropin reference range is compelling. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 5483-5488 [PMID: 16148345 DOI: 10.1210/jc.2005-0455]
 - 17 Ruhla S, Weickert MO, Arafat AM, Osterhoff M, Isken F, Spranger J, Schöfl C, Pfeiffer AF, Möhlig M. A high normal TSH is associated with the metabolic syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2010; 72: 696-701 [PMID: 20447068 DOI: 10.1111/j.1365-2265.2009.03698.x]
 - 18 Bugianesi E, McCullough AJ, Marchesini G. Insulin resistance: a metabolic pathway to chronic liver disease. *Hepatology* 2005; 42: 987-1000 [PMID: 16250043 DOI: 10.1002/hep.20920]

编辑:王禹乔 电编:刘继红



1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology, WCJD*, print ISSN 1009-3079, online ISSN 2219-2859, DOI: 10.11569)是一份国际性同行评议和开放获取(Open Access, OA)的学术出版物. 本刊创刊于1993年1月15日, 半月刊, 每月8和28号在线出版. 《世界华人消化杂志》编辑委员会由719位专家组成, 来自中国31个省、市、自治区以及香港特别行政区.

1.2 目的 《世界华人消化杂志》的目的是发表高质量的胃肠病学和肝病领域多学科的前沿进展和原创性文章, 促进胃肠病学和肝病事业的发展, 提高消化系统疾病的预防、诊断和治疗水平.

1.3 范围 《世界华人消化杂志》的范围涵盖消化内科学、消化外科学、消化感染病学、消化中医药学、消化肿瘤学、消化影像学、消化内镜及介入治疗学、消化中西医结合学、消化基础研究、消化病理学和消化护理学.

1.4 栏目 《世界华人消化杂志》的栏目包括述评、基础研究、临床研究、文献综述、研究快报、临床实践和病例报告. 手稿应具有科学性、先进性、可读性和实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范且表达准确.

1.5 收录 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录. 《世界华人消化杂志》在Scopus数据库的2017年期刊评价指标包括: CiteScore: 0.04; SJR: 0.109; SNIP: 0.020. 本刊是由美国百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)主办和出版的一份中文印刷版、电子版和网络版的国际核心学术刊物.

1.6 出版 《世界华人消化杂志》由Baishideng Publishing Group (BPG)编辑和出版. BPG联系地址如下:
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA
E-mail: wcjd@wjgnet.com

Help Desk: <https://www.baishideng.com/helpdesk>

<https://www.wjgnet.com>

Telephone: +1-925-223-8242

Fax: +1-925-223-8243

1.7 生产 《世界华人消化杂志》由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作. 公司联系地址如下:

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

Help Desk: <https://www.baishideng.com/helpdesk>

<https://www.wjgnet.com>

1.8 编辑部 《世界华人消化杂志》编辑部主任马亚娟, 联系地址如下:

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: yj.ma@wjgnet.com

Help Desk: <https://www.baishideng.com/helpdesk>

<http://www.wjgnet.com>

1.9 编委 《世界华人消化杂志》编辑委员会成员具体名单见: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>.

1.10 审稿 同行评议过程需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或手稿修改后再送同行评议.

1.11 投稿 《世界华人消化杂志》在线投稿网址见: <https://www.baishideng.com/>.

1.12 主页 《世界华人消化杂志》主页网站见: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/index.htm>.

1.13 稿酬 文章在《世界华人消化杂志》出版后, 作者可获得高质量的PDF和样刊两份作为稿酬. PDF包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底.

1.14 版权 著作权归作者所有. 出版版权归Baishideng Publishing Group Inc所有.

2 手稿要求

2.1 总体标准 手稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则以及GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求, 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals), 具体见: Ann Intern Med 1997; 126: 36-47.

2.2 名词术语 手稿应标准化, 前后统一. 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称. 医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准; 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准; 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文. 公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 通常应小写, 如weixibao nizhuanwan (胃细胞逆转丸), guizhitang (桂枝汤).

2.3 外文字符 手稿应注意大小写、正斜体与上下角标. 静脉注射应缩写为iv, 肌肉注射为im, 腹腔注射为ip, 皮下注射为sc, 脑室注射为icv, 动脉注射为ia, 口服为po, 灌胃为ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm (应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或PH, *H. pylori*不能写成HP, T1/2不能写成t1/2或T, Vmax不能写成Vmax, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示, 包括生物学中拉丁学名的属名与种名(包括亚属、亚种、变种), 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, *et Arn. var. glaber* Chang (命名者勿划横线); 常

数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验, 概率*P*和相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*), 例如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), *n*-butyl acetate (醋酸正丁酯), *N*-methylanilide (N-甲基乙酰苯胺), *o*-cresol (邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline (3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine (右旋苯丙胺), *l*-dopa (左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid (对氨基水杨酸); 拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*, *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m* (质量), *V* (体积), *F* (力), *p* (压力), *W* (功), *v* (速度), *Q* (热量), *E* (电场强度), *S* (面积), *t* (时间), *z* (酶活性, kat), *t* (摄氏温度, °C), *D* (吸收剂量, Gy), *A* (放射性活度, Bq), ρ (密度, 体积质量, g/L), *c* (浓度, mol/L), *j* (体积分数, mL/L), *w* (质量分数, mg/g), *b* (质量摩尔浓度, mol/g), *l* (长度), *b* (宽度), *h* (高度), *d* (厚度), *R* (半径), *D* (直径), *T*_{max}, *C*_{max}, *V*_d, *T*_{1/2} *CI*等; 基因符号, 通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物, 用大写正体, 如P16蛋白.

2.4 计量单位 手稿应采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量, 如30 kDa改为*M*_r 30000或30 kDa (*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A*_r (*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是*u* (小写正体). 计量单位在+、-及-后列出, 在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d. 3.56 ± 0.27 pg/ml 应为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L. BP用kPa (mmHg), RBC数用1 × 10¹²/L, WBC数用1 × 10⁹/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. *M*_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸应改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸应改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm应写成10 cm × 6 cm × 4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物用mmol/L; 胆红素、蛋白结合碘、肌酐、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸用μmol/L; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 国际代号应规范标识, 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5

wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把 1×10^3 g与 5×10^{-7} g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月应为15 d; 15克应为15 g; 10%福尔马林应为40 g/L甲醛; 95%酒精应为950 mL/L乙醇; 5% CO₂应为50 mL/L CO₂; 1:1000肾上腺素应为1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg应改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖应改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6} ; 离心的旋转频率(原称转速)应用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

2.5 统计学符号 统计学符号包括: (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写 χ^2 ; (4)样本的相关系数用英文小写*r*; (5)自由度用希文小写*v*; (6)样本数用英文小写*n*; (7)概率用英文斜体大写*P*. 在统计学处理中, 在文字叙述时平均数±标准差表示为mean±SD, 平均数±标准误为mean±SE. 统计学显著性用^a*P*<0.05或^b*P*<0.01(*P*>0.05不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则用^c*P*<0.05和^d*P*<0.01; 第三套为^e*P*<0.05和^f*P*<0.01等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995关于出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字. 如1000-1500 kg. 3.5 mmol/L±0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的mean±SD应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3614.5 g±420.8 g, SD的1/3达一百多克, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg±0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm±0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍弃. 末尾数字小于5则舍, 大于5则进, 如过恰好等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 抹尾时只可1次完成, 不得多次完成, 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48→23.5→24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写, 如1985年4月12日可写

作1985-04-12; 1985年4月写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母≤100, 百分数到个位; 101≤分母≤1000, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1486 800.47565. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 手稿全文中文格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 应鲜明而有特色, 不宜以阿拉伯数字开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名应按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行, 具体标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2和3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名写清楚自己对文章的贡献, 不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称, 空1格后再写省市及邮政编码, 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所

作贡献两均等;此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计;研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成;研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供;数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成;本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成。

3.6 基金资助项目 格式如:国家自然科学基金资助项目, No. 30224801.

3.7 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com 电话: 0351-4078656

传真: 0351-4086337

3.8 中文摘要 举例: 基础和临床研究文章的摘要必须在350字. 摘要包括背景、目的、方法、结果和结论. 背景应简要阐述研究的基本原理和设想. 目的应阐明研究所要达到的预期效果. 方法必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 例如双盲、单盲还是开放性; 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度; 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征; 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现和诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究. 结果应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确和具体, 所列数据经用何种统计学方法处理, 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值(概率写 P 后应写出相应显著性检验值). 结论应给出全文总结、准确无误的观点及价值.

3.9 正文标题层次 举例: 基础和临床研究文章书写格式包括 0 引言; 1 材料和方法 (1.1 材料, 1.2 方法); 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 正文内序号连排用(1), (2), (3), 以下逐条陈述.

0 引言

应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

1 材料和方法

应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可.

2 结果

实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

3 讨论

要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾. 图表的数量要精选, 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述, 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化.

A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: … . 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用 $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则用 $P<0.05$ 和 $P<0.01$; 第3套为 $P<0.05$ 和 $P<0.01$. P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01, t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达.

志谢后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

4 参考文献

本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上角注角码号, 如马连生^[1]报告……, 研究^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献^[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊引用格式为: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍引用格式为: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

4 手稿英文摘要书写要求

4.1 题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致.

4.2 作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名后姓;

首字母大写; 双名之间用半字线“-”分开; 多作者时姓名间加逗号. 格式如: “马连生”的汉语拼写法为“Lian-Sheng Ma”.

4.3 单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码, 例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

4.4 基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No. 30224801.

4.5 通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

4.6 摘要 英文摘要包括背景、目的、方法、结果和结论, 书写要求与中文摘要一致.

5 手稿写作格式实例

5.1 病例报告写作格式实例 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/224>

5.2 基础研究写作格式实例 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/225>

5.3 临床实践写作格式实例 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/227>

5.4 临床研究写作格式实例 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/228>

5.5 述评写作格式实例 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/229>

5.6 文献综述写作格式实例 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/230>

5.7 研究快报写作格式实例: 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/231>



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<https://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

