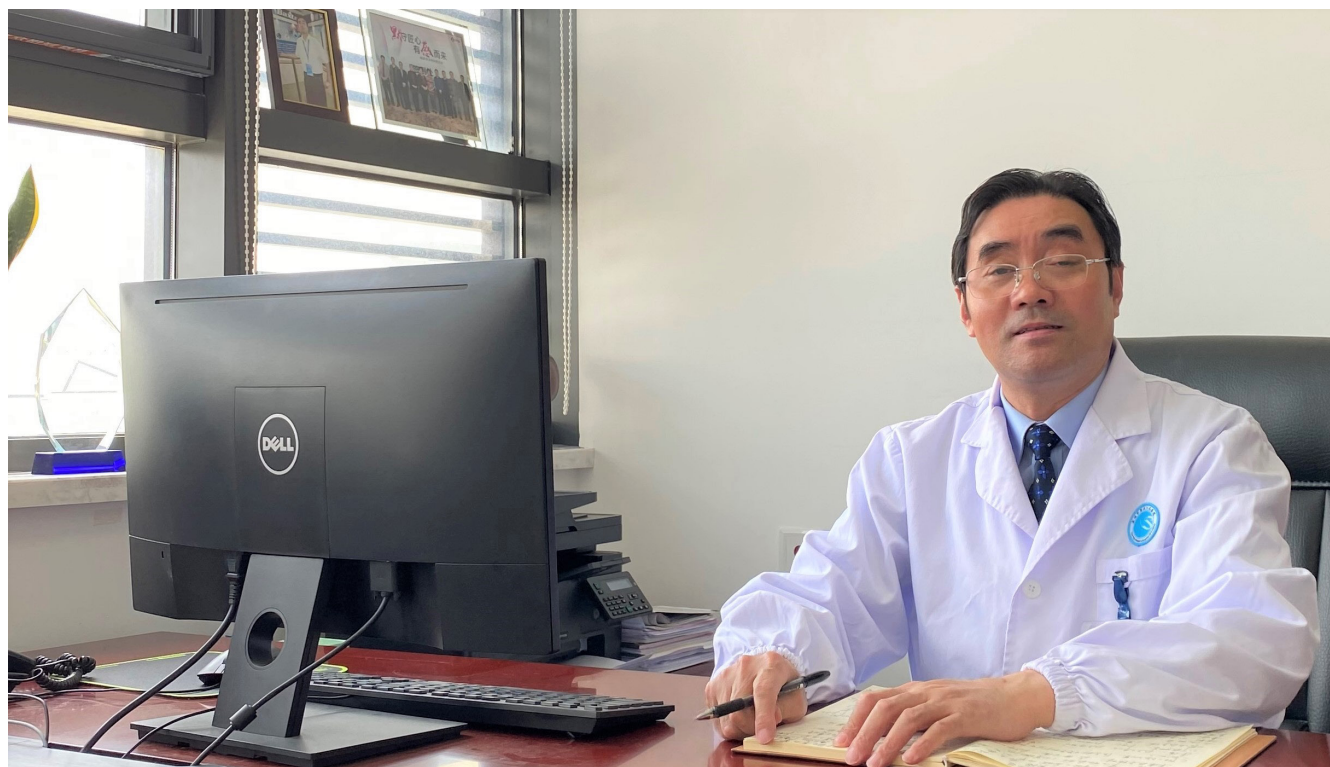


世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2021年7月28日 第29卷 第14期 (Volume 29 Number 14)



14/2021

《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

- 747 m6A甲基化在消化系统恶性肿瘤发生与进展中的作用
梁锐煌, 朱南星, 侯钦, 吴灵飞
- 758 机械敏感性离子通道蛋白Piezo1在肿瘤研究中新进展
王咪咪, 崔杰峰

基础研究

- 765 水飞蓟素对重症急性胰腺炎大鼠肠道损伤及PI3K/Akt和NF- κ B信号通路影响
哈虹, 哈良, 张庆清

临床研究

- 775 HSF1在食管鳞状细胞癌中表达及其与放化疗敏感性的关系
黄妹, 徐梦婷, 韩明, 王桂良, 陈璇, 文剑波
- 788 Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9在食管癌术后胸腔感染中的表达及预测脓毒症的效能
练冬, 金蓓
- 796 自拟脾胃调和汤治疗幽门螺杆菌相关性胃炎的疗效: 一项前瞻性随机对照研究
王瑞华, 王申

文献综述

- 804 高脂血症性急性胰腺炎研究进展
于先强, 李维勤
- 809 去泛素化酶在结直肠癌中的研究进展
韩柳, 郭婷, 刘德良, 谭玉勇

临床实践

- 816 慢性萎缩性胃炎并幽门螺杆菌感染患者吹气定量测定值与G-17、IL-32、sIL-2R水平及胃镜下病理变化的关系
倪冰颖, 鲍洛文, 黄秋菊, 吴蓓蕾, 李伟
- 825 CEA、CA 19-9和CA242联合检测能否提高结直肠癌诊断的敏感性和诊断价值: Meta分析
张竞宇, 吴小威, 王绪, 王锐, 刘文天

消 息

- 757 《腹痛的诊断、鉴别诊断与治疗》书讯
774 《世界华人消化杂志》修回稿须知
787 《世界华人消化杂志》正文要求
808 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
824 《世界华人消化杂志》外文字符标准

封面故事

朱传武, 博士, 主任医师, 教授, 博士生导师, 苏州大学附属传染病医院感染、肝病科. 江苏省肝病临床重点专科、苏州市传染病重点学科、苏州市肝炎重点专科学术带头人. 主要从事各类肝病、感染病的临床、教学和科研工作. 在国家、省、市级肝病和感染病学学会、协会担任一定的学术职务. 兼任JVH、EJGH、《世界华人消化杂志》、《中华医学杂志(英文版)》、《临床肝胆病杂志》等期刊编委或审稿专家. 主持和参与国家、省、市级科研课题20余项, 获得20项省、市级科技奖励, 在国内外学术期刊发表论文130余篇, 其中SCI论文30余篇.

本期责任人

编务 张砚梁; 送审编辑 张砚梁; 组版编辑 张砚梁; 英文编辑 王天奇;
形式规范审核编辑部主任 马玉洁; 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 2021-07-28

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

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

王金磊, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,

CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,

CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

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: +86-10-85381892

《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(Abtract 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

© 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Contents

Volume 29 Number 14 July 28, 2021

EDITORIAL

- 747 Role of m6A methylation in occurrence and progression of digestive system malignancies
Liang RH, Zhu NX, Hou Q, Wu LF
- 758 Role of mechanosensitive ion channel Piezo1 in tumors
Wang MM, Cui JF

BASIC RESEARCH

- 765 Effect of silymarin on intestinal injury and PI3K/Akt and NF- κ B signaling pathways in rats with severe acute pancreatitis
Ha H, Ha L, Zhang QQ

CLINICAL RESEARCH

- 775 Relationship of expression of heat shock transcription factor 1 with sensitivity to radiotherapy and chemotherapy in esophageal squamous cell carcinoma
Huang M, Xu MT, Wang GL, Han M, Chen X, Wen JB
- 788 Expression of Bcl-xL protein, LDH, IPF, and MMP-9 in thoracic cavity infection after esophageal cancer surgery and their role in predicting sepsis
Lian D, Jin B
- 796 Efficacy of self-made Spleen-Stomach Tiaohe Decoction in treatment of *Helicobacter pylori*-related gastritis: A prospective randomized controlled study
Wang RH, Wang S

REVIEW

- 804 Progress in research of hyperlipidemic acute pancreatitis
Yu XQ, Li WQ
- 809 Progress in research of deubiquitination enzymes in colorectal cancer
Han L, Guo T, Liu DL, Tan YY

CLINICAL PRACTICE

- 816 Relationship of delta over baseline with serum levels of gastrin 17, interleukin-32, and soluble interleukin 2 receptor and gastroscopic pathological changes in patients with chronic atrophic gastritis and *Helicobacter pylori* infection
Ni BY, Bao LW, Huang QJ, Wu BL, Li W
- 825 Can combination of CEA, CA 19-9, and CA242 improve diagnostic sensitivity and diagnostic value for colorectal cancer? A Meta-analysis
Zhang JY, Wu XW, Wang X, Wang R, Liu WT

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Chuan-Wu Zhu, Chief Physician, Professor, Department of Infectious Diseases, The Affiliated Infectious Diseases Hospital of Soochow University, No.10 Guangqian Road, Xiangcheng District, Suzhou 215131, Jiangsu Province, China. zhuchw@126.com

Indexed/Abstracted by

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

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Yan-Liang Zhang* Review Editor: *Yan-Liang Zhang*
 Production Editor: *Yan-Liang Zhang* English Language Editor: *Tian-Qi Wang*
 Proof Editor: *Yu-Jie Ma* Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date July 28, 2021

NAME OF JOURNAL
World Chinese Journal of Digestology

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

EDITOR-IN-CHIEF
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

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
 Jin-Lei Wang, Director
World Chinese Journal of Digestology
 Baishideng Publishing Group Inc
 7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
 Telephone: +1-925-3991568
 E-mail: wjcd@wjgnet.com
<https://www.wjgnet.com>

PUBLISHER
 Baishideng Publishing Group Inc
 7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
 Telephone: +1-925-3991568
 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

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

COPYRIGHT
 © 2021 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.

m6A甲基化在消化系统恶性肿瘤发生与进展中的作用

梁锐煌, 朱南星, 侯钦, 吴灵飞

梁锐煌, 朱南星, 侯钦, 吴灵飞, 汕头大学医学院第二附属医院消化内科 广东省汕头市 515041

吴灵飞, 教授, 主要从事消化系统肿瘤研究.

基金项目: 广东省自然科学基金项目, No.2021A1515012127.

作者贡献分布: 本文由吴灵飞设计; 论文写作由梁锐煌, 朱南星, 侯钦共同完成.

通讯作者: 吴灵飞, 教授, 主任医师, 515041, 广东省汕头市金平区东厦北路69号, 汕头大学医学院第二附属医院消化内科. 1808435253@qq.com

收稿日期: 2021-02-22

修回日期: 2021-03-24

接受日期: 2021-06-02

在线出版日期: 2021-07-28

Role of m6A methylation in occurrence and progression of digestive system malignancies

Rui-Huang Liang, Nan-Xing Zhu, Qin Hou, Ling-Fei Wu

Rui-Huang Liang, Nan-Xing Zhu, Qin Hou, Ling-Fei Wu, Department of Gastroenterology, the 2nd Affiliated Hospital of Shantou University Medical College, Shantou 515041, Guangdong Province, China

Supported by: Guangdong Natural Science Foundation, No.2021A1515012127.

Corresponding author: Ling-Fei Wu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the 2nd Affiliated Hospital of Shantou University Medical College, No. 69 Dongxia North Road, Shantou 515041, Guangdong Province, China. 1808435253@qq.com

Received: 2021-02-22

Revised: 2021-03-24

Accepted: 2021-06-02

Published online: 2021-07-28

Abstract

N6-methyladenosine (m6A) is the most common

modification in higher eukaryotic messenger RNA (mRNA), which is closely related to the mRNA processing, nuclear output, translation, and degradation. M6A modification is regulated by methyltransferase and demethylase dynamically and reversibly. M6A plays an essential role in tumors progression by regulating epigenetic modification of tumor suppressor genes and oncogenes. In recent years, more and more studies have shown that m6A is related to the occurrence and development of digestive system malignant tumors and may serve as a novel potential biomarker for the diagnosis and prognosis of digestive cancer. This article reviews the latest progress in the research of m6A in digestive system malignant tumors.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: N6-methyladenosine; Messenger RNA; Methylation modification; Digestive system malignancies; Expert review

Citation: Liang RH, Zhu NX, Hou Q, Wu LF. Role of m6A methylation in occurrence and progression of digestive system malignancies. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(14): 747-757

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i14/747.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i14.747>

摘要

N6-甲基腺嘌呤(N6-methyladenosine, m6A)是高等真核生物信使RNA (messenger RNA, mRNA)上最多的化学修饰之一, 与mRNA加工、核输出、翻译以及降解密切相关. m6A修饰主要通过甲基转移酶和去甲基化酶以动态可逆的方式进行调控. m6A在表观遗传水平上通过调控原癌基因、抑癌基因的表达而影响肿瘤生长. 越来越多的证据表明, m6A与消化系统恶性肿瘤的发生和进展有关, 有望成为肿瘤诊断的分子标志物或药物治疗的潜在靶点. 本文就m6A在消化

系统恶性肿瘤中的作用进行述评.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: N6-甲基腺嘌呤; 信使RNA; 甲基化修饰; 消化系统恶性肿瘤; 专家述评

核心提要: 本文就N6-甲基腺嘌呤(N6-methyladenosine, m6A)甲基化修饰及其在消化系统恶性肿瘤中的作用进行述评. m6A通过一系列复杂的机制参与多种肿瘤的发生、进展及化疗耐药的调控, 有望成为肿瘤防治的新型靶标.

文献来源: 梁锐煌, 朱南星, 侯钦, 吴云飞. m6A甲基化在消化系统恶性肿瘤发生与进展中的作用. 世界华人消化杂志 2021; 29(14): 747-757

URL: <https://www.wjnet.com/1009-3079/full/v29/i14/747.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i14.747>

0 引言

近年来, 随着人们饮食结构和生活方式的改变, 消化系统肿瘤的发病率呈逐年上升趋势. 消化道作为人类恶性肿瘤的好发部位之一, 肿瘤发生的机制十分复杂, 多条通路参与其中, 其中表观遗传学相关机制受到广泛关注. 表观遗传修饰是指在不改变DNA核苷酸序列的前提下引起基因表达的可遗传性改变, 其内容不但涉及DNA甲基化、组蛋白修饰, 还包括染色质重构等. 早期的研究主要集中于DNA和蛋白质水平, 随着基因测序和生物信息学技术的进步, RNA水平的化学修饰逐渐成为生命科学领域的研究热点. 其中, N6-甲基腺嘌呤(N6-methyladenosine, m6A)尤其引人注目. 目前已证实, m6A受多种因子的调节, 在细胞增殖、侵袭、转移等一系列恶性生物学行为中发挥重要作用. 本文就m6A相关蛋白的功能及其与消化系统肿瘤的研究进展作一述评.

1 RNA m6A的发现及其生物学特性

RNA修饰是一个新兴的领域, 常见的RNA甲基化包括5-甲基胞嘧啶(m5C)、N1-甲基腺苷(m1A)^[1,2]和m6A^[3]等. 目前, 在生物体内已发现有163种化学修饰^[4], 分布在各种RNA上, 其中信使RNA(mRNA)的修饰尤其重要, 因为它具有将DNA的遗传信息转录到蛋白质的功能. m6A甲基化修饰最早在酵母tRNA中发现, tRNA发生m6A修饰后有助于维持其三叶草结构的稳定性, 提高翻译效率^[5]. 1974年密歇根州立大学Desrosiers首次明确m6A甲基化是真核生物mRNA与长链非编码RNA (long noncoding RNA, lncRNA)之间最常见的内部修饰. m6A甲基转移酶复合物利用S-腺苷甲硫氨酸(S-adenosyl methionine, SAM)为

甲基供体, 将腺嘌呤第6位氮原子上的氢甲基化而形成m6A. 这是mRNA转录后最丰富和保守的转录后表观遗传修饰. 据统计, m6A甲基化大约占mRNA化学修饰的50%, 在生命起源及生物生长发育过程中起重要作用^[6,7]. m6A虽然发现较早, 但限于当时的实验技术和条件, 较长时间并未取得进展. 由于mRNA半衰期较短, 其修饰的作用时间非常有限而在过去常被认为是静态的. 随着免疫共沉淀等生物技术的进步, m6A甲基化位点被识别, m6A修饰的作用重新引起了人们的关注. 2011年, Jia等^[8]发现高度保守的脂肪质量与肥胖相关蛋白(fat mass and obesity-associated protein, FTO)参与了m6A的去甲基化调控. m6A这一可逆的动态过程极大拓展了人们对其生理功能的认识. 目前基于anti-m6A抗体的meRIP技术、miCLIP技术以及新近报道的不依赖抗体的MAZTER-seq和DART-seq技术的研究结果表明, 哺乳动物RNA中约0.1%-0.4%的腺苷存在m6A甲基化修饰^[6]. 这种修饰并非随机分布在成熟转录本中, 而是在特定的位点如终止密码子周围、3'UTR和内部长外显子内富集, 具有一致的motif, 即RRACH序列(R: A/G, H: A/C/U)^[7,9,10]. 随着m6A甲基转移酶(Writers), 去甲基化酶(Erasers)和甲基识别蛋白(Readers)的不断发现, m6A与mRNA之间的关系被不断揭示. m6A可逆、动态的修饰不仅参与了mRNA转运出核、翻译及降解等生理过程, 而且与肿瘤生长、转移及化疗耐药密切相关^[11-13]. 下面对新近取得的进展进行述评.

2 RNA m6A三类相关蛋白及其功能

2.1 m6A “Writers” 第一类蛋白质是m6A甲基转移酶. 它们编码的基因被称为m6A “writers”. Knuckles等^[14]在小鼠胚胎干细胞中过表达METTL3, 通过TAP-LC-MS技术筛选鉴定与METTL3相互作用的蛋白. 将在高盐条件下洗脱获得的复合物命名为m6A-METTL复合物(m6A methyltransferase complex, MAC). 将在低盐条件下洗脱获得的复合物命名为m6A-METTL相关蛋白复合物(m6A methyltransferase associated complex, MACOM). 其中, MAC主要包括甲基转移酶样蛋白3 (methyltransferase-like 3, METTL3)和METTL14蛋白, 两者以1:1比例形成稳定的复合物并共定位于细胞核内^[15]. METTL3作为主要的甲基化催化中心, 催化m6A合成, 它与METTL14、Wilm's肿瘤1相关蛋白(Wilm's tumor 1-associating protein, WTAP)形成复合物. METTL14本身并无催化活性^[16], 但可提高METTL3催化酶的活性^[17]. WTAP对甲基化修饰亦无直接催化作用, 它通过招募METTL3-METTL14二聚体定位于核散斑中, 参与RNA的选择性剪切并保持MAC酶活性. MACOM主要是由接头蛋白WTAP、VIRMA/

KIAA1429、RBM15、Zc3h13和CBL1/HAKAI相互结合而形成复合物, 与MAC共同参与m6A甲基化修饰. WTAP作为接头蛋白招募MAC定位到核散斑中^[18]. 接头蛋白KIAA1429、RBM15、HAKAI、Zc3h13等能够与WTAP结合, 决定MAC的正确定位^[19,20]. 此外, METTL16被鉴定为单独存在的具有催化活性的m6A甲基转移酶^[21]. 它与METTL3同源, 可结合U6 snRNA, 导致U6第43位腺嘌呤m6A甲基化, 影响U6剪切因子对mRNA前体的剪接^[21]. Pendleton等^[22]证实METTL16通过诱导甲硫氨酸腺苷转移酶2A (MAT2A)合成参与snRNA甲基化调控. MAT2A编码大部分细胞的SAM, 我们既往的研究表明, SAM与腺苷的代谢过程密切相关^[23]. 细胞内甲硫氨酸水平下降可导致MAT2A表达增加. METTL16通过调控MAT2A mRNA腺苷的甲基化水平而影响MAT2A生成, 进而调控snRNA的活性及其生物学功能.

2.2 m6A “Erasers” 第二类蛋白质是m6A去甲基化酶, 其编码基因称为m6A “Erasers”, 它的功能是将RNA分子中已进行m6A修饰的甲基去除. 目前已证实参与m6A去甲基化修饰过程的有FTO和AlkB同源蛋白5 (AlkB homolog 5, ALKBH5). FTO定位于核散斑及细胞质, 对RNA上的m6A具有较强的去甲基活性. FTO与核斑点的部分共域化实验结果表明mRNA中的m6A是FTO的作用底物^[8]. Su等^[24]分析了FTO催化m6A和N6, 2'-O-二甲基腺苷(m6Am)修饰的亲合力, 结果证实FTO与其底物的结合与FTO蛋白的定位有关. 在细胞核中FTO只催化m6A去甲基化, 而在细胞质中FTO既可以介导m6A又可以催化m6Am的去甲基化. 有趣的是, Mauer等^[25]研究表明FTO对m6Am的去甲基化酶活性大约是m6A的100倍, 显示FTO的作用底物更可能是m6Am, 这与Jia等人的研究结果有所不同^[8]. 目前多数学者认为, FTO在细胞核中对m6A亲和力较高, 而在细胞质中对m6Am亲和力更强^[26,27]. ALKBH5主要定位在核散斑, 影响mRNA的出核转运^[28]. FTO与ALKBH5对m6A修饰的去甲基化作用是相互独立的. ALKBH5可直接将m6A氧化为普通的腺苷, 而FTO则是分级代谢, 依次将m6A氧化为N6-羟甲基腺苷(hm6A)和N6-甲酰腺苷(f6A), 最后水解为腺嘌呤. 此外, 二者对底物的选择性和序列的亲合力也存在差别, 即m6A的“Erasers”可能因底物的“构象标记”不同而作用相异. 如FTO在小鼠大脑中表达水平高, 而ALKBH5在小鼠睾丸中表达较高. 这种在不同组织间的表达差异及其对底物的选择性差别显示了去甲基化酶生理作用的复杂性.

2.3 m6A “Readers” 第三类与m6A甲基化位点结合并读取其信息的蛋白质被称为m6A “Readers”, 即m6A识别蛋白. 它们能够选择性识别靶RNA上的m6A并参

与RNA的多种代谢过程. Readers包括YTHs家族蛋白、HNRNPs超家族蛋白和IGFBPs家族蛋白三组成员. 人具有5个含有YTH结构域的蛋白: 如定位于细胞质中的YTHDF1、YTHDF2、YTHDF3、YTHDC2和定位于细胞核的YTHDC1. YTHDF蛋白虽然结构相似, 但功能不完全相同. YTHDF2在细胞质中促进mRNA的降解^[29-31]. YTHDF1结合m6A后促进mRNA的翻译^[32]. YTHDF2和YTHDF1的不同功能可能在维持mRNA降解和翻译的平衡中发挥重要作用. YTHDF3与YTHDF1协同促进蛋白合成, 并通过YTHDF2介导mRNA降解^[33]. YTHDC1促进外显子的剪切以及控制其靶标的出核过程^[34]. YTHDC2能够与RNA解旋酶相互作用, 调节mRNA翻译延伸^[35]. 总之, YTHDF2、YTHDF3、YTHDC2可以促进mRNA降解; YTHDF1、YTHDF3、YTHDC2可以促进靶mRNA的翻译; YTHDC1则影响mRNA的剪接及其核输出过程. HNRNPs超家族蛋白包括三个成员: HNRNPA2B1、HNRNPC和HNRNPG. 这三个蛋白均在核内发挥作用. 其中HNRNPC和HNRNPG影响mRNA定位和可变剪切^[36]. HNRNPA2B1促进miRNA初级转录本的剪接加工^[37]. IGF2BPs包括IGF2BP1-3. 这类蛋白通过常见的RNA结合域识别具有m6A的RNA. IGF2BPs识别结合m6A修饰位点后, 增加mRNA的稳定性, 避免其降解并促进其翻译^[38]. 此外, 真核起始因子eIF3能够直接和mRNA 5'UTR的m6A修饰位点结合, 招募43S核糖体复合物并促进蛋白翻译^[39]. 有趣的是, 细胞质中METTL3也可作为识别蛋白并促进某些特定类型细胞mRNA翻译^[40].

总之, m6A甲基化是一个动态、可逆的过程, MAC、MACOM及METTL16均能催化m6A形成, 而FTO和ALKBH5可使其去甲基化. 已甲基化的RNA被相应的Readers识别后才进入下一步代谢过程以保证其有效发挥生物学功能, 包括维持RNA稳定、促进mRNA翻译、或加速其剪切和降解等. 具体见图1.

3 m6A甲基化在不同消化系统肿瘤中的研究进展

m6A既是mRNA加工和代谢的重要分子标志, 又在细胞分化进程中具有改变细胞状态的功能^[41], 如与细胞异型增生有关的mRNA可变剪切常受m6A调控^[42], 表明m6A与肿瘤发生有关. 研究证实m6A相关的蛋白在乳腺癌^[43]、肺癌^[40]、急性髓细胞白血病^[44]、宫颈癌^[45]存在过表达或者低表达, 并通过多种机制促进相应肿瘤进展. 下面总结m6A在消化系肿瘤中的作用.

3.1 食管鳞状细胞癌 Wu等^[46]发现经过香烟烟雾冷凝物染毒后, 食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)中ALKBH5表达升高. ALKBH5高表达介导LINC00278的去甲基化, 抑制LINC00278-sORF1

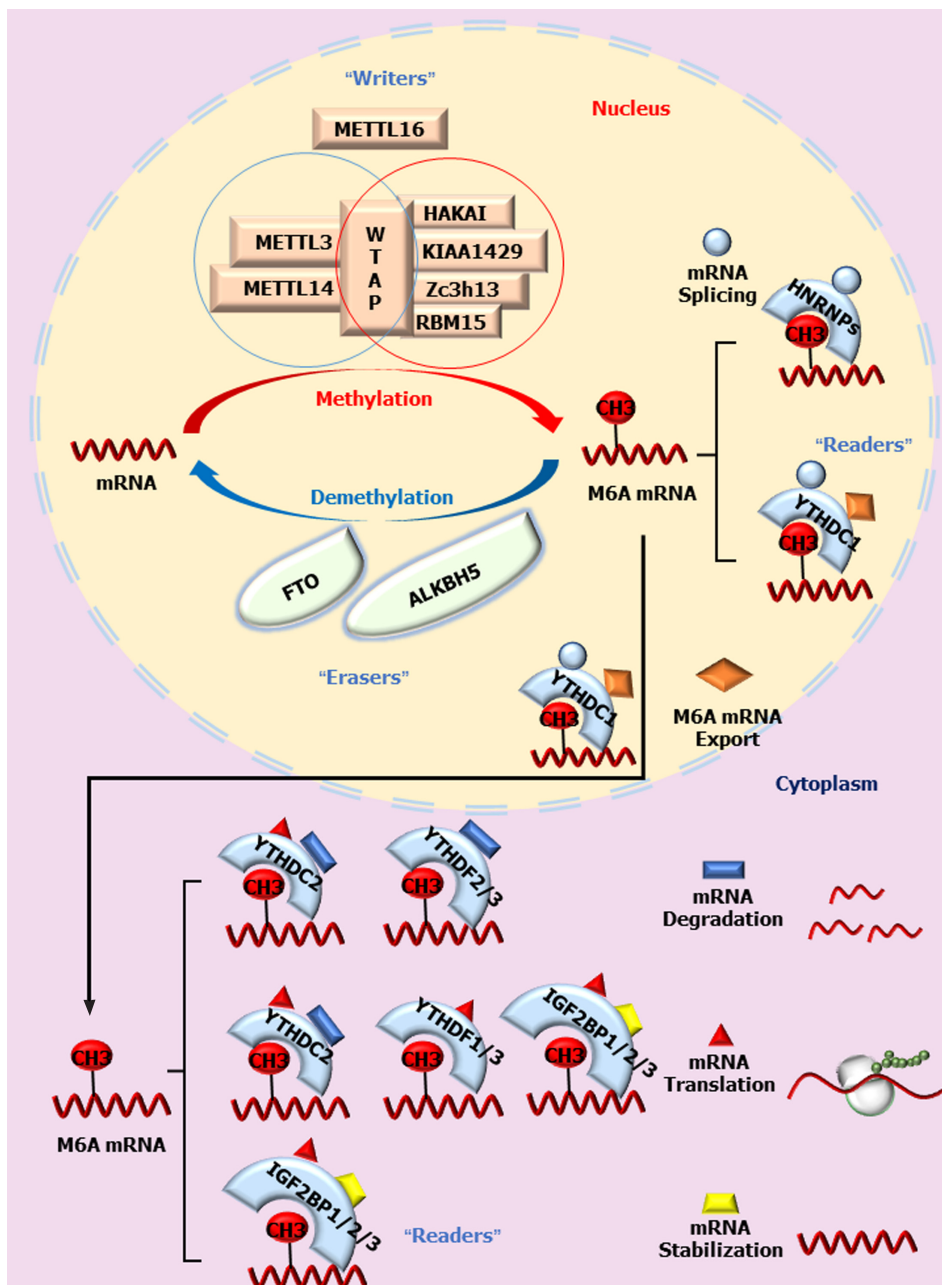


图 1 m6A RNA甲基化的基本机制. m6A RNA甲基化修饰是一个动态、可逆的过程. 此过程由甲基转移酶“Writers”、去甲基化酶“Erasers”和甲基化识别蛋白“Readers”共同参与. “Writers”由METTL3、METTL14、WTAP及KIAA1429、Zc3h13、RBM15、HAKAI和METTL16组成; “Erasers”包括FTO和ALKBH5; “Readers”由YTHDC1-2、YTHDF1-3、HNRNPs和IGF2BP1-3组成. 其中甲基转移酶的作用是催化mRNA上腺苷酸发生m6A修饰. 去甲基化酶是对已发生m6A修饰的碱基进行去甲基化修饰. 识别蛋白的作用则是通过识别发生了m6A修饰的碱基而参与RNA的剪接、加工、翻译和降解等过程.

翻译YY1BM. 而YY1BM可阻断YY1与雄激素受体(AR)相互作用, YY1BM表达降低可促进AR信号通路介导的eEF2K上调, 使肿瘤细胞适应缺乏营养的环境而减少凋亡. 这项研究从m6A去甲基化角度探索了吸烟促进ESCC进展的分子机制. Liu等^[47]研究发现FTO在ESCC组织中的表达亦高于邻近的正常组织, 并且与患者不良预后有关. FTO高表达正向调控癌基因MMP13, MMP13上调促进了ESCC转移. Yang等^[48]研究证实与癌旁正常组织相

比, ESCC组织中YTHDC2的表达下调, 低表达YTHDC2有助于ESCC扩散, 表明m6A去甲基化酶及个别识别蛋白参与了ESCC的发生及发展过程, 但仍缺乏全面挖掘. m6A甲基化酶是否参与食管癌的发病尚不清楚.

3.2 胃癌 Ge等^[49]收集100例胃癌(gastric carcinoma, GC)患者、30例良性胃病患者和75例健康对照的外周血液, 通过比色法检查发现GC组患者外周血RNA中m6A水平明显高于胃病和健康对照组. 随着GC的进展m6A水平

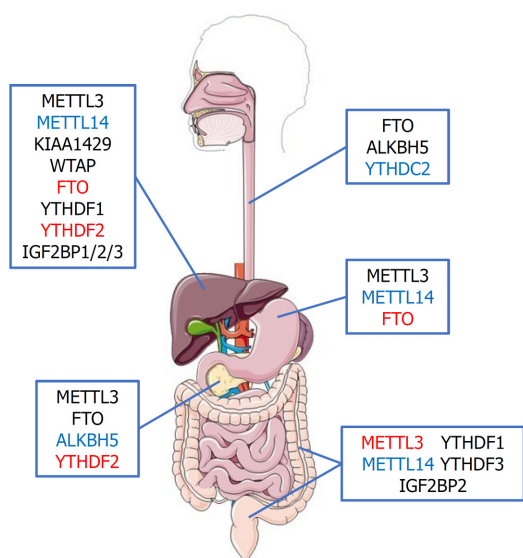


图 2 消化系统恶性肿瘤中常见m6A修饰相关蛋白的作用. 黑色表示该蛋白发挥癌基因的作用. 蓝色表示该蛋白发挥抑癌基因的作用. 红色表示该蛋白在该部位肿瘤发病中的作用仍有争论. 目前比较明确的是去甲基化酶FTO在食管癌、胰腺癌中是促癌基因; 甲基化识别蛋白YTHDF1在肝癌及结肠癌中亦是促癌基因; 甲基转移酶METTL3在胃癌、肝癌及胰腺癌中多发挥促癌作用; 而METTL14在胃癌、肝癌及结肠癌中具有抑癌效应.

升高, 手术后则下降. 受试者工作特性(receiver operating characteristic, ROC)曲线评估显示, GC组m6A的曲线下面积明显大于癌胚抗原(CEA)和糖类抗原199(CA19-9)的面积, 表明外周血总RNA的m6A检测对GC诊断及预后有一定参考价值, 其作用优于常规的癌胚抗原, 显示出m6A作为GC诊断标记物有较好的临床应用前景, 但其特异性和敏感性仍需扩大病例数进行临床大样本、多中心验证.

Yue等^[50]发现METTL3在GC细胞中表达上调, METTL3表达水平升高提示预后不良. 进一步研究发现, ZMYM1是METTL3的m6A修饰靶标. METTL3通过对ZMYM1进行m6A修饰而增强ZMYM1 mRNA的稳定性. 另外, ZMYM1通过形成CtBP/LSD1/CoREST复合物与上皮细胞钙黏蛋白(E-cadherin)基因启动子结合并抑制其表达, 从而促进上皮细胞-间充质转化(epithelial mesenchymal transition, EMT)和癌细胞转移. Liu等^[51]同样发现METTL3在GC细胞中表达上调, 其表达水平随着肿瘤分期和分级的进展而逐渐升高. 敲低METTL3显著抑制了GC细胞的总体RNA的m6A水平, 也显著降低了与GFI-1和 α -平滑肌肌动蛋白的表达, 从而抑制GC细胞的迁移.

METTL14与METTL3虽同属于m6A“Writers”, 但Zhang等^[52]研究发现敲降METTL14激活了Wnt和PI3K-Akt信号传导通路, 促进GC细胞的增殖和侵袭, 反而显

示出METTL14的抑癌作用. METTL3与METTL14在GCm6A甲基化过程中的不同结果显示“Writers”调控机制的复杂性. Xu等^[53]证实与癌旁非肿瘤组织相比, GC组织中FTO在蛋白水平和mRNA水平的表达均上调. FTO表达水平与细胞低分化、淋巴结转移、患者的不良预后密切相关. 进一步研究发现, FTO的表达与GC的TNM分期正相关, FTO表达下调可显著抑制GC细胞的增殖、迁移和侵袭. 然而, Li等^[54]发现, FTO蛋白在戒除细胞癌和GC组织中表达水平显著下调. FTO在GC中的作用有待进一步研究.

3.3 结直肠癌 Wu等^[55]发现lncRNA RP11 (RP11-138 J23.1)在结直肠癌(colorectal carcinoma, CRC)组织中高表达, 其表达水平随着CRC分期的上升而增加. RP11有正向调节CRC细胞的迁移、EMT、促进CRC细胞肝转移的功能. 作者发现在HCT-15和HCT-8细胞中, 过表达的METTL3可提高RP11表达水平, 增加RP11和hnRNPA2B1之间的结合, 促进RP11/hnRNPA2B1/mRNA复合物的形成. Zeb1作为EMT转录因子之一, 其上调促进了细胞迁移. 研究发现, 两种泛素E3连接酶(Siah1和Fbxo45)通过泛素-蛋白酶体途径诱导Zeb1降解, 而RP11/hnRNPA2B1/mRNA复合物可促进Siah1和Fbxo45的降解, 使Zeb1水平增高, 从而有助于CRC细胞EMT及迁移, 表明METTL3具有促癌作用. Peng等^[56]发现METTL3在CRC细胞表达上调, 其高表达与CRC转移呈正相关. METTL3通过甲基化pri-miR-1246使其成熟为miR-1246. miR-1246可抑制抑癌基因SPRED2的表达, 降低其在Raf/MEK/ERK通路中发挥的抑癌作用, 从而促进CRC细胞迁移、侵袭, 并诱导EMT.

多项研究证实, METTL3通过稳定mRNA的方式, 促进CRC进展. Li等^[57]通过分析TCGA数据库, 发现METTL3在多数恶性肿瘤中表达水平增加. 高表达METTL3的CRC患者总生存期和无病生存期缩短. 他们发现Y染色体性别决定区-box 2 (SOX2)是METTL3的下游基因, METTL3通过维持SOX2在CRC中的表达以促进CRC细胞的干性. 进一步研究发现, METTL3提高了SOX2转录本的甲基化水平, 阻止其被降解^[58,59]. Zhang等^[60]通过qRT-PCR和IHC发现在化疗耐药的结肠癌组织中CBX8明显过表达. CBX8将KMT2b招募到LGR5启动子上, 使其维持H3K4me3状态以促进LGR5的表达, 增加肿瘤细胞的干性, 并降低其化疗敏感性. 进一步研究发现, METTL3的甲基化修饰和IGF2BP1的结合有助于维持CBX8 mRNA的稳定性. 另外, Zhu等^[61]发现METTL3以m6A依赖的方式稳定CCNE1的mRNA, 从而促进CRC细胞的增殖. 与上述研究结果不同的是, Deng等^[62]发现METTL3的下调导致p-p38和p-ERK的激活, 促

进结肠癌细胞的增殖、迁移和侵袭. Chen等^[63]发现同样作为“Writer”的METTL14在CRC组织和细胞系中表达下调, 并与患者总生存期密切相关. METTL14基因的敲低显著降低总RNA中的m6A水平, 促进CRC细胞生长. 相反, METTL14过表达则增加总RNA中m6A水平, 抑制CRC细胞生长和转移. 上述研究表明, 在CRC中METTL14发挥抑癌作用, 这与GC的结果相一致^[52].

Wang等^[64]研究证实与IGF2BP2稳定性有关的lincRNA LINRIS在CRC组织中上调. LINRIS通过自噬-溶酶体途径阻断IGF2BP2的K139泛素化, 抑制IGF2BP2降解, 促进IGF2BP2的下游效应, 尤其是MYC介导的糖酵解过程, 使CRC耐药性增强^[65]. YTHDF已被多项研究证明与CRC的发生和进展有关. Bai等^[66]证实YTHDF1在CRC中高表达, 且与肿瘤TNM分期、远处转移和肿瘤组织学分型有关. 研究表明, 癌基因c-Myc可与YTHDF1的5'UTR结合, 促进YTHDF1的表达. 而敲除YTHDF1则可抑制Wnt/ β -catenin信号通路, 表明YTHDF1通过调控Wnt/ β -catenin通路促进肿瘤进展^[67]. Ni等^[68]报道, lincRNA GAS5促进内源性YAP从细胞核到胞浆的移位和磷酸化而加速YAP降解, 进而在体内外抑制CRC进展, 而YTHDF3通过促进lincRNA GAS5降解而阻遏YAP降解, 促进CRC的增殖及转移. 上述研究表明“Readers”在CRC中发挥促癌作用. 然而, 是否存在起抑癌作用的m6A识别蛋白以及METTL3在CRC中究竟扮演何种角色尚有待进一步研究.

3.4 肝癌 Chen等^[69]发现, METTL3在肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)中表达上调, 降低了SOCS2 mRNA稳定性, 从而下调抑癌基因SOCS2的表达, 促进HCC病变进展并缩短患者的生存期. Zuo等^[70]报道METTL3表达上调可通过METTL3 -LINC00958-HDGF轴促进HCC的发展. Cui等^[71]发现, 在肝母细胞瘤组织中METTL3与miR186的表达显著负相关, METTL3表达上调通过Wnt/ β -catenin途径促进肝母细胞瘤进展. Ma等^[72]证明METTL14可通过与抑癌因子pri-miR-126 DGCR8结合, 抑制HCC细胞转移, METTL14低表达则增强HCC的侵袭和转移能力. Chen等^[73]发现WTAP在HCC中高表达, 通过Hur-EtS1 -P21/P27通路促进HCC的发生和发展. Lan等^[74]证实KIAA1429在HCC组织中表达上调. GATA3是KIAA1429介导的m6A修饰的下游靶点. KIAA1429在HCC中高表达促进了GATA3 pre-mRNA的3'UTR发生m6A修饰, 导致RNA结合蛋白HuR的分离和GATA3 pre-mRNA的降解, 从而加速肿瘤的增殖和转移. 此外, KIAA1429通过上调ID2 mRNA上m6A修饰而抑制ID2的表达, 促进HCC细胞的迁移和侵袭^[75].

Zhao等^[76]报道, YTHDF1在HCC患者中表达明显上调

并与病理分期呈正相关. 作者通过对YTHDF1共表达基因的GO和KEGG通路分析, 发现YTHDF1在调节HCC细胞周期和代谢方面起着重要作用. 有趣的是, Zhou等^[77]发现, METTL3与YTHDF1共过表达的患者预后差. KEGG分析表明, 两者介导HCC不良预后的机制与DNA复制、RNA的剪切和降解有关, METTL3和YTHDF1联合检测具有判断HCC恶性程度和评估预后的价值.

Yang等^[78]发现YTHDF2在HCC中表达上调, 并受到miR145负性调节. Zhang等^[79]的研究表明, 敲除YTHDF2后, Hep3B和Huh7两种HCC细胞株的干细胞特性受损, 而YTHDF2过表达会增加肿瘤干细胞(CSC)的表型. 在HCC中YTHDF2过表达通过调控OCT4 mRNA的m6A甲基化使OCT4表达上调, 促进CSC生长, 维持CSC表型, 从而促进HCC转移. 与上述结果相反, Hou等^[80]发现在YTHDF2缺陷的HCC中, STAT3的磷酸化以及IL-11和SERPINE2的表达上调, 而缺氧可以增强这种作用. 缺氧条件下诱导的YTHDF2下调加剧了HCC组织中的炎症反应, 促进了HCC组织中的细胞增殖及血管异常化, 促进HCC细胞生长和病灶转移, 表明YTHDF2发挥了抑癌作用. 有趣的是, Zhong等^[81]的研究表明同样在缺氧环境下, 下调YTHDF2诱导ERK磷酸化, 激活ERK/MAPK通路, 从而促进癌细胞的增殖. YTHDF2在HCC组织中直接结合EGFR 3'UTR的m6A修饰位点, 促进EGFR mRNA的降解, 进而抑制ERK/MAPK信号通路发挥抑癌作用. 多项研究表明IGF2BPs与HCC细胞的增殖、转移、侵袭能力和集落形成能力呈正相关^[82,83], 但一些相互矛盾的结果显示m6A相关蛋白在HCC中的作用机制仍需进一步研究.

Li等^[84]发现低m6A水平的HCC中FTO表达明显升高. 丙酮酸激酶M2 (pyruvate kinase M2, PKM2)在肿瘤细胞供能、EMT及侵袭转移方面有重要作用, 是FTO的靶蛋白之一. 敲除FTO后, HCC组织增殖与克隆能力减弱, 同时可减少PKM2 mRNA表达及其蛋白生成, 而过表达PKM2可逆转敲除FTO的表型改变, 表明FTO诱导的PKM2 mRNA的去甲基化具有促癌作用. 有趣的是, Rong^[85]等发现FTO在肝内胆管细胞癌(ICC)细胞中的表达下调, 且FTO的表达与CA19-9的表达呈负相关, Kaplan-Meier生存分析显示, FTO低表达预示ICC预后不良, 这表明FTO可能有抑制ICC进程的作用. 体外实验发现FTO还可抑制ICC细胞生长和迁移. 另外, 裸鼠体内过表达FTO抑制了ICC肿瘤的生长. 这可能与FTO提高了TEAD2mRNA的稳定性有关. 结合上述研究结果, METTL14在GC、CRC、HCC三种肿瘤中均起抑癌作用^[52,63,72], 而METTL3主要发挥促癌作用^[50,57,69]. FTO在多种肿瘤中出现异常表达, 但其作用及机制均有待进一步

明确。

3.5 胰腺癌 Xia等^[86]发现与正常细胞相比, 胰腺癌(pancreatic carcinoma, PC)组织中METTL3和mRNA水平显著升高, 敲除METTL3后, RNA m6A修饰减少, 抑制了肿瘤细胞增殖、侵袭和迁移, 表明METTL3具有促癌作用。此外, Taketo等^[87]发现m6A修饰与PC化疗药物的敏感度有关, METTL3缺失的细胞对抗癌药如吉西他滨、5-氟尿嘧啶、顺铂和辐射显示出更高的敏感性。进一步研究表明, 包括MAPK级联反应、泛素化过程、RNA剪接等多条关键途径可能均是METTL3的作用靶点。这些信号通路的改变直接导致了肿瘤进展和化疗耐药, 表明METTL3参与了PC放疗及化疗耐药的调控。此外, 他们还发现METTL3的下调加速了PC细胞凋亡。m6A还可以通过影响miRNA或lncRNA调节PC的发生。Zhang等^[88]发现胰管上皮细胞中, 香烟烟雾冷凝物促使有致癌作用的miR-25成熟依赖于METTL3过表达介导的m6A甲基化。METTL3在PC中的促癌作用, 与其在GC、CRC及HCC中所起的作用一致^[50,57,69]。

Tang等^[89]发现ALKBH5在基于吉西他滨治疗患者的异种移植瘤模型中下调, 其过表达增加PC对化疗的敏感性。在体外和体内, 沉默ALKBH5显著增加PC增殖、迁移和侵袭, 而过表达ALKBH5导致完全相反的效果。进一步研究发现ALKBH5通过降低Wnt抑制因子1的m6A水平及阻碍Wnt信号通路来抑制PC的发生。He等^[90]的研究发现, ALKBH5过表达后, KCN15-AS1表达随之增加, 而PC细胞的EMT受到了抑制, 提示KCN15-AS1对PC细胞迁移和侵袭具有抑制作用, 也间接证实ALKBH5可抑制EMT进程。Cho等^[91]证实ALKBH5是PC患者的独立预后因素。ALKBH5表达与患者预后显著正相关。Chen等^[92]发现与正常组织相比, PC组织中YTHDF2的表达在基因和蛋白质水平上均上调。高表达的YTHDF2在PC组织中显示出双重作用: 一方面促进癌细胞增殖; 另一方面YTHDF2通过YAP信号调控EMT, 抑制PC细胞的转移和侵袭。此外, Tang^[93]等研究亦表明, FTO在PC中高表达。敲除FTO后可抑制肿瘤的形成和进展, 增加PC细胞凋亡, 表明FTO具有促癌作用。

RNA m6A甲基化修饰相关蛋白在消化系统食管、胃、肝脏、胰腺及结肠恶性肿瘤发病中的作用如图2所示。

4 小结与展望

m6A甲基化修饰的发现丰富了表观遗传学的内容。m6A甲基转移酶、去甲基化酶和识别蛋白各司其职, 共同调节靶基因上的m6A含量, 进而影响肿瘤的发生。以m6A修饰为核心的靶向治疗已经成为临床研究的新热点。其

中包括: FTO抑制剂、METTL3-14/WTAP激活剂及其联合用药。目前m6A相关蛋白抑制剂或激活剂存在活性低、特异性差、在细胞内确切作用机制不清等问题, 其开发尚处于起步阶段。许多问题仍未解决: (1)未知的m6A修饰相关蛋白有待进一步鉴定; (2)新的m6A修饰机制有待进一步阐明; (3)鉴于甲基化酶和去甲基化酶在m6A修饰中起相反的作用, 如果去甲基化酶在某种癌症中发挥癌基因的作用, 是否甲基转移酶一定扮演抑癌基因的角色? (4)有些m6A修饰蛋白具有双重身份, 既可促癌又能抑癌, 这种“双刃刀”作用的触发机制又是什么? (5)“Readers”是如何选择识别并结合靶RNA? 不同“Reader”之间是相互竞争还是具有协同作用? 哪些m6A甲基化蛋白具有早癌筛查和/或肿瘤预后判断的临床价值? 相信随着m6A甲基化研究的不断深入, 终将揭开这些谜团, 最终为肿瘤患者带来福音。

5 参考文献

- 1 Dominissini D, Nachtergaele S, Moshitch-Moshkovitz S, Peer E, Kol N, Ben-Haim MS, Dai Q, Di Segni A, Salmon-Divon M, Clark WC, Zheng G, Pan T, Solomon O, Eyal E, Hershkovitz V, Han D, Doré LC, Amariglio N, Rechavi G, He C. The dynamic N(1)-methyladenosine methylome in eukaryotic messenger RNA. *Nature* 2016; 530: 441-446 [PMID: 26863196 DOI: 10.1038/nature16998]
- 2 Li X, Xiong X, Wang K, Wang L, Shu X, Ma S, Yi C. Transcriptome-wide mapping reveals reversible and dynamic N(1)-methyladenosine methylome. *Nat Chem Biol* 2016; 12: 311-316 [PMID: 26863410 DOI: 10.1038/nchembio.2040]
- 3 Dominissini D, Moshitch-Moshkovitz S, Schwartz S, Salmon-Divon M, Ungar L, Osenberg S, Cesarkas K, Jacob-Hirsch J, Amariglio N, Kupiec M, Sorek R, Rechavi G. Topology of the human and mouse m6A RNA methylomes revealed by m6A-seq. *Nature* 2012; 485: 201-206 [PMID: 22575960 DOI: 10.1038/nature11112]
- 4 Boccaletto P, Machnicka MA, Purta E, Piatkowski P, Baginski B, Wirecki TK, de Crécy-Lagard V, Ross R, Limbach PA, Kotter A, Helm M, Bujnicki JM. MODOMICS: a database of RNA modification pathways. 2017 update. *Nucleic Acids Res* 2018; 46: D303-D307 [PMID: 29106616 DOI: 10.1093/nar/gkx1030]
- 5 HALL RH. A general procedure for the isolation of “minor” nucleosides from ribonucleic acid hydrolysates. *Biochemistry* 1965; 4: 661-670 [PMID: 14323568 DOI: 10.1021/bi00880a008]
- 6 Desrosiers R, Friderici K, Rottman F. Identification of methylated nucleosides in messenger RNA from Novikoff hepatoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1974; 71: 3971-3975 [PMID: 4372599 DOI: 10.1073/pnas.71.10.3971]
- 7 Wei CM, Gershowitz A, Moss B. Methylated nucleotides block 5' terminus of HeLa cell messenger RNA. *Cell* 1975; 4: 379-386 [PMID: 164293 DOI: 10.1016/0092-8674(75)90158-0]
- 8 Jia G, Fu Y, Zhao X, Dai Q, Zheng G, Yang Y, Yi C, Lindahl T, Pan T, Yang YG, He C. N6-methyladenosine in nuclear RNA is a major substrate of the obesity-associated FTO. *Nat Chem Biol* 2011; 7: 885-887 [PMID: 22002720 DOI: 10.1038/nchembio.687]
- 9 Ke S, Alemu EA, Mertens C, Gantman EC, Fak JJ, Mele A, Haripal B, Zucker-Scharff I, Moore MJ, Park CY, Vågbo CB, Kusnierczyk A, Klungland A, Darnell JE Jr, Darnell RB. A majority of m6A residues are in the last exons, allowing the potential for 3' UTR regulation. *Genes Dev* 2015; 29: 2037-2053

- [PMID: 26404942 DOI: 10.1101/gad.269415.115]
- 10 Meyer KD, Saletore Y, Zumbo P, Elemento O, Mason CE, Jaffrey SR. Comprehensive analysis of mRNA methylation reveals enrichment in 3' UTRs and near stop codons. *Cell* 2012; 149: 1635-1646 [PMID: 22608085 DOI: 10.1016/j.cell.2012.05.003]
 - 11 Liu ZX, Li LM, Sun HL, Liu SM. Link Between m6A Modification and Cancers. *Front Bioeng Biotechnol* 2018; 6: 89 [PMID: 30062093 DOI: 10.3389/fbioe.2018.00089]
 - 12 Patil DP, Chen CK, Pickering BF, Chow A, Jackson C, Guttman M, Jaffrey SR. m(6)A RNA methylation promotes XIIST-mediated transcriptional repression. *Nature* 2016; 537: 369-373 [PMID: 27602518 DOI: 10.1038/nature19342]
 - 13 Alarcón CR, Lee H, Goodarzi H, Halberg N, Tavazoie SF. N6-methyladenosine marks primary microRNAs for processing. *Nature* 2015; 519: 482-485 [PMID: 25799998 DOI: 10.1038/nature14281]
 - 14 Knuckles P, Lence T, Haussmann IU, Jacob D, Kreim N, Carl SH, Masiello I, Hares T, Villaseñor R, Hess D, Andrade-Navarro MA, Biggiogera M, Helm M, Soller M, Bühler M, Roignant JY. Zc3h13/Flacc is required for adenosine methylation by bridging the mRNA-binding factor Rbm15/Spenito to the m⁶A machinery component Wtap/Fl(2)d. *Genes Dev* 2018; 32: 415-429 [PMID: 29535189 DOI: 10.1101/gad.309146.117]
 - 15 Liu J, Yue Y, Han D, Wang X, Fu Y, Zhang L, Jia G, Yu M, Lu Z, Deng X, Dai Q, Chen W, He C. A METTL3-METTL14 complex mediates mammalian nuclear RNA N6-adenosine methylation. *Nat Chem Biol* 2014; 10: 93-95 [PMID: 24316715 DOI: 10.1038/nchembio.1432]
 - 16 Wang X, Feng J, Xue Y, Guan Z, Zhang D, Liu Z, Gong Z, Wang Q, Huang J, Tang C, Zou T, Yin P. Structural basis of N(6)-adenosine methylation by the METTL3-METTL14 complex. *Nature* 2016; 534: 575-578 [PMID: 27281194 DOI: 10.1038/nature18298]
 - 17 Wang P, Doxtader KA, Nam Y. Structural Basis for Cooperative Function of Mettl3 and Mettl14 Methyltransferases. *Mol Cell* 2016; 63: 306-317 [PMID: 27373337 DOI: 10.1016/j.molcel.2016.05.041]
 - 18 Ping XL, Sun BF, Wang L, Xiao W, Yang X, Wang WJ, Adhikari S, Shi Y, Lv Y, Chen YS, Zhao X, Li A, Yang Y, Dahal U, Lou XM, Liu X, Huang J, Yuan WP, Zhu XF, Cheng T, Zhao YL, Wang X, Rendtlew Danielsen JM, Liu F, Yang YG. Mammalian WTAP is a regulatory subunit of the RNA N6-methyladenosine methyltransferase. *Cell Res* 2014; 24: 177-189 [PMID: 24407421 DOI: 10.1038/cr.2014.3]
 - 19 Yue Y, Liu J, Cui X, Cao J, Luo G, Zhang Z, Cheng T, Gao M, Shu X, Ma H, Wang F, Wang X, Shen B, Wang Y, Feng X, He C, Liu J. VIRMA mediates preferential m⁶A mRNA methylation in 3'UTR and near stop codon and associates with alternative polyadenylation. *Cell Discov* 2018; 4: 10 [PMID: 29507755 DOI: 10.1038/s41421-018-0019-0]
 - 20 Horiuchi K, Kawamura T, Iwanari H, Ohashi R, Naito M, Kodama T, Hamakubo T. Identification of Wilms' tumor 1-associating protein complex and its role in alternative splicing and the cell cycle. *J Biol Chem* 2013; 288: 33292-33302 [PMID: 24100041 DOI: 10.1074/jbc.M113.500397]
 - 21 Warda AS, Kretschmer J, Hackert P, Lenz C, Urlaub H, Höbartner C, Sloan KE, Bohnsack MT. Human METTL16 is a N⁶-methyladenosine (m⁶A) methyltransferase that targets pre-mRNAs and various non-coding RNAs. *EMBO Rep* 2017; 18: 2004-2014 [PMID: 29051200 DOI: 10.15252/embr.201744940]
 - 22 Pendleton KE, Chen B, Liu K, Hunter OV, Xie Y, Tu BP, Conrad NK. The U6 snRNA m⁶A Methyltransferase METTL16 Regulates SAM Synthetase Intron Retention. *Cell* 2017; 169: 824-835.e14 [PMID: 28525753 DOI: 10.1016/j.cell.2017.05.003]
 - 23 Wu LF, Wei BL, Guo YT, Ye YQ, Li GP, Pu ZJ, Feng JL. Apoptosis induced by adenosine involves endoplasmic reticulum stress in EC109 cells. *Int J Mol Med* 2012; 30: 797-804 [PMID: 22859272 DOI: 10.3892/ijmm.2012.1085]
 - 24 Su R, Dong L, Li C, Nachtergaele S, Wunderlich M, Qing Y, Deng X, Wang Y, Weng X, Hu C, Yu M, Skibbe J, Dai Q, Zou D, Wu T, Yu K, Weng H, Huang H, Ferchen K, Qin X, Zhang B, Qi J, Sasaki AT, Plas DR, Bradner JE, Wei M, Marucci G, Jiang X, Mulloy JC, Jin J, He C, Chen J. R-2HG Exhibits Anti-tumor Activity by Targeting FTO/m⁶A/MYC/CEBPA Signaling. *Cell* 2018; 172: 90-105.e23 [PMID: 29249359 DOI: 10.1016/j.cell.2017.11.031]
 - 25 Mauer J, Luo X, Blanjoie A, Jiao X, Grozhik AV, Patil DP, Linder B, Pickering BF, Vasseur JJ, Chen Q, Gross SS, Elemento O, Debart F, Kiledjian M, Jaffrey SR. Reversible methylation of m⁶A_m in the 5' cap controls mRNA stability. *Nature* 2017; 541: 371-375 [PMID: 28002401 DOI: 10.1038/nature21022]
 - 26 Wu W, Feng J, Jiang D, Zhou X, Jiang Q, Cai M, Wang X, Shan T, Wang Y. AMPK regulates lipid accumulation in skeletal muscle cells through FTO-dependent demethylation of N⁶-methyladenosine. *Sci Rep* 2017; 7: 41606 [PMID: 28176824 DOI: 10.1038/srep41606]
 - 27 Wei J, Liu F, Lu Z, Fei Q, Ai Y, He PC, Shi H, Cui X, Su R, Klungland A, Jia G, Chen J, He C. Differential m⁶A, m⁶A_m, and m¹A Demethylation Mediated by FTO in the Cell Nucleus and Cytoplasm. *Mol Cell* 2018; 71: 973-985.e5 [PMID: 30197295 DOI: 10.1016/j.molcel.2018.08.011]
 - 28 Zheng G, Dahl JA, Niu Y, Fedorcsak P, Huang CM, Li CJ, Vågbo CB, Shi Y, Wang WL, Song SH, Lu Z, Bosmans RP, Dai Q, Hao YJ, Yang X, Zhao WM, Tong WM, Wang XJ, Bogdan F, Furu K, Fu Y, Jia G, Zhao X, Liu J, Krokan HE, Klungland A, Yang YG, He C. ALKBH5 is a mammalian RNA demethylase that impacts RNA metabolism and mouse fertility. *Mol Cell* 2013; 49: 18-29 [PMID: 23177736 DOI: 10.1016/j.molcel.2012.10.015]
 - 29 Wang X, Lu Z, Gomez A, Hon GC, Yue Y, Han D, Fu Y, Parisien M, Dai Q, Jia G, Ren B, Pan T, He C. N6-methyladenosine-dependent regulation of messenger RNA stability. *Nature* 2014; 505: 117-120 [PMID: 24284625 DOI: 10.1038/nature12730]
 - 30 Du H, Zhao Y, He J, Zhang Y, Xi H, Liu M, Ma J, Wu L. YTHDF2 destabilizes m(6)A-containing RNA through direct recruitment of the CCR4-NOT deadenylase complex. *Nat Commun* 2016; 7: 12626 [PMID: 27558897 DOI: 10.1038/ncomms12626]
 - 31 Park OH, Ha H, Lee Y, Boo SH, Kwon DH, Song HK, Kim YK. Endoribonucleolytic Cleavage of m⁶A-Containing RNAs by RNase P/MRP Complex. *Mol Cell* 2019; 74: 494-507.e8 [PMID: 30930054 DOI: 10.1016/j.molcel.2019.02.034]
 - 32 Wang X, Zhao BS, Roundtree IA, Lu Z, Han D, Ma H, Weng X, Chen K, Shi H, He C. N(6)-methyladenosine Modulates Messenger RNA Translation Efficiency. *Cell* 2015; 161: 1388-1399 [PMID: 26046440 DOI: 10.1016/j.cell.2015.05.014]
 - 33 Shi H, Wang X, Lu Z, Zhao BS, Ma H, Hsu PJ, Liu C, He C. YTHDF3 facilitates translation and decay of N⁶-methyladenosine-modified RNA. *Cell Res* 2017; 27: 315-328 [PMID: 28106072 DOI: 10.1038/cr.2017.15]
 - 34 Xu C, Wang X, Liu K, Roundtree IA, Tempel W, Li Y, Lu Z, He C, Min J. Structural basis for selective binding of m6A RNA by the YTHDC1 YTH domain. *Nat Chem Biol* 2014; 10: 927-929 [PMID: 25242552 DOI: 10.1038/nchembio.1654]
 - 35 Tanabe A, Tanikawa K, Tsunetomi M, Takai K, Ikeda H, Konno J, Torigoe T, Maeda H, Kutomi G, Okita K, Mori M, Sahara H. RNA helicase YTHDC2 promotes cancer metastasis via the enhancement of the efficiency by which HIF-1α mRNA is translated. *Cancer Lett* 2016; 376: 34-42 [PMID: 26996300 DOI: 10.1016/j.canlet.2016.02.022]
 - 36 Guichard C, Amaddeo G, Imbeaud S, Ladeiro Y, Pelletier L, Maad IB, Calderaro J, Bioulac-Sage P, Letexier M, Degos F, Clément B, Balabaud C, Chevret E, Laurent A, Couchy G, Letouzé E, Calvo F, Zucman-Rossi J. Integrated analysis of somatic mutations and focal copy-number changes identifies key genes and pathways in hepatocellular carcinoma. *Nat Genet* 2012; 44:

- 694-698 [PMID: 22561517 DOI: 10.1038/ng.2256]
- 37 Alarcón CR, Goodarzi H, Lee H, Liu X, Tavazoie S, Tavazoie SF. HNRNPA2B1 Is a Mediator of m(6)A-Dependent Nuclear RNA Processing Events. *Cell* 2015; 162: 1299-1308 [PMID: 26321680 DOI: 10.1016/j.cell.2015.08.011]
- 38 Huang H, Weng H, Sun W, Qin X, Shi H, Wu H, Zhao BS, Mesquita A, Liu C, Yuan CL, Hu YC, Hüttelmaier S, Skibbe JR, Su R, Deng X, Dong L, Sun M, Li C, Nachtergaele S, Wang Y, Hu C, Ferchen K, Greis KD, Jiang X, Wei M, Qu L, Guan JL, He C, Yang J, Chen J. Recognition of RNA N⁶-methyladenosine by IGF2BP proteins enhances mRNA stability and translation. *Nat Cell Biol* 2018; 20: 285-295 [PMID: 29476152 DOI: 10.1038/s41556-018-0045-z]
- 39 Meyer KD, Patil DP, Zhou J, Jinoviev A, Skabkin MA, Elemento O, Pestova TV, Qian SB, Jaffrey SR. 5' UTR m(6)A Promotes Cap-Independent Translation. *Cell* 2015; 163: 999-1010 [PMID: 26593424 DOI: 10.1016/j.cell.2015.10.012]
- 40 Lin S, Choe J, Du P, Triboulet R, Gregory RI. The m(6)A Methyltransferase METTL3 Promotes Translation in Human Cancer Cells. *Mol Cell* 2016; 62: 335-345 [PMID: 27117702 DOI: 10.1016/j.molcel.2016.03.021]
- 41 Zhao BS, Roundtree IA, He C. Post-transcriptional gene regulation by mRNA modifications. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2017; 18: 31-42 [PMID: 27808276 DOI: 10.1038/nrm.2016.132]
- 42 Cui Q, Shi H, Ye P, Li L, Qu Q, Sun G, Sun G, Lu Z, Huang Y, Yang CG, Riggs AD, He C, Shi Y. m⁶A RNA Methylation Regulates the Self-Renewal and Tumorigenesis of Glioblastoma Stem Cells. *Cell Rep* 2017; 18: 2622-2634 [PMID: 28297667 DOI: 10.1016/j.celrep.2017.02.059]
- 43 Zhang C, Samanta D, Lu H, Bullen JW, Zhang H, Chen I, He X, Semenza GL. Hypoxia induces the breast cancer stem cell phenotype by HIF-dependent and ALKBH5-mediated m⁶A-demethylation of NANOG mRNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 2016; 113: E2047-E2056 [PMID: 27001847 DOI: 10.1073/pnas.1602883113]
- 44 Zhang S, Zhao BS, Zhou A, Lin K, Zheng S, Lu Z, Chen Y, Sulman EP, Xie K, Böglér O, Majumder S, He C, Huang S. m⁶A Demethylase ALKBH5 Maintains Tumorigenicity of Glioblastoma Stem-like Cells by Sustaining FOXM1 Expression and Cell Proliferation Program. *Cancer Cell* 2017; 31: 591-606.e6 [PMID: 28344040 DOI: 10.1016/j.ccell.2017.02.013]
- 45 Zhou S, Bai ZL, Xia D, Zhao ZJ, Zhao R, Wang YY, Zhe H. FTO regulates the chemo-radiotherapy resistance of cervical squamous cell carcinoma (CSCC) by targeting β -catenin through mRNA demethylation. *Mol Carcinog* 2018; 57: 590-597 [PMID: 29315835 DOI: 10.1002/mc.22782]
- 46 Wu S, Zhang L, Deng J, Guo B, Li F, Wang Y, Wu R, Zhang S, Lu J, Zhou Y. A Novel Micropeptide Encoded by Y-Linked LINC00278 Links Cigarette Smoking and AR Signaling in Male Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Cancer Res* 2020; 80: 2790-2803 [PMID: 32169859 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-19-3440]
- 47 Liu S, Huang M, Chen Z, Chen J, Chao Q, Yin X, Quan M. FTO promotes cell proliferation and migration in esophageal squamous cell carcinoma through up-regulation of MMP13. *Exp Cell Res* 2020; 389: 111894 [PMID: 32035950 DOI: 10.1016/j.yexcr.2020.111894]
- 48 Yang N, Ying P, Tian J, Wang X, Mei S, Zou D, Peng X, Gong Y, Yang Y, Zhu Y, Ke J, Zhong R, Chang J, Miao X. Genetic variants in m6A modification genes are associated with esophageal squamous-cell carcinoma in the Chinese population. *Carcinogenesis* 2020; 41: 761-768 [PMID: 32047883 DOI: 10.1093/carcin/bgaa012]
- 49 Ge L, Zhang N, Chen Z, Song J, Wu Y, Li Z, Chen F, Wu J, Li D, Li J, Wang C, Wang H, Wang J. Level of N6-Methyladenosine in Peripheral Blood RNA: A Novel Predictive Biomarker for Gastric Cancer. *Clin Chem* 2020; 66: 342-351 [PMID: 32040577 DOI: 10.1093/clinchem/hvz004]
- 50 Yue B, Song C, Yang L, Cui R, Cheng X, Zhang Z, Zhao G. METTL3-mediated N6-methyladenosine modification is critical for epithelial-mesenchymal transition and metastasis of gastric cancer. *Mol Cancer* 2019; 18: 142 [PMID: 31607270 DOI: 10.1186/s12943-019-1065-4]
- 51 Liu T, Yang S, Sui J, Xu SY, Cheng YP, Shen B, Zhang Y, Zhang XM, Yin LH, Pu YP, Liang GY. Dysregulated N6-methyladenosine methylation writer METTL3 contributes to the proliferation and migration of gastric cancer. *J Cell Physiol* 2020; 235: 548-562 [PMID: 31232471 DOI: 10.1002/jcp.28994]
- 52 Zhang C, Zhang M, Ge S, Huang W, Lin X, Gao J, Gong J, Shen L. Reduced m6A modification predicts malignant phenotypes and augmented Wnt/PI3K-Akt signaling in gastric cancer. *Cancer Med* 2019; 8: 4766-4781 [PMID: 31243897 DOI: 10.1002/cam4.2360]
- 53 Xu D, Shao W, Jiang Y, Wang X, Liu Y, Liu X. FTO expression is associated with the occurrence of gastric cancer and prognosis. *Oncol Rep* 2017; 38: 2285-2292 [PMID: 28849183 DOI: 10.3892/or.2017.5904]
- 54 Li Y, Zheng D, Wang F, Xu Y, Yu H, Zhang H. Expression of Demethylase Genes, FTO and ALKBH1, Is Associated with Prognosis of Gastric Cancer. *Dig Dis Sci* 2019; 64: 1503-1513 [PMID: 30637548 DOI: 10.1007/s10620-018-5452-2]
- 55 Wu Y, Yang X, Chen Z, Tian L, Jiang G, Chen F, Li J, An P, Lu L, Luo N, Du J, Shan H, Liu H, Wang H. m⁶A-induced lncRNA RP11 triggers the dissemination of colorectal cancer cells via upregulation of Zeb1. *Mol Cancer* 2019; 18: 87 [PMID: 30979372 DOI: 10.1186/s12943-019-1014-2]
- 56 Peng W, Li J, Chen R, Gu Q, Yang P, Qian W, Ji D, Wang Q, Zhang Z, Tang J, Sun Y. Upregulated METTL3 promotes metastasis of colorectal Cancer via miR-1246/SPRED2/MAPK signaling pathway. *J Exp Clin Cancer Res* 2019; 38: 393 [PMID: 31492150 DOI: 10.1186/s13046-019-1408-4]
- 57 Li T, Hu PS, Zuo Z, Lin JF, Li X, Wu QN, Chen ZH, Zeng ZL, Wang F, Zheng J, Chen D, Li B, Kang TB, Xie D, Lin D, Ju HQ, Xu RH. METTL3 facilitates tumor progression via an m⁶A-IGF2BP2-dependent mechanism in colorectal carcinoma. *Mol Cancer* 2019; 18: 112 [PMID: 31230592 DOI: 10.1186/s12943-019-1038-7]
- 58 Boumahdi S, Driessens G, Lapouge G, Rorive S, Nassar D, Le Mercier M, Delatte B, Caauwe A, Lenglez S, Nkusi E, Brohée S, Salmon I, Dubois C, del Marmol V, Fuks F, Beck B, Blanpain C. SOX2 controls tumour initiation and cancer stem-cell functions in squamous-cell carcinoma. *Nature* 2014; 511: 246-250 [PMID: 24909994 DOI: 10.1038/nature13305]
- 59 Ku SY, Rosario S, Wang Y, Mu P, Seshadri M, Goodrich ZW, Goodrich MM, Labbé DP, Gomez EC, Wang J, Long HW, Xu B, Brown M, Loda M, Sawyers CL, Ellis L, Goodrich DW. Rb1 and Trp53 cooperate to suppress prostate cancer lineage plasticity, metastasis, and antiandrogen resistance. *Science* 2017; 355: 78-83 [PMID: 28059767 DOI: 10.1126/science.aah4199]
- 60 Zhang Y, Kang M, Zhang B, Meng F, Song J, Kaneko H, Shimamoto F, Tang B. m⁶A modification-mediated CBX8 induction regulates stemness and chemosensitivity of colon cancer via upregulation of LGR5. *Mol Cancer* 2019; 18: 185 [PMID: 31849331 DOI: 10.1186/s12943-019-1116-x]
- 61 Zhu W, Si Y, Xu J, Lin Y, Wang JZ, Cao M, Sun S, Ding Q, Zhu L, Wei JF. Methyltransferase like 3 promotes colorectal cancer proliferation by stabilizing CCNE1 mRNA in an m6A-dependent manner. *J Cell Mol Med* 2020; 24: 3521-3533 [PMID: 32039568 DOI: 10.1111/jcmm.15042]
- 62 Deng R, Cheng Y, Ye S, Zhang J, Huang R, Li P, Liu H, Deng Q, Wu X, Lan P, Deng Y. m⁶A methyltransferase METTL3 suppresses colorectal cancer proliferation and migration through p38/ERK pathways. *Onco Targets Ther* 2019; 12: 4391-4402 [PMID: 31243897 DOI: 10.1002/cam4.2360]

- 31239708 DOI: 10.2147/OTT.S201052]
- 63 Chen X, Xu M, Xu X, Zeng K, Liu X, Sun L, Pan B, He B, Pan Y, Sun H, Xia X, Wang S. METTL14 Suppresses CRC Progression via Regulating N6-Methyladenosine-Dependent Primary miR-375 Processing. *Mol Ther* 2020; 28: 599-612 [PMID: 31839484 DOI: 10.1016/j.ymthe.2019.11.016]
- 64 Wang Y, Lu JH, Wu QN, Jin Y, Wang DS, Chen YX, Liu J, Luo XJ, Meng Q, Pu HY, Wang YN, Hu PS, Liu ZX, Zeng ZL, Zhao Q, Deng R, Zhu XF, Ju HQ, Xu RH. LncRNA LINRIS stabilizes IGF2BP2 and promotes the aerobic glycolysis in colorectal cancer. *Mol Cancer* 2019; 18: 174 [PMID: 31791342 DOI: 10.1186/s12943-019-1105-0]
- 65 Smith B, Schafer XL, Ambeskovic A, Spencer CM, Land H, Munger J. Addiction to Coupling of the Warburg Effect with Glutamine Catabolism in Cancer Cells. *Cell Rep* 2016; 17: 821-836 [PMID: 27732857 DOI: 10.1016/j.celrep.2016.09.045]
- 66 Bai Y, Yang C, Wu R, Huang L, Song S, Li W, Yan P, Lin C, Li D, Zhang Y. YTHDF1 Regulates Tumorigenicity and Cancer Stem Cell-Like Activity in Human Colorectal Carcinoma. *Front Oncol* 2019; 9: 332 [PMID: 31131257 DOI: 10.3389/fonc.2019.00332]
- 67 Nishizawa Y, Konno M, Asai A, Koseki J, Kawamoto K, Miyoshi N, Takahashi H, Nishida N, Haraguchi N, Sakai D, Kudo T, Hata T, Matsuda C, Mizushima T, Satoh T, Doki Y, Mori M, Ishii H. Oncogene c-Myc promotes epitranscriptome m6A reader YTHDF1 expression in colorectal cancer. *Oncotarget* 2018; 9: 7476-7486 [PMID: 29484125 DOI: 10.18632/oncotarget.23554]
- 68 Ni W, Yao S, Zhou Y, Liu Y, Huang P, Zhou A, Liu J, Che L, Li J. Long noncoding RNA GAS5 inhibits progression of colorectal cancer by interacting with and triggering YAP phosphorylation and degradation and is negatively regulated by the m⁶A reader YTHDF3. *Mol Cancer* 2019; 18: 143 [PMID: 31619268 DOI: 10.1186/s12943-019-1079-y]
- 69 Chen M, Wei L, Law CT, Tsang FH, Shen J, Cheng CL, Tsang LH, Ho DW, Chiu DK, Lee JM, Wong CC, Ng IO, Wong CM. RNA N6-methyladenosine methyltransferase-like 3 promotes liver cancer progression through YTHDF2-dependent posttranscriptional silencing of SOCS2. *Hepatology* 2018; 67: 2254-2270 [PMID: 29171881 DOI: 10.1002/hep.29683]
- 70 Zuo X, Chen Z, Gao W, Zhang Y, Wang J, Wang J, Cao M, Cai J, Wu J, Wang X. M6A-mediated upregulation of LINC00958 increases lipogenesis and acts as a nanotherapeutic target in hepatocellular carcinoma. *J Hematol Oncol* 2020; 13: 5 [PMID: 31915027 DOI: 10.1186/s13045-019-0839-x]
- 71 Cui X, Wang Z, Li J, Zhu J, Ren Z, Zhang D, Zhao W, Fan Y, Zhang D, Sun R. Cross talk between RNA N6-methyladenosine methyltransferase-like 3 and miR-186 regulates hepatoblastoma progression through Wnt/ β -catenin signalling pathway. *Cell Prolif* 2020; 53: e12768 [PMID: 31967701 DOI: 10.1111/cpr.12768]
- 72 Ma JZ, Yang F, Zhou CC, Liu F, Yuan JH, Wang F, Wang TT, Xu QG, Zhou WP, Sun SH. METTL14 suppresses the metastatic potential of hepatocellular carcinoma by modulating N⁶-methyladenosine-dependent primary MicroRNA processing. *Hepatology* 2017; 65: 529-543 [PMID: 27774652 DOI: 10.1002/hep.28885]
- 73 Chen Y, Peng C, Chen J, Chen D, Yang B, He B, Hu W, Zhang Y, Liu H, Dai L, Xie H, Zhou L, Wu J, Zheng S. WTAP facilitates progression of hepatocellular carcinoma via m6A-HuR-dependent epigenetic silencing of ETS1. *Mol Cancer* 2019; 18: 127 [PMID: 31438961 DOI: 10.1186/s12943-019-1053-8]
- 74 Lan T, Li H, Zhang D, Xu L, Liu H, Hao X, Yan X, Liao H, Chen X, Xie K, Li J, Liao M, Huang J, Yuan K, Zeng Y, Wu H. KIAA1429 contributes to liver cancer progression through N6-methyladenosine-dependent post-transcriptional modification of GATA3. *Mol Cancer* 2019; 18: 186 [PMID: 31856849 DOI: 10.1186/s12943-019-1106-z]
- 75 Cheng X, Li M, Rao X, Zhang W, Li X, Wang L, Huang G. KIAA1429 regulates the migration and invasion of hepatocellular carcinoma by altering m6A modification of ID2 mRNA. *Oncotargets Ther* 2019; 12: 3421-3428 [PMID: 31118692 DOI: 10.2147/OTT.S180954]
- 76 Zhao X, Chen Y, Mao Q, Jiang X, Jiang W, Chen J, Xu W, Zhong L, Sun X. Overexpression of YTHDF1 is associated with poor prognosis in patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer Biomark* 2018; 21: 859-868 [PMID: 29439311 DOI: 10.3233/CBM-170791]
- 77 Zhou Y, Yin Z, Hou B, Yu M, Chen R, Jin H, Jian Z. Expression profiles and prognostic significance of RNA N6-methyladenosine-related genes in patients with hepatocellular carcinoma: evidence from independent datasets. *Cancer Manag Res* 2019; 11: 3921-3931 [PMID: 31118805 DOI: 10.2147/CMAR.S191565]
- 78 Yang Z, Li J, Feng G, Gao S, Wang Y, Zhang S, Liu Y, Ye L, Li Y, Zhang X. MicroRNA-145 Modulates N6-Methyladenosine Levels by Targeting the 3'-Untranslated mRNA Region of the N6-Methyladenosine Binding YTH Domain Family 2 Protein. *J Biol Chem* 2017; 292: 3614-3623 [PMID: 28104805 DOI: 10.1074/jbc.M116.749689]
- 79 Zhang C, Huang S, Zhuang H, Ruan S, Zhou Z, Huang K, Ji F, Ma Z, Hou B, He X. YTHDF2 promotes the liver cancer stem cell phenotype and cancer metastasis by regulating OCT4 expression via m6A RNA methylation. *Oncogene* 2020; 39: 4507-4518 [PMID: 32366907 DOI: 10.1038/s41388-020-1303-7]
- 80 Hou J, Zhang H, Liu J, Zhao Z, Wang J, Lu Z, Hu B, Zhou J, Zhao Z, Feng M, Zhang H, Shen B, Huang X, Sun B, Smyth MJ, He C, Xia Q. YTHDF2 reduction fuels inflammation and vascular abnormalization in hepatocellular carcinoma. *Mol Cancer* 2019; 18: 163 [PMID: 31735169 DOI: 10.1186/s12943-019-1082-3]
- 81 Zhong L, Liao D, Zhang M, Zeng C, Li X, Zhang R, Ma H, Kang T. YTHDF2 suppresses cell proliferation and growth via destabilizing the EGFR mRNA in hepatocellular carcinoma. *Cancer Lett* 2019; 442: 252-261 [PMID: 30423408 DOI: 10.1016/j.canlet.2018.11.006]
- 82 Aguilo F, Zhang F, Sancho A, Fidalgo M, Di Cecilia S, Vashisht A, Lee D, Chen C, Rengasamy M, Andino B, Jahouh F, Roman A, Krig SR, Wang R, Zhang W, Wohlschlegel JA, Wang J, Walsh MJ. Coordination of m(6)A mRNA Methylation and Gene Transcription by ZFP217 Regulates Pluripotency and Reprogramming. *Cell Stem Cell* 2015; 17: 689-704 [PMID: 26526723 DOI: 10.1016/j.stem.2015.09.005]
- 83 Fawzy IO, Hamza MT, Hosny KA, Esmat G, El Tayebi HM, Abdelaziz AL. miR-1275: A single microRNA that targets the three IGF2-mRNA-binding proteins hindering tumor growth in hepatocellular carcinoma. *FEBS Lett* 2015; 589: 2257-2265 [PMID: 26160756 DOI: 10.1016/j.febslet.2015.06.038]
- 84 Li J, Zhu L, Shi Y, Liu J, Lin L, Chen X. m6A demethylase FTO promotes hepatocellular carcinoma tumorigenesis via mediating PKM2 demethylation. *Am J Transl Res* 2019; 11: 6084-6092 [PMID: 31632576]
- 85 Rong ZX, Li Z, He JJ, Liu LY, Ren XX, Gao J, Mu Y, Guan YD, Duan YM, Zhang XP, Zhang DX, Li N, Deng YZ, Sun LQ. Downregulation of Fat Mass and Obesity Associated (FTO) Promotes the Progression of Intrahepatic Cholangiocarcinoma. *Front Oncol* 2019; 9: 369 [PMID: 31143705 DOI: 10.3389/fonc.2019.00369]
- 86 Xia T, Wu X, Cao M, Zhang P, Shi G, Zhang J, Lu Z, Wu P, Cai B, Miao Y, Jiang K. The RNA m6A methyltransferase METTL3 promotes pancreatic cancer cell proliferation and invasion. *Pathol Res Pract* 2019; 215: 152666 [PMID: 31606241 DOI: 10.1016/j.prp.2019.152666]
- 87 Taketo K, Konno M, Asai A, Koseki J, Toratani M, Satoh T, Doki Y, Mori M, Ishii H, Ogawa K. The epitranscriptome m6A writer METTL3 promotes chemo- and radioresistance in pancreatic cancer cells. *Int J Oncol* 2018; 52: 621-629 [PMID: 29345285 DOI:

- 10.3892/ijo.2017.4219]
- 88 Zhang J, Bai R, Li M, Ye H, Wu C, Wang C, Li S, Tan L, Mai D, Li G, Pan L, Zheng Y, Su J, Ye Y, Fu Z, Zheng S, Zuo Z, Liu Z, Zhao Q, Che X, Xie D, Jia W, Zeng MS, Tan W, Chen R, Xu RH, Zheng J, Lin D. Excessive miR-25-3p maturation via N⁶-methyladenosine stimulated by cigarette smoke promotes pancreatic cancer progression. *Nat Commun* 2019; 10: 1858 [PMID: 31015415 DOI: 10.1038/s41467-019-09712-x]
- 89 Tang B, Yang Y, Kang M, Wang Y, Wang Y, Bi Y, He S, Shimamoto F. m⁶A demethylase ALKBH5 inhibits pancreatic cancer tumorigenesis by decreasing WIF-1 RNA methylation and mediating Wnt signaling. *Mol Cancer* 2020; 19: 3 [PMID: 31906946 DOI: 10.1186/s12943-019-1128-6]
- 90 He Y, Hu H, Wang Y, Yuan H, Lu Z, Wu P, Liu D, Tian L, Yin J, Jiang K, Miao Y. ALKBH5 Inhibits Pancreatic Cancer Motility by Decreasing Long Non-Coding RNA KCN15-AS1 Methylation. *Cell Physiol Biochem* 2018; 48: 838-846 [PMID: 30032148 DOI: 10.1159/000491915]
- 91 Cho SH, Ha M, Cho YH, Ryu JH, Yang K, Lee KH, Han ME, Oh SO, Kim YH. ALKBH5 gene is a novel biomarker that predicts the prognosis of pancreatic cancer: A retrospective multicohort study. *Ann Hepatobiliary Pancreat Surg* 2018; 22: 305-309 [PMID: 30588520 DOI: 10.14701/ahbps.2018.22.4.305]
- 92 Chen J, Sun Y, Xu X, Wang D, He J, Zhou H, Lu Y, Zeng J, Du F, Gong A, Xu M. YTH domain family 2 orchestrates epithelial-mesenchymal transition/proliferation dichotomy in pancreatic cancer cells. *Cell Cycle* 2017; 16: 2259-2271 [PMID: 29135329 DOI: 10.1080/15384101.2017.1380125]
- 93 Tang X, Liu S, Chen D, Zhao Z, Zhou J. The role of the fat mass and obesity-associated protein in the proliferation of pancreatic cancer cells. *Oncol Lett* 2019; 17: 2473-2478 [PMID: 30719115 DOI: 10.3892/ol.2018.9873]

科学编辑: 刘继红 制作编辑: 张砚梁



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 Baishideng Publishing Group Inc.
All rights reserved.

• 消息 •

书讯

本刊讯 由池肇春教授主编的《腹痛的诊断、鉴别诊断与治疗》已由人民卫生出版社出版发行。

腹痛是消化系统最常见的症状之一,可引起腹痛的疾病很多,容易发生误诊或漏诊,以致患者得不到及时的诊治。本书由全国著名消化内科及相关学科专业学者共同执笔,为近年在腹痛诊疗方面的最新代表作。精装,图文并茂,内容新颖实用,全书2014千字,分上下两篇,上篇为总论,包括腹痛的病理生理学、腹痛的病因与发病机制、腹痛的临床诊断、腹痛的内镜与影像诊断与鉴别诊断、腹痛的实验室诊断、腹痛的治疗等11章。下篇为各论,分别介绍腹痛疾病的鉴别诊断与治疗。从第12章至第15章分别介绍腹腔脏器炎症、阻塞、扭转、穿孔、破裂、血管疾病、心肺疾病、妇科疾病、急性中毒等引起急性腹痛的鉴别诊断与治疗。从第17章至第29章分别介绍胃肠、胰、肾、感染、肿瘤引起的慢性腹痛鉴别诊断与治疗。从第30章至第36章分别介绍肝胆系统疾病和系统疾病引起腹痛的鉴别诊断与治疗。最后一章为经典案例53例,分别介绍了不同案例的诊治体会、经验与教训。

全书以症状鉴别诊断为中心,与治疗并重,均作了全面与详尽的阐述,是一部有关腹痛诊治的新作,有较高的学术水平和参考价值,可为消化内科、普外科、小儿科、感染科、肿瘤科、影像科和妇产科等学科医师学习与参考。每册定价188元,购书热线 010-59787592, 010-59787584, 010-65264830, 人卫智慧服务商城(人卫社官方购书网站)、当当、京东、天猫等网店均可搜索购书,欢迎选购。

机械敏感性离子通道蛋白Piezo1在肿瘤研究中新进展

王咪咪, 崔杰峰

王咪咪, 崔杰峰. 复旦大学附属中山医院肝癌研究所 上海市 200032

王咪咪, 博士研究生, 研究方向为肝癌侵袭转移机制的基础研究.

基金项目: 机械敏感通道蛋白Piezo1感应硬度力学信号调控肝癌转移新机制, 国家自然科学基金资助项目, No. 81972910.

作者贡献分布: 文献搜集、论文撰写及投稿由王咪咪完成; 崔杰峰对文章框架构思、写作进行指导与修改.

通讯作者: 崔杰峰, 研究员, 博士生导师, 200032, 上海市枫林路180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: 2021-03-03

修回日期: 2021-03-29

接受日期: 2021-05-11

在线出版日期: 2021-07-28

Role of mechanosensitive ion channel Piezo1 in tumors

Mi-Mi Wang, Jie-Feng Cui

Mi-Mi Wang, Jie-Feng Cui, Liver Cancer Institute, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81972910.

Corresponding author: Jie-Feng Cui, Researcher, Doctoral Supervisor, Liver Cancer Institute, Zhongshan Hospital, Fudan University, No. 180 Fenglin Road, Shanghai 200032, China. cui.jiefeng@zs-hospital.sh.cn

Received: 2021-03-03

Revised: 2021-03-29

Accepted: 2021-05-11

Published online: 2021-07-28

Abstract

A better understanding of mechanotransduction mechanisms is the key to exploring biomechanical signal-regulated tumor malignant characteristics, and it is also the theoretical

and practical basis for effective intervention from the upstream of mechanical cues. The discovery of the novel mechanosensitive ion channel protein Piezo1 (piezo type mechanosensitive ion channel component 1) provides a new perspective for the study of mechanotransduction mechanism in tumors. This article summarizes some of the latest research progress of Piezo1 in modulating tumor progression, including inducing cell carcinogenesis; regulating cell cycle, proliferation, invasion, and metastasis; influencing tumor stemness and angiogenesis; as well as reprogramming tumor immune microenvironment, etc.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Piezo1; Mechanical signals; Digestive system tumors

Citation: Wang MM, Cui JF. Role of mechanosensitive ion channel Piezo1 in tumors. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(14): 758-764

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i14/758.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i14.758>

摘要

生物力学信号传递机制是从生物力学角度探讨其调控肿瘤恶性特征的关键, 也是力学信号源头干预的理论实践基础. 近期新型机械敏感离子通道蛋白Piezo1(piezo type mechanosensitive ion channel component 1, Piezo1)感应力学信号新途径的出现, 为肿瘤细胞力学传递机制研究提供了新的视角. 本文归纳总结了Piezo1介导力学信号参与肿瘤发生进展调控的新进展, 包括诱导细胞癌变, 调控细胞周期、增殖和侵袭转移, 影响肿瘤细胞干性, 血管新生, 调控肿瘤免疫微环境等.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: Piezo1; 力学信号; 消化系统肿瘤

核心提要: 本文归纳总结了Piezo1作为机械敏感性离子通道在消化系统肿瘤中的研究进展, 包括其介导力学信号诱导肿瘤细胞癌变, 参与调控细胞周期、增殖、侵袭转移, 干性, 血管新生, 及免疫微环境等。

文献来源: 王咪咪, 崔杰峰. 机械敏感性离子通道蛋白Piezo1在肿瘤研究中新进展. 世界华人消化杂志 2021; 29(14): 758-764

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i14/758.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i14.758>

0 引言

从细胞形态维持到组织发育驱动, 力学信号的影响无处不在. 与在正常组织发挥的生理调节不同, 力学信号在实体肿瘤发生、生长、侵袭转移等恶性进展中起着不可忽视的促进作用^[1-3]. 生物力学信号常来自于基质硬度、挤压力、牵拉力、流体剪切力等力学刺激, 上述力学刺激可显著改变细胞生物学功能, 同时细胞亦会通过改造胞外微环境以适应周边力学压力, 以此形成一个反馈循环, 而阐明生物力学调控反馈循环机制, 尤其是细胞如何感应力学信号无疑为疾病干预提供了新的研究方向.

将机械力学信号转化为生物信号或电信号的过程称为生物力学信号转导. 力学信号转导途径常分为三类: 细胞膜受体和表面的离子通道, 细胞骨架(应力纤维、微管等), 核骨架和细胞骨架连接体复合体^[1]. 离子通道为包埋在质膜中的蛋白质孔道. 当通道受力学信号刺激打开时, 离子沿电化学梯度方向从孔道进入细胞内部, 不需要ATP水解提供能量. Piezo1通道就是典型的机械敏感性离子通道^[4,5].

1 Piezo1结构与功能, 及其通道活化影响因素

Piezo1是机械力敏感性离子通道Piezo家族成员之一, 2010年由Bertrand Coste团队发现, 并以希腊文“πίεση”(píesi)命名-意为压力^[6]. 该团队使用钙离子通道阻滞剂钆红证实Piezo1蛋白可在细胞膜表面组成特定电导的孔状通道, 非选择地传导阳离子^[4]. Syeda等^[6]则明确力学信号直接调节Piezo1通道开关. Piezo1可感应生理病理过程中多种机械力刺激, 包括脉管血压^[7,8]、流体剪切应力^[9]、骨骼系统微重力^[10]、红细胞内渗透压^[11-13]、胞外基质硬度^[14]、触觉、本体感觉^[15]等.

人Piezo1基因位于染色体16, 其蛋白由2521个氨基酸组成. 小鼠PIEZO1基因与人类高度同源. 研究者利用蛋白质工程、X射线晶体学、单粒子冷冻电子显微镜及活细胞免疫染色等多种技术, 成功揭示了小鼠Piezo1通

道结构^[4,16,17]. 小鼠Piezo1蛋白由2547个氨基酸组成^[16], 具有独特的38跨膜螺旋拓扑结构. 三个Piezo1蛋白组装成一个三叶螺旋桨状的功能结构, 其中, 侧边螺旋桨叶片是力学信号感应关键区域^[17]. 该蛋白结构的解析为理解Piezo1离子传导和门控机制提供了基础.

Piezo1在机械力调控下可切换封闭与开放构象, 以控制不同种类(离子选择性)及流量(电导)的离子通过通道. Piezo1被瞬时性力学信号激活后, 能在50-100 ms内迅速完全失活^[18]. 同时, 特定情况下也展现慢失活或无失活状态^[19,20]. 多数研究以瞬时机械力学信号解析通道特征, 而对持续机械力学信号刺激研究较少.

机械力敏感性离子通道的门控机制包括“横向膜张力”模型(来自脂质双分子层的力)和“系绳弹簧模型”(来自细胞骨架的力), 分别对应“从外到内”和“从内到外”两种力学信号传导方向^[21, 22]. 因此, 影响Piezo1门控的因素主要包括细胞膜张力、硬度, 细胞膜骨架蛋白, 及与Piezo1相互作用的其他通道或蛋白.

GsMTx4和Yoda1是Piezo1通道常用拮抗剂和激动剂. GsMTx4为蜘蛛毒液中提取的一种肽毒素, 可阻断牵拉激活性通道^[23]. GsMTx4能插入脂质双分子层抑制各种阳离子机械敏感通道, 包括Piezo1、双孔钾离子通道家族成员KCNK2(potassium two pore domain channel subfamily K member 2, KCNK2)、和大电导机械敏感性离子通道(mechanosensitive channel of large conductance, MscL)^[24], 通过调节局部膜张力而非直接作用Piezo1蛋白而发挥作用^[23]. Yoda1是Piezo1第一种化学活化剂. Yoda1增强Piezo1机械敏感性并减慢失活而充当门控修饰剂. 其可直接与Piezo1蛋白结合, 在没有外在机械力刺激情况下激活通道^[25]. 此外, Jedi1和Jedi2两种新型低亲和水溶性化学激活剂, 可特异性激活Piezo1; 比Yoda1介导的电流呈现更快爆发和衰变; Jedi1和Yoda1激活Piezo1位点不同, 可协同应用^[26].

2 Piezo1感应力学信号调控肿瘤恶性特征研究进展

肿瘤组织与正常组织的硬度力学特征明显不同, 临床许多常见实体肿瘤也多依据上述物理特征进行鉴别与诊断, 如肝细胞肝癌^[27]、胰腺导管细胞癌^[28,29]和乳腺癌^[30-32]等. 本课题组前期相继报道基质硬度增加调控肝癌侵袭转移的系列新机制, 包括独立诱导肝癌上皮间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的发生^[33]; 加速肝癌肺预转移瘤形成^[34-36]; 上调肝癌细胞血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)表达^[37]和血管内皮细胞生长因子受体2(vascular endothelial growth factor receptor 2, VEGFR2)表达^[38], 促进肿瘤血管新生, 说明硬度力学信号在增强肝癌细胞恶

性特征方面发挥重要作用. 而机械敏感性离子通道蛋白Piezo1在胃肠道系统中均有表达, 包括胃、小肠、结肠组织等^[5], 作为传递力学信号的新途径, 其在消化系统肿瘤癌变、生长、侵袭转移等相关恶性特征调控中同样发挥作用.

2.1 Piezo1介导力学信号诱导细胞癌变 部分具有正常生理功能的健康细胞也携带致癌突变基因^[39,40]. 单个基因的突变可增加癌变易感性, 但致癌基因并非驱动细胞癌变的唯一因素, 细胞与其周边微环境交流也是重要决定因素, 包括微环境中生物力学因素.

在小鼠和人乳腺管腔分化细胞中转染编码HER2的慢病毒, 使其具有癌变易感性, 细胞及动物实验显示HER2+的管腔细胞在高基质硬度条件下能成瘤^[41]. 表明力学信号的增强对癌基因启动、肿瘤发生至关重要. 正常组织基质偏软, 在一定程度上削弱癌基因驱动力. 研究显示, 在Apc突变小鼠结肠, 微环境压力可激活结肠上皮细胞Ret信号, 诱导 β -catenin Y654位点磷酸化, 阻断其与E-cadherin结合, 使其从粘连接处释放^[42], 在胞质累积发生核转位, 促进相关靶基因表达增加, 进而诱导结肠肿瘤恶变^[43].

感应机械力学信号Piezo1的发现, 为力学信号调控细胞癌变机制研究与源头干预提供了基础. Gudipaty等^[44]在犬肾上皮细胞(Madin-Darby canine kidney, MDCK)、人结肠上皮细胞、斑马鱼表皮细胞进行研究, 发现Piezo1可介导牵拉力促进上皮细胞分裂, 同时又可介导挤压力在细胞密度达到一定程度后, 通过1-磷酸鞘氨醇(sphingosine-1-phosphate, S1P), 诱导Rho介导的肌球蛋白白环收缩, 从而在细胞密度最高的地方将活细胞挤出, 最终诱导离巢细胞死亡^[45]. 上述过程保持细胞数量维持上皮稳态, 而破坏Piezo1力学信号传导会阻止活细胞挤出, 导致上皮细胞团块大量堆积, 说明Piezo1介导力学信号在癌变发生尤其是上皮类肿瘤癌变中扮演重要角色. Liu等^[46]用DEN诱发Piezo1+/-小鼠与Piezo1+/+小鼠癌变, 发现Piezo1+/-小鼠的肿瘤大小和恶化程度明显低于Piezo1+/+小鼠, 同样说明Piezo1与细胞癌变密切相关.

2.2 Piezo1介导力学信号调控细胞增殖、周期与凋亡 研究显示牵拉力可激活MDCK上皮细胞Piezo1通道, 促进钙离子内流, 激活细胞外调节蛋白激酶1/2(extracellular regulated protein kinases 1/2, ERK1/2)通路, 增加细胞Cyclin B表达, 促进上皮细胞从G2期进入有丝分裂, 从而加速细胞增殖^[44]. 而挤压力激活Piezo1通道, 则诱导上皮细胞失巢凋亡^[45]. 说明Piezo1对细胞增殖、凋亡的影响取决于机械力种类和方向. 然而, Piezo1对不同种类的细胞增殖和周期的影响也不同, 如Piezo1敲除可显著抑制胶质瘤细胞生长, 但对正常脑组织细胞无影响^[14]. 在前

列腺癌^[47]、胃癌^[48]、肝细胞肝癌^[46]中, 下调Piezo1抑制肿瘤细胞增殖, 促进肿瘤细胞凋亡. 而Yoda1可诱导结肠癌细胞凋亡^[49]. 此外, 不论药物抑制还是基因干预Piezo1表达与活化都不影响胰腺导管细胞癌生长^[50]. 因此, 脱离细胞类型及细胞力学环境讨论Piezo1功能是不可取的, 但目前多数研究将Piezo1作为原癌基因或抑癌基因对其下调或过表达, 忽略力学信号对Piezo1活性影响, 且机械力对细胞增殖影响并非线性, 而当机械力刺激超过一定范围后, 细胞增殖速率随之降低^[51,52], 甚至会出现损伤及死亡, 此时药物抑制Piezo1通道, 可保护细胞免于病理水平机械力刺激的影响^[53-55].

2.3 Piezo1介导力学信号影响肿瘤细胞干性 力学信号可显著影响肿瘤细胞干性特征. Liu等^[56]用21 kPa, 70 kPa, 105 kPa三种不同硬度水平的海藻酸盐凝胶, 对头颈部鳞状细胞癌细胞进行培养, 发现70 kPa硬度培养体系中, 癌细胞干性标记物表达最高, 成瘤能力和药物耐受性最强. 本课题组前期研究也显示基质硬度增加增强肝癌细胞干性特征^[57], 说明适宜的基质硬度环境的确可影响肿瘤细胞干性. Piezo1介导力学信号调控肿瘤细胞干性研究尚未见报道, 但已有研究显示: 随年龄增加导致大脑硬度增加, 通过激活Piezo1降低大脑多功能干细胞活性, 抑制Piezo1能够抵消衰老中枢神经系统中力学信号对多功能干细胞干性的削弱^[58]; 果蝇胃扩张可通过激活Piezo1促进肠内分泌前体细胞自我增殖和分化^[59]. 上述结果均为Piezo1介导力学信号影响肿瘤细胞干性研究提供了启示.

2.4 Piezo1介导力学信号影响肿瘤侵袭和转移 肿瘤细胞从原发瘤脱落、基质侵袭、进入血管、血管免疫逃逸、出血管、定植扩增形成转移灶的整个转移过程中, 都会感应到不同机械力刺激, 包括基质力学信号和流体力学信号^[60,61]. 而Piezo1作为机械敏感性离子通道可以感应多种种类的力学信号刺激. 因此, 通过Piezo1研究力学信号对肿瘤侵袭转移的影响具有代表性.

Piezo1表达与肿瘤细胞侵袭转移密切相关. Piezo1蛋白与三叶因子1(trefoil factor 1, TFF1)结合, 能够增强胃癌细胞运动性^[62]; 敲低Piezo1可诱导胃癌细胞内GTP-Rac1积累, 降低细胞运动能力^[48]. Piezo1在结肠癌组织中高表达, 体外Piezo1过表达或者Yoda1刺激可通过线粒体钙单向转运体(mitochondrial calcium uniporter, MCU)-缺氧诱导因子1 α (hypoxia inducible factor 1 α , HIF-1 α)-VEGF通路促进结肠癌细胞迁移; 沉默Piezo1则相反^[49]. 肿瘤细胞转移需要具备在限制性空间迁移的能力, 细胞从狭窄通道穿行需要钙离子内流, 而Piezo1激活可诱发大量钙离子内流. 研究显示, 下调仓鼠卵巢细胞CHO中Piezo1表达, 对其在非限制空间的迁移速度无明显影响,

但明显降低了细胞在限制空间的迁移速度^[63]。细胞核是细胞中最硬的结构, 当通过的周边基质或孔道硬度高于核硬度时, 细胞核需要变形以适应迁移通道尺寸, 才能顺利通过通道。细胞核大小、可塑性是肿瘤细胞在限制性空间迁移的重要限制因素^[64]。基质硬度影响细胞核形状, 在硬的基质表面生长的细胞呈现较薄且伸展的细胞核, 而在软基质表面生长细胞的细胞核相对更厚、延展面积小^[65]。胞外基质硬度改变核膜硬度、染色体解聚、小叶化, 使细胞更易于向周围基质浸润^[66]。此外, 流体剪切应力激活Piezo1通道, 钙离子内流, 介导肌动蛋白收缩, 使细胞核缩小^[67]。上述结果提示空间限制、牵拉力、流体剪切应力等, 均可激活Piezo1通道, 调控细胞核大小, 影响肿瘤细胞迁移。

2.5 Piezo1介导力学信号影响肿瘤血管新生 Piezo1为内皮细胞剪切应力感受器, 是胚胎发育及生理过程中血管发育形成、维持结构功能的决定因素^[9, 68-71]。小鼠Piezo1全部敲除或内皮特异性破坏会严重扰乱脉管系统发育而致胚胎死亡^[9, 70]。而Yoda1激活Piezo1可诱导内皮细胞发芽及管腔形成^[69]。因此, Piezo1与肿瘤血管新生、功能、完整性等之间存在密切关系, 但相关研究目前较少。Piezo1在结肠癌组织中高表达, 与差的预后密切相关。沉默Piezo1表达可抑制HIF-1 α 和VEGF的表达。而VEGF是肿瘤血管新生的强诱导因子^[49]。我们研究数据也显示, 基质硬度激活肝癌细胞Piezo1通道增加钙离子内流, 促进促血管因子表达, 诱导肝癌血管新生(未发表结果)。

3 Piezo1感应力学信号调控肿瘤免疫微环境

肿瘤免疫微环境重塑可显著影响肿瘤恶性特征及其进展, Piezo1是否会通过诱导肿瘤免疫抑制微环境形成促进肿瘤进展? 研究显示, Piezo1低表达胰腺导管腺癌患者5年存活率为20%, 而Piezo1高表达患者则未发现长期存活, 利用小鼠胰腺导管腺癌原位模型, 发现GsMTx4可有效地抑制肿瘤生长, 且使肿瘤组织中髓系抑制细胞明显减少, Yoda1则增加肿瘤中髓系抑制细胞的数量; 髓系细胞经Piezo1感知机械压力, 抑制组蛋白去乙酰基酶2(histone deacetylase 2, HDAC2), 减少视网膜母细胞瘤基因(retinoblastomal transcriptional corepressor 1, Rb1)表达, 而使髓系细胞大量扩增, 抑制肿瘤T细胞活化, 形成肿瘤免疫抑制微环境, 促进肿瘤发展^[50]。此外, Piezo1可介导周期性静水压刺激肺单核细胞内HIF-1 α 聚集, 诱导促炎表型形成^[72]。高基质硬度力学信号也可激活Piezo1, 加速树突状细胞糖酵解速率, 增强促炎功能^[73]。力学信号感应蛋白Piezo1也可参与T细胞激活^[74]。因此, Piezo1在机体固有免疫和适应性免疫方面都具有调节作用。

Piezo1离子通道也可被超声激活, 介导钙离子内流, 激活钙调神经磷酸酶, 去磷酸化转录因子活化T细胞核因子(nuclear factor of activated T cells, NFAT), 促进其核转位, 进而激活NFAT反应元件, 驱动设计的靶基因表达。研究者们利用这一原理进行合成遗传电路设计, 使用远程超声激活Piezo1控制嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR)转录表达, 进而识别根除靶肿瘤细胞。该方法是模块化的, 具有高时空精度、远程控制和非侵入性等优势, 用于优化免疫治疗^[75]。

4 结论

Piezo1介导力学信号调控肿瘤细胞恶性特征、血管新生、免疫微环境等相关研究目前尚处起步阶段, 相关实验研究仍具有较大局限性, 包括体外精准模拟力学微环境困难, 尤其三维层面的精准模拟; 此外, 用于力学信号研究的理想动物模型缺乏, 对干预反证实验的开展形成制约。Piezo1研究多聚焦其表达及活化对肿瘤细胞恶性特征的调控, 忽视肿瘤与胞外基质或流体力学信号的相互作用。另一方面, Piezo1研究也面临一些新问题, 包括除钙离子内流通路外, Piezo1是否与其他机械转导通路存在协同? 贴壁和悬浮细胞Piezo1感应和传递力学信号刺激的区别? Piezo1是否影响细胞骨架、核骨架进而影响细胞形态表型? 相信上述问题提出必将推动Piezo1介导力学信号调控肿瘤进展机制的完整阐明。

5 参考文献

- 1 Chaudhuri PK, Low BC, Lim CT. Mechanobiology of Tumor Growth. *Chem Rev* 2018; 118: 6499-6515 [PMID: 29927236 DOI: 10.1021/acs.chemrev.8b00042]
- 2 Pethő Z, Najder K, Bulk E, Schwab A. Mechanosensitive ion channels push cancer progression. *Cell Calcium* 2019; 80: 79-90 [PMID: 30991298 DOI: 10.1016/j.ceca.2019.03.007]
- 3 Gargalionis AN, Basdra EK, Papavassiliou AG. Tumor mechanosensing and its therapeutic potential. *J Cell Biochem* 2018; 119: 4304-4308 [PMID: 29479734 DOI: 10.1002/jcb.26786]
- 4 Coste B, Xiao B, Santos JS, Syeda R, Grandl J, Spencer KS, Kim SE, Schmidt M, Mathur J, Dubin AE, Montal M, Patapoutian A. Piezo proteins are pore-forming subunits of mechanically activated channels. *Nature* 2012; 483: 176-181 [PMID: 22343900 DOI: 10.1038/nature10812]
- 5 Coste B, Mathur J, Schmidt M, Earley TJ, Ranade S, Petrus MJ, Dubin AE, Patapoutian A. Piezo1 and Piezo2 are essential components of distinct mechanically activated cation channels. *Science* 2010; 330: 55-60 [PMID: 20813920 DOI: 10.1126/science.1193270]
- 6 Syeda R, Florendo MN, Cox CD, Kefauver JM, Santos JS, Martinac B, Patapoutian A. Piezo1 Channels Are Inherently Mechanosensitive. *Cell Rep* 2016; 17: 1739-1746 [PMID: 27829145 DOI: 10.1016/j.celrep.2016.10.033]
- 7 Zeng WZ, Marshall KL, Min S, Daou I, Chapleau MW, Abboud FM, Liberles SD, Patapoutian A. PIEZO1s mediate neuronal sensing of blood pressure and the baroreceptor reflex. *Science* 2018; 362: 464-467 [PMID: 30361375 DOI: 10.1126/science.aau6324]
- 8 Allison SJ. Hypertension: Mechanosensation by PIEZO1 in

- blood pressure control. *Nat Rev Nephrol* 2017; 13: 3 [PMID: 27840417 DOI: 10.1038/nrneph.2016.165]
- 9 Li J, Hou B, Tumova S, Muraki K, Bruns A, Ludlow MJ, Sedo A, Hyman AJ, McKeown L, Young RS, Yuldasheva NY, Majeed Y, Wilson LA, Rode B, Bailey MA, Kim HR, Fu Z, Carter DA, Bilton J, Imrie H, Ajuh P, Dear TN, Cubbon RM, Kearney MT, Prasad RK, Evans PC, Ainscough JF, Beech DJ. Piezo1 integration of vascular architecture with physiological force. *Nature* 2014; 515: 279-282 [PMID: 25119035 DOI: 10.1038/nature13701]
 - 10 Sun W, Chi S, Li Y, Ling S, Tan Y, Xu Y, Jiang F, Li J, Liu C, Zhong G, Cao D, Jin X, Zhao D, Gao X, Liu Z, Xiao B, Li Y. The mechanosensitive Piezo1 channel is required for bone formation. *Elife* 2019; 8 [PMID: 31290742 DOI: 10.7554/eLife.47454]
 - 11 Petkova-Kirova P, Hertz L, Danielczok J, Huisjes R, Makhro A, Bogdanova A, Mañú-Pereira MDM, Vives Corrons JL, van Wijk R, Kaestner L. Red Blood Cell Membrane Conductance in Hereditary Haemolytic Anaemias. *Front Physiol* 2019; 10: 386 [PMID: 31040790 DOI: 10.3389/fphys.2019.00386]
 - 12 Ma S, Cahalan S, LaMonte G, Grubaugh ND, Zeng W, Murthy SE, Paytas E, Gamin R, Lukacs V, Whitwam T, Loud M, Lohia R, Bery L, Khan SM, Janse CJ, Bandell M, Schmedt C, Wengelnik K, Su AI, Honore E, Winzeler EA, Andersen KG, Patapoutian A. Common PIEZO1 Allele in African Populations Causes RBC Dehydration and Attenuates Plasmodium Infection. *Cell* 2018; 173: 443-455.e12 [PMID: 29576450 DOI: 10.1016/j.cell.2018.02.047]
 - 13 Glogowska E, Schneider ER, Maksimova Y, Schulz VP, Lezon-Geyda K, Wu J, Radhakrishnan K, Keel SB, Mahoney D, Freidmann AM, Altura RA, Gracheva EO, Bagriantsev SN, Kalfa TA, Gallagher PG. Novel mechanisms of PIEZO1 dysfunction in hereditary xerocytosis. *Blood* 2017; 130: 1845-1856 [PMID: 28716860 DOI: 10.1182/blood-2017-05-786004]
 - 14 Chen X, Wanggou S, Bodalia A, Zhu M, Dong W, Fan JJ, Yin WC, Min HK, Hu M, Draghici D, Dou W, Li F, Coutinho FJ, Whetstone H, Kushida MM, Dirks PB, Song Y, Hui CC, Sun Y, Wang LY, Li X, Huang X. A Feedforward Mechanism Mediated by Mechanosensitive Ion Channel PIEZO1 and Tissue Mechanics Promotes Glioma Aggression. *Neuron* 2018; 100: 799-815.e7 [PMID: 30344046 DOI: 10.1016/j.neuron.2018.09.046]
 - 15 Wu J, Lewis AH, Grandl J. Touch, Tension, and Transduction - The Function and Regulation of Piezo Ion Channels. *Trends Biochem Sci* 2017; 42: 57-71 [PMID: 27743844 DOI: 10.1016/j.tibs.2016.09.004]
 - 16 Ge J, Li W, Zhao Q, Li N, Chen M, Zhi P, Li R, Gao N, Xiao B, Yang M. Architecture of the mammalian mechanosensitive Piezo1 channel. *Nature* 2015; 527: 64-69 [PMID: 26390154 DOI: 10.1038/nature15247]
 - 17 Zhao Q, Zhou H, Chi S, Wang Y, Wang J, Geng J, Wu K, Liu W, Zhang T, Dong MQ, Wang J, Li X, Xiao B. Structure and mechanogating mechanism of the Piezo1 channel. *Nature* 2018; 554: 487-492 [PMID: 29469092 DOI: 10.1038/nature25743]
 - 18 Romero LO, Massey AE, Mata-Daboín AD, Sierra-Valdez FJ, Chauhan SC, Cordero-Morales JF, Vásquez V. Dietary fatty acids fine-tune Piezo1 mechanical response. *Nat Commun* 2019; 10: 1200 [PMID: 30867417 DOI: 10.1038/s41467-019-09055-7]
 - 19 Del Mármol JJ, Touhara KK, Croft G, MacKinnon R. Piezo1 forms a slowly-inactivating mechanosensory channel in mouse embryonic stem cells. *Elife* 2018; 7 [PMID: 30132757 DOI: 10.7554/eLife.33149]
 - 20 Beech DJ, Kalli AC. Force Sensing by Piezo Channels in Cardiovascular Health and Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2019; 39: 2228-2239 [PMID: 31533470 DOI: 10.1161/ATVBAHA.119.313348]
 - 21 Nourse JL, Pathak MM. How cells channel their stress: Interplay between Piezo1 and the cytoskeleton. *Semin Cell Dev Biol* 2017; 71: 3-12 [PMID: 28676421 DOI: 10.1016/j.semdb.2017.06.018]
 - 22 Ridone P, Vassalli M, Martinac B. Piezo1 mechanosensitive channels: what are they and why are they important. *Biophys Rev* 2019; 11: 795-805 [PMID: 31494839 DOI: 10.1007/s12551-019-00584-5]
 - 23 Gnanasambandam R, Ghatak C, Yasmann A, Nishizawa K, Sachs F, Ladokhin AS, Sukharev SI, Suchyna TM. GsMTx4: Mechanism of Inhibiting Mechanosensitive Ion Channels. *Biophys J* 2017; 112: 31-45 [PMID: 28076814 DOI: 10.1016/j.bpj.2016.11.013]
 - 24 Suchyna TM. Piezo channels and GsMTx4: Two milestones in our understanding of excitatory mechanosensitive channels and their role in pathology. *Prog Biophys Mol Biol* 2017; 130: 244-253 [PMID: 28778608 DOI: 10.1016/j.pbiomolbio.2017.07.011]
 - 25 Syeda R, Xu J, Dubin AE, Coste B, Mathur J, Huynh T, Matzen J, Lao J, Tully DC, Engels IH, Petrassi HM, Schumacher AM, Montal M, Bandell M, Patapoutian A. Chemical activation of the mechanotransduction channel Piezo1. *Elife* 2015; 4 [PMID: 26001275 DOI: 10.7554/eLife.07369]
 - 26 Wang Y, Chi S, Guo H, Li G, Wang L, Zhao Q, Rao Y, Zu L, He W, Xiao B. A lever-like transduction pathway for long-distance chemical- and mechano-gating of the mechanosensitive Piezo1 channel. *Nat Commun* 2018; 9: 1300 [PMID: 29610524 DOI: 10.1038/s41467-018-03570-9]
 - 27 Wong GL, Chan HL, Wong CK, Leung C, Chan CY, Ho PP, Chung VC, Chan ZC, Tse YK, Chim AM, Lau TK, Wong VW. Liver stiffness-based optimization of hepatocellular carcinoma risk score in patients with chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2014; 60: 339-345 [PMID: 24128413 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.09.029]
 - 28 Pandol S, Edderkaoui M, Gukovsky I, Lugea A, Gukovskaya A. Desmoplasia of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: S44-S47 [PMID: 19896098 DOI: 10.1016/j.cgh.2009.07.039]
 - 29 Drifka CR, Tod J, Loeffler AG, Liu Y, Thomas GJ, Eliceiri KW, Kao WJ. Periductal stromal collagen topology of pancreatic ductal adenocarcinoma differs from that of normal and chronic pancreatitis. *Mod Pathol* 2015; 28: 1470-1480 [PMID: 26336888 DOI: 10.1038/modpathol.2015.97]
 - 30 Berger AJ, Renner CM, Hale I, Yang X, Ponik SM, Weisman PS, Masters KS, Kreeger PK. Scaffold stiffness influences breast cancer cell invasion via EGFR-linked Mena upregulation and matrix remodeling. *Matrix Biol* 2020; 85-86: 80-93 [PMID: 31323325 DOI: 10.1016/j.matbio.2019.07.006]
 - 31 Li Y, Khuu N, Prince E, Tao H, Zhang N, Chen Z, Gevorkian A, McGuigan AP, Kumacheva E. Matrix Stiffness-Regulated Growth of Breast Tumor Spheroids and Their Response to Chemotherapy. *Biomacromolecules* 2021; 22: 419-429 [PMID: 33136364 DOI: 10.1021/acs.biomac.0c01287]
 - 32 Acerbi I, Cassereau L, Dean I, Shi Q, Au A, Park C, Chen YY, Liphardt J, Hwang ES, Weaver VM. Human breast cancer invasion and aggression correlates with ECM stiffening and immune cell infiltration. *Integr Biol (Camb)* 2015; 7: 1120-1134 [PMID: 25959051 DOI: 10.1039/c5ib00040h]
 - 33 Dong Y, Zheng Q, Wang Z, Lin X, You Y, Wu S, Wang Y, Hu C, Xie X, Chen J, Gao D, Zhao Y, Wu W, Liu Y, Ren Z, Chen R, Cui J. Higher matrix stiffness as an independent initiator triggers epithelial-mesenchymal transition and facilitates HCC metastasis. *J Hematol Oncol* 2019; 12: 112 [PMID: 31703598 DOI: 10.1186/s13045-019-0795-5]
 - 34 Wu S, Zheng Q, Xing X, Dong Y, Wang Y, You Y, Chen R, Hu C, Chen J, Gao D, Zhao Y, Wang Z, Xue T, Ren Z, Cui J. Matrix stiffness-upregulated LOXL2 promotes fibronectin production, MMP9 and CXCL12 expression and BMDCs recruitment to assist pre-metastatic niche formation. *J Exp Clin Cancer Res* 2018; 37: 99 [PMID: 29728125 DOI: 10.1186/s13046-018-0761-z]
 - 35 Wu S, Xing X, Wang Y, Zhang X, Li M, Wang M, Wang Z, Chen J, Gao D, Zhao Y, Chen R, Ren Z, Zhang K, Cui J. The pathological

- significance of LOXL2 in pre-metastatic niche formation of HCC and its related molecular mechanism. *Eur J Cancer* 2021; 147: 63-73 [PMID: 33618200 DOI: 10.1016/j.ejca.2021.01.011]
- 36 Xing X, Wang Y, Zhang X, Gao X, Li M, Wu S, Zhao Y, Chen J, Gao D, Chen R, Ren Z, Zhang K, Cui J. Matrix stiffness-mediated effects on macrophages polarization and their LOXL2 expression. *FEBS J* 2020 [PMID: 32964626 DOI: 10.1111/febs.15566]
- 37 Dong Y, Xie X, Wang Z, Hu C, Zheng Q, Wang Y, Chen R, Xue T, Chen J, Gao D, Wu W, Ren Z, Cui J. Increasing matrix stiffness upregulates vascular endothelial growth factor expression in hepatocellular carcinoma cells mediated by integrin $\beta 1$. *Biochem Biophys Res Commun* 2014; 444: 427-432 [PMID: 24472554 DOI: 10.1016/j.bbrc.2014.01.079]
- 38 Wang Y, Zhang X, Wang W, Xing X, Wu S, Dong Y, You Y, Chen R, Ren Z, Guo W, Cui J, Li W. Integrin $\alpha V \beta 5$ /Akt/Sp1 pathway participates in matrix stiffness-mediated effects on VEGFR2 upregulation in vascular endothelial cells. *Am J Cancer Res* 2020; 10: 2635-2648 [PMID: 32905444]
- 39 Martincorena I, Roshan A, Gerstung M, Ellis P, Van Loo P, McLaren S, Wedge DC, Fullam A, Alexandrov LB, Tubio JM, Stebbings L, Menzies A, Widaa S, Stratton MR, Jones PH, Campbell PJ. Tumor evolution. High burden and pervasive positive selection of somatic mutations in normal human skin. *Science* 2015; 348: 880-886 [PMID: 25999502 DOI: 10.1126/science.aaa6806]
- 40 Lee-Six H, Olafsson S, Ellis P, Osborne RJ, Sanders MA, Moore L, Georgakopoulos N, Torrente F, Noorani A, Goddard M, Robinson P, Coorens THH, O'Neill L, Alder C, Wang J, Fitzgerald RC, Zilbauer M, Coleman N, Saeb-Parsy K, Martincorena I, Campbell PJ, Stratton MR. The landscape of somatic mutation in normal colorectal epithelial cells. *Nature* 2019; 574: 532-537 [PMID: 31645730 DOI: 10.1038/s41586-019-1672-7]
- 41 Panciera T, Citron A, Di Biagio D, Battilana G, Gandin A, Giulitti S, Forcato M, Biciato S, Panzetta V, Fusco S, Azzolin L, Totaro A, Dei Tos AP, Fassan M, Vindigni V, Bassetto F, Rosato A, Brusatin G, Cordenonsi M, Piccolo S. Reprogramming normal cells into tumour precursors requires ECM stiffness and oncogene-mediated changes of cell mechanical properties. *Nat Mater* 2020; 19: 797-806 [PMID: 32066931 DOI: 10.1038/s41563-020-0615-x]
- 42 van Veelen W, Le NH, Helvensteijn W, Blonden L, Theeuwes M, Bakker ER, Franken PF, van Gurp L, Meijlink F, van der Valk MA, Kuipers EJ, Fodde R, Smits R. β -catenin tyrosine 654 phosphorylation increases Wnt signalling and intestinal tumorigenesis. *Gut* 2011; 60: 1204-1212 [PMID: 21307168 DOI: 10.1136/gut.2010.233460]
- 43 Fernández-Sánchez ME, Barbier S, Whitehead J, Béalle G, Michel A, Latorre-Ossa H, Rey C, Fouassier L, Claperon A, Brullé L, Girard E, Servant N, Rio-Frio T, Marie H, Lesieur S, Housset C, Gennisson JL, Tanter M, Ménager C, Fre S, Robine S, Farge E. Mechanical induction of the tumorigenic β -catenin pathway by tumour growth pressure. *Nature* 2015; 523: 92-95 [PMID: 25970250 DOI: 10.1038/nature14329]
- 44 Gudipaty SA, Lindblom J, Loftus PD, Redd MJ, Edes K, Davey CF, Krishnegowda V, Rosenblatt J. Mechanical stretch triggers rapid epithelial cell division through Piezo1. *Nature* 2017; 543: 118-121 [PMID: 28199303 DOI: 10.1038/nature21407]
- 45 Eisenhoffer GT, Loftus PD, Yoshigi M, Otsuna H, Chien CB, Morcos PA, Rosenblatt J. Crowding induces live cell extrusion to maintain homeostatic cell numbers in epithelia. *Nature* 2012; 484: 546-549 [PMID: 22504183 DOI: 10.1038/nature10999]
- 46 Liu S, Xu X, Fang Z, Ning Y, Deng B, Pan X, He Y, Yang Z, Huang K, Li J. Piezo1 impairs hepatocellular tumor growth via deregulation of the MAPK-mediated YAP signaling pathway. *Cell Calcium* 2021; 95: 102367 [PMID: 33610907 DOI: 10.1016/j.ceca.2021.102367]
- 47 Han Y, Liu C, Zhang D, Men H, Huo L, Geng Q, Wang S, Gao Y, Zhang W, Zhang Y, Jia Z. Mechanosensitive ion channel Piezo1 promotes prostate cancer development through the activation of the Akt/mTOR pathway and acceleration of cell cycle. *Int J Oncol* 2019; 55: 629-644 [PMID: 31322184 DOI: 10.3892/ijo.2019.4839]
- 48 Zhang J, Zhou Y, Huang T, Wu F, Liu L, Kwan JSH, Cheng ASL, Yu J, To KF, Kang W. PIEZO1 functions as a potential oncogene by promoting cell proliferation and migration in gastric carcinogenesis. *Mol Carcinog* 2018; 57: 1144-1155 [PMID: 29683214 DOI: 10.1002/mc.22831]
- 49 Sun Y, Li M, Liu G, Zhang X, Zhi L, Zhao J, Wang G. The function of Piezo1 in colon cancer metastasis and its potential regulatory mechanism. *J Cancer Res Clin Oncol* 2020; 146: 1139-1152 [PMID: 32152662 DOI: 10.1007/s00432-020-03179-w]
- 50 Aykut B, Chen R, Kim JI, Wu D, Shadaloey SAA, Abengoza R, Preiss P, Saxena A, Pushalkar S, Leinwand J, Diskin B, Wang W, Werba G, Berman M, Lee SKB, Khodadadi-Jamayran A, Saxena D, Coetzee WA, Miller G. Targeting Piezo1 unleashes innate immunity against cancer and infectious disease. *Sci Immunol* 2020; 5 [PMID: 32826342 DOI: 10.1126/sciimmunol.abb5168]
- 51 Shin JW, Mooney DJ. Extracellular matrix stiffness causes systematic variations in proliferation and chemosensitivity in myeloid leukemias. *Proc Natl Acad Sci USA* 2016; 113: 12126-12131 [PMID: 27790998 DOI: 10.1073/pnas.1611338113]
- 52 Murikipudi S, Methe H, Edelman ER. The effect of substrate modulus on the growth and function of matrix-embedded endothelial cells. *Biomaterials* 2013; 34: 677-684 [PMID: 23102623 DOI: 10.1016/j.biomaterials.2012.09.079]
- 53 Romac JM, Shahid RA, Swain SM, Vigna SR, Liddle RA. Piezo1 is a mechanically activated ion channel and mediates pressure induced pancreatitis. *Nat Commun* 2018; 9: 1715 [PMID: 29712913 DOI: 10.1038/s41467-018-04194-9]
- 54 Swain SM, Romac JM, Shahid RA, Pandolfi SJ, Liedtke W, Vigna SR, Liddle RA. TRPV4 channel opening mediates pressure-induced pancreatitis initiated by Piezo1 activation. *J Clin Invest* 2020; 130: 2527-2541 [PMID: 31999644 DOI: 10.1172/JCI134111]
- 55 Lee W, Leddy HA, Chen Y, Lee SH, Zelenski NA, McNulty AL, Wu J, Becker KN, Coles J, Zauscher S, Grandl J, Sachs F, Guilak F, Liedtke WB. Synergy between Piezo1 and Piezo2 channels confers high-strain mechanosensitivity to articular cartilage. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111: E5114-E5122 [PMID: 25385580 DOI: 10.1073/pnas.1414298111]
- 56 Liu C, Liu Y, Xu XX, Wu H, Xie HG, Chen L, Lu T, Yang L, Guo X, Sun GW, Wang W, Ma XJ, He X. Potential effect of matrix stiffness on the enrichment of tumor initiating cells under three-dimensional culture conditions. *Exp Cell Res* 2015; 330: 123-134 [PMID: 25108138 DOI: 10.1016/j.yexcr.2014.07.036]
- 57 You Y, Zheng Q, Dong Y, Xie X, Wang Y, Wu S, Zhang L, Wang Y, Xue T, Wang Z, Chen R, Wang Y, Cui J, Ren Z. Matrix stiffness-mediated effects on stemness characteristics occurring in HCC cells. *Oncotarget* 2016; 7: 32221-32231 [PMID: 27050147 DOI: 10.18632/oncotarget.8515]
- 58 Segel M, Neumann B, Hill MFE, Weber IP, Viscomi C, Zhao C, Young A, Agle CC, Thompson AJ, Gonzalez GA, Sharma A, Holmqvist S, Rowitch DH, Franze K, Franklin RJM, Chalut KJ. Niche stiffness underlies the ageing of central nervous system progenitor cells. *Nature* 2019; 573: 130-134 [PMID: 31413369 DOI: 10.1038/s41586-019-1484-9]
- 59 He L, Si G, Huang J, Samuel ADT, Perrimon N. Mechanical regulation of stem-cell differentiation by the stretch-activated Piezo channel. *Nature* 2018; 555: 103-106 [PMID: 29414942 DOI: 10.1038/nature25744]
- 60 Follain G, Herrmann D, Harlepp S, Hyenne V, Osmani N, Warren SC, Timpson P, Goetz JG. Fluids and their mechanics in tumour transit: shaping metastasis. *Nat Rev Cancer* 2020; 20: 107-124 [PMID: 31780785 DOI: 10.1038/s41568-019-0221-x]

- 61 Mierke CT. Mechanical Cues Affect Migration and Invasion of Cells From Three Different Directions. *Front Cell Dev Biol* 2020; 8: 583226 [PMID: 33043017 DOI: 10.3389/fcell.2020.583226]
- 62 Yang XN, Lu YP, Liu JJ, Huang JK, Liu YP, Xiao CX, Jazag A, Ren JL, Guleng B. Piezo1 is as a novel trefoil factor family 1 binding protein that promotes gastric cancer cell mobility in vitro. *Dig Dis Sci* 2014; 59: 1428-1435 [PMID: 24798994 DOI: 10.1007/s10620-014-3044-3]
- 63 Hung WC, Yang JR, Yankaskas CL, Wong BS, Wu PH, Pardo-Pastor C, Serra SA, Chiang MJ, Gu Z, Wirtz D, Valverde MA, Yang JT, Zhang J, Konstantopoulos K. Confinement Sensing and Signal Optimization via Piezo1/PKA and Myosin II Pathways. *Cell Rep* 2016; 15: 1430-1441 [PMID: 27160899 DOI: 10.1016/j.celrep.2016.04.035]
- 64 Lautscham LA, Kämmerer C, Lange JR, Kolb T, Mark C, Schilling A, Strissel PL, Strick R, Gluth C, Rowat AC, Metzner C, Fabry B. Migration in Confined 3D Environments Is Determined by a Combination of Adhesiveness, Nuclear Volume, Contractility, and Cell Stiffness. *Biophys J* 2015; 109: 900-913 [PMID: 26331248 DOI: 10.1016/j.bpj.2015.07.025]
- 65 Lovett DB, Shekhar N, Nickerson JA, Roux KJ, Lele TP. Modulation of Nuclear Shape by Substrate Rigidity. *Cell Mol Bioeng* 2013; 6: 230-238 [PMID: 23914256 DOI: 10.1007/s12195-013-0270-2]
- 66 Deville SS, Cordes N. The Extracellular, Cellular, and Nuclear Stiffness, a Trinity in the Cancer Resistome-A Review. *Front Oncol* 2019; 9: 1376 [PMID: 31867279 DOI: 10.3389/fonc.2019.01376]
- 67 Jetta D, Gottlieb PA, Verma D, Sachs F, Hua SZ. Shear stress-induced nuclear shrinkage through activation of Piezo1 channels in epithelial cells. *J Cell Sci* 2019; 132 [PMID: 31076516 DOI: 10.1242/jcs.226076]
- 68 Douguet D, Patel A, Xu A, Vanhoutte PM, Honoré E. Piezo Ion Channels in Cardiovascular Mechanobiology. *Trends Pharmacol Sci* 2019; 40: 956-970 [PMID: 31704174 DOI: 10.1016/j.tips.2019.10.002]
- 69 Kang H, Hong Z, Zhong M, Klomp J, Bayless KJ, Mehta D, Karginov AV, Hu G, Malik AB. Piezo1 mediates angiogenesis through activation of MT1-MMP signaling. *Am J Physiol Cell Physiol* 2019; 316: C92-C103 [PMID: 30427721 DOI: 10.1152/ajpcell.00346.2018]
- 70 Ranade SS, Qiu Z, Woo SH, Hur SS, Murthy SE, Cahalan SM, Xu J, Mathur J, Bandell M, Coste B, Li YS, Chien S, Patapoutian A. Piezo1, a mechanically activated ion channel, is required for vascular development in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111: 10347-10352 [PMID: 24958852 DOI: 10.1073/pnas.1409233111]
- 71 Friedrich EE, Hong Z, Xiong S, Zhong M, Di A, Rehman J, Komarova YA, Malik AB. Endothelial cell Piezo1 mediates pressure-induced lung vascular hyperpermeability via disruption of adherens junctions. *Proc Natl Acad Sci USA* 2019; 116: 12980-12985 [PMID: 31186359 DOI: 10.1073/pnas.1902165116]
- 72 Solis AG, Bielecki P, Steach HR, Sharma L, Harman CCD, Yun S, de Zoete MR, Warnock JN, To SDF, York AG, Mack M, Schwartz MA, Dela Cruz CS, Palm NW, Jackson R, Flavell RA. Mechanosensation of cyclical force by PIEZO1 is essential for innate immunity. *Nature* 2019; 573: 69-74 [PMID: 31435009 DOI: 10.1038/s41586-019-1485-8]
- 73 Chakraborty M, Chu K, Shrestha A, Revelo XS, Zhang X, Gold MJ, Khan S, Lee M, Huang C, Akbari M, Barrow F, Chan YT, Lei H, Kotoulas NK, Jovel J, Pastrello C, Kotlyar M, Goh C, Michelakis E, Clemente-Casares X, Ohashi PS, Engleman EG, Winer S, Jurisica I, Tsai S, Winer DA. Mechanical Stiffness Controls Dendritic Cell Metabolism and Function. *Cell Rep* 2021; 34: 108609 [PMID: 33440149 DOI: 10.1016/j.celrep.2020.108609]
- 74 Liu CSC, Raychaudhuri D, Paul B, Chakrabarty Y, Ghosh AR, Rahaman O, Talukdar A, Ganguly D. Cutting Edge: Piezo1 Mechanosensors Optimize Human T Cell Activation. *J Immunol* 2018; 200: 1255-1260 [PMID: 29330322 DOI: 10.4049/jimmunol.1701118]
- 75 Pan Y, Yoon S, Sun J, Huang Z, Lee C, Allen M, Wu Y, Chang YJ, Sadelain M, Shung KK, Chien S, Wang Y. Mechanogenetics for the remote and noninvasive control of cancer immunotherapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2018; 115: 992-997 [PMID: 29343642 DOI: 10.1073/pnas.1714900115]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



水飞蓟素对重症急性胰腺炎大鼠肠道损伤及PI3K/Akt和NF- κ B信号通路影响

哈虹, 哈良, 张庆清

哈虹, 天津中医药大学第一附属医院妇科 天津市 300191

哈良, 天津市中西医结合医院肝胆胰一科 天津市 300000

张庆清, 天津市河东区中山门街社区卫生服务中心中医妇科 天津市 300181

哈虹, 主治医师, 主要研究方向为中医妇科.

作者贡献分布: 哈虹与哈良对此文所作贡献两均等; 此课题由哈虹、哈良及张庆清设计; 研究过程由哈虹、哈良及张庆清操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由张庆清提供; 数据分析由哈虹与哈良完成; 本论文写作由哈虹与哈良完成.

通讯作者: 哈虹, 主治医师, 300191, 天津市南开区鞍山西道314号, 天津中医药大学第一附属医院妇科. hanxingtanben@163.com

收稿日期: 2021-02-02

修回日期: 2021-03-24

接受日期: 2021-06-18

在线出版日期: 2021-07-28

Effect of silymarin on intestinal injury and PI3K/Akt and NF- κ B signaling pathways in rats with severe acute pancreatitis

Hong Ha, Liang Ha, Qing-Qing Zhang

Hong Ha, Department of Gynecology, First Affiliated Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300191, China

Liang Ha, First Department of Hepatobiliary and Pancreatic Medicine, Tianjin Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Tianjin 300000, China

Qing-Qing Zhang, Department of Gynecology of Traditional Chinese Medicine, Community Health Service Center, Tianjin 300181, China

Corresponding author: Hong Ha, Attending Physician, Department of Gynecology, First Affiliated Hospital of Tianjin University of

Traditional Chinese Medicine, No. 314 Anshan West Road, Nankai District, Tianjin 300191, China. hanxingtanben@163.com

Received: 2021-02-02

Revised: 2021-03-24

Accepted: 2021-06-18

Published online: 2021-07-28

Abstract BACKGROUND

Acute pancreatitis is a very common clinical acute abdomen. Excessive release of inflammatory factors can damage the intestinal mucosa, induce cell apoptosis, and accelerate the course of the disease. Silymarin has anti-oxidative, immunoregulatory, anti-inflammatory, liver-protecting, anti-tissue fibrosis, and other effects. However, there is no relevant research on the effect of silymarin on the intestinal injury in severe acute pancreatitis.

AIM

To study the effects of silymarin on intestinal injury and PI3K/Akt and NF- κ B signaling pathways in rats with severe acute pancreatitis.

METHODS

Rats were divided into a control group, a severe acute pancreatitis (SAP) model group, and low-, medium, and high-dose silymarin groups (severe acute pancreatitis rats given 60, 120, and 240 mg/kg silymarin, respectively). Rats treated with glutamine (1.5 g/kg) were used as positive controls. The death of rats was recorded. Serum amylase and lipase levels were detected using an automatic biochemical analyzer. Serum IL-1 β and TNF- α levels were detected by ELISA. Pancreatic and ileal pathology scores were calculated. The expression of Bcl-2, Bax, PI3K, p-PI3K, Akt, p-Akt, NF- κ Bp65, and Bcl-2 in ileal tissues was detected by Western blot. TUNEL method was used to detect cell

apoptosis in ileal tissues.

RESULTS

The SAP group, control group, and low-, medium, and high-dose silymarin groups had 3, 0, 2, 1, and 0 deaths, respectively. Compared with the control group, the levels of serum amylase, lipase, IL-1 β , and TNF- α , the pancreatic and ileal pathology scores, the levels of Bax, p-PI3K/PI3K, p-Akt/Akt, and NF- κ Bp65, and the apoptosis index increased, while Bcl-2 protein expression decreased in the SAP group. Compared with the SAP group, the levels of serum amylase, lipase, IL-1 β , and TNF- α , the pancreatic and ileal pathology scores, the levels of Bax, p-PI3K/PI3K, p-Akt/Akt, and NF- κ Bp65 protein levels, and the apoptosis index gradually decreased, while Bcl-2 protein expression gradually increased in the low-, medium, and high-dose silymarin groups. Compared with the SAP group, the serum levels of amylase, lipase, IL-1 β , and TNF- α , the pancreatic and ileal pathology scores, the levels of Bax, p-PI3K/PI3K, p-Akt/Akt, and NF- κ Bp65, and the apoptosis index decreased, while Bcl-2 protein expression increased in the glutamine group.

CONCLUSION

Silymarin can reduce intestinal injury in rats with SAP, inhibit inflammation, reduce cell apoptosis, and inhibit the activation of the PI3K/Akt and NF- κ B signaling pathways.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Silymarin; PI3K/Akt; Severe acute pancreatitis; NF- κ B; Inflammation

Citation: Ha H, Ha L, Zhang QQ. Effect of silymarin on intestinal injury and PI3K/Akt and NF- κ B signaling pathways in rats with severe acute pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(14): 765-774

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i14/765.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i14.765>

摘要

背景

急性胰腺炎是临床十分常见的急腹症,过量的炎症因子释放会损伤肠黏膜,诱导细胞凋亡,加快病程。水飞蓟素有抗氧化、免疫调节、消炎、保护肝脏、抗组织纤维化等功效。但目前尚未见关于水飞蓟素在重症急性胰腺炎肠道损伤中的相关研究。

目的

研究水飞蓟素对重症急性胰腺炎大鼠肠道损伤及PI3K/Akt和NF- κ B信号通路的影响。

方法

实验分成Control组、重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis model, SAP)组、Experimental+L组(重症急性胰腺炎模型,给予60 mg/kg水飞蓟素治疗)、Experimental+M组(重症急性胰腺炎模型,给予120 mg/kg水飞蓟素治疗)、Experimental+H组(重症急性胰腺炎模型,给予240 mg/kg水飞蓟素治疗)、Glutamine组(1.5 g/kg谷氨酰胺治疗),观察大鼠死亡情况,全自动生化分析仪检测血清中淀粉酶、脂肪酶水平,用ELISA法检测血清中白介素(interleukin, IL)-1 β 、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 含量,对大鼠进行胰腺病理评分和回肠病理评分,Western blot检测回肠组织中Bcl-2、Bax、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、NF- κ Bp65蛋白表达, TUNEL法检测回肠组织中细胞凋亡情况。

结果

SAP组大鼠死亡3只, Control、Experimental+L、Experimental+M、Experimental+H组大鼠分别死亡0只、2只、1只和0只。与Control组相比, SAP组大鼠血清中淀粉酶、脂肪酶以及IL-1 β 、TNF- α 水平升高,胰腺病理评分和回肠病理评分均升高, Bax、p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、NF- κ Bp65蛋白水平和细胞凋亡指数均升高, Bcl-2蛋白表达水平降低。与SAP组比较, Experimental+L、Experimental+M、Experimental+H组大鼠血清中淀粉酶、脂肪酶以及IL-1 β 、TNF- α 水平均逐渐降低,胰腺病理评分和回肠病理评分均逐渐降低, Bax、p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、NF- κ Bp65蛋白水平和细胞凋亡指数均逐渐降低, Bcl-2蛋白表达水平逐渐升高。与SAP组比较, Glutamine组大鼠血清中淀粉酶、脂肪酶以及IL-1 β 、TNF- α 水平均降低,胰腺病理评分和回肠病理评分均降低, Bax、p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、NF- κ Bp65蛋白水平和细胞凋亡指数均降低, Bcl-2蛋白表达水平升高。

结论

水飞蓟素减轻重症急性胰腺炎大鼠肠道损伤,抑制炎症,减少细胞凋亡,抑制PI3K/Akt和NF- κ B信号通路激活。

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 水飞蓟素; PI3K/Akt; 重症急性胰腺炎; NF- κ B; 炎症

核心提要: 本研究成功复制重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis model, SAP)大鼠肠道损伤模型,探讨水飞蓟素减轻重症急性胰腺炎的肠道损伤效果,结果发现水飞蓟素能够减轻重症急性胰腺炎大鼠肠道损伤,抑制炎症,减少细胞凋亡,抑制PI3K/Akt和NF- κ B信号通路激活。

文献来源: 哈虹, 哈良, 张庆清. 水飞蓟素对重症急性胰腺炎大鼠肠道损伤及PI3K/Akt和NF- κ B信号通路影响. 世界华人消化杂志 2021; 29(14): 765-774

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i14/765.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i14.765>

0 引言

轻度急性胰腺炎(mild acute pancreatitis, MAP)、中度急性胰腺炎、重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)是临床十分常见的急腹症, 其中重症急性胰腺炎常常涉及到多个器官衰竭、出现败血症等现象, 其治疗十分棘手^[1]. 很多研究报道表明^[2], 急性胰腺炎中过量的炎症因子释放会损伤肠黏膜, 诱导细胞凋亡, 加快病程. 水飞蓟素属于黄酮类化合物, 其是从水飞蓟种子内提取出来的活性成分, 有抗氧化、免疫调节、消炎、保护肝脏、抗组织纤维化等功效^[3]. 以前的研究发现, 水飞蓟素对急性胰腺炎有治疗效果, 其处理以后的急性胰腺炎大鼠模型肺组织损伤程度降低, 炎症水平下降, 并且水飞蓟素可以降低肺组织中NF- κ B信号通路激活水平^[4]. 目前尚未见关于水飞蓟素在重症急性胰腺炎肠道损伤中的相关研究. 研究显示, 急性胰腺炎的发生与信号通路有关, 目前发现的信号通路主要有PI3K/Akt、NF- κ B等^[5]. PI3K/Akt、NF- κ B均为在人体组织中具有强大生物学作用的信号转导通路, 与炎症、细胞凋亡等有关^[6,7]. 以前的研究认为, PI3K/Akt、NF- κ B在急性胰腺炎中过度激活, 而下调其激活水平能够减轻胰腺炎损伤^[8,9]. 本次实验构建重症急性胰腺炎大鼠模型, 研究水飞蓟素对重症急性胰腺炎大鼠肠道损伤以及PI3K/Akt、NF- κ B信号通路的影响, 为水飞蓟素治疗重症急性胰腺炎的临床应用提供理论基础.

1 材料和方法

1.1 材料 TUNEL法细胞凋亡检测试剂盒购自美国Promega; 体重220 g-240 g清洁级SD大鼠购自维通利华实验动物中心; 水飞蓟素购自大连美仑生物技术有限公司; TNF- α 含量检测试剂盒购自武汉艾美捷科技有限公司; IL-1 β 含量检测试剂盒购自美国Cayman Chemical; Bcl-2抗体(12789-1-AP)、PI3K抗体(20584-1-AP)购自美国Proteintech; p-PI3K抗体(17366)购自美国Cell Signaling Technology; Bax抗体(A1434)购自美国BioVision; NF- κ Bp65抗体(PA1-186)购自美国Invitrogen; p-Akt抗体(ab64148)、Akt抗体(ab8805)购自美国Abcam.

1.2 方法

1.2.1 模型构建及分组处理: 50只大鼠随机分成SAP、Experimental+L、Experimental+M、Experimental+H、Glutamine组, 每组10只. 大鼠造模成功以后2 h,

Experimental+L、Experimental+M、Experimental+H组腹腔注射60、120、240 mg/kg的水飞蓟素, Glutamine组腹腔注射1.5 g/kg谷氨酰胺. 选取10只大鼠为Control组, Control组大鼠仅切口并翻动十二指肠, 不注射药物. Control组、SAP组以等量的生理盐水代替水飞蓟素. 24 h以后, 采集标本. SAP组大鼠死亡3只, Experimental+L、Experimental+M组大鼠分别死亡2只、1只, Glutamine组大鼠死亡2只, 随机将各组大鼠淘汰, 使最终各组剩余7只. 大鼠造模方法如下: 在实验前所有大鼠均按照昼夜自然交替方法进行适应性喂养7 d, 不限制饮食和饮水. 重症急性胰腺炎大鼠模型构建方法如下: 以腹腔注射10%的水合氯醛将大鼠麻醉, 然后将麻醉以后的大鼠按照仰卧位固定至手术台, 将腹部的毛剪掉, 然后用碘伏消毒. 在大鼠的上腹部正中位置切开2-3 cm的切口, 将十二指肠取出, 找到胰胆管和肝门部的肝总管, 沿着胰胆管的方向, 用小动脉夹把胰胆管靠近肝门的位置夹闭, 避免给药的过程中药物反流. 在壶腹部观察到有一个能够延伸下来、呈现白色的胰胆管, 选择在壶腹部没有血管的区域, 直接穿刺胰胆管. 首先使用注射针头穿刺一个小孔, 然后用4.5号的头皮针插入胰胆管5 mm, 按照逆行的方向等量注射5%的牛磺胆酸(1 mL/kg), 将针头抽出, 使动脉夹继续夹闭5 min, 以食指和拇指将穿刺点捏紧5 min, 促进药物进入胰腺. 将动脉夹取掉, 复位肠管, 关闭腹腔. 取大鼠胰腺组织切片, HE染色观察, 并对胰腺病理学评分, 鉴定造模成功.

1.2.2 标本采集: 将大鼠麻醉以后, 心脏采血, 在室温中静置1 h以后, 以3000 g离心10 min, 收集上清, 用于1.4中检测. 取大鼠的回肠以及胰腺组织.

1.2.3 淀粉酶、脂肪酶和IL-1 β 、TNF- α 水平检测: 用全自动生化分析仪检测血清中淀粉酶、脂肪酶水平, 用ELISA法检测血清中IL-1 β 、TNF- α 含量, 操作步骤按照IL-1 β 含量检测试剂盒、TNF- α 含量检测试剂盒操作说明书进行.

1.2.4 胰腺病理评分和回肠病理评分: 取大鼠胰腺组织以及回肠组织, 用PBS洗涤以后, 在4%的多聚甲醛溶液中固定, 以浓度梯度酒精包埋, 组织切片机切片(厚度为4 μ m), 70 $^{\circ}$ C烤片30 min. 用透明剂I和II孵育5 min. 然后将切片放在100%、95%、80%、75%浓度的酒精溶液中浸泡45 s, 用水洗涤1 min. 苏木素染色2 min, 用水洗涤1 min. 用1%的盐酸乙醇分化, 1%的氨水显蓝. 加伊红复染60 s. 在浓度为75%、85%、95%的酒精中浸泡45 s, 透明剂I和II孵育1 min, 中性树脂封片. 在显微镜下观察切片, 参照文献^[10]进行胰腺病理评分和回肠病理评分.

1.2.5 Western blot检测Bcl-2、Bax、PI3K、p-PI3K、

表 1 各组大鼠死亡情况(mean ± SD)

分组	n	死亡	死亡率(%)
Control	10	0	0
SAP	10	3	30%
Experimental+L	10	2	20%
Experimental+M	10	1	10%
Experimental+H	10	0	0
Glutamine组	10	2	20%

Control组: 对照组; SAP: 重症急性胰腺炎模型组; Experimental+L组: 重症急性胰腺炎模型+60 mg/kg水飞蓟素治疗组; Experimental+M组: 重症急性胰腺炎模型+120 mg/kg水飞蓟素治疗组; Experimental+H组: 重症急性胰腺炎模型+240 mg/kg水飞蓟素治疗组。

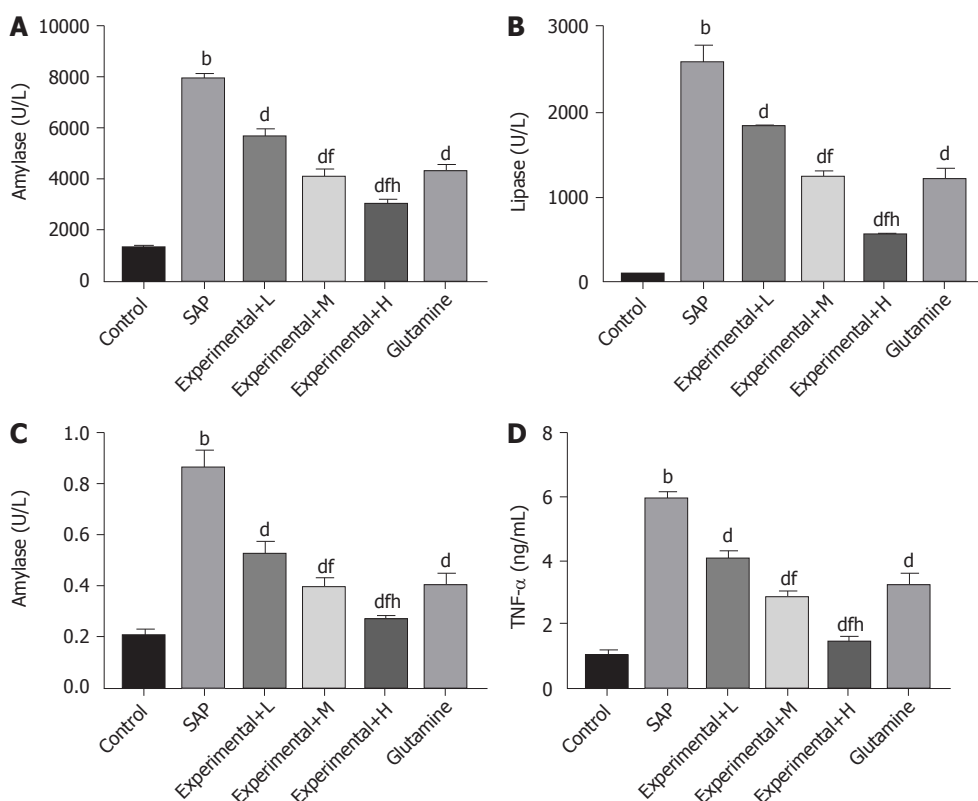


图 1 各组大鼠血清中淀粉酶、脂肪酶和IL-1β、TNF-α水平(mean ± SD)。A: 血清中淀粉酶水平; B: 血清中脂肪酶水平; C: 血清中IL-1β水平; D: 血清中TNF-α水平。与Control组比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$; 与SAP组比较, ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$; 与Experimental+L组比较, ^e $P < 0.05$, ^f $P < 0.01$; 与Experimental+M组比较, ^g $P < 0.05$, ^h $P < 0.01$ 。Control组: 对照组; SAP: 重症急性胰腺炎模型组; Experimental+L组: 重症急性胰腺炎模型+60 mg/kg水飞蓟素治疗组; Experimental+M组: 重症急性胰腺炎模型+120 mg/kg水飞蓟素治疗组; Experimental+H组: 重症急性胰腺炎模型+240 mg/kg水飞蓟素治疗组。

Akt、p-Akt、NF-κBp65蛋白表达: 取回肠组织, 用剪刀将组织块切碎, 添加已经预冷至0 °C的RIPA裂解溶液, 放在冰上裂解20 min, 然后以4 °C, 12000 g离心10 min。把上清溶液吸取到EP管内, 按照BCA方法检测蛋白的浓度。将玻璃板洗涤干净并固定, 然后制备10%的分离胶添加到玻璃槽内, 用去离子水将胶面覆盖, 在室温中固定40 min。然后制备5%的浓缩胶, 添加到胶板中, 将样品梳插入, 在室温中凝固40 min。将梳子拔

掉, 分别在上样孔内添加30 μg的蛋白样品, 蛋白样品在添加到上样孔之前, 需要和5×Loading Buffer混合煮沸5 min。在浓缩胶内采用80 V的电压电泳, 在分离胶中使用120 V的电压电泳, 等到染料进入到分离胶的底部以后, 停止电泳。将PVDF膜浸泡在甲醇中2 min, 然后转移到转膜缓冲液中备用。转膜装置放在冰上, 以130 mA的恒流转膜1.5 h。将PVDF膜取出, 放在封闭液(含有5%牛血清白蛋白的TBST)中, 转移到室温条

表 2 各组大鼠血清中淀粉酶、脂肪酶和IL-1β、TNF-α水平(mean ± SD)

分组	n	淀粉酶(U/L)	脂肪酶(U/L)	IL-1β (ng/mL)	TNF-α(ng/mL)
Control	7	1209.22 ± 197.02	290.30 ± 95.04	0.21 ± 0.09	1.13±0.13
SAP	7	8043.69 ± 198.64 ^b	2659.92 ± 340.42 ^b	0.86±0.12 ^b	6.09±0.21 ^b
Experimental+L	7	5788.30 ± 125.12 ^d	1884.03 ± 115.30 ^d	0.55±0.07 ^d	4.14±0.17 ^d
Experimental+M	7	4147.60 ± 100.94 ^{df}	1252.71 ± 100.12 ^{df}	0.38±0.06 ^{df}	3.58±0.22 ^{df}
Experimental+H	7	3004.81 ± 109.25 ^{dff}	451.46 ± 120.11 ^{dff}	0.31±0.07 ^{dffg}	1.36±0.15 ^{dffh}
Glutamine	7	4167.63 ± 110.45 ^d	1289.84 ± 130.15 ^d	0.39±0.10 ^d	3.62±0.15 ^d
F		1797.778	183.909	48.277	785.494
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

与Control组比较, ^aP<0.05, ^bP<0.01; 与SAP组比较, ^cP<0.05, ^dP<0.01; 与Experimental+L组比较, ^eP<0.05, ^fP<0.01; 与Experimental+M组比较, ^gP<0.05, ^hP<0.01. Control组: 对照组; SAP: 重症急性胰腺炎模型组; Experimental+L组: 重症急性胰腺炎模型+60 mg/kg水飞蓟素治疗组; Experimental+M组: 重症急性胰腺炎模型+120 mg/kg水飞蓟素治疗组; Experimental+H组: 重症急性胰腺炎模型+240 mg/kg水飞蓟素治疗组.

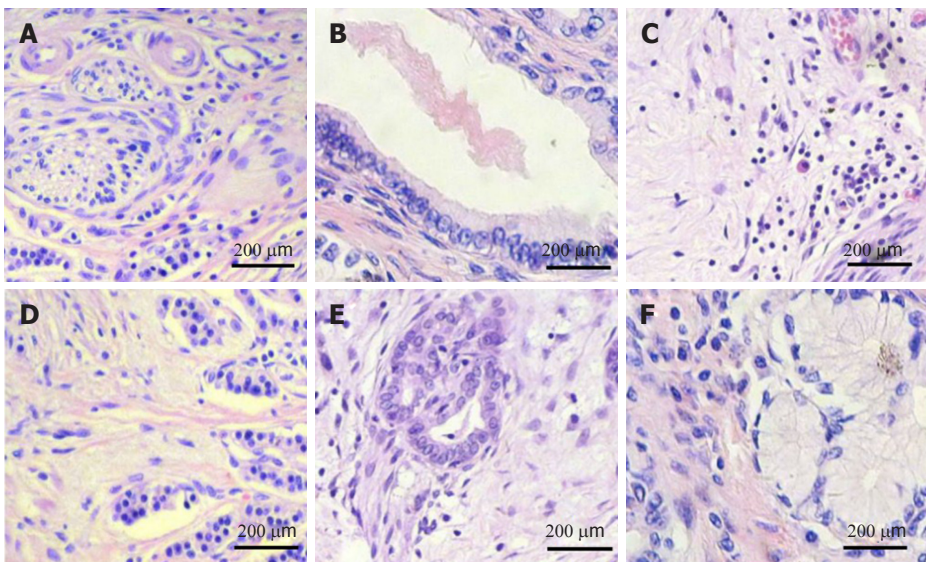


图 2 胰腺HE染色结果. A: Control: 对照组; B: SAP: 重症急性胰腺炎模型组; C: Experimental+L: 重症急性胰腺炎模型+60 mg/kg水飞蓟素治疗组; D: Experimental+M: 重症急性胰腺炎模型+120 mg/kg水飞蓟素治疗组; E: Experimental+H: 重症急性胰腺炎模型+240 mg/kg水飞蓟素治疗组; F: Glutamine.

件下孵育2 h. 然后将PVDF膜放在一抗溶液中, 在4 °C条件下过夜, 最后把PVDF膜放在二抗溶液中, 在室温中结合2 h. 用ELC方法显色. Image J分析条带的灰度值, 内参为GAPDH, 分析目的蛋白的表达变化. 二抗均按照1:4000稀释, Bcl-2、Bax、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、NF-κBp65一抗按照1:1000、1:1000、1:1000、1:600、1:1000、1:600、1:800稀释.

1.2.6 TUNEL法检测细胞凋亡指数: 取回肠石蜡切片, 用二甲苯浸泡5 min×2次, 然后用浓度梯度酒精水化, 4%的多聚甲醛固定, TUNEL染色, 肠上皮细胞核为棕色表示阳性, 在显微镜下选择5个视野, 计算细胞凋亡指数. 步骤完全按照TUNEL法细胞凋亡检测试剂盒说明书进行.

统计学处理 用SPSS 21.0软件分析实验数据, 数据用mean±SD表示, 两组数据间比较用t检验, 多组差异比较用单因素方差, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 水飞蓟素对重症急性胰腺炎大鼠死亡情况影响 结果见表1, SAP组大鼠死亡3只, Experimental+L、Experimental+M、Experimental+H组大鼠分别死亡2只、1只和0只.

2.2 水飞蓟素对重症急性胰腺炎大鼠血清中淀粉酶、脂肪酶和IL-1β、TNF-α含量影响 结果见图1及表2, SAP组大鼠血清中淀粉酶、脂肪酶以及IL-1β、TNF-α水平均高于Control组; 与SAP组比较, Experimental+L、

表 3 各组大鼠胰腺病理评分和回肠病理评分比较(mean ± SD)

分组	n	胰腺病理评分	回肠病理评分
Control	7	0.22 ± 0.02	0.30 ± 0.04
SAP	7	14.69 ± 1.64 ^b	5.92 ± 0.42 ^b
Experimental+L	7	10.30 ± 1.12 ^d	4.03 ± 0.30 ^d
Experimental+M	7	7.60 ± 0.94 ^{df}	2.71 ± 0.12 ^{df}
Experimental+H	7	4.81 ± 0.25 ^{dgh}	1.46 ± 0.11 ^{dgh}
Glutamine	7	7.63 ± 0.45 ^d	2.84 ± 0.15 ^d
F		255.124	650.043
P		<0.001	<0.001

与Control组比较, ^aP<0.05, ^bP<0.01; 与SAP组比较, ^cP<0.05, ^dP<0.01; 与Experimental+L组比较, ^eP<0.05, ^fP<0.01; 与Experimental+M组比较, ^gP<0.05, ^hP<0.01. Control组: 对照组; SAP: 重症急性胰腺炎模型组; Experimental+L组: 重症急性胰腺炎模型+60 mg/kg水飞蓟素治疗组; Experimental+M组: 重症急性胰腺炎模型+120 mg/kg水飞蓟素治疗组; Experimental+H组: 重症急性胰腺炎模型+240 mg/kg水飞蓟素治疗组.

表 4 各组大鼠肠黏膜细胞凋亡指数比较(mean ± SD)

分组	n	凋亡指数(%)
Control	7	8.26 ± 0.63
SAP	7	18.45 ± 1.36 ^b
Experimental+L	7	14.05 ± 1.14 ^d
Experimental+M	7	11.20 ± 0.85 ^{df}
Experimental+H	7	9.32 ± 0.78 ^{dgh}
Glutamine	7	11.58 ± 1.04 ^d
F		119.790
P		<0.001

与Control组比较, ^aP<0.05, ^bP<0.01; 与SAP组比较, ^cP<0.05, ^dP<0.01; 与Experimental+L组比较, ^eP<0.05, ^fP<0.01; 与Experimental+M组比较, ^gP<0.05, ^hP<0.01. Control组: 对照组; SAP: 重症急性胰腺炎模型组; Experimental+L组: 重症急性胰腺炎模型+60 mg/kg水飞蓟素治疗组; Experimental+M组: 重症急性胰腺炎模型+120 mg/kg水飞蓟素治疗组; Experimental+H组: 重症急性胰腺炎模型+240 mg/kg水飞蓟素治疗组.

Experimental+M、Experimental+H组大鼠血清中淀粉酶、脂肪酶以及IL-1β、TNF-α水平均逐渐降低, 不同剂量组间比较差异有统计学意义(P<0.05). 与SAP组比较, Glutamine组大鼠血清中淀粉酶、脂肪酶以及IL-1β、TNF-α水平均降低, 差异有统计学意义(P<0.05).

2.3 水飞蓟素对重症急性胰腺炎大鼠胰腺病理评分和回肠病理评分影响 结果见图2, 图3, 表3, SAP组大鼠胰腺病理评分和回肠病理评分均高于Control组; Experimental+L、Experimental+M、Experimental+H组大鼠胰腺病理评分和回肠病理评分均逐渐降低, 与SAP组比较, 差异有统计学意义(P<0.05), 且不同剂量组间比较差异有统计学意义(P<0.05). 与SAP组比较, Glutamine组大鼠胰腺病理评分和回肠病理评分均降低, 差异有统计学意义(P<0.05).

2.4 水飞蓟素对重症急性胰腺炎大鼠肠道组织中Bcl-

2、Bax蛋白表达以及肠黏膜细胞凋亡影响 结果见图4和表4, SAP组大鼠肠道组织中Bcl-2蛋白表达水平降低, Bax蛋白表达水平以及细胞凋亡指数均升高, 与Control组比较, 差异有统计学意义(P<0.05); Experimental+L、Experimental+M、Experimental+H组大鼠肠道组织中Bcl-2蛋白表达水平依次升高, Bax蛋白表达水平以及细胞凋亡指数均依次降低, 与SAP组比较, 差异有统计学意义(P<0.05), 且不同剂量组间比较差异有统计学意义(P<0.05). 与SAP组比较, Glutamine组大鼠肠道组织中Bcl-2蛋白表达水平升高, Bax蛋白表达水平以及细胞凋亡指数均降低, 差异有统计学意义(P<0.05).

2.5 水飞蓟素对重症急性胰腺炎大鼠肠道组织中PI3K/Akt和NF-κB信号通路激活水平影响 结果见图5, SAP组大鼠肠道组织中p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、NF-κBp65蛋白表达水平均升高, 与Control组比较, 差异有统计

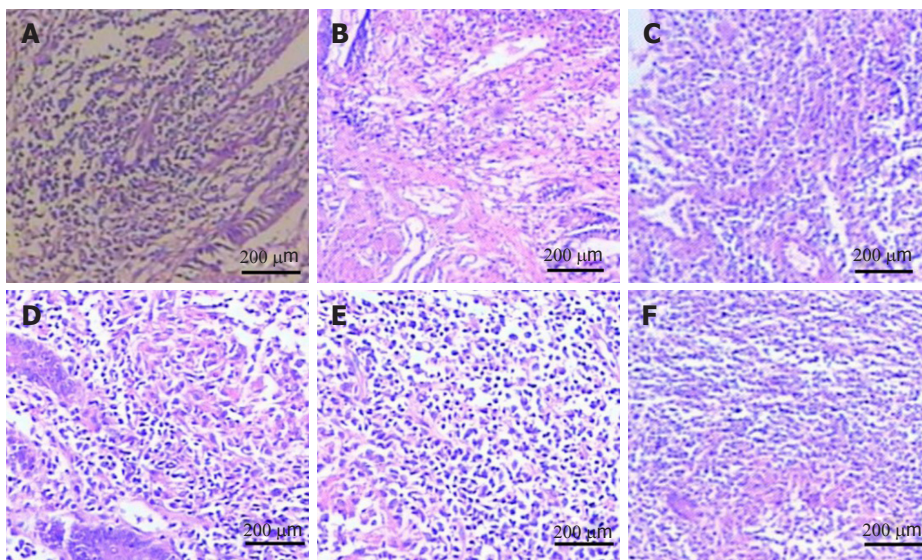


图 3 回肠HE染色结果. A: Control; B: SAP; C: Experimental+L; D: Experimental+M; E: Experimental+H; F: Glutamine. Control组: 对照组; SAP: 重症急性胰腺炎模型组; Experimental+L组: 重症急性胰腺炎模型+60 mg/kg水飞蓟素治疗组; Experimental+M组: 重症急性胰腺炎模型+120 mg/kg水飞蓟素治疗组; Experimental+H组: 重症急性胰腺炎模型+240 mg/kg水飞蓟素治疗组.

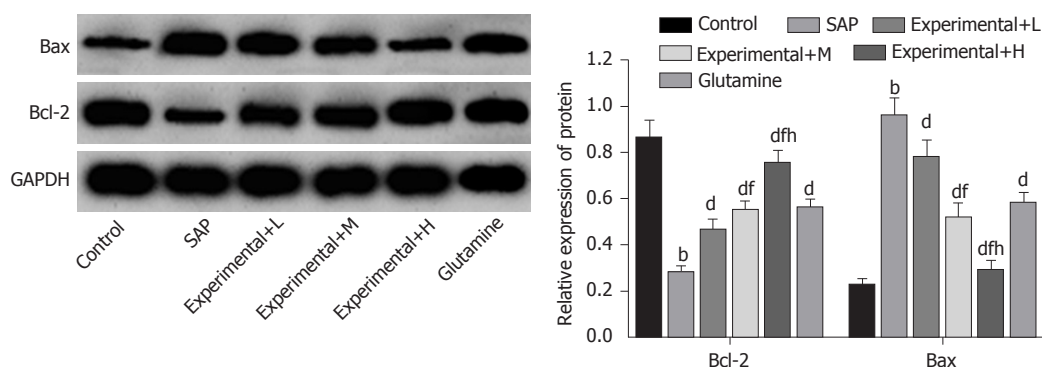


图 4 Western blot方法分析各组大鼠肠道组织中Bcl-2、Bax蛋白表达变化. A: Western blot检测结果; B: Bcl-2、Bax蛋白表达水平比较. 与Control组比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$; 与SAP组比较, ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$; 与Experimental+L组比较, ^e $P < 0.05$, ^f $P < 0.01$; 与Experimental+M组比较, ^g $P < 0.05$, ^h $P < 0.01$. Control组: 对照组; SAP: 重症急性胰腺炎模型组; Experimental+L组: 重症急性胰腺炎模型+60 mg/kg水飞蓟素治疗组; Experimental+M组: 重症急性胰腺炎模型+120 mg/kg水飞蓟素治疗组; Experimental+H组: 重症急性胰腺炎模型+240 mg/kg水飞蓟素治疗组.

学意义($P < 0.05$); Experimental+L、Experimental+M、Experimental+H组大鼠肠道组织中p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、NF-κBp65蛋白水平均依次降低, 与SAP组比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 且不同剂量组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$). 与SAP组比较, Glutamine组大鼠肠道组织中p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、NF-κBp65蛋白水平均降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$).

3 讨论

水飞蓟属于菊科草本植物, 其活性成分主要存在于种子内, 为水飞蓟素, 水飞蓟素有很多药理学作用, 如保肝、促进肝细胞修复、降血脂、抗肿瘤、抗血小板等^[11]. 近些年来, 有研究发现, 水飞蓟素治疗以后的急性胰腺炎大鼠的肺组织和胰腺组织损伤程度降低, 并且其可以抑

制NF-κB信号通路的激活^[4]. 胰腺炎是一个炎症性疾病, 机体内炎症水平与其造成的组织损伤密切相关^[12]. IL-1β、TNF-α为常见的促炎因子, 其表达水平升高以后, 机体炎症水平也升高^[13]. 本实验显示, 60、120、240 mg/kg的水飞蓟素处理以后的重症急性胰腺炎大鼠模型血清中淀粉酶、脂肪酶、IL-1β、TNF-α水平下降, 胰腺损伤程度降低, 回肠病理评分也降低, 水飞蓟素改善重症急性胰腺炎大鼠肠道损伤, 这与以前研究报道相一致, 说明在60-240 mg/kg剂量范围内, 水飞蓟素对急性胰腺炎有治疗作用.

重症急性胰腺炎发生过程中, 机体内过量的炎症介质能够造成肠道损伤, 影响肠黏膜正常功能^[14]. 研究显示^[15], 肠上皮细胞凋亡是引起肠黏膜损伤的关键. 细胞凋亡是一个复杂过程, 与细胞内多种基因、信号调控有

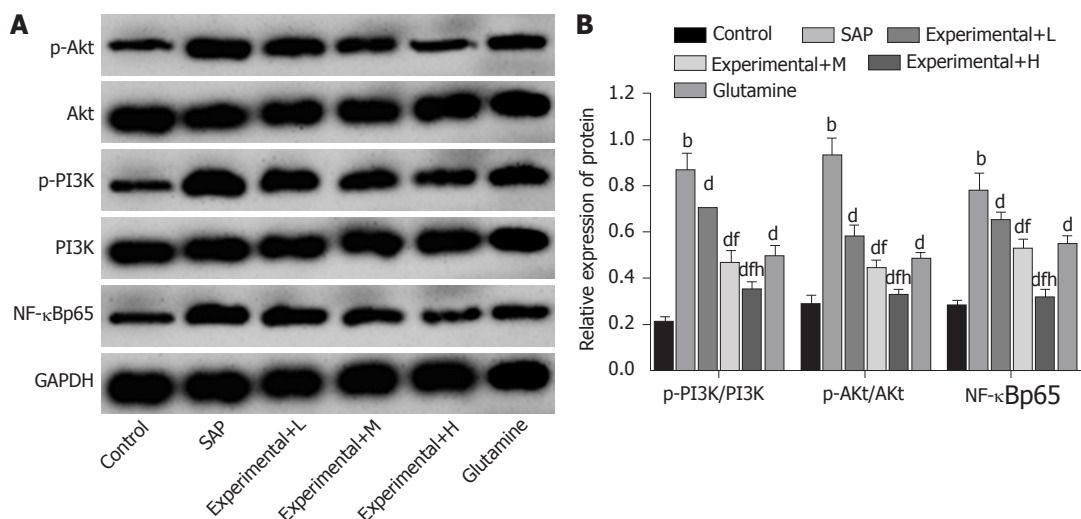


图 5 Western blot方法分析各组大鼠肠道组织中PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、NF-κBp65蛋白表达情况。A: Western blot检测结果; B: PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、NF-κBp65蛋白表达水平比较。与Control组比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$; 与SAP组比较, ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$; 与Experimental+L组比较, ^e $P < 0.05$, ^f $P < 0.01$; 与Experimental+M组比较, ^g $P < 0.05$, ^h $P < 0.01$ 。Control组: 对照组; SAP: 重症急性胰腺炎模型组; Experimental+L组: 重症急性胰腺炎模型+60 mg/kg水飞蓟素治疗组; Experimental+M组: 重症急性胰腺炎模型+120 mg/kg水飞蓟素治疗组; Experimental+H组: 重症急性胰腺炎模型+240 mg/kg水飞蓟素治疗组。

关, 而且这些因子通过相互作用, 共同影响细胞凋亡的命运^[16]。Bcl-2是一个和细胞凋亡关系十分密切的蛋白成员, 其包含有多个蛋白成员, 这些蛋白成员在细胞凋亡进展中分别发挥抑制作用和促进作用^[17]。Bax和Bcl-2均为Bcl-2蛋白家族成员, 但其在细胞凋亡进程中的作用相反^[18]。Bax是一个促凋亡蛋白, 在细胞凋亡进程中发挥激活作用, 而Bcl-2是一个抗凋亡蛋白, 在细胞凋亡进展中发挥削弱作用^[19]。本实验结果表明, 重症急性胰腺炎大鼠肠上皮细胞凋亡水平升高, 而60、120、240 mg/kg的水飞蓟素治疗以后的大鼠肠上皮细胞凋亡指数降低, 同时Bax蛋白表达减少, Bcl-2蛋白表达增加, 提示在60-240 mg/kg剂量范围内, 水飞蓟素抑制重症急性胰腺炎大鼠肠上皮细胞凋亡, 这可能是水飞蓟素抗重症急性胰腺炎大鼠肠道损伤的重要原因。

无论是在人体正常的生理过程还是在疾病进展中, 信号通路的作用十分关键, 并且信号通路还可能是疾病治疗的靶点^[20]。以前的研究发现, 水飞蓟素降低胰腺炎动物模型肺组织中NF-κB信号通路的激活水平^[4]。NF-κB信号通路是炎症反应的中心枢纽, 能够介导下游多个炎症因子的释放^[21]。另外, NF-κB还参与影响细胞凋亡进程, 是一个多功能信号通路^[22]。在急性胰腺炎中发现, NF-κB过度激活加重胰腺炎损伤, 而抑制NF-κB活化改善胰腺炎损伤^[5]。NF-κBp65是NF-κB信号的关键亚单位, 其表达高低与NF-κB激活程度有关。PI3K/Akt也是一个与急性胰腺炎有关的信号转导通路, PI3K/Akt信号抑制剂能够减弱重症急性胰腺炎肠道损伤^[23]。PI3K、Akt是PI3K/Akt信号通路的关键因子, 二者在正

常情况下以没有活性的形式存在, 只有磷酸化以后形成p-PI3K、p-Akt才可以发挥生物学功能^[24]。本实验发现, 重症急性胰腺炎大鼠肠组织中NF-κBp65、p-PI3K、p-Akt水平均升高, 而60、120、240 mg/kg的水飞蓟素能够呈浓度依赖性的减少NF-κBp65、p-PI3K、p-Akt蛋白表达, 这提示, 在60-240 mg/kg剂量范围内, 水飞蓟素改善重症急性胰腺炎大鼠肠损伤可能和PI3K/Akt、NF-κB信号通路有关。

4 结论

总而言之, 在60-240 mg/kg剂量范围内, 水飞蓟素能够改善重症急性胰腺炎大鼠肠损伤, 降低机体炎症水平, 减少肠上皮细胞凋亡, 作用机制可能和抑制PI3K/Akt、NF-κB信号激活有关, 这为水飞蓟素治疗重症急性胰腺炎提供了理论数据。目前对水飞蓟素通过何种机制影响PI3K/Akt、NF-κB信号进而参与重症急性胰腺炎肠道损伤还不清楚, 在以后实验中会进行探讨。

文章亮点

实验背景

重症急性胰腺炎常诱发机体的肠黏膜损伤导致病情加重, 危及患者生命。减轻肠粘膜损伤, 可加速患者康复。水飞蓟素对急性胰腺炎有治疗效果, 可减轻其急性胰腺炎大鼠模型肺组织损伤程度降低。

实验动机

本研究试图探讨水飞蓟素对重症急性胰腺炎大鼠肠道

损伤的改善作用及对PI3K/Akt和NF-κB信号通路的影响, 旨在为重症胰腺炎肠道损伤患者的更有效治疗提供有效的药物治疗。

实验目标

本研究旨在通过建立重症急性胰腺炎大鼠肠道损伤模型, 观察不同剂量水飞蓟素对肠道损伤的改善作用, 并分析其对PI3K/Akt和NF-κB信号通路相关蛋白的影响。

实验方法

本研究成功建立重症急性胰腺炎大鼠肠道损伤模型, 并给予60 m、120、240 mg/kg的水飞蓟素治疗, 观察大鼠死亡情况, 进行胰腺病理评分和回肠病理评分, 血清中淀粉酶、脂肪酶、IL-1β、TNF-α含量变化, 并采用Western blot检测回肠组织中Bcl-2、Bax、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、NF-κBp65蛋白的表达, TUNEL法检测回肠组织中细胞凋亡情况。

实验结果

本实验的结果是在给予水飞蓟素治疗后, 大鼠血清中淀粉酶、脂肪酶以及IL-1β、TNF-α、胰腺病理评分和回肠病理评分均逐渐降低, Bax、p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、NF-κBp65蛋白水平和细胞凋亡指数均逐渐降低, Bcl-2蛋白表达水平逐渐升高, 水飞蓟素改善了胰腺炎肠损伤情况, 达到了本实验的目的, 对该领域SAP肠损伤的发病进展机制及药物治疗又增加了相关的理论依据, 以后可以进一步在临床方面进行研究应用。

实验结论

水飞蓟素减轻重症急性胰腺炎大鼠肠道损伤, 减轻了肠道病理损伤, 抑制机体中IL-1β、TNF-α水平的升高, 其机制可能与降低Bax、p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、NF-κBp65蛋白水平, 升高Bcl-2蛋白表达水平, 减轻肠粘膜细胞的凋亡有关。

展望前景

只是在理论层面上对大鼠模型的研究, 到临床上的研究和应用还有一段距离, 还需进一步研究水飞蓟素对肠粘膜损伤的具体作用机制, 并进一步往临床方向进行相关研究。

5 参考文献

- 1 Trikudanathan G, Wolbrink DRJ, van Santvoort HC, Mallory S, Freeman M, Besselink MG. Current Concepts in Severe Acute and Necrotizing Pancreatitis: An Evidence-Based Approach. *Gastroenterology* 2019; 156: 1994-2007.e3 [PMID: 30776347 DOI: 10.1053/j.gastro.2019.01.269]
- 2 Lee PJ, Papachristou GI. New insights into acute pancreatitis.

- Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2019; 16: 479-496 [PMID: 31138897 DOI: 10.1038/s41575-019-0158-2]
- 3 刘立伟. 水飞蓟素的提取方法及药理活性研究进展. *河北北方学院学报(自然科学版)* 2019; 35: 51-56
- 4 陈彩云, 许秋霞, 张吟, 庄奕筠, 高雅莉. 水飞蓟素对急性胰腺炎大鼠急性肺损伤及MAPK/NF-κB信号通路的影响. *中国药理学通报* 2019; 35: 192-197 [DOI: 10.3969/j.jissn.1001-1978.2019.02.010]
- 5 Jin Y, Liu L, Chen B, Bai Y, Zhang F, Li Q, Lv C, Sun H, Li J, Rubby S, Yang L, Andersson R, Zhou M. Involvement of the PI3K/Akt/NF-κB Signaling Pathway in the Attenuation of Severe Acute Pancreatitis-Associated Acute Lung Injury by Sedum sarmentosum Bunge Extract. *Biomed Res Int* 2017; 2017: 9698410 [PMID: 29359164 DOI: 10.1155/2017/]
- 6 Qian YQ, Feng ZH, Li XB, Hu ZC, Xuan JW, Wang XY, Xu HC, Chen JX. Downregulating PI3K/Akt/NF-κB signaling with allicin for ameliorating the progression of osteoarthritis: in vitro and vivo studies. *Food Funct* 2018; 9: 4865-4875 [PMID: 30160278 DOI: 10.1039/c8fo01095a]
- 7 Mo XJ, Ye XZ, Li YP. Effects of euphorbia kansui on the serum levels of IL-6, TNF-α, NF-κB, sTNFR and IL-8 in patients with severe acute pancreatitis. *J Biol Regul Homeost Agents* 2019; 33: 469-475 [PMID: 30945511]
- 8 鲍海琴, 陈本启, 赵伟, 朱天红. 半夏泻心汤对重症急性胰腺炎大鼠肠道损伤的保护作用及肠组织p38MAPK/NF-κB表达的影响. *中国中医急症* 2019; 28: 1378-1382 [DOI: 10.3969/j.jissn.1004-745X.2019.08.016]
- 9 曾剑锋, 张文欣. 水飞蓟素临床应用的研究进展. *医学综述* 2015; 21: 112-114 [DOI: 10.3969/j.jissn.1006-2084.2015.01.044]
- 10 Xia S, Ni Y, Zhou Q, Liu H, Xiang H, Sui H, Shang D. Emodin Attenuates Severe Acute Pancreatitis via Antioxidant and Anti-inflammatory Activity. *Inflammation* 2019; 42: 2129-2138 [PMID: 31605249 DOI: 10.1007/s10753-019-01077-z]
- 11 Vasseur P, Devaure I, Sellier J, Delwail A, Chagneau-Derrode C, Charier F, Tougeron D, Tasu JP, Rabeony H, Lecron JC, Silvain C. High plasma levels of the pro-inflammatory cytokine IL-22 and the anti-inflammatory cytokines IL-10 and IL-1ra in acute pancreatitis. *Pancreatology* 2014; 14: 465-469 [PMID: 25240697 DOI: 10.1016/j.pan.2014.08.005]
- 12 Pan LY, Chen YF, Li HC, Bi LM, Sun WJ, Sun GF, Zhang XF, Xu K, Feng DX. Dachengqi Decoction Attenuates Intestinal Vascular Endothelial Injury in Severe Acute Pancreatitis in Vitro and in Vivo. *Cell Physiol Biochem* 2017; 44: 2395-2406 [PMID: 29262394 DOI: 10.1159/000486155]
- 13 You YD, Deng WH, Guo WY, Zhao L, Mei FC, Hong YP, Zhou Y, Yu J, Xu S, Wang WX. 4-Phenylbutyric Acid Attenuates Endoplasmic Reticulum Stress-Mediated Intestinal Epithelial Cell Apoptosis in Rats with Severe Acute Pancreatitis. *Dig Dis Sci* 2019; 64: 1535-1547 [PMID: 30607691 DOI: 10.1007/s10620-018-5437-1]
- 14 Chen X, Zhao HX, Fu XS, Li CP, Zhong XL. Glucagonlike peptide 2 protects intestinal barrier in severe acute pancreatitis through regulating intestinal epithelial cell proliferation and apoptosis. *Pancreas* 2012; 41: 1080-1085 [PMID: 22481288 DOI: 10.1097/MPA.0b013e31824966b0]
- 15 Ramesh P, Medema JP. BCL-2 family deregulation in colorectal cancer: potential for BH3 mimetics in therapy. *Apoptosis* 2020; 25: 305-320 [PMID: 32335811 DOI: 10.1007/s16.10495-020-01601-9]
- 16 Tan JH, Cao RC, Zhou L, Zhou ZT, Chen HJ, Xu J, Chen XM, Jin YC, Lin JY, Zeng JL, Li SJ, Luo M, Hu GD, Yang XB, Jin J, Zhang GW. ATF6 aggravates acinar cell apoptosis and injury by regulating p53/AIFM2 transcription in Severe Acute Pancreatitis. *Theranostics* 2020; 10: 8298-8314 [PMID: 32724472 DOI: 10.7150/thno.46934]
- 17 Otani S, Oami T, Yoseph BP, Klingensmith NJ, Chen CW, Liang

- Z, Coopersmith CM. Overexpression of BCL-2 in the Intestinal Epithelium Prevents Sepsis-Induced Gut Barrier Dysfunction via Altering Tight Junction Protein Expression. *Shock* 2020; 54: 330-336 [PMID: 31626040 DOI: 10.1097/SHK.0000000000001463]
- 18 Xiao Z, Liu L, Tao W, Pei X, Wang G, Wang M. Clostridium Tyrobutyricum Protect Intestinal Barrier Function from LPS-Induced Apoptosis via P38/JNK Signaling Pathway in IPEC-J2 Cells. *Cell Physiol Biochem* 2018; 46: 1779-1792 [PMID: 29705796 DOI: 10.1159/000489364]
- 19 Mulero MC, Wang VY, Huxford T, Ghosh G. Genome reading by the NF-κB transcription factors. *Nucleic Acids Res* 2019; 47: 9967-9989 [PMID: 31501881 DOI: 10.1093/nar/gkz739]
- 20 Choi M, Schreiber A, Eulenberg-Gustavus C, Scheidereit C, Kamps J, Kettritz R. Endothelial NF-κB Blockade Abrogates ANCA-Induced GN. *J Am Soc Nephrol* 2017; 28: 3191-3204 [PMID: 28687535 DOI: 10.1681/asn.2016060690]
- 21 Freitas RHCN, Fraga CAM. NF-κB-IKKβ Pathway as a Target for Drug Development: Realities, Challenges and Perspectives. *Curr Drug Targets* 2018; 19: 1933-1942 [PMID: 29468963 DOI: 10.2174/1389450119666180219120534]
- 22 Ju Hwang C, Choi DY, Park MH, Hong JT. NF-κB as a Key Mediator of Brain Inflammation in Alzheimer's Disease. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2019; 18: 3-10 [PMID: 28782486 DOI: 10.2174/1871527316666170807130011]
- 23 于杰. PI3K/AKT传导通路抑制剂Wortmanin在重症急性胰腺炎肠损伤中的作用及机制. 武汉大学 2015
- 24 Zhang W, Zhou Q, Wei Y, Da M, Zhang C, Zhong J, Liu J, Shen J. The exosome-mediated PI3k/Akt/mTOR signaling pathway in cervical cancer. *Int J Clin Exp Pathol* 2019; 12: 2474-2484 [PMID: 31934074]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 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,须经征得《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。

HSF1在食管鳞状细胞癌中表达及其与放化疗敏感性的关系

黄妹, 徐梦婷, 韩明, 王桂良, 陈旋, 文剑波

黄妹, 徐梦婷, 韩明, 王桂良, 陈旋, 萍乡市人民医院消化内科 江西省萍乡市 337000

文剑波, 萍乡市人民医院消化内科消化内科 江西省萍乡市 337000

黄妹, 南方医科大学在读研究生, 研究方向为食管癌发病机制及食管癌放射治疗。

作者贡献分布: 此课题由黄妹、韩明、王桂良及文剑波教授共同设计; 实验数据及临床数据由黄妹、徐梦婷、陈旋共同收集及整理; 后期数据整理及分析由黄妹在韩明、王桂良及文剑波教授共同指导下完成; 论文由黄妹完成; 后期由文剑波教授指导修改。

通讯作者: 文剑波, 本科, 教授, 主任医师, 337000, 江西省萍乡市安源区武功山中大道8号, 萍乡市人民医院消化内科, wenjbpx@126.com

收稿日期: 2021-03-15

修回日期: 2021-04-16

接受日期: 2021-05-25

在线出版日期: 2021-07-28

Relationship of expression of heat shock transcription factor 1 with sensitivity to radiotherapy and chemotherapy in esophageal squamous cell carcinoma

Mei Huang, Meng-Ting Xu, Gui-Liang Wang, Ming Han, Xuan Chen, Jian-Bo Wen

Mei Huang, Meng-Ting Xu, Gui-Liang Wang, Ming Han, Xuan Chen, Department of Gastroenterology, Pingxiang People's Hospital, Affiliated Hospital of Southern Medical University, Pingxiang 337000, Jiangxi Province, China

Corresponding author: Jian-Bo Wen, Bachelor, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Pingxiang People's Hospital, No. 8 Wugongshanzhong Avenue, Anyuan District, Pingxiang 337000, Jiangxi Province. wenjbpx@126.com

Received: 2021-03-15

Revised: 2021-04-16

Accepted: 2021-05-25

Published online: 2021-07-28

Abstract

BACKGROUND

The morbidity and mortality of esophageal cancer are extremely high all over the world, and the treatment effect is not good. As the pathogenesis of esophageal cancer is not yet fully understood, this is not conducive to the study of specific therapeutic drugs for esophageal cancer. Heat shock transcription factor 1 (HSF1) is closely related to the occurrence and development of a variety of malignant tumors. Is HSF1 also closely related to the occurrence and development of esophageal squamous cell carcinoma (ESCC)? Will HSF1 become a biological target for the treatment of ESCC? Different patients with advanced ESCC have different sensitivity to radiotherapy and chemotherapy. Studies have shown that in hepatocellular carcinoma, HSF1 can weaken the toxic effect of radiotherapy and chemotherapy on tumors and reduce the curative effect. Does HSF1 affect the sensitivity of ESCC to radiotherapy and chemotherapy?

AIM

To investigate the expression of HSF1 in ESCC and its effect on the sensitivity of ESCC to radiotherapy and chemotherapy.

METHODS

Ninety-two patients were divided into four groups: 20 stage I / II ESCC patients undergoing surgical resection, 18 stage III / II ESCC patients undergoing surgical resection, and 44 stage III / II ESCC patients undergoing radiotherapy and chemotherapy. Among the 44 stage III / II ESCC patients undergoing radiotherapy and chemotherapy, 16 had low HSF1 expression and 28 had high expression. Ten cases of esophageal dysplasia. Ten esophagitis tissues were used as a control group. The expression of HSF1 in each group was detected by immunohistochemistry. The changes of non-tumorous lesion size, tumor diameter, and CEA value were compared between the HSF1 low expression group and high expression group before and after radiotherapy

and chemotherapy to assess the sensitivity of patients to radiotherapy and chemotherapy. Factors that might affect the 3-year survival of ESCC patients were identified, and the 3-year overall survival rate of ESCC patients was calculated.

RESULTS

HSF1 was highly expressed in each ESCC group, but lowly expressed in esophagitis group and esophageal dysplasia group, and there was a significant difference in the expression of HSF1 between each ESCC group and esophagitis group and esophageal dysplasia group ($P = 0.001$). HSF1 expression was not significantly associated with age, gender, tumor location, tumor size, degree of differentiation, T stage, N stage, or M stage ($P > 0.05$). In the HSF1 low expression group, the non-tumor lesion was more significantly relieved, the tumor diameter was more significantly reduced, and the CEA value was more significantly decreased after radiotherapy and chemotherapy compared with those in the HSF1 high expression group ($P < 0.05$). In the ESCC surgical resection group, the 3-year survival period was significantly related to age ($P = 0.019$), HSF1 expression ($P = 0.028$), T stage ($P = 0.007$), and N stage ($P = 0.016$), but not related to gender, tumor location, tumor diameter, or degree of differentiation ($P > 0.05$). In stage III/II ESCC patients undergoing radiotherapy and chemotherapy, the HSF1 low expression group had a significantly higher 3-year overall survival rate than the HSF1 high expression group ($P = 0.016$). The 1-, 2-, and 3-year survival rates of the HSF1 low expression group were significantly higher than those of the HSF1 high expression group ($P < 0.05$). The HSF1 low expression group had a significantly higher 3-year overall survival rate than the HSF1 high expression group ($P = 0.03$).

CONCLUSION

HSF1 is highly expressed in ESCC and the higher the HSF1 expression, the worse the prognosis of patients. HSF1 expression is not related to patients' clinical characteristics. In stage III/IV ESCC patients receiving radiotherapy and chemotherapy, the higher the expression of HSF1, the worse the sensitivity of patients to radiotherapy and chemotherapy. In ESCC patients undergoing surgical resection and stage III/IV ESCC patients receiving radiotherapy and chemotherapy, the 3-year overall survival rate is higher in the HSF1 low expression group than in the HSF1 high expression group.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Heat shock transcription factor 1; Esophageal squamous cell carcinoma; Radiotherapy; Chemotherapy; Sensitivity

Citation: Huang M, Xu MT, Wang GL, Han M, Chen X, Wen JB. Relationship of expression of heat shock transcription factor 1 with sensitivity to radiotherapy and chemotherapy in esophageal

squamous cell carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(14): 775-787

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i14/775.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i14.775>

摘要

背景

食管癌发病率及死亡率在全世界都极高,且治疗效果不佳。由于目前对食管癌发病机制尚未完全清楚,这不利于食管癌特异性治疗药物的研究。通过阅读大量文献发现,热休克转录因子1(heat shock transcription factor 1, HSF1)与多种恶性肿瘤的发生发展密切相关,那么HSF1是否也与食管鳞状细胞癌的发生发展密切相关呢?HSF1是否会成为治疗食管鳞状细胞癌的生物靶标呢?在不同中晚期食管鳞状细胞癌患者中,不同患者对放化疗敏感度不一样,已有研究证明,在肝细胞癌中,HSF1会削弱放化疗对肿瘤的毒性作用从而降低疗效,那么HSF1是否会影响食管鳞状细胞癌对放化疗的敏感性呢?

目的

探究HSF1在食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)中表达情况及其表达程度对ESCC放化疗敏感性的影响。

方法

(1)将92例患者分成4组:ESCC I、II期手术切除组20例,ESCC III、IV期手术切除组18例,ESCC III、IV期放化疗组44例,其中ESCC III、IV期放化疗组分为HSF1低表达组16例和高表达组28例食管不典型增生组10例;对照组:食管炎症组10例;(2)取各组病理蜡块通过免疫组化及染色技术检测HSF1在各组表达情况;(3)通过ESCC III、IV期患者HSF1低表达组及高表达组的非肿瘤病灶大小、肿瘤直径及癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)值在放化疗前后的变化,评估患者对放化疗治疗敏感性;(4)分析影响ESCC手术患者3年生存期的相关因素及ESCC患者3年总体生存率。

结果

(1)HSF1在各ESCC组中高表达,在食管炎症组及食管不典型增生组中低表达,且各ESCC组与食管炎症组及食管不典型增生组的HSF1表达情况存在差异, $P = 0.001$,有统计学意义;HSF1表达与年龄、性别、肿瘤部位、肿瘤大小、分化程度、T分期、N分期、M分期无关, $P > 0.05$,均无统计学意义;(2)放化疗后,ESCC III、IV期放化疗组中HSF1低表达组与HSF1高表达组相比,非肿瘤病灶减少更多,肿瘤直径减小更大,CEA值下降更明显, $P < 0.005$,均有统计学意义;(3)在ESCC手术切除组中,3年生存期与年龄($P = 0.019$)、HSF1表达程度($P = 0.028$)、T分期($P = 0.007$)、N分期($P =$

0.016)有关, 均有统计学意义, 与性别、肿瘤部位、肿瘤大小、分化程度无关, $P>0.05$, 均无统计学意义; HSF1低表达组3年总体生存率比HSF1高表达组高, $P=0.016$, 有统计学意义; (4)在ESCC III、IV期放化疗组中, HSF1低表达组1年、2年及3年生存率均比HSF1高表达组高, $P<0.05$, 有统计学意义; HSF1低表达组3年总体生存率比HSF1高表达组高, $P=0.03$, 有统计学意义。

结论

(1)HSF1在ESCC中高表达且HSF1表达越高, 患者预后越差, 且HSF1表达与患者临床特征无关; (2)在ESCC III、IV期放化疗组中, HSF1表达越高, 患者对放化疗敏感性越差; (3)在ESCC手术切除组及ESCC III、IV期放化疗组中, HSF1低表达组3年总体生存率比HSF1高表达组高。

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 热休克转录因子1; 食管鳞状细胞癌; 放疗; 化疗; 敏感性

核心提要: 热休克转录因子1 (heat shock transcription factor 1, HSF1)可通过控制细胞代谢、调控各种影响细胞周期及生长的信号通路、促进增殖、浸润、迁移及抗细胞凋亡而控制肿瘤的发生发展, 在许多肿瘤中高表达。HSF1在食管鳞状细胞癌中也高表达。中晚期食管癌主要以放化疗治疗为主, 但不同患者对放化疗敏感性不同。放疗主要是促进凋亡, 化疗主要是抑制增殖而抑制肿瘤, 而HSF1可抑制凋亡及促进增殖从而促进肿瘤发生发展, 那么HSF1表达程度是否会影响放化疗敏感性呢?

文献来源: 黄妹, 徐梦婷, 韩明, 王桂良, 陈旋, 文剑波. HSF1在食管鳞状细胞癌中表达及其与放化疗敏感性的关系. 世界华人消化杂志 2021; 29(14): 775-787

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i14/775.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i14.775>

0 引言

食管癌是起源于食管鳞状细胞及柱状细胞的恶性肿瘤, 其中我国主要以鳞状细胞癌为主, 占90%以上, 而美国和欧洲主要以腺癌为主, 占70%左右^[1]。食管癌是严重威胁人类健康及生命的疾病, 在全球发生率位居第七, 死亡率位居第六^[2]。由于食管癌早期症状不明显及缺乏早期筛查的方法, 一般诊断食管癌时都已是中晚期^[3]。尽管目前治疗方法较前明显提高, 但由于中晚期食管癌的浸润、转移及高复发率, 其5年生存率低于20%, 预后仍然较差^[4]。但到目前为止食管癌发生的分子机制尚未完全

清楚。

热休克转录因子1 (heat shock transcription factor 1, HSF1)是热休克转录因子(HSFs) DNA结合蛋白家族中的一员, 是热应激调节基因的直接转录激活因子, 可通过识别热休克原件的简单启动子结合位点, 编码热休克蛋白, 协助机体应对导致蛋白错误折叠的各种应激, 如休克、中毒、缺氧、辐射等^[5]。在正常组织中HSF1可协助机体度过各种外界应激而存活。但在癌症组织中, HSF1可促进癌细胞的增值、浸润、转移及抑制凋亡, 从而促进肿瘤的生长^[6]。由于HSF1在肿瘤发生和肿瘤进展中的重要性, 靶向转录因子已被越来越多地接受。由于缺乏抑制HSF1转录活性的有效和特异性药物, 靶向HSF1仍处于临床前测试阶段。

目前对于中晚期食管鳞状细胞癌出现食管狭窄而丧失手术机会的患者, 局部放疗、化疗及支架姑息治疗是首选^[7]。在临床治疗中发现, 不同的食管鳞状细胞癌患者对放化疗的敏感度不同, 实验研究发现HSF1在不同食管鳞状细胞癌患者中表达也不同。那么HSF1的表达程度是否会影响食管鳞状细胞癌放化疗敏感性呢? 目前国内外对此研究甚少。本研究目的是要探究: 食管鳞状细胞癌中HSF1表达情况及其对放化疗敏感性是否有影响? 这既为研究食管鳞状细胞癌的靶向治疗提供了方向, 又为临床评估食管鳞状细胞癌放化疗疗效及选择治疗方案提供临床参考意义。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 标本入选标准: 观察组: 萍乡市人民医院2013-01-01/2018-01-30日食管鳞状细胞癌患者病理蜡块。食管癌患者符合2018年版食管癌诊断标准, 符合以下要求: (1)病理确诊为食管鳞状细胞癌患者; (2)年龄为18岁-75岁; (3)确诊为食管鳞状细胞癌 I、II期, 行手术治疗、术前未行放化疗治疗而术后行化疗的患者; (4)确诊为食管鳞状细胞癌III、IV期, 行手术治疗、术前未行放化疗治疗而术后行化疗的患者; (5)确诊为食管鳞状细胞癌III、IV期, 接受三维适形放疗及化疗而不手术治疗的患者; (6)病理确诊为食管不典型增生的患者”。[纳入患者符合条件(1)和(2)和(3)或(4)或(5)或(6)其中一项]; 对照组: 病理确诊为食管炎症患者。

1.1.2 标本排除标准: (1)病理类型是非食管鳞状细胞癌患者; (2)接受手术治疗, 术前行放化疗治疗或术后未行化疗治疗的食管鳞状细胞癌患者; (3)确诊食管鳞状细胞癌 I、II期而未行手术治疗患者; (4)确诊为食管鳞状细胞癌III、IV期, 接受三维适形放疗及化疗后手术治疗的; (5)确诊为食管鳞状细胞癌III、IV期,

接受非三维适形放疗患者; (6)有影响患者寿命的基础疾病, 如心衰、肺心病、肾衰、肝硬化、脑梗死等; (7)不是因为食管癌死亡的食管鳞状细胞癌患者。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学检测^[8]: 操作步骤: (1)抗原/切片的准备: 切片厚度3 μm , 60-65 $^{\circ}\text{C}$ 烤片4 h, 备用; (2)切片脱蜡, 水化: 依次为二甲苯 I \rightarrow 二甲苯 II \rightarrow 无水乙醇 I \rightarrow 无水乙醇 II \rightarrow 95%乙醇 \rightarrow 90%乙醇 \rightarrow 85%乙醇 \rightarrow 75%乙醇各10 min; (3)1 \times PBS缓冲液(pH7.2)洗涤切片3 \times 5 min; (4)石蜡切片组织抗原修复, 高压修复方式, 在高压锅喷气后开始计时, 时间2 min; (5)每张切片加1滴(50 μL)过氧化物酶阻断溶液, 以阻断内源性过氧化物酶的活性, 室温下孵育10 min; (6)PBS冲洗3 \times 3 min; (7)甩去PBS液, 每张切片加1滴(50 μL)的非免疫性动物血清, 室温下孵育10 min; (8)甩去血清, 每张切片加1滴第一抗体(sp9000, 羊抗鼠/兔, 兔抗稀释1:250, ab52757, Abcam), 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜; (9)PBS冲洗3 \times 5 min; (10)甩去PBS液, 每张切片加1滴或50 μL 生物素标记的第二抗体(DAB显色试剂: 试剂B底物 H_2O_2 (20x) 15 mL), 室温下孵育10 min; (11)PBS冲洗3 \times 3 min; (12)甩去PBS液, 每张切片加1滴或50 μL 链霉菌抗生物素-过氧化物酶溶液(DAB显色试剂: 试剂底物C: DAB显色剂(20x) 15 mL), 室温下孵育10 min; (13)PBS冲洗3 \times 3 min; (14)甩去PBS液, 每张切片加1-2滴新鲜配制的DAB, 显微镜下观察3-10 min, 阳性显色为棕色或黄色; (15)自来水冲洗, 苏木素复染, 自来水冲洗10-15 min; (16)切片经过梯度酒精脱水干燥, 中性树胶封固; (17)每张片子在200倍镜下和400倍镜下各采一张图; (18)染色结果: 细胞浆呈现黄色或棕色部位是阳性结果。(DAB显色试剂资料: 产品编号Cat.No: DAB-0031/1031, 适用范围: 本试剂盒适用于辣根过氧化物酶(HRP)系统的免疫组化染色如PAP、ABC和SP等。产品形式: 液体。含A: 缓冲液(20x) 15 mL; B: 底物 H_2O_2 (20x) 15 mL; C: DAB显色剂(20x) 15 mL。

1.2.2 HSF1表达程度判读方法: (1)HSF1定性分析: 以染色阳性细胞率及强度判断HSF1表达程度^[9]。两名对临床病理学信息不了解的独立观察员通过评估: a: 阳性染色细胞的比例(0分, <5%; 1分, 6%-25%; 2分, 26%-50%; 3分, 51%-75%; 4分, >75%)。b: 染色强度(0分, 阴性染色; 1分, 仅细胞质染色; 2分, 低核染色; 3分, 强核染色)。分数是a \times b的乘积。HSF1高表达组: 肿瘤细胞中a \times b \geq 7分; HSF1低表达组: 肿瘤细胞中a \times b < 7分。(2)HSF1半定量分析: 平均光密度值及平均灰度值^[10]。通过软件(motic 1.0)对图片的总区域亮度进行数据分析, 测得每张图片平均光密度值及平均灰度值。光密度

是染色图片中所有黄色像素点的强度值全部累加起来得到的值, 用得到的光密度值除以图片面积则是平均光密度值; 灰度是用来表示数字图像中像素颜色深浅的程度。从最黑到最亮共分为256个灰度级, 最小值为0, 在图像显示屏上为最黑点; 最大值为255, 在图像显示屏上为最亮点。灰度值越小物体颜色越深。平均灰度值是多次测得同张图片灰度值后求平均值。光密度与平均灰度都能通过目标颜色的深浅程度而测量物质的含量。

1.2.3 三维适形放射治疗^[11]: (1)三维适形放射治疗过程及方法: 患者实施仰卧位真空负压袋固定, 做好体表标记。口服钡粥, 通过螺旋CT扫描, 层厚为3-5 mm, 对患者的全肺以及肿瘤部位加扫10层。由2位资深肿瘤临床医师及1名影像学技师共同勾画肿瘤靶区、临床靶区、计划靶区以及危及器官。肿瘤靶区总剂量为63 Gy, 2.1 Gy/次, 临床靶区总剂量为54 Gy, 1.8 Gy/次5次/周, 通常需要6 wk左右完成; (2)判断标准: 完全缓解、部分缓解、无变化、进展, 有效率 = (完全缓解例数 + 部分缓解例数) / 总例数 \times 100%。

RECIST(2000版)疗效判断标准: 靶病灶评价: (1)完全缓解: 所有靶病灶消失; (2)部分缓解: 靶病灶最长径之和与基线状态病灶比较, 至少减少30%; (3)病变稳定: 介于部分缓解及疾病进展之间; (4)病变进展: 靶病灶最长径之和与治疗开始之后所记录的最小靶病灶最长径之和比较, 增加20%, 或出现一个或多个新病灶。非靶病灶评价: (1)完全缓解: 所有非靶病灶消失和肿瘤标志物恢复正常; (2)未完全缓解/稳定: 存在一个或多个非靶病灶和/或肿瘤标志物持续高于正常值; (3)病变进展: 出现一个或多个新病灶或已有的非靶病灶明确进展。

1.2.4 随访: 采用电话和门诊途径随访, 随访时间截止2021-01-30, 失访病例15例。放疗后随访: 所有患者行同步放化疗治疗6 wk。完成放化疗治疗疗程后第30 d复查CT、消化道钡餐造影、超声、胃镜、肿瘤标志物, 评估食管鳞状细胞癌患者肿瘤直径大小、非靶病灶变化(淋巴结大小及数量变化、转移病灶大小和病灶数量变化)及肿瘤标志物如癌胚抗原(CEA)数值的变化。

统计患者生存时间: 从确诊为食管鳞状细胞癌日期到死亡或是最后一次随访的时间。

统计学处理 使用SPSS 22进行统计学分析, 数据均数以mean \pm SD表示; 组间比较: 经方差齐性检验后, 若方差齐, 两组间用t检验, 两组间以上比较用单因素方差分析; 若方差不齐, 则使用非参数检验; 计数资料采用 χ^2 检验及Fisher确切概率法验证两组间的差异; 等级资料采用非参数检验; 使用Kaplan-Meier法统计食管鳞状细胞癌患者总体生存期, 并用Log-rank法检验

表 1 不同组热休克转录因子1表达情况

组别	n (人数)	HSF1表达		χ^2 值	P值
		高表达	低表达		
食管炎症组织组	10	1	9	19.07	0.001
食管不典型增生组	10	2	8		
食管鳞状细胞癌 I、II 期手术切除组	20	13	7		
食管鳞状细胞癌 III、IV 期手术切除组	18	14	4		
食管鳞状细胞癌 III、IV 期放化疗组	44	28	16		

HSF1: 热休克转录因子1.

表 2 不同组平均光密度值及平均灰度值

组别	平均光密度值	平均灰度值	F1值, P1值	F2值, P2值
食管炎症组织组	0.0910 ± 0.0055	206.65 ± 2.65	13.092, <0.001	16.977, <0.001
食管不典型增生组	0.1173 ± 0.0100	198.41 ± 2.43		
食管鳞状细胞癌 I、II 期手术切除组	0.1528 ± 0.0056	180.03 ± 2.43		
食管鳞状细胞癌 III、IV 期组	0.1553 ± 0.0048	179.11 ± 1.91		

F1值, P1值代表不同组之间平均光密度值的差异; F2值, P2值代表不同组之间平均灰度值的差异.

不同组间生存率的差异; 统计值 $P < 0.05$ 有统计学意义.

2 结果

2.1 食管鳞状细胞癌与HSF1的表达

2.1.1 各组HSF1的表达情况: 于病理科获取食管炎症组织组、食管不典型增生组、食管鳞状细胞癌 I、II 期手术切除组、食管鳞状细胞癌 III、IV 期手术切除组及食管鳞状细胞癌 III、IV 期放化疗组的病理蜡块, 通过免疫组化技术, 检测各组HSF1的表达情况.

5组间HSF1表达存在差异, $\chi^2 = 19.07$, $P = 0.001$, 有统计学意义, 详见表1; 其中, 食管炎症组HSF1的表达与食管不典型增生组HSF1的表达无差异, $P = 1.0$, 无统计学意义; 各食管鳞状细胞癌组间HSF1的表达无差异, $P > 0.05$, 均无统计学意义. 食管炎症组及食管不典型增生组HSF1的表达分别与各食管鳞状细胞癌组HSF1的表达有差异, $P < 0.05$, 均有统计学意义. 食管鳞状细胞癌HSF1低表达及病理见图1与图2; 食管鳞状细胞癌HSF1高表达及病理见图3与图4.

2.1.2 不同组平均光密度值及平均灰度值: 通过平均光密度值及平均灰度值半定量分析所有组的HSF1表达情况, 得出结果如下: 不同组平均光密度值有差异, $F = 13.092$, $P < 0.001$, 有统计学意义; 不同组平均灰度值有差异, $F = 16.977$, $P < 0.001$, 有统计学意义. 在不同组间,

食管炎症组织组与食管不典型增生组平均光密度值及平均灰度值无差异, $P > 0.05$, 均无统计学意义. 各食管鳞状细胞癌组间平均光密度值及平均灰度值无差异, $P > 0.05$, 均无统计学意义; 食管炎症组织组及食管不典型增生组分别与各食管鳞状细胞癌组平均光密度值及平均灰度值有差异, $P < 0.05$, 均有统计学意义. HSF1高表达组平均光密度值及平均灰度值与HSF1低表达组有差异, $P < 0.001$, 均有统计学意义, 具体详见表2.

2.1.3 HSF1表达与食管鳞状细胞癌患者临床特征的关系: 在食管鳞状细胞癌患者中, HSF1表达情况与年龄、性别、肿瘤部位、肿瘤大小、分化程、T分期、N分期、M分期无关, 所有 $P > 0.05$, 均无统计学意义. HSF1高表达组平均年龄为64.7岁 ± 9.0岁, HSF1低表达组平均年龄为64.5岁 ± 8.7岁; HSF1高表达组平均肿瘤直径大小为5.02 cm ± 1.53 cm, HSF1低表达组平均肿瘤直径大小为5.27 cm ± 1.32 cm; 具体详见表3.

2.2 HSF1与食管鳞状细胞癌放化疗敏感度的关系

2.2.1 放化疗前后肿瘤直径及肿瘤标志物CEA数值变化: 统计食管鳞状细胞癌 III、IV 期放化疗组中HSF1低表达组及HSF1高表达组放化疗前后肿瘤直径及肿瘤标志物CEA数值变化, 结果显示: (1)放化疗前, HSF1低表达组及HSF1高表达组肿瘤直径无明显差异, $t = 0.148$, $P = 0.883$, 无统计学意义. 放化疗后, HSF1低表

表 3 食管鳞状细胞癌患者临床特征与热休克转录因子1表达的关系

临床特征	n (人数)	HSF1表达		χ^2 值	P值
		高(n)	低(n)		
性别					
男	58	38	20	0.217	0.641
女	24	17	7		
年龄					
≤60岁	26	17	9	0.004	0.951
>60岁	56	37	19		
部位					
近端	17	10	7	0.324	0.85
中间	33	22	11		
远端	32	21	11		
肿瘤直径大小					
≤5cm	49	35	14	0.553	0.457
>5cm	33	21	12		
分化程度					
高	18	11	7	0.646	0.886
中	38	26	12		
低	15	11	4		
未	11	7	4		
T分期					
1	1	1	0	6.098	0.107
2	22	14	8		
3	37	21	16		
4	22	19	3		
N分期					
0	38	29	9	2.739	0.098
1、2、3	44	26	18		
M分期					
0	77	51	26	Fisher's值	1
1	5	1	4		

HSF1: 热休克转录因子1.

达组肿瘤直径比HSF1高表达组减小更明显, $t = 3.095$, $P = 0.003$, 有统计学意义. HSF1低表达组及HSF1高表达组放化疗前后肿瘤直径大小均存在明显差异, $P < 0.05$, 均有统计学意义; (2)放化疗前, HSF1高表达组CEA值比HSF1低表达组高, $t = 3.794$, $P < 0.001$, 有统计学意义. 放化疗后, HSF1低表达组CEA值比HSF1高表达组下降更明显, $t = 3.787$, $P < 0.001$, 有统计学意义. HSF1低表达组放化疗前后CEA数值明显下降, $t = 3.324$, $P = 0.006$, 有统计学意义. HSF1高表达组放化疗前后CEA数值不下降, $t = 0.808$, $P = 0.426$, 无统计学意义, 具体详见表4.

2.2.2 放化疗后, III、IV期食管鳞状细胞癌患者获益情况: 食管鳞状细胞癌III、IV期放化疗组中分成HSF1低表达组及HSF1高表达组, 统计两组中患者放化疗后非

肿瘤病灶(淋巴结大小及数量, 转移灶大小及数量)的变化情况, 以评估患者接受放化疗后获益情况. 患者获益分为缓解(完全缓解及部分缓解)及稳定, 进展则视为不受益. 在放化疗后, HSF1低表达组的患者获益比HSF1高表达组的更明显, $\chi^2 = 6.946$, $P = 0.031$, 有统计学意义, 具体详见表5.

2.2.3 HSF1表达程度与食管鳞状细胞癌放化疗的敏感度关系: 统计食管鳞状细胞癌III、IV期放化疗组中HSF1低表达组及HSF1高表达组放化疗敏感度关系, 结果显示: HSF1低表达组比HSF1高表达组对放化疗更敏感, Fisher'值: $P = 0.005$, 有统计学意义. 具体详见表6.

2.3 食管鳞状细胞癌患者3年生存期

2.3.1 食管鳞状细胞癌手术切除患者3年生存期与各临

表 4 食管鳞状细胞癌III、IV期患者放化疗前后肿瘤直径及CEA数值变化

相关指标	低表达组	高表达组	^a t值, ^a P值	^b t值, ^b P值	^c t值, ^c P值
放疗前肿瘤直径(cm)	5.5 ± 0.3	5.6 ± 0.2	0.148, 0.883	6.899, <0.001	3.656, 0.001
放疗后肿瘤直径(cm)	3.03 ± 0.4	4.5 ± 0.3	3.095, 0.003		
放疗前CEA值(ng/mL)	5.15 ± 0.86	11.29 ± 1.12	3.794, <0.001	3.324, 0.006	0.808, 0.426
放疗后CEA值(ng/mL)	3.18 ± 0.59	12.31 ± 1.78	3.787, <0.001		

^at值, ^aP值为热休克转录因子1(heat shock transcription fact 1, HSF1)低表达组及HSF1高表达组之间差异值; ^bt值, ^bP值为HSF1低表达组放疗前及放疗后之间差异值; ^ct值, ^cP值为HSF1高表达组放疗前及放疗后之间差异值。

表 5 放化疗后III、IV期食管鳞状细胞癌患者获益情况

组别	n	非肿瘤病灶的变化			χ^2 值	P值
		缓解	稳定	进展		
HSF1低表达组	16	11	2	3	6.949	0.031
HSF1高表达组	28	8	11	9		

缓解包括完全缓解及部分缓解。

表 6 热休克转录因子1与III、IV期食管鳞状细胞癌放化疗敏感度的关系

组别	n	非肿瘤病灶的变化			χ^2 值	P值
		缓解	稳定	进展		
HSF1低表达组	16	11	2	3	6.949	0.031
HSF1高表达组	28	8	11	9		

HSF1: 热休克转录因子1。

床特征的关系: 统计食管癌手术切除(即第3组及第4组)患者临床相关特征, 结果显示: 食管癌手术切除患者3年生存期与年龄、HSF1表达程度、N分期及T分期有关, 所有 $P < 0.05$, 均有统计学意义, 且年龄越大、HSF1表达程度越高、N分期及T分期越高, 患者3年生存期越低。患者3年生存期与性别、肿瘤部位、肿瘤大小及分化程度无关, 所有 $P > 0.05$, 均无统计学意义。具体详见表7。

2.3.2 食管鳞状细胞癌手术切除组患者3年总体生存率: 通过kaplan-meier法及Log-rank法检验食管鳞状细胞癌手术切除组患者中HSF1低表达组与HSF1高表达组3年总体生存率的差异。结果显示: (1)所有食管鳞状细胞癌手术切除组患者3年总体生存率为33.3%, 平均生存时间为38.0 mo ± 2.7 mo, 95%可信区间[32.6, 43.3], 中位生存时间为31.0 mo ± 3.9 mo, 95%可信区间[23.5, 38.6]; (2)食管鳞状细胞癌手术切除组患者中HSF1低表达组3年总体生存率比HSF1高表达组3年总体生存率高 $\chi^2 = 5.851, P = 0.016$, 有统计学意义, 具体见图5及

图6。

2.3.3 食管鳞状细胞癌III、IV期放化疗患者3年总体生存率: 通过kaplan-meier法对食管鳞状细胞癌III、IV期放化疗患者进行3年总体生存率分析, 结果显示: (1)食管鳞状细胞癌III、IV期放化疗患者1年生存率为67.7%、2年生存率为27.4%、3年生存率为6.5%; 食管鳞状细胞癌III、IV期放化疗患者平均生存时间为17.9 mo ± 1.1 mo, 95%可信区间[15.7, 20.1]; 食管鳞状细胞癌III、IV期放化疗患者中位生存时间为16.0 mo ± 0.7 mo, 95%可信区间[14.6, 17.4]。

通过kaplan-meier法及Log-rank法检验食管鳞状细胞癌III、IV期放化疗患者中HSF1低表达组与HSF1高表达组之间3年总体生存率的差异。结果显示: (1)在食管鳞状细胞癌III、IV期放化疗患者中, HSF1低表达组1年、2年及3年的总体生存率比HSF1高表达组高, $P < 0.05$, 有统计学意义, 具体详见表8; (2)食管鳞状细胞癌III、IV期放化疗患者中HSF1低表达组3年总体生存率比HSF1高表达组3年总体生存率高, $\chi^2 = 4.692, P = 0.03$, 有统计学

表 7 食管鳞状细胞癌手术切除患者3年生存期与各临床特征的关系

临床特征	总人数 (N)	3年存活情况		χ^2 值	P值
		存活(N)	死亡(N)		
年龄					
≤60岁	15	11	4	Fisher's值	0.019
>60岁	23	7	16		
性别					
男性	32	13	19	Fisher's值	0.682
女性	6	3	3		
肿瘤部位					
近端	8	2	6	1.336	0.513
中段	16	7	9		
远端	14	7	7		
肿瘤大小					
≤5 cm	26	12	14	Fisher's值	0.504
>5 cm	12	4	8		
分化程度					
高分化	13	7	6	Fisher's值	0.373
中分化	16	7	9		
低分化	3	0	3		
未分化	6	2	4		
HSF1表达程度					
高表达	27	8	19	Fisher's值	0.028
低表达	11	8	3		
N分期					
N0	24	14	10	Fisher's值	0.016
N1、2、3	14	2	12		
T分期					
T1	1	0	1	12.223	0.007
T2	22	15	7		
T3	5	0	5		
T4	10	2	8		

HSF1: 热休克转录因子1.

表 8 食管鳞状细胞癌III、IV期放化疗患者3年总体生存率、平均生存期及中位生存期

组别	生存率(%)			平均生存期(mo)	95%可信区间	中位生存期(mo)	95%可信区间
	1年	2年	3年				
低表达组	76.2	42.9	9.5	21.3 ± 2.2	[17.4, 25.4]	19.0 ± 1.1	[16.8, 21.2]
高表达组	63.4 ^a	19.5 ^a	4.9 ^a	16.1 ± 1.2	[13.7, 18.5]	15.0 ± 1.3	[12.4, 17.6]
总和	67.7	27.4	6.5	17.9 ± 1.1	[15.7, 20.1]	16.0 ± 0.7	[14.6, 17.4]

^a表示热休克转录因子1 (heat shock transcription fact 1, HSF1)低表达组1年、2年及3年生存率均比HSF1高表达组高, $P < 0.05$.

意义, 具体详见图7、图8.

3 讨论

3.1 食管鳞状细胞癌发病机制与HSF1的关系 目前研

究发现miRNA (微小RNA)、lncRNA (长非编码RNA) 与食管鳞状细胞癌的发生密切相关, 而HSF1却可调控miRNA及lncRNA, 说明HSF1与食管鳞状细胞癌的发生有着某种联系. miRNA由20-24个核苷酸组成, 在许多与

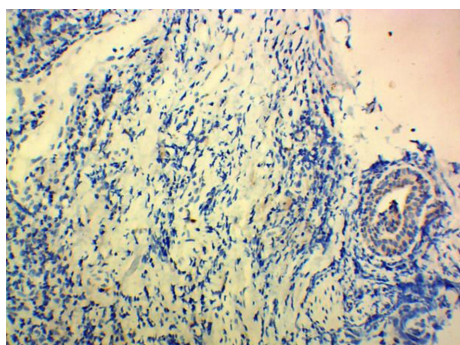


图 1 食管鳞状细胞癌组织中热休克转录因子1低表达.

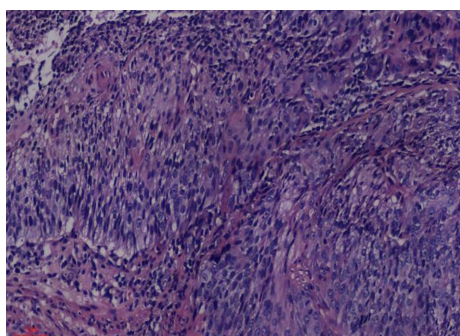


图 2 食管鳞状细胞癌组织热休克转录因子1低表达病理.

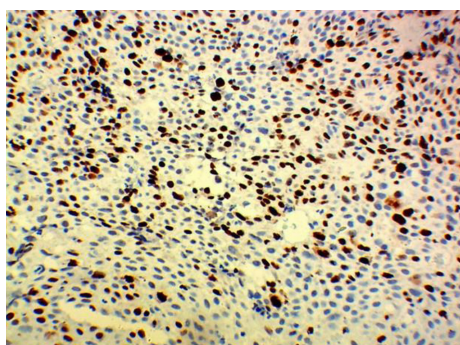


图 3 食管鳞状细胞癌组织中热休克转录因子1高表达.

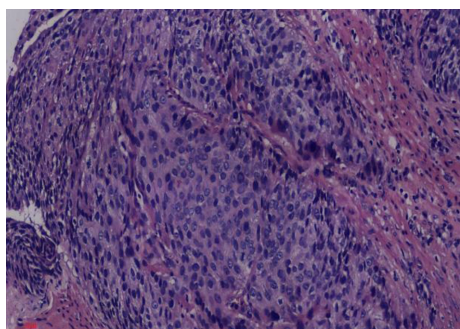


图 4 食管鳞状细胞癌组织热休克转录因子1高表达病理.

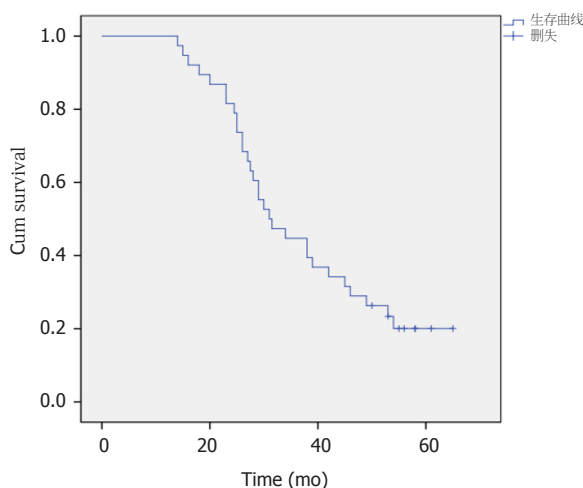


图 5 食管鳞状细胞癌手术切除组患者3年总体生存曲线.

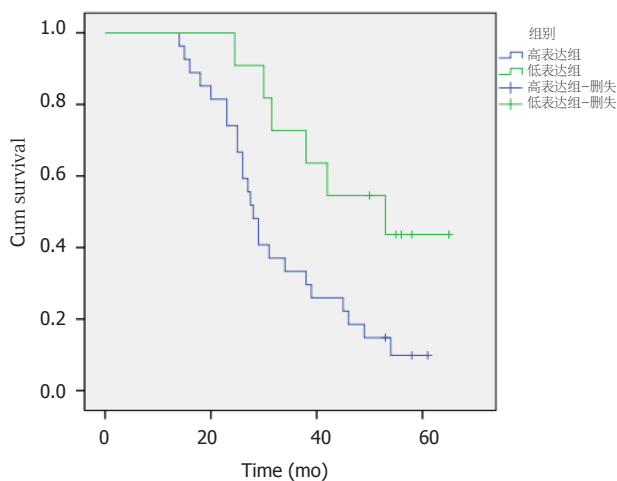


图 6 食管鳞状细胞癌手术切除组患者热休克转录因子1低表达组及高表达组3年总体生存曲线($\chi^2 = 5.851, P = 0.016$).

癌症相关的生物学过程中起着至关重要的作用, 例如分化, 增殖, 迁移和凋亡^[12]. miRNA通常通过与靶mRNA的3'-非翻译区(3'-UTR)中存在的互补区段结合并在通过调节癌基因和抑癌基因参与肿瘤的发生和发展^[13]. 目前研究发现miR-671-5p、miR-495、miR-143等miRNA与食管鳞状细胞癌密切相关^[14-16]. lncRNA是一组长度超过200个核苷酸的RNA, 很少参与蛋白质编码, 但以各种形式调节基因表达, 包括表观遗传调控, 衍生调控和转录后控制^[17]. lncRNA还参与了胚胎干细胞多能性、细胞凋亡及细胞周期调控等过程^[18]. 多种报道显示, lncRNA与肿瘤的发生及发展密切相关. 根据许多研究表明, HSF1可通过调节miRNAs及lncRNAs, 从而调控肿瘤细胞生长^[19]. 这表明HSF1与食管鳞状细胞癌的发生有密切关系.

3.2 HSF1在食管鳞状细胞癌中高表达 通过免疫组化技术检测各组食管鳞状细胞癌HSF1的表达情况发现, 各组食管鳞状细胞癌HSF1的表达均比正常组织及食管不典

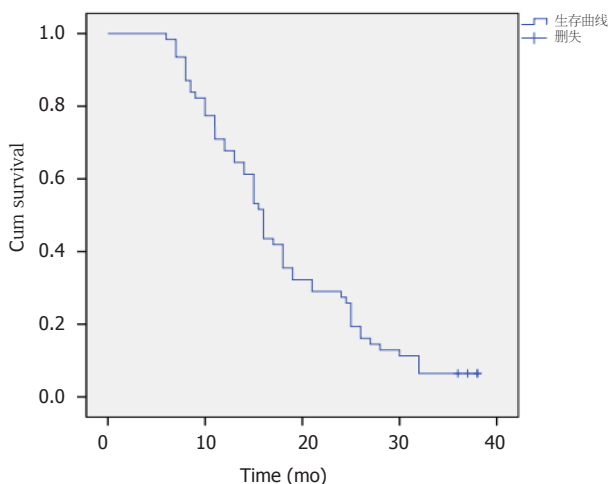


图 7 食管鳞状细胞癌III、IV期放化疗患者3年总体生存曲线。

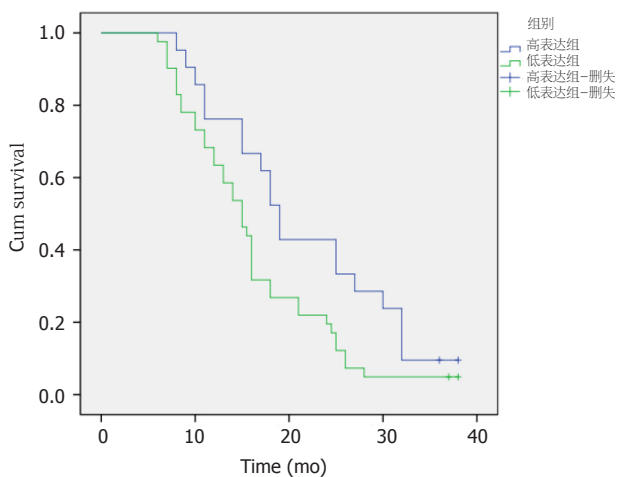


图 8 食管鳞状细胞癌III、IV期放化疗患者热休克转录因子1低表达组及高表达组3年总体生存曲线($\chi^2 = 4.692, P = 0.03$)。

型增生组织中HSF1表达高。而食管不典型增生为食管鳞状细胞癌的癌前病变,其HSF1表达程度与正常组织相似,未呈现有高表达趋势。说明暂时未有证据能证明HSF1可作为食管鳞状细胞癌早期筛查的指标。因为中晚期食管癌预后较差,严重影响患者生活质量,未来更应关注于发展食管癌早期的筛查技术及指标。在许多研究中已发现:HSF1在胃癌^[9]、肝癌^[20]、胰腺癌^[21]、乳腺癌^[22]、结肠癌^[23]、肺小细胞癌^[24]、骨肉瘤^[25]、食管鳞状细胞癌^[26]中呈高表达,且其表达程度与患者预后不良有密切关系。在肝癌^[20]中,HSF1通过激活BAG3-NF- κ B信号通路及MAPK信号通路通过抗凋亡及促进细胞增殖而促进肝癌的生长。在胰腺癌^[21,27]中,AMPK激活的缺失介导了HSF1的异常激活,从而促进胰腺癌的侵袭和转移。在乳腺癌^[28,22]中,蛋白激酶B(AKT)直接与HSF1相互作用,并在Ser326处通过磷酸化激活HSF1。这种活化的HSF1促进HER2过表达的乳腺癌细胞中上皮

-间质转化(EMT)。同时HSF1高表达使得HSP70, HSP90, 抗凋亡Bcl-2蛋白和巨噬细胞迁移抑制因子的水平显著上升,这些都有助于HER2阳性乳腺癌的发生及发展。在结肠癌^[23]中,HSF1通过调节BAG3-Mcl-1信号通道而抗凋亡以此促进结肠癌发展。由此可见,HSF1在各种肿瘤中通过调节不同通路而促进肿瘤的发生发展。目前HSF1在促进肿瘤发展的具体作用通路在不断被发掘与探究,这将为临床治疗肿瘤提供一种选择。本研究及其它研究也发现:HSF1在食管鳞状细胞癌中也呈现高表达状态,但HSF1如何促进食管鳞状细胞癌的发生、发展、浸润、迁移与抗凋亡,其具体通路仍然不清晰,如若要研究HSF1作为食管鳞状细胞癌的特异性靶向治疗,未来需要的更多基础研究进行探索。由上述可知,HSF1在促进肿瘤的发展中至关重要,未来它有望成为肿瘤生物治疗的关键靶点。

3.3 HSF1高表达与食管鳞状细胞癌患者临床特征无关 本研究显示,HSF1在食管鳞状细胞癌组织中高表达,而HSF1的表达却与患者年龄、性别、肿瘤大小、肿瘤部位、肿瘤分化程度、肿瘤T分期、肿瘤N期、肿瘤M分期无关。在Tsukao等^[26]研究中,发现在食管鳞状细胞癌中,HSF1也与患者临床特征无关。但是在Liao等^[29]研究中,发现在食管鳞状细胞癌中,HSF1表达与肿瘤分期、淋巴结转移和临床分期显著相关。在Dai等^[9]研究中,发现在胃癌中,HSF1表达与肿瘤大小、晚期Bornmann分类、晚期浸润深度、淋巴结转移、远处转移和肿瘤淋巴结转移密切相关。在Cui等^[24]研究中,发现在非小细胞肺癌中,HSF1表达与淋巴结转移和临床分期显著相关。在Santagatas等^[22]研究中,发现在乳腺癌中,HSF1的表达与组织学分级,肿瘤大小和诊断时淋巴结转移有关。在Liang等^[21]研究中,发现在胰腺癌中,HSF1的表达与组织学分级、淋巴转移及血管浸润有关。在Tao等^[30]荟萃分析中也得到相同结果。而本研究中却发现HSF1表达与各临床特征无关,可能是病例数偏少,使结果存在偏差,为能进一步明确HSF1在食管鳞状细胞癌中表达是否与各临床特征有关,未来还需要收集更大量、多中心的标本进行验证。

3.4 HSF1高表达可降低食管鳞状细胞癌放化疗疗效 研究结果显示:HSF1高表达,降低了食管鳞状细胞癌对放化疗的敏感度,削弱了放化疗的疗效。HSF1可通过控制细胞代谢、促进增殖、浸润、迁移及抗细胞凋亡从而控制肿瘤的发生发展。放射治疗主要是通过辐射破坏DNA,促进细胞凋亡,从而达到杀灭肿瘤的目的。但由于食管鳞状细胞癌中HSF1高表达,通过各方面增强细胞抗凋亡能力,增加了细胞对外界恶性环境的耐受性,从而导致肿瘤细胞在接受放射治疗时,表现出抵抗辐射的毒

副作用, 而继续存活^[31]. 化疗是通过化疗药物控制DNA复制、RNA转录及蛋白质合成等生物过程, 抑制细胞增殖, 而遏制肿瘤细胞生长以达到抗肿瘤作用^[32]. 同样, HSF1可通过各种信号通路促进细胞增殖, 而降低肿瘤细胞对化疗药物的敏感度. 在Zhang等^[33]研究中显示: HSF1和自噬均可降低肝细胞癌细胞对化学治疗剂的敏感性. 而HSF1通过增强表柔比星诱导的保护性自噬, 显著减弱了表柔比星对HCC细胞的杀伤作用. HSF1是通过促进ATG4B基因启动子的转录活性而升高表达, 从而增强保护性自噬, 减轻了肝细胞癌细胞对表柔比星的敏感性. 食管鳞状细胞癌中HSF1高表达患者能够降低化疗药物的疗效, 是否食管鳞状细胞癌中也存在HSF1增强保护性自噬的作用机制呢? 这值得未来进一步探讨. 本研究证明HSF1可降低食管鳞状细胞癌放化疗的疗效, 这可为临床评估放化疗疗效及选择食管鳞状细胞癌治疗方案提供参考.

4 结论

(1)HSF1在食管鳞状细胞癌中高表达, HSF1表达越高, 提示患者预后不良; HSF1高表达与患者临床特征无关; (2)在ESCC III、IV期放化疗组中, HSF1表达越高, 患者对放化疗敏感性越差; (3)在ESCC手术切除组及ESCC III、IV期放化疗组患者中, HSF1低表达组3年总体生存率比HSF1高表达组高.

文章亮点

实验背景

食管癌发病率及死亡率在全世界都极高, 且治疗效果不佳. 由于目前对食管癌发病机制尚未完全清楚, 这不利于食管癌特异性治疗药物的研究. 通过阅读大量文献发现, 热休克转录因子1 (heat shock transcription factor 1, HSF1)与多种恶性肿瘤的发生发展密切相关, 那么HSF1是否也与食管鳞状细胞癌的发生发展密切相关呢? 在不同中晚期食管鳞状细胞癌患者中, 不同患者对放化疗敏感度不一样, 已有研究证明, 在肝细胞癌中, HSF1会削弱放化疗对肿瘤的毒性作用从而降低疗效, 那么HSF1是否会影响食管鳞状细胞癌对放化疗的敏感性呢?

实验动机

本文主要是研究HSF1在食管鳞状细胞癌中表达情况及其是否可成为治疗食管鳞状细胞癌的生物靶标; 研究HSF1表达对食管鳞状细胞癌患者放化疗敏感性的影响. 探究HSF1是否可成为评估食管鳞状细胞癌放化疗敏感性的指标.

实验目标

本研究目的是验证HSF1在食管鳞状细胞癌中表达情况及HSF1表达与食管鳞状细胞癌患者预后关系; 分析HSF1表达与食管鳞状细胞癌患者对放化疗敏感性的关系及HSF1表达对食管鳞状细胞癌患者3年总体生存率的影响.

实验方法

本文通过收集各组患者病理蜡块, 通过免疫组化方法检测各组中HSF1表达情况; 分析HSF1与食管鳞状细胞癌患者预后的关系; 分析放化疗组食管鳞状细胞癌患者在放化疗后非肿瘤病灶变化、肿瘤直径变化及CEA值变化的关系从而探究HSF1对食管鳞状细胞癌患者放化疗敏感性的影响; 通过采用电话和门诊途径随访, 分析HSF1对患者3年总体生存率的影响; 所有数据使用SPSS 22进行统计学分析; 统计值 $P < 0.05$ 有统计学意义.

实验结果

本实验结果为: (1)HSF1在各食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)组中高表达, 在食管炎症组及食管不典型增生组中低表达, 且各ESCC组与食管炎症组及食管不典型增生组的HSF1表达情况存在差异, 有统计学意义; (2)放化疗后, ESCC III、IV期放化疗组中HSF1低表达组与HSF1高表达组相比, 非肿瘤病灶减少更多, 肿瘤直径减小更大, CEA值下降更明显, 均有统计学意义; (3)在ESCC手术切除组中, HSF1低表达组3年总体生存率比HSF1高表达组高, 有统计学意义; (4)在ESCC III、IV期放化疗组中, HSF1低表达组1年、2年及3年生存率均比HSF1高表达组高, 有统计学意义; HSF1低表达组3年总体生存率比HSF1高表达组高, 有统计学意义. 这表明HSF1可能成为潜在治疗食管鳞状细胞癌的生物靶标, 也表明HSF1可成为评估食管鳞状细胞癌患者放化疗效果的指标.

实验结论

本研究结论: (1)HSF1在食管鳞状细胞癌中高表达, HSF1表达越高, 提示患者预后不良; HSF1高表达与患者临床特征无关; (2)在ESCC III、IV期放化疗组中, HSF1表达越高, 患者对放化疗敏感性越差; (3)在ESCC手术切除组及ESCC III、IV期放化疗组患者中, HSF1低表达组3年总体生存率比HSF1高表达组高. 这为临床医生治疗食管鳞状细胞癌提供一定指导作用, 但未来仍需更多实验来进一步验证此实验结论.

展望前景

众多研究已证明: HSF1在促进肿瘤的发展中至关重要,

未来它有望成为肿瘤生物治疗的关键靶点. 为了验证 HSF1可成为治疗食管鳞状细胞癌的生物靶标, 未来还需要收集更大量、多中心的标本进行验证.

5 参考文献

- Malhotra GK, Yanala U, Ravipati A, Follet M, Vijayakumar M, Are C. Global trends in esophageal cancer. *J Surg Oncol* 2017; 115: 564-579 [PMID: 28320055 DOI: 10.1002/jso.24592]
- Fan J, Liu Z, Mao X, Tong X, Zhang T, Suo C, Chen X. Global trends in the incidence and mortality of esophageal cancer from 1990 to 2017. *Cancer Med* 2020; 9: 6875-6887 [PMID: 32750217 DOI: 10.1002/cam4.3338]
- Short MW, Burgers KG, Fry VT. Esophageal Cancer. *Am Fam Physician* 2017; 95: 22-28 [PMID: 28075104]
- Borggreve AS, Kingma BF, Domrachev SA, Koshkin MA, Ruurda JP, van Hillegersberg R, Takeda FR, Goense L. Surgical treatment of esophageal cancer in the era of multimodality management. *Ann N Y Acad Sci* 2018; 1434: 192-209 [PMID: 29761863 DOI: 10.1111/nyas.13677]
- Puustinen MC, Sistonen L. Molecular Mechanisms of Heat Shock Factors in Cancer. *Cells* 2020; 9 [PMID: 32408596 DOI: 10.3390/cells9051202]
- Dong B, Jaeger AM, Thiele DJ. Inhibiting Heat Shock Factor 1 in Cancer: A Unique Therapeutic Opportunity. *Trends Pharmacol Sci* 2019; 40: 986-1005 [PMID: 31727393 DOI: 10.1016/j.tips.2019.10.008]
- Domper Arnal MJ, Ferrández Arenas Á, Lanás Arbeloa Á. Esophageal cancer: Risk factors, screening and endoscopic treatment in Western and Eastern countries. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 7933-7943 [PMID: 26185366 DOI: 10.3748/wjg.v21.i26.7933]
- Janardhan KS, Jensen H, Clayton NP, Herbert RA. Immunohistochemistry in Investigative and Toxicologic Pathology. *Toxicol Pathol* 2018; 46: 488-510 [PMID: 29966501 DOI: 10.1177/019262318776907]
- Dai W, Ye J, Zhang Z, Yang L, Ren H, Wu H, Chen J, Ma J, Zhai E, Cai S, He Y. Increased expression of heat shock factor 1 (HSF1) is associated with poor survival in gastric cancer patients. *DIAGN PATHOL* 2018; 13: 80
- 王树党. 图像分析系统中光度学参数-灰度与光密度的应用. *山西医科大学学报* 2003; 34: 462
- Fan XW, Wu JL, Wang HB, Liang F, Jiang GL, Wu KL. Three-dimensional conformal radiation therapy alone for esophageal squamous cell carcinoma: 10-year survival outcomes. *Thorac Cancer* 2019; 10: 519-525 [PMID: 30648821 DOI: 10.1111/1759-7714.12968]
- Tian W, Jiang C, Huang Z, Xu D, Zheng S. Comprehensive analysis of dysregulated lncRNAs, miRNAs and mRNAs with associated ceRNA network in esophageal squamous cell carcinoma. *GENE* 2019; 696(undefiend):206-18
- Wei Q, Li X, Yu W, Zhao K, Qin G, Chen H, Gu Y, Ding F, Zhu Z, Fu X, Sun M. microRNA-messenger RNA regulatory network of esophageal squamous cell carcinoma and the identification of miR-1 as a biomarker of patient survival. *J Cell Biochem* 2019; 120: 12259-12272 [PMID: 31017699 DOI: 10.1002/jcb.28166]
- Li X, Nie C, Tian B, Tan X, Han W, Wang J, Jin Y, Li Y, Guan X, Hong A, Chen X. miR-671-5p Blocks The Progression Of Human Esophageal Squamous Cell Carcinoma By Suppressing FGFR2. *Int J Biol Sci* 2019; 15: 1892-1904 [PMID: 31523191 DOI: 10.7150/ijbs.32429]
- Mao Y, Li L, Liu J, Wang L, Zhou Y. MiR-495 inhibits esophageal squamous cell carcinoma progression by targeting Akt1. *Oncotarget* 2016; 7: 51223-51236 [PMID: 27323412 DOI: 10.18632/oncotarget.9981]
- Skjefstad K, Johannessen C, Grindstad T, Kilvaer T, Paulsen EE, Pedersen M, Donnem T, Andersen S, Bremnes R, Richardsen E, Al-Saad S, Busund LT. A gender specific improved survival related to stromal miR-143 and miR-145 expression in non-small cell lung cancer. *Sci Rep* 2018; 8: 8549 [PMID: 29867125 DOI: 10.1038/s41598-018-26864-w]
- Li CY, Zhang WW, Xiang JL, Wang XH, Wang JL, Li J. Integrated analysis highlights multiple long non-coding RNAs and their potential roles in the progression of human esophageal squamous cell carcinoma. *Oncol Rep* 2019; 42: 2583-2599 [PMID: 31638253 DOI: 10.3892/or.2019.7377]
- Yu J, Wu X, Huang K, Zhu M, Zhang X, Zhang Y, Chen S, Xu X, Zhang Q. Bioinformatics identification of lncRNA biomarkers associated with the progression of esophageal squamous cell carcinoma. *Mol Med Rep* 2019; 19: 5309-5320 [PMID: 31059058 DOI: 10.3892/mmr.2019.10213]
- Yang F, Wen S, Zhang Y, Xu Y, Lv H, Zhu Y, Wang M, Su P, Huang C, Tian Z. Identifying potential metastasis-related long non-coding RNAs, microRNAs, and message RNAs in the esophageal squamous cell carcinoma. *J Cell Biochem* 2019; 120: 13202-13215 [PMID: 30891809 DOI: 10.1002/jcb.28594]
- Zhang JB, Guo K, Sun HC, Zhu XD, Zhang B, Lin ZH, Zhang BH, Liu YK, Ren ZG, Fan J. Prognostic value of peritumoral heat-shock factor-1 in patients receiving resection of hepatocellular carcinoma. *Br J Cancer* 2013; 109: 1648-1656 [PMID: 24002609 DOI: 10.1038/bjc.2013.488]
- Liang W, Liao Y, Zhang J, Huang Q, Luo W, Yu J, Gong J, Zhou Y, Li X, Tang B, He S, Yang J. Heat shock factor 1 inhibits the mitochondrial apoptosis pathway by regulating second mitochondria-derived activator of caspase to promote pancreatic tumorigenesis. *J Exp Clin Cancer Res* 2017; 36: 64 [PMID: 28482903 DOI: 10.1186/s13046-017-0537-x]
- Santagata S, Hu R, Lin NU, Mendillo ML, Collins LC, Hankinson SE, Schnitt SJ, Whitesell L, Tamimi RM, Lindquist S, Ince TA. High levels of nuclear heat-shock factor 1 (HSF1) are associated with poor prognosis in breast cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108: 18378-18383 [PMID: 22042860 DOI: 10.1073/pnas.1115031108]
- Wang CY, Guo ST, Croft A, Yan XG, Jin L, Zhang XD, Jiang CC. BAG3-dependent expression of Mcl-1 confers resistance of mutant KRAS colon cancer cells to the HSP90 inhibitor AUY922. *Mol Carcinog* 2018; 57: 284-294 [PMID: 29068469 DOI: 10.1002/mc.22755]
- Cui J, Tian H, Chen G. Upregulation of Nuclear Heat Shock Factor 1 Contributes to Tumor Angiogenesis and Poor Survival in Patients With Non-Small Cell Lung Cancer. *Ann Thorac Surg* 2015; 100: 465-472 [PMID: 26095102 DOI: 10.1016/j.athoracsur.2015.03.021]
- Zhou Z, Li Y, Jia Q, Wang Z, Wang X, Hu J, Xiao J. Heat shock transcription factor 1 promotes the proliferation, migration and invasion of osteosarcoma cells. *Cell Prolif* 2017; 50 [PMID: 28370690 DOI: 10.1111/cpr.12346]
- Tsukao Y, Yamasaki M, Miyazaki Y, Makino T, Takahashi T, Kurokawa Y, Miyata H, Nakajima K, Takiguchi S, Mimori K, Mori M, Doki Y. Overexpression of heat-shock factor 1 is associated with a poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncol Lett* 2017; 13: 1819-1825 [PMID: 28454329 DOI: 10.3892/ol.2017.5637]
- Lin Q, Xiao G, Wang G, He Q, Xu L, Qiu P, Tan S, Gong M, Wen J, Xiao X. Heat Shock Factor 1 in Relation to Tumor Angiogenesis and Disease Progression in Patients With Pancreatic Cancer. *Pancreas* 2020; 49: 1327-1334 [PMID: 33122521 DOI: 10.1097/MPA.0000000000001683]
- Gökmen-Polar Y, Badve S. Upregulation of HSF1 in estrogen receptor positive breast cancer. *Oncotarget* 2016; 7: 84239-84245 [PMID: 27713164 DOI: 10.18632/oncotarget.12438]

- 29 Liao Y, Xue Y, Zhang L, Feng X, Liu W, Zhang G. Higher heat shock factor 1 expression in tumor stroma predicts poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma patients. *J Transl Med* 2015; 13: 338 [PMID: 26511079 DOI: 10.1186/s12967-015-0703-x]
- 30 Wan T, Shao J, Hu B, Liu G, Luo P, Zhou Y. Prognostic role of HSF1 overexpression in solid tumors: a pooled analysis of 3,159 patients. *Oncotargets Ther* 2018; 11: 383-393 [PMID: 29398920 DOI: 10.2147/OTT.S153682]
- 31 Sinha S, Varaganam M, Park MH, Maynard ND, Trudgill N, Crosby T, Cromwell DA. Brachytherapy in the Palliation of Oesophageal Cancer: Effective but Impractical? *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2019; 31: e87-e93 [PMID: 30982667 DOI: 10.1016/j.clon.2019.03.045]
- 32 Babic B, Fuchs HF, Bruns CJ. [Neoadjuvant chemoradiotherapy or chemotherapy for locally advanced esophageal cancer?] *Chirurg* 2020; 91: 379-383 [PMID: 32140748 DOI: 10.1007/s00104-020-01150-6]
- 33 Zhang N, Wu Y, Lyu X, Li B, Yan X, Xiong H, Li X, Huang G, Zeng Y, Zhang Y, Lian J, Ni Z, He F. HSF1 upregulates ATG4B expression and enhances epirubicin-induced protective autophagy in hepatocellular carcinoma cells. *Cancer Lett* 2017; 409: 81-90 [PMID: 28889000 DOI: 10.1016/j.canlet.2017.08.039]

科学编辑: 刘继红 制作编辑: 张砚梁



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 Baishideng Publishing Group Inc.
All rights reserved.

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

本刊讯 本刊正文标题层次为 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。以下逐条陈述: (1) 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。(2) 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。(3) 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。(4) 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: ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$; 第 3 套为^e $P < 0.05$, ^f $P < 0.01$ 。 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。黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片。彩色图片大小 $7.5\text{ cm} \times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条黏贴在正文内, 不能使用浆糊黏贴。(5) 致谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9在食管癌术后胸腔感染中的表达及预测脓毒症的效能

练冬, 金蓓

练冬, 金蓓, 浙江省丽水市第二人民医院检验科 浙江省丽水市 323000

练冬, 检验师, 研究方向为医学检验.

作者贡献分布: 练冬负责研究计划、大部分项目实施; 金蓓协助项目实施和资料收集.

通讯作者: 练冬, 本科, 检验师, 323000, 浙江省丽水市莲都区北环路69号, 丽水市第二人民医院检验科. beiyou777082@163.com

收稿日期: 2021-02-07

修回日期: 2021-03-12

接受日期: 2021-06-18

在线出版日期: 2021-07-28

Expression of Bcl-xL, LDH, IPF, and MMP-9 in thoracic cavity infection after esophageal cancer surgery and their role in predicting sepsis

Dong Lian, Bei Jin

Dong Lian, Bei Jin, Department of Laboratory Medicine, Second People's Hospital of Lishui, Lishui 323000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Dong Lian, Undergraduate, Laboratory Examiner, Department of Laboratory Medicine, Second People's Hospital of Lishui, No. 69 Beihuan Road, Liandu District, Lishui 323000, Zhejiang Province, China. beiyou777082@163.com

Received: 2021-02-07

Revised: 2021-03-12

Accepted: 2021-06-18

Published online: 2021-07-28

Abstract

BACKGROUND

Patients with esophageal cancer (EC) are prone to thoracic infection after surgery, but there is a lack of early prediction markers. Based on the fact that matrix metalloproteinase-9

(MMP-9), immature platelet ratio, macromolecular B lymphocytoma, and changes in lactate dehydrogenase levels are all related to infection, it was speculated that these changes may be candidate markers for clinical prediction of thoracic infection and sepsis.

AIM

To investigate the expression of B-cell lymphoma-extra large (Bcl-xL) protein, lactate dehydrogenase (LDH), immature platelet fraction (IPF), and MMP-9 in chest infections after EC surgery and their role in predicting sepsis.

METHODS

From February 2016 to October 2020, 187 patients with chest infection after EC surgery were selected as an observation group. The patients were divided into either a sepsis subgroup (16 cases) or a non-sepsis (171 cases) subgroup according to whether sepsis occurred. And 187 patients with no infection after EC surgery with matched clinical data during the same period were selected as a control group. The levels of Bcl-xL protein, LDH, IPF, and MMP-9 between the two groups and between patients with and without sepsis were compared. Pearson analysis was performed to investigate the relationship of Bcl-xL, LDH, IPF, and MMP-9 with the severity of sepsis. Logistic regression was used to analyze the factors related to sepsis. Receiver operating characteristic curve (ROC) was used to analyze the performance of Bcl-xL, LDH, IPF, and MMP-9 in predicting sepsis.

RESULTS

Bcl-xL, LDH, IPF, and MMP-9 in the observation group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). The operation time was longer and the levels of Bcl-xL, LDH, IPF, and MMP-9 were significantly higher in patients with sepsis than in those without ($P < 0.05$). The

levels of Bcl-xL, LDH, IPF, and MMP-9 were positively correlated with APACHE II score ($P < 0.05$). Logistic regression analysis showed that the risk of sepsis was 1.174, 2.883, 2.562, and 1.948 times lower in patients with Bcl-xL, LDH, IPF, and MMP-9 expression higher than the averages than in those with Bcl-xL, LDH, IPF, and MMP-9 expression lower than the average ($P < 0.05$). ROC analysis showed that the AUC of Bcl-xL protein, LDH, IPF, and MMP-9 combined to predict sepsis was 0.964, which was greater than those of any index alone ($P < 0.05$).

CONCLUSION

The levels of Bcl-xL protein, LDH, IPF, and MMP-9 in patients with chest infection after EC operation are elevated, which are closely related to the progression of the disease. They have good predictive performance in predicting sepsis secondary to chest infection after EC operation, which is convenient for guiding clinical prevention and treatment programs.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: B-cell lymphoma-extra large; Lactate dehydrogenase; Immature platelet fraction; Matrix metalloproteinase-9; Sepsis

Citation: Lian D, Jin B. Expression of Bcl-xL protein, LDH, IPF, and MMP-9 in thoracic cavity infection after esophageal cancer surgery and their role in predicting sepsis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(14): 788-795

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i14/788.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i14.788>

摘要

背景

食管癌患者术后易胸腔感染, 但缺乏早期预测机制, 基于基质金属蛋白酶-9、未成熟血小板比率、大分子B淋巴细胞瘤、乳酸脱氢酶水平变化均与感染有关, 推测可为临床完善相关机制提供参考。

目的

探讨大分子B淋巴细胞瘤(B-cell lymphoma-extra large, Bcl-xL)蛋白、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、未成熟血小板比率(immature platelet fraction, IPF)、基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)在食管癌(esophageal cancer, EC)术后胸腔感染中的表达及预测脓毒症的效能。

方法

将2016-02/2020-10期间187例EC术后胸腔感染患者作为观察组, 并根据是否发生脓毒症分为脓毒症(16例)、非脓毒症(171例)患者, 并选取同期临床资料相匹配的187例EC术后未感染患者作为对照组, 比较两组及脓毒症、非脓症患者Bcl-xL蛋白、

LDH、IPF、MMP-9水平, 采用Pearson分析Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9与脓毒症病情程度的关系, Logistic回归方程分析脓毒症的相关影响因素, 受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic, ROC)分析Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9预测脓毒症的效能。

结果

观察组Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9较对照组显著升高($P < 0.05$); 脓毒症手术时间长于非脓毒症, Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9水平高于非脓毒症($P < 0.05$); Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9水平与APACHE II评分呈正相关($P < 0.05$); Logistic回归方程分析, 结果显示, Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9高于均值者发生脓毒症的风险分别是低于均值者的1.174、2.883、2.562、1.948倍($P < 0.05$); 经ROC分析Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9联合预测脓毒症的AUC为0.964, 大于任一指标单独预测($P < 0.05$)。

结论

EC术后胸腔感染患者Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9水平升高, 且与病情进展关系密切, 其预测EC术后胸腔感染继发脓毒症具有良好预测效能, 便于指导临床完善防治方案。

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 大分子B淋巴细胞瘤蛋白; 乳酸脱氢酶; 未成熟血小板比率; 基质金属蛋白酶-9; 脓毒症

核心提要: 本研究首次探讨基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)、未成熟血小板比率(immature platelet fraction, IPF)、大分子B淋巴细胞瘤(B-cell lymphoma-extra large, Bcl-xL)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)在食管癌(esophageal cancer, EC)术后胸腔感染中的表达及预测脓毒症的效能, 为临床完善此类患者脓毒症发生风险评估机制提供参考。

文献来源: 练冬, 金蓓. Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9在食管癌术后胸腔感染中的表达及预测脓毒症的效能. *世界华人消化杂志* 2021; 29(14): 788-795

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i14/788.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i14.788>

0 引言

食管癌(esophageal cancer, EC)是临床常见消化道恶性肿瘤疾病, 病因多与饮食生活习惯、生活环境等因素有关, 其发病率近年有显著升高趋势^[1]. 目前手术是临床治疗EC最有效方法之一, 尽管术式成熟, 但受手术创

伤大、部位特殊、难度高等多种因素影响, 术后患者易出现胸腔感染, 甚至继发脓毒症, 严重危及患者生命安全^[2]. 近年随对“治未病”理念理解不断深入, 相继有学者提出, 能早期评估EC术后胸腔感染患者脓毒症发生风险在针对性预防治疗中具有重要意义, 但其具体评估机制尚未达成共识^[3,4]. 基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)是MMPs家族主要成员之一, 是一种有降解功能的特异性蛋白水解酶^[5]; 血小板降低已被证实是脓毒症预后不良的重要危险因素之一, 且有研究表明, 血小板免疫反应在感染所致宿主反应发生发展中发挥关键作用, 而未成熟血小板比率(immature platelet fraction, IPF)可准确、直观性反映血小板生成情况^[6]; 大分子B淋巴细胞瘤(B-cell lymphoma-extra large, Bcl-xL)蛋白是一种抗凋亡蛋白, 能更直接反映外界损害、机体间互相作用^[7]; 乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)已被证实参与糖酵解过程, 其在脓毒症患者外周血中显著升高, 且与病情严重程度相关^[8]. 本研究首次探讨Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9在EC术后胸腔感染中的表达及预测脓毒症的效能, 为临床完善此类患者脓毒症发生风险评估机制提供参考. 现报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 将2016-02/2020-01期间187例EC术后胸腔感染患者作为观察组, 并根据是否发生脓毒症分为脓毒症(16例)、非脓毒症(171例)患者, 并选取同期临床资料相匹配的187例EC术后未感染患者作为对照组. 纳入标准: 经胃镜病理活检诊断确诊EC, 经患者同意均行手术治疗; 入组前无感染性疾病, 且近1个月内无抗菌药应用史; 术后参考《APSID guidelines for the prevention of surgical site infections》^[9]标准, 并结合临床体征及实验室诊断确诊是否发生胸腔感染; 患者、家属知情理解签署同意书. 排除标准: 有免疫缺陷者; 伴其他部位感染者; 应用激素药物者; 其他病因所致脓毒症患者. 两组性别、年龄、体质量指数、病灶位置、手术时间、合并症基础资料均衡可比($P>0.05$). 见表1.

1.2 方法 生化指标检测: 术后1 d晨起, 采用非抗凝真空管采集肘空腹静脉血2 mL, 离心(半径10 cm, 时间15 min, 转速3500 r/min), 采集上层血清, 采用上海酶联生物科技有限公司酶测速率法试剂盒测LDH水平; 上海百蕊生物科技有限公司酶联免疫试剂盒测MMP-9水平、Bcl-xL蛋白水平; 另采用抗凝真空管采集肘空腹静脉血2 mL, 采用Sysmex血液分析仪测IPF. 全部操作均由资深检验科技师参考试剂盒说明书步骤规范完成.

1.3 观察指标 (1)对比两组及脓毒症、非脓毒症患者

Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9水平; (2)分析Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9与脓毒症病情程度的关系、脓毒症影响因素及Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9对脓毒症的预测效能. 脓毒症病情程度根据急性生理和慢性健康(APACHE II)评分评估, 总分为71分, 得分越高病情越严重.

统计学处理 采用统计学软件SPSS 22.0处理数据, 计数资料以例数描述, 采用 χ^2 检验, 计量资料采取Bartlett方差齐性检验与Kolmogorov-Smirnov正态性检验, 均确认具备方差齐性且近似服从正态分布, 以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 描述, 两组间比较采用独立样本 t 检验; 相关性分析采用Pearson相关系数、Logistic回归方程; 受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic, ROC)分析预测效能. 均采用双侧检验, $\alpha = 0.05$.

2 结果

2.1 两组Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9比较 观察组Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9较对照组显著升高($P<0.05$), 见表2.

2.2 脓毒症、非脓毒症患者Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9比较 根据是否发生脓毒症将观察组患者分为脓毒症、非脓毒症患者. 脓毒症、非脓毒症患者年龄、性别、体质量指数、病灶位置、手术方式、肿瘤大小、术中失血量、糖尿病、冠心病、高血压、慢性阻塞性肺疾病比较, 差异无统计学意义; 脓毒症手术时间、Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9较非脓毒症显著增加($P<0.05$), 见表3.

2.3 Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9与脓毒症病情程度的关系 16例脓毒症患者APACHE II评分为(23.06 ± 5.14)分. 采用Pearson进行相关性分析, 结果显示, Bcl-xL蛋白($r = 0.636, P = 0.008$)、LDH($r = 0.654, P = 0.006$)、IPF($r = 0.799, P < 0.001$)、MMP-9($r = 0.812, P < 0.001$)与APACHE II评分呈正相关. 见图1-4.

2.4 脓毒症影响因素的Logistic回归方程分析 以是否发脓毒症为因变量, 0 = 未发生, 1 = 发生, 纳入手术时间、Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9作为自变量进行Logistic回归方程分析, 根据均值对各连续自变量进行分层和赋值, 低于均值赋值为1, 高于均值赋值为2; 结果显示, 手术时间与脓毒症无关($P>0.05$); Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9高于均值者发生脓毒症的风险分别是低于均值者的1.174、2.883、2.562、1.948倍($P<0.05$). 见表4.

2.5 Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9预测脓毒症的效能 以脓毒症为阳性样本, 以非脓毒症为阴性样本, 绘制各指标预测脓毒症的ROC曲线, 结果显示, Bcl-xL蛋白、

表 1 两组一般资料对比

一般资料	观察组(n = 187)	对照组(n = 187)	t/χ ²	P值	
年龄(mean ± SD, 岁)	43-85(63.69 ± 9.85)	45-84(62.98 ± 8.76)	0.737	0.462	
性别(%)	男	111(59.36)	108(57.75)	0.099	0.753
	女	76(40.64)	79(42.25)		
体质量指数(mean ± SD, kg/m ²)	18-28(24.14 ± 1.35)	18-28(23.98 ± 1.22)	1.203	0.230	
病灶位置	食管中段	135(72.19)	128(68.45)	0.628	0.428
	食管下段	52(27.81)	59(31.55)		
手术时间(mean ± SD, min)	90-167(104.63 ± 15.36)	92-165(102.28 ± 14.18)	1.537	0.125	
合并症	糖尿病	51(27.27)	49(26.20)	0.055	0.815
	冠心病	18(9.63)	20(10.70)	0.117	0.732
	高血压	29(15.51)	25(13.37)	0.346	0.556
	慢性阻塞性肺疾病	8(4.28)	6(3.21)	0.296	0.586

表 2 两组Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9比较(mean ± SD)

组别	观察组(n = 187)	对照组(n = 187)	t	P值
Bcl-xL蛋白(ng/mL)	3.56 ± 0.74	0.80 ± 0.31	47.042	< 0.001
LDH(U/L)	564.48 ± 41.59	184.25 ± 30.67	100.619	< 0.001
IPF(%)	3.14 ± 1.05	1.63 ± 0.59	17.145	< 0.001
MMP-9(ng/mL)	316.57 ± 68.94	104.13 ± 50.85	33.912	< 0.001

LDH: 乳酸脱氢酶; IPF: 未成熟血小板比率; MMP-9: 基质金属蛋白酶-9.

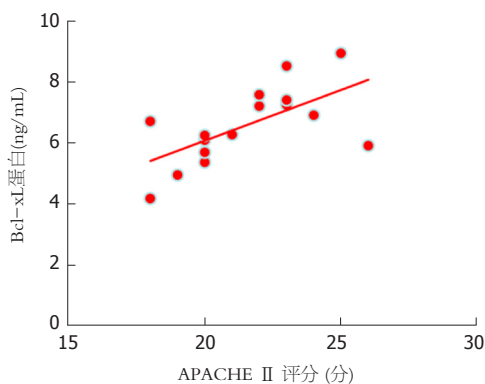


图 1 Bcl-xL蛋白与APACHE II评分关系.

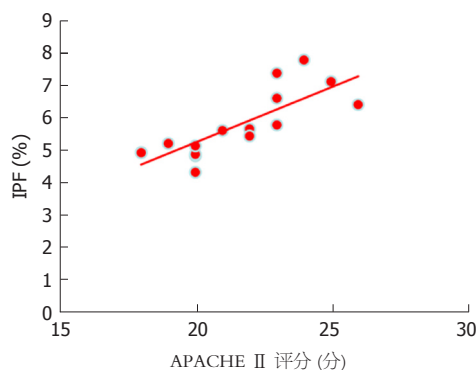


图 3 IPF与APACHE II评分关系. IPF: 未成熟血小板比率.

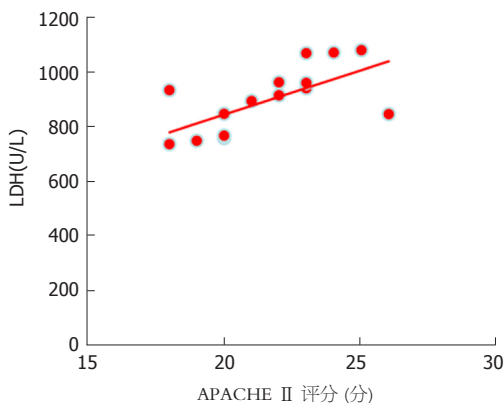


图 2 LDH与APACHE II评分关系. LDH: 乳酸脱氢酶.

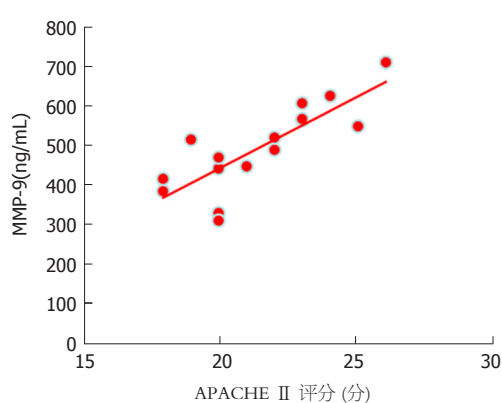


图 4 MMP-9与APACHE II评分关系. MMP-9: 基质金属蛋白酶-9.

表 3 脓毒症、非脓症患者Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9比较(mean ± SD)

组别	脓毒症(n = 16)	非脓毒症(n = 171)	t/χ ²	P值
年龄	65.28 ± 15.20	63.54 ± 13.49	0.488	0.626
性别				
男	9(56.25)	102(59.65)	0.070	0.791
女	7(43.75)	69(40.35)		
体质量指数(kg/m ²)	23.98 ± 1.95	24.16 ± 2.07	0.334	0.739
病灶位置				
食管中段	11(68.75)	124(72.51)	0.001	0.976
食管下段	5(31.25)	47(27.49)		
手术方式				
Ivor-Lewis术	4(25.00)	45(26.32)		
Mckeown术	6(37.50)	62(36.26)	0.016	0.992
经左胸食管癌切除术	6(37.50)	64(37.43)		
肿瘤大小(cm)	4.30 ± 1.89	3.96 ± 1.55	0.823	0.412
手术时间(min)	130.05 ± 18.48	102.25 ± 16.03	6.547	<0.001
术中失血量(mL)	206.58 ± 61.76	192.49 ± 59.31	0.906	0.366
既往史				
糖尿病	4(25.00)	47(27.49)	0.006	0.936
冠心病	2(12.50)	16(9.36)	0.001	0.972
高血压	3(18.75)	26(15.20)	0.000	0.989
慢性阻塞性肺疾病	1(6.25)	7(4.09)	0.057	0.812
Bcl-xL蛋白(ng/mL)	6.85 ± 2.13	3.25 ± 0.69	15.344	<0.001
LDH(U/L)	898.87 ± 206.52	533.19 ± 176.43	7.812	<0.001
IPF(%)	5.09 ± 1.85	2.96 ± 0.71	9.467	<0.001
MMP-9(ng/mL)	498.56 ± 174.19	299.54 ± 156.28	5.079	<0.001

LDH: 乳酸脱氢酶; IPF: 未成熟血小板比率; MMP-9: 基质金属蛋白酶-9.

表 4 都脓毒症影响因素的Logistic回归方程分析

影响因素	β	SE	Wald χ ²	P	OR	95%CI
手术时间	0.405	0.401	1.022	0.083	1.500	1.356-1.659
Bcl-xL蛋白	0.160	0.050	10.297	<0.001	1.174	1.045-1.319
LDH	1.059	0.301	12.377	<0.001	2.883	1.596-5.209
IPF	0.941	0.266	12.506	<0.001	2.562	2.445-2.684
MMP-9	0.667	0.203	10.796	<0.001	1.948	1.031-3.682

LDH: 乳酸脱氢酶; IPF: 未成熟血小板比率; MMP-9: 基质金属蛋白酶-9.

LDH、IPF、MMP-9预测脓毒症的AUC依次为0.822、0.799、0.812、0.839; 实施Logistic二元回归拟合, 返回预测概率logit(p)分析各指标联合预测脓毒症的ROC, 结果显示, 各指标联合预测脓毒症的AUC为0.964, 见图5、表5.

3 讨论

EC在全球范围内均是迫切需解决的公共卫生问题之一, 最新数据显示, 我国EC发病率、病死率均位居全球第五位, 严重危害国民健康^[10]. 尽管近年随胸外科手术水平

不断提升, EC根治术成功率得以显著增加, 但术后胸腔感染及其所致脓毒症仍是困扰临床的一大难题. 如何加强EC术后胸腔感染及继发脓毒症风险是对症治疗改善患者预后的关键环节. 目前临床对脓毒症的诊断主要依据体温、心率、呼吸情况及精神状态等方面, 尽管具有一定诊断价值, 但缺乏一定客观性及滞后性, 难以为临床早期预测其发生风险提供参考.

目前EC术后胸腔感染及继发脓毒症发病机制尚未完全明确, 但多数研究认为, 其涉及复杂全身炎症反

表 5 ROC分析结果

指标	AUC	95%CI	P	Cut-off值	敏感度(%)	特异度(%)
Bcl-xL蛋白	0.822	0.760-0.874	<0.001	> 5.44 ng/mL	75.00	83.63
LDH	0.799	0.735-0.854	<0.001	> 671.65 U/L	81.25	69.59
IPF	0.812	0.748-0.865	<0.001	> 4.32%	62.50	89.47
MMP-9	0.839	0.778-0.888	<0.001	> 456.45 ng/mL	68.75	85.96
联合	0.964	0.926-0.986	<0.001		87.50	95.91

LDH: 乳酸脱氢酶; IPF: 未成熟血小板比率; MMP-9: 基质金属蛋白酶-9. ROC:受试者工作特征曲线.

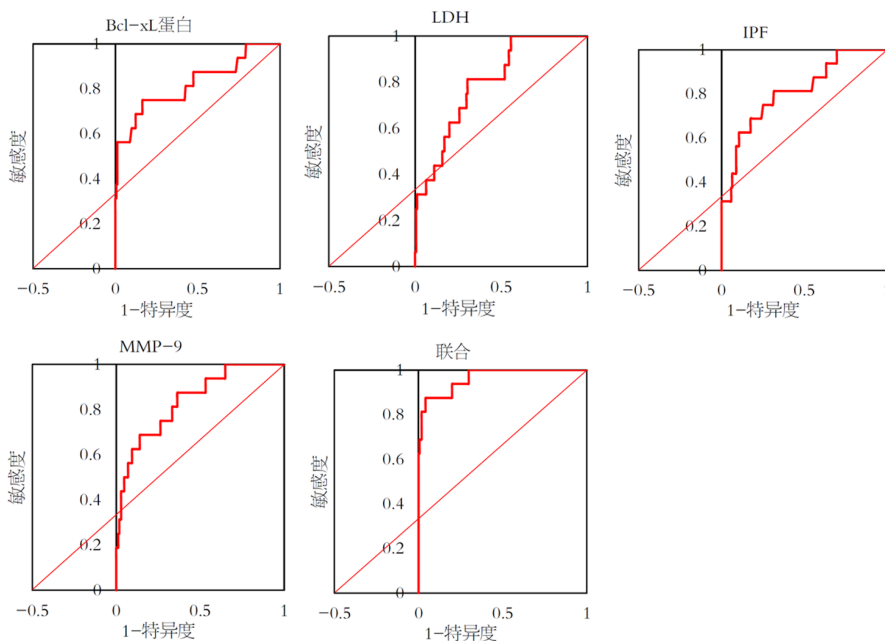


图 5 Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9预测脓毒症的效能. LDH: 乳酸脱氢酶; IPF: 未成熟血小板比率; MMP-9: 基质金属蛋白酶-9.

应、组织损害、凝血功能异常及宿主反应等多反面, 与机体多器官、多系统病理生理性改变关系密切^[11-13]. 因此, 从上述过程所涉及生化异常层面入手或可为临床探明EC术后胸腔感染的发生发展提供新视角. MMP-9是一种重要炎症反应及组织破坏的介导因子, 可通过降解细胞外基质影响间皮、内皮细胞层完整性^[14]. 多项研究表明, MMP-9与术后感染有关, 如: 杨晋等^[15]研究显示, MMP-9升高是骨科患者术后感染的独立危险因素; 杨士柏^[16]在胃切除消化道重建术后感染患者中同样发现血清MMP-9水平显著升高. LDH参与糖酵解最后环节, 可催化丙酮酸向乳酸转化, 广泛分布在机体各组织细胞中, 其在恶性肿瘤患者外周中显著升高^[17]. 但近年不断有研究表明, 在感染性疾病中组织细胞膜通透性改变及细胞被破坏可释放LDH入血, 可反映机体感染情况^[18-20]. 本研究也发现, 观察组血清LDH、MMP-9水平高于对照组($P < 0.05$), 此特征与上述研究一致, 说明二者在血清中水平变化亦与EC术后胸腔感染有关. 分析此机制可能是

EC患者受疾病本身及手术创伤影响, 机体炎性系统被激活可生成MMP-9, 继而影响细胞膜稳定性并介导LDH释放过程. 因此, 血清LDH、MMP-9水平异常升高可一定程度上反映EC术后患者发生胸腔感染, 但单纯从LDH、MMP-9相关层面评估仍存在一定片面性^[21,22].

Bcl-xL蛋白主要分布在胞质及膜上, 具抑制细胞凋亡作用. 研究证实, 多种炎症相关因子可调节Bcl-xL蛋白启动子区域共同基序, 以促使Bcl-xL蛋白基因表达, 如: MMP-9的活化可上调上皮细胞Bcl-xL蛋白基因表达^[23]. IPF不仅可反映骨髓巨核细胞的血小板形成状态, 且近年研究发现, 其还可在脓毒症出现临床症状前3 d进行预测, 特异度90%、敏感度56.20%^[24]. 本研究发现, 在EC术后发生胸腔感染患者中Bcl-xL蛋白、IPF变化趋势与LDH、MMP-9一致, 均随病情进展呈升高趋势, 说明上述指标或可互为补充已更全面评估胸腔感染的病情转归情况. 但还有研究表明, EC术后发生胸腔感染继发脓毒症是多种内外因素互相作用的结果, 如: 手术时间较

长时会直接增加机体内部组织暴露风险,同时影响内环境稳定可增加继发脓毒症风险^[25].本研究经Logistic回归方程分析,结果显示,Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9高于均值者发生脓毒症的风险均达低于均值者的1.17倍以上,上述物质间相互作用可能是在MMP-9作用下细胞完整性被破坏可直接增加致病菌侵袭能力,若感染未被及时控制,血小板过度消耗可致未成熟血小板代偿性增生,同时炎症反应加剧细胞损害可造成Bcl-xL蛋白、LDH水平升高^[26].尽管近年有研究指出,降钙素原、C反应蛋白等传统炎症指标在脓毒症患者中同样表现升高趋势,但其诊断脓毒症的敏感度、特异度均未达90%,价值一般^[27].本研究进一步ROC分析显示,Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9联合预测脓毒症的AUC为0.964,敏感度为87.50%,特异度为95.91%,具有较高预测价值.但本研究不足之处,受限于实际情况,胸腔感染发生脓毒症患者病例数较少,且未对术后多个时间点进行检测,可能造成数据的偏倚,有待后续的进一步探讨.

4 结论

综上所述,EC术后胸腔感染患者Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9水平升高,且与病情进展关系密切,其预测EC术后胸腔感染继发脓毒症具有良好预测效能,便于指导临床完善防治方案.

文章亮点

实验背景

食管癌的治疗方法以手术为主,食管部位的特殊性对手术的要求比较高,同时术后胸腔感染、患脓毒症的风险也较高,进而影响食物的消化吸收,对术后的恢复和身体健康造成很大的影响.

实验动机

食管癌术后如若护理不当,发生胸腔感染和脓毒症的风险较高,且发病急不易察觉,加之术后抵抗力较差,如果发现较晚则会为治疗带来极大的难度,危及生命. B淋巴细胞瘤(B-cell lymphoma-extra large, Bcl-xL)蛋白、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、未成熟血小板比率(immature platelet fraction, IPF)、基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)能够在病变发生初期发生快速的变化,为及早发现病变起到指示的作用.

实验目标

探讨Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9在食管癌术后胸腔感染中的表达及预测脓毒症的效能.通过检测血液中

的指标发现其浓度变化与胸腔感染、脓毒症发病的相关性,为食管癌患者术后感染的监控提供保障,对术后恢复起到一定的积极作用.

实验方法

本研究主要通过生化检测、临床观察和回归分析的方法,判断血清中Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9的变化水平在食管癌手术后期与发生胸腔感染、脓毒症的风险关系.

实验结果

观察组Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9较对照组显著升高.脓毒症组的Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9较非脓毒症组显著增加,且与APACHE II评分呈正相关. Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9高于均值者发生脓毒症的风险分别是低于均值者的2到3倍,同时预测脓毒症的AUC依次为0.822、0.799、0.812、0.839,各指标联合预测脓毒症的AUC为0.964.

实验结论

食管癌术后Bcl-xL蛋白、LDH、IPF、MMP-9水平的变化对提示胸腔感染和脓毒症有显著的作用,且与病情进展关系密切,便于指导临床完善防治方案.

展望前景

本研究在食管癌术后发生胸腔感染和脓毒症的指示方面起到了一定的积极作用,但是鉴于本院能够获得的胸腔感染发生脓毒症患者病例数不多,同时本研究对术后的检测缺乏不同时间点的连续性,有待后续收集更多样本,延长观察时间等因进一步探讨.

5 参考文献

- 1 Middleton DRS, Bouaoun L, Hanisch R, Bray F, Dzamalala C, Chasimpha S, Menya D, Mbalawa CG, N'Da G, Woldegeorgis MA, Njie R, Koulibaly M, Buziba N, Ferro J, Nouhou H, Ogunbiyi F, Wabinga HR, Chokunonga E, Borok MZ, Korir AR, Mwasamwaja AO, Mmbaga BT, Schüz J, McCormack VA. Esophageal cancer male to female incidence ratios in Africa: A systematic review and meta-analysis of geographic, time and age trends. *Cancer Epidemiol* 2018; 53: 119-128 [PMID: 29414631 DOI: 10.1016/j.canep.2018.01.020]
- 2 刘俊峰. 食管癌术后纵隔感染不常见,但更重要. *中国肺癌杂志* 2018; 21: 341-342 [DOI: 10.3779/j.issn.1009-3419.2018.04.28]
- 3 李虎, 王华. 胸腔镜与传统开放手术对行食管癌根治术患者的临床疗效、并发症及中远期生存率的影响. *癌症* 2020; 39: 45-50
- 4 何小平, 曾小飞, 何东升, 王洪, 陆宇海, 马瑞东. 胸腔镜食管癌切除术后肺部感染患者肺功能和炎症因子水平的关系研究. *现代生物医学进展* 2019; 19: 2925-2928 [DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.15.028]
- 5 Mao YM, Wang S, Zhao CN, Wu Q, Dan YL, Guan SY, Lv TT, Liu LN, Wang P, Pan HF. Circulating Matrix Metalloproteinase-9

- Levels in Patients with Systemic Lupus Erythematosus: A Meta-analysis. *Curr Pharm Des* 2018; 24: 1780-1787 [PMID: 29879882 DOI: 10.2174/1381612824666180607123431]
- 6 陈昕涛, 郝文博, 林兆奋. 血小板和淋巴细胞比值与脓毒症患者预后的关系. *中国急救医学* 2020; 40: 93-96 [DOI: 10.3969/j.issn.1002-1949.2020.02.001]
 - 7 Valentin R, Grabow S, Davids MS. The rise of apoptosis: targeting apoptosis in hematologic malignancies. *Blood* 2018; 132: 1248-1264 [PMID: 30012635 DOI: 10.1182/blood-2018-02-791350]
 - 8 喻文, 罗红敏. 乳酸脱氢酶与脓毒症患者28d病死率相关: 一项回顾性观察研究. *中华危重病急救医学* 2018; 30: 711
 - 9 Ling ML, Apisarnthanarak A, Abbas A, Morikane K, Lee KY, Warriar A, Yamada K. APSIC guidelines for the prevention of surgical site infections. *Antimicrob Resist Infect Control* 2019; 8: 174 [PMID: 31749962 DOI: 10.1186/s13756-019-0638-8]
 - 10 马继飞, 侯焯, 龙霏, 赵博兰, 李京华, 陈妍. 河北省保定市2013-2015年以医院为基础的恶性肿瘤谱分析. *医学动物防制* 2019; 35: 130-133 [DOI: 10.7629/yxdwzfz201902007]
 - 11 朱应超, 李翠翠, 尹波, 张磊, 李大宏, 刘相燕. 胸腔镜根治术对老年食管癌患者术后肺部感染与呼吸功能及炎症因子影响. *中华医院感染学杂志* 2018; 28: 3784-3787 [DOI: 10.11816/cn.ni.2018-174005]
 - 12 Park S, Kang CH, Lee HJ, Park IK, Kim YT. Prevalence and risk factors of reflux after esophagectomy for esophageal cancer. *J Thorac Dis* 2020; 12: 558-567 [PMID: 32274121 DOI: 10.21037/jtd.2019.12.134]
 - 13 党新臣, 钱河, 赵宝生. 食管癌患者术后肺部感染危险因素分析. *新乡医学院学报* 2020; 37: 950-954 [DOI: 10.7683/xyxyxb.2020.10.011]
 - 14 谭传知, 储伟, 丁莉莉. 颅内动脉瘤术后肺部感染患者血清MMP-9、FIB和hs-CRP表达水平及意义. *中华医院感染学杂志* 2020; 30: 2330-2334 [DOI: 10.11816/cn.ni.2020-192311]
 - 15 杨晋, 瓦庆德, 吴兴凯, 范青洪. 骨科患者术后感染病原菌分布特征、危险因素及相关因子水平分析. *中国病原生物学杂志* 2019; 14: 1081-1083, 1087 [DOI: 10.13350/j.cjpb.190920]
 - 16 杨士柏. 老年胃切除消化道重建术后感染患者血清MMP-9、JAK1/2与STAT3的变化. *中国老年学杂志* 2018; 38: 616-618 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2018.03.044]
 - 17 Banna GL, Di Quattro R, Malatino L, Fornarini G, Addeo A, Maruzzo M, Urzia V, Rundo F, Lipari H, De Giorgi U, Basso U. Neutrophil-to-lymphocyte ratio and lactate dehydrogenase as biomarkers for urothelial cancer treated with immunotherapy. *Clin Transl Oncol* 2020; 22: 2130-2135 [PMID: 32232716 DOI: 10.1007/s12094-020-02337-3]
 - 18 廉婕, 王雪芹, 王鹏飞. 幽门螺旋杆菌感染对川崎病儿童冠状动脉损伤的影响. *安徽医学* 2018; 39: 78-80 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-0399.2018.01.025]
 - 19 李林艳, 陈嫩梅, 张玉巧, 张雪莹. 血清心肌酶和CSF中LDH与TNF- α 对成年患者颅内感染的诊断效果. *中华医院感染学杂志* 2019; 29: 1643-1646 [DOI: 10.11816/cn.ni.2019-181544]
 - 20 王媛媛, 刘婉, 王萍, 冯世兵, 冯利. 血清CYFRA21-1、SCC-Ag、LDH联合检测对肺鳞癌与肺部感染鉴别诊断的价值初探. *现代肿瘤医学* 2018; 26: 2033-2036 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2018.13.015]
 - 21 邓秋菊, 李慧颖, 向琳. HMGB1对缺氧复氧心肌细胞氧化损伤的影响研究. *中国循证心血管医学杂志* 2018; 10: 979-982 [DOI: 10.3969/j.issn.1674-4055.2018.08.23]
 - 22 刘峰, 邓大平. 基于双源CT血管造影技术评估MMP-9、PAF及Lp-PLA2与冠状动脉斑块性质的关系. *影像科学与光化学* 2020; 38: 291-295 [DOI: 10.7517/issn.1674-0475.190913]
 - 23 艾晓兰, 姚芳, 王晓晴, 段东北, 李科, 胡子有, 殷果, 王梅, 吴炳炎. 同种异体移植炎症因子-1在结直肠癌细胞增殖、迁移及凋亡中的作用. *南方医科大学学报* 2018; 38: 511-519 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-4254.2018.05.002]
 - 24 王森, 曹书华, 王勇强, 王兵, 杨蕊, 杨俊. 未成熟血小板比率与脓毒症严重程度的相关性研究. *中华急诊医学杂志* 2018; 27: 790-793 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2018.07.016]
 - 25 张智光, 郑琇山, 韩泳涛. 食管癌患者根治术后合并肺部感染病原菌的分布、耐药性及危险因素分析. *中国病原生物学杂志* 2019; 14: 1460-1463 [DOI: 10.13350/j.cjpb.191220]
 - 26 Gonciarz W, Krupa A, Hinc K, Obuchowski M, Moran AP, Gajewski A, Chmiela M. The effect of Helicobacter pylori infection and different H. pylori components on the proliferation and apoptosis of gastric epithelial cells and fibroblasts. *PLoS One* 2019; 14: e0220636 [PMID: 31390383 DOI: 10.1371/journal.pone.0220636]
 - 27 王婷, 韦小碗, 杨亮, 邹远妮, 梁亚萍, 王卓. 脓毒症患者血清PCT、CRP、IL-6和IL-10水平检测及临床意义. *陕西医学杂志* 2020; 49: 1510-1514 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-7377.2020.11.037]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



自拟脾胃调和汤治疗幽门螺杆菌相关性胃炎的疗效: 一项前瞻性随机对照研究

王瑞华, 王申

王瑞华, 王申, 宁波市镇海龙赛医院消化内科 浙江省宁波市 315200

王瑞华, 主治医师, 研究方向: 胃炎, 胃溃疡, 胰腺炎等消化内科常见病.

作者贡献分布: 王瑞华负责课题设计申请主导研究; 王申做辅助工作.

通讯作者: 王瑞华, 研究生, 主治医师, 315200, 浙江省宁波市镇海区招宝山街道胜利路356号, 宁波市镇海龙赛医院消化内科. chui14967696@163.com

收稿日期: 2021-03-08

修回日期: 2021-04-08

接受日期: 2021-06-02

在线出版日期: 2021-07-28

Efficacy of self-made Spleen-Stomach Tiaohe Decoction in treatment of *Helicobacter pylori*-related gastritis: A prospective randomized controlled study

Rui-Hua Wang, Shen Wang

Rui-Hua Wang, Shen Wang, Department of Gastroenterology, Ningbo Town Longsai Hospital, Ningbo 315200, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Rui-Hua Wang, Graduate Student, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Ningbo Town Longsai Hospital, No. 356 Shengli Road, Zhaobaoshan Street, Zhenhai District, Ningbo 315200, Zhejiang Province, China. chui14967696@163.com

Received: 2021-03-08

Revised: 2021-04-08

Accepted: 2021-06-02

Published online: 2021-07-28

Abstract

BACKGROUND

More than 50% of the world's population are infected with

Helicobacter pylori (*H. pylori*). Clinically, *H. pylori*-associated gastritis is mainly treated with quadruple therapy. In recent years, combined Chinese and Western medicine therapy has been continuously developed. The use of self-made Spleen-Stomach Healing Decoction in the treatment of *H. pylori*-associated gastritis can improve the therapeutic effect to a certain extent, which is worthy of further clinical research.

AIM

To investigate the efficacy of self-made Spleen-Stomach Tiaohe Decoction-assisted quadruple therapy in the treatment of *H. pylori*-related gastritis and its regulatory effects on immune-inflammation and the intestinal flora.

METHODS

From July 2018 to May 2020, 108 patients with *H. pylori*-related gastritis treated at our hospital were divided into either a control group or an observation group using a random envelope method, with 54 cases in each group. The control group was treated with quadruple therapy, and the observation group was treated with self-made Spleen-Stomach Tiaohe Decoction-assisted quadruple therapy. The total effective rate, TCM syndrome score, immune function indexes ($CD3^+$ T cells, $CD4^+$ T cells, and $CD4^+/CD8^+$ ratio), and inflammation indexes [transforming growth factor- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), interleukin-32 (IL-32), and C-reactive protein (CRP)], intestinal flora, and adverse reactions were compared between the two groups.

RESULTS

The total effective rate of the observation group was 96.30%, which was significantly higher than that (81.48%) of the control group ($P < 0.05$). After 2 wk of treatment, the scores of epigastric pain, abdominal distension, bitter or sticky mouth, bad breath, nausea and vomiting, and stool

viscosity in the observation group were significantly lower than those of the control group ($P < 0.05$); the percentages of CD3⁺ T cells and CD4⁺ T cells as well as CD4⁺/CD8⁺ ratio in the observation group were significantly higher than those of the control group ($P < 0.05$); and serum levels of TGF- β 1, TNF- α , IL-6, IL-32, and CRP in the observation group were significantly lower than those of the control group ($P < 0.05$). Bifidobacterium, Lactobacillus, Enterococcus, and Enterobacter in the observation group after 2 wk of treatment were not significantly different from those before treatment ($P > 0.05$). There was no significant difference in the total incidence of adverse reactions between the observation group (3.70%) and the control group (9.26%; $P > 0.05$).

CONCLUSION

Self-made Spleen-Stomach Tiaohe Decoction-assisted quadruple therapy is effective in treating *H. pylori*-related gastritis. It can effectively relieve clinical symptoms, regulate immune and inflammatory responses, and has a good regulatory effect on the intestinal flora regulation. It is safe and reliable, and is worthy of clinical application.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori*-related gastritis; Quadruple therapy; Self-made Spleen-Stomach Tiaohe Decoction; TCM syndrome score; Inflammation index; Intestinal flora; Immune function index

Citation: Wang RH, Wang S. Efficacy of self-made Spleen-Stomach Tiaohe Decoction in treatment of *Helicobacter pylori*-related gastritis: A prospective randomized controlled study. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(14): 796-803

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i14/796.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i14.796>

摘要

背景

世界上50%以上的人口感染幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)。临床主要通过四联疗法治疗*H. pylori*相关性胃炎,近年来,中西医联合疗法不断发展,使用自拟脾胃调和汤治疗幽门螺杆菌相关性胃炎能够在一定程度上提高治疗效果,值得临床进一步研究。

目的

探讨自拟脾胃调和汤辅助四联疗法治疗*H. pylori*相关性胃炎的疗效及对免疫-炎症、肠道菌群调控效应。

方法

采用随机信封法将2018-07/2020-05月我院收治的108例*H. pylori*相关性胃炎患者分为两组,各54例。对照组采用四联疗法,观察组采用自拟脾胃调和汤辅助四联疗法。比较两组总有效率、中医证候积分、免疫功

能指标(CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺)、炎症指标[转化生长因子- β 1 (TGF- β 1)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-6 (IL-6)、白介素-32 (IL-32)、C反应蛋白 (CRP)、肠道菌群、不良反应。

结果

观察组总有效率为96.30%,高于对照组的81.48% ($P < 0.05$);治疗2 wk后观察组胃脘疼痛持续时间、胃脘疼痛程度、腕腹胀、口苦或黏、口臭、恶心呕吐、大便黏滞评分低于对照组 ($P < 0.05$);治疗2 wk后观察组CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺高于对照组 ($P < 0.05$);治疗2 wk后观察组TGF- β 1、TNF- α 、IL-6、IL-32、CRP低于对照组 ($P < 0.05$);观察组治疗2 wk后双歧杆菌、乳杆菌、肠球菌、肠杆菌与治疗前比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$);观察组不良反应总发生率3.70%与对照组9.26%比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

结论

自拟脾胃调和汤辅助四联疗法治疗*H. pylori*相关性胃炎效果显著,能有效缓解临床症状,调节机体免疫、炎症反应,且具有良好肠道菌群调控效应,安全可靠,值得临床推广应用。

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 幽门螺杆菌相关性胃炎; 四联疗法; 自拟脾胃调和汤; 中医证候积分; 炎症指标; 肠道菌群; 免疫功能指标

核心提要: 有研究表明,对幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)相关性胃炎可通过中药治疗,中医治疗经验丰富、历史悠久,可根据主要症型予以针对治疗,能有效改善症状。中医治疗*H. pylori*相关性胃炎积累了丰富的经验,通过辨证论治和发挥整体治疗观念,可达到标本兼治的目的。

文献来源: 王瑞华, 王申. 自拟脾胃调和汤治疗幽门螺杆菌相关性胃炎的疗效: 一项前瞻性随机对照研究. *世界华人消化杂志* 2021; 29(14): 796-803

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i14/796.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i14.796>

0 引言

胃炎为消化内科常见疾病,是指不同原因引起的各种胃黏膜炎性病变^[1]。现代医学认为,胃炎发病机制和幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)紧密相关,*H. pylori*感染为其主要致病原因,*H. pylori*引起的氧化应激可加重胃黏膜损伤,造成病情加剧^[2,3]。临床主要通过四联疗法治疗*H. pylori*相关性胃炎,但由于细菌发生耐药性及药物影响肠道菌群平衡等原因,*H. pylori*相关性胃炎临床疗

效逐渐下降^[4]。中医学认为,*H. pylori*相关性胃炎属于“胃脘痛”、“嘈杂”、“痞满”等疾病范畴,胃脘失和、脾失健运为其病因病机^[5,6]。自拟脾胃调和汤由半夏清心汤去干姜合平胃散组成,具有行气和胃、化湿清热之效,应用前景良好^[7]。基于此,本研究首次探讨自拟脾胃调和汤辅助四联疗法治疗*H. pylori*相关性胃炎的疗效及对免疫-炎症、肠道菌群调控效应,具体分析如下。

1 材料和方法

1.1 材料 采用随机信封法将2018-07/2020-05我院收治的108例*H. pylori*相关性胃炎患者分为两组,各54例。两组患者年龄、体质量、性别、婚姻状况、疾病病程、疾病类型及内镜分级均衡可比($P>0.05$),见表1。

选取标准: (1)纳入标准:符合《第五次全国幽门螺杆菌感染处理共识报告》中*H. pylori*感染诊断标准^[8];参照《中国胶囊内镜临床应用指南》判断内镜下慢性胃炎征象及内镜分级^[9];快速尿素酶试验确诊为*H. pylori*阳性;近1个月未曾使用抗生素及抑酸剂、益生菌治疗;知情本研究并签署同意书; (2)排除标准:伴有脑、肾、肝及造血系统等严重疾病者;胃黏膜出现重度异型增生;胃泌素瘤、胃食管返流;病理诊断疑有恶变者;因疾病需要长期服用非甾体抗炎药者;处于妊娠或哺乳期;合并其他部位严重感染;伴有幽门梗阻、胃穿孔等并发症;伴有精神系统疾病,无法配合治疗者。

1.2 方法 对照组采用四联疗法,口服阿莫西林(康普药业股份有限公司,国药准字:H43021396) 1 g/次,2次/d;枸橼酸铋钾(郑州韩都药业集团有限公司,国药准字:H20033521) 0.6 g/次,2次/d;奥美拉唑肠溶片(青岛双鲸药业股份有限公司,国药准字:H20020714) 20 mg/次,2次/d;克拉霉素(哈尔滨市龙生北药生物工程股份有限公司,国药准字:H20053723)治疗,口服,0.5 g/次,2次/d。

观察组采用自拟脾胃调和汤辅助四联疗法,自拟脾胃调和汤药方组成:党参30 g、黄芩15 g、法半夏15 g、厚朴15 g、苍术15 g、陈皮10 g、大枣10 g、甘草6 g、黄连6 g。常规煎制,每剂药煎成450 mL,平均封装为3袋,于饭后1 h温服,3次/d。两组均持续治疗2 wk。

疗效评估标准:参照《中药新药临床研究指导原则(试行)》制定的临床疗效评估标准。痊愈:临床症状消失,胃镜检查见胃黏膜慢性炎症消失,*H. pylori*转为阴性;显效:临床症状显著改善,胃镜检查见胃黏膜慢性炎症基本消失,*H. pylori*转为阴性;有效:临床症状明显好转,胃镜检查胃黏膜病变范围缩小 $>1/2$,炎症减轻,*H. pylori*转为阴性;无效:临床症状无明显改善,甚至加重。痊愈、显效、有效相加之和占总例数比为总有效率。

观察指标: (1)比较两组疗效; (2)比较两组治疗前、

治疗2 wk后中医证候积分。包括口苦或口黏、口臭、脘腹痞胀、大便粘滞、恶心呕吐及胃脘疼痛持续时间、程度,其中①口苦或黏:正常为0分;每天偶有口苦或黏不影响进食为1分;经常口苦或黏稍影响进食为2分;持续感口苦或黏明显影响进食为3分。②口臭:正常为0分;自觉有口臭为1分;口臭旁人可闻及为2分;明显口臭令人难进为3分。③恶心呕吐:正常为0分;偶有恶心为1分;时有恶心,偶有呕吐为2分;频频恶心,有时呕吐为3分。④脘腹痞胀:正常为0分;轻微胀满发作时不影响工作及休息为1分;胀满可忍受发作时影响工作及休息为2分;胀满难忍持续不止,需服用药物缓解为3分。⑤大便粘滞:正常为0分;大便偶有粘滞为1分;大便粘滞不畅为2分;大便滞涩难出为3分。⑥胃脘疼痛持续时间:正常为0分;疼痛持续1-8 h为3分;9-16 h为6分;17-24 h为9分。⑦胃脘疼痛程度:正常为0分;疼痛程度标尺1-3为3分;4-6为6分;7-10为9分^[10]; (3)比较两组治疗前、治疗2 wk后免疫功能指标。采集患者治疗前、治疗2 wk后空腹静脉血5 mL,选用EPICS-XL型流式细胞仪以间接免疫荧光检测外周血T淋巴细胞亚群($CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$),试剂盒购自武汉生物制品研究所; (4)比较两组治疗前、治疗2 wk后炎症指标。采集患者治疗前、治疗2 wk后空腹静脉血5 mL,采用NX-3型离心机(北京鼎昊源科技有限公司),以3000 r/min转速离心10 min,取上清液,采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-6 (IL-6)、白介素-32 (IL-32)水平,酶标仪由北京科月华诚科技有限公司提供,试剂盒由上海酶联生物科技有限公司提供; (5)比较两组治疗前、治疗2 wk后肠道菌群分布情况。采集患者治疗前、治疗2 wk后0.5 g新鲜粪便,置入含有4.5 mL生理盐水的试管中,连续稀释,取50 μ L稀释液接种于选择性培养基,放置在37 $^{\circ}$ C温箱内培养24-48 h,利用003F型全自动微生物鉴定仪(北京德利卡生物技术有限公司)鉴定细菌; (6)比较两组不良反应发生率。包括恶心呕吐、乏力、腹泻、便秘。

统计学处理 采用SPSS 22.0对数据进行分析,计量资料以(mean \pm SD)表示, t 检验,计数资料 $n(\%)$ 表示, χ^2 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 疗效 治疗2 wk后观察组无效2例,对照组无效10例。观察组总有效率为96.30%,高于对照组的81.48% ($P<0.05$)。见表2。

2.2 中医证候积分 两组治疗2 wk后胃脘疼痛持续时间、胃脘疼痛程度、脘腹痞胀、口苦或黏、口臭、恶心呕吐、大便黏滞评分较治疗前显著降低,且观察组低

表 1 一般资料

项目	观察组(n = 54)	对照组(n = 54)	$t/\chi^2/u$	P
年龄(岁)	29-62 (45.79 ± 6.52)	30-64 (47.12 ± 6.10)	1.095	0.276
体质量(kg)	47-75 (61.43 ± 5.11)	48-77 (62.20 ± 4.75)	0.811	0.419
性别(男/女)	29/25	24/30	0.926	0.336
婚姻状况				
已婚	44 (81.48)	40 (74.07)	0.857	0.355
未婚	10 (18.52)	14 (25.93)		
疾病病程(月)				
<3	11 (20.37)	13 (24.07)	0.108	0.914
3-12	28 (54.85)	25 (27.78)		
>12	15 (27.78)	16 (29.63)		
疾病类型				
糜烂性胃炎	12 (22.22)	10 (18.52)	0.562	0.574
萎缩性胃炎	16 (29.63)	15 (27.78)		
浅表性胃炎	26 (48.15)	29 (53.70)		
内镜分级				
I级	35 (64.81)	31 (57.41)	0.756	0.450
II级	12 (22.22)	13 (24.07)		
III级	7 (12.96)	10 (18.52)		

表 2 两组疗效比较n (%)

组别	例数	痊愈	显效	有效	无效	总有效率
观察组	54	26 (48.15)	18 (33.33)	8 (14.81)	2 (3.70)	52 (96.30)
对照组	54	14 (25.93)	19 (35.19)	11 (20.37)	10 (18.52)	44 (81.48)
χ^2						6.000
P						0.014

于对照组($P < 0.05$). 见表3.

2.3 免疫功能指标 与治疗前比较, 两组治疗2 wk后CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺升高($P < 0.05$); 观察组治疗2 wk后CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺高于对照组($P < 0.05$). 见表4.

2.4 炎症指标 两组治疗2 wk后TGF-β1、TNF-α、IL-6、IL-32、CRP低于治疗前, 且观察组低于对照组($P < 0.05$). 见表5.

2.5 肠道菌群 对照组治疗2 wk后双歧杆菌、乳杆菌较治疗前减少, 肠球菌、肠杆菌较治疗前增加($P < 0.05$); 观察组治疗2 wk后双歧杆菌、乳杆菌、肠球菌、肠杆菌与治疗前比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$). 见表6、图1.

2.6 不良反应 观察组不良反应总发生率3.70%与对照组9.26%比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$). 见表7.

3 讨论

3.1 *H. pylori*相关性胃炎治疗现状 据报道, 全球*H. pylori*感染率约为50%, 我国成人中*H. pylori*感染率达40%-60%^[11]. 现阶段, *H. pylori*相关性胃炎呈现发病率高、复

发率高、病程长、治愈难度大的趋势^[12]. 随着我国医学水平不断发展进步, *H. pylori*相关性胃炎治疗手段及方案也不断丰富, 目前西医治疗根除率较高的方案主要有三联疗法和四联疗法, 其中四联疗法*H. pylori*根除率可达80%, 但仍有较大提升空间^[13]. 故探讨*H. pylori*相关性胃炎具体发病机制和寻找更为安全有效的药物及方案已成为临床重点关注问题.

3.2 *H. pylori*相关性胃炎中医病因机制及自拟脾胃调和汤作用机制分析 *H. pylori*相关性胃炎主要病因机制为感受湿邪、内伤饮食, 脾胃虚弱, 外邪乘虚入侵, 气机升降失常, 寒热错杂, 痞结不开, 上则呕吐, 下则肠鸣^[14]. 正如《景岳全书》中提出: “盖满则近胀, 而痞则不必胀也; 痞者, 痞塞不开之谓; 满者, 胀满不行之谓”, 痞症主要因脾气虚、运化功能失衡, 导致胀满, 病位在胃部, 中焦脾胃失调, 难以正常运转, 导致气滞痞塞^[15]. 明·李中梓提出胃脘痛还兼有“或胀、或满、或呕吐、或泻利、或吞酸、或不能食、或大便难、面浮而黄”等症, 以上描述, 同现代医学的胃炎临床症状颇为相似^[16]. 辨证主

表 3 两组中医证候积分比较(mean ± SD, 分)

时间	组别	例数	胃脘疼痛持续时间	胃脘疼痛程度	脘腹胀胀	口苦或黏	口臭	恶心呕吐	大便黏滞
治疗前	观察组	54	3.52 ± 1.15	3.71 ± 1.24	1.58 ± 0.79	1.02 ± 0.24	1.15 ± 0.36	1.55 ± 0.52	0.71 ± 0.31
	对照组	54	3.26 ± 1.08	3.30 ± 1.13	1.42 ± 0.65	0.95 ± 0.26	1.07 ± 0.41	1.37 ± 0.49	0.65 ± 0.28
	<i>t</i>		1.211	1.796	1.149	1.454	1.078	1.815	1.056
	<i>P</i>		0.229	0.075	0.253	0.149	0.284	0.067	0.294
治疗2 wk后	观察组	54	1.46 ± 0.74 ^a	1.32 ± 0.56 ^a	0.52 ± 0.21 ^a	0.21 ± 0.10 ^a	0.35 ± 0.14 ^a	0.40 ± 0.18 ^a	0.39 ± 0.13 ^a
	对照组	54	1.92 ± 0.81 ^a	1.78 ± 0.61 ^a	0.93 ± 0.35 ^a	0.35 ± 0.14 ^a	0.68 ± 0.27 ^a	0.72 ± 0.25 ^a	0.52 ± 0.11 ^a
	<i>t</i>		3.081	4.082	7.382	5.980	7.973	7.633	5.610
	<i>P</i>		0.003	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

与本组治疗前比较, ^a*P*<0.05.

表 4 两组免疫功能指标比较(mean ± SD)

组别	例数	CD3 ⁺ (%)		CD4 ⁺ (%)		CD4 ⁺ /CD8 ⁺	
		治疗前	治疗2 wk后	治疗前	治疗2 wk后	治疗前	治疗2 wk后
观察组	54	47.97 ± 5.14	56.86 ± 3.95 ^a	36.89 ± 5.72	48.39 ± 3.92 ^a	1.05 ± 0.19	1.41 ± 0.13 ^a
对照组	54	49.05 ± 6.23	53.15 ± 4.81 ^a	38.16 ± 5.45	42.83 ± 4.76 ^a	1.11 ± 0.15	1.29 ± 0.12 ^a
<i>t</i>		0.983	4.380	1.181	6.626	1.821	4.984
<i>P</i>		0.328	<0.001	0.240	<0.001	0.071	<0.001

与本组治疗前比较, ^a*P*<0.05.

表 5 两组炎症指标比较(mean ± SD)

时间	组别	例数	TGF-β1 (pg/mL)	TNF-α (μg/L)	IL-6 (ng/L)	IL-32 (μmol/L)	CRP (mg/L)
治疗前	观察组	54	28.64 ± 5.36	24.15 ± 7.23	64.91 ± 12.29	73.66 ± 10.54	7.11 ± 3.06
	对照组	54	26.97 ± 6.05	22.07 ± 5.66	66.45 ± 10.82	70.81 ± 13.08	6.89 ± 2.52
	<i>t</i>		1.518	1.665	0.691	1.247	0.408
	<i>P</i>		0.132	0.099	0.491	0.215	0.684
治疗2 wk后	观察组	54	15.77 ± 4.03 ^a	6.26 ± 1.88 ^a	22.35 ± 6.72 ^a	40.05 ± 8.78 ^a	3.66 ± 1.14 ^a
	对照组	54	20.83 ± 5.27 ^a	10.64 ± 2.37 ^a	30.57 ± 5.69 ^a	51.63 ± 7.29 ^a	4.92 ± 0.93 ^a
	<i>t</i>		5.605	10.640	6.860	7.457	6.293
	<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

与本组治疗前比较, ^a*P*<0.05.

要脾胃虚寒、胃阴不足、肝胃不和、胃络瘀阻、脾胃湿热等证型, 以脾胃湿热证型最多见。湿邪与热邪交困, 易阻滞气机, 脾胃之气本为一身之气枢机, 若枢转气机阻滞, 脾胃之气升降失调, 气血运行受阻, 可致脾胃湿热证。治疗上, 《素问·脏气法时论》提出“脾苦湿, 急食苦以燥之”的基本治疗原则^[17]。自拟脾胃调和汤由半夏清心汤去干姜合平胃散组成, 半夏清心汤源自《伤寒论》, 方中半夏消痞散结、和胃降逆为君, 黄芩、黄连清泄里热为臣, 大枣、甘草等和中补虚、益气健脾为佐, 是辛开苦降治法代表方^[18]。平胃散源自周应所著《简要

济众方》, 方中苍术运脾燥湿为君, 厚朴行气除满为臣, 陈皮和胃理气为佐, 是治疗脾胃不和基本方剂^[19]。自拟脾胃调和汤迎合 *H. pylori* 相关性胃炎主要中医证候, 故本研究在四联疗法治疗基础上加用自拟脾胃调和汤可取得较好疗效。现代药理研究证实, 半夏清心汤对胃肠激素分泌具有良好调节作用, 可增强胃黏膜修复能力、促进胃功能得以改善^[20]; 平胃散能改善湿困脾胃证所致的肠黏膜屏障功能, 修复肠道自由基清除障碍^[21]。故自拟脾胃调和汤辅助治疗 *H. pylori* 相关性胃炎, 可显著改善患者中医证候, 提高疾病治疗效果。

表 6 两组肠道菌群比较(mean ± SD, lg cfu/g)

时间	组别	例数	双歧杆菌	乳杆菌	肠球菌	肠杆菌
治疗前	观察组	54	7.65 ± 0.71	7.39 ± 0.80	6.82 ± 0.65	7.88 ± 0.54
	对照组	54	7.84 ± 0.63	7.52 ± 0.74	6.70 ± 0.73	7.79 ± 0.60
	<i>t</i>		1.471	0.877	0.902	0.819
	<i>P</i>		0.144	0.383	0.369	0.414
治疗2 wk后	观察组	54	7.73 ± 0.62	7.34 ± 0.76	6.73 ± 0.44	7.76 ± 0.59
	对照组	54	6.39 ± 0.54 ^a	7.01 ± 0.65 ^a	7.12 ± 0.59 ^a	8.24 ± 0.43 ^a
	<i>t</i>		11.977	2.243	3.894	4.831
	<i>P</i>		<0.001	0.017	<0.001	<0.001

与本组治疗前比较, ^a*P*<0.05.

表 7 两组不良反应比较*n* (%)

组别	例数	恶心呕吐	乏力	腹泻	便秘	总发生率
观察组	54	2 (3.70)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	2 (3.70)
对照组	54	2 (3.70)	1 (1.85)	1 (1.85)	1 (1.85)	5 (9.26)
χ^2						0.611
<i>P</i>						0.434

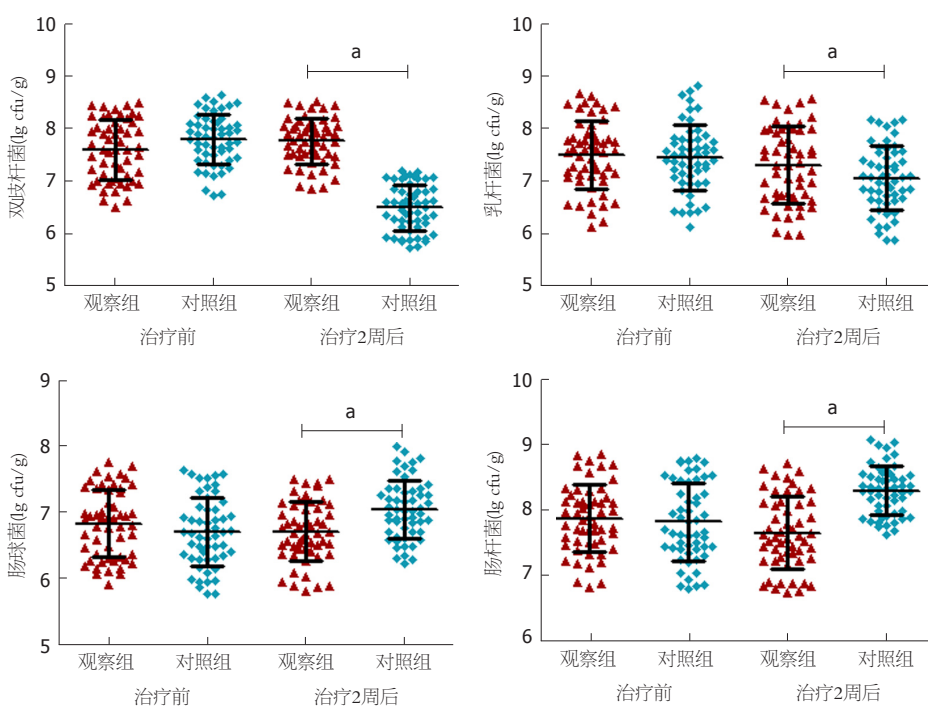


图 1 两组肠道菌群比较. ^a*P*<0.05, 对照组治疗2 wk后双歧杆菌、乳杆菌较治疗前减少, 肠球菌、肠杆菌较治疗前增加.

3.3 自拟脾胃调和汤对免疫-炎症、肠道菌群调控效应的影响 既往研究发现, *H. pylori*感染及胃炎的发生与胃肠黏膜异常免疫炎症反应、肠道菌群失调等有关^[22,23]. 因此, 推测调节机体免疫-炎症反应、调控肠道菌群可能对*H. pylori*相关性胃炎治疗具有积极意义. 目前, 炎症细

胞因子在*H. pylori*相关性胃炎发病、发展中的作用得到广泛重视, *H. pylori*感染造成胃肠黏膜局部炎症浸润, 这与TGF-β1、TNF-α、IL-6、IL-32、CRP等炎症介质的参与存在相关性^[24]. 本研究数据显示, 自拟脾胃调和汤辅助四联疗法治疗*H. pylori*相关性胃炎, 其TGF-β1、TNF-α、

IL-6、IL-32、CRP水平明显降低, 究其原因, 自拟脾胃调和汤中黄芩、黄连抗菌作用显著, 最小抑菌浓度低于 7.8mg/mL^{25} , 本研究通过四联疗法可破坏*H. pylori*生长环境, 在此基础上加用自拟脾胃调和汤, 能够增强中药抗菌活性, 降低炎性因子表达水平. T淋巴细胞为免疫活性细胞, 可直接介导细胞免疫^[26], 本研究结果显示, 治疗2 wk后观察组 CD3^+ 、 CD4^+ 、 $\text{CD4}^+/\text{CD8}^+$ 调节性T细胞表达高于对照组, 说明自拟脾胃调和汤辅助四联疗法治疗*H. pylori*相关性胃炎可显著改善患者免疫功能, 可能与自拟脾胃调和汤中所含甘草可提高机体免疫力, 党参可增强机体对非特异性刺激抵抗力等因素有关, 通过良好协调TH1与TH2细胞平衡, 实现对机体的免疫调节. 此外, 本研究将四联疗法用于*H. pylori*相关性胃炎患者, 发现其双歧杆菌、乳杆菌较治疗前减少, 肠球菌、肠杆菌较治疗前增加, 说明四联疗法可影响肠道微环境, 导致有益菌群较治疗前减少, 发生肠道菌群紊乱, 而在此基础上加用自拟脾胃调和汤, 其肠道菌群较治疗前未发生显著改变, 可能与自拟脾胃调和汤中半夏对异常状态下胃肠功能具有双向调节作用有关, 在改善机体炎症、免疫反应同时, 改善肠道内环境, 发挥良好肠道菌群调控效应, 但具体作用机制还需进一步深入探究. 本文统计治疗过程中恶心呕吐、乏力、腹泻、便秘等不良反应发生情况, 两组不良反应发生率比较并无显著差异, 表明上述治疗方案安全性良好, 值得临床推广应用.

4 结论

自拟脾胃调和汤辅助四联疗法治疗*H. pylori*相关性胃炎效果显著, 安全性良好, 可调节机体免疫、炎症反应, 且具有良好肠道菌群调控效应, 作用机制可能与调节胃肠道微生态平衡、增强机体免疫力、抑制炎症损伤及促进胃黏膜损伤修复有关. 此外, 本研究亦存在不足之处, 对肠道菌群分布情况的探究仅选取了双歧杆菌、乳杆菌、肠球菌、肠杆菌4种粪便细菌, 难以说明肠道菌群全貌, 还需在今后研究中完善试验条件, 进一步证实研究结果.

文章亮点

实验背景

临床治疗幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)相关性胃炎常采用四联疗法, 虽具有一定疗效, 但伴随患者耐药性上升, 该疗法对*H. pylori*的根除率日趋下降.

实验动机

中医治疗*H. pylori*相关性胃炎积累了丰富经验, 通过辨证论治和发挥整体治疗观念, 可达到标本兼治的目的.

实验目标

探讨自拟脾胃调和汤辅助四联疗法治疗*H. pylori*相关性胃炎的疗效及对免疫-炎症、肠道菌群调控效应, 证实中西医结合疗法的疗效.

实验方法

采用随机信封法将2018-07/2020-05月我院收治的108例*H. pylori*相关性胃炎患者分为两组, 各54例. 对照组采用四联疗法, 观察组采用自拟脾胃调和汤辅助四联疗法. 比较两组总有效率、中医证候积分、免疫功能指标(CD3^+ 、 CD4^+ 、 $\text{CD4}^+/\text{CD8}^+$)、炎症指标[转化生长因子- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-6 (IL-6)、白介素-32 (IL-32)、C反应蛋白(CRP)、肠道菌群、不良反应.

实验结果

观察组总有效率为96.30%, 高于对照组的81.48% ($P < 0.05$); 治疗2 wk后观察组胃脘疼痛持续时间、胃脘疼痛程度、脘腹痞胀、口苦或黏、口臭、恶心呕吐、大便黏滞评分低于对照组 ($P < 0.05$); 治疗2 wk后观察组 CD3^+ 、 CD4^+ 、 $\text{CD4}^+/\text{CD8}^+$ 高于对照组 ($P < 0.05$); 治疗2 wk后观察组TGF- $\beta 1$ 、TNF- α 、IL-6、IL-32、CRP低于对照组 ($P < 0.05$); 观察组治疗2 wk后双歧杆菌、乳杆菌、肠球菌、肠杆菌与治疗前比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 观察组不良反应总发生率3.70%与对照组9.26%比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$).

实验结论

自拟脾胃调和汤辅助四联疗法治疗*H. pylori*相关性胃炎效果显著, 能有效缓解临床症状, 调节机体免疫、炎症反应, 且具有良好肠道菌群调控效应, 安全可靠, 值得临床推广应用.

展望前景

本研究利用自拟脾胃调和汤辅助四联疗法治疗*H. pylori*相关性胃炎虽取得一定疗效, 证实中西医结合疗效的可行性, 但本研究选取样本较少, 且全为我院患者, 加之因时间、患者自身病情等因素, 未进行更长期随访研究, 可能对本研究结果可信度造成一定影响, 此结论有待多中心、大样本实验证实.

5 参考文献

- 1 El-Zimaity H, Choi WT, Lauwers GY, Riddell R. The differential diagnosis of *Helicobacter pylori* negative gastritis. *Virchows Arch* 2018; 473: 533-550 [PMID: 30255340 DOI: 10.1007/s00428-018-2454-6]
- 2 赵宇阳, 李慧, 张艳. 胃及口腔幽门螺杆菌感染与慢性胃炎的相关性分析. *中国实验诊断学* 2018; 22: 507-508 [DOI: 10.3969/

- j.issn.1007-4287.2018.03.045]
- 3 Lahner E, Carabotti M, Annibale B. Treatment of Helicobacter pylori infection in atrophic gastritis. *World J Gastroenterol* 2018; 24: 2373-2380 [PMID: 29904244 DOI: 10.3748/wjg.v24.i22.2373]
 - 4 张冰, 贾兰芳, 张月晓, 王艳玲. 四联疗法联合双歧杆菌四联活菌片根除幽门螺杆菌临床疗效分析. *临床军医杂志* 2017; 45: 712-714 [DOI: 10.16680/j.1671-3826.2017.07.17]
 - 5 Hu L, Li HY, Chen WQ, Lao SX, Luo Q. Ultrastructure Characteristics of Different Chinese Medicine Syndromes of Helicobacter pylori-Related Gastric Diseases. *Chin J Integr Med* 2019; 25: 917-921 [PMID: 31630360 DOI: 10.1007/s11655-019-3019-5]
 - 6 金焯, 张士敏, 韦婧, 张静, 郝斌, 沈雨倩. 幽门螺杆菌相关性胃炎患者中医证型及其与中医体质的相关性研究. *陕西中医* 2017; 38: 1380-1381 [DOI:10.3969/j.issn.1000-7369.2017.10.030]
 - 7 张戛, 吴东升, 徐寅, 杨仁义, 喻斌. 基于网络药理学分析半夏-黄芩-黄连治疗幽门螺杆菌相关性胃炎的作用机制. *天然产物研究与开发* 2020; 32: 592-599 [DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.4.007]
 - 8 中华医学会消化病学分会幽门螺杆菌和消化性溃疡学组, 全国幽门螺杆菌研究协作组, 刘文忠, 谢勇, 陆红, 成虹, 曾志荣, 周丽雅, 陈焯, 王江滨, 杜奕奇, 吕农华. 全国幽门螺杆菌研究协作组第五次全国幽门螺杆菌感染处理共识报告. *胃肠病学* 2017; 22: 346-360 [DOI:10.3969/j.issn.1008-7125.2017.06.006]
 - 9 中华医学会消化内镜学分会. 中国胶囊内镜临床应用指南. *中国实用内科杂志* 2014; 34: 984-991 [DOI:10.7504/nk2014090302]
 - 10 罗红, 黄贵华, 林华胜. 幽门螺杆菌相关性胃炎抗幽门螺杆菌治疗前后中医证候对比研究. *湖北中医杂志* 2019; 41: 46-49
 - 11 谢川, 吕农华. 中国幽门螺杆菌感染的现状. *疾病监测* 2018; 33: 272-275 [DOI:10.3784/j.issn.1003-9961.2018.04.004]
 - 12 陈慕豪, 王立恒, 郭美萍. 慢性胃炎不同中医证型与幽门螺杆菌根除率的相关性研究. *广州中医药大学学报* 2017; 34: 478-482 [DOI:10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2017.04.003]
 - 13 Sanaii A, Shirzad H, Haghghian M, Rahimian G, Soltani A, Shafigh M, Tahmasbi K, Bagheri N. Role of Th22 cells in Helicobacter pylori-related gastritis and peptic ulcer diseases. *Mol Biol Rep* 2019; 46: 5703-5712 [PMID: 31359381 DOI: 10.1007/s11033-019-05004-1]
 - 14 张弘, 何凌. 幽门螺杆菌感染中医病因探讨. *辽宁中医药大学学报* 2018; 20: 190-192 [DOI:10.13194/j.issn.1673-842x.2018.01.053]
 - 15 梁艺钟, 林德荣, 郭绍举, 李健. 中药治疗脾胃虚弱型幽门螺杆菌相关性慢性胃炎的疗效分析. *中国现代医学杂志* 2019; 29: 103-107 [DOI:10.3969/j.issn.1005-8982.2019.16.020]
 - 16 杜艳茹, 章蒙, 任玉青, 狄紫蕊, 任雪童, 王彦刚. 胃康安对幽门螺杆菌相关性胃炎患者血清胃泌素-17及胃蛋白酶原的影响. *中医杂志* 2019; 60: 1051-1055 [DOI:10.13288/j.11-2166/r.2019.12.013]
 - 17 李淑红, 刘华一, 唐艳萍. 中药疏肝健脾清热化湿法结合西药三联疗法治疗Hp相关性胃炎疗效观察. *世界中西医结合杂志* 2017; 12: 1140-1143 [DOI: 10.13935/j.cnki.sjzx.170828]
 - 18 杨占华, 耿秀超, 李强. 加味半夏泻心汤治疗幽门螺杆菌相关性胃炎疗效分析. *中医临床研究* 2019; 11: 54-56
 - 19 董宝迪. 香砂平胃散联合半夏泻心汤治疗幽门螺杆菌相关性慢性胃炎的疗效及药理学分析. *中国医药指南* 2019; 17: 212-213
 - 20 卢美璘, 张印, 李绍旦, 杨明会. 半夏泻心汤化裁方治疗幽门螺杆菌相关性胃炎寒热错杂证的临床研究. *北京中医药* 2019; 38: 480-483 [DOI:10.16025/j.1674-1307.2019.05.020]
 - 21 周晓静, 刘爱玲. 针刺配合小柴胡汤合平胃散加减治疗慢性浅表性胃炎肝胃不和的临床研究. *实用中西医结合临床* 2019; 19: 66-68 [DOI:10.13638/j.issn.1671-4040.2019.11.032]
 - 22 Park HS, Jeong HY, Kim YS, Seo CS, Ha H, Kwon HJ. Anti-microbial and anti-inflammatory effects of Cheonwangbosimdan against Helicobacter pylori-induced gastritis. *J Vet Sci* 2020; 21: e39 [PMID: 32476313 DOI: 10.4142/jvs.2020.21.e39]
 - 23 黄勇, 张晓青, 金忠芹, 唐伟国, 武庆斌. 慢性胃炎组织病理特征和Hp感染与炎症程度的关系研究. *现代生物医学进展* 2017; 17: 2707-2710 [DOI:10.13241/j.cnki.pmb.2017.14.026]
 - 24 杨英君, 李仁祥, 廖苑君, 张菊红. 胃苏颗粒联合三联疗法在Hp感染慢性胃炎中应用效果及对炎症因子、黏膜COX-2等水平的影响. *中国处方药* 2020; 18: 107-108 [DOI:10.3969/j.issn.1671-945X.2020.04.058]
 - 25 Zhao M, Jiang Y, Chen Z, Fan Z, Jiang Y. Traditional Chinese medicine for Helicobacter pylori infection: A protocol for a systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 2021; 100: e24282 [PMID: 33546052 DOI: 10.1097/MD.00000000000024282]
 - 26 赵伟青, 张晓华. 益胃汤联合西药治疗Hp阳性消化性溃疡的临床疗效及对免疫功能的影响研究. *中医临床研究* 2019; 11: 55-56 [DOI: 10.3969/j.issn.1674-7860.2019.05.021]

科学编辑: 刘继红 制作编辑: 张砚梁



高脂血症性急性胰腺炎研究进展

于先强, 李维勤

于先强, 李维勤, 东南大学医学院 江苏省南京市 210009

李维勤, 东部战区总医院重症医学科 江苏省南京市 210002

于先强, 博士, 主要从事急性胰腺炎的基础和临床研究.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目, No. 81870441.

作者贡献分布: 本文综述由于先强完成; 李维勤审校.

通讯作者: 李维勤, 博士, 教授, 主任医师, 210002, 江苏省南京市玄武区中山东路305号东部战区总医院, 东南大学附属金陵医院重症医学科. njzy_pancrea@163.com

收稿日期: 2021-03-31

修回日期: 2021-04-24

接受日期: 2021-06-02

在线出版日期: 2021-07-28

Progress in research of hyperlipidemic acute pancreatitis

Xian-Qiang Yu, Wei-Qin Li

Xian-Qiang Yu, Wei-Qin Li, Medical College of Southeast University, Nanjing 210009, Jiangsu Province, China

Wei-Qin Li, Department of Critical Care Medicine, Jinling Hospital, Affiliated to Southeast University, General Hospital of Eastern Theater Command, Nanjing 210002, Jiangsu Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81870441.

Corresponding author: Wei-Qin Li, Professor, Department of Critical Care Medicine, Jinling Hospital, Affiliated to Southeast University, General Hospital of Eastern Theater Command, No. 305 East Zhongshan Road, Xuanwu District, Nanjing 210002, Jiangsu Province, China. njzy_pancrea@163.com

Received: 2021-03-31

Revised: 2021-04-24

Accepted: 2021-06-02

Published online: 2021-07-28

Abstract

With the continuous change of dietary structure and other factors, the incidence of hyperlipidemic acute pancreatitis (HLAP) has increased year by year. In particular, HLAP is different from other types of acute pancreatitis in its mechanism, so its clinical diagnosis and treatment have its own particularity. In this paper, we review the progress in the research of HLAP.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Acute pancreatitis; Hyperlipidemia; Triglyceride; Treatment; Low molecular weight heparin

Citation: Yu XQ, Li WQ. Progress in research of hyperlipidemic acute pancreatitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(14): 804-808

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i14/804.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i14.804>

摘要

随着人群饮食结构等因素的不断改变, 高脂血症性急性胰腺炎(hyperlipidemia acute pancreatitis, HLAP)的发病率逐年增加. 尤其HLAP具有区别于其他类型急性胰腺炎的机制特点, 因此其临床诊疗存在本身的特殊性. 本篇将结合HLAP的研究进展进行综述.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 急性胰腺炎; 高脂血症; 甘油三酯; 治疗; 低分子肝素

核心提要: 本篇通过对高脂血症性急性胰腺炎的病因、发病机制及诊疗等方面的最新研究进行系统综述, 全面的概括了当前对高脂血症诱发的急性胰腺炎的认识, 并且通过回顾与展望明确了进一步对高脂血症性急性胰腺炎的研究方向和临床把握.

文献来源: 于先强, 李维勤. 高脂血症性急性胰腺炎研究进展. 世界华人消化杂志 2021; 29(14): 804-808

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i14/804.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i14.804>

0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是临床常见的急腹症,病情进展往往给患者带来极大痛苦和经济负担,其主要的临床表现为急性上腹痛、恶心、呕吐、发热和血胰淀粉酶增高等特点^[1-4]。胆源性因素、酒精和高脂血症是AP的三大病因,由各种病因导致的胰酶激活引发胰腺自身消化进而诱发局部炎症是目前公认的发病机制^[5]。此外,病情发展或可伴随局部及全身并发症。近些年随着人群饮食结构和习惯的调整,高脂血症性急性胰腺炎(hyperlipidemia acute pancreatitis, HLAP)的发病率逐渐增加,HLAP已经成为我中心首位的AP病因。另外,HLAP有区别于其他类型AP的临床特点,本篇将对HLAP发病及临床诊疗情况进展综述。

1 HLAP病因

血清甘油三酯(triglyceride, TG)显著升高是HLAP的诱发因素,因此血脂代谢异常增高相关问题如高脂饮食、肥胖、脂肪肝、家族性高脂血症及糖尿病等都可能成为其潜在的危险因素^[6,7]。HLAP具有AP常见的临床表现,此外还具有发病年龄早、易复发、易发生重型急性胰腺炎等自身特点^[8,9]。HLAP的病因广泛,因而针对病因的进一步研究对于HLAP的诊疗尤为重要。

2 HLAP发病机制

HLAP的发病机制复杂,尽管相关研究逐年增加,HLAP的确切发病机制仍不明确。较普遍认为TG分解产物游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)是主要的毒性物质^[10]。FFA超载直接损伤胰腺内腺泡细胞和血管内皮细胞,造成组织局部缺血和酸性环境,酸性环境不断刺激胰脂肪酶并加速FFA超载,最终发挥FFA的毒性作用和组织损伤^[11]。

此外,近些年的研究显示HLAP的发生与微循环障碍、钙超载与内质网应激以及基因突变有关^[12]。微循环障碍理论认为,高脂血症患者体内蓄积大量乳糜微粒(chylomicron, CM)及FFA,造成胰腺微循环不畅甚至缺血。另外高脂血症患者血液粘稠度增加,促使血小板释放的血栓素,进而胰腺微血管收缩,胰腺组织缺血缺氧,最终诱发高脂血症性急性胰腺炎^[13]。钙超载与内质网应激理论认为,大量代谢产物FFA诱发胰腺腺泡细胞及细胞器膜脂质过氧化,导致膜受体介导的信号转导紊乱,造成腺泡细胞内Ca²⁺超载,最终活化胰蛋白酶。同时

胞内Ca²⁺超载引发内质网应激,造成腺泡细胞损伤和死亡^[14,15]。近几年HLAP患者基因检测到特殊的现象,患者CFTR基因突变率为26.1%,但在未发生HLAP的高脂血症患者中CFTR基因突变率只有1.3%^[16]。另外,我们中心最近的研究发现两个脂蛋白酯酶(lipoprotein lipase, LPL)基因杂合突变W14X和I279v是复合且分离的,这可能导致长期发生HLAP和复发性AP^[17]。另外最近有学者指出,C反应蛋白、红细胞分布宽度和坏死程度是HLAP进展风险的早期预测指标,这对了解疾病的发生发展特点提供了帮助^[18]。

总的来说,HLAP是一种复杂的胰腺炎症性疾病,它的发生可能受多方面因素的影响,因此需要大量有价值的研究明确其具体的发生机制。

3 HLAP诊断

依据最新版《中国急性胰腺炎诊治指南(2019年,沈阳)》(简称指南),首先符合AP诊断标准,且血清TG水平达到11.30 mmol/L,可诊断为HLAP^[19]。需要注意的是,若患者一周内无饮酒史,且排除胆源性因素,无外伤史及手术史,血清TG水平在5.65-11.30 mmol/L之间,具有AP临床表现时同样诊断为HLAP。

4 HLAP治疗

针对HLAP目前仍然没有标准的治疗规范。HLAP在一般治疗基础上的针对性治疗策略及综合管理是有效的干预措施,尤其以降脂为目的的手段是治疗HLAP的关键。结合临床有效的干预措施具体可以分为以下几个方面。

4.1 一般治疗 主要包括禁食水、早期液体复苏、抗感染、胃肠减压、营养支持、胰酶抑制及纠正电解质紊乱,以及必要的抗休克治疗。其中需要注意以下几个方面:(1)关于营养支持,住院期间需定期检测血脂水平,发病3 d内严格禁止任何类型的脂肪乳输入,若TG降至5.65 mmol/L以下,可尝试输入短、中链脂肪乳^[20];(2)关于早期肠内营养有助于恢复胃肠蠕动,不仅可以减少细菌易位、促进腹腔积液吸收,还能够降低腹内压。此外,研究发现谷氨酰胺能够促进肠黏膜上皮细胞增殖并抑制炎症,从而保护AP^[21-23]。

4.2 降脂治疗 早期积极降脂是治疗HLAP的关键并可以改善预后。降脂治疗主要包括药物降脂和血液净化。临床上常见的降脂药物主要分为贝特类、他汀类、烟酸等,其中贝特类为临床首选^[24]。另外有研究表明 ω -3脂肪酸与降脂药物合用时,能够显著降脂^[25]。

低分子肝素和胰岛素:低分子肝素(low molecular weight heparin, LMWH)能够激活LPL,促进CM分解,从而降低TG水平,同时还有修复血管内皮,减少血小板

聚集的抗血栓效果^[26]。另外,最近的研究从机制上进一步阐明其明显的抗炎机制^[27]。胰岛素则主要通过降低ANGPTL3基因表达从而降低TG水平^[28]。胰岛素还具有抗炎及保护血管内皮等多重作用。LMWH和胰岛素作为临床老药在抗炎、抗凝及降脂方面的显著效果,其联合应用于HLAP降脂已经被临床广泛推广^[29]。

血液净化:血液净化是快速降脂的有效方法,可迅速清除血浆中的CM和TG及胰酶浓度、降低炎症介质的炎性损伤。临床常见的血液净化方式主要包括血浆置换(plasma exchange, PE)、血液滤过(hemofiltration, HF)、血液透析(hemodialysis, HD)、血液灌流(hemoperfusion, HP)等,血液净化主要针对血脂严重异常的HLAP患者。例如PE能够迅速降低HLAP患者TG水平,清除炎症介质,减轻全身炎症反应综合征,达到治疗目的。研究表明入院后立即行PE,血浆TG下降了84%,并且可以明显改善病程^[30]。但PE治疗存在成本高,易发生过敏反应、发热及疾病传播。HF利用半透膜原理滤过吸附TG,并且交换的电解质溶液作为补充,达到血液净化的目的。双重HF避免了新鲜冰冻血浆可能导致的过敏反应,但价格昂贵^[31]。HD将血液引流到体外进行交换并回输,不仅清除TG等产物,还可以滤过体内过多的水分,达到维持内环境稳定的目的。HP则采用体外装置以固态吸附的方式清除TG等产物及炎症介质并完成血液回输,最终达到治疗效果^[32]。此外,也有研究表明血液灌流联合血液透析过滤是一种有效的治疗方法,可有效降低血脂水平,降低高脂血症引起急性胰腺炎的风险^[33]。

4.3 基因治疗 随着基因治疗技术的发展和广泛应用,HLAP的基因治疗逐渐被关注。家族性乳糜微粒综合征(familial chylomicron syndrome, FCS)是一种罕见的8号染色体短臂上编码LPL基因的功能性缺失导致的遗传性疾病,患者往往幼年发生胰腺炎,易反复发作^[34]。目前欧洲已通过针对FCS基因治疗的药物使用,但其临床效果有待于进一步验证,此外其高昂的价格也限制了临床广泛推广。

4.4 中医治疗 中医理论认为,HLAP的发生由于肝郁气滞、脾胃实热及腑气不通所致,因此应以清热解毒、疏肝理气、通腑泻下为原则进行治疗。国内学者的研究表明HLAP患者中药治疗如清胰汤、大承气汤等明显减轻症状改善预后^[35,36]。另外,电针技术作为传统中医针灸的进一步发展,能够降低HLAP患者炎症介质,减轻炎症,尤其在改善胃肠道功能方面有显著的效果,同时也需要更多有力的临床证据加以验证^[37-41]。

4.5 外科治疗 HLAP的外科治疗主要体现在并发症的处理上。如发生胰腺假性囊肿、消化道瘘、胰瘘、胰腺出血、感染及坏死等情况时,必要的外科干预治疗能够取

得良好的效果^[42]。需要强调的是,外科干预的目的在于减轻并发症,缓解症状,过度的外科干预可能带来负面的临床效果。同时个体化的微创外科处理对于降低手术创伤、提高救治率具有重要意义。

5 结论

随着人群饮食结构等因素的不断改变,HLAP的发病率逐年增加。尤其,HLAP的病理生理机制复杂目前仍不能明确其具体的发生机制,当下从微循环障碍、钙超载与内质网应激以及基因突变等角度的理解与思考也为指导临床治疗提供了有力的理论基础。同时个体化病因基础上的治疗策略选择将更加精准的改善HLAP患者临床病程和预后。此外,关于HLAP发病机制的深入研究尤为重要。

6 参考文献

- 1 Windsor JA, Escott A, Brown L, Phillips AR. Novel strategies for the treatment of acute pancreatitis based on the determinants of severity. *J Gastroenterol Hepatol* 2017; 32: 1796-1803 [PMID: 28294403 DOI: 10.1111/jgh.13784]
- 2 Forsmark CE, Vege SS, Wilcox CM. Acute Pancreatitis. *N Engl J Med* 2016; 375: 1972-1981 [PMID: 27959604 DOI: 10.1056/NEJMra1505202]
- 3 Smith C, Cowan C, Sensenig A, Catlin A; Health Accounts Team. Health spending growth slows in 2003. *Health Aff (Millwood)* 2005; 24: 185-194 [PMID: 15644387 DOI: 10.1377/hlthaff.24.1.185]
- 4 Peery AF, Dellon ES, Lund J, Crockett SD, McGowan CE, Bulsiewicz WJ, Gangarosa LM, Thiny MT, Stizenberg K, Morgan DR, Ringel Y, Kim HP, DiBonaventura MD, Carroll CF, Allen JK, Cook SF, Sandler RS, Kappelman MD, Shaheen NJ. Burden of gastrointestinal disease in the United States: 2012 update. *Gastroenterology* 2012; 143: 1179-1187.e3 [PMID: 22885331 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.08.002]
- 5 Lerch MM. Classifying an unpredictable disease: the revised Atlanta classification of acute pancreatitis. *Gut* 2013; 62: 2-3 [PMID: 23220948 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-303724]
- 6 Inoue-Nishimoto T, Hanafusa T, Hirohata A, Kiyohara-Mabuchi E, Mizoguchi N, Matsumoto K, Sakamoto S, Zenibayashi M, Miyata S, Ikegami R. Eruptive Xanthoma with Acute Pancreatitis in a Patient with Hypertriglyceridemia and Diabetes. *Ann Dermatol* 2016; 28: 136-137 [PMID: 26848240 DOI: 10.5021/ad.2016.28.1.136]
- 7 Chaudhary A, Iqbal U, Anwar H, Siddiqui HU, Alvi M. Acute Pancreatitis Secondary to Severe Hypertriglyceridemia: Management of Severe Hypertriglyceridemia in Emergency Setting. *Gastroenterology Res* 2017; 10: 190-192 [PMID: 28725307 DOI: 10.14740/gr762e]
- 8 Yin G, Cang X, Yu G, Hu G, Ni J, Xiong J, Hu Y, Xing M, Chen C, Huang Y, Tang M, Zhao Y, Cheng G, Wan R, Wang S, Wang X. Different Clinical Presentations of Hyperlipidemic Acute Pancreatitis: A Retrospective Study. *Pancreas* 2015; 44: 1105-1110 [PMID: 26348469 DOI: 10.1097/MPA.0000000000000403]
- 9 中国医师协会胰腺病学专业委员会. 中国急性胰腺炎多学科诊治(MDT)共识意见(草案). *中国实用内科杂志* 2015; 35: 1004-1010 [DOI: 10.7504/nk2015110301]
- 10 桂海波, 陈雪梅. “高三酰甘油血症急性胰腺炎的研究新进展.” *医学综述* 2016; 22: 4245-4249
- 11 Garg R, Rustagi T. Management of Hypertriglyceridemia Induced Acute Pancreatitis. *Biomed Res Int* 2018; 2018: 4721357

- [PMID: 30148167 DOI: 10.1155/2018/4721357]
- 12 马江辰, 保志军. 高脂血症性急性胰腺炎发病机制的研究进展. *国际消化病杂志* 2017; 37: 24-27 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-534X.2017.01.007]
 - 13 Wang Y, Sternfeld L, Yang F, Rodriguez JA, Ross C, Hayden MR, Carriere F, Liu G, Hofer W, Schulz I. Enhanced susceptibility to pancreatitis in severe hypertriglyceridaemic lipoprotein lipase-deficient mice and agonist-like function of pancreatic lipase in pancreatic cells. *Gut* 2009; 58: 422-430 [PMID: 18936103 DOI: 10.1136/gut.2007.146258]
 - 14 Szmola R, Sahin-Tóth M. Pancreatitis-associated chymotrypsinogen C (CTRC) mutant elicits endoplasmic reticulum stress in pancreatic acinar cells. *Gut* 2010; 59: 365-372 [PMID: 19951900 DOI: 10.1136/gut.2009.198903]
 - 15 Gerasimenko JV, Gerasimenko OV, Petersen OH. The role of Ca²⁺ in the pathophysiology of pancreatitis. *J Physiol* 2014; 592: 269-280 [PMID: 23897234 DOI: 10.1113/jphysiol.2013.261784]
 - 16 Chang YT, Chang MC, Su TC, Liang PC, Su YN, Kuo CH, Wei SC, Wong JM. Association of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) mutation/variant/haplotype and tumor necrosis factor (TNF) promoter polymorphism in hyperlipidemic pancreatitis. *Clin Chem* 2008; 54: 131-138 [PMID: 17981921 DOI: 10.1373/clinchem.2007.093492]
 - 17 Li X, Yang Q, Shi X, Chen W, Pu N, Li W, Li J. Compound but non-linked heterozygous p.W14X and p.L279 V LPL gene mutations in a Chinese patient with long-term severe hypertriglyceridemia and recurrent acute pancreatitis. *Lipids Health Dis* 2018; 17: 144 [PMID: 29921298 DOI: 10.1186/s12944-018-0789-2]
 - 18 Cao X, Wang HM, Du H, Chen EX, Yang XF, Wang SL, Ding Y, She ZF. Early predictors of hyperlipidemic acute pancreatitis. *Exp Ther Med* 2018; 16: 4232-4238 [PMID: 30344698 DOI: 10.3892/etm.2018.6713]
 - 19 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组, 《中华胰腺病杂志》编委会, 《中华消化杂志》编委会. 中国急性胰腺炎诊治指南(2019年, 沈阳). *中华消化杂志* 2019; 39: 721-730 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1432.2019.11.001]
 - 20 余锋尤, 杨普云, 吴全忠. 肠内与肠外营养对急性重症胰腺炎促炎因子及肠屏障功能的影响. *现代临床医学* 2016; 42: 2 [DOI: 10.11851/j.issn.1673-1557.2016.02.018]
 - 21 Reintam-Blaser A, Poeze M, Malbrain ML, Björck M, Oudemans-van Straaten HM, Starkopf J; Gastro-Intestinal Failure Trial Group. Gastrointestinal symptoms during the first week of intensive care are associated with poor outcome: a prospective multicentre study. *Intensive Care Med* 2013; 39: 899-909 [PMID: 23370829 DOI: 10.1007/s00134-013-2831-1]
 - 22 刘丽蕾, 王湘英. 重症急性胰腺炎合并胃肠功能障碍的机制研究及诊治现状. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 3828-3834 [DOI: 10.11569/wjcd.v21.i34.3828]
 - 23 Tenner S, Baillie J, DeWitt J, Vege SS; American College of Gastroenterology. American College of Gastroenterology guideline: management of acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 1400-15; 1416 [PMID: 23896955 DOI: 10.1038/ajg.2013.218]
 - 24 Chapman MJ. Fibrates in 2003: therapeutic action in atherogenic dyslipidaemia and future perspectives. *Atherosclerosis* 2003; 171: 1-13 [PMID: 14642400 DOI: 10.1016/s0021-9150(03)00156-4]
 - 25 Maki KC, Orloff DG, Nicholls SJ, Dunbar RL, Roth EM, Curcio D, Johnson J, Kling D, Davidson MH. A highly bioavailable omega-3 free fatty acid formulation improves the cardiovascular risk profile in high-risk, statin-treated patients with residual hypertriglyceridemia (the ESPRIT trial). *Clin Ther* 2013; 35: 1400-11.e1-3 [PMID: 23998969 DOI: 10.1016/j.clinthera.2013.07.420]
 - 26 Andican G, Gelisgen R, Unal E, Tortum OB, Dervisoglu S, Karahasanoglu T, Burçak G. Oxidative stress and nitric oxide in rats with alcohol-induced acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 2340-2345 [PMID: 15818750 DOI: 10.3748/wjg.v11.i15.2340]
 - 27 Tang Y, Wang X, Li Z, He Z, Yang X, Cheng X, Peng Y, Xue Q, Bai Y, Zhang R, Zhao K, Liang F, Xiao X, Andersson U, Wang H, Billiar TR, Lu B. Heparin prevents caspase-11-dependent septic lethality independent of anticoagulant properties. *Immunity* 2021; 54: 454-467.e6 [PMID: 33561388 DOI: 10.1016/j.immuni.2021.01.007]
 - 28 NidhinaHaridas PA, Soronen J, Sädevirta S, Mysore R, Quagliariini F, Pasternack A, Metso J, Perttilä J, Leivonen M, Smas CM, Fischer-Posovszky P, Wabitsch M, Ehnholm C, Ritvos O, Jauhainen M, Olkkonen VM, Yki-Järvinen H. Regulation of Angiopoietin-Like Proteins (ANGPTLs) 3 and 8 by Insulin. *J Clin Endocrinol Metab* 2015; 100: E1299-E1307 [PMID: 26204133 DOI: 10.1210/jc.2015-1254]
 - 29 Kuchay MS, Farooqui KJ, Bano T, Khandelwal M, Gill H, Mithal A. Heparin and insulin in the management of hypertriglyceridemia-associated pancreatitis: case series and literature review. *Arch Endocrinol Metab* 2017; 61: 198-201 [PMID: 28225998 DOI: 10.1590/2359-3997000000244]
 - 30 Gavva C, Sarode R, Agrawal D, Burner J. Therapeutic plasma exchange for hypertriglyceridemia induced pancreatitis: A rapid and practical approach. *Transfus Apher Sci* 2016; 54: 99-102 [PMID: 26947356 DOI: 10.1016/j.transci.2016.02.001]
 - 31 Chang CT, Tsai TY, Liao HY, Chang CM, Jheng JS, Huang WH, Chou CY, Chen CJ. Double Filtration Plasma Apheresis Shortens Hospital Admission Duration of Patients With Severe Hypertriglyceridemia-Associated Acute Pancreatitis. *Pancreas* 2016; 45: 606-612 [PMID: 26491906 DOI: 10.1097/MPA.0000000000000507]
 - 32 谭黄业, 樊献军, 耿协强, 张力峰, 肖咏梅. 高脂血症性重症急性胰腺炎临床特征及诊治. *中华实用诊断与治疗杂志* 2010; 24: 1123-1124
 - 33 Li MQ, Shi ZX, Xu JY, Lu B, Li JQ, Xu YJ, Wang XM, Li SM, Mo X. Hemodiafiltration combined with resin-mediated adsorption as a therapy for hyperlipidemic acute pancreatitis. *Cell Biochem Biophys* 2014; 69: 699-702 [PMID: 24671670 DOI: 10.1007/s12013-014-9855-1]
 - 34 Gaudet D, Brisson D, Tremblay K, Alexander VJ, Singleton W, Hughes SG, Geary RS, Baker BF, Graham MJ, Crooke RM, Witztum JL. Targeting APOC3 in the familial chylomicronemia syndrome. *N Engl J Med* 2014; 371: 2200-2206 [PMID: 25470695 DOI: 10.1056/NEJMoa1400284]
 - 35 陈爱华. 清胰通腑汤保留灌肠治疗重症急性胰腺炎的临床观察. *中国中医急症* 2018; 27: 135-137 [DOI: 10.3969/j.issn.1004-745X.2018.01.044]
 - 36 门燕荣. 中西医结合早期治疗重症急性胰腺炎30例疗效观察. *河北中医* 2018; 40: 83-87 [DOI: 10.3969/j.issn.1002-2619.2018.01.020]
 - 37 Zhao L, Li X, Shi Z. [Clinical observation on severe acute pancreatitis treated with electroacupuncture at Dachangshu (BL 25) and Shangjuxu (ST 37) combined with ulinastatin]. *Zhongguo Zhen Jiu* 2018; 38: 132-136 [PMID: 29473354 DOI: 10.13703/j.0255-2930.2018.02.005]
 - 38 Wang XY. [Electroacupuncture for treatment of acute pancreatitis and its effect on the intestinal permeability of the patient]. *Zhongguo Zhen Jiu* 2007; 27: 421-423 [PMID: 17663105]
 - 39 Luo YH, Zhong GW, Zhao SP, Tang HM, Zhang LN. [Efficacy observation of electroacupuncture intervention on severe acute pancreatitis at early stage complicated with intestinal paralysis]. *Zhongguo Zhen Jiu* 2011; 31: 105-109 [PMID: 21442805]
 - 40 Zhu SF, Guo H, Zhang RR, Zhang Y, Li J, Zhao XL, Chen TR, Wan MH, Chen GY, Tang WF. Effect of electroacupuncture on the inflammatory response in patients with acute pancreatitis: an exploratory study. *Acupunct Med* 2015; 33: 115-120 [PMID: 25520280 DOI: 10.1136/acupmed-2014-010646]
 - 41 Li L, Yu J, Mu R, Dong S. Clinical Effect of Electroacupuncture on Lung Injury Patients Caused by Severe Acute Pancreatitis. *Evid Based Complement Alternat Med* 2017; 2017: 3162851 [PMID: 28225998 DOI: 10.1155/2017/3162851]



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 Baishideng Publishing Group Inc.
All rights reserved.

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

本刊讯 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569, *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology*], 是一本由来自国内31个省、市、自治区、和香港特别行政区和719位胃肠病学和肝病专家支持的开放存取的同行评议的半月刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

除了公开存取之外, 《世界华人消化杂志》的另一大特色是对普通读者的充分照顾, 即每篇论文都会附带有一组供非专业人士阅读的通俗易懂的介绍大纲, 包括实验背景、实验动机、实验目标、实验方法、实验结果、实验结论、展望前景。

《世界华人消化杂志》报道的内容包括食管、胃、肠、肝、胰肿瘤, 食管疾病、胃肠及十二指肠疾病、肝胆疾病、肝脏疾病、胰腺疾病、感染、内镜检查法、流行病学、遗传学、免疫学、微生物学, 以及胃肠道运动对神经的影响、传送、生长因素和受体、营养肥胖、成像及高科技技术。

《世界华人消化杂志》的目标是出版高质量的胃肠病学和肝病领域的专家评论及临床实践和基础研究相结合具有实践意义的文章, 为内科学、外科学、感染病学、中医药学、肿瘤学、中西医结合学、影像学、内镜学、介入治疗学、病理学、基础研究等医生和研究者提供转换平台, 更新知识, 为患者康复服务。

去泛素化酶在结直肠癌中的研究进展

韩柳, 郭婷, 刘德良, 谭玉勇

韩柳, 郭婷, 刘德良, 谭玉勇, 中南大学湘雅二医院消化内科 湖南省长沙市 410011

韩柳, 郭婷, 刘德良, 谭玉勇, 中南大学消化病研究中心 湖南省长沙市 410011

韩柳, 硕士研究生, 研究方向为去泛素化酶在结直肠癌中的作用及机制研究.

基金项目: 国家自然科学基金, No.81902512.

作者贡献分布: 此课题由韩柳、郭婷、刘德良、谭玉勇设计; 研究过程由韩柳、谭玉勇完成; 资料收集与分析由郭婷、刘德良完成; 本文章写作由韩柳、郭婷、刘德良、谭玉勇完成.

通讯作者: 谭玉勇, 主治医师, 博士, 410011, 湖南省长沙市人民中路139号中南大学湘雅二医院消化内科. tanyuyong@csu.edu.cn

收稿日期: 2021-04-01

修回日期: 2021-05-01

接受日期: 2021-05-25

在线出版日期: 2021-07-28

Progress in research of deubiquitination enzymes in colorectal cancer

Liu Han, Ting Guo, De-Liang Liu, Yu-Yong Tan

Liu Han, Ting Guo, De-Liang Liu, Yu-Yong Tan, Department of Gastroenterology, Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, Hunan Province, China

Liu Han, Ting Guo, De-Liang Liu, Yu-Yong Tan, Research Center of Digestive Diseases, Central South University, Changsha 410011, Hunan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No.81902512.

Corresponding author: Yu-Yong Tan, Attending Doctor, Department of Gastroenterology, Second Xiangya Hospital, Central South University, No. 139 Renmin Middle Road, Changsha 410011, Hunan Province, China. tanyuyong@csu.edu.cn

Received: 2021-04-01

Revised: 2021-05-01

Accepted: 2021-05-25

Published online: 2021-07-28

Abstract

Dubiquitinating enzymes include six subfamilies, which are widely distributed in various cells of the body. They play an important role in many processes, such as regulating the degradation of protein, and are involved in cell growth and proliferation, immune regulation, nerve function, tumor development, and molecular signaling pathways. Colorectal cancer, as one of the five malignant tumors with the highest morbidity and mortality, is a serious threat to human health. More and more studies have reported that the deubiquitination enzyme family plays an important role in the occurrence and development of colorectal cancer. Here, we review the recent progress in the research of deubiquitination enzymes in colorectal cancer.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colorectal cancer; Deubiquitination enzymes

Citation: Han L, Guo T, Liu DL, Tan YY. Progress in research of deubiquitination enzymes in colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(14): 809-815

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i14/809.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i14.809>

摘要

去泛素化酶(deubiquitinating enzymes, DUBs)包括六大亚家族, 广泛分布于机体的各种细胞内, 对蛋白质产生去泛素化作用, 从而调节蛋白质的降解, 在细胞的生长增殖、免疫调节、神经功能、肿瘤发生发展及分子信号通路等多方面发挥重要作用. 结直肠癌作为发病率、死亡率最高的五大恶性肿瘤之一, 严重的威胁了人类健康, 越来越多的研究报道发现去

泛素化酶家族在结直肠癌的发生发展中起到重要的调控作用, 本文就此相关进展作如下综述.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 结直肠癌; 去泛素化酶

核心提要: 去泛素化酶(deubiquitinating enzymes, DUBs)存在于人体的各种细胞内, 对人体的多种生理作用都有重要的调控作用, 本文就多种去泛素化酶在结直肠癌中的调控作用与机制进行了相关阐述, 进一步了解去泛素化酶在结直肠癌中的作用.

文献来源: 韩柳, 郭婷, 刘德良, 谭玉勇. 去泛素化酶在结直肠癌中的研究进展. 世界华人消化杂志 2021; 29(14): 809-815

URL: <https://www.wjnet.com/1009-3079/full/v29/i14/809.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i14.809>

0 引言

去泛素化酶(deubiquitinating enzymes, DUBs)发现于上世纪90年代, 其广泛分布于机体的各种细胞内, 通过水解蛋白质底物上所存在的泛素链, 对蛋白质产生去泛素化作用, 从而调节蛋白质的降解, 同时也可对蛋白质的功能产生影响^[1]. 目前已发现的去泛素化酶包括6大亚家族, 共约90多种去泛素化酶成员, 这些酶通过其生物化学功能, 在细胞的生长、DNA修复、炎症反应、免疫调节、神经功能、肿瘤发生发展及分子信号通路等多方面发挥重要作用^[2].

结直肠癌作为发病率、死亡率最高的五大恶性肿瘤之一, 严重的威胁了人类健康, 影响人类寿命及生活质量, 造成了较重的社会经济负担. 越来越多的研究报告发现去泛素化酶家族在结直肠癌的发生发展中起到重要的调控作用, 本文就此相关进展作如下综述.

1 泛素蛋白特异性蛋白酶家族

泛素蛋白特异性蛋白酶家族(ubiquitin-specific processing proteases, USPs)属于半胱氨酸蛋白酶, 是目前已知的DUBs中成员最多, 结构功能最具多样性的一类成员, 已发现50多名成员^[3]. 该家族都具有高度保守的USP域, 其三个子域形成独特的结构, 类似于人类的右手手掌、拇指及其余手指, 前两个子域之间包含催化位点, 而手指域负责与远端泛素链接^[2]. 多种成员已报道与肿瘤发生发展有关, 如USP4, USP7, USP14, USP21, USP22, USP33, USP39, USP46及USP54等, 已知与结直肠癌发生发展相关的成员有USP1, USP4, USP5, USP9X, USP10, USP14, USP17, USP22, USP33, USP44, USP46及USP54.

USP1是一种785氨基酸去泛素化酶, 含有His和Cys结构域, 在泛素特异性加工(UBP)家族所有成员中高度保守^[4]. Xu等^[5]发现USP1在原发性CRC中呈高表达, 高表达USP1与结肠癌分期晚和生存时间短相关, 敲降USP1可引起G2/M细胞周期阻滞、下调BCL-2和MCL-1表达, USP1抑制剂ML323可增强结直肠癌细胞对DNA损伤化疗药物敏感性.

USP4是一种重要的细胞通路调节因子, 参与调节P53、TGF- β 应答、NF- κ B信号传导和剪接, 在肿瘤发生发展中发挥重要作用^[6]. Xing等^[7]发现USP4表达在结肠直肠癌组织中显著升高, 并且与肿瘤大小、分化程度、远处转移和生存率相关, 并阐明其机制为USP4通过去泛素化PRL-3从而稳定化PRL-3, 进而激活PI3K/AKT信号传导, 下调E-钙粘蛋白表达. 此外, Yun等^[8]发现USP4可通过去泛素化 β -catenin调控WNT/ β -catenin途径来促进结直肠癌的发展, 同时他们筛选一种高选择性的USP4抑制剂, Neural red (NR), 发现其可以阻碍CRC肿瘤细胞的生长.

USP14对真核生物至关重要, 其参与调节细胞生理的许多方面, 研究表明USP14可在体外抑制蛋白酶体, 还可抑制细胞中的蛋白质周转^[9]. Wu等^[10]人发现USP14在正常的结直肠上皮细胞中不表达或低表达, 而在结直肠癌细胞中其表达水平显著升高, 其表达水平与病理分期、淋巴结转移、肝转移密切相关, 且高表达的USP14患者其预后较差. 后续的组织微阵列分析表明USP14通过增强Wnt/ β -catenin信号传导而促进CRC发生发展^[11,12].

研究表明IL-4和IL-6诱导了USP17的表达并进一步调节细胞生长和存活, 并通过逆转K63连接的RCE1的泛素化来调节细胞增殖^[13]. USP17在结直肠癌细胞系高表达, 其表达在细胞周期中受到严格调控, 并在介导细胞周期进程中发挥重要作用, 敲除USP17可显著抑制细胞增殖并引起G1/S细胞周期阻滞^[4]. 除此之外, Kim等^[15]发现USP5在结直肠癌中呈高表达, 且其表达水平与P53表达状态相关.

USP22具有调控肿瘤细胞周期的正向作用, 不少研究证实USP22是潜在的肿瘤干细胞标志物. Jiang等^[16]研究表明USP22在结直肠癌中的阳性表达率明显高于癌旁正常组织, 并指出其可能通过去泛素化胞浆内的 β -catenin, 进一步促进FoxM1核内转移, 从而参与肿瘤细胞的侵袭、转移. 姜争等^[17]发现USP22可通过BMI-1介导活化Akt通路, 从而控制结直肠癌细胞周期的进展. 敖宁等^[18]认为USP22可通过参与调控BMI-1/INK4a/ARF/Akt等多种结直肠癌相关信号通路, 并有助于提高STAT3的增殖作用, 而他们的研究同时也认为, 该去泛素化酶可通过SIRT1-STAT3/MMP9途径降低结直肠癌细胞的侵袭能力, 因此考虑USP22在结直肠癌细胞中有多种

作用. Liu等^[19]人发现USP22的高表达与结直肠癌肝转移密切相关, 也同样证实USP22通过BMI-1/INK4a/ARF/Akt等信号通路调节结直肠癌细胞的细胞周期.

Liu等^[20]研究发现USP33在结直肠癌组织及结直肠癌肝转移瘤组织中与正常组织相比均为低表达, 其表达水平与肿瘤分化程度、肿瘤转移及患者预后生存密切相关, 其潜在机制可能为下调 β -arrestin2的泛素化水平, 从而抑制CXCR4内吞过程, 阻断其下游的ERK通路, 进而下调结直肠癌细胞EMT蛋白表达及侵袭能力. Huang等^[21]发现USP33通过去泛素化Robo1从而下调Silt2表达水平, 进一步抑制CRC细胞迁移.

Li等^[22]通过体内外研究表明USP46是结直肠癌的抑癌因子, 其可促进结直肠癌中PHLPP的去泛素化并稳定其表达水平从而抑制Akt信号传导, 进而抑制结直肠癌发生发展.

Fang等^[23]通过对结肠癌样本进行分析后发现, USP9X作为Mcl-1的去泛素化酶, 与Mcl-1和B淋巴细胞瘤-xL(B-cell lymphoma-extralarge, BclxL)在多数结肠肿瘤样本中高表达并且共存, 而Mcl-1和Bcl-xL的表达水平与临床分期相关. 体外实验表明USP9X的抑制剂WP1130能促进Mcl-1降解, 与ABT-737联合应用显示出化疗的协同作用, 促进多种结直肠肿瘤细胞的凋亡^[24].

USP10主要定位在细胞质中, 可以对翻译后转移至细胞质中的多种蛋白质去泛素化, 通过与G3BP之间的相互作用调控细胞的增殖、细胞周期、凋亡与自噬等生理过程. 成迎迎等^[25]的实验显示, USP10在结直肠癌中低表达, 并且与结直肠癌的发生有关, 而与其发展及预后无明显相关性. Lin等^[26]通过细胞学实验发现USP10可以通过去泛素化作用稳定SIRT6蛋白, 从而拮抗c-myc的转录激活, 最终抑制结直肠腺癌的发生. 然而, Ouyang等^[27]通过多种实验证明USP10能够稳定MSI2修饰相关的去泛素酶链来调节MSI2的表达实现促进结直肠癌的作用. Li等人最新的研究^[28]发现USP10可以与PYD domain-containing protein 7(NLRP7)相互作用, 在结直肠癌细胞中催化NLRP7的去泛素化, 而NLRP7在体内外均能促进肿瘤细胞的增殖和转移.

USP44是USP家族的重要成员, USP44具有保守的USP结构域, USP44对于肿瘤的发生发展起着促进还是抑制作用, 取决于肿瘤的种类. Huang等人^[29]通过研究发现, 在结直肠癌中, USP44过表达增加了Axin1蛋白, 而减少了 β catenin, c myc和cyclin D1蛋白, USP44通过抑制Wnt/ β catenin通路抑制结直肠癌细胞增殖同时促进细胞凋亡, 因此, USP44是结直肠癌的抑癌因子, 也是结直肠癌治疗的潜在靶点.

USP54在结直肠癌的发展过程中也有起到一定的

作用. Fraile等^[30]使用氮氧甲烷(AOM)和硫酸右旋糖酐钠(DSS)在USP^{54+/+}和USP54^{KF/KF}小鼠中诱导结肠癌, 实验结果显示有USP54缺陷的小鼠浸润性肿瘤数量显著减少. 为了进一步阐明USP54在结肠癌中的相关性, 分析了USP54在结直肠腺瘤和正常粘膜转录数据中的表达情况, 发现与匹配的正常粘膜相比, 腺瘤中USP54的表达显著增加. 因此, 证明了USP54在结直肠癌干细胞中出现过表达, 促进肿瘤的发生发展, USP54的下调可以降低结直肠癌的发生风险.

2 泛素蛋白羧基端水解酶家族

泛素蛋白羧基端水解酶家族(ubiquitin carboxyl-terminal hydrolases, UCHs)是一类可催化泛素C-末端小分子肽类的去泛素化酶, 由于其具有封闭的环路, 不能对多聚泛素蛋白链和大的折叠蛋白质进行加工^[31]. 其亚家族由四个成员组成: UCH-L1, UCH-L3, UCH37和BRCA1相关蛋白-1(BAP1)^[32]. 先前的研究表明, UCH酶在一些信号传导和细胞周期调控中起关键作用, 并和人类恶性肿瘤密切相关^[33]. 目前UCH-L1, UCH-L3, UCH 37在结直肠癌方面有相关研究报道.

UCH-L1又名蛋白基因产物9.5, 其编码基因位于4p14染色体, 是一种由223个氨基酸组成的半胱氨酸水解酶, 可水解泛素和一些未折叠的多肽之间的化学键, 或切下一些泛素基因产物, 从而产生游离的泛素单体, 另一方面也有实验^[34]显示UCH-L1存在泛素链接酶活性, 在体内具有稳定泛素单体的作用, 因此, UCH-1存在泛素化及去泛素化双重作用. Yamazaki等^[35]研究表明UCH-L1在结直肠癌组织中检测到表达, 而正常肠黏膜组无表达, 并且表达水平与肿瘤大小和浸润范围相关. Farnebo等^[36]实验发现UCH-L1表达与结直肠癌淋巴结转移相关. Okochi-Takada等^[37]进一步发现UCH-L1在结直肠癌细胞系中其启动子的甲基化水平提高.

UCH-L3是UCH家族的重要组成部分, 研究^[38]已经发现UCH-L3在乳腺癌中有着高表达, 此外, 它最近也被认定为是一种新的DNA修复介质. UCH-L3在结直肠癌中的具体作用机制目前还尚未清楚, Li等人^[39]通过研究发现UCH-L3在结直肠癌中存在有高表达, 表明其与肿瘤的发生发展有一定的关系, 此外, Li等人还进行了体外研究, 结果发现UCH-L3调控结直肠癌细胞中SOX12的表达, UCH-L3介导的SOX12表达需要PI3K/AKT/mTOR通路. 因此, UCH-L3通过AKT/mTOR/SOX12轴发挥致癌作用, 可作为治疗和结直肠癌预后的潜在靶点生物标志物.

UCH37是去泛素化酶家族成员, 其可通过从蛋白泛素连接链的远端亚基水解聚泛素从而抑制蛋白降解^[40].

表 1 目前已报道的与结直肠癌相关的DUBs及可能的底物及抑制剂

去泛素化酶	分子	促进结肠癌的发生发展	抑制结肠癌的发生发展	可能的底物	抑制剂
泛素蛋白特异性蛋白酶家族(USPs)	USP1	✓			ML323
	USP4	✓		PRL-3, β-catenin	neuralred(NR)
	USP5	✓			
	USP10		✓	SIRT6蛋白	
	USP14	✓			
	USP17	✓		RCE1	
	USP22	✓		β-catenin	
	USP33		✓	β-arrestin2	
	USP44		✓		
	USP46		✓	PHLPP	
	USP54	✓			
泛素蛋白羧基端水解酶家族(UCHs)	USP9X	✓		Mcl-1	WP1130
	UCH-L1	✓			
	UCH-L3	✓			
结构域相关的金属蛋白酶家族(JAMAs)	UCH37	✓			
	STAMBPL1	✓		NF-κB	
	RPN11	✓			
病蛋白结构域蛋白酶家族(MJDs)	Ataxin-3	✓			
	ATXN3L	✓			
单细胞趋化蛋白诱导蛋白酶家族	JOSD1	✓			
	MCPIP1	✓		C-met	

PRL-3: 肝再生磷酸酶3; SIRT6: 沉默调节蛋白6; RCE1: Ras转化酶1; PHLPP: PH域和亮氨酸丰富重复蛋白磷酸酶; NF-κB: 核因子κB; β-catenin: β-连环蛋白; MCL-1: 髓样细胞白血病-1; c-met: 细胞间质上皮转换因子.

邓显伦等^[41]通过qRT-PCR和免疫组织化学技术检测结直肠癌石蜡组织标本中 UCH37 mRNA及蛋白的表达水平, 发现UCH37在结直肠癌组织中的表达水平高于癌旁组织. UCH37与结直肠癌淋巴结转移和TMN分期有关, 因此UCH37的表达水平也能影响结直肠癌患者预后.

3 JAMM/MPN结构域相关的金属蛋白酶家族

JAMM/MPN结构域相关的金属蛋白酶(JAB1/MPN/MOV34 metalloproteases, JAMAs)是一类能结合泛素化蛋白上泛素分子的蛋白酶, 具有MPN序列, 由较为保守的一个天冬氨酸残基及两个组氨酸残基构成, 并且与二价的锌离子共同组成活性催化中心^[42]. JAMM/MPN结构域相关的金属蛋白酶被发现于存在于古细菌, 细菌和真核生物的蛋白质中, 其构成包括26S蛋白酶体的Rpn11亚基^[43]. 家族成员包括PSMD7, PSMD14, EIF3H, BRCC36, CSCN5, CSCN6, AMSH, AMSH-LP, MPND, PRPF8, MYSM1, STAMBPL1等^[44]. 目前关于该家族在疾病中的研究进展较少, 且缺乏与结直肠癌有关的相关研究, 有研究显示^[45]STAMBPL1可通过调节Tax的定位和稳定性来调节NF-κB的活化水平, 而NF-κB在多种人类恶性侵

袭性肿瘤中都有高表达, 在肿瘤的形成、增生和免疫炎症反应中扮演着较为重要的角色, NF-κB同样高表达于结直肠癌中, 且状态表现为激活, 因此推断STAMBPL1可能在结直肠癌的发生发展中起到一定作用, 但需要更多的研究来进一步验证.

RPN11 又称PSMD14/poh1, 是蛋白酶体19S调节颗粒盖子结构中的特异性去泛素化酶, 在调节多种信号通路中发挥关键作用, 包括维持蛋白质稳定性, 双链DNA断裂修复, 胚胎干细胞分化和细胞增殖等^[46,47]. 王晓林等^[48]发现, RPN11 在结直肠癌组织中表达的阳性率明显高于正常结直肠组织. RPN11 的高表达也与恶性肿瘤细胞的增殖有一定的关系, 因此推测, RPN11参与结直肠癌肿瘤细胞的增殖.

4 Machado Joseph病蛋白结构域蛋白酶家族

Machado-Joseph病蛋白结构域蛋白酶家族(Machado-Joseph disease protein domain proteases, MJDs)由四个不同的成员组成, 包括Ataxin-3(ATXN3), ATXN3L, JOSD1和JOSD2, 均具有泛素水解酶活性, Ataxin-3在3型脊髓小脑性共济失调或马查多-约瑟夫病中发生突变, 该蛋白

质具有多聚泛素化链编辑酶的活性, 可以调控蛋白质的折叠并保持结构的稳定, 同时其泛素水解酶活性对于维持正常寿命是必需的, 从而表明编辑泛素链有助于长寿调节^[49], 而另外三位成员都具有两个组氨酸残基和一个半胱氨酸残基, 三者形成高度保守的催化三联体^[50]. 目前尚无MJDs在结直肠癌方面的相关研究, Sacco等^[51]发现Ataxin-3、ATXN3L及JOSD1可下调非小细胞肺癌抑制因子PTEN表达, 并参与到PtdIns3-K/PKB信号通路的调控. Liu等^[52]近期发现p53是ATXN-3的一种新型底物, ATXN3可抑制p53降解稳定其表达. 因PTEN和p53通路在结肠癌发生发展中起重要作用, 故推测该家族成员可能参与结直肠癌发生发展.

5 单核细胞趋化蛋白诱导蛋白酶家族

单核细胞趋化蛋白诱导蛋白酶家族(monocyte chemotactic protein-induced protein family, MCPiP)为新近发现的去泛素化酶, 其成员已知的包括MCPiP1, MCPiP2, MCPiP3, MCPiP4, MCPiP5, MCPiP6, MCPiP7^[53]. 目前有关以上成员的研究较少, 它的去泛素化酶功能目前还不清楚, 可能底物包括TRAF2, TRAF3和TRAF6^[54]. Miekus等^[55]在ccRCC细胞系中证实了MCPiP1在介导癌细胞转移方面有着重要的作用, 此外, 还发现MCPiP1还可以影响c-met受体的表达水平和磷酸化, 且c-met的异常可以促进结直肠癌的发展.

6 结论

去泛素化酶具有多个成员及家族, 其分布广泛、功能复杂. 去泛素化酶在蛋白质的调节中起着重要的作用, 在转录、翻译、修饰、等多方面参与细胞内的蛋白质相关进程, 对肿瘤的发生发展有着一定的促进或者抑制作用. 去泛素化酶主要参与以下的生命活动^[56]: (1)移除靶蛋白的泛素链, 阻止靶蛋白在蛋白酶体中被降解; (2)使底物的蛋白质发生去泛素化; (3)加工泛素前体, 释放成熟的泛素分子; (4)促进泛素介导的信号发生转变. 然而, 目前的研究多为生物学实验室对其明确生化结构与分子作用机制的研究, 也有部分关于病原微生物致病作用、免疫与炎症反应、神经系统疾病、肿瘤调控等方面的研究, 对于疾病发生更详细的机制, 包括与结直肠肿瘤的研究还需进一步深入探索. 明确去泛素化酶家族的作用机制, 探寻其在结直肠肿瘤发生、发展中的作用位点, 将为结直肠肿瘤的治疗提供新的思路, 进而有助于找出有效的治疗靶点和药物(表1总结了目前已发现的与结直肠癌相关的DUBs及可能的底物及抑制剂).

7 参考文献

1 Amerik AY, Hochstrasser M. Mechanism and function of

deubiquitinating enzymes. *Biochim Biophys Acta* 2004; 1695: 189-207 [PMID: 15571815 DOI: 10.1016/j.bbamcr.2004.10.003]

2 Fraile JM, Quesada V, Rodríguez D, Freije JM, López-Otín C. Deubiquitinases in cancer: new functions and therapeutic options. *Oncogene* 2012; 31: 2373-2388 [PMID: 21996736 DOI: 10.1038/onc.2011.443]

3 Tencer AH, Liang Q, Zhuang Z. Divergence in Ubiquitin Interaction and Catalysis among the Ubiquitin-Specific Protease Family Deubiquitinating Enzymes. *Biochemistry* 2016; 55: 4708-4719 [PMID: 27501351 DOI: 10.1021/acs.biochem.6b00033]

4 Fujiwara T, Saito A, Suzuki M, Shinomiya H, Suzuki T, Takahashi E, Tanigami A, Ichiyama A, Chung CH, Nakamura Y, Tanaka K. Identification and chromosomal assignment of USP1, a novel gene encoding a human ubiquitin-specific protease. *Genomics* 1998; 54: 155-158 [PMID: 9806842 DOI: 10.1006/geno.1998.5554]

5 Xu X, Li S, Cui X, Han K, Wang J, Hou X, Cui L, He S, Xiao J, Yang Y. Inhibition of Ubiquitin Specific Protease 1 Sensitizes Colorectal Cancer Cells to DNA-Damaging Chemotherapeutics. *Front Oncol* 2019; 9: 1406 [PMID: 31921663 DOI: 10.3389/fonc.2019.01406]

6 Clerici M, Luna-Vargas MP, Faesen AC, Sixma TK. The DUSP-Ubl domain of USP4 enhances its catalytic efficiency by promoting ubiquitin exchange. *Nat Commun* 2014; 5: 5399 [PMID: 25404403 DOI: 10.1038/ncomms6399]

7 Xing C, Lu XX, Guo PD, Shen T, Zhang S, He XS, Gan WJ, Li XM, Wang JR, Zhao YY, Wu H, Li JM. Ubiquitin-Specific Protease 4-Mediated Deubiquitination and Stabilization of PRL-3 Is Required for Potentiating Colorectal Oncogenesis. *Cancer Res* 2016; 76: 83-95 [PMID: 26669864 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-3595]

8 Yun SI, Kim HH, Yoon JH, Park WS, Hahn MJ, Kim HC, Chung CH, Kim KK. Ubiquitin specific protease 4 positively regulates the WNT/ β -catenin signaling in colorectal cancer. *Mol Oncol* 2015; 9: 1834-1851 [PMID: 26189775 DOI: 10.1016/j.molonc.2015.06.006]

9 Didier R, Mallavialle A, Ben Jouira R, Domdom MA, Tichet M, Auburger P, Luciano F, Ohanna M, Tartare-Deckert S, Deckert M. Targeting the Proteasome-Associated Deubiquitinating Enzyme USP14 Impairs Melanoma Cell Survival and Overcomes Resistance to MAPK-Targeting Therapies. *Mol Cancer Ther* 2018; 17: 1416-1429 [PMID: 29703842 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-17-0919]

10 Wu N, Liu C, Bai C, Han YP, Cho WC, Li Q. Over-expression of deubiquitinating enzyme USP14 in lung adenocarcinoma promotes proliferation through the accumulation of β -catenin. *Int J Mol Sci* 2013; 14: 10749-10760 [PMID: 23702845 DOI: 10.3390/ijms140610749]

11 Jung H, Kim BG, Han WH, Lee JH, Cho JY, Park WS, Maurice MM, Han JK, Lee MJ, Finley D, Jho EH. Deubiquitination of Dishevelled by Usp14 is required for Wnt signaling. *Oncogenesis* 2013; 2: e64 [PMID: 23958854 DOI: 10.1038/oncsis.2013.28]

12 Shinji S, Naito Z, Ishiwata S, Ishiwata T, Tanaka N, Furukawa K, Suzuki H, Seya T, Matsuda A, Katsuta M, Tajiri T. Ubiquitin-specific protease 14 expression in colorectal cancer is associated with liver and lymph node metastases. *Oncol Rep* 2006; 15: 539-543 [PMID: 16465409]

13 Ni Y, Tao L, Chen C, Song H, Li Z, Gao Y, Nie J, Piccioni M, Shi G, Li B. The Deubiquitinase USP17 Regulates the Stability and Nuclear Function of IL-33. *Int J Mol Sci* 2015; 16: 27956-27966 [PMID: 26610488 DOI: 10.3390/ijms161126063]

14 McFarlane C, Kelvin AA, de la Vega M, Govender U, Scott CJ, Burrows JF, Johnston JA. The deubiquitinating enzyme USP17 is highly expressed in tumor biopsies, is cell cycle regulated, and is required for G1-S progression. *Cancer Res* 2010; 70: 3329-3339 [PMID: 20388806 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-4152]

15 Kim SY, Kwon SK, Lee SY, Baek KH. Ubiquitin-specific peptidase 5 and ovarian tumor deubiquitinase 6A are differentially expressed in p53+/+ and p53-/- HCT116 cells. *Int J Oncol* 2018; 52:

- 1705-1714 [PMID: 29512757 DOI: 10.3892/ijo.2018.4302]
- 16 Jiang S, Song C, Gu X, Wang M, Miao D, Lv J, Liu Y. Ubiquitin-Specific Peptidase 22 Contributes to Colorectal Cancer Stemness and Chemoresistance via Wnt/ β -Catenin Pathway. *Cell Physiol Biochem* 2018; 46: 1412-1422 [PMID: 29689565 DOI: 10.1159/000489156]
 - 17 姜争, 刘彦龙, 王锡山. USP22及其可能靶点在结直肠癌中的表达研究. *中华结直肠疾病电子杂志* 2014; 1: 22-24 [DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-3224.2014.01.06]
 - 18 敖宁. USP22通过SIRT1-STAT3/MMP9通路抑制结肠癌细胞的侵袭能力. *北京协和医学院* 2014
 - 19 Liu YL, Yang YM, Xu H, Dong XS. Aberrant expression of USP22 is associated with liver metastasis and poor prognosis of colorectal cancer. *J Surg Oncol* 2011; 103: 283-289 [PMID: 21337558 DOI: 10.1002/jso.21802]
 - 20 Liu H, Zhang Q, Li K, Gong Z, Liu Z, Xu Y, Swaney MH, Xiao K, Chen Y. Prognostic significance of USP33 in advanced colorectal cancer patients: new insights into β -arrestin-dependent ERK signaling. *Oncotarget* 2016; 7: 81223-81240 [PMID: 27835898 DOI: 10.18632/oncotarget.13219]
 - 21 Huang Z, Wen P, Kong R, Cheng H, Zhang B, Quan C, Bian Z, Chen M, Zhang Z, Chen X, Du X, Liu J, Zhu L, Fushimi K, Hua D, Wu JY. USP33 mediates Slit-Robo signaling in inhibiting colorectal cancer cell migration. *Int J Cancer* 2015; 136: 1792-1802 [PMID: 25242263 DOI: 10.1002/ijc.29226]
 - 22 Li X, Stevens PD, Yang H, Gulhati P, Wang W, Evers BM, Gao T. The deubiquitination enzyme USP46 functions as a tumor suppressor by controlling PH1LP-dependent attenuation of Akt signaling in colon cancer. *Oncogene* 2013; 32: 471-478 [PMID: 22391563 DOI: 10.1038/ncr.2012.66]
 - 23 Fang Y, Fu D, Shen XZ. The potential role of ubiquitin c-terminal hydrolases in oncogenesis. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1806: 1-6 [PMID: 20302916 DOI: 10.1016/j.bbcan.2010.03.001]
 - 24 Peddaboina C, Jupiter D, Fletcher S, Yap JL, Rai A, Tobin RP, Jiang W, Rascoe P, Rogers MK, Smythe WR, Cao X. The downregulation of Mcl-1 via USP9X inhibition sensitizes solid tumors to Bcl-xl inhibition. *BMC Cancer* 2012; 12: 541 [PMID: 23171055 DOI: 10.1186/1471-2407-12-541]
 - 25 成迎迎, 黄小英, 龙喜带. USP10与常见癌症的诊治及预后关系研究现状. *右江医学* 2020; 48: 7-11 [DOI: 10.3969/j.issn.1003-1383.2020.01.002]
 - 26 Lin Z, Yang H, Tan C, Li J, Liu Z, Quan Q, Kong S, Ye J, Gao B, Fang D. USP10 antagonizes c-Myc transcriptional activation through SIRT6 stabilization to suppress tumor formation. *Cell Rep* 2013; 5: 1639-1649 [PMID: 24332849 DOI: 10.1016/j.celrep.2013.11.029]
 - 27 Ouyang SW, Liu TT, Liu XS, Zhu FX, Zhu FM, Liu XN, Peng ZH. USP10 regulates Musashi-2 stability via deubiquitination and promotes tumour proliferation in colon cancer. *FEBS Lett* 2019; 593: 406-413 [PMID: 30604502 DOI: 10.1002/1873-3468.13323]
 - 28 Li B, Qi ZP, He DL, Chen ZH, Liu JY, Wong MW, Zhang JW, Xu EP, Shi Q, Cai SL, Sun D, Yao LQ, Zhou PH, Zhong YS. NLRP7 deubiquitination by USP10 promotes tumor progression and tumor-associated macrophage polarization in colorectal cancer. *J Exp Clin Cancer Res* 2021; 40: 126 [PMID: 33838681 DOI: 10.1186/s13046-021-01920-y]
 - 29 Huang T, Zhang Q, Ren W, Yan B, Yi L, Tang T, Lin H, Zhang Y. USP44 suppresses proliferation and enhances apoptosis in colorectal cancer cells by inactivating the Wnt/ β -catenin pathway via Axin1 deubiquitination. *Cell Biol Int* 2020; 44: 1651-1659 [PMID: 32285989 DOI: 10.1002/cbin.11358]
 - 30 Fraile JM, Campos-Iglesias D, Rodríguez F, Español Y, Freije JM. The deubiquitinase USP54 is overexpressed in colorectal cancer stem cells and promotes intestinal tumorigenesis. *Oncotarget* 2016; 7: 74427-74434 [PMID: 27769071 DOI: 10.18632/oncotarget.12769]
 - 31 Sabates-Bellver J, Van der Flier LG, de Palo M, Cattaneo E, Maake C, Rehrauer H, Laczko E, Kurowski MA, Bujnicki JM, Menigatti M, Luz J, Ranalli TV, Gomes V, Pastorelli A, Faggiani R, Anti M, Jiricny J, Clevers H, Marra G. Transcriptome profile of human colorectal adenomas. *Mol Cancer Res* 2007; 5: 1263-1275 [PMID: 18171984 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-07-0267]
 - 32 Yao T, Song L, Xu W, DeMartino GN, Florens L, Swanson SK, Washburn MP, Conaway RC, Conaway JW, Cohen RE. Proteasome recruitment and activation of the Uch37 deubiquitinating enzyme by Adrm1. *Nat Cell Biol* 2006; 8: 994-1002 [PMID: 16906146 DOI: 10.1038/ncb1460]
 - 33 Schröder C, Milde-Langosch K, Gebauer F, Schmid K, Mueller V, Wirtz RM, Meyer-Schwesinger C, Schlüter H, Sauter G, Schumacher U. Prognostic relevance of ubiquitin C-terminal hydrolase L1 (UCHL1) mRNA and protein expression in breast cancer patients. *J Cancer Res Clin Oncol* 2013; 139: 1745-1755 [PMID: 23996067 DOI: 10.1007/s00432-013-1496-z]
 - 34 Day IN, Thompson RJ. UCHL1 (PGP 9.5): neuronal biomarker and ubiquitin system protein. *Prog Neurobiol* 2010; 90: 327-362 [PMID: 19879917 DOI: 10.1016/j.pneurobio.2009.10.020]
 - 35 Yamazaki T, Hibi K, Takase T, Tezel E, Nakayama H, Kasai Y, Ito K, Akiyama S, Nagasaka T, Nakao A. PGP9.5 as a marker for invasive colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 192-195 [PMID: 11801558]
 - 36 Farnebo M, Bykov VJ, Wiman KG. The p53 tumor suppressor: a master regulator of diverse cellular processes and therapeutic target in cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 396: 85-89 [PMID: 20494116 DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.02.152]
 - 37 Okochi-Takada E, Nakazawa K, Wakabayashi M, Mori A, Ichimura S, Yasugi T, Ushijima T. Silencing of the UCHL1 gene in human colorectal and ovarian cancers. *Int J Cancer* 2006; 119: 1338-1344 [PMID: 16642472 DOI: 10.1002/ijc.22025]
 - 38 Li J, Zheng Y, Li X, Dong X, Chen W, Guan Z, Zhang C. UCHL3 promotes proliferation of colorectal cancer cells by regulating SOX12 via AKT/mTOR signaling pathway. *Am J Transl Res* 2020; 12: 6445-6454 [PMID: 33194042]
 - 39 Li G, Jin X, Zheng J, Jiang N, Shi W. UCHL3 promotes non-small cell lung cancer proliferation via accelerating cell cycle and inhibiting cell apoptosis. *Biotechnol Appl Biochem* 2021; 68: 165-172 [PMID: 32180254 DOI: 10.1002/bab.1909]
 - 40 Chen YJ, Ma YS, Fang Y, Wang Y, Fu D, Shen XZ. Power and promise of ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 37 as a target of cancer therapy. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14: 2173-2179 [PMID: 23725108 DOI: 10.7314/apjcp.2013.14.4.2173]
 - 41 邓显伦, 冯立波, 徐建伟, 向继勇, 夏冬. 泛素化羧基末端水解酶37在结直肠癌组织中的表达水平及意义. *中国现代医学杂志* 2018; 28: 32-36 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.30.007]
 - 42 Shi D, Grossman SR. Ubiquitin becomes ubiquitous in cancer: emerging roles of ubiquitin ligases and deubiquitinases in tumorigenesis and as therapeutic targets. *Cancer Biol Ther* 2010; 10: 737-747 [PMID: 20930542 DOI: 10.4161/cbt.10.8.13417]
 - 43 Hepowitz NL, Uthandi S, Miranda HV, Toniutti M, Prunetti L, Olivarez O, De Vera IM, Fanucci GE, Chen S, Maupin-Furlow JA. Archaeal JAB1/MPN/MOV34 metalloenzyme (HvJAMM1) cleaves ubiquitin-like small archaeal modifier proteins (SAMPs) from protein-conjugates. *Mol Microbiol* 2012; 86: 971-987 [PMID: 22970855 DOI: 10.1111/mmi.12038]
 - 44 Cao S, Hepowitz N, Maupin-Furlow JA. Ubiquitin-Like Protein SAMP1 and JAMM/MPN+ Metalloprotease HvJAMM1 Constitute a System for Reversible Regulation of Metabolic Enzyme Activity in Archaea. *PLoS One* 2015; 10: e0128399 [PMID: 26010867 DOI: 10.1371/journal.pone.0128399]
 - 45 Lavorgna A, Harhaj EW. An RNA interference screen identifies the Deubiquitinase STAMBPL1 as a critical regulator of human T-cell leukemia virus type 1 tax nuclear export and NF- κ B activation. *J Virol* 2012; 86: 3357-3369 [PMID: 22258247 DOI: 10.1128/JVI.01833-11]

- 10.1128/JVI.06456-11]
- 46 Luo G, Hu N, Xia X, Zhou J, Ye C. RPN11 deubiquitinase promotes proliferation and migration of breast cancer cells. *Mol Med Rep* 2017; 16: 331-338 [PMID: 28535005 DOI: 10.3892/mmr.2017.6587]
- 47 Buckley SM, Aranda-Orgilles B, Strikoudis A, Apostolou E, Loizou E, Moran-Crusio K, Farnsworth CL, Koller AA, Dasgupta R, Silva JC, Stadtfeld M, Hochedlinger K, Chen EI, Aifantis I. Regulation of pluripotency and cellular reprogramming by the ubiquitin-proteasome system. *Cell Stem Cell* 2012; 11: 783-798 [PMID: 23103054 DOI: 10.1016/j.stem.2012.09.011]
- 48 王晓林, 金玲玲, 张瑶, 曹仕琼. 结直肠癌组织RPN11与Ki67的表达及其临床病理学意义. *中国组织化学与细胞化学杂志* 2019; 28: 248-251 [DOI: 10.16705/j.cnki.1004-1850.2019.03.009]
- 49 Chow MK, Mackay JP, Whisstock JC, Scanlon MJ, Bottomley SP. Structural and functional analysis of the Josephin domain of the polyglutamine protein ataxin-3. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 322: 387-394 [PMID: 15325242 DOI: 10.1016/j.bbrc.2004.07.131]
- 50 Seki T, Gong L, Williams AJ, Sakai N, Todi SV, Paulson HL. JosD1, a membrane-targeted deubiquitinating enzyme, is activated by ubiquitination and regulates membrane dynamics, cell motility, and endocytosis. *J Biol Chem* 2013; 288: 17145-17155 [PMID: 23625928 DOI: 10.1074/jbc.M113.463406]
- 51 Sacco JJ, Yau TY, Darling S, Patel V, Liu H, Urbé S, Clague MJ, Coulson JM. The deubiquitylase Ataxin-3 restricts PTEN transcription in lung cancer cells. *Oncogene* 2014; 33: 4265-4272 [PMID: 24292675 DOI: 10.1038/onc.2013.512]
- 52 Liu H, Li X, Ning G, Zhu S, Ma X, Liu X, Liu C, Huang M, Schmitt I, Wüllner U, Niu Y, Guo C, Wang Q, Tang TS. The Machado-Joseph Disease Deubiquitinase Ataxin-3 Regulates the Stability and Apoptotic Function of p53. *PLoS Biol* 2016; 14: e2000733 [PMID: 27851749 DOI: 10.1371/journal.pbio.2000733]
- 53 Reyes-Turcu FE, Ventii KH, Wilkinson KD. Regulation and cellular roles of ubiquitin-specific deubiquitinating enzymes. *Annu Rev Biochem* 2009; 78: 363-397 [PMID: 19489724 DOI: 10.1146/annurev.biochem.78.082307.091526]
- 54 Liang J, Saad Y, Lei T, Wang J, Qi D, Yang Q, Kolattukudy PE, Fu M. MCP-induced protein 1 deubiquitinates TRAF proteins and negatively regulates JNK and NF-kappaB signaling. *J Exp Med* 2010; 207: 2959-2973 [PMID: 21115689 DOI: 10.1084/jem.20092641]
- 55 Miekus K, Kotlinowski J, Lichawska-Cieslar A, Rys J, Jura J. Activity of MCPIP1 RNase in tumor associated processes. *J Exp Clin Cancer Res* 2019; 38: 421 [PMID: 31639017 DOI: 10.1186/s13046-019-1430-6]
- 56 申香玉, 史磊, 申远. 泛素特异性蛋白酶在肿瘤发生发展中的作用. *生命的化学* 2021; 3: 1-14 [DOI: 10.13488/j.smhx.20200545]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



慢性萎缩性胃炎并幽门螺杆菌感染患者吹气定量测定值与G-17、IL-32、sIL-2R水平及胃镜下病理变化的关系

倪冰颖, 鲍洛文, 黄秋菊, 吴蓓蕾, 李伟

倪冰颖, 鲍洛文, 黄秋菊, 吴蓓蕾, 李伟, 温州市中心医院体检中心 浙江省温州市 325000

倪冰颖, 护师, 研究方向主要为体检中心的吹气、幽门螺旋杆菌、消化道标志物抽血等方面项目。

作者贡献分布: 倪冰颖负责项目设计和主导研究过程; 鲍洛文、黄秋菊、吴蓓蕾、李伟协助课题研究及文章资料收集。

通讯作者: 鲍洛文, 主任医师, 325000, 浙江省温州市锦春大厦G4幢1301室, 温州市中心医院体检中心. liangdougaiishi@163.com

收稿日期: 2021-03-12

修回日期: 2021-04-11

接受日期: 2021-06-02

在线出版日期: 2021-07-28

Relationship of delta over baseline with serum levels of gastrin 17, interleukin-32, and soluble interleukin 2 receptor and gastroscopic pathological changes in patients with chronic atrophic gastritis and *Helicobacter pylori* infection

Bing-Ying Ni, Luo-Wen Bao, Qiu-Ju Huang, Bei-Lei Wu, Wei Li

Bing-Ying Ni, Luo-Wen Bao, Qiu-Ju Huang, Bei-Lei Wu, Wei Li, Physical Examination Center, Wenzhou Central Hospital, Wenzhou 325000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Luo-Wen Bao, Chief Physician, Physical Examination Center, Wenzhou Central Hospital, Room 1301, G4 Building, Jinchun Building, Wenzhou 325000, Zhejiang Province, China. liangdougaiishi@163.com

Received: 2021-03-12

Revised: 2021-04-11

Accepted: 2021-06-02

Published online: 2021-07-28

Abstract

BACKGROUND

Helicobacter pylori (*H. pylori*) is a recognized causative factor of gastric cancer. The diagnosis and treatment of chronic atrophic gastritis (CAG) and *H. pylori* infection have always been the focus of clinical research.

AIM

To investigate the relationship of the delta over baseline (DOB) and serum gastrin 17 (G-17), interleukin-32 (IL-32), soluble interleukin 2 receptor (sIL-2R) levels and gastroscopic pathological changes in patients with CAG and *H. pylori* infection.

METHODS

A total of 224 CAG patients at the Physical Examination Center of Wenzhou Central Hospital from January 2017 to December 2019 were selected as the research subjects, including 124 patients with *H. pylori* infection as an observation group, and 100 patients without *H. pylori* infection as a control group. The clinical data, DOB, and serum levels of G-17, IL-32, and sIL-2R in the two groups were compared. Logistic regression analysis was used to identify the influencing factors of CAG and *H. pylori* infection, and the correlation of DOB with serum G-17, IL-32, and sIL-2R was analyzed. The levels of DOB and serum G-17, IL-32, and sIL-2R in patients with different gastroscopic pathological changes were compared, and ROC curves were drawn to evaluate the value of DOB, G-17, IL-32, and sIL-2R in assessing CAG and *H. pylori* infection.

RESULTS

There were statistically significant differences in the course of disease and gastroscopic pathological changes (chronic inflammation, atrophy, intestinal metaplasia, and

intraepithelial neoplasia) between the two groups ($P < 0.05$). The DOB and serum levels of IL-32 and sIL-2R were significantly higher and serum G-17 level was significantly lower in the observation group than in the control group ($P < 0.05$). Logistic regression analysis showed that the course of disease, chronic inflammation, atrophy, intestinal metaplasia, intraepithelial neoplasia, DOB, and serum G-17, IL-32, and sIL-2R levels were all influencing factors of CAG and *H. pylori* infection ($P < 0.05$). Pearson correlation analysis showed that the DOB of patients with CAG and *H. pylori* infection was negatively correlated with G-17, and positively correlated with IL-32 and sIL-2R ($P < 0.05$). Spearman correlation analysis showed that the DOB and serum levels of G-17, IL-32, and sIL-2R in patients with CAG and *H. pylori* infection were significantly related to chronic inflammation, atrophy, intestinal metaplasia, and intraepithelial neoplasia ($P < 0.05$). ROC curve analysis showed that the area under the curve of combined DOB, G-17, IL-32, and sIL-2R was the largest (0.975), and the best sensitivity and specificity were 85.48% and 98.00%, respectively.

CONCLUSION

Serum levels of G-17, IL-32, and sIL-2R in patients with CAG and *H. pylori* infection are related to DOB. *H. pylori* infection may be involved in the occurrence and progression of gastric mucosal pathological changes in CAG patients by affecting the expression of G-17, IL-32, and sIL-2R. Combined detection of all the above indicators can effectively predict *H. pylori* infection, which is of great significance for clinical diagnosis and treatment.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Chronic atrophic gastritis; *Helicobacter pylori*; Delta over baseline; Gastrin-17; Interleukin-32; Soluble interleukin 2 receptor

Citation: Ni BY, Bao LW, Huang QJ, Wu BL, Li W. Relationship of delta over baseline with serum levels of gastrin 17, interleukin-32, and soluble interleukin 2 receptor and gastroscopic pathological changes in patients with chronic atrophic gastritis and *Helicobacter pylori* infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(14): 816-824

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i14/816.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i14.816>

摘要

背景

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是公认的胃癌致病因子,慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)并*H. pylori*感染的诊治一直是临床研究重点。

目的

探讨CAG并*H. pylori*感染患者吹气定量检测值(delta

over baseline, DOB)与白介素-32(interleukin-32, IL-32)、胃泌素-17(gastrin 17, G-17)、可溶性白细胞介素-2受体(soluble interleukin 2 receptor, sIL-2R)水平及胃镜下病理变化的关系。

方法

选取2017-01/2019-12体检中心224例CAG患者作为研究对象,其中合并*H. pylori*感染患者124例作为观察组,未合并*H. pylori*感染患者100例作为对照组。观察对比两组临床资料、DOB与G-17、IL-32、sIL-2R水平,以Logistic回归分析CAG并*H. pylori*感染影响因素,并分析DOB与G-17、IL-32、sIL-2R相关性,对比不同胃镜下病理变化患者DOB与G-17、IL-32、sIL-2R水平,绘制ROC曲线,评价DOB、G-17、IL-32、sIL-2R对CAG并*H. pylori*感染的评估价值。

结果

两组病程、胃镜下病理变化(慢性炎症、萎缩、肠上皮化生、上皮内瘤变)相比,差异有统计学意义($P < 0.05$);观察组DOB、IL-32、sIL-2R水平高于对照组, G-17水平低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$); Logistic回归分析可知,病程、慢性炎症、萎缩、肠上皮化生、上皮内瘤变、DOB、G-17、IL-32、sIL-2R水平均为CAG并*H. pylori*感染影响因素($P < 0.05$); Pearson相关性分析可知, CAG并*H. pylori*感染患者DOB与G-17呈负相关关系,与IL-32、sIL-2R呈正相关关系($P < 0.05$); Spearman相关性分析可知, CAG并*H. pylori*感染患者DOB、G-17、IL-32、sIL-2R水平与慢性炎症、萎缩、肠上皮化生、上皮内瘤变有关($P < 0.05$); ROC曲线显示, DOB、G-17、IL-32、sIL-2R联合评估AUC最大,为0.975 > 0.9,具有较高评估价值,最佳敏感度、特异度分别为85.48%、98.00%。

结论

CAG并*H. pylori*感染患者G-17、IL-32、sIL-2R水平与DOB相关, *H. pylori*感染可能通过影响G-17、IL-32、sIL-2R表达,参与CAG患者胃黏膜病理改变发生和进展,各指标联合检测可有效预测*H. pylori*感染,对临床诊治有重要意义。

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 慢性萎缩性胃炎; 幽门螺杆菌; 吹气定量测定值; 胃泌素-17; 白介素-32; 可溶性白细胞介素-2受体

核心提要: 慢性萎缩性胃炎并幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染患者吹气定量测定值、胃泌素-17、白介素-32、可溶性白细胞介素-2受体水平与胃黏膜病理改变相关,并可有效预测*H. pylori*感染。

文献来源: 倪冰颖, 鲍洛文, 黄秋菊, 吴蓓蕾, 李伟. 慢性萎缩性胃炎并幽门螺杆菌感染患者吹气定量测定值与G-17、IL-32、sIL-2R水平及胃镜下病理变化的关系. 世界华人消化杂志 2021; 29(14): 816-824
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i14/816.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i14.816>

0 引言

慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)是消化科常见疾病, 据统计, 我国CAG发病率约为10%-30%^[1,2]。幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染与CAG发病相关, 研究报道, 60%-90% CAG患者胃黏膜中可培养出*H. pylori*, 且*H. pylori*是公认的胃癌致病因子^[3]。因此, 临床需对CAG并*H. pylori*感染患者的诊治给予充分重视。吹气定量检测值(delta over baseline, DOB)是衡量*H. pylori*感染情况的常用定量指标^[4]。CAG黏膜层内的慢性炎性细胞浸润为主要表现, 促炎因子白介素-32(interleukin-32, IL-32)参与胃黏膜炎症反应^[5]。胃泌素-17(gastrin 17, G-17)是评估胃功能的常用生化指标, 且可用于胃癌前病变和胃癌诊断^[6]。另研究证实, CAG发生、发展与机体免疫功能, 尤其可溶性白细胞介素-2受体(soluble interleukin 2 receptor, sIL-2R)密切相关^[7]。本研究首次分析CAG并*H. pylori*感染患者DOB与G-17、IL-32、sIL-2R水平及胃镜下病理变化的关系, 以指导临床治疗。报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2017-01/2019-12体检中心224例CAG患者作为研究对象, 其中合并*H. pylori*感染患者124例作为观察组, 未合并*H. pylori*感染患者100例作为对照组。纳入标准: 均符合《消化内科学高级教程》^[8]中CAG诊断标准; 合并*H. pylori*感染患者均经¹³C尿素酶呼吸试验证实; 1 mo内未接受抗*H. pylori*治疗; 患者及家属知情同意。排除标准: 1 mo内服用抗生素、非甾体消炎药等相关药物; 合并消化系统其他严重疾病; 心、脑等其他严重原发性疾病; 精神病史; 妊娠及哺乳期妇女。本研究符合医学伦理学标准, 经医院伦理委员会批准。

1.2 方法 DOB检测: 入组24 h内进行测定, 采用北京勃然制药有限公司尿素^{[13}C]呼气试验试剂, 服药前吹一袋气, 记为0 min气体, 服药后静坐0.5 h再次吹一袋气, 吹气过程中平缓, 禁止倒吸气、憋气, 利用十通道设备对定量测定DOB。入组24 h内采集外周静脉血5 mL, 离心(半径8 cm, 3500 r/min, 9 min), 取血清, 采用酶联免疫吸附法测定G-17、IL-32、sIL-2R, 均采用深圳晶美生物工程有限公司试剂盒。

1.3 观察指标 (1)两组临床资料; (2)两组DOB、G-17、IL-32、sIL-2R水平; (3)慢性萎缩性胃炎并*H. pylori*感染

影响因素; (4)DOB与G-17、IL-32、sIL-2R相关性; (5)不同胃镜下病理变化患者DOB、G-17、IL-32、sIL-2R水平; (6)DOB、G-17、IL-32、sIL-2R对慢性萎缩性胃炎并*H. pylori*感染的评估价值。

统计学处理 采用统计学软件SPSS 22.0处理数据, 计数资料以例数描述, 计量资料采取Bartlett方差齐性检验与Kolmogorov-Smirnov正态性检验, 均确认具备方差齐性且近似服从正态分布, 以(mean±SD)描述; 影响因素采用Logistic回归分析; 采用Pearson、Spearman分析相关性; 评估价值采用受试者工作特征(receiver operating characteristic curve, ROC)曲线, 获取曲线下面积(area under the curve, AUC)、置信区间、敏感度、特异度及cut-off值, 联合预测实施Logistic二元回归拟合, 返回预测概率logit(p), 将其作为独立检验变量, 均采用双侧检验, $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 两组临床资料对比 两组病程、胃镜下病理变化(慢性炎症、萎缩、肠上皮化生、上皮内瘤变)相比, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.2 两组DOB、G-17、IL-32、sIL-2R水平 观察组DOB、IL-32、sIL-2R水平高于对照组, G-17水平低于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.3 CAG并*H. pylori*感染影响因素分析 以CAG并*H. pylori*感染为因变量(因变量赋值: 否=0, 是=1), 将表1、2中差异有统计学意义指标纳入Logistic回归分析可知, 病程、慢性炎症、萎缩、肠上皮化生、上皮内瘤变、DOB、G-17、IL-32、sIL-2R水平均为CAG并*H. pylori*感染影响因素($P < 0.05$)。见表3。

2.4 DOB与G-17、IL-32、sIL-2R相关性分析 Pearson相关性分析可知, CAG并*H. pylori*感染患者DOB与G-17呈负相关关系, 与IL-32、sIL-2R呈正相关关系($r = -0.612, 0.740, 0.719, P < 0.05$)。见图1。

2.5 不同胃镜下病理变化患者DOB、G-17、IL-32、sIL-2R水平 CAG并*H. pylori*感染不同胃镜下病理变化患者DOB、G-17、IL-32、sIL-2R水平相比, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 进一步采用Spearman相关性分析可知, CAG并*H. pylori*感染患者DOB、G-17、IL-32、sIL-2R水平与慢性炎症、萎缩、肠上皮化生、上皮内瘤变有关($P < 0.05$)。见表4, 表5。

2.6 DOB、G-17、IL-32、sIL-2R对CAG并*H. pylori*感染的评估价值 绘制ROC曲线, 评价DOB、G-17、IL-32、sIL-2R单一及联合对CAG并*H. pylori*感染的评估价值, 结果显示DOB、G-17、IL-32、sIL-2R联合评估AUC最大, 为0.975 > 0.9, 具有较高评估价值, 最佳敏感度、特

表 1 两组临床资料对比[n(%)]

临床资料	观察组(n = 124)	对照组(n = 100)	χ^2	P值
性别				
男	69(55.65)	56(56.00)	0.003	0.958
女	55(44.35)	44(44.00)		
年龄				
≤45岁	65(52.42)	52(52.00)	0.004	0.950
>45岁	59(47.58)	48(48.00)		
病程				
≤5年	48(38.71)	54(54.00)	5.219	0.022
>5年	76(61.29)	46(46.00)		
体质量指数(kg/m ²)				
≤23 kg/m ²	64(51.61)	49(49.00)	0.151	0.697
>23 kg/m ²	60(48.39)	51(51.00)		
胃镜下病理变化				
慢性炎症				
轻度	15(12.10)	47(47.00)	5.630	<0.001
中度	72(58.06)	45(45.00)		
重度	37(29.84)	8(8.00)		
萎缩				
轻度	53(42.74)	68(68.00)	3.164	0.002
中度	56(45.16)	24(24.00)		
重度	15(12.10)	8(8.00)		
肠上皮化生				
阴性	31(25.00)	45(45.00)	3.556	<0.001
轻度	36(29.03)	32(32.00)		
中度	42(33.87)	16(16.00)		
重度	15(12.10)	7(7.00)		
上皮内瘤变				
阴性	54(43.55)	61(61.00)	6.749	0.009
阳性	70(56.45)	39(39.00)		

表 2 两组DOB、G-17、IL-32、sIL-2R水平对比(mean ± SD)

组别	例数	DOB	G-17(pmol/L)	IL-32(pg/mL)	sIL-2R(ng/mL)
观察组	124	7.64 ± 1.13	5.10 ± 1.24	76.28 ± 9.29	456.78 ± 35.69
对照组	100	2.27 ± 0.38	8.02 ± 1.45	57.82 ± 6.38	378.25 ± 30.12
t		45.477	16.241	16.910	17.535
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

DOB: 吹气定量测定值; G-17: 胃泌素-17; IL-32: 白介素-32; sIL-2R: 可溶性白细胞介素-2受体。

异度分别为85.48%、98.00%。见表6, 图2。

3 讨论

CAG是公认的胃癌前病变, *H. pylori*感染是其最主要致病因素^[9,10]。*H. pylori*感染可通过参与血清炎症反应、同型半胱氨酸代谢等途径参与CAG形成与发展^[11]。*H. pylori*高毒力菌株存在细胞毒素相关基因A(Cytotoxin-associated gene A, CagA), 是*H. pylori*产生致病作用的原始

动力, 并增加胃癌发病风险^[12]。本研究, 相较于CAG未合并*H. pylori*感染患者, CAG并*H. pylori*感染者胃镜下病理变化(慢性炎症、萎缩、肠上皮化生、上皮内瘤变)更为严重, 提示*H. pylori*感染是CAG病情加重乃至恶化的主要因素之一, 与既往研究^[13,14]一致。

G-17是消化道G细胞分泌的胃肠激素, 可调节消化道功能, CAG早期, G细胞分泌胃酸的功能受抑制, 胃酸抑制作用导致胃窦部G细胞显著降低, 进而使G-17水平

表 3 CAG并*H. pylori*感染影响因素分析

因素	β	<i>S.E.</i>	<i>Wald</i> χ^2	<i>P</i>	OR	95%CI
病程	1.538	0.325	22.408	<0.05	4.657	3.125-6.941
胃镜下病理变化						
慢性炎症	1.094	0.301	13.220	<0.05	2.987	2.096-4.258
萎缩	1.529	0.347	19.428	<0.05	4.616	3.529-6.037
肠上皮化生	1.565	0.302	26.869	<0.05	4.785	3.987-5.742
上皮内瘤变	1.611	0.341	22.316	<0.05	5.007	4.125-6.078
DOB	1.875	0.369	25.817	<0.05	6.520	5.124-8.297
G-17	-0.838	0.226	13.737	<0.05	0.433	0.319-0.587
IL-32	1.431	0.392	13.329	<0.05	4.184	3.026-5.784
sIL-2R	1.464	0.319	21.069	<0.05	4.324	2.745-6.812

赋值: 病程: ≤ 5 年 = 1, > 5 年 = 2; 慢性炎症: 轻度 = 1, 中度 = 2, 重度 = 3; 萎缩: 轻度 = 1, 中度 = 2, 重度 = 3; 肠上皮化生: 阴性 = 0, 轻度 = 1, 中度 = 2, 重度 = 3; 上皮内瘤变: 阴性 = 0, 阳性 = 1; DOB、G-17、IL-32、sIL-2R水平: 以平均值为界, \leq 平均值 = 1, $>$ 平均值 = 2; DOB: 吹气定量测定值; G-17: 胃泌素-17; IL-32: 白介素-32; sIL-2R: 可溶性白细胞介素-2受体。

表 4 不同胃镜下病理变化患者DOB、G-17、IL-32、sIL-2R水平对比(mean \pm SD)

胃镜下病理变化	例数	DOB	G-17(pmol/L)	IL-32(pg/ml)	sIL-2R(ng/ml)
慢性炎症					
轻度	15	5.15 \pm 0.98	6.78 \pm 1.31	60.12 \pm 7.39	382.41 \pm 30.12
中度	72	7.49 \pm 1.25	5.21 \pm 1.12	75.36 \pm 8.31	449.37 \pm 36.74
重度	37	8.94 \pm 1.69	4.20 \pm 0.78	84.62 \pm 10.23	501.35 \pm 40.15
<i>F</i>		41.847	32.797	42.011	58.265
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
萎缩					
轻度	53	5.94 \pm 1.07	6.08 \pm 1.16	65.87 \pm 8.25	421.39 \pm 32.87
中度	56	8.12 \pm 1.31	4.72 \pm 0.98	80.12 \pm 9.80	467.94 \pm 40.69
重度	15	11.85 \pm 1.56	3.06 \pm 0.74	98.73 \pm 12.83	540.16 \pm 48.25
<i>F</i>		139.007	56.304	76.831	59.760
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
肠上皮化生					
阴性	31	5.58 \pm 0.67	6.49 \pm 1.06	63.74 \pm 5.39	385.63 \pm 30.26
轻度	36	6.87 \pm 1.05	5.43 \pm 0.92	72.87 \pm 7.92	439.54 \pm 38.41
中度	42	8.29 \pm 1.32	4.52 \pm 0.87	81.39 \pm 8.83	486.31 \pm 42.37
重度	15	11.93 \pm 1.58	3.06 \pm 0.64	96.07 \pm 10.26	561.80 \pm 45.63
<i>F</i>		112.773	56.092	63.405	81.314
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
上皮内瘤变					
阴性	54	5.98 \pm 1.16	5.84 \pm 1.25	65.27 \pm 10.31	398.32 \pm 35.26
阳性	70	8.92 \pm 1.47	4.53 \pm 1.12	84.77 \pm 14.28	501.88 \pm 40.13
<i>t</i>		12.076	6.139	8.472	15.011
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

DOB: 吹气定量测定值; G-17: 胃泌素-17; IL-32: 白介素-32; sIL-2R: 可溶性白细胞介素-2受体。

下降; 随CAG病情进展, 胃窦腺体丧失, 胃窦G细胞大量减少, 血清G-17水平下降^[15,16]。IL-32参与CAG患者胃黏膜炎症反应, 损伤胃黏膜表层, 诱导腺体分泌功能衰退,

而*H. pylori*感染可促使中性粒细胞、淋巴细胞等炎症细胞在胃黏膜的浸润, 促进IL-32、肿瘤坏死因子等炎症因子释放, 引起炎症反应损伤^[17]。研究证实, CAG发生、发

表 5 DOB、G-17、IL-32、sIL-2R水平与胃镜下病理变化的关系

组别	DOB(r/P)	G-17(r/P)	IL-32(r/P)	sIL-2R(r/P)
慢性炎症	0.527/ < 0.001	-0.549/ < 0.001	0.541/ < 0.001	0.528/ < 0.001
萎缩	0.631/ < 0.001	-0.614/ < 0.001	0.579/ < 0.001	0.541/ < 0.001
肠上皮化生	0.569/ < 0.001	-0.637/ < 0.001	0.562/ < 0.001	0.599/ < 0.001
上皮内瘤变	0.602/ < 0.001	-0.528/ < 0.001	0.594/ < 0.001	0.621/ < 0.001

DOB: 吹气定量测定值; G-17: 胃泌素-17; IL-32: 白介素-32; sIL-2R: 可溶性白细胞介素-2受体.

表 6 DOB、G-17、IL-32、sIL-2R对CAG并H. pylori感染的评估价值

指标	AUC	95%CI	Z统计	P	截断值	敏感度	特异度
DOB	0.871	0.819-0.912	15.867	< 0.001	> 5.17	72.58%	90.00%
G-17	0.853	0.799-0.896	14.372	< 0.001	≤ 5.97 pmol/L	70.97%	86.00%
IL-32	0.790	0.731-0.842	9.878	< 0.001	> 70.13 pg/mL	54.03%	94.00%
sIL-2R	0.787	0.728-0.839	9.382	< 0.001	> 400.31 ng/mL	79.84%	70.00%
联合评估	0.975	0.945-0.991	59.270	< 0.001		85.48%	98.00%

DOB: 吹气定量测定值; G-17: 胃泌素-17; IL-32: 白介素-32; sIL-2R: 可溶性白细胞介素-2受体. *H. pylori*: 幽门螺杆菌.

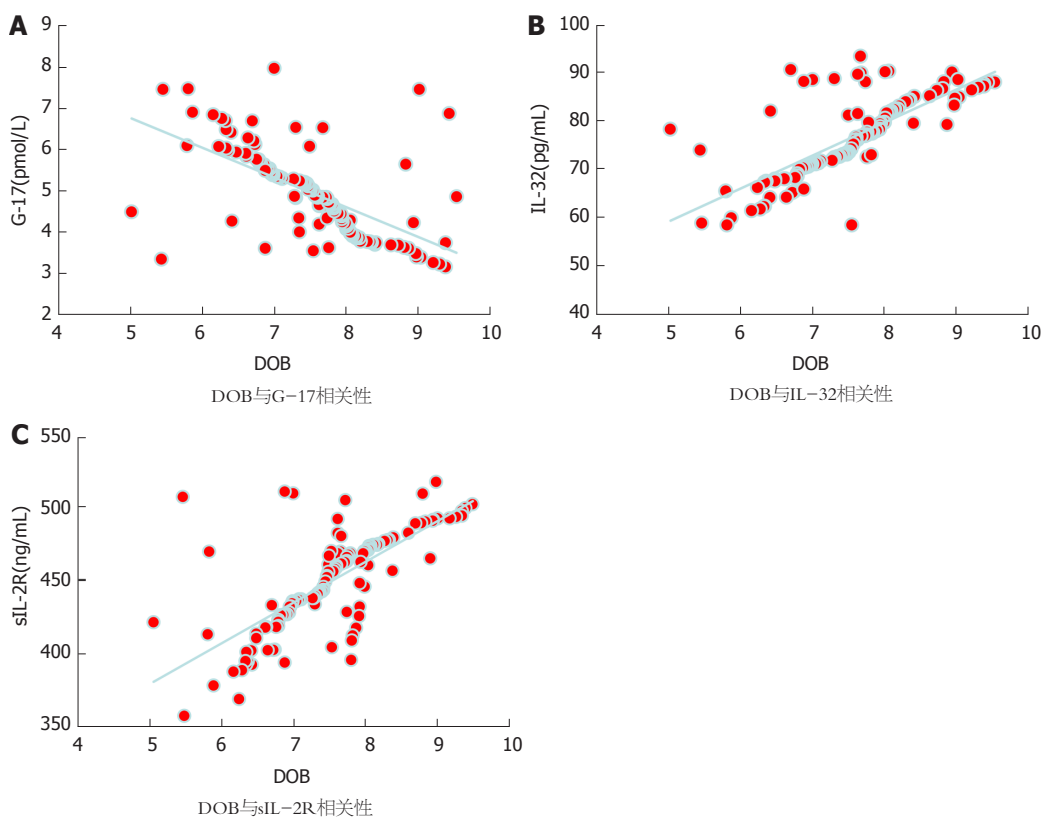


图 1 DOB与G-17、IL-32、sIL-2R相关性. DOB: 吹气定量测定值; G-17: 胃泌素-17; IL-32: 白介素-32; sIL-2R: 可溶性白细胞介素-2受体.

展与细胞免疫功能密切相关^[18]. sIL-2R是活化淋巴、单核细胞产生的多肽, 通过竞争性结合IL-2抑制T细胞增殖, 进而影响机体免疫功能, CAG患者血清sIL-2R显著高表达^[19]. 本研究数据显示, CAG并*H. pylori*感染者IL-32、

sIL-2R水平高于未合并*H. pylori*感染者, G-17水平低于未合并*H. pylori*感染者, 且G-17、IL-32、sIL-2R水平均为CAG并*H. pylori*感染影响因素. 分析原因在于, (1)CAG并*H. pylori*感染者胃窦G细胞减少更多, G-17分泌量更少,

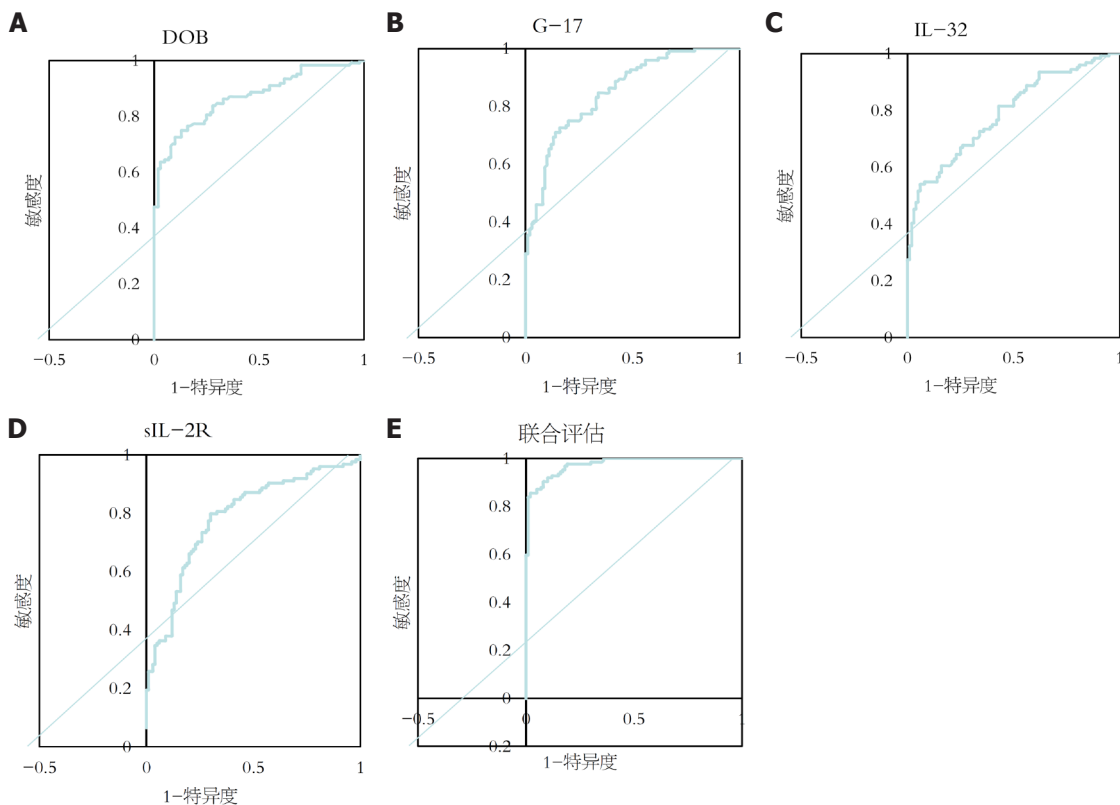


图 2 DOB、G-17、IL-32、sIL-2R、联合评估的ROC曲线。ROC: 受试者工作特征; DOB: 吹气定量测定值; G-17: 胃泌素-17; IL-32: 白介素-32; sIL-2R: 可溶性白细胞介素-2受体。

同时, *H. pylori*感染可增加胃酸分泌, 影响胃酸对胃泌素的反馈调节作用, 进而影响G-17合成和释放; (2)CagA所表达的CagA蛋白可促使炎症细胞(淋巴细胞、中性粒细胞等)在胃黏膜浸润, 促进IL-32、肿瘤坏死因子等炎症因子释放, 促进炎症反应损伤; (3)*H. pylori*感染后, 机体免疫系统被激活, 细胞因子及受体表达增加, 可溶性受体大量产生, 抑制IL-2与其膜受体结合, 进而抑制机体免疫反应^[20,21]。

DOB是*H. pylori*感染严重程度的定量评估指标, 且可预测病情发展趋势和预后成效, 指导临床治疗方案的制定^[22]。本研究创新性探讨发现, CAG并*H. pylori*感染患者DOB与G-17呈负相关关系, 与IL-32、sIL-2R呈正相关关系, 推测DOB、G-17、IL-32、sIL-2R可能协同用于CAG并*H. pylori*感染的临床诊断及病情评估。进一步研究发现, CAG并*H. pylori*感染患者DOB、G-17、IL-32、sIL-2R水平与慢性炎症、萎缩、肠上皮化生、上皮内瘤变有关, 提示G-17、IL-32、sIL-2R在胃黏膜炎症及CAG向肠上皮化生、异型增生至胃癌进展中可能发挥重要作用。因此, 临床医生应当针对CAG并*H. pylori*感染患者积极实施抗*H. pylori*感染、保护胃黏膜、抑制胃酸分泌、改善G-17、IL-32、sIL-2R表达等措施, 以控制病情, 增强疗效。此外, 本研究首次采用DOB、G-17、IL-

32、sIL-2R联合评估CAG并*H. pylori*感染, ROC曲线显示, $DOB > 5.17$ 、 $G-17 \leq 5.97$ pmol/L、 $IL-32 > 70.13$ pg/mL、 $sIL-2R > 400.31$ ng/mL时, 均高度怀疑合并*H. pylori*感染, 联合评估AUC最高, 达0.975。临床可同时检测DOB、G-17、IL-32、sIL-2R, 为评估CAG并*H. pylori*感染提供更全面、可靠的参考信息。

4 结论

综上所述, CAG并*H. pylori*感染患者G-17、IL-32、sIL-2R水平与DOB相关, *H. pylori*感染可能通过影响G-17、IL-32、sIL-2R表达, 参与CAG患者胃黏膜病理改变发生和进展, 各指标联合检测可有效预测*H. pylori*感染, 对临床诊治有重要意义。针对CAG并*H. pylori*感染患者, 临床医生应积极抗*H. pylori*治疗, 调节G-17、IL-32、sIL-2R水平, 以期达到理想疗效。

文章亮点

实验背景

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是公认的胃癌致病因子, 慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)并*H. pylori*感染的诊治一直是临床研究重点。

实验动机

白介素-32(interleukin-32, IL-32)、胃泌素-17(gastrin 17, G-17)、可溶性白细胞介素-2受体(soluble interleukin 2 receptor, sIL-2R)均与CAG发生、发展有关。探讨IL-32、G-17、sIL-2R与吹气定量检测值(delta over baseline, DOB)的关系, 及各指标预测CAG并*H. pylori*感染的价值, 有望为*H. pylori*感染临床诊治提供新手段。CAG并*H. pylori*感染的关系, 旨在为*H. pylori*感染临床诊治提供参考。

实验目标

探讨IL-32、G-17、sIL-2R与CAG并*H. pylori*感染的关系, 旨在为*H. pylori*感染临床诊治提供参考。

实验方法

Logistic回归分析CAG并*H. pylori*感染影响因素; Pearson分析DOB与G-17、IL-32、sIL-2R相关性; Spearman分析DOB、G-17、IL-32、sIL-2R水平与胃镜下病理变化相关性; ROC曲线分析DOB、G-17、IL-32、sIL-2R对CAG并*H. pylori*感染的评估价值。

实验结果

DOB、G-17、IL-32、sIL-2R水平均为CAG并*H. pylori*感染影响因素; CAG并*H. pylori*感染患者DOB与G-17、IL-32、sIL-2R相关, DOB、G-17、IL-32、sIL-2R水平与胃镜下病理变化相关; DOB、G-17、IL-32、sIL-2R均可有效评估评估CAG并*H. pylori*感染, 各指标联合评估价值最高。

实验结论

CAG并*H. pylori*感染患者G-17、IL-32、sIL-2R水平与DOB相关, *H. pylori*感染可能通过影响G-17、IL-32、sIL-2R表达, 参与CAG患者胃黏膜病理改变发生和进展, 各指标联合检测可有效评估*H. pylori*感染。

展望前景

本研究明确了G-17、IL-32、sIL-2R对*H. pylori*感染的评估价值, 但尚未明确G-17、IL-32、sIL-2R与*H. pylori*感染通过哪种通路形成反馈调节关系, 后续研究可对此展开探讨。

5 参考文献

- 1 Tong Y, Wu Y, Song Z, Yu Y, Yu X. The potential value of serum pepsinogen for the diagnosis of atrophic gastritis among the health check-up populations in China: a diagnostic clinical research. *BMC Gastroenterol* 2017; 17: 88 [PMID: 28728545 DOI: 10.1186/s12876-017-0641-6]
- 2 邵艾伦, 董筠. 慢性萎缩性胃炎合并幽门螺杆菌感染患者胃蛋白

- 3 酶原及胃泌素水平变化及其临床意义. *广西医学* 2019; 41: 2564-2566 [DOI: 10.11675/j.issn.0253-4304.2019.20.04]
- 4 黄妙灵, 刘序友. 慢性萎缩性胃炎病理改变与幽门螺杆菌感染及血清胃蛋白酶原、胃泌素-17的相关性. *实用医学杂志* 2020; 36: 2838-2842 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2020.20.019]
- 5 李超, 汪志兵, 张振玉. 13C-尿素呼气试验DOB值与幽门螺杆菌根除率关系的研究. *胃肠病学和肝病学杂志* 2017; 26: 670-672 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-5709.2017.06.012.]
- 6 肖蓉蓉, 孙建斌. 粪便HP抗原检测对慢性萎缩性胃炎辅助诊断及病情评估的价值. *现代检验医学杂志* 2019; 34: 64-67 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-7414.2019.05.016]
- 7 Zahedi L, Jafari E, Torabi Parizi M, Shafieipour S, Hayat Bakhsh Abbasi M, Darvish Moghadam S, Zahedi MJ. The Association between Oral Hygiene and Gastric Pathology in Patients with Dyspepsia: a Cross-Sectional Study in Southeast Iran. *Middle East J Dig Dis* 2017; 9: 33-38 [PMID: 28316764 DOI: 10.15171/mejdd.2016.49]
- 8 陈朝聪, 蔡水苗, 刘海珊. 质子泵抑制剂联合抗生素治疗对HP阳性慢性萎缩性胃炎患者血清胃泌素SIL-2R CRP水平及免疫功能的影响. *河北医学* 2020; 26: 429-432 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-6233.2020.03.019]
- 9 林三仁. *消化内科学高级教程*. 北京: 人民军医出版社 2009: 176-180
- 10 Hwang YJ, Kim N, Lee HS, Lee JB, Choi YJ, Yoon H, Shin CM, Park YS, Lee DH. Reversibility of atrophic gastritis and intestinal metaplasia after Helicobacter pylori eradication - a prospective study for up to 10 years. *Aliment Pharmacol Ther* 2018; 47: 380-390 [PMID: 29193217 DOI: 10.1111/apt.14424]
- 11 Moon HW, Lee SY, Hur M, Yun YM. Characteristics of Helicobacter pylori-seropositive subjects according to the stool antigen test findings: a prospective study. *Korean J Intern Med* 2018; 33: 893-901 [PMID: 29061033 DOI: 10.3904/kjim.2016.353.]
- 12 夏韬, 丁西平, 朱敏, 王卫. 慢性萎缩性胃炎胃黏膜Runx3基因及蛋白表达与幽门螺杆菌感染的关系研究. *重庆医学* 2019; 48: 625-629 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-8348.2019.04.019]
- 13 杨静, 冯庆涛, 杨铸锋, 龙润, 杨全国, 郭虹忆. 慢性萎缩性胃炎大鼠胃黏膜中HP阳性对表皮生长因子表达的影响. *东南大学学报(医学版)* 2018; 37: 1041-1044 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-6264.2018.06.023]
- 14 黄懋敏, 董丹丹, 元丹丹, 凌晨, 张丁丁. 慢性萎缩性胃炎患者HP感染与TGF- β II、IL-6和TNF- α 的表达研究. *中国免疫学杂志* 2018; 34: 751-756 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-484X.2018.05.022]
- 15 李莉, 朱蕾蕾, 孙祝美, 王慧雯, 从军, 陈昶州, 顾志坚, 李娜. 慢性萎缩性胃炎中医证型分布及幽门螺杆菌感染、胃黏膜病理变化情况分析. *上海中医药杂志* 2019; 52: 20-23 [DOI: 10.16305/j.1007-1334.2019.06.005]
- 16 李晓琴, 单文杰, 董文福, 王桦, 陈利, 王海英, 段秀芳, 韩学军. 胃蛋白酶原和胃泌素对萎缩性胃炎、胃癌的筛查价值及与幽门螺杆菌感染的关系. *宁夏医科大学学报* 2017; 39: 1062-1065 [DOI: 10.16050/j.cnki.issn1674-6309.2017.09.020]
- 17 Kotachi T, Ito M, Yoshihara M, Boda T, Kiso M, Masuda K, Matsuo T, Tanaka S, Chayama K. Serological Evaluation of Gastric Cancer Risk Based on Pepsinogen and Helicobacter pylori Antibody: Relationship to Endoscopic Findings. *Digestion* 2017; 95: 314-318 [PMID: 28571035 DOI: 10.1159/000477239]
- 18 杜三军, 张娅娟, 孙晓冉, 高会斌, 于永强. 幽门螺杆菌感染与胃癌患者血清IL-32、IL-12、TNF-2的关系研究. *现代生物医学进展* 2019; 19: 4740-4743 [DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.24.032]
- 19 刘跃平, 柳茂森, 朱临江, 李青松, 林刚. 慢性萎缩性胃炎胃黏膜免疫相关指标变化研究. *中国预防医学杂志* 2017; 18: 39-43 [DOI: 10.16506/j.1009-6639.2017.01.010]
- 20 乔会侠, 王玥, 陈晓岩, 黄雅慧. 自拟姜平舒胶囊联合西药对慢性萎缩性胃炎患者血清MTL、sIL-2R及T淋巴细胞亚群的影响. *中国中西医结合消化杂志* 2020; 28: 433-436, 443 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-038X.2020.06.07]
- 21 Anjiki H, Mukaisho KI, Kadomoto Y, Doi H, Yoshikawa K,

Nakayama T, Vo DT, Hattori T, Sugihara H. Adenocarcinoma arising in multiple hyperplastic polyps in a patient with Helicobacter pylori infection and hypergastrinemia during long-term proton pump inhibitor therapy. *Clin J Gastroenterol* 2017; 10: 128-136 [PMID: 28160247 DOI: 10.1007/s12328-017-0714-7]

21 袁林, 丁松泽, 张延瑞, 祁亚宾, 周颖蕾, 李点点, 赵俊波. 不同类

型幽门螺杆菌在慢性胃病中感染情况及对胃泌素-17和胃蛋白酶原的影响. *中华实用诊断与治疗杂志* 2020; 34: 382-385 [DOI: 10.13507/j.issn.1674-3474.2020.04.015]

22 刘冬, 徐娟, 张承顺. 幽门螺杆菌阳性慢性萎缩性胃炎患者吹气定量检测值与PG、G-17的关系探讨. *现代消化及介入诊疗* 2020; 25: 174-177, 182 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-2159.2020.02.009]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

本刊讯 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标. 静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃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P^H, *H pylori*不能写成HP, T1/2不能写成t1/2或 $\frac{1}{2}$, Vmax不能Vmax, μ 不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如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检验和概率P, 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)如n-(normal, 正), N-(nitrogen, 氮), o-(ortho, 邻), O-(oxygen, 氧, 习惯不译), d-(dextro, 右旋), p-(para, 对), 例如n-butyl acetate(醋酸正丁酯), N-methylacetanilide(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), ϕ (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}, Vd, 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.

CEA、CA 19-9和CA242联合检测能否提高结直肠癌诊断的敏感性和诊断价值: Meta分析

张竞宇, 吴小威, 王绪, 王锐, 刘文天

张竞宇, 吴小威, 王绪, 王锐, 刘文天, 天津医科大学总医院消化内科 天津市 300052

张竞宇, 医学硕士, 主要从事消化系统肿瘤研究.

基金项目: 天津市科委慢性病防治科技重大专项项目, No.17ZXMFSY00210.

作者贡献分布: 张竞宇与吴小威对此文所作贡献双均等; 此课题由刘文天、王锐设计; 研究过程由张竞宇、吴小威、王绪、王锐操作完成; 数据分析由张竞宇、王绪完成; 本论文写作由张竞宇、吴小威、王锐、刘文天完成.

通讯作者: 刘文天, 教授, 300052, 天津市和平区鞍山道154号, 天津医科大学总医院消化内科. tliu01@tmu.edu.cn

收稿日期: 2021-03-29

修回日期: 2021-04-16

接受日期: 2021-06-02

在线出版日期: 2021-07-28

Can combination of CEA, CA 19-9, and CA242 improve diagnostic sensitivity and diagnostic value for colorectal cancer? A Meta-analysis

Jing-Yu Zhang, Xiao-Wei Wu, Xu Wang, Rui Wang, Wen-Tian Liu

Jing-Yu Zhang, Xiao-Wei Wu, Xu Wang, Rui Wang, Wen-Tian Liu, Department of Gastroenterology, the General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China

Supported by: Tianjin Science and Technology Major Project of Chronic Disease Control, No. 17ZXMFSY00210.

Corresponding author: Wen-Tian Liu, Professor, Department of Gastroenterology, the General Hospital of Tianjin Medical University, No. 154 Anshan Road, Heping District, Tianjin 300052, China. tliu01@tmu.edu.cn

Received: 2021-03-29

Revised: 2021-04-16

Accepted: 2021-06-02

Published online: 2021-07-28

Abstract BACKGROUND

In this study, the combination of CEA, CA19-9, and CA242 in the diagnosis of colorectal cancer (CRC) was analyzed by Meta-analysis, and the clinical value of combined CEA, CA19-9, and CA242 in the diagnosis of CRC was discussed.

AIM

To investigate whether combined detection of CEA, CA 19-9, and CA242 can improve detection rate and diagnostic value compared to single biomarkers for CRC.

METHODS

We searched PubMed, Embase, Cochrane Library, CNKI, Wanfang database and Sinomed up to October 25, 2019. Diagnostic tests on CEA, CA 19-9, and CA242 used for CRC were included in this Meta-analysis. Two reviewers finished data extraction and quality assessment on the basis of Diagnostic Accuracy Studies 2. By using bivariate regression model, we analyzed the pooled sensitivity, specificity, positive likelihood ratio (PLR), negative likelihood ratio (NLR), diagnostic odds ratio (DOR), area under the curve (AUC), and corresponding 95% credible interval (CI). Meta-regression and subgroup analyses were employed to explore possible source of heterogeneity.

RESULTS

Eighteen studies (3534 patients) were included. For single biomarkers, the pooled sensitivity of CA 19-9 [0.37(0.32, 0.43)] was lower than that of CEA [0.50 (0.46, 0.55)] and the pooled AUC of CEA [0.73 (0.68, 0.76)] was lower than that of CA 19-9 [0.82 (0.78, 0.85)] and CA242 [0.87 (0.83, 0.89)]. For biomarker combination, the

sensitivity of any two or three biomarkers was greater than that of any single biomarker. For AUC, there was no statistically significant difference between biomarker combinations and single biomarkers but CEA. The result of heterogeneity exploration showed that subject number was the heterogeneity source of CEA and CA 19-9 while cut-off value was the heterogeneity source of CA242.

CONCLUSION

Combination of CEA, CA 19-9, and CA242 can remarkably improve the diagnostic sensitivity for CRC compared to single biomarkers. There is no discernable differences between biomarker combinations and single biomarkers except CEA in diagnostic value for CRC.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: CEA; CA19-9; CA242; Colorectal cancer; Meta-analysis

Citation: Zhang JY, Wu XW, Wang X, Wang R, Liu WT. Can combination of CEA, CA 19-9, and CA242 improve diagnostic sensitivity and diagnostic value for colorectal cancer? A Meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(14): 825-834
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i14/825.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i14.825>

摘要

背景

通过Meta分析方法对癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、CA 19-9、CA242联合检测用于结直肠癌诊断的研究进行综合分析, 对其在结直肠癌诊断中的临床价值进行探讨。

目的

探讨CEA、CA 19-9和CA242平行联检在结直肠癌检出率和诊断价值中的应用。

方法

检索PubMed、Embase、Cochrane Library、CNKI、Wanfang database、Sinomed数据库, 检索关于CEA、CA 19-9和CA242用于结直肠癌检测的诊断试验, 检索时限为建库至2019-10-25。两位研究员在QUADAS-2工具的基础上独立完成了数据提取和质量评估。采取双变量回归模型, 得出了合并后的灵敏度($SEN_{合并}$)、特异度($SPE_{合并}$)、阳性似然比($PLR_{合并}$)、阴性似然比($NLR_{合并}$)、诊断比值比($DOR_{合并}$)、曲线下面积($AUC_{合并}$)及相应95%可信区间(CI)。采用Meta回归和亚组分析探讨异质性的可能来源。

结果

共计18项研究(3534个病人)纳入本Meta分析。对于单个肿瘤标志物检测, CA 19-9[0.37(0.32, 0.43)]的

$SEN_{合并}$ 低于CEA[0.50(0.46, 0.55)]而CEA[0.73(0.68, 0.76)]的 $AUC_{合并}$ 小于CA 19-9[0.82(0.78, 0.85)]和CA242[0.87(0.83, 0.89)]。肿瘤标志物联合检测结果显示, 任意两个或三个肿瘤标志物的 $SEN_{合并}$ 均高于单个肿瘤标志物。对于 $AUC_{合并}$, 肿瘤标志物联检和除CEA外的单个肿瘤标志物之间无统计学差异。异质性检验结果显示, 研究规模是CEA和CA 19-9用于单肿瘤标志物检测时异质性可能来源, 而临界值是CA242异质性的可能来源。

结论

联合应用CEA、CA 19-9和CA 242可显著提高结直肠癌诊断的灵敏度。除CEA外的单个肿瘤标志物与肿瘤标志物联合检测对结直肠癌的诊断价值无明显差异。

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 癌胚抗原; CA 19-9; CA242; 结直肠癌; Meta分析

核心提要: 既往对联合检测癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、CA 19-9和CA 242在结直肠癌诊断中的灵敏度和诊断价值有无提升存在争议, 我们采取Meta分析方法得出结论: 联合CEA、CA 19-9和CA 242可显著提高结直肠癌诊断的灵敏度。除CEA外的单个肿瘤标志物与肿瘤标志物联合检测相比诊断价值无明显差异。

文献来源: 张竞宇, 吴小威, 王绪, 王锐, 刘文天. CEA、CA 19-9和CA242联合检测能否提高结直肠癌诊断的敏感性和诊断价值: Meta分析. *世界华人消化杂志* 2021; 29(14): 825-834

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i14/825.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i14.825>

0 引言

结直肠癌是严重威胁人类健康的恶性肿瘤之一^[1], 根据International Agency for Research on Cancer (IRAC)的研究数据, 每年有约180万新发结直肠癌患者和90万结直肠癌相关死亡病例。在所有肿瘤中, 结直肠癌的发病率仅次于肺癌和乳腺癌^[2]。从结直肠癌的临床前体、腺瘤, 到进展为结直肠癌往往需要数年的时间^[3]。此外, 早期结直肠癌患者的5年生存率约为90%, 但伴远处转移的晚期结直肠癌患者的5年生存率低于20%^[4]。因此, 尽早发现、尽早诊断、尽早治疗是改善结直肠癌远期预后的关键措施。在新发临床症状时, 结直肠癌的诊断主要依赖于内镜及活组织检查。但由于内镜手术具有操作复杂、花费较高、侵入性、术后出血、穿孔等并发症的不足, 患者依从性往往较差^[5]。同时临床症状的出现往往意味着结直肠癌的进展, 因此迫切需要一种早期筛查结直肠癌的方法^[6]。The National Institutions of Health

Biomarker Definition Work Group将“生物标志物”定义为“在正常生理、病理或对治疗干预的药物应答过程中可以客观测量的指标^[7]。生物标志物可以先于临床症状出现,这有助于通过测量其存在或浓度变化来实现结直肠癌早期诊断。此外,生物标志物具有方便、经济、有效、无创、易被患者接受等优点^[8]。肿瘤标志物可以提示肿瘤的存在,但由于其分泌部位的广泛性,单个的肿瘤标志物不能用于鉴别各类肿瘤。在各种肿瘤标志物中,癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、CA 19-9、CA242、CA-50是临床上常用的结直肠癌相关肿瘤标志物^[9]。一项关于蛋白芯片用于12种结直肠癌常用肿瘤标志物检测的研究表明,CEA、CA 19-9、CA242在结直肠癌诊断中显著优于其他肿瘤标志物^[10]。然而,临床实践证明,单个血清肿瘤标志物的检测不能达到结直肠癌早期诊断的要求^[11,12]。因此,寻找新的具有良好灵敏度和特异度的肿瘤标志物以及肿瘤标志物的联合检测是肿瘤标志物在结直肠癌早期诊断临床应用中的两个方向。CEA、CA 19-9、CA242在结直肠癌诊断中具备较高的特异度,但灵敏度并不理想,临床中常常采取多种肿瘤标志物的平行联检来提高诊断试验的灵敏度。然而,联合检测CEA、CA 19-9和CA242是否能有效提高结直肠癌的灵敏度和诊断价值仍存在争议。在Chen等^[10]的研究中,十二种常见的用于结直肠癌诊断的肿瘤标志物中居前的五个(CEA、CA242、CA 19-9、CA125和Fr PSA)之间的任何组合相较于单个标志物均不能提高诊断试验灵敏度。但仲召阳等^[13]发现联合应用CEA、CA 19-9和CA242可以提高结直肠癌诊断的准确性和灵敏度。因此,本文旨在探讨联合检测CEA、CA 19-9和CA242在结直肠癌诊断中的灵敏度和诊断价值。

1 材料和方法

1.1 材料 我们在PRISMA原则基础上完成了Meta分析并于PROSPERO网站进行了注册(CRD4200152574)^[14]。

1.1.1 纳入与排除标准: 两位研究员根据纳入与排除标准独立完成了文献筛选。两人之间的分歧通过与第三位研究员的协商解决。纳入Meta分析的研究必须符合以下纳入标准: (1)以结直肠癌患者为实验组,健康人或良性疾病患者为对照组的诊断性研究; (2)提供足够的数据计算“2×2”表[真阳性(tp)、假阳性(fp)、真阴性(tn)、假阴性(fn)]; (3)给出与CEA、CA 19-9和CA242用于结直肠癌诊断参考的金标准; (4)研究中明确指出相关肿瘤标志物的临界值。符合以下排除标准的文献予以排除: (1)与CEA、CA 19-9和CA242用于结直肠癌诊断无关的研究; (2)未提供足够的信息获得“2×2”表; (3)未给出诊断试验金标准; (4)未给出肿瘤标志物临界值; (5)综述、信

件、会议论文和Meta分析。

1.1.2 检索策略: 在PubMed、Embase、Cochrane Library、CNKI、Wanfang database和Sinomed等数据库进行检索。检索时限为建库至2019-10-25。采用自由词与主题词相结合的方式进行搜索。为了减少文章数量,我们将搜索字段限制为“摘要”和“标题”。英文检索词为“Colorectal Neoplasms”“Colorectal Carcinoma”“Colorectal Cancer”“Carcinoembryonic Antigen”“CA-19-9 Antigen”“CA-242 antigen”。中文检索词为“结直肠癌”“癌胚抗原”“CA 19-9抗原”“CA242抗原”。以Pubmed为例,具体检索策略见补充材料1。

1.2 方法 数据提取与质量评价: 数据从两个方面进行提取: 研究特征,包括作者、发表年份、研究人数等; 肿瘤标志物特征,包括检测方法,临界值和“2×2”表。如果纳入文献涉及到肿瘤标志物的联合检测,我们还提取出联合检测的“2×2”表。对肿瘤标志物联合检测,如果任一肿瘤标志物的检测值大于临界值,则平行联检的结果视为阳性。在QUADAS-2工具的基础上,两位研究员分别就研究的偏倚和适用性进行了评价。偏倚评价包括病例选择、待评价试验、金标准、病例流程及进展情况组成; 而适用性由病例选择、待评价试验、金标准三个部分组成。所有模块的评价都分为高风险、低风险和不清楚^[15]。两位研究员之间的分歧通过与第三位研究员协商解决。

统计学处理 原始数据直接在文中或按研究人数、灵敏度和特异度计算后获取。Higgins I^2 检验用于评价异质性: (1)0%–40%: 轻度异质性; (2)30%–60%: 中度异质性; (3)50%–90%: 高度异质性; (4)75%–100%: 显著异质性^[16]。首先使用Meta-disc1.4软件计算阈值效应。得出的 $P<0.05$ 表明异质性来源于阈值效应。否则采用Meta回归和亚组分析来探讨异质性可能来源。使用Stata 15.1进行数据合并,使用双变量回归模型来计算合并后的灵敏度($SEN_{合并}$)、特异度($SPE_{合并}$)、阳性似然比($PLR_{合并}$)、阴性似然比($NLR_{合并}$)、诊断比值比($DOR_{合并}$)、曲线下面积($AUC_{合并}$)及相应95%可信区间(CI)。另外我们也计算了CEA、CA 19-9和CA242联合检测用于诊断结直肠癌的上述指标。通过Deeks漏斗图进行发表偏倚评估^[17]。 $P<0.05$ 表明存在发表偏倚。采取Z检验定量比较两个观察指标在 $SEN_{合并}$ 、 $SPE_{合并}$ 和 $AUC_{合并}$ 是否有显著性差异^[18]。

2 结果

2.1 文献筛选结果 通过相关数据库检索,初步检索出315篇文章。剔除74篇重复文章后,对241篇文章的标题和

表 1 单个肿瘤标志物检测特征

纳入研究	年份	CEA			CA19-9			CA242		
		检测方法	临界值 (ng/mL)	tp/fp/fn/tn	检测方法	临界值 (U/mL)	tp/fp/fn/tn	检测方法	临界值 (U/mL)	tp/fp/fn/tn
陈文彰等 ^[19]	2007	RIA	15	32/1/30/29	RIA	37	27/0/35/30	RIA	25	32/0/30/30
程金玲 ^[20]	2014	CLIA	5	29/17/31/66	CLIA	37	21/15/39/68	CLIA	20	24/12/36/71
Dong等 ^[21]	2018	ECLI	5	76/10/32/46	ECLI	37	47/4/61/52	ECLI	20	29/3/79/53
何乐等 ^[22]	2016	Protein chip	5	71/2/79/168	Protein chip	35	28/4/122/166	Protein chip	20	36/1/114/169
胡红永等 ^[23]	2010	CLIA	8	41/2/48/48	CLIA	35	40/3/49/47	RIA	25	50/1/39/49
江波等 ^[24]	2006	ELISA	2.4	80/7/70/193	ELISA	27.4	49/15/101/185	ELISA	11	87/22/63/178
荆卫娟等 ^[25]	2015	CLIA	5	45/23/38/67	CLIA	37	34/4/49/86	CLIA	20	33/2/50/88
龙驰等 ^[26]	2012	Protein chip	5	53/6/77/102	Protein chip	35	36/10/94/98	Protein chip	20	40/4/90/104
彭莉等 ^[27]	2006	ECLI	3.4	58/2/34/34	ECLI	37	45/5/47/31	ECLI	20	54/4/38/32
王兵济等 ^[28]	2010	Protein chip	5	79/5/121/95	Protein chip	35	46/4/154/96	Protein chip	20	38/2/162/98
王科学 ^[29]	2016	CLIA	5	67/12/61/174	CLIA	37	60/15/68/171	CLIA	25	72/10/56/176
王堃等 ^[30]	2017	CLIA	7.2	46/4/55/100	CLIA	27	41/4/60/100	CLIA	20	31/3/70/101
张辉等 ^[31]	2017	ECLI	5	37/9/49/77	ECLI	37	23/7/63/79	ECLI	20	21/8/65/78
章万忠等 ^[32]	2007	RIA	5	23/2/7/28	RIA	37	16/0/14/30	RIA	20	23/1/7/29
钟志等 ^[33]	2014	Protein chip	5	26/2/34/28	Protein chip	35	19/3/41/37	Protein chip	20	17/2/43/38
仲召阳等 ^[13]	2007	Protein chip	5	99/8/140/71	Protein chip	35	64/5/175/74	Protein chip	20	61/5/178/74
朱美芹 ^[34]	2016	CLIA	5.093	33/13/28/104	CLIA	37	28/10/33/107	CLIA	15	22/10/39/107
邹超世等 ^[35]	2018	CLIA	5	50/1/52/37	CLIA	27	62/5/40/33	CLIA	25	73/4/29/34

CLIA: 化学发光免疫分析法; ECLI: 电化学发光免疫分析法; ELISA: 酶联免疫法; RIA: 放射免疫法. tp: 真阳性; fp: 假阳性; fn: 真阴性; tn: 假阴性.

表 2 肿瘤标志物联合检测特征

纳入研究	年份	CEA+CA19-9(tp/fp/fn/tn)	CEA+CA242(tp/fp/fn/tn)	CA19-9+CA242(tp/fp/fn/tn)	CEA+CA19-9+CA242(tp/fp/fn/tn)
胡红永等 ^[23]	2010	59/3/30/47	NA	61/4/28/46	76/6/13/44
江波等 ^[24]	2006	109/27/41/173	89/19/61/181	88/23/62/173	110/27/40/173
彭莉等 ^[27]	2006	62/5/30/31	71/7/21/29	64/6/28/30	73/7/19/29
章万忠等 ^[32]	2007	NA	NA	NA	25/4/5/26
钟志等 ^[33]	2014	34/5/26/35	38/4/22/36	32/5/28/35	NA
朱美芹 ^[34]	2016	NA	NA	NA	51/17/10/100
邹超世等 ^[35]	2018	NA	NA	NA	79/4/23/34

tp: 真阳性; fp: 假阳性; fn: 真阴性; tn: 假阴性; NA: 未提及.

摘要进行了仔细的浏览, 排除了其余156篇不相关文章. 结合纳入与排除标准, 仔细阅读其余85篇文章全文. 最终, 因下述原因剔除67篇文章: 31篇未提供相关数据, 24篇与诊断无关, 9篇未提供临界值, 3篇数据重复. 最终, 本Meta分析纳入了18个研究^[13,19-35]. 筛选流程如图1所示.

2.2 研究的基本特征 所有研究的基本特征见表1. 本Meta分析共纳入1931例结直肠癌患者、385例良性疾病患者和1218例健康人. 在18个研究中有7项研究涉及肿瘤标志物联合检测. 肿瘤标志物联合检测特征见表2.

2.3 纳入研究的偏倚风险评价 结果见表3.

2.4 阈值效应与异质性 CEA、CA 19-9、CA242和

CEA+CA 19-9+CA242的spearman相关系数和P值分别为0.257和0.303、0.116和0.510、0.336和0.173、-0.029和0.957, 提示不存在阈值效应. CEA、CA 19-9、CA242和CEA+CA 19-9+CA242的Higgins I²值分别为95%、93%、97%和0. 因此, 我们使用双变量回归模型来计算观察指标.

2.5 观察指标与配对比较 图2是CEA、CA 19-9、CA242和CEA+CA 19-9+CA242的合并灵敏度和特异度的森林图. 图3是CEA、CA 19-9、CA242和CEA+CA 19-9+CA242的SROC曲线.

2.5.1 单个肿瘤标志物分析: CEA、CA 19-9、CA242

表 3 纳入研究的偏倚风险评价

纳入研究	偏倚评价				适用性		
	病例选择	待评价试验	金标准	病例流程和进展情况	病例选择	待评价试验	金标准
陈文彰等 ^[19]	高风险	不清楚	不清楚	低风险	高风险	低风险	低风险
程金玲 ^[20]	低风险	不清楚	低风险	低风险	不清楚	低风险	低风险
Dong等 ^[21]	不清楚	低风险	低风险	低风险	低风险	低风险	低风险
何乐等 ^[22]	高风险	不清楚	低风险	低风险	不清楚	低风险	低风险
胡红永等 ^[23]	高风险	低风险	低风险	低风险	高风险	低风险	低风险
江波等 ^[24]	不清楚	不清楚	低风险	低风险	不清楚	不清楚	低风险
荆卫娟等 ^[25]	不清楚	低风险	低风险	低风险	不清楚	低风险	低风险
龙驰等 ^[26]	不清楚	低风险	低风险	低风险	不清楚	低风险	低风险
彭莉等 ^[27]	高风险	低风险	低风险	低风险	不清楚	低风险	低风险
王兵济等 ^[28]	低风险	低风险	低风险	低风险	低风险	低风险	低风险
王科学 ^[29]	不清楚	不清楚	低风险	低风险	低风险	低风险	低风险
王堃等 ^[30]	不清楚	不清楚	低风险	低风险	不清楚	低风险	低风险
张辉等 ^[31]	高风险	低风险	低风险	低风险	高风险	低风险	低风险
章万忠等 ^[32]	高风险	低风险	低风险	低风险	高风险	低风险	低风险
钟志等 ^[33]	不清楚	低风险	低风险	低风险	不清楚	低风险	低风险
仲召阳等 ^[13]	低风险	低风险	低风险	不清楚	低风险	低风险	低风险
朱美芹 ^[34]	高风险	不清楚	低风险	低风险	高风险	低风险	低风险
邹超世等 ^[35]	高风险	不清楚	低风险	高风险	不清楚	低风险	低风险

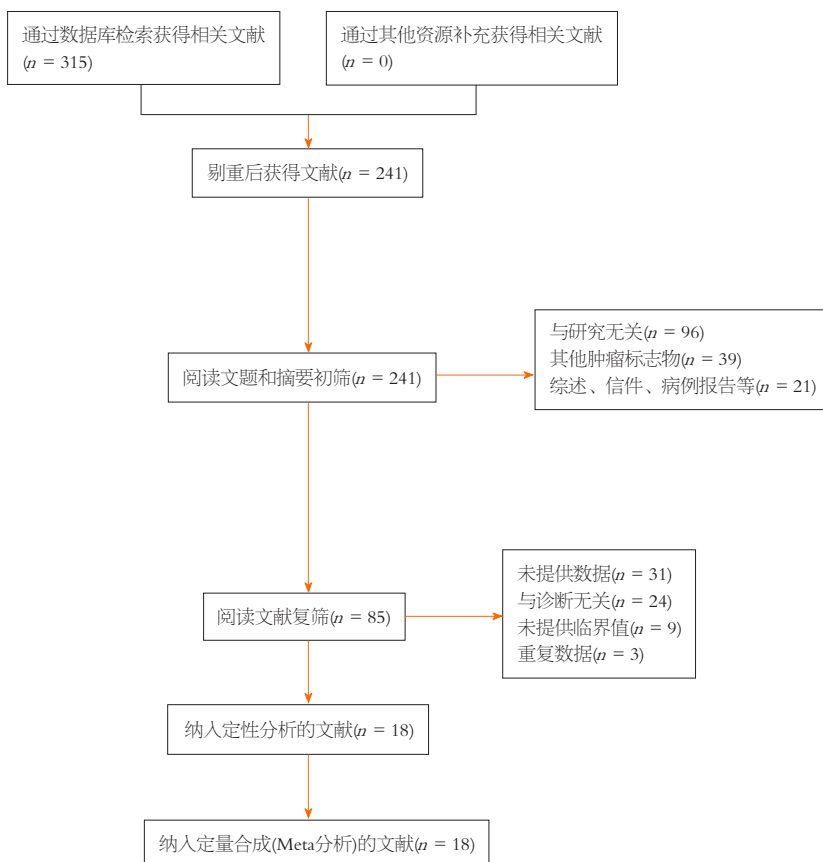


图 1 文献筛选流程.

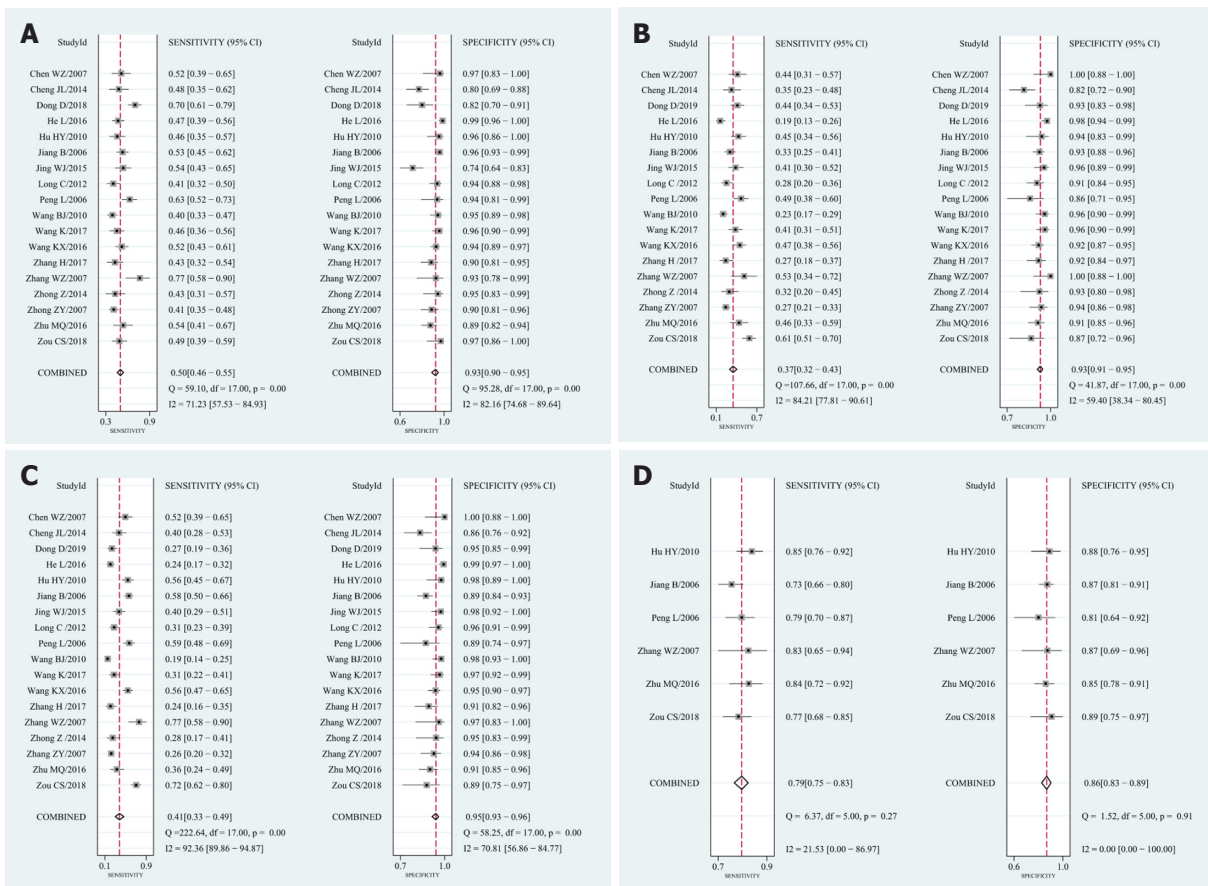


图 2 灵敏度特异度森林图. A: CEA; B: CA 19-9; C: CA242; D: CEA+CA 19-9+CA242. CEA: 癌胚抗原.

的SEN_{合并}、SPE_{合并}、PLR_{合并}、NLR_{合并}、DOR_{合并}、AUC_{合并}及相应95%可信区间(CI)是0.50(0.46,0.55), 0.93(0.90,0.95), 7.3(5.1,10.6), 0.53(0.49,0.58), 14(9,21), 0.73(0.68,0.76), 0.37(0.32,0.43), 0.93(0.91,0.95), 5.4(4.2,7.0), 0.67(0.62,0.73), 8(6,11), 0.82(0.78,0.85); 0.41(0.33,0.49), 0.95(0.93,0.96), 8.0(5.6,11.4), 0.62(0.55,0.71), 13(8,20), 0.87(0.83,0.89). 此外,我们对单个肿瘤标志物的观察指标进行了两两比较.结果见补充材料表4.

CA 19-9[0.37(0.32,0.43)]的SEN_{合并}低于CEA [0.50(0.46,0.55)], CEA [0.73(0.68,0.76)]的AUC_{合并}小于CA 19-9 [0.82(0.78,0.85)]和CA242 [0.87(0.83,0.89)].

2.5.2 肿瘤标志物联合检测: CEA+CA 19-9、CEA+CA242、CA 19-9+CA242和CEA+CA 19-9+CA242的观察指标及配对比较结果见补充材料表5.显然,在灵敏度方面,任何两个或三个肿瘤标志物的组合都优于单个肿瘤标志物,而特异性没有明显下降.对于AUC_{合并},肿瘤标志物联检和除CEA以外的单个肿瘤标志物之间的差异无统计学意义.

2.6 Meta回归与亚组分析 Meta回归和亚组分析结果见补充材料表6、7和8.

对于CEA单独检测,在所有评估变量中,研究规模

是异质性的可能来源($p = 0.02$).而对于CA 19-9,研究规模也是异质性可能来源($p = 0.03$).

临界值是CA242的异质性可能来源($p = 0.02$).

2.7 发表偏倚 发表偏倚漏斗图如图4所示. CEA、CA 19-9、CA242和CEA+CA 19-9+CA242的P值分别为0.65、0.13、0.79和0.27,提示不存在发表偏倚.

3 讨论

肿瘤标志物在结直肠癌早期诊断、术后监测、远期预后中具有相当重要的地位.临床上常见的用于结直肠癌诊断的肿瘤标志物有CEA、CA 19-9、CA242等. CEA作为最常用的结直肠癌肿瘤标志物,在早期结直肠癌诊断中灵敏度往往偏低. CA 19-9在胰腺癌、胆囊癌的诊断中作为首选肿瘤标志物,也用于结直肠癌的诊断,但阳性率较低. CA242增高常见于胰腺癌、直肠癌,也有研究报道其在结直肠癌诊断中检出率高于CEA^[23,24].但是由于肿瘤标志物广泛的分泌部位,单个肿瘤标志物检测往往达不到早期诊断要求.因此,本文对结直肠癌相关肿瘤标志物联合检测做一Meta分析.

我们的研究结论之一是更多肿瘤标志物的加入有助于提升结直肠癌的检出率.与相关研究^[23,24,27,33]结论

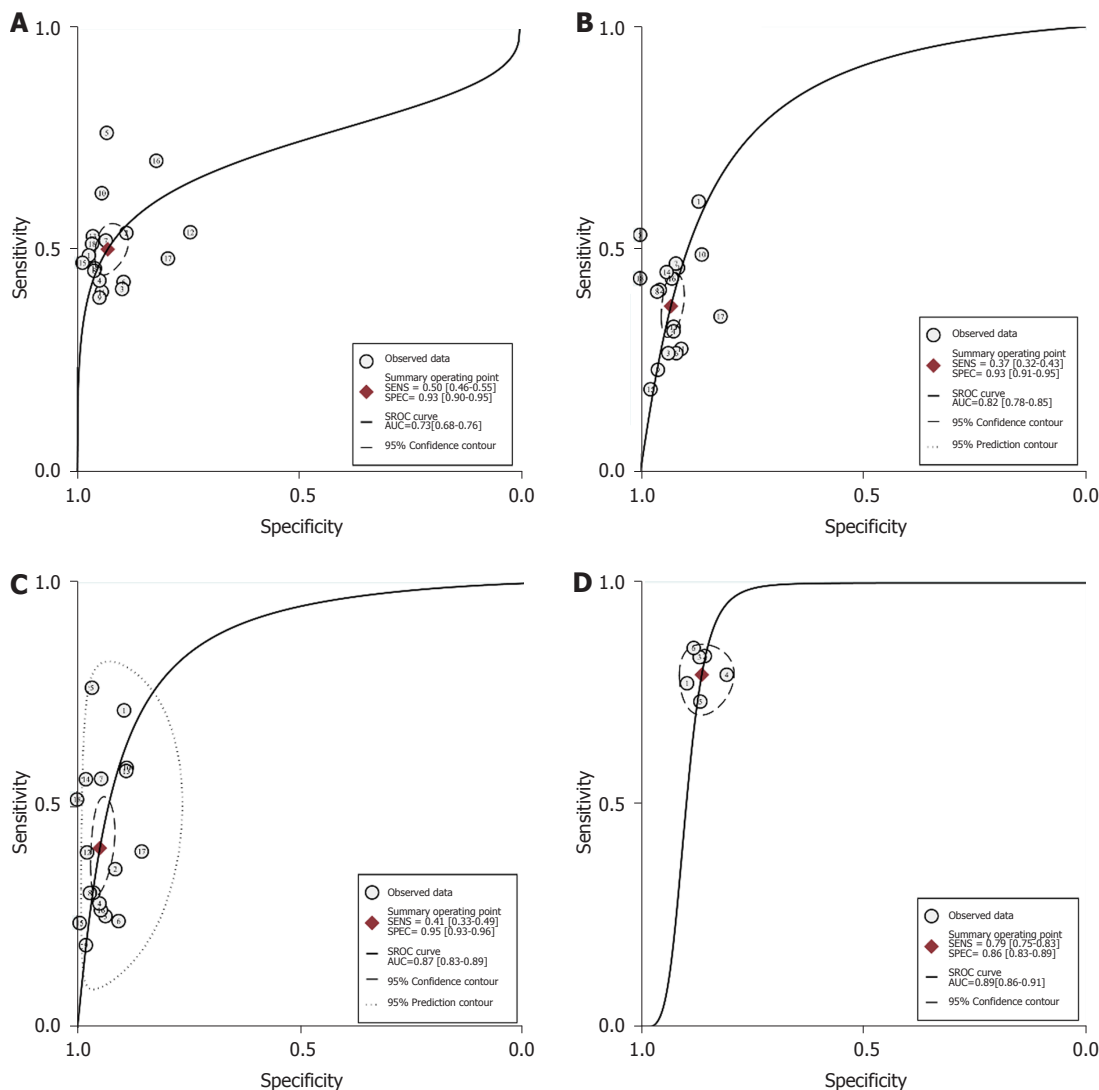


图 3 肿瘤标志物用于结直肠癌诊断的SROC曲线. A: CEA; B: CA 19-9; C: CA242; D: CEA+CA 19-9+CA242. CEA: 癌胚抗原.

相符, CEA、CA 19-9、CA 242中任意两者的组合均可以有效提升检出率.此外,我们的研究表明,肿瘤标志物两两组合之间检出率并无明显差别.与这一结论相反,江波^[24]与彭莉^[27]等人的研究则显示CEA+CA242的组合在检出率方面优于其他两种组合,甚至与三项联合检测无明显差异.这可能是由于CEA及CA242在单项联合检测中灵敏度高于CA 19-9所致.而我们的研究显示三项联合检测的结直肠癌检出率明显高于任意两项联合检测.这一争议仍需进一步的临床研究来探索,以寻求结直肠癌诊断中的肿瘤标志物最佳组合.

在诊断效能方面,之前程朝等人^[36]的Meta分析结果显示,CEA、CA 19-9及CA242三项联合检测与CA242单独检测相比明显提升了结直肠癌的诊断效应,这与之前的一些研究^[13,23]结果相符合.但该研究存在一些不足之处,首先,该研究仅仅比较了CA242单独检测与三项肿瘤标志物联检的诊断效能.其次,在两者诊断效能的比

较中并未使用统计学方法进行评价,结论的得出有待商榷.我们的研究优势之处在于采用Z检验比较了三个肿瘤标志物单独及其两两或三者组合的诊断效能和灵敏度.不同于程朝等人的结果,我们的结果表明,相较于单个肿瘤标志物,更多肿瘤标志物的加入并不能提升对结直肠癌的诊断价值.同时,肿瘤标志物的加入也意味着更高的检出率和更高昂的花费.因此,如何在检出率、诊断价值和成本之间寻求一个合适的平衡点仍是进一步研究的方向.

当然,在我们的研究中,异质性的存在是不容忽视的.对于CEA和CA 19-9,研究规模是异质性的可能来源.亚组分析结果显示,研究人群大于200的亚组检出率低于小于200的亚组.在未来的研究中,可能需要增加纳入人群数量,以减少来自小样本数据的误差,这同时也是Meta分析的优势所在.对CA242,当临界值不等于20 ng/mL时,具有较高的检出率和诊断价值.这表明需要更多

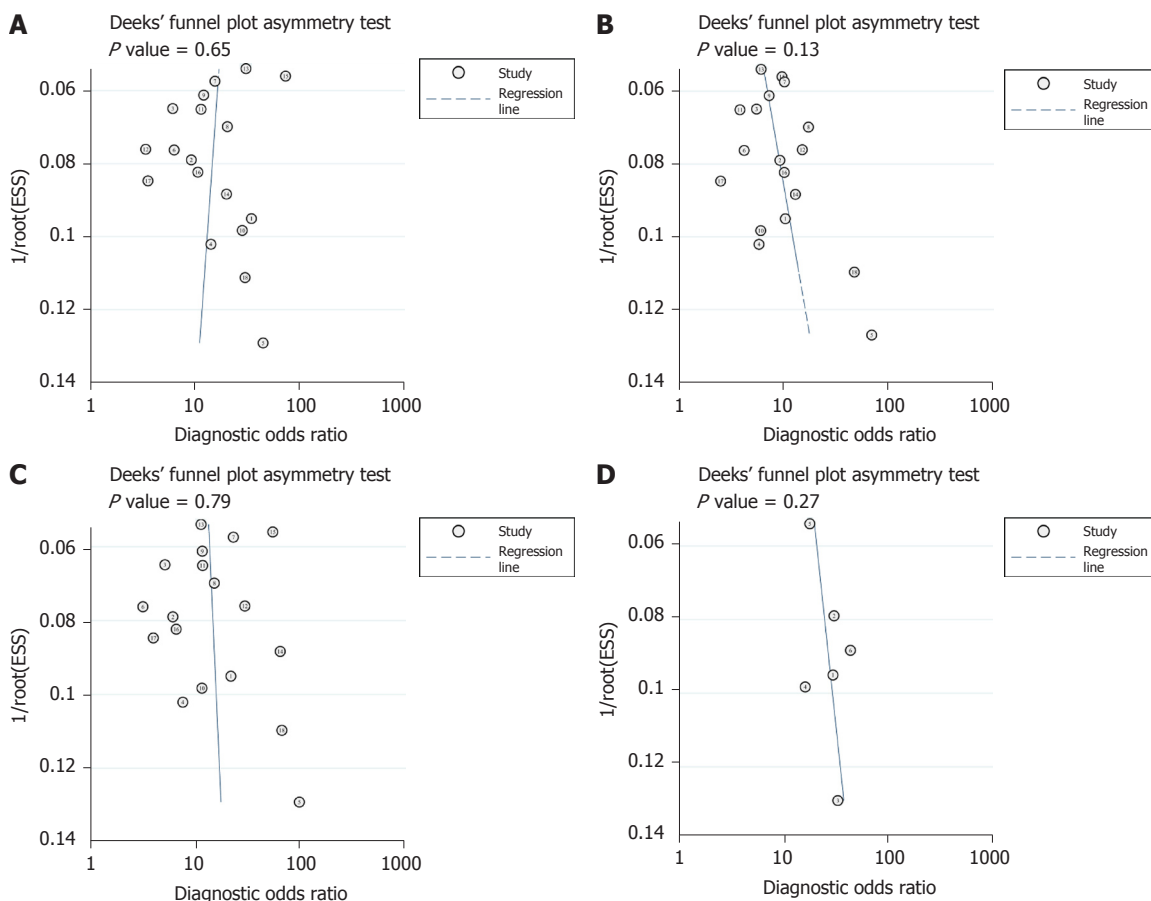


图 4 Deeks'漏斗图. A: CEA; B: CA 19-9; C: CA242; D: CEA+CA 19-9+CA242. CEA: 癌胚抗原.

的研究来确定更准确的临界值.

本Meta分析也有一些局限性. 首先, 纳入研究以病例对照研究为主. 正如表3所示, 一些研究在病例选择有较高的偏倚风险. 此外, 回顾性研究往往存在来自于研究者的选择偏倚, 这是异质性的可能来源之一. 其次, 许多纳入的研究没有提供肿瘤标志物联合检测的相关数据. 如表2所示, 仅有6项研究给出了CEA+CA 19-9+CA242用于结直肠癌联合检测的数据. 它们的 I^2 值为0, 即可以认为它们是同源的. 以上6项研究的肿瘤标志物联合检测的结论是可信的. 然而, 其他研究的缺失数据可能会影响现有的结论. 第三, 单个肿瘤标志物检测的异质性较高. 虽然通过Meta回归发现了异质性的可能来源, 但相关结论的可靠性仍值得进一步研究. 根据上述异质性来源, 在进一步的研究中可以选择一个同源群体进行研究, 但这可能导致选择偏倚. 最后, 在我们的研究中, 大多数人都是亚洲人. 由于发病率和死亡率存在地区差异, 现有结论仍需通过对其他人种的研究加以验证^[37].

4 结论

综上所述, 我们的研究采取Meta分析方法对CEA、CA

19-9和CA242在结直肠癌诊断中的临床应用进行了探讨, 并得出以下结论: 与单一肿瘤标志物检测相比, 更多肿瘤标志物的加入能够有效提升结直肠癌的检出率, 但未必能提升结直肠癌诊断价值.

文章亮点

实验背景

目前临床上缺乏有效的早期结直肠癌无创筛查手段, 而肿瘤标志物异常在早期结直肠癌的检出中具有一定警示作用. 受限于肿瘤标志物分泌部位的广泛性, 单一肿瘤标志物检测目前难以满足结直肠癌早期诊断的要求, 因此肿瘤标志物联合检测是结直肠癌早期检出的重要手段.

实验动机

临床上采用的结直肠癌肿瘤标志物不尽相同, 用于结直肠癌诊断时的灵敏度与诊断价值亦有所出入, 本研究旨在通过Meta分析方法得出经济有效的肿瘤标志物组合.

实验目标

本文选取了临床上最常用于结直肠癌诊断的肿瘤标志

物癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、CA 19-9和CA242, 对于上述肿瘤标志物在结直肠癌诊断中单独及联合检测的灵敏度与诊断价值做一Meta分析, 以期得出更加经济有效的肿瘤标志物组合。

实验方法

根据纳入及排除标准最终纳入18项诊断性实验研究, 采用双变量回归模型对上述研究计算得出合并后的灵敏度, 特异度及曲线下面积。采取Z检验比较上述指标在肿瘤标志物单独及联合检测中是否有显著差异。

实验结果

通过Meta分析方法得出: (1)与单一肿瘤标志物检测相比, 更多肿瘤标志物的加入能够有效提升结直肠癌的检出率; (2)与除CEA以外的其余两项肿瘤标志物单独检测相比, 肿瘤标志物联合检测并未有效提升结直肠癌诊断价值。

实验结论

与单一肿瘤标志物检测相比, 更多的肿瘤标志物的加入能够有效提升结直肠癌的检出率, 但未必能有效提升结直肠癌诊断价值。

展望前景

本文纳入的研究人群以亚洲人为主, 未来尚需通过多中心、大样本的研究来加以验证。

5 参考文献

- Zhang A, Sun H, Yan G, Wang P, Han Y, Wang X. Metabolomics in diagnosis and biomarker discovery of colorectal cancer. *Cancer Lett* 2014; 345: 17-20 [PMID: 24333717 DOI: 10.1016/j.canlet.2013.11.011]
- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2018; 68: 394-424 [PMID: 30207593 DOI: 10.3322/caac.21492]
- Brenner H, Hoffmeister M, Stegmaier C, Brenner G, Altenhofen L, Haug U. Risk of progression of advanced adenomas to colorectal cancer by age and sex: estimates based on 840,149 screening colonoscopies. *Gut* 2007; 56: 1585-1589 [PMID: 17591622 DOI: 10.1136/gut.2007.122739]
- Siegel RL, Miller KD, Fedewa SA, Ahnen DJ, Meester RGS, Barzi A, Jemal A. Colorectal cancer statistics, 2017. *CA Cancer J Clin* 2017; 67: 177-193 [PMID: 28248415 DOI: 10.3322/caac.21395]
- Jung G, Hernández-Illán E, Moreira L, Balaguer F, Goel A. Epigenetics of colorectal cancer: biomarker and therapeutic potential. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2020; 17: 111-130 [PMID: 31900466 DOI: 10.1038/s41575-019-0230-y]
- Okugawa Y, Grady WM, Goel A. Epigenetic Alterations in Colorectal Cancer: Emerging Biomarkers. *Gastroenterology* 2015; 149: 1204-1225.e12 [PMID: 26216839 DOI: 10.1053/j.gastro.2015.07.011]
- Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual

- framework. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 69: 89-95 [PMID: 11240971 DOI: 10.1067/mcp.2001.113989]
- Wu L, Qu X. Cancer biomarker detection: recent achievements and challenges. *Chem Soc Rev* 2015; 44: 2963-2997 [PMID: 25739971 DOI: 10.1039/c4cs00370e]
- Li Q, Dai W, Li Y, Xu Y, Li X, Cai S. Nomograms for predicting the prognostic value of serological tumor biomarkers in colorectal cancer patients after radical resection. *Sci Rep* 2017; 7: 46345 [PMID: 28417967 DOI: 10.1038/srep46345]
- Chen C, Chen LQ, Yang GL, Li Y. The application of C12 biochip in the diagnosis and monitoring of colorectal cancer: systematic evaluation and suggestion for improvement. *J Postgrad Med* 2008; 54: 186-190 [PMID: 18626164 DOI: 10.4103/0022-3859.40963]
- Voorzanger-Rousselot N, Garnero P. Biochemical markers in oncology. Part I: molecular basis. Part II: clinical uses. *Cancer Treat Rev* 2007; 33: 230-283 [PMID: 17433551 DOI: 10.1016/j.ctrv.2007.01.008]
- Duffy MJ, van Dalen A, Haglund C, Hansson L, Holinski-Feder E, Klapdor R, Lamerz R, Peltomaki P, Sturgeon C, Topolcan O. Tumour markers in colorectal cancer: European Group on Tumour Markers (EGTM) guidelines for clinical use. *Eur J Cancer* 2007; 43: 1348-1360 [PMID: 17512720 DOI: 10.1016/j.ejca.2007.03.021]
- 仲召阳, 王东, 李增鹏, 李梦侠, 戴楠, 曹晓静, 王佳, 关伟. 多肿瘤标志物蛋白质芯片检测系统对结直肠癌诊断的临床意义. *重庆医学* 2007; 23: 2406-2408 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-8348.2007.23.026]
- Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, Mulrow C, Gøtzsche PC, Ioannidis JP, Clarke M, Devereaux PJ, Kleijnen J, Moher D. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care interventions: explanation and elaboration. *PLoS Med* 2009; 6: e1000100 [PMID: 19621070 DOI: 10.1371/journal.pmed.1000100]
- Whiting PF, Rutjes AW, Westwood ME, Mallett S, Deeks JJ, Reitsma JB, Leeflang MM, Sterne JA, Bossuyt PM; QUADAS-2 Group. QUADAS-2: a revised tool for the quality assessment of diagnostic accuracy studies. *Ann Intern Med* 2011; 155: 529-536 [PMID: 22007046 DOI: 10.7326/0003-4819-155-8-201110180-00009]
- Ohlsson A, Aher SM. Early erythropoiesis-stimulating agents in preterm or low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2017; 11: CD004863 [PMID: 29145693 DOI: 10.1002/14651858.CD004863.pub5]
- Deeks JJ, Macaskill P, Irwig L. The performance of tests of publication bias and other sample size effects in systematic reviews of diagnostic test accuracy was assessed. *J Clin Epidemiol* 2005; 58: 882-893 [PMID: 16085191 DOI: 10.1016/j.jclinepi.2005.01.016]
- Ruan L, Chen GY, Liu Z, Zhao Y, Xu GY, Li SF, Li CN, Chen LS, Tao Z. The combination of procalcitonin and C-reactive protein or presepsin alone improves the accuracy of diagnosis of neonatal sepsis: a meta-analysis and systematic review. *Crit Care* 2018; 22: 316 [PMID: 30463590 DOI: 10.1186/s13054-018-2236-1]
- 陈文彰, 董林. 肿瘤标志物联检在诊断胃、结直肠癌中的应用. *放射免疫学杂志* 2007; 3: 220-221
- 程金玲. 联合检测CEA、CA19-9、CA242、CA72-4对直肠癌早期诊断的价值. *中国现代医生* 2014; 52: 46-48
- Dong D, Zhang L, Jia L, Ji W, Wang Z, Ren L, Niu R, Zhou Y. Identification of Serum Periostin as a Potential Diagnostic and Prognostic Marker for Colorectal Cancer. *Clin Lab* 2018; 64: 973-981 [PMID: 29945311 DOI: 10.7754/Clin.Lab.2018.171225]
- 何乐, 杨宇馨, 张诗珩, 罗佳, 戴楠, 李梦侠, 单锦露, 王宏毅, 王东. 血清APE1自身抗体在结直肠癌诊断中的价值. *第三军医大学学报* 2016; 38: 1297-1301 [DOI: 10.16016/j.1000-5404.201601165]
- 胡红永, 汤建林, 李玉莹, 高柳燕, 唐秀萍. 肿瘤标志物CEA、CA19-9、CA242联检在结直肠癌患者诊断中的应用. *国际放射医学核医学杂志* 2010; 2: 97-99 [DOI: 10.3760/cma.

- j.issn.1673-4114.2010.02.009]
- 24 江波, 赵先文, 韩存芝, 荆洁线. 大肠癌血清CEA, CA19-9和CA242联合检测及其临床意义. 肿瘤研究与临床 2006; 9: 596-598+ 600
- 25 荆卫娟, 任传路, 丁磊, 王海刚, 丁庆莉. 血清TuM2-PK、TSGF与CEA、CA19-9、CA242联合检测在结肠癌诊断中的临床价值. 标记免疫分析与临床 2015; 22: 1121-1124 [DOI: 10.11748/bjmy.issn.1006-1703.2015.11.015]
- 26 龙驰, 胡义德, 曹正怀. 血清多肿瘤标志物蛋白芯片检测结果在结直肠癌诊断中的价值. 第三军医大学学报 2012; 34: 13-15 [DOI: 10.16016/j.1000-5404.2012.01.025]
- 27 彭莉, 朱传金, 刘玉红, 李春岚. 血清CEA、CA199、CA242联检在大肠癌诊断及随访中的临床应用. 放射免疫学杂志 2006; 3: 239-241
- 28 王兵济, 范彪, 熊斌. 血清多肿瘤标志物蛋白芯片检测系统在结直肠癌诊断中的价值. 武汉大学学报(医学版) 2010; 31: 83-86 [DOI: 10.14188/j.1671-8852.2010.01.030]
- 29 王科学. 血清CEA、CA199、CA242及CA724联合检测对结直肠癌诊断的临床价值. 中国医师杂志 2016; 18: 422-424 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1008-1372.2016.03.025]
- 30 王堃, 喻晶. 异常凝血酶原(PIVKA-II)对结直肠癌的辅助诊断价值. 中国肿瘤 2017; 26: 152-1555 [DOI: 10.11735/j.issn.1004-0242.2017.02.A015]
- 31 张辉, 赵莹, 蒋惠莉, 韩梅, 刘成花. 六种血清肿瘤标志物联合检测对结直肠癌患者的诊断治疗价值. 中国综合临床 2017; 33: 834-838 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1008?6315.2017.09.014]
- 32 章万忠, 陈智周, 范振符. sTn抗原和CA242、CA19-9及CEA联合检测对胃肠道肿瘤的诊断价值. 标记免疫分析与临床 2007; 4: 207-209 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-1703.2007.04.002]
- 33 钟志, 梁欢, 杨桐树, 杨丹, 彭士云. 大肠癌血清中12种肿瘤标志物最优诊断组合的建立及其相关性. 实用肿瘤学杂志 2014; 2: 135-139 [DOI: 10.3969/j.issn.1002-3070.2014.02.008]
- 34 朱美芹. CEA、CA199和CA242联合检测在结直肠肿瘤中的检测意义. 临床医药文献电子杂志 2016; 3: 8299-8300 [DOI: 10.16281/j.cnki.jocml.2016.42.005]
- 35 邹超世, 林英, 刘康海, 樊少勇, 谭莉萍, 丘丹萍. 多种肿瘤标志物联合检测诊断结直肠癌的临床价值及预后监测研究. 国际检验医学杂志 2018; 39: 2960-2963 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2018.23.029]
- 36 程朝, 杨桂英, 杜刚. 联合检测CA242、CA199和CEA对大肠癌诊断价值的Meta分析. 农垦医学 2016; 5: 416-421 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-1127.2016.05.009]
- 37 Schreuders EH, Ruco A, Rabeneck L, Schoen RE, Sung JJ, Young GP, Kuipers EJ. Colorectal cancer screening: a global overview of existing programmes. *Gut* 2015; 64: 1637-1649 [PMID: 26041752 DOI: 10.1136/gutjnl-2014-309086]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁





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:

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

E-mail: wjgd@wjgnet.com

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

<https://www.wjgnet.com>

Telephone: +1-925-3991568

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

E-mail: wjgd@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》编辑部主任王金磊, 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

E-mail: j.l.wang@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*-methylacetanilide (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分之二的精密度. 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》要求所有署名人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 $^aP<0.05$ 或 $^bP<0.01$ ($P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则用 $^cP<0.05$ 和 $^dP<0.01$; 第3套为 $^eP<0.05$ 和 $^fP<0.01$. 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**
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,
CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
https://www.wjgnet.com



ISSN 1009-3079

