

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

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 3 月 8 日 第 21 卷 第 7 期 (Volume 21 Number 7)



7/2013

ISSN 1009-3079



《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被《Chemical Abstracts》，《EMBASE/Excerpta Medica》，《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》编辑委员会成员,由483位专家组成,分布在30个省市,自治区,特别行政区。其中,上海市81位、北京市70位、广东省40位、江苏省38位、辽宁省24位、陕西省22位、黑龙江省20位、湖北省18位、天津市16位、吉林省15位、湖南省14位、福建省13位、山东省13位、广西壮族自治区11位、河北省10位、四川省10位、浙江省10位、重庆市9位、安徽省8位、江西省8位、贵州省7位、新疆维吾尔自治区6位、云南省6位、海南省2位、河南省3位、甘肃省2位、宁夏回族自治区2位、山西省2位、内蒙古自治区1位和香港特别行政区1位。

总顾问

陈可冀教授
黄志强教授
纪小龙教授
王宝恩教授
王苑本教授
杨春波教授
杨思凤教授
姚希贤教授
张万岱教授
周学文教授

名誉主编

潘伯荣教授

主编

程英升教授
党双锁教授
江学良教授
刘连新教授
刘占举教授
吕宾教授
马大烈教授
王小众教授
姚登福教授
张宗明教授

编委

消化内科学

白爱平副教授
白岚教授
卜平教授
陈国忠主任医师
陈洪副教授
陈其奎教授
陈卫昌教授
陈贻胜教授
程斌教授
迟宝荣教授
崔立红教授
邓鑫教授
丁士刚教授
董蕾教授
杜雅菊主任医师
杜奕奇副教授
樊冬梅副主任医师
樊晓明教授
房静远教授

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志坚教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇副研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君副研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

田晓峰教授

汪波主任医师
汪根树副教授
王道荣主任医师
王德盛副主任医师
王凤山教授
王刚副研究员
王健生教授
王蒙副教授
王石林主任医师
王文跃主任医师
王悦华副主任医师
王振宁教授
王铮副研究员
王正康教授
王志刚副主任医师
王忠裕教授
吴泰瑞教授
伍晓汀教授
谢敏主任医师
徐迅迪教授
徐泐副主任医师
许戈良教授
许剑民教授
薛东波教授
杨柏霖副主任医师
杨桦教授
杨家和主任医师
杨银学教授
殷正丰教授
于聪慧教授
俞继卫副主任医师
于则利教授
禹正杨副教授
喻春钊教授
张必翔主任医师
张宏伟教授
张佳林教授
张进祥副教授
张俊副研究员
张力为副教授
张伟辉主任医师
赵刚副教授
赵青川主任医师
智绪亭教授
周伟平教授
周翔宇副主任医师
邹小明教授

消化感染病学

白浪副教授
陈国凤主任医师
陈红松研究员
陈建杰教授
陈志辉副主任医师

丁惠国教授
范建高教授
范小玲主任医师
范学工教授
方今女教授
高润平教授
高泽立副教授
龚国忠教授
管世鹤副教授
郭永红副主任医师
胡国信主任医师
靳雪源主任医师
林潮双副教授
刘正稳教授
彭亮副主任医师
钱林学主任医师
孙殿兴主任医师
谭德明教授
汤华研究员
王建明副教授
王凯教授
王怡主任医师
吴君主任医师
宣世英教授
杨江华副教授
姚鹏副教授
张明辉副主任医师
张占卿主任医师
赵桂鸣主任医师
赵秀英副教授
周陶友副教授
周霞秋教授
朱传武教授
庄林主任医师

消化中医药学

陈治水主任医师
杜群副研究员
扈晓宇主任医师
黄恒青主任医师
李军祥教授
李康副教授
李晓波教授
李勇副教授
李振华教授
刘成海研究员
刘绍能主任医师
鲁玉辉副教授
南极星教授
牛英才研究员
谭周进教授
王富春教授
王来友副教授
王笑民主任医师

邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

曹秀峰教授
曹志成院士
代智副研究员
侯风刚副教授
江建新副主任医师
蒋敬庭教授
李瑗教授
刘宝瑞教授
刘炳亚研究员
刘平教授
刘云鹏教授
卢宁副主任医师
卢晓梅教授
朴龙镇副教授
沈克平主任医师
王阁教授
王锐副主任医师
吴建兵教授
向德兵副教授
肖文华主任医师
肖秀英副主任医师
谢丹教授
张凤春教授

消化影像学

白彬主任医师
官泳松教授
胡红杰主任医师
李健丁教授
龙学颖副主任医师
倪才方教授
魏经国教授
肖恩华教授
徐辉雄教授
严惟力副教授
杨薇副教授
赵卫主任医师

消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师
李家平教授
刘杰民副主任医师
茅爱武教授
孙明军教授
万军教授
吴沛宏教授

余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

范恒教授
唐文富副教授
王学美研究员
魏睦新教授
杨钦河教授
袁建业副研究员
张春虎副教授
朱西杰教授

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
段义农教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
郭长江研究员
郭俊明教授
何红伟副研究员
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授
黄园教授
洪艳教授
李刚教授
李君文研究员
李孟森教授
李文贵副教授
李焱副研究员
李增山副教授
刘长征副教授
刘克辛教授
刘森副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任超世研究员
任浩副教授
任晓峰副教授
邵华副主任药师
沈东炎副教授
沈涛副教授
斯坎德尔·白克力教授
台桂香教授
谭学瑞教授
汤静主管药师

滕旭副教授
田文静副教授
汪思应教授
王钦红教授
王书奎教授
魏继福研究员
文彬研究员
吴道澄教授
吴江锋副教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴志强副教授
夏敏教授
徐健副主任医师
徐宁志研究员
许文燮教授
杨晓明教授
阴赓宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
曾柱教授
张红教授
张淑坤副研究员
赵平教授
赵铁建教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
朱益民教授
竺亚斌研究员

消化病理学

陈云昭副教授
邓昊副教授
杜祥教授
樊祥山副主任医师
郭炜教授
季菊玲副教授
李淳副教授
李晟磊副主任医师
刘丽江教授
刘勇钢副主任医师
门秀丽教授
莫发荣副教授
潘兴华副主任医师
王鲁平主任医师
王娅兰教授
颜宏利副教授
于颖彦教授
余宏宇教授
张锦生教授
赵春玲副教授
朱亮副教授

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2013年3月8日 第21卷 第7期 (总第411期)

述 评	553 肿瘤干细胞及其微生景 姜波健, 王嘉, 俞继卫
基础研究	559 黄芪、三七对萎缩性胃炎大鼠胃黏膜HSP70及其转录因子GAF表达的影响 张会存, 史瑞, 李健, 李晓红, 李军祥, 杨美娟
焦点论坛	567 肠黏膜组织内免疫系统调节异常参与炎症性肠病的发生 刘占举, 吴维, 邱骅婧, 万姗姗, 曹倩, 李林静, 郝卉杰, 石朝阳, 冯百岁, 陈城, 于成功, 陈曦, 甘华田, 邬瑞金, 刘嫦钦, 罗凤燕, 白爱平 568 肠上皮间淋巴细胞在炎症性肠病中的免疫调节效应 吴维, 邱骅婧, 刘占举 574 Th17细胞在炎症性肠病发生过程中的效应应答 万姗姗, 曹倩 579 肥大细胞在炎症性肠病发病中的作用机制 李林静, 郝卉杰, 石朝阳, 冯百岁 585 血管内皮细胞与炎症性肠病发生发展的关系 陈城, 于成功 591 缺氧在肠黏膜炎症损伤过程中的病理生理机制 邱骅婧, 吴维, 刘占举 597 肠神经胶质细胞对肠黏膜免疫细胞的影响及其在炎症性肠病发生发展中的作用 陈曦, 甘华田 602 miRNA在炎症性肠病发病过程中的作用 邬瑞金, 刘嫦钦, 刘占举 607 溃疡性结肠炎动物模型的研究进展 罗凤燕, 白爱平
研究快报	614 壮药汗衣台配伍组方体外抗乙型肝炎病毒的疗效 廖丹, 段雪琳 619 染料木黄酮对人结肠癌SW620细胞生长的抑制 梅庆步, 赵忠新, 郑立红, 陈萍, 刘丹
临床经验	624 Wnt3、Wnt3a在胃癌组织中的表达及意义 官文华, 杨堃, 赵文君, 刘希双, 王秀娟 629 胆红素吸附联合血浆置换治疗高胆红素血症42例 赵和平, 侯田青, 丁保华, 张自然, 邢笑洁, 智慧, 申晓方 633 电刺激治疗脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍 岳雨珊, 谢斌, 程洁, 张文毅, 朱毅

附 录	I-V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2013年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	566 《世界华人消化杂志》正文要求 573 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 578 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 584 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 590 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 601 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 606 《世界华人消化杂志》外文字符标准 613 2012年度《世界华人消化杂志》发文情况 618 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 623 《世界华人消化杂志》参考文献要求 632 《世界华人消化杂志》栏目设置
封面故事	《世界华人消化杂志》编委, 姜波健, 教授, 主任医师, 201900, 上海市, 上海交通大学医学院附属第三人民医院普通外科
本期责任人	编务 马帅; 送审编辑 鲁亚静, 闫晋利; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 田滢; 形式规范审核 编辑部主任 李军亮; 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
(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2013-03-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

程英升, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心

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

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

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

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

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

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

王小众, 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, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部

李军亮, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

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: 010-59080035

传真: 010-85381893

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 Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart

Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-31158812

Telephone: +852-58042046

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》,《中文核心期刊要目总览(2011年版)》,《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>), 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、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68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归Baishideng所有

World Chinese Journal of Digestology

March 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 7

EDITORIAL	553 Microenvironment for cancer stem cells <i>Jiang BJ, Wang J, Yu JW</i>
BASIC RESEARCH	559 Effect of astragalus and Panax notoginseng on expression of heat shock protein 70 and GAF in atrophic gastritis in rats <i>Zhang HC, Shi R, Li J, Li XH, Li JX, Yang MJ</i>
TOPIC HIGHLIGHT	<p>567 Relationship between abnormal immune regulation in the intestinal mucosa and occurrence of inflammatory bowel disease <i>Liu ZJ, Wu W, Qiu HJ, Wan SS, Cao Q, Li LJ, Hao HJ, Shi CY, Feng BS, Chen C, Yu CG, Chen X, Gan HT, Wu RJ, Liu CQ, Luo FY, Bai AP</i></p> <p>568 Immunoregulatory effects of intraepithelial lymphocytes in inflammatory bowel disease <i>Wu W, Qiu HJ, Liu ZJ</i></p> <p>574 Immunoregulatory role of Th17 cells in development of inflammatory bowel disease <i>Wan SS, Cao Q</i></p> <p>579 Role of mast cells in the pathogenesis of inflammatory bowel disease <i>Li LJ, Hao HJ, Shi CY, Feng BS</i></p> <p>585 Effect of vascular endothelial cells on the pathogenesis of inflammatory bowel disease <i>Chen C, Yu CG</i></p> <p>591 Role of hypoxic injury in pathophysiology of intestinal mucosal inflammation <i>Qiu HJ, Wu W, Liu ZJ</i></p> <p>597 Effect of enteric glial cells on immune cells in inflammatory bowel disease <i>Chen X, Gan HT</i></p> <p>602 Role of miRNAs in pathogenesis of inflammatory bowel disease <i>Wu RJ, Liu CQ, Liu ZJ</i></p> <p>607 Animal models of ulcerative colitis <i>Luo FY, Bai AP</i></p>
RAPID COMMUNICATION	<p>614 <i>In vitro</i> anti-HBV effect of polyherbal medicine of Chuang herb HanYiTai <i>Liao D, Duan XL</i></p> <p>619 Genistein inhibits cell proliferation in human colon cancer cell line SW620 <i>Mei QB, Zhao ZX, Zheng LH, Chen P, Liu D</i></p>
CLINICAL PRACTICE	<p>624 Significance of expression of Wnt3 and Wnt3a in gastric carcinoma <i>Guan WH, Yang K, Zhao WJ, Liu XS, Wang XJ</i></p> <p>629 Therapeutic effect of plasma exchange combined with bilirubin absorption for hyperbilirubinemia: An analysis of 42 cases <i>Zhao HP, Hou TQ, Ding BH, Zhang ZR, Xing XJ, Zhi H, Shen XF</i></p> <p>633 Electrical stimulation therapy for neurogenic bowel dysfunction after spinal injury <i>Yue YS, Xie B, Cheng J, Zhang WY, Zhu Y</i></p>

APPENDIX	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2013
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
COVER	Editorial Board Member of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> , Bo-Jian Jiang, Professor, Chief Physician, First Department of General Surgery, No 3 People Hospital, Shanghai Jiao-tong University School of Medicine, Shanghai 201900, China
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: <i>Shuai Ma</i> Review Editor: <i>Ya-Jing Lu, Jin-Li Yan</i> Electronic Page Editor: <i>Ya-Jing Lu</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Ying Tian</i> Proof Editor: <i>Jun-Liang Li</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

Indexed/Abstracted by Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica, Abstract Journals and Digital Object Identifier

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date March 8, 2013

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

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

EDITOR-IN-CHIEF

Ying-Sheng Cheng, Professor, Medical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

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

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

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

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

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

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology,

Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, 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, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

EDITORIAL OFFICE

Jun-Liang Li, Director

World Chinese Journal of Digestology

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-59080035

Fax: +86-10-85381893

E-mail: wjcd@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai,

Hong Kong, China

Fax: +852-31158812

Telephone: +852-58042046

E-mail: bpg@baishideng.com

http://www.wjgnet.com

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited
Room 903, Building D, Ocean International
Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu,

Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue

RMB 2448 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2013 Baishideng. 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 this journal represent the viewpoints of the authors except where indicated otherwise.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp. If you do not have web access please contact the editorial office.

肿瘤干细胞及其微生景

姜波健, 王嘉, 俞继卫

姜波健, 王嘉, 俞继卫, 上海交通大学医学院附属第三人民医院普外一科 上海市 201900
姜波健, 教授, 主任医师, 主要从事胃癌外科临床和基础、胃癌干细胞、肝再生以及肝干细胞的研究。
上海市教委科研基金资助项目, No. 12YZ047
上海市卫生局重点科研基金资助项目, No. 2010018
国家自然科学基金资助项目, No. 81101850
作者贡献分布: 王嘉负责文献收集与初稿撰写; 俞继卫负责初稿修改; 姜波健进行文章构思、文稿终审及修改。
通讯作者: 姜波健, 教授, 主任医师, 201900, 上海市宝山区漠河路280号, 上海交通大学医学院附属第三人民医院普外一科。
jiang_md@hotmail.com
电话: 56691101-6132
收稿日期: 2012-06-26 修回日期: 2013-02-01
接受日期: 2013-02-21 在线出版日期: 2013-03-08

Microenvironment for cancer stem cells

Bo-Jian Jiang, Jia Wang, Ji-Wei Yu

Bo-Jian Jiang, Jia Wang, Ji-Wei Yu, Department of General Surgery (Division I), Shanghai Third People's Hospital, Shanghai Jiao-Tong University School of Medicine, Shanghai 201900, China
Supported by: the Innovation Program of Shanghai Municipal Education Commission, No. 12YZ047; the Key Innovation Program of Shanghai Health Bureau, No. 2010018; and the National Natural Science Foundation of China, No. 81101850
Correspondence to: Bo-Jian Jiang, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery (Division I), Shanghai Third People's Hospital, Shanghai Jiao-tong University School of Medicine, 280 Mohe Road, Shanghai 201900, China. jiang_md@hotmail.com
Received: 2012-06-26 Revised: 2013-02-01
Accepted: 2013-02-21 Published online: 2013-03-08

Abstract

Cancer stem cells and their metastatic niche are one of hot topics for tumor study. This review introduces the definition of microenvironment (niche) for cancer stem cells, related cells and factors, characteristics and regulation of niche, premetastatic niche and tissue components. The research progress in this field can provide some clues to the metastatic mechanism of tumors and the development and improvement of chemotherapeutic drugs.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Neoplasm/cancer; Cancer stem cells;

Microenvironment

Jiang BJ, Wang J, Yu JW. Microenvironment for cancer stem cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(7): 553-558 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/553.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.553>

摘要

肿瘤干细胞及其微生景是目前肿瘤研究的热点之一。本文介绍肿瘤干细胞的微生景及其主要内容: 包括肿瘤微生景的定义, 相关细胞和因子, 微生景特性和调控, 转移前微生景, 微生景的组织成分等。这些领域的研究进展可为以后抗癌治疗和肿瘤转移机理的研究开辟新的思路。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 新生物/癌; 肿瘤干细胞; 微环境/巢

姜波健, 王嘉, 俞继卫. 肿瘤干细胞及其微生景. 世界华人消化杂志 2013; 21(7): 553-558 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/553.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.553>

0 引言

在肿瘤的生长及转移过程中, 肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)进入循环系统或/和淋巴系统并植入远处器官。为存活, 并增殖形成转移灶需耐受极为不利的生存环境。这类事件可在早期肿瘤获得确诊前就已发生^[1]。肿瘤起源的细胞, 即CSCs, 为维持其生命及活性, 并不单依靠其自身的能力, 而是像正常的干细胞一样, 很大程度上依赖其生长发育的环境-微生景(niche, microenvironment)^[2]。在人类几百万年的进化过程中形成的机制, 能让正常干细胞拥有充足的时间来与其生长环境达到良好适应。但是CSCs与微生景间的适应期相对来说非常短暂。因此, 两者间产生了许多不融洽的作用。

1 肿瘤干细胞微生景的定义

肿瘤微生景是指由间充质干细胞、脂肪细胞、

■背景资料

肿瘤干细胞是近年来的研究热点, 越来越多的证据表明, 肿瘤干细胞与其所处微环境密切相关, 直接影响着肿瘤干细胞的浸润、迁移、转移、复发、产生抗药性等多种恶性行为。多种复杂因素共同构成了肿瘤干细胞微环境。

■同行评议者

石毓君, 副研究员, 四川大学华西医院移植工程与移植免疫实验室

■ 研发前沿
肿瘤干细胞及其
微生景是目前肿
瘤研究热点之一。

炎症细胞、血管内皮细胞、免疫细胞及肿瘤相关成纤维细胞等构成,并增殖形成极其复杂的微生景。通过其中存在的多种生长因子、趋化因子、激素、酶及细胞外基质(extracellular matrix, ECM)等组织成分,形成一个复杂网络,并通过各因子间的相互作用,募集相关CSCs入微生景,进而调控微生景中CSCs的生长^[3-5]。

随疾病的发展,微生景的具体位置有所变化,如缺氧组织、肿瘤浸润部位、血管壁周围、甚至正常SCs生长的微生景都可成为肿瘤微生景的形成部位。影响造血干细胞生存的微生景中包含各类细胞和细胞外基质成分。同时,微生景成分对造血干细胞的调控有多重影响作用。多种表型细胞和其微生景中细胞外基质分子具有相互调控作用,并与远处SCs微生景具有重叠交织的相互调控潜能^[6]。

2 与微生景相关的各类细胞和因子

与肿瘤微生景相关的因子有生长因子、趋化因子、激素、酶及细胞外基质,并形成复杂网络,进而调控肿瘤干细胞的募集和生长^[3]。骨髓中的肿瘤微生景含有这些物质,并可能为肿瘤干细胞的定植、生长及增殖,为最终形成转移灶提供足够的支持。

例如胰腺导管腺癌中星形细胞,可分泌Nodal因子作为胰腺CSCs微生景的重要基质成分,Nodal/Activin因子通过Alk4依赖方式促进体内胰腺CSCs的形成和侵袭性的增强^[7];活化的血液凝固因子VII(factor VII, FVIIa)和组织因子(tissue factor, TF)复合物(FVIIa/TF)作为外源性凝血途径始动因子,其活性受CSCs微生景的调控,通过改变止血功能而改变肿瘤细胞表型和活性,使肿瘤在局部增殖、浸润及转移^[8]。对于骨髓中的肿瘤组织,含有上述各种物质构成的微生景可能为CSCs的定植,并进而生长和增殖形成转移灶提供了足够的支持。骨髓中的破骨细胞系受破骨细胞髓样祖细胞的集落刺激因子1(colony stimulating factor 1, CSF1)的调控,在核转录因子(nuclear factor kappa B, NF- κ B)配体的受体激动剂(receptor activator of nuclear factor- κ B ligand, RANKL)的刺激,分化为成熟的破骨细胞。成骨细胞能产生CSF1并且其产生的可溶性RANKL受体保护蛋白会抑制RANKL的活性,以确保对破骨细胞的严格调控^[9]。乳腺癌骨转移中由于破骨细胞不断生成,活性不断增强而产生溶骨性损伤。除CSF1外,破骨细胞还可分泌甲状

旁腺激素相关蛋白(parathyroid hormone related protein, PTHRP)和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)增强RANKL的活性,抑制骨保护蛋白的作用。骨基质中富含游离的各种生长因子,降解后能释放胰岛素相关生长因子1(insulin-like growth factor 1, IGF 1)^[10]、转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF- β)及骨形成蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)等成分^[11,12]作用于肿瘤细胞,有助于其存活生长。这些成分之间的相互作用形成一个正反馈循环,促使骨质不断丢失,而肿瘤细胞不断生长^[13]。乳腺癌骨转移肿瘤细胞部分基因的表达,可调节其上游的CXC趋化因子受体4(CXC chemokine receptor 4, CXCR4)、骨桥蛋白(osteopontin, OPN)、基质金属蛋白酶1(matrix metalloproteinase-1, MMP1)以及白介素11(interleukin-11, IL-11)的转录。Raf激酶抑制蛋白(Raf kinase inhibitor protein, RKIP)可通过抑制microRNA: let-7作用靶点来调控CXCR4、OPN、MMP1基因的表达^[14]。在肿瘤细胞归巢时,骨髓基质中有富含的基质细胞衍生因子1(stromal cell derived factor-1, SDF1, 即CXCL12)也可调节CXCR4,进而影响此循环^[15]。

3 肿瘤细胞微生景的特性和调控

因为肿瘤细胞中共有的标志特性比较稀少,另外,肿瘤干细胞的体内表型会受宿主微环境、性别、肿瘤分期的影响而改变,所以肿瘤细胞微生景的识别仍极具挑战性。一般而言,肿瘤微生景应有以下基本特点:维持肿瘤干细胞的活性,并能被识别。因此,成功的识别策略是应能识别出维持肿瘤干细胞自我更新、分化,并且能抵抗细胞毒药物的活性^[16]。

肿瘤微生景的结构特点和正常的干细胞微生景之间有某些共通之处。构成实体瘤微生景的造血干细胞微生景和普通干细胞微生景具有同样的结构和功能要素。对于调控细胞归巢、迁移、生长、生存和休眠等细胞进程具有重要的促进作用的成骨细胞对这两种微生景来说都是必不可少的成分^[17]。

造血干细胞微生景和肿瘤微生景中共有的分子多成为Wnt、Notch、Hedgehog、phosphoinositide 3-kinase(PI3K)和JAK-STAT等诱导调控的初始传导通路的调控因子^[18]。实验证明以上通路主要作用于肿瘤发展阶段的临床前期,CSCs十分依赖自身的更新,因此,初始信

号通路对CSCs的存活意义重大. 与正常细胞相比, CSCs中的信号通路更易受到小分子物质的影响, 故这些通路肿瘤微生景间的联系使其对肿瘤治疗具有重要意义^[19,20]. 另外, 随着肿瘤发育过程中有关干细胞特性研究结果的不累积, 有理由相信这些特性部分揭示癌症治疗难以获得满意疗效的原因^[18]. 这些物质除了维持微生景, 并进而决定干细胞特性, 还对干细胞表型分化具有主动诱导作用, 并能够通过增强上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)作用促进肿瘤细胞的侵袭转移^[21]. 在结肠癌患者中, 肌成纤维细胞表达的肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF), 即c-蛋氨酸受体酪氨酸激酶配体, 依靠转录激活淋巴增强因子1(lymphoid-enhancing factor 1, LEF-1)而刺激增强已分化肿瘤细胞中的WNT信号通路, 促进其干细胞特性表达, 从而增强肿瘤侵袭性^[22], 另外也有证据显示: 肿瘤细胞产生的BMP4可诱导CSCs进行不可逆转的分化, 从而丢失自我复制的干细胞特性^[23], 肿瘤组织增长速度随CSCs对称分裂可能性增高而加快; 肿瘤干细胞微生景的数目越多, 肿瘤生长的速度越慢, 但最终体积越大^[24]. 这些证据更强调了微生景的重要性. 由于CSCs的表型特点可能不太稳定, 并易受到调控影响发生转化, 因此, 其诱导作用还可能成为微生景的一个关键特性^[25-27].

4 转移前微生景

肿瘤细胞转移到远处器官前所发生的事件是极为重要的. 大部分细胞或在逸出原发肿瘤组织后迅速死亡或无限期的休眠. 原发肿瘤释放的一些信号因子可导致远处靶器官发生改变, 从而使肿瘤的远处转移更为便利. MMPs能增强肿瘤侵袭性和促进肿瘤细胞生长发育, 原发肿瘤细胞分泌的MMPs还有助于在远处转移部位形成微生景并吸引肿瘤细胞的归巢^[28]. 另外, 乳腺癌患者体内所固有的性激素、TGF- β 、二磷酸盐(bisphosphonate)等物质也可促进癌细胞骨转移微生景的形成^[29]. 由此形成的转移部位微环境称之为转移前微生景.

一般认为肿瘤细胞对于肿瘤转移具有驱动作用, 但新的研究表明转移前微生景中的宿主细胞也在肿瘤转移中扮演重要角色. 骨髓中提取的许多细胞, 尤其是骨髓祖细胞形成了肿瘤细胞骨转移的转移前微生景. 对转移前微生景的形成机制分析表明可溶性分泌因子能促

进肿瘤骨转移的骨髓细胞动员. 另外, CSCs通过诱导内皮细胞的分化促进肿瘤组织血管的形成, 由肿瘤和宿主细胞共同分泌的囊泡也有助于形成肿瘤转移前微生景^[30,31]. 肿瘤肺转移的微生景机制研究显示, 其中分泌的血管内皮生长因子A(vascularendothelial growth factor-A; VEGF-A)、胎盘生长因子(placenta growth factor, PLGF)及炎症因子能动员VEGF-A受体促进生成骨髓源性细胞(bone marrow derived cells, BMDCs), 然后促进BMDCs在肺部的募集, 并进而肺部形成微生景, 从而利于肿瘤的转移. 已有研究表明转移前微生景富含粘连蛋白、MMP1/2, S100A8/9及赖氨酰氧化酶(LOX)等各种因子, 以补充所需的支持基质细胞及帮助细胞外基质的重构, 这些作用都有利于进入微生景的肿瘤细胞生长^[32]. 这些因子可充分利用微生景中分子间相互作用及传导信号, 从而抵御阻碍肿瘤细胞进入远处器官的负面因素的影响. 此外, 一些肿瘤细胞甚至可搜寻并占据正常细胞的微生景. 前列腺恶性肿瘤细胞占据了骨髓中造血干细胞的微生景, 并和造血干细胞竞争与微生景的相互作用^[33].

CXCL12-CXCR4轴除了是造血干细胞与其骨髓微生景相互作用的关键要素, 同样也可作用于前列腺癌骨转移的肿瘤细胞. 另外, 乳腺癌中, 活化的酪氨酸蛋白激酶激活CXCL12-CXCR4轴, 随之增强PI3K信号通路的表达, 从而有利于侵入骨髓的肿瘤细胞的存活^[34]. CSCs在其他微环境中与正常干细胞发生的竞争是否和在骨髓微环境中的竞争类似还有待观察. CXCL12-CXCR4轴除对乳腺癌、前列腺癌、小细胞肺癌等易发生骨转移的肿瘤而言是一个关键性的介导因素外, 同样, CXCL12-CXCR4轴还能介导肿瘤细胞转移到肝脏、脑、肺等部位^[35].

事实上, 无论是微生景或是将产生微生景的潜在部位, 都能发现低氧环境和成纤维细胞这两个表达CXCL12所需的重要因素. 另外还需要指出的是, 细胞对氧含量的应答主要受低氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF)转录活性的调控. CSCs依靠HIF的表达而存活、自我更新及生长. 低氧环境还能促进CSCs的发育及细胞归巢^[36]. 原发肿瘤细胞通过调控定植于肺之中的BMDCs, 为自身转移提供便利. HIF-1不但可通过PI3K/Akt信号通路, 调节EMT作用, 进而影响肝细胞癌的侵袭转移^[37], 还可通过调节LOX家族成员, 包括LOX、LOX-2、LOX-4蛋白酶类的

■应用要点

本文针对肿瘤干细胞及其微生态环境的最新进展进行了系统阐述, 为肿瘤的干细胞起源理论及肿瘤的持久缓解和靶向治疗提供理论依据和研究方向.

■同行评价

本文较详细全面地阐述了肿瘤干细胞微环境的主要研究进展,对于关注本领域的研究人员具有一定的指导意义。

表达,在BMDCs被募集于肺之前,催化肺部的胶原蛋白发生交叉反应,以促进乳腺癌肺转移部位微生景的形成。HIF-1高表达的程度与肿瘤发生转移的风险成正相关^[38]。LOX家族成员中只有一小部分可在任何乳腺癌个体中表达,但HIF-1在任何病例中都参与调控。HIF-1或者低氧诱导LOX家族成员的低表达将减少胶原蛋白的交叉反应,从而降低CD11b(+)BMDCs的重募集及接受人体乳腺癌细胞移植的小鼠发生肿瘤肺转移的比例。在乳腺癌的发展进程中,转移微生景的形成是一典型的HIF-1相关事件^[39]。

5 肿瘤细胞微生景的组织成分

肿瘤细胞微生景的组织成分可由肿瘤细胞自身表达产生,就这一点来说,如果肿瘤细胞能将来自自身的微生景带入转移部位,他实际上可摆脱外界条件的干扰。肿瘤细胞可产生维持微生景所需要素,这使得肿瘤细胞一旦到达并不利于生长的环境之后,能拥有一种存活下来的特征和优势。这些要素包括各种生长因子、趋化因子及分泌酶^[4]。

EMC在微生景的形成中也扮演极为重要的角色。有证据表明EMC不但为肿瘤细胞提供了一个结构性的框架环境,还能积极释放调节细胞相关信号^[5]。正常干细胞微生景内EMC中的肌糖蛋白C(tenascin C, TNC),与乳腺癌发生肺转移的侵袭性有关。TNC的高表达多见于慢性炎症和肿瘤患者,尤其是分子量较大的亚型TNC-14/-16^[40]。转移入肺的乳腺癌细胞通过表达TNC来维持其自身的转移启动能力,肿瘤细胞相关TNC通过依赖/非依赖基质MMP两种机制促进转移后微小转移灶的生存及生长,但两种机制都还需要受到MMP分子一定程度的调控^[41]。TNC能促进干细胞信号通路成分的表达,如musashi同源物1(MSI-1)、富亮氨酸重复序列G蛋白偶联受体5(leucine repeat-rich G-protein coupled receptor, LGR5)等。MSI-1对Notch通路具有正调控作用,而LGR5是Wnt通路的靶向蛋白。干细胞调节信号TNC的调控并不影响干细胞表型和多能性的转录序列的表达。TNC通过信号传导转录激活子5(signal transducer and activator of transcription, STAT5)可保护MSI-1依赖的Notch通路免受抑制,并可选择性的促进作为Wnt靶向蛋白的LGR5的表达。肿瘤相关TNC的含量可在肿瘤细胞转移生长中保持稳定,直到肿瘤基质能产生充足的TNC。初始信号通路的调节是肿

瘤细胞相关TNC的一项表达功能,此功能对于乳腺癌启动肺部转移必不可少^[42]。从乳腺癌全身转移患者的胸腔积液分离出的癌细胞中,可观察到TNC的表达,这表明肿瘤细胞相关TNC的自主性表达对肿瘤发生广泛而又高效的转移有重要影响。

随着微生景的激活,肌成纤维细胞产生的TNC能通过SRC激活和黏着斑激酶磷酸化诱导EMT过程,从而有效促进肿瘤细胞的转移^[43,44]。除TNC外,肌成纤维细胞还能产生另外一种细胞外基质蛋白-骨膜蛋白(peripostin, POSTN),同样也是形成微生景的重要成分^[45]。POSTN也可通过EMT促进非小细胞肺癌的侵袭转移^[46]。可以看出,POSTN在肿瘤肺转移过程中扮演的角色与TNC十分相似,因此,这两种分子可能是同一支持环境中两个互相有联系或是能发挥协同作用的要素^[47]。证据显示TNC和POSTN能调节关键信号通路,如CSCs特性的维持及Wnt和Notch通路的活性^[42,45]。发生转移后的CSCs可通过调节这些通路以抵御转移部位不适宜生存微环境的影响。

6 结论

肿瘤转移过程的研究亟待加强。肿瘤干细胞和微生景间的相互调控对转移癌(实际上仍是一种不治之症)的形成和发展意义重大。另一方面,肿瘤微生景既能为肿瘤抵御化疗药物和放射线的杀伤提供保护作用,又能促进CSCs的发育,从而有利于肿瘤细胞免受外来的干扰^[48]。深入研究微生景对CSCs的调控机制,能为阻止肿瘤转移提供新的手段,甚至最终治愈转移性癌。

7 参考文献

- 1 Pantel K, Alix-Panabières C, Riethdorf S. Cancer micrometastases. *Nat Rev Clin Oncol* 2009; 6: 339-351 [PMID: 19399023 DOI: 10.1038/nrclinonc.2009.44]
- 2 Cabarcas SM, Mathews LA, Farrar WL. The cancer stem cell niche--there goes the neighborhood? *Int J Cancer* 2011; 129: 2315-2327 [PMID: 21792897 DOI: 10.1002/ijc.26312]
- 3 Korkaya H, Liu S, Wicha MS. Breast cancer stem cells, cytokine networks, and the tumor microenvironment. *J Clin Invest* 2011; 121: 3804-3809 [PMID: 21965337 DOI: 10.1172/JCI57099]
- 4 Takakura N. Formation and regulation of the cancer stem cell niche. *Cancer Sci* 2012; 103: 1177-1181 [PMID: 22416970]
- 5 Hynes RO. The extracellular matrix: not just pretty fibrils. *Science* 2009; 326: 1216-1219 [PMID: 19965464 DOI: 10.1126/science.1176009]
- 6 Ellis SL, Nilsson SK. The location and cellular

- composition of the hemopoietic stem cell niche. *Cytotherapy* 2012; 14: 135-143 [PMID: 22107161 DOI: 10.3109/14653249.2011.630729]
- 7 Lonardo E, Frias-Aldeguez J, Hermann PC, Heeschen C. Pancreatic stellate cells form a niche for cancer stem cells and promote their self-renewal and invasiveness. *Cell Cycle* 2012; 11: 1282-1290 [PMID: 22421149 DOI: 10.4161/cc.19679]
 - 8 Rak J, Milsom C, Magnus N, Yu J. Tissue factor in tumour progression. *Best Pract Res Clin Haematol* 2009; 22: 71-83 [PMID: 19285274 DOI: 10.1016/j.beha.2008.12.008]
 - 9 Wittrant Y, Gorin Y, Mohan S, Wagner B, Abboud-Werner SL. Colony-stimulating factor-1 (CSF-1) directly inhibits receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL) expression by osteoblasts. *Endocrinology* 2009; 150: 4977-4988 [PMID: 19819976 DOI: 10.1210/en.2009-0248]
 - 10 Hart LS, Dolloff NG, Dicker DT, Koumenis C, Christensen JG, Grimmer A, El-Deiry WS. Human colon cancer stem cells are enriched by insulin-like growth factor-1 and are sensitive to figitumumab. *Cell Cycle* 2011; 10: 2331-2338 [PMID: 21720213 DOI: 10.4161/cc.10.14.16418]
 - 11 Krocze A, Park J, Birkholz T, Neukam FW, Wiltfang J, Kessler P. Effects of osteoinduction on bone regeneration in distraction: results of a pilot study. *J Craniomaxillofac Surg* 2010; 38: 334-344 [PMID: 19910206 DOI: 10.1016/j.jcms.2009.10.010]
 - 12 Kobayashi A, Okuda H, Xing F, Pandey PR, Watabe M, Hirota S, Pai SK, Liu W, Fukuda K, Chambers C, Wilber A, Watabe K. Bone morphogenetic protein 7 in dormancy and metastasis of prostate cancer stem-like cells in bone. *J Exp Med* 2011; 208: 2641-2655 [PMID: 22124112 DOI: 10.1084/jem.20110840]
 - 13 Caja L, Kahata K, Moustakas A. Context-dependent action of transforming growth factor β family members on normal and cancer stem cells. *Curr Pharm Des* 2012; 18: 4072-4086 [PMID: 22630079 DOI: 10.2174/138161212802430459]
 - 14 Yun J, Frankenberger CA, Kuo WL, Boelens MC, Eves EM, Cheng N, Liang H, Li WH, Ishwaran H, Minn AJ, Rosner MR. Signalling pathway for RKIP and Let-7 regulates and predicts metastatic breast cancer. *EMBO J* 2011; 30: 4500-4514 [PMID: 21873975 DOI: 10.1038/emboj.2011.312]
 - 15 Joyce JA, Pollard JW. Microenvironmental regulation of metastasis. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 239-252 [PMID: 19279573 DOI: 10.1038/nrc2618]
 - 16 LaBarge MA. The difficulty of targeting cancer stem cell niches. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 3121-3129 [PMID: 20530700 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2933]
 - 17 Pedersen EA, Shiozawa Y, Mishra A, Taichman RS. Structure and function of the solid tumor niche. *Front Biosci (Schol Ed)* 2012; 4: 1-15 [PMID: 22202039]
 - 18 Takebe N, Harris PJ, Warren RQ, Ivy SP. Targeting cancer stem cells by inhibiting Wnt, Notch, and Hedgehog pathways. *Nat Rev Clin Oncol* 2011; 8: 97-106 [PMID: 21151206 DOI: 10.1038/nrclinonc.2010.196]
 - 19 Takebe N, Ivy SP. Controversies in cancer stem cells: targeting embryonic signaling pathways. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 3106-3112 [PMID: 20530695 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2934]
 - 20 Martelli AM, Evangelisti C, Follo MY, Ramazzotti G, Fini M, Giardino R, Manzoli L, McCubrey JA, Cocco L. Targeting the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt/mammalian target of rapamycin signaling network in cancer stem cells. *Curr Med Chem* 2011; 18: 2715-2726 [PMID: 21649579 DOI: 10.2174/092986711796011201]
 - 21 Borovski T, De Sousa E Melo F, Vermeulen L, Medema JP. Cancer stem cell niche: the place to be. *Cancer Res* 2011; 71: 634-639 [PMID: 21266356 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-3220]
 - 22 Huang FI, Chen YL, Chang CN, Yuan RH, Jeng YM. Hepatocyte growth factor activates Wnt pathway by transcriptional activation of LEF1 to facilitate tumor invasion. *Carcinogenesis* 2012; 33: 1142-1148 [PMID: 22436613 DOI: 10.1093/carcin/bgs131]
 - 23 Farrall AL, Riemer P, Leushacke M, Sreekumar A, Grimm C, Herrmann BG, Morkel M. Wnt and BMP signals control intestinal adenoma cell fates. *Int J Cancer* 2012; 131: 2242-2252 [PMID: 22344573 DOI: 10.1002/ijc.27500]
 - 24 Zhu X, Zhou X, Lewis MT, Xia L, Wong S. Cancer stem cell, niche and EGFR decide tumor development and treatment response: A bio-computational simulation study. *J Theor Biol* 2011; 269: 138-149 [PMID: 20969880 DOI: 10.1016/j.jtbi.2010.10.016]
 - 25 Scheel C, Eaton EN, Li SH, Chaffer CL, Reinhardt F, Kah KJ, Bell G, Guo W, Rubin J, Richardson AL, Weinberg RA. Paracrine and autocrine signals induce and maintain mesenchymal and stem cell states in the breast. *Cell* 2011; 145: 926-940 [PMID: 21663795 DOI: 10.1016/j.cell.2011.04.029]
 - 26 Chaffer CL, Brueckmann I, Scheel C, Kaestli AJ, Wiggins PA, Rodrigues LO, Brooks M, Reinhardt F, Su Y, Polyak K, Arendt LM, Kuperwasser C, Biee B, Weinberg RA. Normal and neoplastic nonstem cells can spontaneously convert to a stem-like state. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 7950-7955 [PMID: 21498687 DOI: 10.1073/pnas.1102454108]
 - 27 Iliopoulos D, Hirsch HA, Wang G, Struhl K. Inducible formation of breast cancer stem cells and their dynamic equilibrium with non-stem cancer cells via IL6 secretion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 1397-1402 [PMID: 21220315 DOI: 10.1073/pnas.1018898108]
 - 28 Rucci N, Sanità P, Angelucci A. Roles of metalloproteases in metastatic niche. *Curr Mol Med* 2011; 11: 609-622 [PMID: 21707518 DOI: 10.2174/156652411797536705]
 - 29 Wilson C, Holen I, Coleman RE. Seed, soil and secreted hormones: potential interactions of breast cancer cells with their endocrine/paracrine microenvironment and implications for treatment with bisphosphonates. *Cancer Treat Rev* 2012; 38: 877-889 [PMID: 22398187 DOI: 10.1016/j.ctrv.2012.02.007]
 - 30 Bussolati B, Dekel B, Azzarone B, Camussi G. Human renal cancer stem cells. *Cancer Lett* 2012 May 12. [Epub ahead of print] [PMID: 22587951 DOI: 10.1016/j.canlet.2012.05.007]
 - 31 Peinado H, Lavotshkin S, Lyden D. The secreted factors responsible for pre-metastatic niche formation: old sayings and new thoughts. *Semin Cancer Biol* 2011; 21: 139-146 [PMID: 21251983 DOI: 10.1016/j.semcancer.2011.01.002]
 - 32 Psaila B, Lyden D. The metastatic niche: adapting the foreign soil. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 285-293 [PMID: 19308068 DOI: 10.1038/nrc2621]
 - 33 Shiozawa Y, Pedersen EA, Havens AM, Jung Y, Mishra A, Joseph J, Kim JK, Patel LR, Ying C, Ziegler AM, Pienta MJ, Song J, Wang J, Loberg RD,

- Krebsbach PH, Pienta KJ, Taichman RS. Human prostate cancer metastases target the hematopoietic stem cell niche to establish footholds in mouse bone marrow. *J Clin Invest* 2011; 121: 1298-1312 [PMID: 21436587 DOI: 10.1172/JCI43414]
- 34 Zhang XH, Wang Q, Gerald W, Hudis CA, Norton L, Smid M, Foekens JA, Massagué J. Latent bone metastasis in breast cancer tied to Src-dependent survival signals. *Cancer Cell* 2009; 16: 67-78 [PMID: 19573813 DOI: 10.1016/j.ccr.2009.05.017]
 - 35 Zlotnik A, Burkhardt AM, Homey B. Homeostatic chemokine receptors and organ-specific metastasis. *Nat Rev Immunol* 2011; 11: 597-606 [PMID: 21866172 DOI: 10.1038/nri3049]
 - 36 Heddleston JM, Li Z, Lathia JD, Bao S, Hjelmeland AB, Rich JN. Hypoxia inducible factors in cancer stem cells. *Br J Cancer* 2010; 102: 789-795 [PMID: 20104230 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605551]
 - 37 Yan W, Fu Y, Tian D, Liao J, Liu M, Wang B, Xia L, Zhu Q, Luo M. PI3 kinase/Akt signaling mediates epithelial-mesenchymal transition in hypoxic hepatocellular carcinoma cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 382: 631-636 [PMID: 19303863 DOI: 10.1016/j.bbrc.2009.03.088]
 - 38 Wong CC, Zhang H, Gilkes DM, Chen J, Wei H, Chaturvedi P, Hubbi ME, Semenza GL. Inhibitors of hypoxia-inducible factor 1 block breast cancer metastatic niche formation and lung metastasis. *J Mol Med (Berl)* 2012; 90: 803-815 [PMID: 22231744]
 - 39 Wong CC, Gilkes DM, Zhang H, Chen J, Wei H, Chaturvedi P, Fraley SI, Wong CM, Khoo US, Ng IO, Wirtz D, Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1 is a master regulator of breast cancer metastatic niche formation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 16369-16374 [PMID: 21911388 DOI: 10.1073/pnas.1113483108]
 - 40 Guttery DS, Shaw JA, Lloyd K, Pringle JH, Walker RA. Expression of tenascin-C and its isoforms in the breast. *Cancer Metastasis Rev* 2010; 29: 595-606 [PMID: 20814719 DOI: 10.1007/s10555-010-9249-9]
 - 41 Hancox RA, Allen MD, Holliday DL, Edwards DR, Pennington CJ, Guttery DS, Shaw JA, Walker RA, Pringle JH, Jones JL. Tumour-associated tenascin-C isoforms promote breast cancer cell invasion and growth by matrix metalloproteinase-dependent and independent mechanisms. *Breast Cancer Res* 2009; 11: R24 [PMID: 19405959 DOI: 10.1186/bcr2251]
 - 42 Oskarsson T, Acharyya S, Zhang XH, Vanharanta S, Tavazoie SF, Morris PG, Downey RJ, Manova-Todorova K, Brogi E, Massagué J. Breast cancer cells produce tenascin C as a metastatic niche component to colonize the lungs. *Nat Med* 2011; 17: 867-874 [PMID: 21706029 DOI: 10.1038/nm.2379]
 - 43 O'Connell JT, Sugimoto H, Cooke VG, MacDonald BA, Mehta AI, LeBleu VS, Dewar R, Rocha RM, Brentani RR, Resnick MB, Neilson EG, Zeisberg M, Kalluri R. VEGF-A and Tenascin-C produced by S100A4+ stromal cells are important for metastatic colonization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 16002-16007 [PMID: 21911392 DOI: 10.1073/pnas.1109493108]
 - 44 Nagaharu K, Zhang X, Yoshida T, Katoh D, Hanamura N, Kozuka Y, Ogawa T, Shiraishi T, Imanaka-Yoshida K. Tenascin C induces epithelial-mesenchymal transition-like change accompanied by SRC activation and focal adhesion kinase phosphorylation in human breast cancer cells. *Am J Pathol* 2011; 178: 754-763 [PMID: 21281808 DOI: 10.1016/j.ajpath.2010.10.015]
 - 45 Malanchi I, Santamaria-Martínez A, Susanto E, Peng H, Lehr HA, Delaloye JF, Huelken J. Interactions between cancer stem cells and their niche govern metastatic colonization. *Nature* 2012; 481: 85-89 [PMID: 22158103 DOI: 10.1038/nature10694]
 - 46 Morra L, Rechsteiner M, Casagrande S, von Teichman A, Schraml P, Moch H, Soltermann A. Characterization of periostin isoform pattern in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2012; 76: 183-190 [PMID: 22079858 DOI: 10.1016/j.lungcan.2011.10.013]
 - 47 Oskarsson T, Massagué J. Extracellular matrix players in metastatic niches. *EMBO J* 2012; 31: 254-256 [PMID: 22179697 DOI: 10.1038/emboj.2011.469]
 - 48 Cukierman E, Bassi DE. The mesenchymal tumor microenvironment: a drug-resistant niche. *Cell Adh Migr* 2012; 6: 285-296 [PMID: 22568991 DOI: 10.4161/cam.20210]

编辑 李军亮 电编 鲁亚静



黄芪、三七对萎缩性胃炎大鼠胃黏膜HSP70及其转录因子GAF表达的影响

张会存, 史瑞, 李健, 李晓红, 李军祥, 杨美娟

张会存, 史瑞, 李晓红, 李军祥, 北京中医药大学东方医院脾胃肝胆科 北京市 100078

李健, 杨美娟, 北京中医药大学基础医学院组织与胚胎学教研室 北京市 100029

张会存, 博士后, 主要从事中医药防治消化系统疾病的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30973741

北京中医药大学创新团队基金资助项目, No. 2011-CXTD-24

作者贡献分布: 本课题由史瑞与李军祥共同设计; 研究过程由张会存、史瑞及李晓红共同完成; 数据分析由张会存、史瑞及李晓红共同完成; 写作由张会存完成; 史瑞进行修改; 李健与李军祥指导。

通讯作者: 李军祥, 教授, 主任医师, 博士生导师, 100078, 北京市丰台区方庄芳星园一区6号, 北京中医药大学东方医院脾胃肝胆科。lijx970508@sohu.com

电话: 010-67689766

收稿日期: 2012-10-10 修回日期: 2013-01-09

接受日期: 2013-01-18 在线出版日期: 2013-03-08

Effect of astragalus and Panax notoginseng on expression of heat shock protein 70 and GAF in atrophic gastritis in rats

Hui-Cun Zhang, Rui Shi, Jian Li, Xiao-Hong Li, Jun-Xiang Li, Mei-Juan Yang

Hui-Cun Zhang, Rui Shi, Xiao-Hong Li, Jun-Xiang Li, Department of Gastroenterology, Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China
Jian Li, Mei-Juan Yang, Department of Histology, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30973741; and the Research and Innovation Team Project of Beijing University of Chinese Medicine, No.2011-CXTD-24

Correspondence to: Jun-Xiang Li, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China. lijx970508@sohu.com

Received: 2012-10-10 Revised: 2013-01-09

Accepted: 2013-01-18 Published online: 2013-03-08

Abstract

AIM: To evaluate the effect of astragalus, Panax notoginseng and their mixture on expression of heat shock protein 70 (HSP70) and GAF in atrophic gastritis in rats.

METHODS: Fifty-four healthy male Wistar rats were randomly divided into six groups: control group, model group, teprenone group, astraga-

lus group, Panax notoginseng group and astragalus plus Panax notoginseng group. Atrophic gastritis was induced by implanting a pylorus spring and intragastrically administering hot salty starch paste. The control and model groups were given normal saline (2 mL) daily, while other groups were infused with water decoction of astragalus containing crude drug 3.5 g/(kg·d), the Panax notoginseng powder containing crude drug 0.7 g/(kg·d), Panax notoginseng powder and astragalus water decoction, and teprenone water suspension containing teprenone 200 mg/(kg·d) for one month by gavage, respectively. The expression of heat shock protein 70 and GAF in the rat gastric mucosa was measured using quantum dot immunofluorescence histochemical technology.

RESULTS: HSP70 protein expression in the astragalus, Panax notoginseng, astragalus plus Panax notoginseng and teprenone groups was significantly increased (all $P < 0.05$) compared to the model group. The expression of GAF in the astragalus, Panax notoginseng, astragalus plus Panax notoginseng and teprenone groups was also increased significantly compared to the model group (all $P < 0.01$). Although the expression of HSP70 in the astragalus group was higher than that in the Panax notoginseng group ($P < 0.05$), there was no significant difference in the expression of GAF between the two groups ($P > 0.05$).

CONCLUSION: Astragalus, Panax notoginseng and their combination can improve mucosal atrophy in rats with atrophic gastritis by increasing GAF and HSP70 expression. GAF and HSP70 may be potential therapeutic targets for atrophic gastritis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Atrophic gastritis; Astragalus; Panax notoginseng; GAF; HSP70

Zhang HC, Shi R, Li J, Li XH, Li JX, Yang MJ. Effect of

■背景资料

萎缩性胃炎, 西医主要采用保护胃黏膜、止痛等对症治疗, 此外缺乏有效的治疗手段。中医依据辨证论治对该病的治疗近年来取得了可喜的临床疗效, 对其分子机制进行深入研究, 不但可以发展解释中医药理论, 同时可以指导临床用药。

■同行评议者

杜雅莉, 教授, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科

■ 研发前沿

在胃黏膜屏障中HSP70具有重要作用, 因此针对HSP70的调控是今后研究的重点。目前尚缺乏深层次的关于中医药治疗萎缩性胃炎作用机制的研究。

astragalus and Panax notoginseng on expression of heat shock protein 70 and GAF in atrophic gastritis in rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(7): 559-566 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/559.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.559>

摘要

目的: 明确黄芪、三七及其配伍对萎缩性胃炎大鼠胃黏膜热休克蛋白70(heat shock protein 70, HSP70)及其转录因子GAF表达的影响。

方法: 清洁级Wistar大鼠54只, 随机分为空白组、模型组、替普瑞酮组、黄芪组、三七组、黄芪+三七组。运用幽门弹簧配合高盐热淀粉糊灌胃法制备萎缩性胃炎模型后, 分别给予空白组、模型组(生理盐水2 mL/d)、黄芪组[黄芪水煎剂3.5 g/(kg·d)]、三七组[三七粉冲剂0.7 g/(kg·d)]、黄芪+三七组{黄芪三七溶液灌胃[其中黄芪3.5 g/(kg·d)、三七0.7 g/(kg·d)]}、替普瑞酮组[200 mg/(kg·d)]灌胃。连续给药1 mo后, 取大鼠胃组织, 经量子点免疫荧光组织化学方法测定各组大鼠胃黏膜中HSP70蛋白及其转录因子GAF表达量。

结果: 同模型组相比, 黄芪组、三七组、黄芪+三七组以及替普瑞酮组胃黏膜中HSP70的表达有显著性差异($P = 0.0000, 0.0269, 0.0020, 0.006$); 同时上述各组HSP70转录因子GAF的表达, 亦显著性高于模型组($P = 0.0000, 0.0000, 0.0010, 0.0052$); 黄芪组HSP70表达高于三七组($P = 0.0134$), 但HSP70转录因子GAF的表达在两组间无统计学差异。

结论: 黄芪、三七及其配伍可以明显改善萎缩性胃炎大鼠胃黏膜状态; 通过诱导并增加转录因子GAF的表达, 促进热休克蛋白70的表达, 可能是黄芪、三七治疗萎缩性胃炎的作用途径之一。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 萎缩性胃炎; 黄芪; 三七; 转录因子GAF; HSP70

张会存, 史瑞, 李健, 李晓红, 李军祥, 杨美娟. 黄芪、三七对萎缩性胃炎大鼠胃黏膜HSP70及其转录因子GAF表达的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(7): 559-566 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/559.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.559>

0 引言

萎缩性胃炎(atrophic gastritis, AG)是以胃黏膜的

腺体萎缩或伴有不同程度的肠上皮化生与异型增生为病理特征的胃黏膜慢性炎症病变, 为我国消化系统常见病和疑难病, 恶性发生率约为2.5%-7.46%^[1]。其症状多以脾虚证的表现为主, 如胃脘隐痛、喜温喜按、面色不华、倦怠乏力、食少便溏、舌淡胖、边有齿痕、脉沉细无力等。久病多瘀, AG患者也兼见胃脘隐痛、痛有定处, 舌有瘀斑, 舌下脉络曲张等血瘀证表现, 胃镜下黏膜萎缩呈颗粒状、皱褶变平、血管透见、可有灰色肠上皮化生结节, 故脾胃气虚, 瘀血内停证为AG的常见证型之一。黄芪、三七分别为健脾益气 and 活血化瘀药的代表药, 多用于治疗AG。本课题组前期运用基因芯片技术研究^[2]发现: 益气活血法能够通过促进热休克蛋白70(heat shock protein 70, HSP70)基因的转录, 改善AG大鼠胃黏膜病变。因此, 为了进一步明确益气活血法在萎缩性胃炎治疗中对HSP70的调控作用, 本实验运用量子点免疫荧光组织化学技术研究了代表益气活血法的黄芪、三七及其配伍对萎缩性胃炎大鼠HSP70及其转录因子GAF的影响, 为其临床应用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 黄芪(产地内蒙古, 北京同仁堂药材有限公司, 北京中医药大学中药学院中药鉴定系张媛教授鉴定为蒙古黄芪), 三七粉(产地云南, 北京同仁堂药材有限公司), 替普瑞酮胶囊[施维舒, 卫材(中国)药业有限公司]。Wistar δ 大鼠, 54只, 体质量200 g ± 20 g, SPF级, 北京维通利华实验动物技术有限公司[实验动物许可证编号: SCXK(京)2006-0009], 常规饲养于北京中医药大学SPF级动物房。抗HSP70/72小鼠单克隆抗体(美国Assay Designs公司), 抗GAF抗体(美国Santa公司), 605 nm ODs-SA(605 nm量子点标记的链霉亲和素复合物)检测试剂盒(武汉珈源量子点技术开发有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 造模: 造模时间为4 mo, 方法参考史瑞等^[3]研究。

1.2.2 分组及给药: Wistar大鼠按质量随机区组设计法随机分为空白组、模型组。空白组予生理盐水2 mL/d灌胃; 模型组模型制备参见史瑞等幽门弹簧置入联合高盐热淀粉糊灌胃法^[3]。模型成功后, 将模型组大鼠按体质量随机区组设计法随机分为模型组、黄芪组、三七组、黄芪+三七组、替普瑞酮组。模型组予生理盐水

表 1 量子点标记的各组大鼠胃组织HSP70及其转录因子GAF比较 (mean ± SD)

分组	视野数	HSP70荧光信号强度	GAF荧光信号强度
空白组	5	1.794 ± 0.209 ^d	2.990 ± 0.222 ^d
模型组	5	2.052 ± 0.268 ^d	3.402 ± 0.362 ^d
替普瑞酮组	5	3.970 ± 0.113 ^b	5.352 ± 0.463 ^{bd}
黄芪组	5	5.280 ± 0.788 ^b	7.846 ± 0.415 ^b
三七组	5	3.568 ± 0.443 ^{ac}	7.308 ± 0.262 ^b
黄芪+三七组	5	4.250 ± 0.576 ^b	5.766 ± 0.554 ^{bd}

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 模型组; ^d $P < 0.01$ vs 黄芪组.

2 mL/d灌胃; 黄芪组予黄芪水煎剂3.5 g/(kg·d)灌胃; 三七组予三七粉冲剂0.7 g/(kg·d)灌胃; 黄芪+三七组予黄芪三七溶液灌胃[其中黄芪3.5 g/(kg·d)、三七0.7 g/(kg·d)]; 替普瑞酮组予替普瑞酮200 mg/(kg·d), 治疗1 mo后处死, 取大鼠胃组织, 福尔马林固定.

1.2.3 检测方法: 胃组织切片脱蜡、水化、微波抗原修复、TBS洗涤, 封闭缓冲液37 °C湿盒孵育60 min, 分别滴加HSP70、GAF抗体, 37 °C孵育2 h, TBS-T漂洗5 min/次×3次, 封闭缓冲液37 °C湿盒孵育20 min, 滴加QDs-SA标记的二抗, 37 °C湿盒孵育30 min, TBS-T漂洗5 min/次×3次, 滴加缓冲甘油封片剂封片. 荧光显微镜下观察, HSP70、GAF蛋白的阳性信号均为红色. 切片经奥林巴斯BX51荧光显微镜及其配备的奥林巴斯DP72相机(日本奥林巴斯光学工业有限公司)拍照.

统计学处理 图片经CRiNuance多光谱成像系统(美国剑桥研究与仪表公司), 进行图像分析后, 计量各组蛋白量子点荧光信号的荧光强度, 每组取5个视野进行统计. 实验数据采用统计软件SPSS13.0进行单因素方差分析, 实验结果采用mean ± SD表示, $P < 0.05$ 认为组间有统计学意义, $P < 0.01$ 认为组间有显著性差异.

2 结果

2.1 黄芪、三七及其配伍对HSP70蛋白表达的影响 空白组与模型组相比较, 胃黏膜HSP70蛋白表达量相接近, 两组之间无统计学差异. 与模型组比较, 黄芪组、三七组、黄芪+三七组, 替普瑞酮组胃黏膜HSP70表达显著升高($P = 0.0000$, 0.0269 , 0.0020 , 0.006); 黄芪组HSP70表达量高于空白组、模型组及三七组($P = 0.0000$, 0.0000 , 0.0134); 黄芪组与黄芪+三七组相比, HSP70表达差异无统计学意义($P = 0.1251$, 图1, 表1).

2.2 黄芪、三七及其配伍对HSP70转录因子GAF表达的影响 空白组与模型组之间, 胃黏膜转录因子GAF表达量相比较, 两组之间无统计学差异. 黄芪组、三七组、黄芪+三七组与模型组比较, 胃黏膜GAF表达显著性升高($P = 0.0000$, 0.0000 , 0.0010 , 图2, 表1); 与模型组比, 替普瑞酮组胃黏膜GAF表达也显著性增加($P = 0.0052$); 黄芪组与三七组两组之间, GAF表达量差异无统计学意义.

3 讨论

热休克蛋白(heat shock protein, HSP)是生物有机体经外界的刺激后, 转录合成的蛋白质, 有人形象称其为应激蛋白(stress protein, SP). HSPs是一组具有重要生理功能、高度保守的蛋白质分子^[4], 研究显示, 诱导性HSP70家族可以修复损伤的前核糖体、防止溶酶体破坏、稳定细胞膜, 从而维持细胞正常的形态和功能^[5-7]. 热休克蛋白不但支持新生多肽和蛋白质的跨膜运输与折叠^[8], 同时也参与调节免疫反应, 包括抗原提呈与交叉呈递. 当外界刺激存在时会显著上调热休克蛋白的表达, 以保护细胞免受致命伤害并防止病原体的传播^[9,10].

根据分子量大小, 目前学术界将HSP分为4类: HSP90家族、HSP70家族、HSP60及小分子量HSP家族^[11], 此外还有特性不同于上述家族的大分子量HSP. 热休克蛋白70(HSP70)是热休克蛋白70家族中的重要成员之一, 是目前研究的热点. 该蛋白在多种应激状态下, 如高温、缺氧、发热、炎症、放射、组织损伤、重金属、代谢性疾病、肿瘤等情况下均可被诱导表达, 具有多种生理功能, 包括分子伴侣功能、参与免疫反应、抗细胞凋亡、抗氧化、提高细胞应激耐受性、促进细胞增殖、参与细胞骨架的形

■ 相关报道

热休克蛋白增强胃黏膜细胞对各种损伤刺激的抵抗力, HSP70能稳定蛋白, 调节细胞免疫系统, 维持细胞的完整性, 平衡细胞的增殖与凋亡, 从而促进细胞的增殖修复与保护作用.

■创新盘点

本实验应用量子点介导的荧光显微镜技术,阐明益气活血法治疗萎缩性胃炎的作用靶点,为益气活血法的临床应用提供科学依据,并指导临床用药。

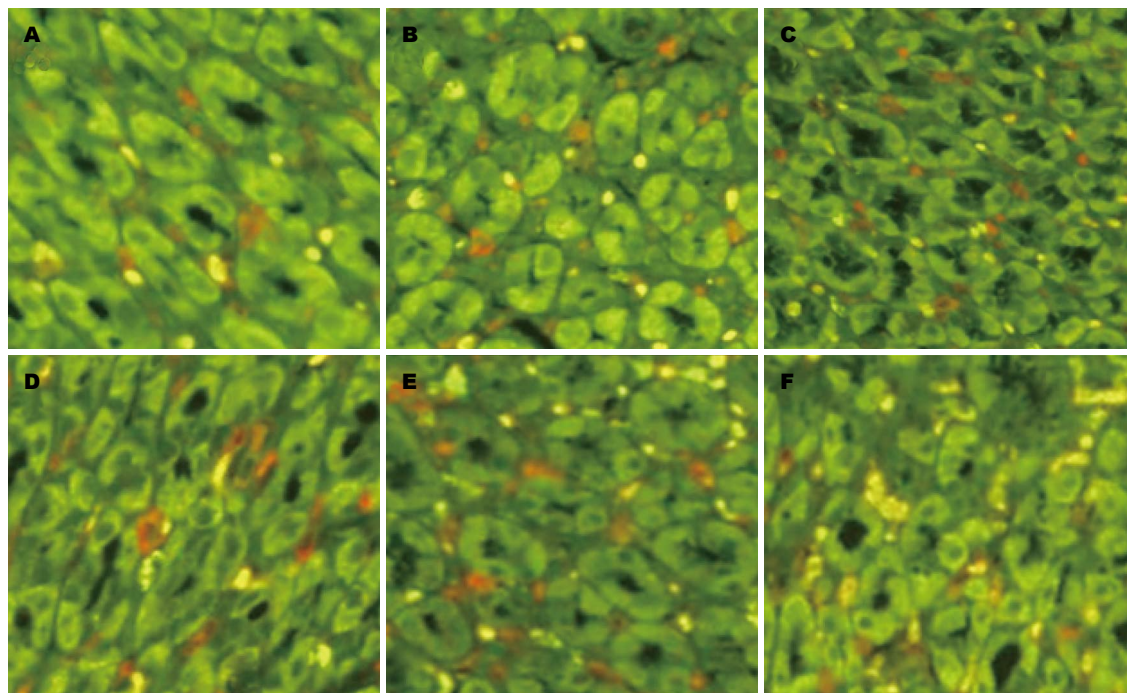


图1 量子点标记各组大鼠胃组织HSP70的表达. A: 空白组; B: 模型组; C: 替普瑞酮组; D: 黄芪组; E: 三七组; F: 黄芪+三七组。

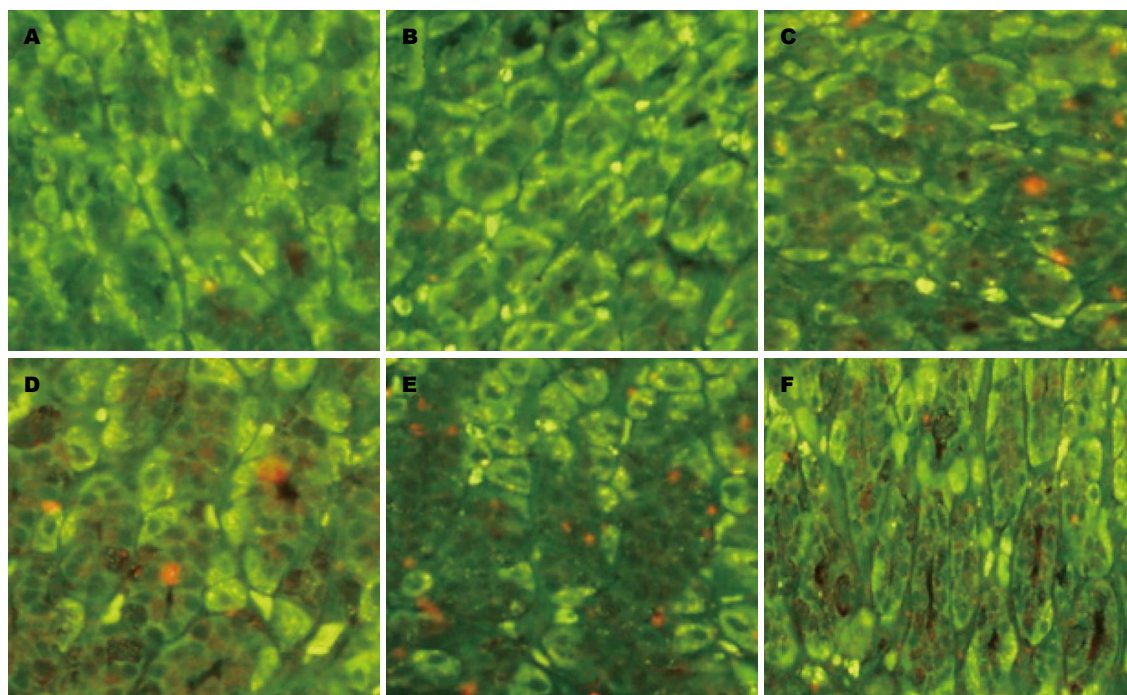


图2 量子点标记各组大鼠胃组织HSP70转录因子GAF的表达. A: 空白组; B: 模型组; C: 替普瑞酮组; D: 黄芪组; E: 三七组; F: 黄芪+三七组。

成和修复等^[12-18]。

人类基因组编码HSP70家族的13个成员^[19], 目前研究并了解最多的是诱导型HSP70/HSP72(HSPA1A), 组成型HSC70/HSP73/HSC73(HSPA8)存在于内质网, Grp78/

BiP(HSPA5)和HSP75/mtHSP70/mortalin/TRAP-1(HSPA9), 主要定位在线粒体^[20]。目前研究主要集中于胞质中的诱导型HSP70介导的细胞保护、抗细胞凋亡与免疫调节作用等。在中风、败血症、急性呼吸窘迫综合征、肾功能衰竭等

实验模型中,发现随着HSP70的表达增强,不但可以减少脏器损伤,而且在某些情况下,HSP70可以提高受试对象的生存率^[21-23]。此外,在胚胎的正常发育过程中,HSP70防止有害应激对胚胎造成损害^[24]。

本课题组前期研究发现,益气活血法代表药物能够逆转萎缩性胃炎大鼠胃黏膜萎缩,并利用基因芯片已明确益气活血法代表药物可以上调HSP70基因表达,提示HSP70基因的转录环节可能是益气活血法的靶点之一^[2]。

经典分子生物学关于基因转录调控的理论认为,真核基因表达过程为:基因结构活化→转录→翻译。因为基因转录需要由RNA聚合酶II、转录因子等组成的转录复合物与DNA模板结合,而真核生物的染色体是由各2分子H2A、H2B、H3及H4组蛋白所构成的核心八聚体及其围绕的DNA分子所形成的致密核小体为基本组成单位所构成的,因此未转录的DNA分子呈致密压缩状态,而基因进行转录后,首先要将核小体结构松解,使DNA处于伸展的状态,为转录做准备,这一过程需要特殊的转录因子参与。

人类HSP70基因结构不含有内含子^[25],热休克蛋白的基因调控主要包括转录水平调控及翻译水平调控,且热休克反应的调节主要发生于转录水平^[26]。HSP70基因在正常状态下仅转录约25个核苷酸后就暂停。应激状态下,HSP70的转录迅速被激活,产生大量HSP70,发挥细胞保护作用。这一过程需要多种转录因子的参与才能顺利完成。转录因子GAF参与了应激前的转录暂停,GAF可以利用ATP水解提供的能量,使邻近核小体重新定位(重排),活化启动子的基因结构,转化为可转录状态,即GAF转录因子可使HSP70的基因结构处于活化状态,从而有利于激活的热休克转录因子(HSF)与相应的热休克反应元件(HSE)结合,进而启动转录^[27-35]。GAF是一种通用的、组成性表达的转录因子,也是可引起RNA聚合酶II休止的关键因子。GAF与GAGA元件结合后影响下游的核小体结构,使其下游序列中的启动子迅速与RNA聚合酶形成转录起始复合物后开始转录,GAGA元件的缺失可造成休止的RNA聚合酶II水平下降,HSP基因的转录被明显抑制^[36]。

在现代分子生物学研究中荧光分析法具有重要作用,但其检测灵敏度主要由标记物的发光强度和光化学稳定性所决定。传统的有机荧

光染料自身的一些缺陷,例如,激发光谱窄,容易淬灭以及自身的毒性等,限制了其在生命科学中的应用。Nie和Alivisatos等^[37,38],于1998年在Science上发表了关于量子点对细胞以及组织标记成像研究的成果,从此开启了量子点技术在生物学领域的应用。并随着技术的成熟,量子点作为新型的标记物,开始广泛应用在蛋白质DNA等生物大分子的标记以及活体动物靶细胞的追踪等一系列现代分子生物学领域,并取得了令人满意的实验结果。

新型纳米荧光材料量子点又称半导体纳米晶,是一类由II-VI族和III-V族元素组成的纳米颗粒。生物标记中常见的CdSe量子点粒径在1.8-7.0 nm变化时^[39-41],与传统荧光染料相比,量子点具有独特的荧光性质,其发射荧光可覆盖整个可见光区,荧光发射波长可控、发射峰狭窄对称,激发谱宽而连续,消光系数大、荧光强度高,光稳定性好、易与生物分子偶联。可检测低丰度抗原表达,能够更加准确地检测目标靶蛋白的表达情况,特异性强,信噪比高。其在生物医学分析领域展示出极大的应用前景。

本研究采用特异性强,具有上述优点的量子点标记的免疫荧光法检测萎缩性胃炎大鼠胃组织HSP70及其转录因子GAF的表达,应用计量资料的方差分析对不同中药干预组HSP70以及转录因子GAF表达荧光信号值进行统计分析。结果显示,模型组在造模措施下会使HSP70感受到异常刺激而迅速启动,HSP70蛋白表达略高于空白组,但差异无统计学意义,说明HSP70的表达量尚不足以抵御造模带来的胃黏膜损伤。黄芪组与三七组的HSP70明显高于空白组,说明补气药黄芪促进HSP70表达的能力优于活血中药三七,作者认为这一结果,部分解释并支持了补益脾胃之气为中医治疗萎缩性胃炎基本治疗方法。

传统中医理论认为,萎缩性胃炎属于中医的痞满病,是由外邪内陷、饮食不化、情志失调、脾胃虚弱等导致中焦气机不利或虚气留滞,升降失常而成的胸腹间痞闷漫胀不适的一种自觉症状,一般触之无形,按之柔软,压之无痛。且常伴有胸膈满闷,得食则胀,暖气则舒,多为慢性起病,时轻时重,反复发作,缠绵难愈。发病和加重常与饮食、情志、起居、冷暖等诱因有关,乃中焦气机阻滞,升降失和而成。痞满的成因有虚实之分,实即实邪内阻,包括外邪入里,食滞

■应用要点

将量子点技术引入中医药治疗萎缩性胃炎的研究领域,为今后采用该项新技术,提供了很好的借鉴作用。同时利用该技术深入研究HSP70基因转录调控的分子机制,进一步丰富并验证了中医治疗萎缩性胃炎的理论知识。

■同行评价

本研究发现黄芪、三七及其配伍可以通过诱导并增加转录因子GAF的表达,促进热休克蛋白70的表达,明显改善萎缩性胃炎大鼠胃黏膜状态。探讨了黄芪、三七治疗萎缩性胃炎作用的可能机制,有一定的学术价值。

中阻与痰湿阻滞;虚即中虚不运,责之脾胃虚弱。实邪所以内阻,多与中虚不运,升降无力有关。反之,中焦转运无力,最易招致实邪的侵扰,两者常常互为因果。如脾胃虚弱,健运失司,既可停湿生饮,又可食滞内停;而实邪内阻,又会进一步损伤脾胃,终致虚实夹杂^[42]。

气虚不能行血,瘀血内停,瘀血反之又能阻滞气机,影响脾胃升降,进而使脾失健运,胃失和降,导致脾胃功能受损,胃腺体萎缩。综合以上所述,痞满最基本的病机可归结于脾胃之气的虚弱,再加以血瘀之病理损伤,最终导致痞满的发生与发展。这表明中医气的生理功能紊乱在萎缩性胃炎的发病病理过程中具有重要的作用,即中医认为痞满以中焦脾胃气机不利,升降失和为基本病机,而调理脾胃之气为基本治疗方法。

黄芪为豆科多年生草本植物黄芪和内蒙黄芪的根,主产于内蒙古、山西等地,性甘、微温,归脾、肺经。功能补气升阳,益胃固表,利水消肿,托疮生肌。主治脾胃气虚及中气下陷诸证,肺气虚及表虚自汗、肺气虚及表虚自汗,气虚外感诸证等^[43]。

三七为五加科植物人参三七的干燥根。主产于云南、广西等地,野生或栽培。其性甘、微苦,温。主入肝、胃、大肠经,功效化瘀止血,活血定痛,主要用于各种内外出血证,尤以有瘀者为宜,以及用于跌打损伤,瘀滞疼痛^[43]。

对于补气类中药黄芪较活血类中药三七能更多的促进HSP70的表达,作者认为,经典中医基础理论关于“气能生血”的理论能够部分解释上述实验结果。即中医认为气对血有化生的作用,即形成血液的物质基础是精,而正是依靠气的作用,精化为血液。如脾气旺盛健运,则化生血的功能亦强,若脾气虚导致运化水谷功能失调,则血无化源,临床上表现为心血虚或肝血虚,所以说“气旺则血充、气虚则血少”。治疗血虚证时,在补血药中适当配伍益气药物,其道理论亦为“气能生血”。从而促进机体正气的快速恢复,改善机体异常病理状态。故作者推测,补气类中药黄芪较活血类中药三七,通过更多的促进细胞保护蛋白-HSP70的表达,以及更进一步针对萎缩性胃炎脾胃气虚的基本病机,而促进萎缩性胃炎模型大鼠的病理改善。然而与黄芪或三七单药诱导HSP70蛋白表达量相比,黄芪、三七联合应用并未表现出叠加效应,考虑

黄芪、三七配伍治疗萎缩性胃炎可能激活了其他细胞保护通路,从而保证了最终疗效。

黄芪组、三七组和黄芪加三七组中胃黏膜HSP70及其转录因子GAF蛋白表达与模型组比较均显著升高,提示黄芪、三七及其配伍均通过增加转录因子GAF的表达,进而促进HSP70的表达,从而保护受损的胃黏膜细胞并进行修复。但HSP70转录因子GAF的表达在黄芪组与三七组之间无差异,提示黄芪组可能通过增强其他转录因子活力促进HSP70的表达,这有待于进一步研究。

4 参考文献

- 1 陈灏珠. 实用内科学. 第10版. 北京: 人民卫生出版社, 1997: 1562-1565
- 2 李军祥, 张玉禄, 朱陵群, 赵宁宁. 益气活血法对大鼠萎缩性胃炎癌前病变差异基因表达谱的影响. 世界华人消化杂志 2008; 16: 3261-3268
- 3 史瑞, 李晓红, 方蕾, 李健, 蔡大勇, 李军祥, 刘礼剑. 弹簧幽门植入术结合高盐热淀粉糊灌胃诱导大鼠萎缩性胃炎模型的方法及评价. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1001-1008
- 4 Wu T, Yuan Y, Wu Y, He H, Zhang G, Tanguay RM. Presence of antibodies to heat stress proteins in workers exposed to benzene and in patients with benzene poisoning. *Cell Stress Chaperones* 1998; 3: 161-167 [PMID: 9764756 DOI: 10.1379/1466-1268(1998)003<0161:POATHS>2.3.CO;2]
- 5 Aghdassi A, Phillips P, Dudeja V, Dhaulakhandi D, Sharif R, Dawra R, Lerch MM, Saluja A. Heat shock protein 70 increases tumorigenicity and inhibits apoptosis in pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Res* 2007; 67: 616-625 [PMID: 17234771 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-1567]
- 6 Todoroki I, Joh T, Watanabe K, Miyashita M, Seno K, Nomura T, Ohara H, Yokoyama Y, Tochikubo K, Itoh M. Suppressive effects of DNA vaccines encoding heat shock protein on *Helicobacter pylori*-induced gastritis in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 277: 159-163 [PMID: 11027657 DOI: 10.1006/bbrc.2000.3632]
- 7 Schmitt E, Gehrmann M, Brunet M, Multhoff G, Garrido C. Intracellular and extracellular functions of heat shock proteins: repercussions in cancer therapy. *J Leukoc Biol* 2007; 81: 15-27 [PMID: 16931602 DOI: 10.1189/jlb.0306167]
- 8 Cehovin A, Coates AR, Hu Y, Riffo-Vasquez Y, Tormay P, Botanch C, Altare F, Henderson B. Comparison of the moonlighting actions of the two highly homologous chaperonin 60 proteins of *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun* 2010; 78: 3196-3206 [PMID: 20421377 DOI: 10.1128/IAI.01379-09]
- 9 De Maio A. Heat shock proteins: facts, thoughts, and dreams. *Shock* 1999; 11: 1-12 [PMID: 9921710 DOI: 10.1097/00024382-199901000-00001]
- 10 Lindquist S, Craig EA. The heat-shock proteins. *Annu Rev Genet* 1988; 22: 631-677 [PMID: 2853609 DOI: 10.1146/annurev.ge.22.120188.003215]
- 11 Vidal Magalhães W, Gouveia Nogueira MF, Kaneko TM. Heat shock proteins (HSP): dermatological implications and perspectives. *Eur J Dermatol* 2012; 22:

- 8-13 [PMID: 22217508]
- 12 Kiang JG, Tsokos GC. Heat shock protein 70 kDa: molecular biology, biochemistry, and physiology. *Pharmacol Ther* 1998; 80: 183-201 [PMID: 9839771 DOI: 10.1016/S0163-7258(98)00028-X]
- 13 Isomoto H, Oka M, Yano Y, Kanazawa Y, Soda H, Terada R, Yasutake T, Nakayama T, Shikuwa S, Takeshima F, Udon H, Murata I, Ohtsuka K, Kohno S. Expression of heat shock protein (Hsp) 70 and Hsp 40 in gastric cancer. *Cancer Lett* 2003; 198: 219-228 [PMID: 12957361 DOI: 10.1016/S0304-3835(03)00305-7]
- 14 Ullrich SJ, Robinson EA, Law LW, Willingham M, Appella E. A mouse tumor-specific transplantation antigen is a heat shock-related protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986; 83: 3121-3125 [PMID: 3458168 DOI: 10.1073/pnas.83.10.3121]
- 15 Helmbrecht K, Zeise E, Rensing L. Chaperones in cell cycle regulation and mitogenic signal transduction: a review. *Cell Prolif* 2000; 33: 341-365 [PMID: 11101008 DOI: 10.1046/j.1365-2184.2000.00189.x]
- 16 范云霞, 黄常志. 热休克蛋白70与肿瘤. *国外医学·肿瘤学分册* 2000; 27: 196-199
- 17 Isomoto H, Ohtsuru A, Braiden V, Iwamatsu M, Miki F, Kawashita Y, Mizuta Y, Kaneda Y, Kohno S, Yamashita S. Heat-directed suicide gene therapy mediated by heat shock protein promoter for gastric cancer. *Oncol Rep* 2006; 15: 629-635 [PMID: 16465423]
- 18 秦军, 李敏, 孙丽娟, 朱铭, 秦艳. 胃癌组织中HSP70与Cyclin D1的表达及意义. *肿瘤防治杂志* 2005; 5: 344-345
- 19 Hageman J, Kampinga HH. Computational analysis of the human HSPH/HSPA/DNAJ family and cloning of a human HSPH/HSPA/DNAJ expression library. *Cell Stress Chaperones* 2009; 14: 1-21 [PMID: 18686016 DOI: 10.1007/s12192-008-0060-2]
- 20 Tavaría M, Gabriele T, Kola I, Anderson RL. A hitchhiker's guide to the human Hsp70 family. *Cell Stress Chaperones* 1996; 1: 23-28 [PMID: 9222585 DOI: 10.1379/1466-1268(1996)001<0023: AHS GT>2.3.CO;2]
- 21 Weiss YG, Maloyan A, Tazelaar J, Raj N, Deutschman CS. Adenoviral transfer of HSP-70 into pulmonary epithelium ameliorates experimental acute respiratory distress syndrome. *J Clin Invest* 2002; 110: 801-806 [PMID: 12235111 DOI: 10.1172/JCI0215888]
- 22 Chen HW, Hsu C, Lu TS, Wang SJ, Yang RC. Heat shock pretreatment prevents cardiac mitochondrial dysfunction during sepsis. *Shock* 2003; 20: 274-279 [PMID: 12923501 DOI: 10.1097/00024382-200309000-00013]
- 23 Jo SK, Ko GJ, Boo CS, Cho WY, Kim HK. Heat preconditioning attenuates renal injury in ischemic ARF in rats: role of heat-shock protein 70 on NF-kappaB-mediated inflammation and on tubular cell injury. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 3082-3092 [PMID: 17021270 DOI: 10.1681/ASN.2005101077]
- 24 Luft JC, Dix DJ. Hsp70 expression and function during embryogenesis. *Cell Stress Chaperones* 1999; 4: 162-170 [PMID: 10547065 DOI: 10.1379/1466-1268(1999)004<0162:HEAFDE>2.3.CO;2]
- 25 Pięłowski W, Nowak R, Krawczyk Z, Scieglińska D. The structural and functional analysis of the human HSPA2 gene promoter region. *Acta Biochim Pol* 2007; 54: 99-106 [PMID: 17369882]
- 26 Evans TG, Belak Z, Ovsenek N, Krone PH. Heat shock factor 1 is required for constitutive Hsp70 expression and normal lens development in embryonic zebrafish. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2007; 146: 131-140 [PMID: 17134927 DOI: 10.1016/j.cbpa.2006.09.023]
- 27 王琳芳, 杨克恭. 医学分子生物学原理. 北京: 高等教育出版社, 2001: 514
- 28 Lee C, Li X, Hechmer A, Eisen M, Biggin MD, Venter BJ, Jiang C, Li J, Pugh BF, Gilmour DS. NELF and GAGA factor are linked to promoter-proximal pausing at many genes in *Drosophila*. *Mol Cell Biol* 2008; 28: 3290-3300 [PMID: 18332113 DOI: 10.1128/MCB.02224-07]
- 29 Wu C. The 5' ends of *Drosophila* heat shock genes in chromatin are hypersensitive to DNase I. *Nature* 1980; 286: 854-860 [PMID: 6774262 DOI: 10.1038/286854a0]
- 30 Shopland LS, Hirayoshi K, Fernandes M, Lis JT. HSF access to heat shock elements in vivo depends critically on promoter architecture defined by GAGA factor, TFIID, and RNA polymerase II binding sites. *Genes Dev* 1995; 9: 2756-2769 [PMID: 7590251 DOI: 10.1101/gad.9.22.2756]
- 31 Lee H, Kraus KW, Wolfner MF, Lis JT. DNA sequence requirements for generating paused polymerase at the start of hsp70. *Genes Dev* 1992; 6: 284-295 [PMID: 1737619 DOI: 10.1101/gad.6.2.284]
- 32 Morimoto RI, Sarge KD, Abravaya K. Transcriptional regulation of heat shock genes. A paradigm for inducible genomic responses. *J Biol Chem* 1992; 267: 21987-21990 [PMID: 1429548]
- 33 Boehm AK, Saunders A, Werner J, Lis JT. Transcription factor and polymerase recruitment, modification, and movement on dhsp70 in vivo in the minutes following heat shock. *Mol Cell Biol* 2003; 23: 7628-7637 [PMID: 14560008 DOI: 10.1128/MCB.23.2.7628-7637.2003]
- 34 Lis JT, Mason P, Peng J, Price DH, Werner J. P-TEFb kinase recruitment and function at heat shock loci. *Genes Dev* 2000; 14: 792-803 [PMID: 10766736]
- 35 Wang YV, Tang H, Gilmour DS. Identification in vivo of different rate-limiting steps associated with transcriptional activators in the presence and absence of a GAGA element. *Mol Cell Biol* 2005; 25: 3543-3552 [PMID: 15831460 DOI: 10.1128/MCB.25.9.3543-3552.2005]
- 36 Mason PB, Lis JT. Cooperative and competitive protein interactions at the hsp70 promoter. *J Biol Chem* 1997; 272: 33227-33233 [PMID: 9407112 DOI: 10.1074/jbc.272.52.33227]
- 37 Bruchez M, Moronne M, Gin P, Weiss S, Alivisatos AP. Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels. *Science* 1998; 281: 2013-2016 [PMID: 9748157 DOI: 10.1126/science.281.5385.2013]
- 38 Chan WC, Nie S. Quantum dot bioconjugates for ultrasensitive nonisotopic detection. *Science* 1998; 281: 2016-2018 [PMID: 9748158 DOI: 10.1126/science.281.5385.2016]
- 39 Alivisatos AP. Perspectives on the Physical Chemistry of Semiconductor Nanocrystals. *J Phys Chem* 1996; 100: 13226-13239 [DOI: 10.1021/jp9535506]
- 40 Alivisatos AP. Semiconductor Clusters, Nanocrystals, and Quantum Dots. *Science* 1996; 271: 933-937 Available from: URL: <http://www.docin.com/p-25233373.html>
- 41 Remacle F, Levine RD. Quantum Dots as Chemical Building Blocks: Elementary Theoretical Considerations. *Chem Phys Chem* 2001; 2: 20-36

[DOI: 10.1002/1439-7641(20010119)2:1<20::AID-CPHC20>3.0.CO;2-R]
42 王永炎, 李明富, 戴锡孟, 张绚邦. 中医内科学. 上海:

上海科学技术出版社, 1995: 167-172
43 雷载权, 陈松育, 高学敏, 郭振球. 中药学. 上海: 上海科学技术出版社, 1995: 280, 188

编辑 翟欢欢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 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. 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 $7.5\text{ cm}\times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴. (5)志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

肠黏膜组织内免疫系统调节异常参与炎症性肠病的发生

刘占举, 吴维, 邱骅婧, 万姗姗, 曹倩, 李林静, 郝卉杰, 石朝阳, 冯百岁, 陈城, 于成功, 陈曦, 甘华田, 郭瑞金, 刘嫦钦, 罗凤燕, 白爱平

编者按 炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的发病诱因和机制仍然不清楚. 生理情况下, 肠上皮细胞和肠黏膜组织内的免疫细胞通过固有性和获得性免疫系统不断识别肠腔内大量微生物抗原和食物抗原, 引起免疫耐受(immune tolerance), 即对肠腔内的微生物和食物抗原不产生病理性反应; 否则将出现食物过敏反应、肠道感染、菌群失调、炎症和肿瘤. 肠上皮细胞间淋巴细胞(intraepithelial lymphocyte, IEL)是肠黏膜免疫的第一道防线, 肠黏膜组织内CD4⁺ T细胞在微生物和食物抗原诱导下增殖分化. 既往对Th1和Th2细胞在IBD发生过程中的免疫效应作用有广泛研究, Th17细胞是近年来受到重视的CD4⁺ T细胞亚型, 可分泌IL-17A、IL-21和IL-22等; 肠黏膜组织内肥大细胞被各种物质激活释放多种促炎症性细胞因子、化学物质及生物活性介质, 他们在肠道炎症病变中发挥着重要致病作用. 微血管内皮细胞的结构和功能改变能影响肠黏膜组织内免疫细胞的迁移、组织血供、缺氧和内环境的稳定. 新生血管通过血管内皮细胞调节炎症细胞的招募、炎症介质和维持炎症反应进而引起组织损伤. 另外, 肠黏膜组织内的神经元细胞可通过其广泛的神经轴突以及其分泌的各种神经递质调控着肠道免疫、内分泌系统功能, 并参与了肠道炎症发生. 近年来研究发现微小RNA(miRNA)在IBD肠上皮细胞和肠黏膜组织内免疫细胞上表达异常, 通过调节靶基因表达调控上述细胞的增殖、分化、凋亡、代谢等过程, 因此对肠黏膜屏障功能和肠黏膜内环境稳定有重要调节作用. 在IBD临床转化研究中, 选择合适的动物模型将为我们的科研工作提供重要的研究手段. 本焦点论坛通过阐述肠黏膜组织内免疫系统调节异常和效应应答, 深入了解IBD的发生机制, 并为临床治疗提供了新的理论基础.

1	肠上皮间淋巴细胞在炎症性肠病中的免疫调节效应.....	568
2	Th17细胞在炎症性肠病发生过程中的效应应答.....	574
3	肥大细胞在炎症性肠病发病中的作用机制.....	579
4	血管内皮细胞与炎症性肠病发生发展的关系.....	585
5	缺氧在肠黏膜炎症损伤过程中的病理生理机制.....	591
6	肠神经胶质细胞对肠黏膜免疫细胞的影响及其在炎症性肠病发生发展中的作用.....	597
7	miRNA在炎症性肠病发病过程中的作用.....	602
8	溃疡性结肠炎动物模型的研究进展.....	607

肠上皮间淋巴细胞在炎症性肠病中的免疫调节效应

吴维, 邱骅婧, 刘占举

■背景资料

上皮细胞间淋巴细胞(intraepithelial lymphocyte, IEL)是黏膜免疫系统中的一个免疫效应细胞, 他在消化道黏膜的上皮细胞间广泛存在, 与肠上皮细胞紧密接触并相互作用, 其在炎症性肠病发病机制中的作用有待深入研究。

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

吴维, 硕士, 主要从事炎症性肠病的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81270470, No. 81061120521
作者贡献分布: 本文综述由吴维与邱骅婧完成; 刘占举审校。

通讯作者: 刘占举, 教授, 主任医师, 200072, 上海市延长中路301号, 同济大学附属第十人民医院消化内科。

zhanjuli@yahoo.com

电话: 021-66301164 我传真: 021-66303983

收稿日期: 2012-12-24 修回日期: 2013-01-28

接受日期: 2013-02-21 在线出版日期: 2013-03-08

Immunoregulatory effects of intraepithelial lymphocytes in inflammatory bowel disease

Wei Wu, Hua-Jing Qiu, Zhan-Ju Liu

Wei Wu, Hua-Jing Qiu, Zhan-Ju Liu, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81270470 and 81061120521

Correspondence to: Zhan-Ju Liu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, 301 Yanchang Middle Road, Shanghai 200072, China. zhanjuli@yahoo.com

Received: 2012-12-24 Revised: 2013-01-28

Accepted: 2013-02-21 Published online: 2013-03-08

Abstract

Intraepithelial lymphocytes (IELs) are found in a wide variety of sites, especially in the mucosa of the intestine, respiratory tract, and genital tract. Intestinal IELs are located between intestinal epithelial cells (IECs) and the basement membrane. The ratio between IECs and IELs in the small intestine is 4-10 : 1, but is slightly lower in the large intestine. As the first guard of the intestine, IELs play a significant role in maintaining the integrity of the mucosa, immune surveillance and regulating the homeostasis on the intestinal mucosal surface. Recent studies have demonstrated that IELs are also involved in the pathogenesis of inflammatory bowel disease (IBD).

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Intestinal intraepithelial lymphocytes; Inflammatory bowel disease; Cytotoxicity; Mucosal

immunology

Wu W, Qiu HJ, Liu ZJ. Immunoregulatory effects of intraepithelial lymphocytes in inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(7): 568-573
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/568.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.568>

摘要

上皮细胞间淋巴细胞(intraepithelial lymphocyte, IEL)广泛分布在肠道、呼吸道、生殖道等黏膜组织中。肠道IEL定位于肠道的上皮细胞与基底膜之间。正常成人的小肠组织中, 每4-10个肠上皮细胞(intestinal epithelial cell, IEC)存在1个IEL, 大肠组织中可能略少。作为肠道中对抗外界感染的第一道屏障, IEL在维持上皮细胞的完整性、免疫监视、加强和调节免疫应答及维持肠道稳态等方面发挥了重要作用。研究发现, IEL在炎症性肠病的发病机制中也具有一定地位。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 肠上皮间淋巴细胞; 炎症性肠病; 细胞毒活性; 黏膜免疫

吴维, 邱骅婧, 刘占举. 肠上皮间淋巴细胞在炎症性肠病中的免疫调节效应. *世界华人消化杂志* 2013; 21(7): 568-573
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/568.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.568>

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD), 体内外诸多因素参与其发病过程, 但具体机制仍未明确。近年来, 研究发现免疫因素在IBD发病机制中的作用举足轻重^[1]。肠上皮间淋巴细胞(intraepithelial lymphocyte, IEL)被认为是黏膜免疫系统的其中一个免疫效应细胞, 他在消化系黏膜的上皮细胞间广泛存在, 与肠上皮细胞紧密接触并相互作用, 其在IBD发病机制中的作用有待深入研究^[2]。

■同行评议者

万军, 教授, 中国人民解放军总医院南楼老年消化科

1 IEL的表型变化

与外周T细胞相似, 人体内所有IEL都来源于骨髓原始细胞, 但由于他们的活化过程不尽相同, 最终产生不同亚型的IEL^[3]. A型IEL主要表达TCR $\alpha\beta$ 及CD4或CD8 $\alpha\beta$ ^[4]. 其中CD4可识别主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex, MHC) II类分子, CD8 $\alpha\beta$ 可识别MHC I类分子. 一般来说, 与MHC I类分子结合的都是些内源性抗原, 而MHC II类分子则通过内吞一些蛋白溶解抗原进一步发挥作用. 尽管MHC I类分子和MHC II类分子都能够结合自身抗原或非自身抗原, 但是由于胸腺内存在阳性及阴性选择导致A型IEL相对非自身抗原而言更具有特异性^[5,6]. B型IEL主要表达TCR $\alpha\beta$ 或TCR $\gamma\delta$, 及CD8 $\alpha\alpha$ 同源二聚体, 但缺乏CD2、CD5、CD28、LFA1和THY1^[4]. 这类IEL的MHC限制性还未完全明确. 他们的活化过程主要是一些非经典途径, 如通过MICA分子等^[7,8]. 有报道指出, 在缺乏Qa-2的小鼠体内(Qa-2是一种非经典的MHC I类分子), CD8 $\alpha\alpha$ TCR $\alpha\beta$ IEL的数量会明显减少, 这说明CD8 $\alpha\alpha$ TCR $\alpha\beta$ IEL对Qa-2有一定的依赖性^[9].

还有一类特殊的IEL可表达自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)受体, 故称之为NKT型IEL^[10]. 他们可表达NKG2D, 其相应配体为人类非经典的MHC分子MICA和MICB. 这类非经典MHC分子主要表达在破损或癌变的IEC上. 而IEL正是通过NKG2D识别异常IEC, 进一步发挥细胞毒作用^[6]. Kinoshita等^[11]还发现白细胞介素-15(interleukin-15, IL-15)能够调节NKG2D及MICA的表达, 从而促进NKT型IEL的细胞毒效应. 另外, 有研究指出IL-15能够诱导产生CD94, 并且促进IEL分泌干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)和IL-10, 进一步上调细胞杀伤作用^[12]. 尽管目前关于大肠中存在NK或NKT型IEL的报道还很少, 但其仍参与维持肠道内环境的稳态^[13].

Staton等^[14]发现了一类由CD8⁺新型胸腺细胞(recent thymic emigrants, RTEs)组成的幼稚型IEL(naïve IEL). 通常情况下, 幼稚T细胞(naïve T细胞)需要先在肠相关淋巴组织(gut-associated lymphoid tissue, GALT)(如派氏集合淋巴结、肠系膜淋巴结)等场所进行活化, 然后才能逐步进入肠道中, 但是RTEs却可以在非活化的状态下直接进入小肠, 并且在接触非肠道抗原后开始增殖, 随后逐渐分化成上述IEL表型.

IEL表型在具体部位也有所不同. 在小鼠的小肠中, 50%-70%的IEL表达TCR $\alpha\beta$, 30%-50%的IEL表达TCR $\gamma\delta$, 而在大肠中大约只有10%-20%的IEL表达TCR $\gamma\delta$ ^[15]. 在人体内, 不同肠道不同区域IEL存在着不同表型. 比如优势性表达CD4CD8⁺的TCR $\gamma\delta$ IEL在肠道各段含量相等, TCR $\alpha\beta$ IEL在肠道各段含量不等. 而在空肠中, 以CD8⁺ TCR $\alpha\beta$ IEL为主, 亦有CD4⁺ TCR $\alpha\beta$ IEL存在; 在回肠中, CD4⁺ TCR $\alpha\beta$ IEL和CD8⁺ TCR $\alpha\beta$ IEL含量大致相等; 在结肠中, 以CD4⁺ TCR $\alpha\beta$ IEL和CD4⁺CD8⁺ TCR $\alpha\beta$ IEL亚群为主, 亦会有少量CD8⁺ TCR $\alpha\beta$ IEL存在^[16].

2 IEL体内动态迁移变化

目前研究普遍认为, 趋化因子在调节淋巴细胞的迁移、归巢等一系列活动中发挥着重要作用^[17,18]. CCR9及其配体CCL25, 在调节IEL效应中起着关键作用^[19,20]. 当表达于IEL表面的CCR9与肠道上皮细胞上的CCL25结合后, 活化的IEL就会被招募到相应的效应部位^[21]. Uehara等^[22]通过实验证明CCL25功能缺乏的小鼠, 小肠中IEL的数量会明显减少, 但CCR9基因损伤小鼠的小肠组织中, IEL减少量却并不明显. 另外, 由于大肠IEC中CCL25的表达能力相对较弱, 所以CCR9/CCL25信号系统对于大肠中IEL招募作用不大^[20]. 人们还发现, IEL表面还表达了许多其他的趋化因子受体(如CCR3、CCR4、CCR5、CXCR3等), 他们可能也参与了IEL的活化、迁移和效应作用^[23].

除了趋化因子以外, 整合素也参与了IEL在肠道内的迁移、活化过程. 表达整合素 $\alpha 4\beta 7$ 的IEL可通过与特异性配体MadCAM-1结合, 定位于相应的黏膜固有层, 进一步发挥其生物学功能^[24]. 缺乏整合素 $\alpha 4\beta 7$ 的小鼠肠道中IEL的量也会明显减少, 且小肠和大肠中IEL减少的量基本相同^[25]. 另外, 转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)可促进 $\alpha E\beta 7$ IEL分化, 通过和E-钙黏素相互作用, 保持IEL着陆在上皮细胞中^[26].

有学者还发现1-磷酸-神经鞘氨醇(sphingosine 1-phosphate, S1P)在IEL的迁移中也发挥了一定作用, 特别是在大肠组织中^[17]. 他可调节淋巴细胞从次级淋巴组织(如肠系膜淋巴结)或胸腺中迁移到效应器官^[27]. 目前研究表明S1P可能和一些趋化因子协同发挥效应, 促使淋巴细胞

■ 研发前沿

IEL作为机体与肠道菌群之间的分界面, 是人体对抗黏膜致病原的第一道防线, 他在肠道上皮的损伤修复、免疫监视、维持肠道黏膜稳态、正向或负向调节黏膜固有及适应性免疫应答、产生细胞毒性、杀伤变异IEC等方面发挥重要作用.

■相关报道

Ostanin等发现CD-8 α^+ IEL既不会诱导,也不会抑制,但会加速结肠炎的发生,他们将IE-L加入CD4 $^+$ CD45-RB high 诱导的结肠炎小鼠模型中,结果发现可产生更多量的Th1类及巨噬细胞来源的细胞因子。

选择性进入小肠或大肠组织^[28]。

3 IEL的生物学作用

IEL是肠道黏膜免疫的第一道防线,他在维持肠道上皮完整性及损伤修复方面具有重要作用。活化后的TCR $\gamma\delta$ IEL可产生角质细胞生长因子(keratinocyte growth factor, KGF), KGF是一种可溶性蛋白,他可特异性结合于上皮细胞表面受体,并经过复杂的信号传导系统,启动上皮细胞内参与分裂生长的基因表达,从而刺激上皮组织的新陈代谢^[29]。另外,有研究表明TCR δ 链缺陷小鼠的肠道上皮中隐窝数量明显减少,但在TCR $\gamma\delta$ 转基因小鼠体内,上皮细胞的有丝分裂指数明显升高,且若将TCR $\gamma\delta$ IEL转入TCR δ 链缺陷小鼠体内,先前发生的肠道炎症也可明显好转^[30]。

大多数IEL胞质内都包含大量的颗粒样物质,这些物质可帮助IEL发挥相应的细胞毒性^[31],且这种细胞毒性只针对特异性上皮组织,如结肠、胰腺、膀胱等,对皮肤、子宫内膜等均无明显作用^[32]。IEL可通过这种细胞毒作用,攻击排除在肠管内因受各种不同抗原及微生物等刺激而发生变性的IEC。研究表明其中主要起作用的IEL为CD8 $^+$ CD16 $^+$ CD56 $^+$ 型T细胞,但进一步发挥细胞毒性还需借助IEL上表达的CD103(α E β 7)与上皮细胞表达的E-降钙素结合。参与该作用的还包括穿孔素、颗粒酶B、FasL、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、TRAIL等。另外,CD8 $\alpha\alpha$ TCR $\gamma\delta$ IEL还可通过NK样受体NKG2D识别非经典的MICA/B, ULBP等分子,从而杀伤靶细胞,在机体早期感染免疫中发挥重要作用^[33]。

另外, IEL还有一些其他的作用,如小鼠的TCR $\gamma\delta$ IEL可促进抗原特异性IgA的分泌,参与免疫球蛋白的类别转换^[34], IEL表达了一些与免疫调节有关的分子,如:LAG3、TGF- β 和FGL2等,这些分子可进一步调节IEL的细胞毒效应^[35]。IEL还可监视上皮层是否发生了感染和功能紊乱,他通过表达FasL,以Fas依赖方式介导肠上皮细胞的凋亡,从而清除感染或受损的IEC,发挥其免疫监视作用^[7]。

近期研究发现随着年龄增加, IEL的数量会发生一定变化,实验结果发现6月龄小鼠小肠中IEL的数量最多,随着年龄增长, IEL逐渐减少。大肠中这样的变化不明显。这种IEL数量的减少,可能与机体免疫系统功能退化有关^[36]。

4 IEL在IBD中的免疫调节效应

IBD是一种消化系慢性炎症性疾病,主要包括CD和UC^[37]。尽管IBD的具体发病机制尚不明确,大多数学者认为免疫、环境及遗传因素协同参与其致病过程,并致使肠道屏障作用发生改变,肠道菌群失调,最终导致肠道内免疫紊乱^[38]。

IEL是一类大量分布于肠道上皮中的淋巴细胞,他的独特生理位置,决定了其在黏膜免疫中所占的重要地位。作为机体与肠道菌群之间的分界面, IEL是人体对抗黏膜致病原的第一道防线,他在肠道上皮的损伤修复、免疫监视、维持肠道黏膜稳态、正向或负向调节黏膜固有及适应性免疫应答、产生细胞毒性、杀伤异变IEC等方面发挥重要作用^[39]。

虽然人们经常将IEL与肠道屏障作用联系在一起,但是最近一些研究表明IEL在肠道炎症病变中发挥一定的致病作用^[26]。一些特殊因素如感染刚地弓形虫,就可能引起IEL出现功能转换,分泌大量IFN- γ 和TNF- α 等,进一步出现致病效应^[40]。Vidali等^[41]发现, UC患者肠道黏膜中出现大量的CD8 $^+$ IEL浸润,且浸润程度与疾病活动性有一定关联, CD8 $^+$ IEL参与诱导肠道细胞凋亡,并导致随后发生的黏膜损害。另有研究证实,从CD患者体内分离出的IEL展现出异常增强的细胞毒性,且过度分泌IFN- γ ,这些异常作用对维持肠道稳态都是有害的^[42]。另外, Ostanin等^[43]发现CD8 α^+ IEL既不会诱导,也不会抑制,但会加速结肠炎的发生,且在CD4 $^+$ CD45RB high 诱导的结肠炎小鼠模型中,加入IEL可产生更多量的Th1类及巨噬细胞来源的细胞因子,如IFN- γ 、TNF、IL-1 β ,在以前的研究中发现,这类细胞因子均参与了肠道慢性炎症。

另外,有证据显示一些 γ c相关的细胞因子,如IL-15、IL-21、IL-23都参与了IEL的生长、活化及存活。这些细胞因子在肠道炎症环境中,特别是IBD情况下,能明显调节IEL的免疫反应^[39]。

Allez等^[44]发现CD患者肠道内IEC上表达的MICA数量有所上升,并导致CD4 $^+$ 效应细胞(CD4 $^+$ NKG2D $^+$)数量增加及发生活化。相对于对照组而言,这类细胞在CD患者的黏膜固有层中明显增加,并且功能上也已发生活化,还可产生一定量的IFN- γ ,并进一步杀伤表达MICA的IEC。他们还发现从CD患者体内提取出的CD4 $^+$ NKG2D $^+$ 淋巴细胞高表达IL-15R α ,另外在乳糜泻患者的十二指肠组织中发现IL-15R mRNA的量也是增多的,故现有不少学者认为

IL-15能过度促进IEL特别是NKT型IEL的细胞毒性. 且这种细胞毒性主要是通过穿孔素及FasL介导^[45,46].

在大多数组织中, IL-21能上调穿孔素介导的细胞杀伤作用, 他对IEL也有类似作用, 但IL-21对FasL介导或TNF- α 诱导产生的细胞毒性却无明显作用. 且IL-21还可促进记忆CD8⁺T细胞(CD44^{high}62L^{low})生长, 这类细胞与IEL相似^[47]. 另外, 许多研究表明IEC特异性IL-7可作用于黏膜免疫反应, 并可调节IEL的表型和作用. 他可导致IEL数量的增多, 并进一步增殖分化, 选择性分泌一些细胞因子. IL-7还可促进脂蛋白脂肪酶的生成^[48].

最近有研究表明IL-23能触发IEL发生活化并进一步分泌IL-17A^[49]. 我们研究发现, IL-23在IBD患者肠道组织中表达增多, 他不但能有效诱导IBD患者体内IEL的活化, 还能分泌大量的促炎因子(如IL-2、IL-17A、IFN- γ 、TNF等), 促使肠道黏膜免疫反应发生. 另外, 研究发现IBD患者体内的IEL也表现出更高的细胞毒性, 并参与组织损伤. 这些结果表明炎症环境中的IEL可能与IBD患者肠道黏膜受损情况密切相关^[50].

5 结论

IBD的发生发展是由免疫因素、遗传因素、环境因素等诸多方面共同参与所致. IEL作为肠道黏膜中必不可少的免疫调节细胞, 发挥着重要作用. 尽管许多年前免疫学家们已经开始注意到IEL在肠道炎症中的作用, 但是长久以来的研究仍主要以IEL的分类分型为主, 其功能的研究仍需进一步深入, IEL对黏膜屏障的影响及其是否能抑制炎症反应的发生亦是当前的研究热点, 可望在将来能有更大的突破.

6 参考文献

- 1 Bouma G, Strober W. The immunological and genetic basis of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol* 2003; 3: 521-533 [PMID: 12876555 DOI: 10.1038/nri1132]
- 2 Ismail AS, Behrendt CL, Hooper LV. Reciprocal interactions between commensal bacteria and gamma delta intraepithelial lymphocytes during mucosal injury. *J Immunol* 2009; 182: 3047-3054 [PMID: 19234201 DOI: 10.4049/jimmunol.0802705]
- 3 Cheroutre H, Lambolez F. The thymus chapter in the life of gut-specific intra epithelial lymphocytes. *Curr Opin Immunol* 2008; 20: 185-191 [PMID: 18456487 DOI: 10.1016/j.coi.2008.03.009]
- 4 Shires J, Theodoridis E, Hayday AC. Biological insights into TCRgammadelta+ and TCRalpha-beta+ intraepithelial lymphocytes provided by serial analysis of gene expression (SAGE). *Immunity* 2001; 15: 419-434 [PMID: 11567632 DOI: 10.1016/S1074-7613(01)00192-3]
- 5 Shastri N, Cardinaud S, Schwab SR, Serwold T, Kunisawa J. All the peptides that fit: the beginning, the middle, and the end of the MHC class I antigen-processing pathway. *Immunol Rev* 2005; 207: 31-41 [PMID: 16181325 DOI: 10.1111/j.0105-2896.2005.00321.x]
- 6 Bauer S, Groh V, Wu J, Steinle A, Phillips JH, Lanier LL, Spies T. Activation of NK cells and T cells by NKG2D, a receptor for stress-inducible MICA. *Science* 1999; 285: 727-729 [PMID: 10426993 DOI: 10.1126/science.285.5428.727]
- 7 Leishman AJ, Naidenko OV, Attinger A, Koning F, Lena CJ, Xiong Y, Chang HC, Reinherz E, Kronenberg M, Cheroutre H. T cell responses modulated through interaction between CD8alphaalpha and the nonclassical MHC class I molecule, TL. *Science* 2001; 294: 1936-1939 [PMID: 11729321 DOI: 10.1126/science.1063564]
- 8 Park EJ, Takahashi I, Ikeda J, Kawahara K, Okamoto T, Kweon MN, Fukuyama S, Groh V, Spies T, Obata Y, Miyazaki J, Kiyono H. Clonal expansion of double-positive intraepithelial lymphocytes by MHC class I-related chain A expressed in mouse small intestinal epithelium. *J Immunol* 2003; 171: 4131-4139 [PMID: 14530335]
- 9 Das G, Gould DS, Augustine MM, Fragos G, Sciutto E, Stroynowski I, Van Kaer L, Schust DJ, Ploegh H, Janeway CA. Qa-2-dependent selection of CD8alpha/alpha T cell receptor alpha/beta(+) cells in murine intestinal intraepithelial lymphocytes. *J Exp Med* 2000; 192: 1521-1528 [PMID: 11085754 DOI: 10.1084/jem.192.10.1521]
- 10 Guy-Grand D, Cuénod-Jabri B, Malassis-Seris M, Selz F, Vassalli P. Complexity of the mouse gut T cell immune system: identification of two distinct natural killer T cell intraepithelial lineages. *Eur J Immunol* 1996; 26: 2248-2256 [PMID: 8814274 DOI: 10.1002/eji.1830260942]
- 11 Kinoshita N, Hiroi T, Ohta N, Fukuyama S, Park EJ, Kiyono H. Autocrine IL-15 mediates intestinal epithelial cell death via the activation of neighboring intraepithelial NK cells. *J Immunol* 2002; 169: 6187-6192 [PMID: 12444123]
- 12 Ebert EC. IL-15 converts human intestinal intraepithelial lymphocytes to CD94 producers of IFN-gamma and IL-10, the latter promoting Fas ligand-mediated cytotoxicity. *Immunology* 2005; 115: 118-126 [PMID: 15819704 DOI: 10.1111/j.1365-2567.2005.02132.x]
- 13 Lundqvist C, Baranov V, Hammarström S, Athlin L, Hammarström ML. Intra-epithelial lymphocytes. Evidence for regional specialization and extrathymic T cell maturation in the human gut epithelium. *Int Immunol* 1995; 7: 1473-1487 [PMID: 7495755 DOI: 10.1093/intimm/7.9.1473]
- 14 Staton TL, Habtezion A, Winslow MM, Sato T, Love PE, Butcher EC. CD8+ recent thymic emigrants home to and efficiently repopulate the small intestine epithelium. *Nat Immunol* 2006; 7: 482-488 [PMID: 16582913 DOI: 10.1038/ni1319]
- 15 Reséndiz-Albor AA, Esquivel R, López-Revilla R, Verdín L, Moreno-Fierros L. Striking phenotypic and functional differences in lamina propria lymphocytes from the large and small intestine of mice.

■创新盘点

虽然人们经常将IEL与肠道屏障作用联系在一起, 但是最近一些研究表明IEL在肠道炎症病变中发挥一定的致病作用.

■应用要点

尽管许多年前免疫学家们已经开始注意到IEL在肠道炎症中的作用,但是长久以来的研究仍主要以IEL的分类分型为主,对其功能的研究仍需进一步深入,IEL对黏膜屏障的影响及其是否能抑制炎症反应的发生亦是当前的研究热点,有望将来能取得更大的突破。

- Life Sci 2005; 76: 2783-2803 [PMID: 15808880 DOI: 10.1016/j.lfs.2004.08.042]
- 16 Lundqvist C, Melgar S, Yeung MM, Hammarström S, Hammarström ML. Intraepithelial lymphocytes in human gut have lytic potential and a cytokine profile that suggest T helper 1 and cytotoxic functions. *J Immunol* 1996; 157: 1926-1934 [PMID: 8757311]
- 17 Cyster JG. Chemokines, sphingosine-1-phosphate, and cell migration in secondary lymphoid organs. *Annu Rev Immunol* 2005; 23: 127-159 [PMID: 15771568 DOI: 10.1146/annurev.immunol.23.021704.115628]
- 18 Kunkel EJ, Butcher EC. Chemokines and the tissue-specific migration of lymphocytes. *Immunity* 2002; 16: 1-4 [PMID: 11825560 DOI: 10.1016/S1074-7613(01)00261-8]
- 19 Kunkel EJ, Campbell DJ, Butcher EC. Chemokines in lymphocyte trafficking and intestinal immunity. *Microcirculation* 2003; 10: 313-323 [PMID: 12851648]
- 20 Papadakis KA, Prehn J, Nelson V, Cheng L, Binder SW, Ponath PD, Andrew DP, Targan SR. The role of thymus-expressed chemokine and its receptor CCR9 on lymphocytes in the regional specialization of the mucosal immune system. *J Immunol* 2000; 165: 5069-5076 [PMID: 11046037]
- 21 Gofu G, Rivera-Nieves J, Ley K. Role of beta7 integrins in intestinal lymphocyte homing and retention. *Curr Mol Med* 2009; 9: 836-850 [PMID: 19860663 DOI: 10.2174/156652409789105525]
- 22 Uehara S, Grinberg A, Farber JM, Love PE. A role for CCR9 in T lymphocyte development and migration. *J Immunol* 2002; 168: 2811-2819 [PMID: 11884450]
- 23 Lügering A, Kucharzik T, Soler D, Picarella D, Hudson JT, Williams IR. Lymphoid precursors in intestinal cryptopatches express CCR6 and undergo dysregulated development in the absence of CCR6. *J Immunol* 2003; 171: 2208-2215 [PMID: 12928364]
- 24 Ericsson A, Svensson M, Arya A, Agace WW. CCL25/CCR9 promotes the induction and function of CD103 on intestinal intraepithelial lymphocytes. *Eur J Immunol* 2004; 34: 2720-2729 [PMID: 15368288 DOI: 10.1002/eji.200425125]
- 25 Wagner N, Löhler J, Kunkel EJ, Ley K, Leung E, Krissansen G, Rajewsky K, Müller W. Critical role for beta7 integrins in formation of the gut-associated lymphoid tissue. *Nature* 1996; 382: 366-370 [PMID: 8684468 DOI: 10.1038/382366a0]
- 26 El-Asady R, Yuan R, Liu K, Wang D, Gress RE, Lucas PJ, Drachenberg CB, Hadley GA. TGF- β -dependent CD103 expression by CD8(+) T cells promotes selective destruction of the host intestinal epithelium during graft-versus-host disease. *J Exp Med* 2005; 201: 1647-1657 [PMID: 15897278 DOI: 10.1084/jem.20041044]
- 27 Henning G, Ohl L, Junt T, Reiterer P, Brinkmann V, Nakano H, Hohenberger W, Lipp M, Förster R. CC chemokine receptor 7-dependent and -independent pathways for lymphocyte homing: modulation by FTY720. *J Exp Med* 2001; 194: 1875-1881 [PMID: 11748287 DOI: 10.1084/jem.194.12.1875]
- 28 Kimura T, Boehmler AM, Seitz G, Kuçi S, Wiesner T, Brinkmann V, Kanz L, Möhle R. The sphingosine 1-phosphate receptor agonist FTY720 supports CXCR4-dependent migration and bone marrow homing of human CD34+ progenitor cells. *Blood* 2004; 103: 4478-4486 [PMID: 14988150 DOI: 10.1182/blood-2003-03-0875]
- 29 Boismenu R, Havran WL. Modulation of epithelial cell growth by intraepithelial gamma delta T cells. *Science* 1994; 266: 1253-1255 [PMID: 7973709 DOI: 10.1126/science.7973709]
- 30 Inagaki-Ohara K, Chinen T, Matsuzaki G, Sasaki A, Sakamoto Y, Hiromatsu K, Nakamura-Uchiyama F, Nawa Y, Yoshimura A. Mucosal T cells bearing TCRgammadelta play a protective role in intestinal inflammation. *J Immunol* 2004; 173: 1390-1398 [PMID: 15240735]
- 31 Tang F, Chen Z, Ciszewski C, Setty M, Solus J, Tretiakova M, Ebert E, Han J, Lin A, Guandalini S, Groh V, Spies T, Green P, Jabri B. Cytosolic PLA2 is required for CTL-mediated immunopathology of celiac disease via NKG2D and IL-15. *J Exp Med* 2009; 206: 707-719 [PMID: 19237603 DOI: 10.1084/jem.20071887]
- 32 Taunk J, Roberts AI, Ebert EC. Spontaneous cytotoxicity of human intraepithelial lymphocytes against epithelial cell tumors. *Gastroenterology* 1992; 102: 69-75 [PMID: 1727781]
- 33 González S, Groh V, Spies T. Immunobiology of human NKG2D and its ligands. *Curr Top Microbiol Immunol* 2006; 298: 121-138 [PMID: 16329186 DOI: 10.1007/3-540-27743-9_6]
- 34 Fujihashi K, McGhee JR, Kweon MN, Cooper MD, Tonegawa S, Takahashi I, Hiroi T, Mestecky J, Kiyono H. gamma/delta T cell-deficient mice have impaired mucosal immunoglobulin A responses. *J Exp Med* 1996; 183: 1929-1935 [PMID: 8666951 DOI: 10.1084/jem.183.4.1929]
- 35 Ma CS, Nichols KE, Tangye SG. Regulation of cellular and humoral immune responses by the SLAM and SAP families of molecules. *Annu Rev Immunol* 2007; 25: 337-379 [PMID: 17201683 DOI: 10.1146/annurev.immunol.25.022106.141651]
- 36 Suzuki H. Age-dependent changes in intraepithelial lymphocytes (IELs) of the small intestine, cecum, and colon from young adult to aged mice. *Arch Gerontol Geriatr* 2012; 55: 261-270 [PMID: 21840070 DOI: 10.1016/j.archger.2011.07.009]
- 37 Xavier RJ, Podolsky DK. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 2007; 448: 427-434 [PMID: 17653185 DOI: 10.1038/nature06005]
- 38 Kaser A, Zeissig S, Blumberg RS. Inflammatory bowel disease. *Annu Rev Immunol* 2010; 28: 573-621 [PMID: 20192811 DOI: 10.1146/annurev-immunol-030409-101225]
- 39 Kunisawa J, Takahashi I, Kiyono H. Intraepithelial lymphocytes: their shared and divergent immunological behaviors in the small and large intestine. *Immunol Rev* 2007; 215: 136-153 [PMID: 17291285 DOI: 10.1111/j.1600-065X.2006.00475.x]
- 40 Egan CE, Maurer KJ, Cohen SB, Mack M, Simpson KW, Denkers EY. Synergy between intraepithelial lymphocytes and lamina propria T cells drives intestinal inflammation during infection. *Mucosal Immunol* 2011; 4: 658-670 [PMID: 21796113 DOI: 10.1038/mi.2011.31]
- 41 Vidali F, Di Sabatino A, Broglia F, Cazzola P, Biancheri P, Viera FT, Vanoli A, Alvisi C, Perego M, Corazza GR. Increased CD8+ intraepithelial lymphocyte infiltration and reduced surface area to volume ratio in the duodenum of patients with ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol* 2010; 45: 684-689

- [PMID: 20201621 DOI: 10.3109/00365521003663662]
- 42 Nüssler NC, Stange B, Hoffman RA, Schraut WH, Bauer AJ, Neuhaus P. Enhanced cytolytic activity of intestinal intraepithelial lymphocytes in patients with Crohn's disease. *Langenbecks Arch Surg* 2000; 385: 218-224 [PMID: 10857494 DOI: 10.1007/s004230050268]
- 43 Ostanin DV, Brown CM, Gray L, Bharwani S, Grisham MB. Evaluation of the immunoregulatory activity of intraepithelial lymphocytes in a mouse model of chronic intestinal inflammation. *Int Immunol* 2010; 22: 927-939 [PMID: 21071622 DOI: 10.1093/intimm/dxq447]
- 44 Allez M, Tieng V, Nakazawa A, Treton X, Pacault V, Dulphy N, Caillat-Zucman S, Paul P, Gornet JM, Douay C, Ravet S, Tamouza R, Charron D, Lémann M, Mayer L, Toubert A. CD4+NKG2D+ T cells in Crohn's disease mediate inflammatory and cytotoxic responses through MICA interactions. *Gastroenterology* 2007; 132: 2346-2358 [PMID: 17570210 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.03.025]
- 45 Obermeier F, Hausmann M, Kellermeier S, Kiessling S, Strauch UG, Duitman E, Bulfone-Paus S, Herfarth H, Bock J, Dunger N, Stoeck M, Schölmerich J, Falk W, Rogler G. IL-15 protects intestinal epithelial cells. *Eur J Immunol* 2006; 36: 2691-2699 [PMID: 16981178 DOI: 10.1002/eji.200535173]
- 46 Heap GA, van Heel DA. The genetics of chronic inflammatory diseases. *Hum Mol Genet* 2009; 18: R101-R106 [PMID: 19297396 DOI: 10.1093/hmg/ddp001]
- 47 Ebert EC. Interleukin 21 up-regulates perforin-mediated cytotoxic activity of human intra-epithelial lymphocytes. *Immunology* 2009; 127: 206-215 [PMID: 19489126 DOI: 10.1111/j.1365-2567.2008.02941.x]
- 48 Hayday A, Theodoridis E, Ramsburg E, Shires J. Intraepithelial lymphocytes: exploring the Third Way in immunology. *Nat Immunol* 2001; 2: 997-1003 [PMID: 11685222 DOI: 10.1038/ni1101-997]
- 49 Schaefer JS, Montufar-Solis D, Vigneswaran N, Klein JR. ICOS promotes IL-17 synthesis in colonic intraepithelial lymphocytes in IL-10-/- mice. *J Leukoc Biol* 2010; 87: 301-308 [PMID: 19889730 DOI: 10.1189/jlb.0409238]
- 50 Liu Z, Yadav PK, Xu X, Su J, Chen C, Tang M, Lin H, Yu J, Qian J, Yang PC, Wang X. The increased expression of IL-23 in inflammatory bowel disease promotes intraepithelial and lamina propria lymphocyte inflammatory responses and cytotoxicity. *J Leukoc Biol* 2011; 89: 597-606 [PMID: 21227898 DOI: 10.1189/jlb.0810456]

■同行评价

本文逻辑性较强, 条理清晰, 语言较为简洁, 表述内容清楚。对深入研究 IEL 在炎症性肠病中可能的免疫调节作用颇有裨益。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界胃肠病学杂志(英文版)》总被引频次6 979次, 影响因子0.873, 综合评价总分88.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第1位、第3位、第1位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第11位、第156位、第18位; 其他指标: 即年指标0.219, 他引率0.89, 引用刊数619种, 扩散因子8.84, 权威因子2 144.57, 被引半衰期4.7, 来源文献量758, 文献选出率0.94, 地区分布数26, 机构分布数1, 基金论文比0.45, 海外论文比0.71。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界胃肠病学杂志(英文版)》再度被收录为“中国科技核心期刊”(中国科技论文统计源期刊)。根据2011年度中国科技论文与引文数据库(CSTPCD 2011)统计结果,《世界胃肠病学杂志(英文版)》荣获2011年“百种中国杰出学术期刊”称号。

Th17细胞在炎症性肠病发生过程中的效应应答

万姗姗, 曹倩

■背景资料

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)包括克罗恩病和溃疡性结肠炎。目前认为IBD是遗传、环境和黏膜免疫3方面因素作用的结果, 其中免疫功能紊乱是IBD发病的关键因素之一。

万姗姗, 浙江大学医学院 浙江省杭州市 310016
曹倩, 浙江大学医学院附属邵逸夫医院消化内科 浙江省杭州市 310016
万姗姗, 在读硕士, 主要从事炎症性肠病免疫调控分子机制及肠道屏障的研究。
国家自然科学基金资助项目, No. 81070309, No. 30500244
作者贡献分布: 本文由万姗姗完成; 曹倩审校。
通讯作者: 曹倩, 副教授, 副主任医师, 310016, 浙江省杭州市庆春东路3号, 浙江大学医学院附属邵逸夫医院消化内科。
caocq@srrsh.com
收稿日期: 2012-12-29 修回日期: 2013-02-20
接受日期: 2013-02-21 在线出版日期: 2013-03-08

Immunoregulatory role of Th17 cells in development of inflammatory bowel disease

Shan-Shan Wan, Qian Cao

Shan-Shan Wan, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310016, Zhejiang Province, China
Qian Cao, Department of Gastroenterology, Sir Run Run Shaw Hospital, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310016, Zhejiang Province, China
Supported by: Natural Science Foundation of China, Nos. 81070309 and 30500244

Correspondence to: Qian Cao, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Sir Run Run Shaw Hospital, School of Medicine, Zhejiang University; 3 Qingchun East Road, Hangzhou 310016, Zhejiang Province, China. caocq@srrsh.com
Received: 2012-12-29 Revised: 2013-02-20
Accepted: 2013-02-21 Published online: 2013-03-08

Abstract

Inflammatory bowel disease (IBD), including Crohn's disease and ulcerative colitis, is associated with an exaggerated Th1 or Th2 cell response. Recent studies have shown that there is also enhanced synthesis of cytokines by Th17 cells in IBD. Interleukin-23 (IL-23) induces the differentiation of naïve CD4⁺ T cells into highly pathogenic helper Th17 cells that produce IL-17, IL-6 and TNF- α and cause colitis. We here review the new progress in understanding the immunoregulatory role of Th17 cells and the related cytokines in IBD.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Inflammatory bowel disease; Th17 cells;

Interleukin-17; Interleukin-23

Wan SS, Cao Q. Immunoregulatory role of Th17 cells in development of inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(7): 574-578 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/574.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.574>

摘要

传统观点认为, 炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD), 包括克罗恩病和溃疡性结肠炎分别与Th1型和Th2型反应密切相关。近期研究发现Th17细胞及其分泌的细胞因子也在IBD免疫调节中发挥重要作用。白细胞介素-23(interleukin-23, IL-23)诱导幼稚CD4⁺ T细胞分化为高致病性的Th17细胞生成IL-17、IL-6和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor alpha, TNF- α), 引起结肠炎症。本文就Th17细胞及其细胞因子在炎症性肠病发生过程中的效应应答的研究进展作一综述。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 炎症性肠病; Th17细胞; 白介素-17; 白介素-23

万姗姗, 曹倩. Th17细胞在炎症性肠病发生过程中的效应应答. *世界华人消化杂志* 2013; 21(7): 574-578 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/574.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.574>

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)包括克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)。目前认为IBD是遗传、环境和黏膜免疫3方面因素作用的结果, 其中免疫功能紊乱是IBD发病的关键因素之一。效应T细胞活化是肠黏膜免疫及其后续炎症的起点, CD4⁺ T细胞活化是导致肠黏膜炎症的主要效应细胞。传统观点认为, CD是白细胞介素-12(interleukin-12, IL-12)、干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)等细胞因子介导的Th1型炎症反应, UC是与IL-4、IL-13等细胞因子介导的Th2炎症反

■同行评议者

夏冰, 教授, 武汉大学中南医院消化内科/消化系统病研究中心

应. 近期研究发现IBD患者有大量的Th17细胞浸润^[1], 开辟了研究IBD的新领域. 本文就Th17细胞及其细胞因子在IBD发生过程中的效应应答的研究进展做一综述.

1 Th17细胞分化

幼稚CD4⁺ T细胞经抗原刺激后, 在不同的条件下分化为Th1细胞、Th2细胞、诱导性调节T细胞或Th17细胞等T细胞亚群. 其分化方向受抗原性质、局部环境中的激素以及细胞因子等多种因素调控, 其中细胞因子的种类和细胞因子之间的平衡对Th细胞的分化具有重要调节作用. Th17细胞是促进炎症反应的辅助T细胞, 在抵抗病原感染以及介导自身免疫性疾病方面均有重要作用^[2]. 其标志性特征就是可以产生IL-17类细胞因子以及表达特异的转录因子孤核受体ROR- γ t和ROR- α ^[3,4]. ROR- γ t和ROR α 是调节Th17细胞分化的重要转录因子, 在CD患者固有层T细胞高表达^[5].

Th17细胞增殖分化受多种细胞因子影响. 早期研究发现IL-23基因敲除小鼠体内不能产生Th17, 表明IL-23在Th17分化中发挥重要作用^[6]. 近年研究显示IL-23并不能诱导初始T细胞分化为Th17细胞, 但可以诱导Th17细胞增殖^[7]. 因此推测IL-23可能不是Th17细胞分化的必需因子, 却是Th17细胞存活繁殖的重要因子. 小鼠体内外实验均已证实, 转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)和IL-6共同存在时, 可以诱导Th17细胞分泌大量IL-17, 但不具备致病性. 如果体内存在IL-23, 不仅能够促使分化后的Th17细胞增殖, 还能诱导Th17细胞表达IL-17和其他趋化因子, 导致机体炎症的发生^[6,8,9]. TGF- β 单独作用下, 活化的初始CD4⁺ T细胞分化为Foxp3⁺ Treg细胞^[10]. 基因敲除Th1和Th2特异性转录因子T-bet、STAT6的小鼠, 其幼稚CD4⁺ T细胞不能分化为Th1和Th2细胞, 该基因敲除小鼠单独给予IL-6可以诱导Th17细胞分化, 表明IL-6是诱导Th17分化的始动因子^[11]. 关于TGF- β 的作用, 目前认为TGF- β 抑制了Th1和Th2细胞亚群分化的转录因子的表达^[12]. Th17还可自分泌产生IL-21来促进自身分化过程. Th17分泌IL-21, 后者通过活化Stat3并诱导ROR- γ t表达促进IL-17的产生, 同时正反馈诱导IL-21和IL-23R的表达^[13]. 肠道细菌微环境对IBD的形成具有一定作用, 肠道某些共生菌对Th17细胞分化也有着重要作用^[14,15].

2 Th17细胞及其细胞因子与IBD

Th17细胞参与肠道炎症发生的具体机制尚不十分清楚, 但众多研究显示, Th17细胞通过释放IL-17、IL-21、IL-22、IL-6等多种炎症因子调节炎症发生, 同时Th17相关细胞因子也可以诱导多种细胞分泌炎症因子、趋化因子及降解组织的基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)^[16], 诱发炎症级联反应, 导致肠黏膜损伤发生.

Th17细胞免疫应答在肠道慢性炎症中具有重要作用. 在IBD患者, Fujino等^[17]首先报道IL-17在IBD患者结肠黏膜及血清内表达均升高. 在UC患者, IL-17⁺细胞主要位于固有层; 在CD患者则散布在黏膜下层及固有肌层. IL-17⁺细胞主要为CD3⁺ T细胞或CD68⁺单核巨噬细胞. 随后Seiderer等^[18]亦证实IBD患者结肠黏膜组织的IL-17A和IL-17F的mRNA水平明显高于正常对照组. Annunziato等^[19]用流式细胞术检测肠黏膜炎症细胞, 结果显示CD患者有更多的IL-17⁺ T细胞浸润, 其中一些细胞也同时产生IFN- γ . IL-12刺激IL-17⁺细胞可以促进T-bet及IFN- γ 表达, 下调ROR- γ t及IL-17表达, 即诱导IL-17⁺细胞向Th1细胞分化.

在动物实验研究中, Wu等^[20]发现肠毒性脆弱类杆菌(*enterotoxigenic bacteriodes fragilis*, ETBF)在肠道定植会诱发结肠炎症及结肠癌. 这些症状与IL-17诱导的细胞信号增加有关. 抗体阻断IL-17或IL-23调节的信号, 可抑制ETBF诱导的结肠炎症及肿瘤形成. 在CD4⁺ T细胞诱导严重联合免疫缺陷小鼠慢性结肠炎模型中, 肠道IL-17的表达显著增加, 选择性移植表达IL-17的T细胞诱导的结肠炎症比移植Th1细胞要严重^[21]. 抗IL-23p19单抗给药可以下调多种炎症因子及趋化因子的表达, 诱导Th17细胞的凋亡, 治疗该模型肠道炎症. Tajima等^[22]发现将过继初始CD8⁺ T细胞移植到同系RAG缺失小鼠会导致该细胞在肠系膜淋巴结大量增生, 并诱导严重的结肠炎症. 肠系膜淋巴结的CD8⁺ T细胞同时表达IL-17和IFN- γ . 从IL-17敲除或IFN- γ 敲除小鼠移植CD8⁺ T细胞到受体小鼠所诱导的结肠炎症严重程度显著减轻. IL-21缺失可以减轻DSS或TNBS诱导的结肠炎症, Th17相关基因(如IL-17、IL-17F、ROR- γ t等)表达显著下降^[23]. 并且IL-21R融合蛋白阻断IL-21信号通路可以抑制DSS诱导结肠炎症, 减轻Th17反应.

IL-17RA敲除或IL-17R IgG1融合蛋白过

■创新盘点

本文对Th17细胞及其细胞因子在IBD发生过程中的效应应答的机制进行详细的阐述及总结.

■应用要点

本文就Th17细胞及其细胞因子在IBD发生过程中的效应应答的研究进展做了综述,旨在为之后的研究提供指导。

表达处理可以明显抑制TNBS诱导的结肠炎症^[24]。IL-17敲除或抗IL-17单抗腹腔注射也可以缓解TNBS诱导的结肠炎症^[25]。IL-17F敲除可以减轻DSS诱导的结肠炎症^[26]。而抗IL-17A抗体中和IL-17A则加重DSS诱导的结肠炎症^[27]。Towne等^[28]以胆型螺旋杆菌感染mdr1a^{-/-}小鼠诱发小鼠结肠炎中,给予IL-17RA拮抗剂对感染小鼠无保护作用,反而使小鼠结肠炎症加重。IL-17RA是IL-17A、IL-17F、IL-25等多种细胞因子受体,分别阻断IL-17A、IL-17F、IL-25作用,结果发现阻断IL-17A后疾病加剧与阻断IL-17RA后类似,而阻断IL-17F、IL-25则对疾病无影响。抑制IL-23可以缓解感染小鼠病情,其缓解程度与抑制IL-12/23p40同时阻断IL-12和IL-23作用相当。该实验结果与一项药物临床试验结果一致,抗IL-17A单抗secukinumab治疗CD患者无效,甚至会增加患者感染机率^[29]。

3 IL-23与IBD

IL-23虽然不是Th17细胞分泌的细胞因子,但是在调控Th17细胞分化及功能方面具有重要作用。IL-23和IL-12均为IL-12家族细胞因子,主要由激活的树突状细胞和巨噬细胞产生,且都属于异二聚体细胞因子,IL-23由p40亚基与p19亚基构成,IL-12由p40和p35两个亚基组成,两者具有相同的p40亚基。

目前已在多种动物模型对IL-23在肠道炎症中的作用进行了研究。Yen等^[30]采用IL-10敲除小鼠模型表明,敲除IL-23p19可以显著抑制结肠炎症的发生,而敲除IL-12p35则无抑制作用。IL-10/IL-23p19双敲小鼠的CD4⁺ T细胞表达大量的IFN- γ ,表明Th1细胞不受IL-23调控,但结肠炎症的发生需要IL-23的参与。初始CD4⁺ T细胞移植RAG小鼠诱导结肠炎模型中,外源性给予IL-23可以促进IL-6及IL-17的表达,加重结肠炎症。然而单独给予IL-17抗体中和治疗无法完全抑制结肠炎症发生,联合给予抗IL-6抗体仅能部分抑制结肠炎症。表明IL-23调控的Th17反应只是IBD发生的机制之一。

有研究表明IL-23可以不依赖Th17细胞及其细胞因子参与肠道炎症反应。CD40抗体可以诱导RAG^{-/-}小鼠发生全身性炎症及肠道局部炎症,表现为消瘦、脾肿大、血清促炎介质升高及结肠炎症等^[31]。CD40处理RAG/p40双敲小鼠其全身性炎症及肠道局部炎症反应均有缓解,然而CD40处理RAG/IL-12p35双敲小鼠,诱发结

肠炎症,但不能观察到小鼠消瘦等一些全身性炎症反应。CD40刺激RAG/IL-23p19双敲小鼠则未见肠道炎症。表明全身性炎症反应受IL-12调控,而肠道炎症则受IL-23调控。参与CD40诱导的肠道炎症反应的细胞是一类新型的定植于肠道的Thy1⁺Scal⁺ROR γ t⁺天然免疫淋巴细胞(innate lymphoid cells, ILCs)^[32]。IL-23作用于ILCs,活化IFN- γ 和IL-17的表达。相应抗体中和IFN- γ 或IL-17可以减轻炎症反应^[33]。表明IL-23可以刺激激活固有免疫系统。肝螺旋杆菌在RAG2缺失小鼠的结肠及盲肠隐窝定居,可诱发慢性盲肠结肠炎,IL-23及IL-17表达显著升高,但不依赖T细胞,p19抗体中和治疗可以减轻炎症^[34]。然而肝螺旋杆菌感染IL-10^{-/-}小鼠引起的结肠炎需要T细胞的参与^[35],包括Th1和Th17两种细胞反应。Izcue等^[36]亦发现T细胞移植RAG/IL-23双敲小鼠造模,IFN- γ 表达下降,但ROR- γ t及IL-17A表达不受影响。表明IL-23缺失小鼠不影响Th17细胞的反应,IL-23介导的结肠炎症可以不依赖IL-17。

4 结论

根据动物实验推测IL-23和Th17反应轴是一个有希望的可以抑制IBD炎症反应的靶点,阻断调节Th17极化的细胞因子能够在某种程度上有效地预防IBD的发生。但仍有很多问题有待解决,例如:Th17细胞相关的每种细胞因子在IBD发展中的具体作用;用抗IL-23/p19选择性中和IL-23活性其抗炎效果是否比阻断IL-12/IL-23/p40更有利。Th17细胞相关因子随环境变化及相互作用因子不同而发挥不同效应机制,且IBD动物模型与人类IBD患者之间仍有巨大差距,这将是进一步研究重点及热点。

5 参考文献

- 1 McGovern D, Powrie F. The IL23 axis plays a key role in the pathogenesis of IBD. *Gut* 2007; 56: 1333-1336 [PMID: 17872562 DOI: 10.1136/gut.2006.115402]
- 2 Weaver CT, Hatton RD, Mangan PR, Harrington LE. IL-17 family cytokines and the expanding diversity of effector T cell lineages. *Annu Rev Immunol* 2007; 25: 821-852 [PMID: 17201677 DOI: 10.1146/annurev.immunol.25.022106.141557]
- 3 Langrish CL, Chen Y, Blumenschein WM, Mattson J, Basham B, Sedgwick JD, McClanahan T, Kastelein RA, Cua DJ. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation. *J Exp Med* 2005; 201: 233-240 [PMID: 15657292 DOI: 10.1084/jem.20041257]
- 4 Ouyang W, Kolls JK, Zheng Y. The biological functions of T helper 17 cell effector cytokines in inflammation. *Immunity* 2008; 28: 454-467 [PMID: 18400188 DOI: 10.1016/j.immuni.2008.03.004]

- 5 Dambacher J, Beigel F, Zitzmann K, De Toni EN, Göke B, Diepolder HM, Auernhammer CJ, Brand S. The role of the novel Th17 cytokine IL-26 in intestinal inflammation. *Gut* 2009; 58: 1207-1217 [PMID: 18483078 DOI: 10.1136/gut.2007.130112]
- 6 Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, Weiner HL, Kuchroo VK. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature* 2006; 441: 235-238 [PMID: 16648838 DOI: 10.1038/nature04753]
- 7 Parham C, Chirica M, Timans J, Vaisberg E, Travis M, Cheung J, Pflanz S, Zhang R, Singh KP, Vega F, To W, Wagner J, O'Farrell AM, McClanahan T, Zurawski S, Hannum C, Gorman D, Rennick DM, Kastelein RA, de Waal Malefyt R, Moore KW. A receptor for the heterodimeric cytokine IL-23 is composed of IL-12Rbeta1 and a novel cytokine receptor subunit, IL-23R. *J Immunol* 2002; 168: 5699-5708 [PMID: 12023369]
- 8 McGeachy MJ, Bak-Jensen KS, Chen Y, Tato CM, Blumenschein W, McClanahan T, Cua DJ. TGF-beta and IL-6 drive the production of IL-17 and IL-10 by T cells and restrain T(H)-17 cell-mediated pathology. *Nat Immunol* 2007; 8: 1390-1397 [PMID: 17994024 DOI: 10.1038/ni1539]
- 9 Mangan PR, Harrington LE, O'Quinn DB, Helms WS, Bullard DC, Elson CO, Hatton RD, Wahl SM, Schoeb TR, Weaver CT. Transforming growth factor-beta induces development of the T(H)17 lineage. *Nature* 2006; 441: 231-234 [PMID: 16648837 DOI: 10.1038/nature04754]
- 10 Morishima N, Mizoguchi I, Takeda K, Mizoguchi J, Yoshimoto T. TGF-beta is necessary for induction of IL-23R and Th17 differentiation by IL-6 and IL-23. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 386: 105-110 [PMID: 19501566 DOI: 10.1016/j.bbrc.2009.05.140]
- 11 Das J, Ren G, Zhang L, Roberts AI, Zhao X, Bothwell AL, Van Kaer L, Shi Y, Das G. Transforming growth factor beta is dispensable for the molecular orchestration of Th17 cell differentiation. *J Exp Med* 2009; 206: 2407-2416 [PMID: 19808254 DOI: 10.1084/jem.20082286]
- 12 Santarlasci V, Maggi L, Capone M, Frosali F, Querci V, De Palma R, Liotta F, Cosmi L, Maggi E, Romagnani S, Annunziato F. TGF-beta indirectly favors the development of human Th17 cells by inhibiting Th1 cells. *Eur J Immunol* 2009; 39: 207-215 [PMID: 19130583 DOI: 10.1002/eji.200838748]
- 13 Monteleone G, Pallone F, Macdonald TT. Interleukin-21 (IL-21)-mediated pathways in T cell-mediated disease. *Cytokine Growth Factor Rev* 2009; 20: 185-191 [PMID: 19261537 DOI: 10.1016/j.cytogfr.2009.02.002]
- 14 Barnich N, Carvalho FA, Glasser AL, Darcha C, Jantschkeff P, Allez M, Peeters H, Bommelaer G, Desreumaux P, Colombel JF, Darfeuille-Michaud A. CEACAM6 acts as a receptor for adherent-invasive E. coli, supporting ileal mucosa colonization in Crohn disease. *J Clin Invest* 2007; 117: 1566-1574 [PMID: 17525800 DOI: 10.1172/JCI30504]
- 15 Niess JH, Leithäuser F, Adler G, Reimann J. Commensal gut flora drives the expansion of proinflammatory CD4 T cells in the colonic lamina propria under normal and inflammatory conditions. *J Immunol* 2008; 180: 559-568 [PMID: 18097058]
- 16 Caruso R, Fina D, Peluso I, Stolfi C, Fantini MC, Gioia V, Caprioli F, Del Vecchio Blanco G, Paoluzi OA, Macdonald TT, Pallone F, Monteleone G. A functional role for interleukin-21 in promoting the synthesis of the T-cell chemoattractant, MIP-3alpha, by gut epithelial cells. *Gastroenterology* 2007; 132: 166-175 [PMID: 17241869 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.09.053]
- 17 Fujino S, Andoh A, Bamba S, Ogawa A, Hata K, Araki Y, Bamba T, Fujiyama Y. Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease. *Gut* 2003; 52: 65-70 [PMID: 12477762 DOI: 10.1136/gut.52.1.65]
- 18 Seiderer J, Elben I, Diegelmann J, Glas J, Stallhofer J, Tillack C, Pfennig S, Jürgens M, Schmechel S, Konrad A, Göke B, Ochsenkühn T, Müller-Myhsok B, Lohse P, Brand S. Role of the novel Th17 cytokine IL-17F in inflammatory bowel disease (IBD): upregulated colonic IL-17F expression in active Crohn's disease and analysis of the IL17F p.His161Arg polymorphism in IBD. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 437-445 [PMID: 18088064 DOI: 10.1002/ibd.20339]
- 19 Annunziato F, Cosmi L, Santarlasci V, Maggi L, Liotta F, Mazzinghi B, Parente E, Fili L, Ferri S, Frosali F, Giudici F, Romagnani P, Parronchi P, Tonelli F, Maggi E, Romagnani S. Phenotypic and functional features of human Th17 cells. *J Exp Med* 2007; 204: 1849-1861 [PMID: 17635957 DOI: 10.1084/jem.20070663]
- 20 Wu S, Rhee KJ, Albesiano E, Rabizadeh S, Wu X, Yen HR, Huso DL, Brancati FL, Wick E, McAllister F, Housseau F, Pardoll DM, Sears CL. A human colonic commensal promotes colon tumorigenesis via activation of T helper type 17 T cell responses. *Nat Med* 2009; 15: 1016-1022 [PMID: 19701202 DOI: 10.1038/nm.2015]
- 21 Elson CO, Cong Y, Weaver CT, Schoeb TR, McClanahan TK, Fick RB, Kastelein RA. Monoclonal anti-interleukin 23 reverses active colitis in a T cell-mediated model in mice. *Gastroenterology* 2007; 132: 2359-2370 [PMID: 17570211 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.03.104]
- 22 Tajima M, Wakita D, Noguchi D, Chamoto K, Yue Z, Fugo K, Ishigame H, Iwakura Y, Kitamura H, Nishimura T. IL-6-dependent spontaneous proliferation is required for the induction of colitogenic IL-17-producing CD8+ T cells. *J Exp Med* 2008; 205: 1019-1027 [PMID: 18426983 DOI: 10.1084/jem.20071133]
- 23 Fina D, Sarra M, Fantini MC, Rizzo A, Caruso R, Caprioli F, Stolfi C, Cardolini I, Dottori M, Boirivant M, Pallone F, Macdonald TT, Monteleone G. Regulation of gut inflammation and th17 cell response by interleukin-21. *Gastroenterology* 2008; 134: 1038-1048 [PMID: 18395085 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.01.041]
- 24 Zhang Z, Zheng M, Bindas J, Schwarzenberger P, Kolls JK. Critical role of IL-17 receptor signaling in acute TNBS-induced colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 382-388 [PMID: 16670527 DOI: 10.1097/01.MIB.0000218764.06959.91]
- 25 Jin Y, Lin Y, Lin L, Zheng C. IL-17/IFN-gamma interactions regulate intestinal inflammation in TNBS-induced acute colitis. *J Interferon Cytokine Res* 2012; 32: 548-556 [PMID: 23030668 DOI: 10.1089/jir.2012.0030]
- 26 Yang XO, Chang SH, Park H, Nurieva R, Shah B, Acero L, Wang YH, Schluns KS, Broadbush RR, Zhu Z, Dong C. Regulation of inflammatory responses

同行评价

本文对Th17细胞及其IL-17和IL-23与IBD的关系做一综述,具有一定的指导意义。

- by IL-17F. *J Exp Med* 2008; 205: 1063-1075 [PMID: 18411338 DOI: 10.1084/jem.20071978]
- 27 Ogawa A, Andoh A, Araki Y, Bamba T, Fujiyama Y. Neutralization of interleukin-17 aggravates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *Clin Immunol* 2004; 110: 55-62 [PMID: 14962796 DOI: 10.1016/j.clim.2003.09.013]
- 28 Towne JE, Maxwell JR, Zhang Y, Brown WA, Rottman JB, Budelsky AL. Differential roles for IL-23 and IL-17 in inflammatory bowel disease. *Cytokine* 2012; 59: 515 [DOI: 10.1016/j.cyto.2012.06.074]
- 29 Hueber W, Sands BE, Vandemeulebroecke M, Reinisch W, Hlglins PDR, Wehkamp J, Feagan B, Yao M, Bertolno AP, Travis S. Inhibition of IL-17A by secukinumab is ineffective for Crohn's disease. ECCO(2011). Available from: URL: <https://www.ecco-ibd.eu/publications/congress-abstract-s/item/10.html>
- 30 Yen D, Cheung J, Scheerens H, Poulet F, McClanahan T, McKenzie B, Kleinschek MA, Owyang A, Mattson J, Blumenschein W, Murphy E, Sathe M, Cua DJ, Kastelein RA, Rennick D. IL-23 is essential for T cell-mediated colitis and promotes inflammation via IL-17 and IL-6. *J Clin Invest* 2006; 116: 1310-1316 [PMID: 16670770 DOI: 10.1172/JCI21404]
- 31 Uhlig HH, McKenzie BS, Hue S, Thompson C, Joyce-Shaikh B, Stepankova R, Robinson N, Buonocore S, Tlaskalova-Hogenova H, Cua DJ, Powrie F. Differential activity of IL-12 and IL-23 in mucosal and systemic innate immune pathology. *Immunity* 2006; 25: 309-318 [PMID: 16919486]
- 32 Buonocore S, Ahern PP, Uhlig HH, Ivanov II, Littman DR, Maloy KJ, Powrie F. Innate lymphoid cells drive interleukin-23-dependent innate intestinal pathology. *Nature* 2010; 464: 1371-1375 [PMID: 20393462 DOI: 10.1038/nature08949]
- 33 van der Fits L, Mourits S, Voerman JS, Kant M, Boon L, Laman JD, Cornelissen F, Mus AM, Florencia E, Prens EP, Lubberts E. Imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation in mice is mediated via the IL-23/IL-17 axis. *J Immunol* 2009; 182: 5836-5845 [PMID: 19380832 DOI: 10.4049/jimmunol.0802999]
- 34 Hue S, Ahern P, Buonocore S, Kullberg MC, Cua DJ, McKenzie BS, Powrie F, Maloy KJ. Interleukin-23 drives innate and T cell-mediated intestinal inflammation. *J Exp Med* 2006; 203: 2473-2483 [PMID: 17030949]
- 35 Kullberg MC, Jankovic D, Feng CG, Hue S, Gorelick PL, McKenzie BS, Cua DJ, Powrie F, Cheever AW, Maloy KJ, Sher A. IL-23 plays a key role in Helicobacter hepaticus-induced T cell-dependent colitis. *J Exp Med* 2006; 203: 2485-2494 [PMID: 17030948]
- 36 Izcue A, Hue S, Buonocore S, Arancibia-Carcamo CV, Ahern PP, Iwakura Y, Maloy KJ, Powrie F. Interleukin-23 restrains regulatory T cell activity to drive T cell-dependent colitis. *Immunity* 2008; 28: 559-570 [PMID: 18400195]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

本刊讯 依据文献计量学的原理和方法,经研究人员对相关文献的检索、计算和分析,以及学科专家评审,《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标,选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种,统计到的文献数量共计221177余万篇次,涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审,从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下,期刊学术水平稳步提升,编校质量稳定,再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录。在此,向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者,表示衷心的感谢!(《世界华人消化杂志》编辑部 2012-03-08)。

肥大细胞在炎症性肠病发病中的作用机制

李林静, 郝卉杰, 石朝阳, 冯百岁

李林静, 郝卉杰, 石朝阳, 冯百岁, 郑州大学附属第一医院消化内科 河南省郑州市 450052

李林静, 硕士, 主要从事炎症性肠病的基础与临床研究.

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81070288, 81270452

河南省医学科技攻关计划基金资助项目, No. 201001004

河南省医学科技学术带头人出国培训计划基金资助项目,

No. 201201013

作者贡献分布: 本文由李林静、郝卉杰及石朝阳撰写; 冯百岁审核.

通讯作者: 冯百岁, 教授, 主任医师, 450052, 河南省郑州市二七区建设东路1号, 郑州大学附属第一医院消化内科.

fbs163@163.com

收稿日期: 2012-12-21 修回日期: 2013-01-29

接受日期: 2013-02-21 在线出版日期: 2013-03-08

Role of mast cells in the pathogenesis of inflammatory bowel disease

Lin-Jing Li, Hui-Jie Hao, Zhao-Yang Shi, Bai-Sui Feng

Lin-Jing Li, Hui-Jie Hao, Zhao-Yang Shi, Bai-Sui Feng, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, Nos. 81070288 and 81270452; the Medical Science and Technology Foundation of Henan Province, No. 201001004; and the Science and Technology Leader Overseas Training Foundation of Henan Province, No. 201201013

Correspondence to: Bai-Sui Feng, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe East Road, Erqi District, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. fbs163@163.com

Received: 2012-12-21 Revised: 2013-01-29

Accepted: 2013-02-21 Published online: 2013-03-08

Abstract

Inflammatory bowel disease (IBD) is a group of recurrent chronic intestinal inflammatory diseases with incompletely understood pathogenesis. Increasing evidence has shown that mast cells are markedly increased in inflamed mucosa of IBD patients and involved in the pathogenesis of IBD. Upon activation mast cells release multiple proinflammatory cytokines, chemokines and mediators that play an important role in the occurrence and development of IBD. Understanding the role of mast cell-derived mediators and cytokines in IBD can provide new avenues for the development of new approaches to the treat-

ment of this disease.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Inflammatory bowel disease; Mast cells; Inflammatory mediators

Li LJ, Hao HJ, Shi ZY, Feng BS. Role of mast cells in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(7): 579-584 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/579.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.579>

摘要

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一组反复发作的慢性炎症性肠道疾病,其发病机制并不十分清楚.越来越多的证据表明肥大细胞参与该病的发病.研究发现在IBD患者肠道黏膜中肥大细胞的数量增多了.肥大细胞被各种物质激活释放多种促炎症性细胞因子、化学物质及生物活性介质等在IBD的发生与发展中起重要作用.因此,了解肥大细胞释放的细胞因子和化学介质在IBD中的关键作用有望为治疗这种疾病开拓新的方法.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 炎症性肠病; 肥大细胞; 炎症介质

李林静, 郝卉杰, 石朝阳, 冯百岁: 肥大细胞在炎症性肠病发病中的作用机制. 世界华人消化杂志 2013; 21(7): 579-584 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/579.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.579>

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一类病因不明的反复发作的慢性肠道炎症性疾病,包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD).近年来,IBD的发病率在全球和我国均有增加趋势,其发病与环境、感染、遗传、免疫等因素有关^[1,2].越来越多的证据表明肥大细胞(mast cells, MC)参与IBD的发病.而且活动性IBD肠道黏膜MC明显增加,尤其是空、回肠和结肠^[3,4].肥大细胞被激活后

■背景资料

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一类病因不明的反复发作的慢性肠道炎症性疾病.其发病与环境、感染、遗传、免疫等因素有关.许多研究表明肥大细胞(mast cells, MC)参与IBD的发病.了解MC在IBD发病中的作用可为今后IBD的治疗开辟新的思路.

■同行评议者

田宇彬, 教授, 青岛大学医学院附属医院

■ 研发前沿

国内外有很多关于MC与IBD关系的报道,具体阐明两者之间的关系,可为进一步寻找IBD的治疗方案提供新的思路。

释放大量的细胞因子,如肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)等;生物活性物质,如:组胺、类胰蛋白酶、类糜蛋白酶、羧肽酶、白三烯(leukotrienes, LTs)、血小板活化因子(platelet activating factor, PAF)和肝素等在介导肠道慢性炎症反应中发挥重要作用^[5]。了解MC在IBD发病中的作用可为今后IBD的治疗开辟新的路径。本文就MC在IBD作用机制中的研究进展作一简要综述。

1 肥大细胞的生物学基础

1.1 肥大细胞的起源与形态特征 早在1879年,就已有文献描述了MC。MC是一种重要的炎症效应细胞,他起源于骨髓,并表达CD34、c-kit及CD13抗原的多能造血干细胞,仅少量作为定向祖细胞参与循环,在前体细胞阶段便离开骨髓进入组织,以各种表型增殖分化成为MC; MC在外周组织继续分化成熟,即使高度分化仍具有增殖能力,完全脱颗粒后仍能增殖并能再次形成颗粒,恢复原有形态^[6,7]。MC广泛存在于人和啮齿动物体内,其体积在不同物种体内各有差异。据报道,在光镜下人体内MC体积较大,约20-30 μm ,啮齿动物体内大约是3.5-22.0 μm ,MC的形状也各异,根据所定居组织的不同呈圆形、椭圆形、梭形或矩形,胞质内充满嗜碱性颗粒,颗粒被甲苯胺蓝染成紫红色,又称异染性颗粒,电镜下,MC表面有许多嵴状皱襞的微绒毛突起,胞质内含有许多分泌颗粒^[8]。

1.2 肥大细胞的分布与分类 MC主要沿小血管和小淋巴管分布,集中在与外界抗原易于接触的部位,如皮肤、呼吸道、消化系上皮下方的结缔组织内。在人体胃肠壁内有大量MC存在,分布于从食管至直肠的黏膜、黏膜下、平滑肌及浆膜各层。以胃肠各节段MC分布的数量来比较,其顺序依次为回肠、胃底和胃窦、十二指肠、胃体、食管近端、空肠、降结肠、阑尾、横结肠、食管远端。从胃肠壁的结构层次来看,在黏膜和黏膜下层,以胃、阑尾的MC最多;在肌层,则以食管、胃底和小肠的MC含量最丰富^[9]。研究表明在IBD和消化系肿瘤患者的肠黏膜上,肥大细胞的数量可增加10倍以上^[10,11]。根据肥大细胞内中性蛋白酶的的不同可将人类MC分为3种亚型,即: MCT-C、MCT及MCC型。MCT-C是包含有类胰蛋白酶、类糜蛋白酶、羧肽酶和组织蛋白酶G样蛋白酶的肥大细胞; MCT型是仅含有类胰蛋白酶的肥大细胞; MCC型只含有类糜蛋白

酶和羧肽酶不含有类胰蛋白酶的肥大细胞,他们都包含组织胺^[12],其中, MCT型肥大细胞在人类的肠黏膜和肺中占主导地位^[13]。

2 肥大细胞的激活与介质的释放

2.1 肥大细胞的激活 肥大细胞表面有不同种类的受体,当其各类配体结合后其可通过不同的机制激活MC,经典的激活通路是由抗原特异性IgE抗体与MC表面的Fc ϵ R1结合后激活肥大细胞^[14]。肥大细胞也可以通过运用其他的激活剂以IgE非依赖的方式激活,如阿片类药物(吗啡、可待因和度冷丁等)、基础分泌物(如48/80混合物、P物质等)及钙离子载体等^[15]。另外,Chen等^[16]发现细菌表面的鞭毛蛋白特异性IgG通过与肥大细胞表面的Fc γ RI结合,激活肥大细胞诱导肠道炎症。同时有研究表明细菌成分与产物可与MC表面的toll样受体(toll like receptor, TLR)结合,诱导细胞因子的释放并启动先天性免疫应答和获得性免疫应答^[17]。Feng等^[18]发现细菌细胞壁的成分肽聚糖可与肥大细胞表面的TLR2及核苷酸寡聚域1(nucleotide oligomerization domain 1, NOD1)结合,从而激活肥大细胞诱导腹泻的发生。Wu等^[19]发现肠道微生物作为病原相关的分子模式与肥大细胞表面的TLR2受体和NOD2受体结合后激活肥大细胞释放多种促炎症因子打破肠道黏膜屏障。这些不同的配体与肥大细胞表面的受体结合后可以通过不同的途径激活肥大细胞,从而释放各种细胞因子和炎症介质导致炎症的发生。

2.2 介质的释放 MC被激活后可释放多种细胞因子和生物化学介质来行使其生理和病理的功能。大量研究证明,MC是促炎症介质的主要来源。其释放的生物活性介质主要分为4类: (1)颗粒内预先形成的介质: 如组胺和5羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)主要作用是改变血管通透性^[20]; 肝素主要功能是加强趋化因子/细胞因子功能和加强血管生成^[21]; 类胰蛋白酶,糜蛋白酶,羧肽酶和其他蛋白酶,主要作用是改造组织和募集效应细胞^[22]; TNF、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和纤维生长因子-2,主要是募集效应细胞和加强血管生成^[23]; (2)新合成的脂类介质: 主要是花生四烯酸的代谢产物。LT、前列腺素(prostaglandin, PG)D2和PGE2,主要作用是募集效应细胞,调节免疫反应和促进血管生成、引起水肿和支气管收缩; PAF的主要作用是活化效应细胞,加强

血管生成和诱导生理性炎症反应^[24]; (3)细胞因子: TNF、白介素-1 α (interleukin-1 α , IL-1 α)、IL-1 β 、IL-6、IL18、granulocyte-macrophage colony-stimulating factor(GM-CSF)、白血病抑制因子(leukaemia inhibitory factor, LIF)、干扰素- α (interferon- α , IFN- α)和IFN- β 等, 主要作用是诱导炎症反应; IL-3、IL-4、IL-5、IL-9、IL-13、IL-15、IL-16等, 主要是Th2型细胞因子功能; IL-12和IFN- γ 主要是Th1型细胞因子功能; IL-1、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)和VEGF等, 主要调节炎症反应和血管生成^[12]; (4)趋化因子: CCL2(CC-chemokine ligand, CCL)、CCL3、CCL4、CCL5、CCL11和CCL20, 主要募集效应细胞, 调节免疫反应^[25]; CXCL1(CXC-chemokine ligand, CXCL)、CXCL2、CXCL8、CXCL9、CXCL10和CXCL11也能募集效应细胞, 调节免疫反应^[26]。

3 肥大细胞在IBD发病机制中的作用

3.1 IBD患者体内MC的数量变化 早在1980年, Dvorak等^[27]就报道了在CD患者的回肠内肥大细胞的数量显著增多了; 1990年Nolte等^[28]发现UC患者体内的肥大细胞数量显著多于对照组。而且, 炎症组织中肥大细胞的数量明显多于正常组织。Gelbmann等^[29]发现, 与对照组相比CD患者肠道肌层内肥大细胞的数量明显增多, 而且在CD患者早期黏膜病变中, 可发现固有膜、黏膜下层MC数量增多。甚至于更深层也可见MC, 伴随有黏膜组织的水肿和炎症。近期的研究也给我们提供了很多证据证明了在IBD患者体内肥大细胞的数量确实增多了。Rijnierse等^[30]发现MC的数量及其释放的介质在IBD小鼠模型的肠黏膜增加了, 表明MC在IBD的发病机制中起重要作用。Kleinschmidt等^[31]发现不同种类的MC在患有IBD的猫模型胃肠道的黏膜和黏膜下层的分布不同且其数量及释放的介质增加与IBD的发病机制密切相关。Hamilton等^[32]研究表明MCT型肥大细胞急性结肠炎小鼠肠道黏膜内显著增加, 同时也报道了MCT在IBD患者肠道内数量也是显著增加的。

3.2 肥大细胞释放的介质与IBD发病的关系 上文我们已经提到了激活的肥大细胞可以释放多种介质, 这些介质在不同程度上可以引起肠黏膜的损伤, 从而在IBD的发病过程中起重要作用。Gelbmann等^[29]用免疫组织化学法检测了CD患者纤维化病变组织中肥大细胞分泌蛋白酶情

况, 结果发现有纤维化病变的炎症肠组织中高表达肥大细胞所分泌的类胰蛋白酶和糜蛋白酶等, 明显高于正常人和非纤维化肠组织, 他们推测肥大细胞在炎症肠道聚集, 与CD患者肠道纤维化及狭窄的形成有关。Xie等^[33]报道MC释放的组织胺与肠黏膜表面的H1受体结合后引起肠黏膜血管黏膜通透性增高, 会导致肠黏膜的破坏, 更容易引起炎症的渗出。其释放的类胰蛋白酶可以激活肠上皮细胞表面的PAR-2受体, 从而调节紧密连接蛋白, 通过上皮旁途径增加肠上皮细胞的渗透性, 从而易于炎症的发生与发展^[34]。Hyun等^[35]发现PAR-2激动剂可以上调结肠黏膜PAR-2的表达, 诱导粒细胞渗出, 导致结肠壁水肿和损伤, 同时通过旁途径使结肠黏膜渗透性增加, 在IBD的发病中起一定的作用。Groschwitz等^[36]研究发现在小鼠体内肥大细胞通过类糜蛋白酶的释放和激活增加结肠上皮的渗透性, 这可能会使肠黏膜屏障功能破坏, 诱导IBD的发生。在炎症性肠病的小鼠模型中, 肝素抑制中性粒细胞的激活、黏附和趋化的能力, 表明肥大细胞与中性粒细胞之间的平衡可能在IBD的发病过程中起重要作用^[37]。据报道, 由肥大细胞产生的PGD2在过敏性应答和炎症反应的早期和晚期阶段起到必要的作用, 而且其还可以调节TH2细胞对促炎症因子的释放^[38]。Kajiwara等^[39]发现肥大细胞激活后释放的PAF参与多种炎症反应, 这种反应部分依赖于细胞膜外的钙离子。而且, Thornton等^[40]提出PAF在CD的发生机制中可能其重要作用。Hocke等^[41]发现溃疡性结肠炎粪便中PAF的水平明显高于正常对照组, 这提示PAF参与UC的发病。

3.3 各类细胞因子在IBD发病中的作用 据报道, 许许多多的细胞因子都参与IBD的发病。TNF- α 主要是由IBD肠道内肥大细胞释放的, 而且细菌和抗-IgE抗体都可以大幅度增加肥大细胞对其的释放^[42]。Rijnierse等^[43]发现在IBD小鼠模型中通过激活肥大细胞释放TNF- α 可以引起炎症应答, 而且抗TNF- α 的抗体在治疗DNFB致敏的小鼠72 h后可以显著减少结肠组织损伤的评分及腹泻反应。Textor等^[44]发现肥大细胞被激活后脱颗粒可释放IL-1、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-13、GM-CSF、MIP-1、TNF- α 、IFN- γ 、GM-CSF和VEGF等, 这些细胞因子通过不同的途径参与炎症的发生及IBD的发病。McGuckin等^[45]在文献中提到TNF- α 、IFN- γ 、IL-1 β 等促炎症细胞因子通过诱导肌球蛋白轻链激

■创新盘点

本文首次通过MC释放的多种介质、细胞因子及趋化因子与IBD的关系进行了综述, 为进一步阐明IBD的发病机制, 寻找新的治疗方法提供了思路。

■应用要点

了解肥大细胞释放的细胞因子和化学介质在IBD中的关键作用有望为治疗这种疾病开拓新的方法。

酶(myosin light chain kinase, MLCK)其可以破坏细胞间的紧密连接,在很大程度上增加了肠黏膜的渗透性,从而破坏肠黏膜屏障,诱导及加重炎症的发生。肥大细胞所分泌的IL-4能诱导TH0细胞向TH2细胞分化,抑制TH1细胞的产生,并调节TH2型细胞免疫反应。肥大细胞表达MHC-II类分子,具有抗原递呈功能,能把加工的抗原肽分子递呈给CD4⁺ T细胞,诱导T细胞的激活。Roberts-Thomson等^[46]报道IFN- γ 等TH1免疫应答型细胞因子及IL-4和IL-13等Th2应答型细胞因子通过激发异常免疫应答和破坏肠黏膜等在UC和CD的发病机制中重要的作用。Monteleone等^[47]提到在CD中占优势的是如TNF- α 和IFN- γ 等Th1细胞相关的细胞因子,而在UC中则是如IL-5、IL-13等Th2细胞相关的细胞因子占优势,他们能够激活Th1和Th2细胞相关的炎症细胞,引起肠道炎症反应导致IBD的发生。

3.4 趋化因子参与IBD的发病 在活动性IBD及溃疡性结肠炎小鼠模型中可以发现肠黏膜趋化因子及其受体的表达量升高,如CXCL8(IL-8)/CXCR2、CXCL9、10、11/CXCR3、CCL25/CCR9、CCL19、21/CCR7和CCL20/CCR6的表达量升高了,应用CCR阻滞剂在治疗UC中有一定效果^[48,49]。综上所述,肥大细胞激活后释放的各种化学介质与促炎症性细胞因子在IBD的发生与发展中起着极其重要的作用。

3.5 肥大细胞与IBD治疗的关系 目前,尽管氨基水杨酸和激素仍是治疗IBD的主要药物,但与肥大细胞相关的治疗在IBD中的作用也应受到密切关注。研究表明抗TNF- α 单克隆抗体(特别是英夫利昔单抗)对治疗克罗恩病疗效尚可^[50];肥大细胞类胰蛋白酶抑制剂APC2059对治疗溃疡性结肠炎安全有效^[51]。同样,如5-氨基水杨酸,能有效的抑制抗IgE诱导的人类肠道肥大细胞对组胺和PGD₂的释放;皮质类固醇激素能减少肠道肥大细胞的数量,这些都在治疗IBD中起着重要的作用^[52,53]。令人惊奇的是,免疫调节药物氨甲喋呤能够通过抑制肥大细胞合成肝素,在克罗恩病的治疗中起重要作用^[54]。这些治疗方法与肥大细胞的关系充分表明肥大细胞在IBD的发展过程中起关键作用。

4 结论

肥大细胞是在炎症性肠病发病机制中起重要作用的一类细胞,他在受到各种因素的刺激后被激活释放多种化学及生物介质和促炎症性细

胞因子,介导炎症的反应。对MC的深入研究能更好的阐明IBD的发病机制,同时了解了MC释放的各种介质和细胞因子的作用后,可以利用各种介质和促炎症因子的抗体和抑制剂为治疗IBD寻找新的思路。

5 参考文献

- Endo K, Shiga H, Kinouchi Y, Shimosegawa T. [Inflammatory bowel disease: IBD]. *Rinsho Byori* 2009; 57: 527-532 [PMID: 19621784]
- Matricon J. [Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease]. *Med Sci (Paris)* 2010; 26: 405-410 [PMID: 20412746 DOI: 10.1051/medsci/2010264405]
- Guilarte M, Santos J, de Torres I, Alonso C, Vicario M, Ramos L, Martínez C, Casellas F, Saperas E, Malagelada JR. Diarrhoea-predominant IBS patients show mast cell activation and hyperplasia in the jejunum. *Gut* 2007; 56: 203-209 [PMID: 17005763 DOI: 10.1136/gut.2006.100594]
- Irving PM, Gibson PR. Infections and IBD. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2008; 5: 18-27 [PMID: 18174904 DOI: 10.1038/ncpgasthep1004]
- Wierzbicki M, Brzezińska-Błaszczak E. [The role of mast cells in the development of inflammatory bowel diseases]. *Postępy Hig Med Dosw (Online)* 2008; 62: 642-650 [PMID: 19037190]
- Jamur MC, Oliver C. Origin, maturation and recruitment of mast cell precursors. *Front Biosci (Schol Ed)* 2011; 3: 1390-1406 [PMID: 21622276 DOI: 10.2741/231]
- Takemoto CM, Lee YN, Jegga AG, Zablocki D, Brandal S, Shahlaee A, Huang S, Ye Y, Gowrisankar S, Huynh J, McDevitt MA. Mast cell transcriptional networks. *Blood Cells Mol Dis* 2008; 41: 82-90 [PMID: 18406636 DOI: 10.1016/j.bcmd.2008.02.005]
- He SH. Key role of mast cells and their major secretory products in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 309-318 [PMID: 14760748]
- Norris HT, Zamcheck N, Gottlieb LS. The presence and distribution of mast cells in the human gastrointestinal tract at autopsy. *Gastroenterology* 1963; 44: 448-455 [PMID: 13938969]
- Andoh A, Deguchi Y, Inatomi O, Yagi Y, Bamba S, Tsujikawa T, Fujiyama Y. Immunohistochemical study of chymase-positive mast cells in inflammatory bowel disease. *Oncol Rep* 2006; 16: 103-107 [PMID: 16786130]
- Acikalin MF, Oner U, Topçu I, Yaşar B, Kiper H, Colak E. Tumour angiogenesis and mast cell density in the prognostic assessment of colorectal carcinomas. *Dig Liver Dis* 2005; 37: 162-169 [PMID: 15888280 DOI: 10.1016/j.dld.2004.09.028]
- Harvima IT, Nilsson G. Mast cells as regulators of skin inflammation and immunity. *Acta Derm Venereol* 2011; 91: 644-650 [PMID: 21879235]
- Yu S, Li Q, Cavanaugh S, Undem BJ, Ouyang A. Characterization of mast cell subtypes, distribution, and antigen-induced activation in the guinea pig esophagus. *Dis Esophagus* 2009; 22: 600-605 [PMID: 19222531 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2009.00944.x]
- Wu LC. Immunoglobulin E receptor signaling and asthma. *J Biol Chem* 2011; 286: 32891-32897 [PMID: 21799019 DOI: 10.1074/jbc.R110.205104]
- Wang H, Wang HS, Liu ZP. Agents that induce

- pseudo-allergic reaction. *Drug Discov Ther* 2011; 5: 211-219 [PMID: 22466368 DOI: 10.5582/ddt.2011.v5.5.211]
- 16 Chen X, Feng BS, Zheng PY, Liao XQ, Chong J, Tang SG, Yang PC. Fc gamma receptor signaling in mast cells links microbial stimulation to mucosal immune inflammation in the intestine. *Am J Pathol* 2008; 173: 1647-1656 [PMID: 18974296 DOI: 10.2353/ajpath.2008.080487]
 - 17 Okumura S, Kashiwakura J, Tomita H, Matsumoto K, Nakajima T, Saito H, Okayama Y. Identification of specific gene expression profiles in human mast cells mediated by Toll-like receptor 4 and FcεRI. *Blood* 2003; 102: 2547-2554 [PMID: 12855579 DOI: 10.1182/blood-2002-12-3929]
 - 18 Feng BS, He SH, Zheng PY, Wu L, Yang PC. Mast cells play a crucial role in *Staphylococcus aureus* peptidoglycan-induced diarrhea. *Am J Pathol* 2007; 171: 537-547 [PMID: 17600127 DOI: 10.2353/ajpath.2007.061274]
 - 19 Wu L, Feng BS, He SH, Zheng PY, Croitoru K, Yang PC. Bacterial peptidoglycan breaks down intestinal tolerance via mast cell activation: the role of TLR2 and NOD2. *Immunol Cell Biol* 2007; 85: 538-545 [PMID: 17563761 DOI: 10.1038/sj.icb.7100079]
 - 20 Stoianov SG, Penchev PI, Gerova VA, Tsenova VG. Histamine, 5-hydroxytryptamine, collagen, mast cells and Ig-secreting cells in the small bowel disorders with diarrhea. *J Gastrointest Liver Dis* 2008; 17: 486-487 [PMID: 19104721]
 - 21 Swedenborg J, Mäyränpää MI, Kovanen PT. Mast cells: important players in the orchestrated pathogenesis of abdominal aortic aneurysms. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011; 31: 734-740 [PMID: 21205988 DOI: 10.1161/ATVBAHA.110.213157]
 - 22 Dai H, Korthuis RJ. Mast Cell Proteases and Inflammation. *Drug Discov Today Dis Models* 2011; 8: 47-55 [PMID: 22125569 DOI: 10.1016/j.ddmod.2011.06.004]
 - 23 Sismanopoulos N, Delivanis DA, Alysandratos KD, Angelidou A, Vasiadi M, Therianou A, Theoharides TC. IL-9 induces VEGF secretion from human mast cells and IL-9/IL-9 receptor genes are overexpressed in atopic dermatitis. *PLoS One* 2012; 7: e33271 [PMID: 22413008 DOI: 10.1371/journal.pone.0033271]
 - 24 Takafuji S, Tadokoro K, Ito K, Nakagawa T. Release of granule proteins from human eosinophils stimulated with mast-cell mediators. *Allergy* 1998; 53: 951-956 [PMID: 9821474 DOI: 10.1111/j.1398-9995.1998.tb03795.x]
 - 25 Cruz AC, Hall TS, Jones KD, Edwards ST, Fang KC. Induction of mast cell activation and CC chemokine responses in remodeling tracheal allografts. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004; 31: 154-161 [PMID: 15059785 DOI: 10.1165/rcmb.2003-0440OC]
 - 26 Tripodo C, Gri G, Piccaluga PP, Frossi B, Guarnotta C, Piconese S, Franco G, Vetri V, Pucillo CE, Florena AM, Colombo MP, Pileri SA. Mast cells and Th17 cells contribute to the lymphoma-associated pro-inflammatory microenvironment of angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *Am J Pathol* 2010; 177: 792-802 [PMID: 20595635 DOI: 10.2353/ajpath.2010.091286]
 - 27 Dvorak AM, Monahan RA, Osage JE, Dickersin GR. Crohn's disease: transmission electron microscopic studies. II. Immunologic inflammatory response. Alterations of mast cells, basophils, eosinophils, and the microvasculature. *Hum Pathol* 1980; 11: 606-619 [PMID: 7450737 DOI: 10.1016/S0046-8177(80)80072-4]
 - 28 Nolte H, Spjeldnaes N, Kruse A, Windelborg B. Histamine release from gut mast cells from patients with inflammatory bowel diseases. *Gut* 1990; 31: 791-794 [PMID: 1695160 DOI: 10.1136/gut.31.7.791]
 - 29 Gelbmann CM, Mestermann S, Gross V, Köllinger M, Schölmerich J, Falk W. Strictures in Crohn's disease are characterised by an accumulation of mast cells colocalised with laminin but not with fibronectin or vitronectin. *Gut* 1999; 45: 210-217 [PMID: 10403732 DOI: 10.1136/gut.45.2.210]
 - 30 Rijnierse A, Koster AS, Nijkamp FP, Kraneveld AD. Critical role for mast cells in the pathogenesis of 2,4-dinitrobenzene-induced murine colonic hypersensitivity reaction. *J Immunol* 2006; 176: 4375-4384 [PMID: 16547276]
 - 31 Kleinschmidt S, Harder J, Nolte I, Marsilio S, Hewicker-Trautwein M. Phenotypical characterization, distribution and quantification of different mast cell subtypes in transmural biopsies from the gastrointestinal tract of cats with inflammatory bowel disease. *Vet Immunol Immunopathol* 2010; 137: 190-200 [PMID: 20646765 DOI: 10.1016/j.vetimm.2010.05.005]
 - 32 Hamilton MJ, Sinnamon MJ, Lyng GD, Glickman JN, Wang X, Xing W, Krilis SA, Blumberg RS, Adachi R, Lee DM, Stevens RL. Essential role for mast cell tryptase in acute experimental colitis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 290-295 [PMID: 21173247 DOI: 10.1073/pnas.1005758108]
 - 33 Xie H, He SH. Roles of histamine and its receptors in allergic and inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 2851-2857 [PMID: 15902718]
 - 34 Cenac N, Chin AC, Garcia-Villar R, Salvador-Cartier C, Ferrier L, Vergnolle N, Buret AG, Fioramonti J, Bueno L. PAR2 activation alters colonic paracellular permeability in mice via IFN-gamma-dependent and -independent pathways. *J Physiol* 2004; 558: 913-925 [PMID: 15194744 DOI: 10.1113/jphysiol.2004.061721]
 - 35 Hyun E, Andrade-Gordon P, Steinhoff M, Vergnolle N. Protease-activated receptor-2 activation: a major actor in intestinal inflammation. *Gut* 2008; 57: 1222-1229 [PMID: 18460552 DOI: 10.1136/gut.2008.150722]
 - 36 Groschwitz KR, Ahrens R, Osterfeld H, Gurish MF, Han X, Abrink M, Finkelman FD, Pejler G, Hogan SP. Mast cells regulate homeostatic intestinal epithelial migration and barrier function by a chymase/Mcpt4-dependent mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 22381-22386 [PMID: 20018751 DOI: 10.1073/pnas.0906372106]
 - 37 Wan MX, Liu Q, Wang Y, Thorlacius H. Protective effect of low molecular weight heparin on experimental colitis: role of neutrophil recruitment and TNF-alpha production. *Inflamm Res* 2002; 51: 182-187 [PMID: 12058955 DOI: 10.1007/PL00000290]
 - 38 Arima M, Fukuda T. Prostaglandin D and T(H)2 inflammation in the pathogenesis of bronchial asthma. *Korean J Intern Med* 2011; 26: 8-18 [PMID: 21437156 DOI: 10.3904/kjim.2011.26.1.8]
 - 39 Kajiwarra N, Sasaki T, Bradding P, Cruse G, Sagara H, Ohmori K, Saito H, Ra C, Okayama Y. Activation of human mast cells through the platelet-activating factor receptor. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 125:

■名词解释

肌球蛋白轻链激酶(MLCK): 一种钙调素(CaM)依赖酶, 催化肌球蛋白20 kDa轻链(MLC)的磷酸化, 使肌球蛋白得以激活, 从而引起平滑肌的收缩活动。

■同行评价

本文结构紧凑、思路明确、可读性强,具有一定的理论价值和科学意义。

- 1137-1145. e6 [PMID: 20392487 DOI: 10.1016/j.jaci.2010.01.056]
- 40 Thornton M, Solomon MJ. Crohn's disease: in defense of a microvascular aetiology. *Int J Colorectal Dis* 2002; 17: 287-297 [PMID: 12172921 DOI: 10.1007/s00384-002-0408-5]
- 41 Hocke M, Richter L, Bossekert H, Eitner K. Platelet activating factor in stool from patients with ulcerative colitis and Crohn's disease. *Hepatogastroenterology* 1999; 46: 2333-2337 [PMID: 10521992]
- 42 Oprins JC, van der Burg C, Meijer HP, Munnik T, Groot JA. Tumour necrosis factor alpha potentiates ion secretion induced by histamine in a human intestinal epithelial cell line and in mouse colon: involvement of the phospholipase D pathway. *Gut* 2002; 50: 314-321 [PMID: 11839707 DOI: 10.1136/gut.50.3.314]
- 43 Rijniense A, Koster AS, Nijkamp FP, Kraneveld AD. TNF-alpha is crucial for the development of mast cell-dependent colitis in mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 291: G969-G976 [PMID: 16798721 DOI: 10.1152/ajpgi.00146.2006]
- 44 Textor B, Licht AH, Tuckermann JP, Jessberger R, Razin E, Angel P, Schorpp-Kistner M, Hartenstein B. JunB is required for IgE-mediated degranulation and cytokine release of mast cells. *J Immunol* 2007; 179: 6873-6880 [PMID: 17982078]
- 45 McGuckin MA, Eri R, Simms LA, Florin TH, Radford-Smith G. Intestinal barrier dysfunction in inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 100-113 [PMID: 18623167 DOI: 10.1002/ibd.20539]
- 46 Roberts-Thomson IC, Fon J, Uylaki W, Cummins AG, Barry S. Cells, cytokines and inflammatory bowel disease: a clinical perspective. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2011; 5: 703-716 [PMID: 22017698 DOI: 10.1586/egh.11.74]
- 47 Monteleone I, Pallone F, Monteleone G. Th17-related cytokines: new players in the control of chronic intestinal inflammation. *BMC Med* 2011; 9: 122 [PMID: 22082127 DOI: 10.1186/1741-7015-9-122]
- 48 Banks C, Bateman A, Payne R, Johnson P, Sheron N. Chemokine expression in IBD. Mucosal chemokine expression is unselectively increased in both ulcerative colitis and Crohn's disease. *J Pathol* 2003; 199: 28-35 [PMID: 12474223 DOI: 10.1002/path.1245]
- 49 Murphy CT, Nally K, Shanahan F, Melgar S. Shining a light on intestinal traffic. *Clin Dev Immunol* 2012; 2012: 808157 [PMID: 22162719]
- 50 Ali T, Yun L, Rubin DT. Risk of post-operative complications associated with anti-TNF therapy in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 197-204 [PMID: 22294822 DOI: 10.3748/wjg.v18.i3.197]
- 51 Tremaine WJ, Brzezinski A, Katz JA, Wolf DC, Fleming TJ, Mordenti J, Strenkowski Nix LC, Kurth MC. Treatment of mildly to moderately active ulcerative colitis with a tryptase inhibitor (APC 2059): an open-label pilot study. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 407-413 [PMID: 11876693 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2002.01194.x]
- 52 Peh KH, Wan BC, Assem ES, Pearce FL. Effect of sulphasalazine and balsalazide on histamine release from mast cells. *Inflamm Res* 2007; 56 Suppl 1: S9-S10 [PMID: 17806157 DOI: 10.1007/s00011-006-0504-z]
- 53 Baiula M, Spartà A, Bedini A, Carbonari G, Bucolo C, Ward KW, Zhang JZ, Govoni P, Spampinato S. Eosinophil as a cellular target of the ocular anti-allergic action of mapracorat, a novel selective glucocorticoid receptor agonist. *Mol Vis* 2011; 17: 3208-3223 [PMID: 22194647]
- 54 Marcondes S, Baú EC, Antunes E, Dietrich CP, Nader HB, De Nucci G. Inhibition of heparin synthesis by methotrexate in rats in vivo. *Biochem Pharmacol* 2002; 64: 169-175 [PMID: 12123736 DOI: 10.1016/S0006-2952(02)01063-8]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

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

血管内皮细胞与炎症性肠病发生发展的关系

陈 城, 于成功

陈城, 于成功, 南京中医药大学鼓楼临床学院 江苏省南京市 210008

于成功, 南京大学医学院附属鼓楼医院 江苏省南京市 210008

作者贡献分布: 于成功负责论文设计与修改; 陈城负责文献收集整理分析及论文撰写。

通讯作者: 于成功, 主任医师, 210008, 江苏省南京市中山路321号, 南京大学医学院附属鼓楼医院消化内科。

chenggong.yu@gmail.com

收稿日期: 2012-12-25 修回日期: 2013-02-05

接受日期: 2013-02-21 在线出版日期: 2013-03-08

Effect of vascular endothelial cells on the pathogenesis of inflammatory bowel disease

Cheng Chen, Cheng-Gong Yu

Cheng Chen, Cheng-Gong Yu, Department of Gastroenterology, Gulou Clinical Medical College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China

Cheng-Gong Yu, Department of Gastroenterology, Nanjing Drum Tower Hospital, the Affiliated Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Cheng-Gong Yu, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Nanjing Drum Tower Hospital, the Affiliated Hospital of Nanjing University Medical School, 321 Zhongshan Road, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China. chenggong.yu@gmail.com

Received: 2012-12-25 Revised: 2013-02-05

Accepted: 2013-02-21 Published online: 2013-03-08

Abstract

Inflammatory bowel disease (IBD), including Crohn's disease (CD) and ulcerative colitis (UC), are a group of chronic recurrent intestinal autoimmune diseases characterized by chronic intestinal inflammation. The important characteristics of persistent intestinal inflammation in IBD are the aggregation of inflammatory cells and the release of inflammatory factors in the intestinal mucosa. Functional alternations of immune cells and intestinal microvascular endothelial cells play an important role in the mucosal immunity and intestinal function. Moreover, alternation of the structure and function of microvascular endothelial cells can regulate the migration of immune cells, blood supply and homeostasis of intestinal tissue. Endothelial cells in newly formed vessels

can induce tissue injury by regulating the recruitment of blood cells and inflammatory mediators to maintain the inflammatory reaction.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Endothelial cells; Inflammatory bowel disease; Pathogenesis

Chen C, Yu CG. Effect of vascular endothelial cells on the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(7): 585-590 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/585.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.585>

摘要

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一组以肠道慢性炎症为主要表现的慢性复发性肠道自身免疫性疾病, 包括克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)。在IBD的发病过程中, 引起肠道炎症持续存在的重要原因和特征是黏膜组织中的炎细胞集聚和释放各种炎症因子, 其中各种免疫细胞及肠微血管内皮细胞的功能变化对黏膜免疫和胃肠道生理改变发挥了十分重要的作用。这些改变中微血管内皮细胞的结构和功能改变能影响免疫细胞的迁移、组织的血供及内环境的稳定。新生血管通过血管内皮细胞调节炎症性细胞的招募、炎症介质和维持炎症反应进而引起组织损伤。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 内皮细胞; 炎症性肠病; 发病机制

陈城, 于成功. 血管内皮细胞与炎症性肠病发生发展的关系. *世界华人消化杂志* 2013; 21(7): 585-590 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/585.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.585>

0 引言

微血管内皮是交通血管、淋巴管的微血管的重要组成部分, 他由血管内皮细胞通过细胞间连接而形成单细胞层屏障, 其完整性保证了血管与周围组织间的物质运输及微循环的稳态。作

■背景资料

血管内皮细胞已经被认为是参与炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)发生发展的重要因素, 内皮细胞的功能受多种介质的调节, 同时也影响肠黏膜新生血管的形成和炎症的发生发展。因此深入研究内皮细胞的功能对了解IBD的发病机制及开发新的治疗方法有重要意义。

■同行评议者

洪艳, 教授, 贵阳医学院组胚教研室

■创新盘点

本文对内皮细胞在IBD发病中作用的研究进展进行系统的总结。

为肠黏膜非免疫细胞的一员,内皮细胞与肠黏膜免疫细胞相互作用,共同调节肠黏膜免疫的平衡以及肠黏膜结构和功能的稳定^[1]。通常情况下肠黏膜微血管内皮具有半选择性通透的屏障作用,微血管内外的溶质和液体交换受控于血管内皮细胞的通透性,而血管内皮通透性的调节主要通过内皮细胞通透性调节、内皮细胞间连接通透性调节和细胞外肌动蛋白调节3方面进行,其中细胞骨架肌动蛋白和连接复合物起重要作用^[2]。在炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)发生发展的过程中,血管内皮受到炎症局部高炎症因子和生长因子的影响,不仅其屏障功能发生变化,其调节肠黏膜免疫平衡功能也发生迅速的变化,这些变化共同导致了肠黏膜组织的损伤。

1 IBD中内皮屏障功能障碍

正常的微血管内皮屏障能维持能量供应和气体交换、渗透平衡以及维持组织细胞间的白细胞丰度。IBD时白细胞浸润至局部肠黏膜组织中,产生多种细胞因子对内皮细胞直接造成损害,增加局部血管的通透性,进而导致肠壁组织水肿和组织损伤,破坏正常的屏障功能。此外炎症局部释放的多种介质,尤其是血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF),还能通过诱导基质金属蛋白-1(matrix metalloproteinase-1, MMP-1)、MMP-9等降解细胞间连接蛋白,改变溶质渗透率和增加血管通透性^[3]。Tolstanova等^[4]在碘乙酰胺的结肠炎模型中发现VEGF-A的抑制剂能降低血管通透性。抗炎因子白介素-10(interleukin-10, IL-10)的下调也可能在增加血管通透性方面起十分重要的作用,Tolstanova等^[5]发现在IL-10缺陷的鼠结肠炎模型中,结肠组织黏膜下水肿呈自发性加重,这可能与局部血管通透性增加所致的血管内皮屏障功能障碍有关。内皮屏障功能障碍时在炎症因子刺激下,活化的内皮细胞黏附分子表达也将发生改变,进而影响内皮细胞与血液中各种炎性细胞、血小板的黏附作用,继而影响黏膜免疫。

2 IBD中相关炎症因子和趋化因子对内皮细胞的影响

促炎因子包括IL-6、IL-23、IL-12和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)等的血浆水平含量在IBD均有不同程度的增高,这些炎症因

子通过对内皮细胞不同的作用,破坏血管内皮结构和功能的完整性,加重炎症反应,而充当着黏膜损伤的介质。TNF- α 是一种对血管内皮具有多效性的炎症因子,可以通过多种途径损伤血管内皮细胞,而损伤的血管内皮细胞又能促进TNF- α 的释放,进一步加重血管内皮的损伤,两者互为因果,形成恶性循环。其损伤内皮的机制包括^[6-9]:(1)诱导细胞凋亡或直接损伤内皮细胞,导致肌动蛋白重新排列和纤维连接蛋白的丢失,破坏血管内皮正常的结构;(2)改变细胞酶类代谢,诱导内皮细胞产生诱导型一氧化氮合成酶(nitric oxide synthase, NOS),激活细胞内溶酶体酶和细胞表面蛋白酶表达,进一步损伤血管内皮;(3)产生趋化因子和诱导内皮细胞黏附分子的表达,促进炎细胞的黏附和迁移,加重炎症反应。IL-6可以活化血小板产生血小板源性炎症因子,引起炎症因子瀑布反应;同时也是联系全身免疫反应和局部血管损伤的主要体内循环物质,实验证明^[10],IL-6可以明显增加血管内皮细胞中血管紧张素转化酶(angiotensin converting enzyme, ACE)和乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)水平,而ACE的变化水平是血管内皮细胞损伤的可靠标志。IL-23作为IL-12分子家族的一员,由激活的单核-巨噬细胞和树突状细胞分泌的细胞因子,可以显著的诱导IBD患者外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)激活,分泌高水平的TNF- α 和干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ),继而对内皮细胞造成损伤^[11]。而抗炎因子IL-10活性缺陷,也可能在TNF- α 介导的炎症反应中起重要作用。IL-10缺陷小鼠在用TNF- α 诱导IBD模型后,使用外源性IL-10治疗能够明显改善组织损伤^[12]。趋化因子作为趋炎多肽细胞因子的超家族,主要由白细胞和造血微环境的基质细胞分泌,可结合在血管内皮细胞表面,具有激活和趋化白细胞移动作用^[13]。目前已经发现^[14]IBD患者体内趋化因子CX3C/fractalkine(FKN)与TNF- α 、INF- γ 、人肠微血管内皮细胞(HIMECs)结合后表达上调,T细胞中也存在CX3CR1的表达上调。FKN能促进白细胞趋化、迁移等而放大局部炎症反应。另一种很有意思的趋化因子,中期因子(midkine),在IBD患者血清中含量也明显增高的,他可通过上调内皮细胞表面黏附分子的表达进行白细胞招募,此外他还具有显著的促进血管新生作用^[15,16]。

3 IBD中的新生血管与内皮细胞

在TNBS、DSS诱导的结肠炎模型中由于炎症局

部血管内皮损伤和炎症因子的释放, 而出现代偿性新生血管的形成. IBD中新生血管的形成是通过内皮细胞的活化、增殖和迁移完成的, 这些不成熟的新生血管具有高渗透、低灌注、高血栓形成的特点^[17,18]. Ganta等^[19]发现生长因子可以直接刺激血管内皮细胞增殖和移动, 并增加微血管通透性, 促进新生血管的形成. 动物模型实验已经证实^[20], CD和UC模型肠道血管密度的增高与疾病严重程度直接相关. 此外还有研究证实^[21]IBD患者及UC动物模型外周血中内皮祖细胞数量明显减少, 表明代偿性新生血管的形成所致的内皮细胞迁移并未缓解局部受损后的微循环障碍, 反而由于这些不成熟的新生血管内血液灌注低、溶质渗透率高, 白细胞、血小板黏高, 加重疾病.

4 IBD中高表达的黏附分子与内皮细胞

IBD炎症反应的重要特点是免疫激活、白细胞浸润和血管通透性增加, 而白细胞与特异性内皮细胞黏附分子相互作用是炎细胞浸润过程的一个关键环节^[22]. 活化的内皮细胞表面表达选择素和黏附分子, 选择素使白细胞在血管内由随血液快速流动变为附着翻滚^[23], 随后整合素与黏附分子结合将白细胞稳定黏附于血管内皮腔面, 最后白细胞穿透受损的内皮间连接, 完成跨膜迁移并放大炎症反应, 加重对血管内皮和肠黏膜组织的损害. 已证实IBD中内皮细胞表达的黏附分子上调与疾病的严重程度有关^[24-27]; 也有研究证实^[28-30]应用黏附分子拮抗剂或内源性可溶性血管细胞黏附分子-1(soluble vascular cell adhesion molecule-1, sVCAM-1)可使白细胞黏附率下降.

细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule 1, ICAM-1)作为一种重要的内皮细胞黏附分子, 与淋巴细胞功能抗原-1(leukocyte function-associated antigen-1, LFA-1)、Mac-1和整合素 $\alpha 4\beta 2$ 结合, 在炎症介质的影响下由内皮细胞表达, 参与白细胞与活化的内皮细胞之间的黏附. Goebel等^[31]提出VEGF-A能诱导新生血管内皮细胞持续表达ICAM-1; 也有研究发现VEGF还能增加活化的内皮细胞对ICAM-1表达的敏感性. VCAM-1是IBD中活化的血管内皮腔面表达的黏附分子, 能介导致白细胞表达的整合素 $\alpha 4\beta 1$ 的黏附; 与ICAM-1相似, VEGF-A也能促进VCAM-1表达.

P-选择素存在于静息血小板的 α 颗粒和内

皮细胞的Weibel-Palade小体中, 静止的血小板和内皮细胞表面并不表达P-选择素, 当组织受到炎症或其他损伤时, 经凝血酶或组胺等刺激, 血小板的 α 颗粒和内皮细胞的Weibel-Palade小体迅速与质膜融合, 而使P-选择素在血小板和内皮细胞表面表达^[32]. 活化的血小板或内皮细胞表达的P-选择素能促进白细胞的招募, 调节细胞因子的产生, 参与血栓的形成. 研究证实^[33], IBD患者血小板表面表达的P-选择素与对照组相比增高达50%; 而血清可溶性P-选择素, 被认为是一种白细胞黏附的拮抗剂, 在IBD患者体内是降低的. 这表明血清可溶性P-选择素不能作为血小板活化的特异性标志. 因此, 如何测定血小板或内皮细胞P-选择素的表达则是今后有关研究中需要解决的问题.

E-选择素, 不存在于内皮细胞的Weibel-Palade小体中, 是在炎症因子IL-1、TNF- α 、VEGF-A等刺激下由活化的内皮细胞表面表达产生, 主要参与淋巴细胞沿血管内皮的黏附及滚动^[34]. 与可溶性P-选择素不同, 可溶性E-选择素在IBD中并不下调. 有研究证实^[35], 在CD患者中可溶性E-选择素含量与对照组相比却升高. CD146, 现在被认为是在IBD患者肠组织中含量升高的一种新的免疫球蛋白超家族黏附分子. CD146在IBD中的作用并未完全揭晓, 和ICAM-1及VCAM-1一样, 可能是因为VEGF的过度表达而所致^[36]. 此外, 可溶性CD146和他的配体间的相互作用的减弱而加强了白细胞的外渗. CD和UC患者内皮细胞在受到多种炎症因子(除LPS外)刺激后, 向肠炎症区域招募免疫细胞的能力增加, 这和内皮细胞对IBD中高炎症介质负载量的反应是一致的.

5 IBD中一氧化氮和内皮细胞

一氧化氮由NOS催化L-精氨酸生成. 目前已知的NOS有神经型NOS(nNOS)、内皮型NOS(eNOS)及诱生型NOS(iNOS). NO在IBD中发挥着双重作用, 正常情况下eNOS合成的少量NO具有舒张血管、抗氧化损伤、抑制血小板黏附与聚集和多核粒细胞聚集的作用^[37,38]; 而过量的NO(多由iNOS合成)可诱导微血管壁通透性增高, 导致水肿、充血和组织损伤. NO诱导微血管内皮细胞通透性的机制包括以下两部分^[39,40]: (1)鸟苷酸环化酶和磷脂酶C活性增高导致细胞内钙离子浓度上调, 激活离子通道受体信号途径; (2)蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)活化导致肌动蛋白收

■应用要点

本文对内皮细胞在IBD发病机制中的作用进行综述, 旨在为后续的研究提供理论基础.

■同行评价

本文内容较为详实,具有一定指导意义。

缩,最终导致血管内皮细胞通透性增加。Mechén等^[41]发现UC患者炎症黏膜中iNOS活性明显增高,与健康人黏膜或UC患者的正常黏膜相比,有显著差异。此外Yasukawa等^[42]在鼠结肠炎模型中发现iNOS产生的NO能够升高小鼠中、末段结肠组织中TNF- α 的水平,并上调TNF- α 所介导的P-选择素和ICAM-1的表达,促进活化的中性粒细胞与血管内皮细胞的黏附,进而造成组织损伤。越来越多的研究表明肠内环境稳态是受控于相应的NO,过量的NO合成可能是IBD重要的病理生理基础。

6 干预内皮细胞功能与IBD的治疗

在肠道慢性炎症中,微血管内皮起重要作用,如内皮细胞被激活后可表达各种黏附分子,使血液中白细胞跨膜迁移进入炎症病灶。由此产生了选择性抗白细胞黏附治疗的手段,如抗 $\alpha 4$ 整合素抑制剂-那他珠单抗,通过阻断白细胞表面 $\alpha 4$ 整合素有效地拮抗白细胞与内皮细胞表面黏附分子(包括VCAM-1和MadCAM-1)的结合^[43],目前已通过FDA批准可应用于免疫抑制剂或TNF抑制剂治疗失败或不耐受的难治性克罗恩病。此外,对HIMEC的成功分离加深了对于特异性内皮在IBD炎症局部作用的理解。新生血管的形成,已经被认为在多种疾病发病中起重要作用。虽然目前对于抑制新生血管的形成暂未作为治疗IBD的常规手段,但体外实验证明^[44],沙利度胺,一种TNF- α 抑制剂,通过抑制HIMECs表面黏附分子的表达、核因子(nuclear factor κ B, NF- κ B)的活化达到抗黏附的作用,同时还能显著抑制VEGF刺激下的HIMECs的增殖和活化发挥抗血管生成的作用。尽管有临床报道^[45]沙利度胺对于治疗某些难治性CD有效,但也有研究^[46,47]显示临床应用沙利度胺诱导和维持CD缓解与安慰剂无明显优势;由于是否可在慢性IBD患者中长期使用还缺乏可靠依据,因此该药在临床上应谨慎使用。其他具有抗新生血管形成潜能的药物例如COX-2抑制剂、 α -干扰素,由于存在有不可预知的危害而导致其在IBD抗新生血管形成方面应用受到限制。一种天然化合物姜黄素,在IBD治疗中具有抗炎、抗血管生成和抗纤维化作用^[48],目前对其机制的研究十分令人关注。近来Hanai等^[49]的一项大样本随机对照临床研究表明,姜黄素是一种能够减少静止期UC患者复发的安全、有效的药物。此外,Scaldaferri等^[50]研究发现IBD患者病变部位VEGF-A水平和血管生

成增加,VEGF-A除了增加血管通透性外,还能上调ICAM-1,促进白细胞聚集,而VEGFR-2是VEGF-A的关键受体,提示今后的治疗可以以该受体作为靶点。

7 结论

血管内皮细胞已被认为是参与IBD发生发展的重要因素,内皮细胞的功能受多种介质的调节,同时也影响肠黏膜新生血管的形成和炎症的发生发展。因此深入研究内皮细胞的功能对了解IBD的发病机制及开发新的治疗方法具有重要意义。

8 参考文献

- 1 白爱平. 肠黏膜非免疫细胞在炎症性肠病发病中的作用. 世界华人消化杂志 2010; 18: 2020-2023
- 2 张庆芝, 闵锐. 血管内皮通透性调节机制新进展. 中国微循环 2009; 13: 585-588
- 3 Meijer MJ, Mieremet-Ooms MA, van der Zon AM, van Duijn W, van Hogezaand RA, Sier CF, Hommes DW, Lamers CB, Verspaget HW. Increased mucosal matrix metalloproteinase-1, -2, -3 and -9 activity in patients with inflammatory bowel disease and the relation with Crohn's disease phenotype. *Dig Liver Dis* 2007; 39: 733-739 [PMID: 17602907 DOI: 10.1016/j.dld.2007.05.010]
- 4 Tolstanova G, Khomenko T, Deng X, Chen L, Tarnawski A, Ahluwalia A, Szabo S, Sandor Z. Neutralizing anti-vascular endothelial growth factor (VEGF) antibody reduces severity of experimental ulcerative colitis in rats: direct evidence for the pathogenic role of VEGF. *J Pharmacol Exp Ther* 2009; 328: 749-757 [PMID: 19060224 DOI: 10.1124/jpet.108.145128]
- 5 Tolstanova G, Deng X, French SW, Lungu W, Pautnovic B, Khomenko T, Ahluwalia A, Kaplan T, Dacosta-Iyer M, Tarnawski A, Szabo S, Sandor Z. Early endothelial damage and increased colonic vascular permeability in the development of experimental ulcerative colitis in rats and mice. *Lab Invest* 2012; 92: 9-21 [PMID: 21894149 DOI: 10.1038/labinvest.2011.122]
- 6 Sands BE, Kaplan GG. The role of TNF α in ulcerative colitis. *J Clin Pharmacol* 2007; 47: 930-941 [PMID: 17567930 DOI: 10.1177/0091270007301623]
- 7 Kanaji N, Nelson A, Wang X, Sato T, Nakanishi M, Gunji Y, Basma H, Michalski J, Farid M, Rennard SI, Liu X. Differential Roles of JNK, ERK1/2, and p38 Mitogen-Activated Protein Kinases on Endothelial Cell Tissue Repair Functions in Response to Tumor Necrosis Factor- α . *J Vasc Res* 2012; 50: 145-156 [PMID: 23258237 DOI: 10.1159/000345525]
- 8 Danese S, Sans M, Scaldaferri F, Sgambato A, Rutella S, Cittadini A, Piqué JM, Panes J, Katz JA, Gasbarrini A, Fiocchi C. TNF- α blockade down-regulates the CD40/CD40L pathway in the mucosal microcirculation: a novel anti-inflammatory mechanism of infliximab in Crohn's disease. *J Immunol* 2006; 176: 2617-2624 [PMID: 16456024]
- 9 Kumar P, Shen Q, Pivetti CD, Lee ES, Wu MH, Yuan SY. Molecular mechanisms of endothelial hyperpermeability: implications in inflammation.

- Expert Rev Mol Med* 2009; 11: e19 [PMID: 19563700 DOI: 10.1017/S1462399409001112]
- 10 马丽萍, 张国元, 秦永文, 郑兴, 吴宗贵, 侯健. 17 β -雌二醇对白细胞介素6肿瘤坏死因子诱导的内皮细胞损伤的影响. *心肺血管病杂志* 2002; 21: 48-50
- 11 崔铁, 黄志刚, 刘占举. IL-23在炎症性肠病中的免疫调节作用. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1649-1654
- 12 Scheinin T, Butler DM, Salway F, Scallan B, Feldmann M. Validation of the interleukin-10 knockout mouse model of colitis: antitumour necrosis factor-antibodies suppress the progression of colitis. *Clin Exp Immunol* 2003; 133: 38-43 [PMID: 12823276]
- 13 Dimberg A. Chemokines in angiogenesis. *Curr Top Microbiol Immunol* 2010; 341: 59-80 [PMID: 20373091 DOI: 10.1007/82_2010_21]
- 14 Sans M, Danese S, de la Motte C, de Souza HS, Rivera-Reyes BM, West GA, Phillips M, Katz JA, Fiocchi C. Enhanced recruitment of CX3CR1+ T cells by mucosal endothelial cell-derived fractalkine in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2007; 132: 139-153 [PMID: 17241867 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.10.010]
- 15 Dharmani P, Chadee K. Biologic therapies against inflammatory bowel disease: a dysregulated immune system and the cross talk with gastrointestinal mucosa hold the key. *Curr Mol Pharmacol* 2008; 1: 195-212 [PMID: 20021434]
- 16 Krzystek-Korpacka M, Neubauer K, Matusiewicz M. Clinical relevance of circulating midkine in ulcerative colitis. *Clin Chem Lab Med* 2009; 47: 1085-1090 [PMID: 19728850 DOI: 10.1515/CCLM.2009.248]
- 17 Uh MK, Kandel J, Kitajewski J. Evaluating tumor angiogenesis. *Methods Mol Biol* 2013; 980: 341-351 [PMID: 23359165 DOI: 10.1007/978-1-62703-287-2_20]
- 18 Michaelis UR, Chavakis E, Kruse C, Jungblut B, Kaluza D, Wandzioch K, Manavski Y, Heide H, Santoni MJ, Potente M, Eble JA, Borg JP, Brandes RP. The Polarity Protein Scrib is Essential for Directed Endothelial Cell Migration. *Circ Res* 2013 Jan 29. [Epub ahead of print] [PMID: 23362312 DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.112.300592]
- 19 Ganta VC, Cromer W, Mills GL, Traylor J, Jennings M, Daley S, Clark B, Mathis JM, Bernas M, Boktor M, Jordan P, Witte M, Alexander JS. Angiopoietin-2 in experimental colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 1029-1039 [PMID: 19902545 DOI: 10.1002/ibd.21150]
- 20 Chidlow JH, Langston W, Greer JJ, Ostanin D, Abdelbaqi M, Houghton J, Senthilkumar A, Shukla D, Mazar AP, Grisham MB, Kevil CG. Differential angiogenic regulation of experimental colitis. *Am J Pathol* 2006; 169: 2014-2030 [PMID: 17148665 DOI: 10.2353/ajpath.2006.051021]
- 21 Deng X, Szabo S, Chen L, Paunovic B, Khomenko T, Tolstanova G, Tarnawski AS, Jones MK, Sandor Z. New cell therapy using bone marrow-derived stem cells/endothelial progenitor cells to accelerate neovascularization in healing of experimental ulcerative colitis. *Curr Pharm Des* 2011; 17: 1643-1651 [PMID: 21548863]
- 22 Wee H, Oh HM, Jo JH, Jun CD. ICAM-1/LFA-1 interaction contributes to the induction of endothelial cell-cell separation: implication for enhanced leukocyte diapedesis. *Exp Mol Med* 2009; 41: 341-348 [PMID: 19307754 DOI: 10.3858/emm.2009.41.5.038]
- 23 Duerschmied D, Suidan GL, Demers M, Herr N, Carbo C, Brill A, Cifuni SM, Mauler M, Cicko S, Bader M, Idzko M, Bode C, Wagner DD. Platelet serotonin promotes the recruitment of neutrophils to sites of acute inflammation in mice. *Blood* 2013; 121: 1008-1015 [PMID: 23243271 DOI: 10.1182/blood-2012-06-437392]
- 24 Deban L, Correale C, Vetrano S, Malesci A, Danese S. Multiple pathogenic roles of microvasculature in inflammatory bowel disease: a Jack of all trades. *Am J Pathol* 2008; 172: 1457-1466 [PMID: 18458096 DOI: 10.2353/ajpath.2008.070593]
- 25 Arijs I, De Hertogh G, Machiels K, Van Steen K, Lemaire K, Schraenen A, Van Lommel L, Quintens R, Van Assche G, Vermeire S, Schuit F, Rutgeerts P. Mucosal gene expression of cell adhesion molecules, chemokines, and chemokine receptors in patients with inflammatory bowel disease before and after infliximab treatment. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 748-761 [PMID: 21326222 DOI: 10.1038/ajg.2011.27]
- 26 Videm V, Albrigtsen M. Soluble ICAM-1 and VCAM-1 as markers of endothelial activation. *Scand J Immunol* 2008; 67: 523-531 [PMID: 18363595 DOI: 10.1111/j.1365-3083.2008.02029.x]
- 27 Gu HF, Ma J, Gu KT, Brismar K. Association of intercellular adhesion molecule 1 (ICAM1) with diabetes and diabetic nephropathy. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2012; 3: 179 [PMID: 23346076 DOI: 10.3389/fendo.2012.00179]
- 28 Ghosh S, Panaccione R. Anti-adhesion molecule therapy for inflammatory bowel disease. *Therap Adv Gastroenterol* 2010; 3: 239-258 [PMID: 21180606 DOI: 10.1177/1756283X10373176]
- 29 Yacyshyn BR. Adhesion molecule therapeutics in IBD. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14 Suppl 2: S279-S280 [PMID: 18816743 DOI: 10.1002/ibd.20710]
- 30 郑家驹. 炎症性肠病伴慢性肠道炎症的新治疗. *胃肠病学* 2011; 16: 506-508
- 31 Goebel S, Huang M, Davis WC, Jennings M, Siahaan TJ, Alexander JS, Kevil CG. VEGF-A stimulation of leukocyte adhesion to colonic microvascular endothelium: implications for inflammatory bowel disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 290: G648-G654 [PMID: 16293653 DOI: 10.1152/ajpgi.00466.2005]
- 32 胡洁琼, 陈春晓, 厉有名. P-选择素与炎症性肠病. *国际消化病杂志* 2007; 27: 92-93.
- 33 Rivera-Nieves J, Burcin TL, Olson TS, Morris MA, McDuffie M, Cominelli F, Ley K. Critical role of endothelial P-selectin glycoprotein ligand 1 in chronic murine ileitis. *J Exp Med* 2006; 203: 907-917 [PMID: 16567389 DOI: 10.1084/jem.20052530]
- 34 Rho YH, Chung CP, Oeser A, Solus J, Asanuma Y, Sokka T, Pincus T, Raggi P, Gebretsadik T, Shintani A, Stein CM. Inflammatory mediators and premature coronary atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2009; 61: 1580-1585 [PMID: 19877084 DOI: 10.1002/art.25009]
- 35 Magro F, Araujo F, Pereira P, Meireles E, Diniz-Ribeiro M, Veloso FT. Soluble selectins, sICAM, sVCAM, and angiogenic proteins in different activity groups of patients with inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 2004; 49: 1265-1274 [PMID: 15387356]
- 36 Tsiolakidou G, Koutroubakis IE, Tzardi M, Kouroumalis EA. Increased expression of VEGF and CD146 in patients with inflammatory bowel disease. *Dig Liver Dis* 2008; 40: 673-679 [PMID: 18374637 DOI: 10.1016/j.dld.2008.02.010]
- 37 Beck PL, Xavier R, Wong J, Ezedi I, Mashimo H, Mizoguchi A, Mizoguchi E, Bhan AK, Podolsky DK.

- Paradoxical roles of different nitric oxide synthase isoforms in colonic injury. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 286: G137-G147 [PMID: 14665440 DOI: 10.1152/ajpgi.00309.2003]
- 38 Erdogu O, Eriksson L, Xu H, Sjöholm A, Zhang Q, Nyström T. Exendin-4 protects endothelial cells from lipooptosis by PKA PI3K eNOS p38MAPK and JNK pathways. *J Mol Endocrinol* 2013 Jan 23. [Epub ahead of print] [PMID: 23343509 DOI: 10.1530/JME-12-0166]
 - 39 Sessa WC. Molecular control of blood flow and angiogenesis: role of nitric oxide. *J Thromb Haemost* 2009; 7 Suppl 1: 35-37 [PMID: 19630764 DOI: 10.1111/j.1538-7836.2009.03424.x]
 - 40 González-Mariscal L, Tapia R, Chamorro D. Crosstalk of tight junction components with signaling pathways. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1778: 729-756 [PMID: 17950242 DOI: 10.1016/j.bbame.2007.08.018]
 - 41 Menchén L, Colón AL, Madrigal JL, Beltrán L, Botella S, Lizasoain I, Leza JC, Moro MA, Menchén P, Cos E, Lorenzo P. Activity of inducible and neuronal nitric oxide synthases in colonic mucosa predicts progression of ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 1756-1764 [PMID: 15330915 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2004.40065.x]
 - 42 Yasukawa K, Tokuda H, Tun X, Utsumi H, Yamada K. The detrimental effect of nitric oxide on tissue is associated with inflammatory events in the vascular endothelium and neutrophils in mice with dextran sodium sulfate-induced colitis. *Free Radic Res* 2012; 46: 1427-1436 [PMID: 22998024 DOI: 10.3109/10715762.2012.732698]
 - 43 Bickston SJ, Muniyappa K. Natalizumab for the treatment of Crohn's disease. *Expert Rev Clin Immunol* 2010; 6: 513-519 [PMID: 20594122 DOI: 10.1586/eci.10.38]
 - 44 Rafiee P, Stein DJ, Nelson VM, Otterson MF, Shaker R, Binion DG. Thalidomide inhibits inflammatory and angiogenic activation of human intestinal microvascular endothelial cells (HIMEC). *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 298: G167-G176 [PMID: 19926820 DOI: 10.1152/ajpgi.00385.2009]
 - 45 罗涵青, 钱家鸣. 沙利度胺在顽固性炎症性肠病中的应用. *中华内科杂志* 2012; 51: 905-906
 - 46 Srinivasan R, Akobeng AK. Thalidomide and thalidomide analogues for induction of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2009; (2): CD007350 [PMID: 19370684 DOI: 10.1002/14651858.CD007350.pub2]
 - 47 Akobeng AK, Stokkers PC. Thalidomide and thalidomide analogues for maintenance of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2009; (2): CD007351 [PMID: 19370685 DOI: 10.1002/14651858.CD007351.pub2]
 - 48 朱梅影, 陈维雄. 姜黄素治疗炎症性肠病的研究进展. *胃肠病学* 2010; 15: 696-698
 - 49 Hanai H, Sugimoto K. Curcumin has bright prospects for the treatment of inflammatory bowel disease. *Curr Pharm Des* 2009; 15: 2087-2094 [PMID: 19519446]
 - 50 Scaldaferrì F, Vetrano S, Sans M, Arena V, Straface G, Stigliano E, Repici A, Sturm A, Malesci A, Panes J, Yla-Herttuala S, Fiocchi C, Danese S. VEGF-A links angiogenesis and inflammation in inflammatory bowel disease pathogenesis. *Gastroenterology* 2009; 136: 585-595. e5 [PMID: 19013462 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.09.064]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.775

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界华人消化杂志》总被引频次3871次, 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第5位、第7位、第5位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第65位、第238位、第138位; 其他指标: 即年指标0.081, 他引率0.82, 引用刊数526种, 扩散因子13.59, 权威因子1260.02, 被引半衰期4.3, 来源文献量642, 文献选出率0.93, 地区分布数29, 机构分布数302, 基金论文比0.45, 海外论文比0.01。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界华人消化杂志》再度被收录为“中国科技核心期刊”。(《世界华人消化杂志》编辑部)

缺氧在肠黏膜炎症损伤过程中的病理生理机制

邱骅婧, 吴维, 刘占举

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

邱骅婧, 硕士, 主要从事炎症性肠病的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81270470, No. 81061120521

作者贡献分布: 本文综述由邱骅婧与吴维完成; 刘占举审核。

通讯作者: 刘占举, 教授, 主任医师, 200072, 上海市延长中路301号, 同济大学附属第十人民医院消化内科。

zhanjuliu@yahoo.com

电话: 021-66301164

收稿日期: 2012-12-10 修回日期: 2013-01-29

接受日期: 2013-02-21 在线出版日期: 2013-03-08

Role of hypoxic injury in pathophysiology of intestinal mucosal inflammation

Hua-Jing Qiu, Wei Wu, Zhan-Ju Liu

Hua-Jing Qiu, Wei Wu, Zhan-Ju Liu, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81270470 and 81061120521

Correspondence to: Zhan-Ju Liu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, 301 Yanchang Middle Road, Shanghai 200072, China. zhanjuliu@yahoo.com

Received: 2012-12-10 Revised: 2013-01-29

Accepted: 2013-02-21 Published online: 2013-03-08

Abstract

Hypoxia influences the normal metabolism of cells and normal functions of organs, eventually causing diseases. Various degrees of hypoxia can be seen in the intestinal mucosa of both experimental mouse models and patients with inflammatory bowel disease (IBD), whose oxygen supply and oxygen consumption are damaged. A number of hypoxia inducible factors, such as HIF-1, HIF-2 and HIF-3, can regulate different physiological responses via different mechanisms. Proline hydroxylasedomain (PHD) is a two-dioxygenase oxygen sensor that can mediate degradation of proline residues of HIFs. IBD is closely related to hypoxia. In recent years, researchers have paid more attention to improving the body's reaction to hypoxia in IBD, which is considered a novel treatment concept. This review will analyze the role of hypoxic injury in the pathophysiology of intestinal mucosal inflammation in IBD.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Hypoxia; Inflammatory bowel disease; Hypoxia-inducible factor-1; Proline hydroxylasedomain

Qiu HJ, Wu W, Liu ZJ. Role of hypoxic injury in pathophysiology of intestinal mucosal inflammation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(7): 591-596 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/591.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.591>

摘要

细胞缺氧影响细胞的正常代谢, 影响组织器官正常功能, 导致疾病发生。在实验小鼠模型和人类炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)患者的肠黏膜上均可见不同程度的缺氧, 氧供给和氧消耗之间的平衡受到破坏。机体缺氧时, 一些低氧诱导因子, 如低氧诱导因子(hypoxia-inducible factor, HIF)-1、HIF-2和HIF-3, 能够通过不同的调节机制调控不同的生理反应。脯氨酰羟化酶(proline hydroxylasedomain, PHD)是一种双加氧酶的氧感受器, 通过催化HIF脯氨酸残基发生羟化反应介导其降解。IBD与缺氧有着密切的联系, 在IBD中如何提高机体对缺氧的反应逐渐被研究人员重视, 并被看作为一种新颖的治疗理念, 本文就缺氧在IBD肠道黏膜炎症损伤过程中的病理生理变化进行综述分析。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 缺氧; 炎症性肠病; 低氧诱导因子-1; 脯氨酰羟化酶

邱骅婧, 吴维, 刘占举. 缺氧在肠黏膜炎症损伤过程中的病理生理机制. *世界华人消化杂志* 2013; 21(7): 591-596 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/591.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.591>

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)在欧美等西方国家有着较高的发病率, 但近几年随着人们生活方式的日趋西化, 在我国的患病率也逐

■背景资料

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)包含有克罗恩病和溃疡性结肠炎, 近几年随着人们生活方式的日趋西化, 在我国的患病率也逐渐上升。人体自身免疫调节、环境因素、遗传因素及肠道菌群微生态是影响IBD疾病发生和进展的4大主要因素, 缺氧是其中一个不可忽视的重要影响因子。

■同行评议者

陆伦根, 教授, 上海交通大学附属第一人民医院消化科

■ 研发前沿

炎症性肠病与缺氧有着密切的联系,在实验小鼠模型和人类IBD患者的肠黏膜上均可见不同程度的缺氧,氧供给和氧消耗之间的平衡受到破坏。机体缺氧时一些低氧诱导因子能够通过不同的调节机制调控不同的生理反应,在IBD中如何提高机体对缺氧的反应被看做作为一种新颖的治疗理念。

渐上升。IBD包含有克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC),人体自身免疫调节、环境因素、遗传因素及肠道菌群调节是影响IBD疾病发生和进展的4大主要因素,缺氧是其中一项不可忽视的重要影响因素^[1-4],以下就缺氧条件下的氧调节因子、缺氧对IBD的病理生理影响及未来治疗新方向逐一展开介绍。

1 缺氧环境下氧调节因子

机体缺氧时,一些低氧诱导因子[如hypoxia-inducible factor, (HIF)-1、HIF-2和HIF-3]和脯氨酰羟化酶,能够通过不同的调节机制调控不同的生理反应,发挥对机体的保护或破坏作用。

1.1 低氧诱导因子-1 HIF-1在低氧诱导的哺乳动物细胞中广泛表达,为低氧应答的全局性调控因子。HIF-1能与人红细胞生成素基因的3增强子序列结合,促进其转录^[5]。HIF-1在低氧时通过对靶基因的诱导表达,使缺氧的组织细胞保持一定的氧浓度,维持机体氧的自我平衡与氧稳定。HIF-1活性调节主要有:(1)HIF-1 mRNA表达水平调节;(2)HIF-1蛋白表达水平调节;(3)HIF-1二聚化和DNA结合活性调节;(4)HIF-1 α 转录活性调节。HIF-1是一种异源二聚体,主要由120 kDa的HIF-1 α 和91-94 kDa的HIF-1 β 两个亚单位组成。HIF-1 β 亚基又称芳香烃受体核转运子(aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator, ARNT),基因定位于人的1号染色体q21区,在细胞内稳定表达,起结构性作用;HIF-1 α 基因定位于人的14号染色体q21-24区,缺氧信号的调控,是HIF-1的活性亚基^[6]。HIF-1 β 亚基在细胞浆中稳定表达,而HIF-1 α 亚基在翻译后即被泛素-蛋白酶水解复合体降解。因此,在正常氧饱和度下的细胞中基本检测不到亚基的表达,而在缺氧状态下,亚基的降解被抑制,HIF-1 α 和HIF-1 β 亚基形成有活性的HIF-1,转移到细胞核内调节多种基因的转录。HIF-1 α 在正常的肠组织中不表达或者很微弱的表达,而在IBD的肠腔和腺体的上皮细胞、肠黏膜组织内的淋巴细胞和巨噬细胞中表达明显增强,还可在血管的内皮细胞、基质的结缔组织细胞中表达,特征为胞浆或胞核显黄色或棕褐色^[7]。

1.2 低氧诱导因子-2 HIF-2是bHLH-PAS蛋白家族新成员^[8],HIF-2与HIF-1在结构上极其相似,由诱导表达的HIF-2 α 亚基和持续表达的HIF-1 β 亚基所组成的异源二聚体结构。HIF-2 α 只表达于内皮细胞、肾脏、心脏、肺以及小肠,而HIF-1 α 广泛地表达于各类细胞;HIF-2 α 能够加快细

胞周期进程,而HIF-1 α 起阻止作用^[9],且HIF-2 α 不能表达MDR、CD73等保护性基因。HIF-1 α 介导的对肠黏膜屏障的保护机制在IBD的发病早期起着保护作用,而当肠黏膜屏障受到破坏时,HIF-2 α 能增强慢性炎症反应,恶化疾病进程^[10]。

1.3 低氧诱导因子-3 HIF-3^[11]主要表达于心脏、肺、骨骼肌和胎盘中,在肝脏和肾脏中的表达量较低,HIF-3 α 与HIF-1 α 、HIF-2 α 结构上有较大的差异,功能上也有明显的不同。HIF-3 α 能与HIF-1 α 、HIF-2 α 竞争性结合HIF-1 β 亚基,导致HIF-1、HIF-2的表达水平降低,从而抑制HIF-1、HIF-2对目标基因表达的上调作用^[12],可能是缺氧调控靶基因表达的负性调节因子。

1.4 脯氨酰羟化酶 脯氨酰羟化酶(proline hydroxylase domain, PHD)是调节HIF-1的关键分子,通过催化HIF脯氨酸残基发生羟化反应介导其降解,它能够直接感受氧分压、是一种双加氧酶的氧感受器^[3]。目前研究发现了PHD1、PHD2、PHD3和PHD4这4种编码脯氨酰羟化酶的基因,其中编码PHD1、PHD2、PHD3的基因与线虫的Egl-9基因同源,在有氧条件下,能催化人HIF特定脯氨酸残基发生羟化反应^[13],并且研究发现HIF-1 α 与PHD1、PHD3,相比较PHD2而言,有着更紧密的联系,PHD1与血管生长因子也有着密切的联系^[14]。2002年Epstein等^[15]发现了PHD4,但在HIF-1 α 过表达时PHD4才能发挥其调节作用。与其他Fe²⁺、 α -酮戊二酸依赖的双加氧酶超家族成员一样,PHDs需要O₂作为底物,一个氧原子加载到HIF-1 α ODD区Pro402或Pro564形成脯氨酰残基;另一个氧原子与 α -酮戊二酸发生去羧基反应,生成延胡索酸和二氧化碳。同时,PHD羟化HIF-1 α 的反应还需要铁和维生素C作为辅助因子。常氧状态时,HIF-1 α 被PHD羟化后进而被泛素蛋白酶水解,因此细胞内无HIF-1聚集;低氧状态时,脯氨酰羟化酶活性受到抑制,PHD羟化HIF-1 α 反应受阻,HIF-1 α 亚基大量积累,HIF-1聚集并入核诱导多种靶基因表达,启动低氧应答反应,以维持细胞和机体的氧自稳平衡及能量代谢平衡。体外实验已证实PHD对氧的亲和力很低,因此在低氧环境中,细胞内HIF-1 α 表达量增加、DNA结合能力增强^[3]。

2 缺氧对IBD的病理生理影响机制

2.1 缺氧与肠道黏膜屏障损伤 缺氧、组织损伤及强烈的代谢应激在肿瘤坏死因子(recombinant human tumor necrosis factor- α , TNF- α)及其他促

炎因子的协助下,能够迅速激活机体的固有免疫应答^[16],吞噬细胞的吞噬功能和自由基的产量在缺氧条件下会得到显著提高^[17]。同时缺氧能够在细胞、组织、系统水平上诱发适应性免疫应答以促进组织器官功能的顺利发挥,缺氧和缺氧诱导因子是T细胞生长、分化及其功能发挥的重要调节者^[18]。已有很多证据表明缺氧介导的腺苷信号途径在正常和病态的肠黏膜中都发挥着重要作用,而且HIF和缺氧信号决定了腺苷受体信号旁路和腺苷酸代谢中的多个步骤^[19]。腺苷主要通过其4大主要受体-ADORA1、ADORA2A、ADORA2B、ADORA3发挥作用,细胞外的腺苷主要来源于三磷酸腺苷或一磷酸腺苷,HIF-1A诱发的基因改变会促进炎症组织分泌腺苷,研究表明腺苷会抑制过度炎症反应和促进损伤组织的愈合^[20]。虽然至今IBD病因仍不明确,Hollander等^[21]首先通过对CD患者及其家属肠道炎症发生前的肠黏膜渗透性改变的研究发现,肠道渗透性的改变、肠黏膜完整性的破坏可能是CD的易患因素,这也在之后的研究中得到了证实,同时认为半胱氨酸蛋白酶募集域家族15号基因(CARD15)突变体可能与CD有关。Buhner等^[22]选取了128例非活动性CD患者,129例一级亲属(CD-R),66例非血缘性家族成员(CD-NR)和96例健康对照人群。分析3个最常见的CARD15多态现象(R702W、G908R、3020insC),并用乳果糖/甘露醇比例确定肠黏膜通透性,结果发现CD和CD-R组肠黏膜的通透性明显增加。44%CD、26%CD-R和6%CD-NR人群的乳果糖/甘露醇比例在正常范围以上,而对照组则全部在正常范围之内。在IBD的动物模型上同样能够证实肠黏膜渗透性的增加,白介素-10(interleukin-10, IL-10)敲除小鼠的肠黏膜在发生组织学异常之前就出现了渗透性的增加^[23]。在无菌环境中的小鼠并无屏障损伤,提示肠黏膜屏障损害可能由于对肠微生物群不正常的免疫反应所引起。屏障完整性的损害促进了大量非选择性的肠腔抗原的涌入,持续刺激固有层的免疫细胞,引起炎症持续时间的延长,使之转化为慢性炎症。就这点而言,炎症缺氧和缺氧炎症是相互促进的^[3]。

2.2 缺氧与肠黏膜血管炎症 IBD患者的结肠中可广泛存在血管炎症,血管炎既是疾病的发病机制,又可作为疾病活动性的一项重要指标^[24]。肠壁中的血管炎分布范围常取决于肠黏膜炎症严重程度,炎症程度越高,分布越广泛^[25]。VEGF与受体在血管内皮细胞中相互作用,促进血管内

皮细胞分裂^[26]。VEGF基因是HIF-1 α 的重要靶基因,活化的HIF-1能直接启动VEGF的转录,上调VEGF受体Flt1的转录^[27],通过增强VEGF mRNA的稳定性来提高VEGF的表达^[28],并且研究发现缺氧激活Dll4-Notch-Hey2信号参与内皮前体细胞的分化^[29]。Wood等^[30]发现缺氧能够增加处于清醒状态下小鼠的白细胞迁移和血管渗透性。他们将异硫氰基荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)标记的白蛋白分别注射到处于常氧状态和10%氧气状态下的小鼠肠系膜血管中,4 h后发现在缺氧状态下的小鼠血管周围FITC标记的白蛋白依赖的荧光信号显著增加,提示了血管渗透性增加;并且发现呼吸常氧状态下小鼠肠系膜微血管内很少有黏着的或迁徙的白细胞,而处于10%氧气状态下的小鼠肠系膜微血管内白细胞迁徙则有明显的增加,白细胞迁徙的量和时间成正比。Steiner等^[31]发现在组织缺氧状态下,肥大细胞通过活性氧(reactive oxygen species, ROS)/氮氧化物(nitrogen oxides, NO)平衡系统等对调节微血管炎症反应发挥着重要作用。原始淋巴细胞易聚集于IBD患者的肠微血管内皮,而正常肠道微血管更易与记忆淋巴细胞结合^[32]。缺氧能够引起肠黏膜血管炎症,CD的症状可首先表现为血管炎,因此在临床上可将肠黏膜炎症与疾病进展程度相联系。

2.3 HIF-1及其他因子在IBD肠黏膜炎症发生时的作用 肠黏膜在发生炎症时会出现严重缺氧,虽然已有研究发现,相较于健康人群,处于炎症活动期的IBD患者的血清HIF-1表达量上升^[7],但是目前所有支持HIF-1在肠黏膜炎症中发挥作用的证据仅来源于动物实验。在动物IBD模型中,通过增加或抑制HIF-1在小鼠体内的表达,HIF-1能够改善由2,4,6-三硝基苯磺酸诱导的大肠炎的多项临床指标,如体重质量下降、结肠长度、肠黏膜渗透性。HIF-1在维持肠黏膜的完整性中发挥着固有保护作用,因此增加HIF-1的表达量,被视为一种新颖的治疗理念^[33]。HIF-1能够调节许多具有肠道屏障保护作用的基因,包括肠三叶因子(ITF)、CD73、多药耐药基因1(MDR1)^[34-36],其中ITF和CD73已在动物活体内被证明是机体缺氧时具有肠黏膜屏障保护作用因子,敲除MDR1基因的小鼠会自发发生肠道炎症^[37],ITF通过维持肠黏膜上皮细胞的完整性及恢复正常的肠黏膜渗透性来保护和修复肠黏膜,缺少肠三叶因子的小鼠对肠道炎症的易感性大大增加^[38]。转录核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF-

■ 相关报道

Hollander等首先发现肠道渗透性的改变、肠黏膜完整性的破坏可能是克罗恩病的易患因素,白介素10敲除小鼠的肠黏膜在发生组织学异常之前就出现渗透性的增加,而缺氧与肠道黏膜屏障损伤、肠道黏膜血管炎症有着密切的联系。

■创新盘点

本文就缺氧在IBD肠道黏膜炎症损伤过程中的病理生理变化进行分析,在缺氧条件下的氧调节因子、缺氧对IBD的病理生理影响及未来治疗新方向等3个方面逐一展开详细的介绍。

κ B)在固有免疫、应激反应和细胞生长中发挥着各自不同作用,同时也是炎症反应的重要调节者^[39],他能够在缺氧时被激活。HIF-1在缺氧反应中起着主导作用,如上文所述,在缺氧状态下,HIF-1 α 亚基的降解被抑制,HIF-1 α 和HIF-1 β 亚基形成有活性的HIF-1,转移到细胞核内调节多种基因的转录。虽然在缺氧时NF- κ B被激活的能力要远小于HIF-1,但是NF- κ B在缺氧炎症中能够产生促进肠黏膜细胞生存的信号^[40]。Figueroa等^[41]在研究红细胞生成素表达时最早提出HIF-1和NF- κ B的联系,并认为两者间存在着重要的相互作用机制。含氧量正常时,IL-1 β 能够通过包含有NF- κ B和环氧合酶2信号旁路,提高HIF-1 α 蛋白表达量。缺氧时,中性粒细胞的凋亡受到抑制,其中HIF-1 α 依赖的NF- κ B的信号途径发挥着重要作用^[42]。HIF除能够被缺氧激活之外,LPS、TNF- α 、肝细胞生长因子、活性氧物质和IL-18等许多非缺氧性因素也能激活HIF和NF- κ B,促进HIF-1 α mRNA表达^[43]。凝胶迁移滞后实验和染色体免疫共沉淀实验显示,NF- κ B的二个亚基p50和p65能够与HIF-1 α 启动子的197、188二个碱基对结合,构成位于转录起始上游的关键的调节点,并且如果HIF-1 α 启动子的197、188碱基对发生了突变,会直接破坏由NF- κ B介导的HIF-1 α 的产生^[44]。在IBD发生时,肠黏膜组织内HIF-1表达升高,参与肠黏膜屏障和炎症修复功能。

3 结论

在缺氧导致肠黏膜出现炎症的动物模型中,激活的HIF-1被证明是具有保护作用的,能够减轻临床症状,改善疾病结果,但相较于各项指标受到严格控制的实验动物,IBD患者有更多的不可预测性,如年龄、疾病进展程度等,因此关于HIF-1对机体的保护作用需要进一步探讨。虽然HIF-2和HIF-3的负性调节作用在实验中得到了初步证实,但目前国内外对HIF-2和HIF-3研究仍较少,关于他们的作用机制有待我们做进一步深入研究。低氧状态时由于脯氨酰羟化酶活性受到抑制,导致HIF-1大量积聚,但在常氧状态下,TCR信号和一些促炎因子(如IL-6)也会上调CD4⁺ T细胞中HIF-1表达^[45]。研究人员通过对HIF-1缺陷小鼠和正常小鼠对比发现,HIF-1既可通过激活ROR γ t转录及与ROR γ t和p300形成复合体上调Th17分化,又可通过结合Foxp3和促进蛋白酶对Treg的降解作用减少Treg表达,拥

有HIF-1 α 缺陷T细胞的小鼠对Th17依赖的自身免疫性脑炎具有抵抗力^[46]。因此,HIF-1与T细胞分化,缺氧对T细胞的影响,HIF-1、缺氧、T细胞三者之间的相互作用需要进一步的阐明。大量积聚的HIF会编码生成VEGF,他是肿瘤血管生成的重要刺激因子,内皮细胞在VEGF的刺激下,会增殖形成新的毛细血管网,即血管生成,有利于肿瘤的转移^[47]。而PHD作为HIF的重要调节分子,可借助HIF,影响肿瘤的发生发展。高压氧治疗(HBOT)常用于治疗潜水减压病和一些伤口的愈合等,而自1989年由Brady等^[48]报道了第一例用高压氧治疗的CD之后,陆陆续续有报道HBOT方法治疗IBD的病例,Rossignol^[49]对此进行了总结,发现HBOT治疗效果显著,引起的不良反应也非常小,因此用高压氧改善由缺氧导致的IBD,不失为一种有效的治疗手段,应得到我们的重视。总之,在IBD中提高机体对缺氧的反应,如何提高HIF的表达量,利用好PHD对HIF的影响作用,是一种新颖的治疗理念。

4 参考文献

- 1 Taylor CT, Colgan SP. Hypoxia and gastrointestinal disease. *J Mol Med (Berl)* 2007; 85: 1295-1300 [PMID: 18026919 DOI: 10.1007/s00109-007-0277-z]
- 2 Fong GH, Takeda K. Role and regulation of prolyl hydroxylase domain proteins. *Cell Death Differ* 2008; 15: 635-641 [PMID: 18259202 DOI: 10.1038/cdd.2008.10]
- 3 Baumgart DC, Carding SR. Inflammatory bowel disease: cause and immunobiology. *Lancet* 2007; 369: 1627-1640 [PMID: 17499605 DOI: 10.1016/S0140-6736(07)60750-8]
- 4 Hindryckx P, Laukens D, De Vos M. Boosting the hypoxia-induced adaptive response in inflammatory bowel disease: a novel concept of treatment. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 2019-2022 [PMID: 21830277 DOI: 10.1002/ibd.21589]
- 5 Semenza GL, Wang GL. A nuclear factor induced by hypoxia via de novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation. *Mol Cell Biol* 1992; 12: 5447-5454 [PMID: 1448077]
- 6 Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1 and cancer pathogenesis. *Lab Invest* 2008; 88: 591-597 [PMID: 18506846 DOI: 10.1002/iub.93]
- 7 Giatromanolaki A, Sivridis E, Maltezos E, Papazoglou D, Simopoulos C, Gatter KC, Harris AL, Koukourakis MI. Hypoxia inducible factor 1 α and 2 α overexpression in inflammatory bowel disease. *J Clin Pathol* 2003; 56: 209-213 [PMID: 12610101 DOI: 10.1136/jcp.56.3.209]
- 8 Tian H, McKnight SL, Russell DW. Endothelial PAS domain protein 1 (EPAS1), a transcription factor selectively expressed in endothelial cells. *Genes Dev* 1997; 11: 72-82 [PMID: 9000051 DOI: 10.1101/gad.11.1.72]
- 9 Gordan JD, Bertout JA, Hu CJ, Diehl JA, Simon MC. HIF-2 α promotes hypoxic cell proliferation by

- enhancing c-myc transcriptional activity. *Cancer Cell* 2007; 11: 335-347 [PMID: 17418410 DOI: 10.1016/j.ccr.2007.02.006]
- 10 Shah YM, Ito S, Morimura K, Chen C, Yim SH, Haase VH, Gonzalez FJ. Hypoxia-inducible factor augments experimental colitis through an MIF-dependent inflammatory signaling cascade. *Gastroenterology* 2008; 134: 2036-2048, 2036-2048 [PMID: 18439915 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.03.009]
 - 11 Gu YZ, Moran SM, Hogenesch JB, Wartman L, Bradfield CA. Molecular characterization and chromosomal localization of a third alpha-class hypoxia inducible factor subunit, HIF3alpha. *Gene Expr* 1998; 7: 205-213 [PMID: 9840812]
 - 12 Hara S, Hamada J, Kobayashi C, Kondo Y, Imura N. Expression and characterization of hypoxia-inducible factor (HIF)-3alpha in human kidney: suppression of HIF-mediated gene expression by HIF-3alpha. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 287: 808-813 [PMID: 11573933 DOI: 10.1006/bbrc.2001.5659]
 - 13 Taylor MS. Characterization and comparative analysis of the EGLN gene family. *Gene* 2001; 275: 125-132 [PMID: 11574160 DOI: 10.1016/S0378-1119(01)00633-3]
 - 14 Fox SB, Generali D, Berruti A, Brizzi MP, Campo L, Bonardi S, Bersiga A, Allevi G, Milani M, Aguggini S, Mele T, Dogliotti L, Bottini A, Harris AL. The prolyl hydroxylase enzymes are positively associated with hypoxia-inducible factor-1α and vascular endothelial growth factor in human breast cancer and alter in response to primary systemic treatment with epirubicin and tamoxifen. *Breast Cancer Res* 2011; 13: R16 [PMID: 21291529 DOI: 10.1186/bcr2825]
 - 15 Epstein AC, Gleadle JM, McNeill LA, Hewitson KS, O'Rourke J, Mole DR, Mukherji M, Metzen E, Wilson MI, Dhanda A, Tian YM, Masson N, Hamilton DL, Jaakkola P, Barstead R, Hodgkin J, Maxwell PH, Pugh CW, Schofield CJ, Ratcliffe PJ. C. elegans EGL-9 and mammalian homologs define a family of dioxygenases that regulate HIF by prolyl hydroxylation. *Cell* 2001; 107: 43-54 [PMID: 11595184 DOI: 10.1016/S0092-8674(01)00507-4]
 - 16 Brines M, Cerami A. The receptor that tames the innate immune response. *Mol Med* 2012; 18: 486-496 [PMID: 22183892 DOI: 10.2119/molmed.2011.00414]
 - 17 SaiRam M, Sharma SK, Dipti P, Pauline T, Kain AK, Mongia SS, Bansal A, Patra BD, Ilavazhagan G, Devendra K, Selvamurthy W. Effect of hypobaric hypoxia on immune function in albino rats. *Int J Biometeorol* 1998; 42: 55-59 [PMID: 9780847]
 - 18 McNamee EN, Korn Johnson D, Homann D, Clambey ET. Hypoxia and hypoxia-inducible factors as regulators of T cell development, differentiation, and function. *Immunol Res* 2013; 55: 58-70 [PMID: 22961658 DOI: 10.1007/s12026-012-8349-8]
 - 19 Colgan SP, Eltzschig HK. Adenosine and hypoxia-inducible factor signaling in intestinal injury and recovery. *Annu Rev Physiol* 2012; 74: 153-175 [PMID: 21942704 DOI: 10.1146/annurev-physiol-020911-153230]
 - 20 Poth JM, Brodsky K, Ehrentraut H, Grenz A, Eltzschig HK. Transcriptional control of adenosine signaling by hypoxia-inducible transcription factors during ischemic or inflammatory disease. *J Mol Med (Berl)* 2013; 91: 183-193 [PMID: 23263788 DOI: 10.1007/s00109-012-0988-7]
 - 21 Hollander D, Vadheim CM, Brettholz E, Petersen GM, Delahunty T, Rotter JI. Increased intestinal permeability in patients with Crohn's disease and their relatives. A possible etiologic factor. *Ann Intern Med* 1986; 105: 883-885 [PMID: 3777713]
 - 22 Buhner S, Buning C, Genschel J, Kling K, Herrmann D, Dignass A, Kuechler I, Krueger S, Schmidt HH, Lochs H. Genetic basis for increased intestinal permeability in families with Crohn's disease: role of CARD15 3020insC mutation? *Gut* 2006; 55: 342-347 [PMID: 16000642 DOI: 10.1136/gut.2005.065557]
 - 23 Madsen KL, Malfair D, Gray D, Doyle JS, Jewell LD, Fedorak RN. Interleukin-10 gene-deficient mice develop a primary intestinal permeability defect in response to enteric microflora. *Inflamm Bowel Dis* 1999; 5: 262-270 [PMID: 10579119 DOI: 10.1097/00054725-199911000-00004]
 - 24 Gonzalez EA, Bello CS, Dibner LW, Sánchez AC, Mayoral PV. Vascular abnormalities in inflammatory bowel disease in a group of children. *Patologia* 2010; 48: 93-99 Available from: URL: <http://www.nietoeditores.com.mx/download/patologia/ABRIL-JUNIO2010/Patologia%202.5%20VASCULAR.pdf>
 - 25 Kruschewski M, Buhr HJ. The vasculitis in IBD is associated with the degree of inflammation. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 733-738 [PMID: 19267197 DOI: 10.1007/s10620-009-0763-y]
 - 26 Ferrara N, Henzel WJ. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 161: 851-858 [PMID: 2735925 DOI: 10.1016/0006-291X(89)92678-8]
 - 27 Liang WC, Wu X, Peale FV, Lee CV, Meng YG, Gutierrez J, Fu L, Malik AK, Gerber HP, Ferrara N, Fuh G. Cross-species vascular endothelial growth factor (VEGF)-blocking antibodies completely inhibit the growth of human tumor xenografts and measure the contribution of stromal VEGF. *J Biol Chem* 2006; 281: 951-961 [PMID: 16278208 DOI: 10.1074/jbc.M508199200]
 - 28 Berra E, Pagès G, Pouyssegur J. MAP kinases and hypoxia in the control of VEGF expression. *Cancer Metastasis Rev* 2000; 19: 139-145 [PMID: 11191053 DOI: 10.1023/A:1026506011458]
 - 29 Diez H, Fischer A, Winkler A, Hu CJ, Hatzopoulos AK, Breier G, Gessler M. Hypoxia-mediated activation of Dll4-Notch-Hey2 signaling in endothelial progenitor cells and adoption of arterial cell fate. *Exp Cell Res* 2007; 313: 1-9 [PMID: 17045587 DOI: 10.1016/j.yexcr.2006.09.009]
 - 30 Wood JG, Johnson JS, Mattioli LF, Gonzalez NC. Systemic hypoxia increases leukocyte emigration and vascular permeability in conscious rats. *J Appl Physiol* 2000; 89: 1561-1568 [PMID: 11007596]
 - 31 Steiner DR, Gonzalez NC, Wood JG. Mast cells mediate the microvascular inflammatory response to systemic hypoxia. *J Appl Physiol* 2003; 94: 325-334 [PMID: 12391033]
 - 32 Salmi M, Granfors K, MacDermott R, Jalkanen S. Aberrant binding of lamina propria lymphocytes to vascular endothelium in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 1994; 106: 596-605 [PMID: 8119529]
 - 33 Karhausen J, Furuta GT, Tomaszewski JE, Johnson RS, Colgan SP, Haase VH. Epithelial hypoxia-inducible factor-1 is protective in murine experimental colitis. *J Clin Invest* 2004; 114: 1098-1106 [PMID: 15489957 DOI: 10.1172/JCI21086]

■应用要点

在IBD中提高机体对缺氧的反应, 如何提高HIF的表达量, 利用好PHD对HIF的影响作用, 是一种新颖的治疗理念。

■同行评价

本文论述角度较为新颖,具有一定指导意义.

- 34 Comerford KM, Wallace TJ, Karhausen J, Louis NA, Montalto MC, Colgan SP. Hypoxia-inducible factor-1-dependent regulation of the multidrug resistance (MDR1) gene. *Cancer Res* 2002; 62: 3387-3394 [PMID: 12067980]
- 35 Furuta GT, Turner JR, Taylor CT, Hershberg RM, Comerford K, Narravula S, Podolsky DK, Colgan SP. Hypoxia-inducible factor 1-dependent induction of intestinal trefoil factor protects barrier function during hypoxia. *J Exp Med* 2001; 193: 1027-1034 [PMID: 11342587 DOI: 10.1084/jem.193.9.1027]
- 36 Synnestvedt K, Furuta GT, Comerford KM, Louis N, Karhausen J, Eltzschig HK, Hansen KR, Thompson LF, Colgan SP. Ecto-5'-nucleotidase (CD73) regulation by hypoxia-inducible factor-1 mediates permeability changes in intestinal epithelia. *J Clin Invest* 2002; 110: 993-1002 [PMID: 12370277 DOI: 10.1172/JCI15337]
- 37 Panwala CM, Jones JC, Viney JL. A novel model of inflammatory bowel disease: mice deficient for the multiple drug resistance gene, *mdr1a*, spontaneously develop colitis. *J Immunol* 1998; 161: 5733-5744 [PMID: 9820555]
- 38 Xu LF, Teng X, Guo J, Sun M. Protective effect of intestinal trefoil factor on injury of intestinal epithelial tight junction induced by platelet activating factor. *Inflammation* 2012; 35: 308-315 [PMID: 21452036 DOI: 10.1007/s10753-011-9320-x]
- 39 Chen LF, Greene WC. Shaping the nuclear action of NF-kappaB. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004; 5: 392-401 [PMID: 15122352 DOI: 10.1038/nrm1368]
- 40 Chen LW, Egan L, Li ZW, Greten FR, Kagnoff MF, Karin M. The two faces of IKK and NF-kappaB inhibition: prevention of systemic inflammation but increased local injury following intestinal ischemia-reperfusion. *Nat Med* 2003; 9: 575-581 [PMID: 12692538]
- 41 Figueroa YG, Chan AK, Ibrahim R, Tang Y, Burow ME, Alam J, Scandurro AB, Beckman BS. NF-kappaB plays a key role in hypoxia-inducible factor-1-regulated erythropoietin gene expression. *Exp Hematol* 2002; 30: 1419-1427 [PMID: 12482504 DOI: 10.1038/nm849]
- 42 Walmsley SR, Print C, Farahi N, Peyssonnaud C, Johnson RS, Cramer T, Sobolewski A, Condliffe AM, Cowburn AS, Johnson N, Chilvers ER. Hypoxia-induced neutrophil survival is mediated by HIF-1alpha-dependent NF-kappaB activity. *J Exp Med* 2005; 201: 105-115 [PMID: 15630139 DOI: 10.1084/jem.20040624]
- 43 Belaiba RS, Bonello S, Zähringer C, Schmidt S, Hess J, Kietzmann T, Görlach A. Hypoxia up-regulates hypoxia-inducible factor-1alpha transcription by involving phosphatidylinositol 3-kinase and nuclear factor kappaB in pulmonary artery smooth muscle cells. *Mol Biol Cell* 2007; 18: 4691-4697 [PMID: 17898080 DOI: 10.1091/mbc.E07-04-0391]
- 44 Bonello S, Zähringer C, Belaiba RS, Djordjevic T, Hess J, Michiels C, Kietzmann T, Görlach A. Reactive oxygen species activate the HIF-1alpha promoter via a functional NFkappaB site. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27: 755-761 [PMID: 17272744 DOI: 10.1161/01.ATV.0000258979.92828.bc]
- 45 Pan F, Barbi J, Pardoll DM. Hypoxia-inducible factor 1: A link between metabolism and T cell differentiation and a potential therapeutic target. *Oncoimmunology* 2012; 1: 510-515 [PMID: 22754770]
- 46 Dang EV, Barbi J, Yang HY, Jinasena D, Yu H, Zheng Y, Bordman Z, Fu J, Kim Y, Yen HR, Luo W, Zeller K, Shimoda L, Topalian SL, Semenza GL, Dang CV, Pardoll DM, Pan F. Control of T(H)17/T(reg) balance by hypoxia-inducible factor 1. *Cell* 2011; 146: 772-784 [PMID: 21871655 DOI: 10.1016/j.cell.2011.07.033]
- 47 Benest AV, Augustin HG. Cancer: Blood vessels kept quiet. *Nature* 2009; 458: 41-42 [PMID: 19262662 DOI: 10.1038/458041a]
- 48 Brady CE, Cooley BJ, Davis JC. Healing of severe perineal and cutaneous Crohn's disease with hyperbaric oxygen. *Gastroenterology* 1989; 97: 756-760 [PMID: 2753335]
- 49 Rossignol DA. Hyperbaric oxygen treatment for inflammatory bowel disease: a systematic review and analysis. *Med Gas Res* 2012; 2: 6 [PMID: 22417628 DOI: 10.1186/2045-9912-2-6]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



肠神经胶质细胞对肠黏膜免疫细胞的影响及其在炎症性肠病发生发展中的作用

陈曦, 甘华田

陈曦, 甘华田, 四川大学华西医院消化内科 四川省成都市 610041

陈曦, 甘华田, 主要从事炎症性肠病及肠道肿瘤的相关研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81170369

作者贡献分布: 本课题由甘华田负责并设计; 陈曦执笔写作; 甘华田审阅。

通讯作者: 甘华田, 610041, 四川省成都市人民南路17号, 四川大学华西医院消化内科. ganhuatian@hotmail.com

收稿日期: 2012-12-10 修回日期: 2013-01-28

接受日期: 2013-02-21 在线出版日期: 2013-03-08

Effect of enteric glial cells on immune cells in inflammatory bowel disease

Xi Chen, Hua-Tian Gan

Xi Chen, Hua-Tian Gan, Department of Gastroenterology, Western China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81170369

Correspondence to: Hua-Tian Gan, Department of Gastroenterology, Western China Hospital, Sichuan University, 17 Renmin South Road, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. ganhuatian@hotmail.com

Received: 2012-12-10 Revised: 2013-01-28

Accepted: 2013-02-21 Published online: 2013-03-08

Abstract

Enteric glial cells (EGCs) are one of the most important components of the enteric nervous system (ENS), which have been demonstrated to play an important role in the neuro-immune-endocrine network and directly regulate enteric homeostasis in addition to supporting and nourishing neurons. By recognizing and binding to specific receptors, neurotransmitters secreted by EGCs, including neurotrophins, neuropeptides and cytokines, can exert their biochemical effect, and these neurotransmitters might be important mediators of the cross-talk between EGCs and enteric immune cells. However, the role of the interaction between EGCs and enteric immune cells in the pathogenesis of inflammatory bowel disease is still elusive. This review will summarize the current understanding of the effect of enteric glial cells on enteric immune cells in

inflammatory bowel disease.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Enteric glial cells; Enteric immune cells; Inflammatory bowel disease

Chen X, Gan HT. Effect of enteric glial cells on immune cells in inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(7): 597-601 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/597.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.597>

摘要

肠神经胶质细胞是肠道神经系统的重要组成部分, 近年来研究发现, 除了营养和支持肠神经元, 肠神经胶质细胞还与肠道神经-免疫-内分泌网络中的其他成员有着错综复杂的联系, 并直接参与整个肠道稳态的调节。其中, 肠神经胶质细胞分泌的包括神经营养因子、神经多肽、细胞因子等神经递质是肠神经胶质细胞与肠黏膜免疫细胞联系的重要桥梁, 他们与免疫细胞表面的受体特异性结合后引起免疫细胞相应的生化反应。另外, 肠神经胶质细胞可能还具有抗原提呈的作用, 协同抗原激活肠道免疫反应。目前, 肠神经胶质细胞与肠黏膜免疫细胞的关系在炎症性肠病发生发展中的作用尚不完全清楚, 本文就这一方面的研究进展进行简单阐述。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 肠神经胶质细胞; 肠黏膜免疫细胞; 炎症性肠病

陈曦, 甘华田. 肠神经胶质细胞对肠黏膜免疫细胞的影响及其在炎症性肠病发生发展中的作用. *世界华人消化杂志* 2013; 21(7): 597-601 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/597.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.597>

0 引言

肠神经胶质细胞(enteric glial cell, EGC)是肠道神经系统的主要成分之一, 其数量是肠神经元

■背景资料

肠道神经系统包括肠神经元和肠神经胶质细胞, 其在炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)发生发展中的作用常被忽视。近年来, 越来越多的研究发现肠神经胶质细胞在炎症性肠病的发病中起重要作用, 引起学界的关注和重视。

■同行评议者

陈敬贤, 教授, 安徽医科大学微生物学教研室

■ 研发前沿

从肠神经胶质细胞着手,以肠道神经-免疫-内分泌网络角度寻找IBD治疗新的药物。

的近4倍^[1],虽然EGC的已经被发现超过一个世纪,但长久以来对他的功能,尤其是在炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)中的作用了解甚少。近年来,人们逐渐认识到他对肠道神经系统乃至整个肠道稳态的重要性,除了营养和支持肠神经元、参与肠道内神经活动的整合和调节,也在肠道神经-内分泌-免疫网络中扮演重要角色,对肠道炎症反应起调节作用。

早期研究发现,小鼠空肠和回肠EGC的缺失会导致空-回肠炎症的发生^[2],提示EGC在生理条件下可能有抗炎、抑制免疫的作用,当时的学者将这一实验结果解释为EGC对肠神经元有支持、营养作用,其缺失导致神经元的明显减少,而已有不少证据证明肠神经元可以通过其广泛的神经轴突以及其分泌的各种神经递质调控着肠道免疫、内分泌系统的功能,并与炎症性肠病的发生发展有密切关系,即EGC通过肠神经元间接作用于肠道免疫系统并影响肠道炎症的发生发展。随着对EGC功能的了解逐渐深入,越来越多的研究证明EGC不仅通过肠神经元间接影响肠免疫系统,更可能通过自身分泌的神经营养因子、神经多肽及细胞因子等神经递质直接作用于肠黏膜免疫细胞。另外,EGC还有类似抗原递呈细胞的作用,而肠黏膜免疫细胞也通过分泌细胞因子等反作用于EGC,两者相互影响,共同维持肠道正常生理功能和稳态。

1 神经递质

1.1 EGC源性神经营养因子 EGC分泌的一系列神经营养因子包括神经生长因子(nerve growth factor, NGF)、胶质细胞源性神经营养因子(gli-al-cell-line-derived neurotrophic factor, GDNF)和神经营养因子-3(neurotrophin-3)等^[3,4]。尽管目前关于这些神经营养因子和肠黏膜免疫系统之间关系的直接研究相对较少,但根据其与其他部位免疫细胞之间的关系可以推测,EGC源性的神经营养因子很可能成为EGC与肠黏膜免疫细胞相互作用的重要桥梁。

1.1.1 NGF与NGF-R: NGF是最早发现的神经营养因子之一,早在1977年就有学者发现给新生大鼠注射NGF后会引引起组织肥大细胞的增生^[5],后有报道称NGF还具有增强有丝分裂原诱导的单核细胞增生、诱导外周血单核细胞粒细胞趋化因子和白介素-2(interleukin-2, IL-2)受体的表达等许多免疫相关的作用^[6,7]。进一步研究发现,NGF主要通过与特异性的受体NGF-R结合调节

免疫细胞的增殖活化及分泌等功能^[8-10]。

目前已证实表达NGF-R的免疫细胞包括外周血中的T、B淋巴细胞、淋巴结滤泡及脾脏的各种免疫细胞(具体未分类)以及肠黏膜中的各种免疫细胞(滤泡DC细胞为主)^[11]等。根据NGF在体内其他部位与免疫细胞相互作用的结果推测其可能通过激活肥大细胞加重肠道炎症反应,然而最新研究发现TNBS诱导的大鼠结肠炎症模型中NGF与IL-10表达明显增加^[12],在抗NGF治疗的大鼠结肠炎症模型炎症较对照组加重2-3倍^[13],提示NGF在炎症性肠病中不但没有加重炎症反应,反而可能具有保护作用,但具体保护作用的机制尚不清楚。最新研究发现,NGF可通过作用于NK细胞表达的NGF受体TrkA抑制NK细胞的脱颗粒,但并不影响NK细胞的增生和细胞因子产生,为研究NGF在炎症性肠病中的作用及具体机制提供了新的线索^[13]。

1.1.2 GDNF家族配体与GFR- α : GDNF与NTN、artemin、persephin一起,统称为GDNF家族配体,属于转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)超家族中的一员^[14](GDNF family ligands, GFLs),他们通过2个亚基构成的受体激活相应的信号转导通路,其中GFR- α 分为不同亚型,可特异性结合不同的GFLs, GFR- α 1特异性结合GDNF, GFR- α 2特异性结合NTN, GFR- α 3特异性结合artemin, GFR- α 4特异性结合persephin。另一个受体亚基RET为所有GFLs共享的受体亚基,本质是一种蛋白激酶,可被GFLs-GFR- α 复合物激活磷酸化并引起相应下游生化反应,他广泛的表达于B细胞、T细胞和单核细胞,是EGC分泌的神经营养因子与肠黏膜免疫细胞直接作用的重要桥梁^[15]。

1993年, GFLs的第一个成员GDNF在大鼠胶质细胞B49的培养上清中被纯化,后续研究发现GDNF在IBD患者肠道中高表达,证实肠神经胶质细胞亦可分泌GDNF。进一步研究表明GDNF可与肠道上皮细胞的GFR- α 2结合,通过激活MAPK和Akt通路等抑制肠道上皮细胞的凋亡。最近,我们的一项研究发现, GDNF还可以调节肠道上皮屏障功能,这一作用与其阻止肠上皮细胞的凋亡,增加ZO-1的表达有关,并且发现GDNF还可抑制肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、IL-1 β 等炎性细胞因子的分泌,改善实验性小鼠结肠炎的炎症,提示GDNF可能通过对肠道上皮细胞,这一先天性免疫细胞的影响对IBD的发生发展起重要作用^[16]。

根据RET在免疫细胞中的广泛表达, 我们有理由猜测除了肠上皮细胞, GDNF可能对其他肠黏膜免疫细胞也有作用, 然而有研究却发现与GDNF特异结合的GFR- α 1受体亚基在免疫细胞中很难检测出稳定的表达^[17]. 但这并不代表GDNF与肠黏膜免疫细胞毫不相干, 事实上, 新近有研究发现神经细胞黏附分子(neural cell adhesion molecule, NCAM)可作为不依赖于RET的GFLs受体激活信号转导通路, 已知NCAM不仅表达于神经细胞, 还表达于NK细胞及部分杀伤性T细胞^[16], 可能成为GDNF乃至其他GFLs与肠黏膜免疫系统相互作用的另一个重要途径.

与GFR- α 1在免疫细胞中的不稳定表达不同, GFR- α 2在包括T、B细胞及单核细胞中均有稳定的高水平表达^[18], 与GFR- α 2特异性结合的NTN虽是GFLs中的一员且其mRNA在肠道中高表达, 但并没有具体研究证明EGC可表达分泌NTN, 其是否为EGC与肠黏膜免疫细胞相互作用的介质有待进一步探索. 有关GFLs中的另两个成员artemin、persephin在免疫方面的研究则更加罕见.

1.2 神经多肽 早期研究发现, 正常小鼠肠黏膜分离的EGC可表达神经多肽(neurokinin A, NKA)和P物质(substance P, SP)^[19], 而neurokinin A和substance P均被证实可激活免疫细胞^[20]. NKA和SP的共同受体NK-1R、NK-2R、NK-3R属于G蛋白偶联的受体超家族, 分别与NKA和SP结合后引起下游生化反应, 其中NK-1R对SP亲和力最高, NK-2R则对NKA的亲和力更好, 他们广泛的表达于胃肠道神经系统、平滑肌细胞、免疫细胞、内皮细胞及上皮细胞等, 是肠神经免疫内分泌网络的重要信息递质^[21].

许多研究都已证实在克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的结肠组织中均发现SP的高表达和NK-1R、NK-2R的上调, 且其表达水平与疾病活动度成正相关^[20], 其中, NK-1的上调主要通过IL-1 β 、TNF- α 、IL-12、IL-18等炎症因子激活核因子(nuclear factor kappa B, NF- κ B)相关通路, 而抗炎因子IL-10则可下调NK-1R的表达^[22,23]. 另外, 炎症因子干扰素- γ (interferon- γ , INF- γ)可诱导NKA和NK-2R上调, 两者结合后可激活DC细胞介导的I型免疫反应^[24]. 通过上述结果提示SP与NKA可能在IBD的发生发展中起促进炎症的作用, 然而近期有研究发现, SP与NK-1在IBD恢复期中可能有促进黏膜愈合的保护性作用. 比如, 在NK-1表达缺陷的小鼠中结肠炎症的组织 and 临

床表现都较对照组加重^[25], 进一步研究证明这一现象与SP依赖的表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)转录激活导致的成纤维细胞增生有关^[25]. 由此可见, 神经多肽对IBD的调控并非简单的促进或抑制, 直接以NK-1R或NK-2R作为靶点治疗IBD还有很多需要考虑的问题, 另外, EGC分泌SP及NKA的具体机制及相关调控通路还不清楚, 且由于EGC并非SP和NKA的唯一来源, 他在EGC与肠道免疫细胞的相互作用中究竟起多大作用尚有待进一步研究.

1.3 细胞因子 许多研究都发现EGC在免疫刺激下可表达细胞因子IL-1 β 、IL-6和TNF- α ^[27,28]. 免疫细胞分泌的细胞因子亦可反作用于EGC. 其中, IL-1 β 可通过结合IL-1受体增强IL-6的表达并反馈性抑制自身IL-1 β 的分泌^[29]. IL-1 β 和TNF- α 可刺激EGC分泌ET-1, 而ET-1可通过作用于EGC表面的ETA/ETB受体导致EGC中GFAP表达增加^[28]. 另外, 在两项独立的研究中均发现IL-1 β 会抑制胶质细胞的增生^[30,31], 而抗炎因子IL-10在低浓度时抑制、高浓度时促进胶质细胞增生^[30], 提示不同的细胞因子可能对胶质细胞的增生起不同的调控作用. 细胞因子还可诱导S100B和GFAP的表达并刺激EGC分泌NO, 并通过S100B-RAGE的相互作用影响外周血和肠道黏膜免疫细胞的应答^[32-34].

虽然EGC与细胞因子之间相互作用的具体调控机制尚不完全明确, 但EGC的自分泌与旁分泌作用为深入研究EGC与免疫细胞的相互作用提供了新的线索.

2 抗原递呈

有研究证实CD中肠道神经系统的淋巴浸润与EGC表达MHC II相关^[35], 提示在CD中EGC可能通过MHC II直接介导肠道神经系统的免疫损伤. EGC具有在细胞因子的诱导下表达MHC II和ICAM-1的能力, 而这种能力可完全激活抗原特异性T细胞^[36,37], 这一点在体外组织培养实验中已经得到证明. 相关的体内实验亦表明EGC可激活肠黏膜CD8⁺细胞. 这些实验结果提示EGC与肠黏膜免疫细胞存在直接的相互作用, 但这种作用的具体调节机制以及对IBD的影响还需更多的实验来证明.

3 结论

越来越多的证据证明肠神经胶质细胞作为胶质源性神经营养因子、神经多肽和细胞因子的重

■ 相关报道

许多研究发现, 肠神经胶质细胞除了营养和支持肠神经元的作用外, 肠神经胶质细胞还通过分泌包括神经营养因子、神经多肽、细胞因子等神经递质与肠道神经-免疫-内分泌网络中的其他成员有着错综复杂的联系, 直接参与整个肠道稳态的调节, 在IBD的发生发展中起重要作用.

■创新盘点

本文详述了肠神经胶质细胞与肠黏膜免疫细胞的关系及其在IBD发生发展中的作用,为从肠道神经-免疫-内分泌网络角度阐明IBD的发病机制及寻找IBD治疗新药物提供了新的思路。

要来源,对肠道黏膜免疫细胞有错综复杂的影响,是肠道神经系统和肠黏膜免疫系统联系的重要桥梁。尽管研究已证实肠神经胶质细胞是维持肠道黏膜上皮屏障及神经系统正常结构和功能的必要因素,但目前为止,肠神经胶质细胞和肠黏膜免疫细胞之间的相互作用对肠道炎症究竟起促进还是抑制作用仍有待进一步探索。

4 参考文献

- Gabella G. Ultrastructure of the nerve plexuses of the mammalian intestine: the enteric glial cells. *Neuroscience* 1981; 6: 425-436 [PMID: 7219723 DOI: 10.1016/0306-4522(81)90135-4]
- Reinshagen M, Rohm H, Steinkamp M, Lieb K, Geerling I, Von Herbay A, Flämig G, Eysselein VE, Adler G. Protective role of neurotrophins in experimental inflammation of the rat gut. *Gastroenterology* 2000; 119: 368-376 [PMID: 10930372 DOI: 10.1053/gast.2000.9307]
- von Boyen GB, Steinkamp M, Reinshagen M, Schäfer KH, Adler G, Kirsch J. Nerve growth factor secretion in cultured enteric glia cells is modulated by proinflammatory cytokines. *J Neuroendocrinol* 2006; 18: 820-825 [PMID: 17026531 DOI: 10.1111/j.1365-2826.2006.01478.x]
- Aloe L, Levi-Montalcini R. Mast cells increase in tissues of neonatal rats injected with the nerve growth factor. *Brain Res* 1977; 133: 358-366 [PMID: 902100 DOI: 10.1016/0006-8993(77)90772-7]
- Thorpe LW, Perez-Polo JR. The influence of nerve growth factor on the in vitro proliferative response of rat spleen lymphocytes. *J Neurosci Res* 1987; 18: 134-139 [PMID: 3500321 DOI: 10.1002/jnr.490180120]
- Gee AP, Boyle MD, Munger KL, Lawman MJ, Young M. Nerve growth factor: stimulation of polymorphonuclear leukocyte chemotaxis in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1983; 80: 7215-7218 [PMID: 6580641 DOI: 10.1073/pnas.80.23.7215]
- Banerjee SP, Snyder SH, Cuatrecasas P, Greene LA. Binding of nerve growth factor receptor in sympathetic ganglia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1973; 70: 2519-2523 [PMID: 4517666 DOI: 10.1073/pnas.70.9.2519]
- Herrup K, Shooter EM. Properties of the beta nerve growth factor receptor of avian dorsal root ganglia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1973; 70: 3884-3888 [PMID: 4359493 DOI: 10.1073/pnas.70.12.3884]
- Ross AH, Grob P, Bothwell M, Elder DE, Ernst CS, Marano N, Ghrist BF, Slemp CC, Herlyn M, Atkinson B. Characterization of nerve growth factor receptor in neural crest tumors using monoclonal antibodies. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1984; 81: 6681-6685 [PMID: 6093111 DOI: 10.1073/pnas.81.21.6681]
- Pezzati P, Stanisiz AM, Marshall JS, Bienenstock J, Stead RH. Expression of nerve growth factor receptor immunoreactivity on follicular dendritic cells from human mucosa associated lymphoid tissues. *Immunology* 1992; 76: 485-490 [PMID: 1326478]
- Barada KA, Mourad FH, Sawah SI, Khoury C, Safieh-Garabedian B, Nassar CF, Tawil A, Jurjus A, Saadé NE. Up-regulation of nerve growth factor and interleukin-10 in inflamed and non-inflamed intestinal segments in rats with experimental colitis. *Cytokine* 2007; 37: 236-245 [PMID: 17517520 DOI: 10.1016/j.cyto.2007.04.005]
- Takahashi M. The GDNF/RET signaling pathway and human diseases. *Cytokine Growth Factor Rev* 2001; 12: 361-373 [PMID: 11544105 DOI: 10.1016/S1359-6101(01)00012-0]
- Ralainirina N, Brons NH, Ammerlaan W, Hoffmann C, Hentges F, Zimmer J. Mouse natural killer (NK) cells express the nerve growth factor receptor TrkA, which is dynamically regulated. *PLoS One* 2010; 5: e15053 [PMID: 21152021]
- Airaksinen MS, Saarma M. The GDNF family: signalling, biological functions and therapeutic value. *Nat Rev Neurosci* 2002; 3: 383-394 [PMID: 11988777 DOI: 10.1038/nrn812]
- Steinkamp M, Geerling I, Seufferlein T, von Boyen G, Egger B, Grossmann J, Ludwig L, Adler G, Reinshagen M. Glial-derived neurotrophic factor regulates apoptosis in colonic epithelial cells. *Gastroenterology* 2003; 124: 1748-1757 [PMID: 12806607 DOI: 10.1016/S0016-5085(03)00404-9]
- Vargas-Leal V, Bruno R, Derfuss T, Krumbholz M, Hohlfeld R, Meinl E. Expression and function of glial cell line-derived neurotrophic factor family ligands and their receptors on human immune cells. *J Immunol* 2005; 175: 2301-2308 [PMID: 16081799]
- Vergelli M, Le H, van Noort JM, Dhib-Jalbut S, McFarland H, Martin R. A novel population of CD4+CD56+ myelin-reactive T cells lyses target cells expressing CD56/neural cell adhesion molecule. *J Immunol* 1996; 157: 679-688 [PMID: 8752917]
- Bernstein CN, Vidrich A. Isolation, identification, and culture of normal mouse colonic glia. *Glia* 1994; 12: 108-116 [PMID: 7532620 DOI: 10.1002/glia.440120204]
- O'Connor TM, O'Connell J, O'Brien DI, Goode T, Bredin CP, Shanahan F. The role of substance P in inflammatory disease. *J Cell Physiol* 2004; 201: 167-180 [PMID: 15334652 DOI: 10.1002/jcp.20061]
- Gross KJ, Pothoulakis C. Role of neuropeptides in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 918-932 [PMID: 17343284 DOI: 10.1002/ibd.20129]
- Simeonidis S, Castagliuolo I, Pan A, Liu J, Wang CC, Mykoniatis A, Pasha A, Valenick L, Sougioultzis S, Zhao D, Pothoulakis C. Regulation of the NK-1 receptor gene expression in human macrophage cells via an NF-kappa B site on its promoter. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 2957-2962 [PMID: 12594338 DOI: 10.1073/pnas.0530112100]
- Weinstock JV, Blum A, Metwali A, Elliott D, Arsenescu R. IL-18 and IL-12 signal through the NF-kappa B pathway to induce NK-1R expression on T cells. *J Immunol* 2003; 170: 5003-5007 [PMID: 12734344]
- Kitamura H, Kobayashi M, Wakita D, Nishimura T. Neuropeptide signaling activates dendritic cell-mediated type 1 immune responses through neurokinin-2 receptor. *J Immunol* 2012; 188: 4200-4208 [PMID: 22474018 DOI: 10.4049/jimmunol.1102521]
- Bush TG, Savidge TC, Freeman TC, Cox HJ, Campbell EA, Mucke L, Johnson MH, Sofroniew MV. Fulminant jejuno-ileitis following ablation of enteric glia in adult transgenic mice. *Cell* 1998; 93: 189-201 [PMID: 9568712 DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81571-8]
- Rühl A, Trotter J, Stremmel W. Isolation of enteric glia and establishment of transformed enteroglia

- cell lines from the myenteric plexus of adult rat. *Neurogastroenterol Motil* 2001; 13: 95-106 [PMID: 11169131 DOI: 10.1046/j.1365-2982.2001.00246.x]
- 26 Rühl A, Franzke S, Collins SM, Stremmel W. Interleukin-6 expression and regulation in rat enteric glial cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 280: G1163-G1171 [PMID: 11352809]
- 27 Rühl A, Khan I, Blennerhassett MG, Collins SM. Enteroglia cells from rat myenteric plexus express interleukin-1 and interleukin-6 mRNA. *Gastroenterology* 1994; 106: A561
- 28 von Boyen GB, Degenkolb N, Hartmann C, Adler G, Steinkamp M. The endothelin axis influences enteric glia cell functions. *Med Sci Monit* 2010; 16: BR161-BR167 [PMID: 20512083]
- 29 Rühl A, Franzke S, Stremmel W. IL-1 β and IL-10 have dual effects on enteric glial cell proliferation. *Neurogastroenterol Motil* 2001; 13: 89-94 [PMID: 11169130 DOI: 10.1046/j.1365-2982.2001.00245.x]
- 30 von Boyen GB, Steinkamp M, Reinshagen M, Schäfer KH, Adler G, Kirsch J. Proinflammatory cytokines increase glial fibrillary acidic protein expression in enteric glia. *Gut* 2004; 53: 222-228 [PMID: 14724154 DOI: 10.1136/gut.2003.012625]
- 31 Castagliuolo I, Morteau O, Keates AC, Valenick L, Wang CC, Zacks J, Lu B, Gerard NP, Pothoulakis C. Protective effects of neurokinin-1 receptor during colitis in mice: role of the epidermal growth factor receptor. *Br J Pharmacol* 2002; 136: 271-279 [PMID: 12010776 DOI: 10.1038/sj.bjp.0704697]
- 32 Cirillo C, Sarnelli G. Enteric glia stimulates inflammation-induced responses in human intestine and interacts with immune cells via S100B protein. *Gastroenterology* 2009; 136: A271-A272
- 33 Cirillo C, Sarnelli G, Esposito G, Turco F, Steardo L, Cuomo R. S100B protein in the gut: the evidence for enteroglia-sustained intestinal inflammation. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 1261-1266 [PMID: 21455324 DOI: 10.3748/wjg.v17.i10.1261]
- 34 Cirillo C, Sarnelli G, Turco F, Mango A, Grosso M, Aprea G, Masone S, Cuomo R. Proinflammatory stimuli activates human-derived enteroglia cells and induces autocrine nitric oxide production. *Neurogastroenterol Motil* 2011; 23: e372-e382 [PMID: 21762414 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2011.01748.x]
- 35 Geboes K, Rutgeerts P, Ectors N, Mebis J, Penninckx F, Vantrappen G, Desmet VJ. Major histocompatibility class II expression on the small intestinal nervous system in Crohn's disease. *Gastroenterology* 1992; 103: 439-447 [PMID: 1378803]
- 36 Hollenbach E, Rühl A, Zöller M, Stremmel W. T cell activation by enteric glia-a novel pathway for the amplification of inflammatory responses in the enteric nervous system (ENS). *Gastroenterology* 2000; 118: A184
- 37 da Silveira AB, de Oliveira EC, Neto SG, Luquetti AO, Fujiwara RT, Oliveira RC, Brehmer A. Enteroglia cells act as antigen-presenting cells in chagasic megacolon. *Hum Pathol* 2011; 42: 522-532 [PMID: 21208643 DOI: 10.1016/j.humpath.2010.06.016]

■同行评价

本文组织合理, 逻辑清晰, 内容简练, 具有一定指导意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊。中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高。精品科技期刊的遴选周期为三年。(《世界华人消化杂志》编辑部 2012-01-01)

miRNA在炎症性肠病发病过程中的作用

邬瑞金, 刘嫦钦, 刘占举

■背景资料

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)包括溃疡性结肠炎和克罗恩病,是发生在胃肠道的慢性炎症性疾病。近年来,我国IBD患病人数呈显著上升趋势。

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

邬瑞金, 在读硕士, 主要从事炎症性肠病发病机制的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81270470, No. 81061120521

作者贡献分布: 本文综述由邬瑞金与刘嫦钦完成; 刘占举审核。

通讯作者: 刘占举, 教授, 主任医师, 200072, 上海市延长中路301号, 同济大学附属第十人民医院消化内科。

zhanjuli@yahoo.com

电话: 021-66301164 传真: 021-66303983

收稿日期: 2012-12-10 修回日期: 2013-01-28

接受日期: 2013-02-21 在线出版日期: 2013-03-08

Role of miRNAs in pathogenesis of inflammatory bowel disease

Rui-Jin Wu, Chang-Qin Liu, Zhan-Ju Liu

Rui-Jin Wu, Chang-Qin Liu, Zhan-Ju Liu, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81270470, No. 81061120521

Correspondence to: Zhan-Ju Liu, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, 301 Yanchang Middle Road, Shanghai 200072, China. zhanjuli@yahoo.com

Received: 2012-12-10 Revised: 2013-01-28

Accepted: 2013-02-21 Published online: 2013-03-08

Abstract

MicroRNA (miRNA) is a kind of endogenous small-molecule RNAs that can direct mRNA degradation and translational inhibition post-transcriptionally by binding to complementary sequences in the 3'untranslated regions of specific target mRNAs. The pathogenesis of inflammatory bowel disease (IBD) is associated with immune response, inflammatory injury, and genetic factors. MiRNAs play multiple important roles in the intestinal epithelium, influencing a number of intestinal disease processes. This review summarizes the regulatory role of miRNAs in intestinal epithelial differentiation, architecture, membrane permeability, immunological function, and more importantly, intestinal mucosal barrier dysfunction in IBD. It has been found that many miRNAs in the serum and intestinal mucosa of IBD patients show abnormal expression. In active UC miR-192, miR-375 and miR-422b were significantly down-

regulated, and miR-16, miR-21 and let-7 up-regulated compared with normal intestinal mucosa. In active CD miR-19b and miR-629 were significantly down-regulated, and miR-23b, miR-106 and miR-191 were up-regulated. MicroRNAs provide molecular targets for prevention, early diagnosis and treatment of IBD.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: MicroRNA; Inflammatory bowel disease; Intestinal mucosal barrier

Wu RJ, Liu CQ, Liu ZJ. Role of miRNAs in pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(7): 602-606 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/602.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.602>

摘要

微小RNA(microRNA, miR)是一类非编码的内源性小分子RNA,能在转录后水平负性调节靶mRNA表达。炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的发病机制与免疫异常、炎症损伤、遗传等因素密切相关。miRNA在肠道的差异性表达是调控肠黏膜屏障功能的重要环节,影响肠道上皮细胞的增殖、分化以及肠道黏膜的免疫功能,与IBD的发生发展密切相关。目前已发现多种miRNA在IBD患者在血清和肠黏膜组织异常表达,活动性溃疡性结肠炎较正常肠黏膜表达明显下调如miR-192、miR-375、miR-422b,而miR-16、miR-21、let-7等表达明显上调;活动性克罗恩病较正常肠黏膜表达明显下调如miR-19b、miR-629, miR-23b、miR-106和miR-191的表达明显上调。这为IBD的早期诊断、预防和治疗提供了分子靶标。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: MicroRNA; 炎症性肠病; 肠黏膜屏障

邬瑞金, 刘嫦钦, 刘占举. miRNA在炎症性肠病发病过程中的作用. *世界华人消化杂志* 2013; 21(7): 602-606 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/602.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.602>

■同行评议者

李淑德, 教授, 中国人民解放军第二军医大学长海医院消化内科

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD), 是发生在胃肠道慢性炎症性疾病。近年来, 我国IBD患病人数呈显著上升趋势。目前IBD病因和发病机制仍不清楚, 由于其病程长、病情容易反复等特点, 严重影响了患者生活质量, 造成了社会医疗经济负担。目前大多学者认为肠壁黏膜免疫调节异常、持续肠道感染、肠壁黏膜屏障缺损、遗传和环境等因素共同参与该疾病的发生发展^[1-5]。

微小RNA(microRNA, miRNA)是近几年来分子生物学和遗传学领域的研究热点。miRNA是一类由内源基因编码的长度约为18-24个核苷酸的非蛋白编码单链小分子RNA, 主要参与基因转录后水平的调控, 通过调节基因表达在细胞增殖、凋亡、生长发育、细胞分化、代谢等过程中发挥重要作用^[6]。目前越来越多的证据表明: miRNA在肠上皮的差异性表达对肠道屏障功能有显著影响, 与IBD的发生发展密切相关。

1 miRNA对肠黏膜屏障的调控作用

1.1 miRNA在肠黏膜中的分布 研究表明在不同组织中miRNA的表达量不同, 在肠黏膜中miRNA含量丰富。Gao等^[7]用染色体免疫共沉淀技术(chromatin immunoprecipitation, ChIP)分析小鼠miRNA组织分布情况, 发现162种miRNA在空肠、肝脏和胰腺组织中差异性表达, 其中mmu-let-7、mmu-miR-192和mmu-miR-215在空肠表达明显。Lindsay等^[8]通过高通量测序-交联免疫沉淀技术(high throughput sequencing by cross-linking and immunoprecipitation, HITS-CLIP)分析小鼠肠黏膜miRNA表达情况, 发现在已知的453种miRNA家族中, 大肠和小肠肠黏膜中同时高表达miR-192; 大肠和小肠肠黏膜中高表达的15种miRNA有53%的重叠。McKenna等^[9]同样分析小鼠肠黏膜miRNA表达情况, 发现空肠和大肠分别存在545和582种成熟的miRNA, 分别高表达miR-31、miR-196b; miR-21、let-7b等与肠道疾病密切相关的miRNA在肠上皮表达明显。Coutinho等^[10]对牛胚胎组织进行测序, 发现胎牛小肠黏膜组织中miRNA的种类与其他胚胎组织比较存在差异(其中bta-miR-145只在小肠中表达), 影响肠道稳态和肠道免疫应答, 以上结果提示许多肠道功能基因的表达之所以具有解剖区域的特异性, 可能与miRNA在肠道上皮的差异

性表达有关。

1.2 miRNA对肠黏膜屏障的调控 肠黏膜的屏障功能是指正常肠道具有完善的功能隔离带, 防止肠腔内致病性抗原(细菌、有毒物质、食物抗原物质、致癌物质等)侵入, 使机体内环境保持相对稳定, 维持机体的正常生命活动。肠单层上皮细胞与黏液层、肠黏膜相关淋巴组织、益生菌等共同抵御肠道致病菌。肠上皮细胞(intestinal epithelial cell, IEC)由肠腺隐窝区的干细胞分化而来, 有高效的自我更新能力, IEC之间的紧密连接(tight junction, TJ)是肠黏膜屏障的重要组成部分。McKenna等^[9]研究发现Dicer1基因敲除小鼠小肠的低位隐窝区干细胞和结肠全层IEC发生凋亡, 提示miRNA对肠隐窝干细胞的增殖具有重要调控作用。TJ主要由跨膜蛋白(occludin蛋白和claudin蛋白)和细胞质蛋白组成。Ye等^[11]研究发现过表达miR-122a可以降解occludin蛋白相关的mRNA, 进而改变肠上皮细胞间的通透性。McKenna等^[9]用激光共聚焦显微镜和细胞通透性检测方法发现, Dicer1敲除小鼠IEC间的TJ跨膜蛋白claudin-7和claudin-4排列杂乱、染色信号减弱, 肠上皮通透性明显增加, 提示miRNA对肠屏障功能具有重要影响。

肠上皮细胞能感受肠腔抗原刺激并将信号传递给固有免疫系统和适应性免疫系统, 从而启动免疫应答, 形成肠道免疫自稳状态。这一机制的维持涉及一系列复杂的免疫调控网络, 而miRNA在其中地位正逐渐被重视。O'Connell等^[12]总结了免疫系统的miRNA表达特异性, 如miR-10、miR-126、miR-221、miR-222的靶基因定位在骨髓造血干细胞发育的各个环节; miR-9、miR-21、miR-34、miR-146、miR-155、miR-196b、miR-424等对各种固有免疫细胞的发育和功能具有重要调控作用; miR-181a和miR-155、miR-326分别调控T细胞的发育和功能; miR-150和miR-155则分别调控B细胞的发育和功能。Goto等^[13]发现肠道上皮细胞表达的miR-375既能调节杯状细胞分化, 又能促进2型辅助T淋巴细胞(T helper type 2 cell, Th2 cell)对寄生虫感染的适应性免疫应答, 从而维持黏膜的屏障功能。Coutinho等^[10]发现miR-145、miR-224、miR-182、miR-350、miR-361和miR-486可能诱导杯状细胞分化的主要转录因子KLF-4(Krueppel-like factor 4)的3'端非翻译区相互作用, 使Dicer1敲除小鼠肠道杯状细胞表达减少, 黏蛋白分泌减弱, 诱发微生物黏附, 损伤

■研究前沿

目前IBD病因和发病机制仍不清楚, 由于其病程长、病情容易反复等特点, 严重影响患者的生活质量, 造成社会医疗经济负担。

■相关报道

目前大多学者认为肠壁黏膜免疫调节异常、持续肠道感染、肠壁黏膜屏障缺损、遗传和环境等因素共同参与该疾病的发生发展。

■创新盘点

杯状细胞缺失作为肠道炎症信号,是IBD发生的组织学标志之一。MiRNA能调节杯状细胞成熟,继而影响IBD的发生发展。肠屏障通透性的改变是CD患病的首要因素,是UC发病的第2位因素。

IEC,进而改变肠道通透性。杯状细胞缺失作为肠道炎症信号,是IBD发生的组织学标志之一。miRNA能调节杯状细胞成熟,继而影响IBD的发生发展。

相关研究表明肠屏障通透性的改变是CD患病的首要因素^[14],是UC发病的第2位因素^[15]。Söderholm等^[16]发现,在CD患者中,无炎症的回肠上皮细胞TJ对于癸酸钠的通透性明显增高。电镜下观察,CD、UC患者中TJ数目减少、TJ线不连续。在健康的个体中,CD4⁺T细胞被Peyer集合淋巴小结内的消化系抗原激活,迁移至黏膜固有层(lamina propria, LP)内凋亡。在病理条件下,TJ通透性增加使抗原能渗透至LP内,触发T细胞的激活致炎因子,如干扰素- γ (interferon- γ , INF- γ)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor alpha, TNF- α),然后进一步增加IEC的通透性,形成慢性炎症的恶性循环^[17-19]。

2 miRNA在IBD中的表达

MiRNAs在细胞内源性和外源性免疫调节系统中起重要作用,且参与炎症调节过程,如在巨噬细胞内miR-155可被炎症细胞因子和Toll样受体诱导,影响抗原递呈和TNF信号传导;miR-146a受LPS诱导而表达增加,与miR-146b一起下调TLR信号通路中的重要靶基因TNF-6和白介素-1(interleukin-1, IL-1)的表达,在炎症反应过程中起到负反馈作用^[20-22]。同样,miR-9可通过TLR4激活核因子(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)途径,参与NF- κ B的反馈抑制作用^[23]。Wu等^[24,25]通过miRNAs芯片和qRT-PCR(quantitative reverse-transcription polymerase chain reaction, qRT-PCR)分析IBD和正常对照的肠黏膜组织中miRNA的表达情况,与正常人结肠黏膜进行比较发现,miR-192、miR-375、miR-422b在活动性UC患者结肠黏膜中表达明显下调,miR-16、miR-21、miR-23a、miR-24、miR-29a、miR-126、miR-195和let-7表达明显上调;miR-19b, miR-629在活动性CD患者结肠黏膜中表达明显下调,miR-23b、miR-106和miR-191表达明显上调。该研究小组还研究CD、UC患者外周血中的miRNA发现,miR-28-5p、miR-151-5p、miR-199a-5p、miR-plus-E1271、miR-362-3p等在活动性UC患者外周血中表达上调,miR-103-2、miR-362-3p、miR-532-3p在活动性和非活动性UC中均上调,而miR-505均下调;而在活动性CD患者中miR-199a-5p、miR-362-

3p、miR-340、miR-532-3p、miR-plus-E1271显著上调,miR-149和miR-1056显著下调。该研究认为可以通过外周血中miRNA的表达水平差异区别活动性CD、活动期UC、非活动期CD、非活动期UC及健康对照者,表明相关miRNA可作为潜在的UC和CD临床诊断指标。该研究结果与肠黏膜组织中的结果并不完全相同,提示两类标本中异常表达的miRNA亚型也不同,检测外周血miRNA并不一定能准确反应病变组织miRNA变化,其可能反映的主要是循环白细胞中的变化情况。

IBD患者罹患结直肠癌风险增加,在肠黏膜从慢性炎症发展到发育不良进程中,肠黏膜异常表达miRNA起着重要作用。MiR-21是目前唯一在几乎所有肿瘤中表达上调的miRNA,其参与了肿瘤细胞的增殖、迁移、浸润以及肿瘤的血管生成等多个环节。而miR-21在活动期UC患者肠黏膜中表达升高,Yamamichi等^[26]采用原位杂交技术分析miR-21在结直肠癌发展的不同期别中的表达,结果发现miR-21的表达从癌前病变到晚期癌逐渐增加。Olaru等^[27]采用miRNA芯片技术分析正常肠黏膜组织、IBD及IBD相关性肿瘤肠黏膜组织中miR-31表达变化,结果发现miR-31表达水平呈阶梯状上升,并且他们鉴定出了miR-31直接靶基因-缺氧诱导因子抑制因子1(factor inhibiting hypoxia inducible factor 1, FIHIF-1),miR-31通过与其3'UTR区的结合抑制其蛋白水平的表达,其生成可被缺氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF)的活化所调控,FIHIF-1可催化HIF转录后修饰,FIHIF-1表达下调则可限制HIF的活化,因此miR-31可能通过下调FIHIF-1表达影响IBD向IBD相关性肿瘤的发展,这为我们认识IBD的发病机制提供了新方向。

3 结论

目前,miRNA的功能尚不十分明确,但其作为基因表达的调控者,在肿瘤及炎症过程中的作用越来越受到人们的重视。随着miRNA研究的深入和技术的不断进步,为进一步阐明IBD的发生发展提供了方向,并可能为IBD的靶向治疗提供新的治疗思路。

4 参考文献

- 1 Gismera CS, Aladrén BS. Inflammatory bowel diseases: a disease (s) of modern times? Is incidence still increasing? *World J Gastroenterol* 2008; 14: 5491-5498 [PMID: 18810764]
- 2 Liu Z, Yadav PK, Xu X, Su J, Chen C, Tang M, Lin

- H, Yu J, Qian J, Yang PC, Wang X. The increased expression of IL-23 in inflammatory bowel disease promotes intraepithelial and lamina propria lymphocyte inflammatory responses and cytotoxicity. *J Leukoc Biol* 2011; 89: 597-606 [PMID: 21227898 DOI: 10.1189/jlb.0810456]
- 3 Fiocchi C. Genes and 'in-vironment': how will our concepts on the pathophysiology of inflammatory bowel disease develop in the future? *Dig Dis* 2012; 30 Suppl 3: 2-11 [PMID: 23295686 DOI: 10.1159/000342585.]
- 4 Mueller C. Danger-associated molecular patterns and inflammatory bowel disease: is there a connection? *Dig Dis* 2012; 30 Suppl 3: 40-46 [PMID: 23295691 DOI: 10.1159/000342600.]
- 5 Bernstein CN. Why and where to look in the environment with regard to the etiology of inflammatory bowel disease. *Dig Dis* 2012; 30 Suppl 3: 28-32 [PMID: 23295689 DOI: 10.1159/000342593.]
- 6 Guarnieri DJ, DiLeone RJ. MicroRNAs: a new class of gene regulators. *Ann Med* 2008; 40: 197-208 [PMID: 18382885 DOI: 10.1080/07853890701771823]
- 7 Gao Y, Schug J, McKenna LB, Le Lay J, Kaestner KH, Greenbaum LE. Tissue-specific regulation of mouse microRNA genes in endoderm-derived tissues. *Nucleic Acids Res* 2011; 39: 454-463 [PMID: 20843784 DOI: 10.1093/nar/gkq782]
- 8 Lindsay B, Bradley PM. Care delivery and self-management strategies for children with epilepsy. *Cochrane Database Syst Rev* 2010; (12): CD006245 [PMID: 21154365 DOI: 10.1002/14651858.CD006245.pub2]
- 9 McKenna LB, Schug J, Vourekas A, McKenna JB, Bramswig NC, Friedman JR, Kaestner KH. MicroRNAs control intestinal epithelial differentiation, architecture, and barrier function. *Gastroenterology* 2010; 139: 1654-1664, 1664. e1 [PMID: 20659473 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.07.040]
- 10 Coutinho LL, Matukumalli LK, Sonstegard TS, Van Tassell CP, Gasbarre LC, Capuco AV, Smith TP. Discovery and profiling of bovine microRNAs from immune-related and embryonic tissues. *Physiol Genomics* 2007; 29: 35-43 [PMID: 17105755 DOI: 10.1152/physiolgenomics.00081.2006]
- 11 Ye D, Guo S, Al-Sadi R, Ma TY. MicroRNA regulation of intestinal epithelial tight junction permeability. *Gastroenterology* 2011; 141: 1323-1333 [PMID: 21763238 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.07.005]
- 12 O'Connell RM, Rao DS, Chaudhuri AA, Baltimore D. Physiological and pathological roles for microRNAs in the immune system. *Nat Rev Immunol* 2010; 10: 111-122 [PMID: 20098459 DOI: 10.1038/nri2708]
- 13 Goto Y, Kiyono H. Epithelial cell microRNAs in gut immunity. *Nat Immunol* 2011; 12: 195-197 [PMID: 21321589 DOI: 10.1038/ni0311-195]
- 14 May GR, Sutherland LR, Meddings JB. Is small intestinal permeability really increased in relatives of patients with Crohn's disease? *Gastroenterology* 1993; 104: 1627-1632 [PMID: 8500719]
- 15 Schmitz H, Barmeyer C, Fromm M, Runkel N, Foss HD, Bentzel CJ, Riecken EO, Schulzke JD. Altered tight junction structure contributes to the impaired epithelial barrier function in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 1999; 116: 301-309 [PMID: 9922310]
- 16 Söderholm JD, Olaison G, Peterson KH, Franzén LE, Lindmark T, Wirén M, Tagesson C, Sjödalh R. Augmented increase in tight junction permeability by luminal stimuli in the non-inflamed ileum of Crohn's disease. *Gut* 2002; 50: 307-313 [PMID: 11839706]
- 17 Ma TY, Boivin MA, Ye D, Pedram A, Said HM. Mechanism of TNF- α modulation of Caco-2 intestinal epithelial tight junction barrier: role of myosin light-chain kinase protein expression. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 288: G422-G430 [PMID: 15701621 DOI: 10.1152/ajpgi.00412.2004]
- 18 Macdonald TT, Monteleone G. Immunity, inflammation, and allergy in the gut. *Science* 2005; 307: 1920-1925 [PMID: 15790845 DOI: 10.1126/science.1106442]
- 19 Wang F, Graham WV, Wang Y, Witkowski ED, Schwarz BT, Turner JR. Interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha synergize to induce intestinal epithelial barrier dysfunction by up-regulating myosin light chain kinase expression. *Am J Pathol* 2005; 166: 409-419 [PMID: 15681825]
- 20 O'Connell RM, Taganov KD, Boldin MP, Cheng G, Baltimore D. MicroRNA-155 is induced during the macrophage inflammatory response. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 1604-1609 [PMID: 17242365 DOI: 10.1073/pnas.0610731104]
- 21 Rodriguez A, Vigorito E, Clare S, Warren MV, Couttet P, Soond DR, van Dongen S, Grocock RJ, Das PP, Miska EA, Vetrie D, Okkenhaug K, Enright AJ, Dougan G, Turner M, Bradley A. Requirement of bic/microRNA-155 for normal immune function. *Science* 2007; 316: 608-611 [PMID: 17463290 DOI: 10.1126/science.1139253]
- 22 Taganov KD, Boldin MP, Chang KJ, Baltimore D. NF-kappaB-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 12481-12486 [PMID: 16885212 DOI: 10.1073/pnas.0605298103]
- 23 Bazzoni F, Rossato M, Fabbri M, Gaudiosi D, Mirolo M, Mori L, Tamassia N, Mantovani A, Cassatella MA, Locati M. Induction and regulatory function of miR-9 in human monocytes and neutrophils exposed to proinflammatory signals. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 5282-5287 [PMID: 19289835 DOI: 10.1073/pnas.0810909106]
- 24 Wu F, Zhang S, Dassopoulos T, Harris ML, Bayless TM, Meltzer SJ, Brant SR, Kwon JH. Identification of microRNAs associated with ileal and colonic Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 1729-1738 [PMID: 20848482 DOI: 10.1002/ibd.21267]
- 25 Wu F, Zikusoka M, Trindade A, Dassopoulos T, Harris ML, Bayless TM, Brant SR, Chakravarti S, Kwon JH. MicroRNAs are differentially expressed in ulcerative colitis and alter expression of macrophage inflammatory peptide-2 alpha. *Gastroenterology* 2008; 135: 1624-1635. e24 [PMID: 18835392 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.07.068]
- 26 Yamamichi N, Shimomura R, Inada K, Sakurai K, Haraguchi T, Ozaki Y, Fujita S, Mizutani T, Furukawa C, Fujishiro M, Ichinose M, Shioyama K, Tsutsumi Y, Omata M, Iba H. Locked nucleic acid in situ hybridization analysis of miR-21 expression during colorectal cancer development. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 4009-4016 [PMID: 19509156 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-3257]
- 27 Olaru AV, Selaru FM, Mori Y, Vazquez C, David S, Paun B, Cheng Y, Jin Z, Yang J, Agarwal R, Abra-

■应用要点

目前,miRNA的功能尚不十分明确,但其作为基因表达的调控者,在肿瘤及炎症过程中的作用越来越受到人们的重视。随着miRNA研究的深入和技术的不断进步,为进一步阐明IBD的发生发展提供了方向,并可能为IBD的靶向治疗提供新的治疗思路。

■同行评价

本文对miRNA在IBD发病过程中的作用加以综述,特别是从miRNA对肠黏膜屏障功能影响这一角度进行描述和分析,具有重要的临床指导意义.

ham JM, Dassopoulos T, Harris M, Bayless TM, Kwon J, Harpaz N, Livak F, Meltzer SJ. Dynamic changes in the expression of MicroRNA-31 during

inflammatory bowel disease-associated neoplastic transformation. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 221-231 [PMID: 20848542 DOI: 10.1002/ibd.21359]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 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, T_{1/2}不能写成tl/2或T_{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}, *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.

溃疡性结肠炎动物模型的研究进展

罗凤燕, 白爱平

罗凤燕, 白爱平, 南昌大学第一附属医院消化内科 江西省南昌市 330006

罗凤燕, 主要从事炎症性肠病的相关研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81270472, No. 81070310

作者贡献分布: 本文综述由罗凤燕与白爱平完成; 白爱平审校。

通讯作者: 白爱平, 副教授, 330006, 江西省南昌市东湖区永外正街17号, 南昌大学第一附属医院消化内科, baiap@163.com

收稿日期: 2012-12-26 修回日期: 2013-01-30

接受日期: 2013-02-21 在线出版日期: 2013-03-08

Animal models of ulcerative colitis

Feng-Yan Luo, Ai-Ping Bai

Feng-Yan Luo, Ai-Ping Bai, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81270472 and 81070310

Correspondence to: Ai-Ping Bai, Associate Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, 17 Yongwaizhen Street, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. baiap@163.com

Received: 2012-12-26 Revised: 2013-01-30

Accepted: 2013-02-21 Published online: 2013-03-08

Abstract

Ulcerative colitis (UC) is a chronic, recurrent inflammatory disease of the colon, characterized clinically by bloody diarrhea and abdominal pain. UC has been a clinical challenge due to its increasing incidence and prevalence, unknown etiology and pathogenesis, and the lack of effective treatment. Animal models have been widely used to investigate the pathogenesis of various diseases. So far, many animal models of UC have been developed, which play a crucial role in studying the pathogenesis of UC and finding new potential treatments. This article reviews the recent progress in the development of animal models of UC.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Ulcerative colitis; Animal models; Pathogenesis

Luo FY, Bai AP. Animal models of ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(7): 607-613 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/607.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.607>

[org/10.11569/wcjd.v21.i7.607](http://www.wjgnet.com/10.11569/wcjd.v21.i7.607)

摘要

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种主要局限于大肠黏膜和黏膜下层的慢性非特异性炎症性疾病, 呈反复发作, 临床表现主要为腹痛、腹泻、黏液脓血便。有资料统计, 该病发病率和患病率在我国有明显增加趋势。但其确切病因和发病机制至今仍未阐明, 治疗上也缺乏特异有效的药物。建立理想的, 模拟人类溃疡性结肠炎的动物模型是非常重要的, 因其对于UC病因、发病机制和新的治疗药物探讨有着重要意义。本文主要对近年来溃疡性结肠炎的几种动物模型进行述评。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 溃疡性结肠炎; 动物模型; 发病机制

罗凤燕, 白爱平. 溃疡性结肠炎动物模型的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(7): 607-613 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/607.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.607>

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种病因未明的直肠和结肠炎症, 呈反复发作, 主要局限于大肠黏膜和黏膜下层, 属于炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)一种。有报告指出该病发病率和患病率在我国呈逐年上升趋势^[1]。目前认为UC可能机制是在肠腔内抗原诱导下遗传易感患者免疫反应过度激活引起的^[2]。UC患者肠道菌群失调, 肠腔内致病菌和条件致病菌增多, 且肠黏膜通透性增加, 导致肠腔内细菌及/或细菌产物向黏膜固有层移位, 引起免疫细胞的激活及炎症反应^[3]。UC临床表现主要为腹痛、腹泻、黏液脓血便等, 内镜下结肠呈糜烂、溃疡等弥漫性炎症, 组织病理学表现为黏膜或黏膜下弥漫性炎症反应、杯状细胞减少、隐窝结构破坏^[4,5]。目前认为UC为复合性Th细胞反应, 以Th2为主^[6]。迄今UC确切病因及发病机

■背景资料

溃疡性结肠炎(UC)是遗传易感者在一定环境因素及肠腔内抗原诱导下所发生的慢性非特异性免疫反应。近年来发病率逐渐升高, 已成为临床研究重点之一。由于人体实验的限制, 建立理想的UC动物模型对于其病因、发病机制、诊断与治疗的研究具有重要意义。

■同行评议者

陆伦根, 教授, 上海交通大学附属第一人民医院消化科

■ 研发前沿

对于UC动物模型研究迄今已有一百余年,但仍没有一种模型能够很好地模拟其发病机制,UC基因修饰模型仍需进一步研究。

制仍未明了。由于UC人体研究的局限,因此建立理想动物模型对于该病病因、发病机制及新的治疗方案的研究是非常重要的。本文对化学诱导、基因敲除、转基因和自发性溃疡性结肠炎几种动物模型进行综述。

1 化学物质诱导法

化学法诱导的UC因其制作简单、重复性好、费用较少,在实际研究应用较为广泛。其最大不足就是病变主要为急性炎症性反应,一般不具有UC慢性反复发作特点。主要应用于溃疡性结肠炎新药的研发,也可应用于UC发病机制研究。

1.1 乙酸模型 目前主要的大鼠乙酸模型方法如下^[7]: 乙醚麻醉Wistar大鼠,将聚乙烯导管从肛门插入结肠8 cm处,缓慢注入3%乙酸2 mL,并保持仰卧头下脚上的位置30 s,以防止结肠内液体流出。小鼠模型如下^[8]: 昆明种小鼠禁食12 h后,5%乙酸0.2 mL经直径1 mm灌肠器注入距肛门约3.5 cm近端结肠处,20 s后,注入生理盐水1 mL冲洗管腔。造模后出现腹泻、血便,第3天病变达高峰期,病变以远端结肠为主。组织病理学表现也类似于人类UC,主要表现为上皮细胞坏死,黏膜下水肿,出血及中性粒细胞浸润。

乙酸结肠炎模型是常用的UC模型之一,机制可能与利用乙酸的化学刺激造成结肠上皮细胞凋亡、黏膜屏障结构破坏,使肠黏膜通透性增加,诱导炎症细胞浸润、炎症介质的表达[肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)等]^[7]。该法简单易行、成本低、稳定可靠、周期短、成功率高、重复性好,适合用于新药的开发和疗效评估。但该模型的不足之处在于乙酸直接刺激造成结肠灼伤,不能反映人UC的免疫和遗传机制,且病变进展和愈合迅速,不适于观察时间较长的药物疗效。

1.2 葡聚糖硫酸钠(dextran sulphate sodium, DSS)模型 DSS结肠炎模型分为急性慢性模型。急性DSS模型的常见诱导方法^[9]为自由饮用含3%-5%DSS蒸馏水5-7 d,小鼠即出现体质量下降和便血等表现,体质量下降在给予DSS后第4天开始明显下降,在第7天和第8天达到最低。急性期模型结肠炎病变以直肠、乙状结肠最为明显,光镜下病理表现为隐窝破坏,上皮细胞损伤,黏膜及黏膜下主要以中性粒细胞浸润为主,溃疡形成。慢性DSS模型的常见诱导方法^[10]是给予动物自由饮含3%-5%DSS蒸馏水,连续5 d后改为饮用正常水10 d,此为一个循环,3个循环后即可

转变为溃疡性结肠炎慢性期。慢性期病理表现为灶性小溃疡,分化隐窝减少,广泛隐窝脓肿形成,以淋巴细胞、单核细胞为主的慢性炎症细胞浸润,上皮呈过度增生。DSS结肠炎模型的机制可能与DSS破坏肠黏膜屏障,导致肠道菌群向黏膜固有层移位,诱导巨噬细胞过度激活^[11],并导致Th1/Th2/Th17细胞功能失调^[10]。

DSS急性结肠炎模型也是常用的结肠炎模型之一,因其制备简单、成功率高,且与人类UC病变相似,是研究UC发病机制和评估药物疗效较为理想的模型。但不足之处在于其黏膜病变为急性化学损伤所诱导,而并非自发的慢性炎症,且动物饮水量不能精确控制,可能导致小鼠间病变差异较大。慢性DSS模型可用于UC相关结肠癌的研究^[12],是UC相关结肠癌较为理想的模型。

1.3 三硝基苯磺酸(trinitrobenzenesulfonic acid, TNBS)模型 大鼠TNBS模型的制备方法为^[13,14],异戊巴比妥麻醉Wistar大鼠后,将钝头导管从肛门插至距肛门8 cm处,按80 mg/kg TNBS(20 mg TNBS溶解于50%乙醇1 mL,4 mL/kg大鼠体质量)缓慢灌肠,诱导急性结肠炎。15 d后再次给予30 mg/kg TNBS溶液(20 mg TNBS溶解于500 mL/L乙醇1 mL,1.5 mL/kg)灌肠,造成复发性结肠炎。第一次TNBS诱导时大鼠快速发展成严重结肠炎,其典型症状包括腹泻、血便、体质量明显下降、活动减少。第2周大鼠腹泻改善,饮食增加。第2次TNBS灌肠后,上述症状再次出现。急性小鼠TNBS模型的诱导方法^[15]为,小鼠麻醉后,将2.5 mg TNBS溶解于500 mL/L乙醇缓慢灌肠,每只小鼠量为0.1 mL。复发性小鼠TNBS模型常见诱导方法^[15]是将0.50、0.75、1.00、1.25、1.50 mg TNBS溶于500 mL/L乙醇中,然后分别在第1、8、15、22、29天给予每只小鼠0.1 mL。上述TNBS结肠炎模型的病理学改变为结肠炎黏膜灶性溃疡形成,杯状细胞及隐窝细胞减少,炎症细胞浸润。

TNBS结肠炎模型机制为, TNBS作为半抗原,与肠组织蛋白结合形成完全抗原,导致肠黏膜免疫反应的发生,造成肠黏膜的损伤。TNBS诱导的结肠炎其免疫反应以Th1/Th17反应为主^[16],有报道^[17]整合素 $\alpha 1$ 缺陷小鼠TNBS模型的病情较野生小鼠轻,说明整合素 $\alpha 1\beta 1$ 介导了TNBS模型固有免疫反应的建立。TNBS模型症状和组织学改变与人类UC类似,可模拟了UC慢性复发性过程,可用来评估新的治疗方法对人类UC的

治疗作用。然而, 目前普遍认为TNBS模型的Th免疫反应与克罗恩病更加类似, 故多用于克罗恩病的研究。

1.4 恶唑酮(oxazolone)模型 恶唑酮模型的方法为^[18,19], 腹部皮肤剃毛(2 cm×2 cm), 皮肤涂抹200 μL 3%恶唑酮(溶解于无水乙醇中)2 d, 以预先致敏小鼠。第8天异乙醚麻醉小鼠, 将直径2 mm的硅胶管从肛门插入小鼠肠道约4 cm, 将溶解于50%乙醇的1%恶唑酮150 μL缓慢注入, 完成后倒提鼠尾约30-60 s, 使溶液完全流入肠道充分吸收。小鼠灌肠后24 h即出现体质量逐渐下降。镜下表现为上皮细胞缺失、糜烂和浅溃疡形成, 杯状细胞减少, 腺体密度减低。炎症局限于黏膜和黏膜下层, 黏膜固有层可见多种炎症细胞浸润。其机制可能是以Th2反应为主, 是由分泌IL-13的NKT细胞所介导的^[18]。恶唑酮诱导的结肠炎较好地复制了人类UC组织病理学表现, 制模简单, 重复性好, 可作为研究UC发病机制和药物疗效的评估, 但因其维持时间短, 自愈性强, 不适合模拟慢性复发性UC的研究。

2 基因修饰模型

针对特定基因的缺失或过度表达的基因修饰小鼠是现代医学研究的重要工具。这些小鼠的表型不仅很好地描述了单个基因在疾病的病理生理中的作用, 也为进一步深入了解特定基因在机体内的功能研究提供了很好的研究方法和模型, 如类风湿性关节炎^[20]、阿茨海默症^[21]、IBD^[22]等。用基因修饰小鼠所诱导的IBD模型, 是近年来IBD研究的方法学热点, 对于IBD的免疫机制、药物治疗等研究提供了极大的便利, 但其缺点为动物价格昂贵, 基因修饰的技术要求高, 喂养及繁殖条件严格, 目前国内应用相对较少。下面介绍几种基因修饰模型。

2.1 T细胞受体-α(T cell receptor-α, TCR-α)基因敲除模型 TCR是介导T细胞免疫反应的重要受体, 参与了抗原的识别和递呈^[23]。TCR基因缺陷小鼠被广泛用于研究T细胞和肠道细菌抗原在IBD发病中作用的研究^[24]。基因敲除的TCR-α^{-/-}小鼠, 在无致病菌的环境下可自发产生慢性结肠炎, 组织病理学和免疫学特征均与UC类似。该模型主要是由分泌IL-4的Th2细胞介导的, 对肠道抗原(包括正常细菌和食物)产生免疫反应, 诱导类似UC的病理组织学变化^[25,26]。有文献报道IL-4抗体可抑制TCR-α^{-/-}小鼠结肠炎病情^[22]。另外, 该模型小鼠可暴露于一氧化碳(CO, 香烟的

主要成分), 以模拟吸烟等环境因素对人类UC的影响^[25]。该模型为自发性病理机制, 对UC免疫机制的研究提供一定的帮助, 且可模拟环境因素对于人类UC影响。

2.2 IL-2基因敲除模型 IL-2主要是由T淋巴细胞产生的, 参与细胞树突状细胞成熟、传统T细胞分化增殖^[27]、促进激活B淋巴细胞分化^[28], 及诱导调节性T细胞(Treg)的功能^[29]。IL-2基因缺陷小鼠可以自发出现类似人类UC的肠道病理变化, 50%IL-2基因缺陷小鼠在4-9周龄时死亡, 剩余的动物则于6-15周龄时发生肠道炎症病变, 症状和组织病理表现与人类UC类似^[30]。给予IL-2则能缓解该模型的病情, 说明IL-2所调节的Treg功能缺陷在该模型结肠炎发病中起重要作用^[29,31], 故该模型常被用于Treg诱导及功能的研究。

2.3 IL-7转基因模型 IL-7表达于T淋巴细胞、骨髓基质细胞和肠道杯状细胞^[32]。Watanabe等^[33]发现IL-7转基因小鼠过度表达IL-7, 可自发出现急、慢性结肠炎的表现, 组织病理学改变类似人类UC。新近学者发现, IL-7及其受体IL-7Ra对于慢性结肠炎的维持起重要作用^[34,35], 机制为IL-7通过多种途径促进CD4⁺效应和记忆T细胞存活, 进而诱发IBD, 如上调Bcl-2和激活JAK/STAT信号通路^[36]。该模型常被用于研究慢性UC的发病机制和药物治疗作用。

2.4 T-bet^{-/-} RAG2^{-/-}模型 T-bet是Th1特异性的转录因子, 调节TH1细胞干扰素-γ(interferon-γ, IFN-γ)的表达^[37]及TH2转录因子GATA3的表达^[38]。有学者发现^[39], T-bet^{-/-} RAG2^{-/-}缺陷小鼠出现自发性UC表现, 其机制可能为T-bet缺陷的树突状细胞过度产生TNF, 诱导上皮细胞死亡, 导致上皮细胞屏障功能受损。给予TNF中和抗体能阻止上皮细胞的凋亡及该模型炎症反应的发生。故该模型常被用于研究UC的固有和适应性免疫免疫机制及药物治疗效果。

2.5 MDR(multiple drug-resistant)1a^{-/-}模型 MDR基因在人类中表现为2种形式: MDR1, MDR2, 而在啮齿动物类动物中已经发现3种MDR基因: MDR1a、MDR1b、MDR2^[40]。人类MDR基因位于第7号染色体(7q21.1)上, 是IBD易感基因位点, 它能够产生P-糖蛋白(P-gp)^[41]。Panwala等^[42]发现MDR1a缺陷小鼠在无特定病原菌条件下可以出现自发性结肠炎, 20%-25%MDR1a敲除小鼠1周龄时出现稀便、腹泻等表现, 组织病理学改变类似于UC, 表现为上皮细胞增生, 隐窝脓肿、溃疡形成及炎症细胞浸润。其机制可能与MDR1a

■创新盘点

本文概括了几种动物模型, 从不同角度阐述了UC发病机制、组织病理学特点。

■应用要点

基因工程实验动物的遗传背景定义清晰,免疫特点突出,便于制定确认造模成功或干预有效的标准。

基因缺陷使得P-gp产生减少,导致肠黏膜屏障受损,渗透性增加,肠道固有层中Foxp3⁺Treg细胞数减少^[43-46]。该模型常用于UC早期炎症反应机制的研究。

2.6 IL-10^{-/-}模型 IL-10表达于多种细胞中,如T细胞、单核细胞/巨噬细胞、树突状细胞^[47]。IL-10可调节多种免疫细胞的功能,如T细胞、B细胞、自然杀伤细胞、肥大细胞的分化和增殖^[48]。Kühn等^[49]发现在清洁环境下饲养,IL-10基因敲除小鼠在7至11周龄时可发生结肠炎,组织病理学表现为结肠黏膜溃疡、炎症细胞浸润、肉芽肿形成等;而在无病原菌的环境中,这些小鼠的结肠炎发生率较低。该模型的机制为肠道病菌诱导肠黏膜免疫细胞产生IL-12,诱导TH1/TH17免疫反应^[50],而Treg的功能受抑制^[51]。给予抗IL-12抗体、抗生素、IL-10等可以预防IL-10基因敲除小鼠结肠炎的发生^[52]。该模型多被用于探讨肠道细菌在IBD发病中的作用,及肠道免疫细胞的功能研究。

2.7 TLR5^{-/-}模型 Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs)在先天免疫和适应性免疫反应中发挥重要作用,参与调节细胞增殖、凋亡,血管生成的过程中的外源性和内源性配体的受体家族,组织重塑和修复^[53]。有文献报道^[53],TLR基因缺陷小鼠35%-40%可自发性发展为结肠炎,以直肠脱垂、体质量下降、便血为特点,组织病理上主要表现为炎症细胞浸润,隐窝上皮破坏,水肿,上皮细胞增生等,其机制可能与对于肠道寄生虫防御减弱,且促炎因子IL-1 β 、TNF- α 、Th1细胞因子(IFN- γ 和IL-12p70)、Th17细胞因子(IL-17和IL-23)表达增多有关。

2.8 其他基因工程模型 新近有一些其他基因修饰的UC模型的报道,包括TLR5^{-/-}模型^[53]、STAT3基因敲除模型^[54]、STAT4转基因模型^[55]等,但这些确切机制仍不明确,研究应用目前尚较少。

3 自发性动物模型

自然界中,某些动物能在其生活过程中自发出现与人类UC相似的结肠炎,这些模型症状和组织病理学表现类似于人类UC,是研究人类UC较为理想的实验性模型。但这些自发性动物模型由于这些动物稀少、昂贵且难以进行标准化控制,目前尚难进行大规模实验及更深入研究。

3.1 棉顶绢毛猴模型 棉顶绢毛猴是一种濒危灵长类动物,1岁半至2岁时,可自发出现类似于

人类UC肠道炎症^[56],表现为黏液血便、体质量下降、腹泻等。组织病理学表现为结肠上皮增生、杯状细胞减少、炎症细胞浸润、隐窝结构缺失等。该动物结肠炎发病机制仍不清楚。Saunders等^[57]认为其可能与尿激酶阴性的螺杆菌属细菌感染有关。成年棉顶绢毛猴结肠炎呈反复发作,且结肠炎相关腺癌发病率很高,可作为结肠炎相关癌研究的理想模型。

3.2 C3H/He J小鼠模型 C3H/He J小鼠一般在出生后2-4 wk出现黏液血便、体质量下降、腹泻等表现,该模型特点为病变部位位于右半结肠的炎症,呈自发性和慢性发作,组织病理学表现与人类UC类似,幽门螺杆菌感染可能与该模型结肠炎发病有一定相关性^[58]。

4 结论

上述模型各有其优缺点,但都只在某些病理学改变等方面与UC类似,尚难成为研究UC的理想模型。UC病因及发病机制尤其免疫学机制非常复杂、病情迁延,目前大多数认为人类UC免疫反应以Th2为主,固有免疫、Th1、Th17等也参与的复合性免疫反应^[6]。目前所建立的动物模型较难反映人类UC的免疫学反应及机制。目前普遍认为,理想的IBD动物模型应具备以下特点^[59]:(1)其肠道炎症进展、病理生理学改变与IBD类似;(2)实验动物须具备明确的遗传背景,很好地反映出人与肠道菌群的互动;(3)特定抗原能诱导相应的肠道免疫反应,具有很好的可重复性;(4)传统的IBD治疗方法对所诱导的模型有效;(5)肠道炎症应为自发性的,而非经基因修饰或化学处理所引起。很好的动物模型能为我们从不同角度探讨人类UC的病因、发病机制、及治疗药物的疗效探讨提供便利。

5 参考文献

- 1 王碧辉. UC中西医结合治疗进展. 世界华人消化杂志 1999; 7: 177-179
- 2 Comito D, Romano C. Dysbiosis in the pathogenesis of pediatric inflammatory bowel diseases. *Int J Inflam* 2012; 2012: 687143 [PMID: 22685684 DOI: 10.1155/2012/687143]
- 3 Fava F, Danese S. Intestinal microbiota in inflammatory bowel disease: friend of foe? *World J Gastroenterol* 2011; 17: 557-566 [PMID: 21350704 DOI: 10.3748/wjg.v17.i5.557]
- 4 Bernstein CN, Fried M, Krabshuis JH, Cohen H, Eliakim R, Fedail S, Gearry R, Goh KL, Hamid S, Khan AG, LeMair AW, Malfetheriner Q, Rey JF, Sood A, Steinwurz F, Thomsen OO, Thomson A, Watermeyer G. World Gastroenterology Organization Practice Guidelines for the diagnosis and man-

- agement of IBD in 2010. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 112-124 [PMID: 19653289 DOI: 10.1002/ibd.21048]
- 5 Xavier RJ, Podolsky DK. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 2007; 448: 427-434 [PMID: 17653185]
 - 6 Abraham C, Cho JH. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 2009; 361: 2066-2078 [PMID: 19923578 DOI: 10.1056/NEJMra0804647]
 - 7 Thippeswamy BS, Mahendran S, Biradar MI, Raj P, Srivastava K, Badami S, Veerapur VP. Protective effect of embelin against acetic acid induced ulcerative colitis in rats. *Eur J Pharmacol* 2011; 654: 100-105 [PMID: 21185828 DOI: 10.1016/j.ejphar.2010.12.012]
 - 8 Luo J, Cao J, Jiang X, Cui H. Effect of low molecular weight heparin rectal suppository on experimental ulcerative colitis in mice. *Biomed Pharmacother* 2010; 64: 441-445 [PMID: 20359854 DOI: 10.1016/j.biopha.2010.01.013]
 - 9 Chu CC, Hou YC, Pai MH, Chao CJ, Yeh SL. Pretreatment with alanyl-glutamine suppresses T-helper-cell-associated cytokine expression and reduces inflammatory responses in mice with acute DSS-induced colitis. *J Nutr Biochem* 2012; 23: 1092-1099 [PMID: 22137260 DOI: 10.1016/j.jnutbio.2011.06.002]
 - 10 Amrouche-Mekkioui I, Djerdjouri B. N-acetylcysteine improves redox status, mitochondrial dysfunction, mucin-depleted crypts and epithelial hyperplasia in dextran sulfate sodium-induced oxidative colitis in mice. *Eur J Pharmacol* 2012; 691: 209-217 [PMID: 22732651 DOI: 10.1016/j.ejphar.2012.06.014]
 - 11 Araki Y, Mukaisyo K, Sugihara H, Fujiyama Y, Hattori T. Increased apoptosis and decreased proliferation of colonic epithelium in dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *Oncol Rep* 2010; 24: 869-874 [PMID: 20811666]
 - 12 Wang X, Mandal AK, Saito H, Pulliam JF, Lee EY, Ke ZJ, Lu J, Ding S, Li L, Shelton BJ, Tucker T, Evers BM, Zhang Z, Shi X. Arsenic and chromium in drinking water promote tumorigenesis in a mouse colitis-associated colorectal cancer model and the potential mechanism is ROS-mediated Wnt/ β -catenin signaling pathway. *Toxicol Appl Pharmacol* 2012; 262: 11-21 [PMID: 22552367 DOI: 10.1016/j.taap.2012.04.014]
 - 13 Wang YH, Ge B, Yang XL, Zhai J, Yang LN, Wang XX, Liu X, Shi JC, Wu YJ. Proanthocyanidins from grape seeds modulates the nuclear factor-kappa B signal transduction pathways in rats with TNBS-induced recurrent ulcerative colitis. *Int Immunopharmacol* 2011; 11: 1620-1627 [PMID: 21642017 DOI: 10.1016/j.intimp.2011.05.024]
 - 14 Li XL, Cai YQ, Qin H, Wu YJ. Therapeutic effect and mechanism of proanthocyanidins from grape seeds in rats with TNBS-induced ulcerative colitis. *Can J Physiol Pharmacol* 2008; 86: 841-849 [PMID: 19088805 DOI: 10.1139/Y08-089]
 - 15 Bai A, Ma AG, Yong M, Weiss CR, Ma Y, Guan Q, Bernstein CN, Peng Z. AMPK agonist downregulates innate and adaptive immune responses in TNBS-induced murine acute and relapsing colitis. *Biochem Pharmacol* 2010; 80: 1708-1717 [PMID: 20797389 DOI: 10.1016/j.bcp.2010.08.009]
 - 16 Guan Q, Ma Y, Hillman CL, Qing G, Ma AG, Weiss CR, Zhou G, Bai A, Warrington RJ, Bernstein CN, Peng Z. Targeting IL-12/IL-23 by employing a p40 peptide-based vaccine ameliorates TNBS-induced acute and chronic murine colitis. *Mol Med* 2011; 17: 646-656 [PMID: 21424108]
 - 17 Fiorucci S, Mencarelli A, Palazzetti B, Sprague AG, Distrutti E, Morelli A, Novobrantseva TI, Cirino G, Kotliansky VE, de Fougères AR. Importance of innate immunity and collagen binding integrin α 1 β 1 in TNBS-induced colitis. *Immunity* 2002; 17: 769-780 [PMID: 12479823]
 - 18 Heller F, Fuss IJ, Nieuwenhuis EE, Blumberg RS, Strober W. Oxazolone colitis, a Th2 colitis model resembling ulcerative colitis, is mediated by IL-13-producing NK-T cells. *Immunity* 2002; 17: 629-638 [PMID: 12433369 DOI: 10.1016/S1074-7613(02)00453-3]
 - 19 Engel MA, Khalil M, Siklosi N, Mueller-Tribbenes SM, Neuhuber WL, Neurath MF, Becker C, Reeh PW. Opposite effects of substance P and calcitonin gene-related peptide in oxazolone colitis. *Dig Liver Dis* 2012; 44: 24-29 [PMID: 22018693 DOI: 10.1016/j.dld.2011.08.030]
 - 20 Baker DA, Barth J, Chang R, Obeid LM, Gilkeson GS. Genetic sphingosine kinase 1 deficiency significantly decreases synovial inflammation and joint erosions in murine TNF- α -induced arthritis. *J Immunol* 2010; 185: 2570-2579 [PMID: 20644167 DOI: 10.4049/jimmunol.1000644]
 - 21 Filali M, Lalonde R, Theriault P, Julien C, Calon F, Planel E. Cognitive and non-cognitive behaviors in the triple transgenic mouse model of Alzheimer's disease expressing mutated APP, PS1, and Mapt (3xTg-AD). *Behav Brain Res* 2012; 234: 334-342 [PMID: 22796601 DOI: 10.1016/j.bbr.2012.07.004]
 - 22 Nones K, Dommels YE, Martell S, Butts C, McNabb WC, Park ZA, Zhu S, Hedderley D, Barnett MP, Roy NC. The effects of dietary curcumin and rutin on colonic inflammation and gene expression in multidrug resistance gene-deficient (mdr1a-/-) mice, a model of inflammatory bowel diseases. *Br J Nutr* 2009; 101: 169-181 [PMID: 18761777 DOI: 10.1017/S0007114508009847]
 - 23 Haile LA, von Wasielowski R, Gamrekashvili J, Krüger C, Bachmann O, Westendorf AM, Buer J, Liblau R, Manns MP, Korangy F, Greten TF. Myeloid-derived suppressor cells in inflammatory bowel disease: a new immunoregulatory pathway. *Gastroenterology* 2008; 135: 871-881, 881. e1-e5 [PMID: 18674538 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.06.032]
 - 24 Shiobara N, Suzuki Y, Aoki H, Gotoh A, Fujii Y, Hamada Y, Suzuki S, Fukui N, Kurane I, Itoh T, Suzuki R. Bacterial superantigens and T cell receptor beta-chain-bearing T cells in the immunopathogenesis of ulcerative colitis. *Clin Exp Immunol* 2007; 150: 13-21 [PMID: 17614973 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2007.03443.x]
 - 25 Sheikh SZ, Hegazi RA, Kobayashi T, Onyiah JC, Russo SM, Matsuoka K, Sepulveda AR, Li F, Otterbein LE, Plevy SE. An anti-inflammatory role for carbon monoxide and heme oxygenase-1 in chronic Th2-mediated murine colitis. *J Immunol* 2011; 186: 5506-5513 [PMID: 21444764 DOI: 10.4049/jimmunol.1002433]
 - 26 Shimomura Y, Mizoguchi E, Sugimoto K, Kibe R, Benno Y, Mizoguchi A, Bhan AK. Regulatory role of B-1 B cells in chronic colitis. *Int Immunol* 2008; 20: 729-737 [PMID: 18375938 DOI: 10.1093/intimm/dxn031]
 - 27 Müller M, Fink K, Geisel J, Kahl F, Jilge B, Reimann J, Mach N, Autenrieth IB, Frick JS. Intestinal colo-

■名词解释

溃疡性结肠炎: 也称非特异性溃疡性结肠炎, 发病原因尚不明确, 为一种自体免疫性疾病。病灶局限于结肠黏膜及黏膜下层, 多位于乙状结肠和直肠, 也可延伸至降结肠, 甚至整个结肠。UC免疫反应以Th2为主, 固有免疫、Th1、Th17等也参与的复合性免疫反应。

■同行评价

本文所涉及的模型从不同角度模拟人类UC的发病机制或病理特征,有一定指导意义。

- 28 Le Gallou S, Caron G, Delaloy C, Rossille D, Tarte K, Fest T. IL-2 requirement for human plasma cell generation: coupling differentiation and proliferation by enhancing MAPK-ERK signaling. *J Immunol* 2012; 189: 161-173 [PMID: 22634617 DOI: 10.4049/jimmunol.1200301]
- 29 Barron L, Doms H, Hoyer KK, Kuswanto W, Hofmann J, O'Gorman WE, Abbas AK. Cutting edge: mechanisms of IL-2-dependent maintenance of functional regulatory T cells. *J Immunol* 2010; 185: 6426-6430 [PMID: 21037099 DOI: 10.4049/jimmunol.0903940]
- 30 Sadlack B, Merz H, Schorle H, Schimpl A, Feller AC, Horak I. Ulcerative colitis-like disease in mice with a disrupted interleukin-2 gene. *Cell* 1993; 75: 253-261 [PMID: 8402910 DOI: 10.1016/0092-8674(93)80067-O]
- 31 Boyman O, Surh CD, Sprent J. Potential use of IL-2/anti-IL-2 antibody immune complexes for the treatment of cancer and autoimmune disease. *Expert Opin Biol Ther* 2006; 6: 1323-1331 [PMID: 17223740 DOI: 10.1517/14712598.6.12.1323]
- 32 Hara T, Shitara S, Imai K, Miyachi H, Kitano S, Yao H, Tani-ichi S, Ikuta K. Identification of IL-7-producing cells in primary and secondary lymphoid organs using IL-7-GFP knock-in mice. *J Immunol* 2012; 189: 1577-1584 [PMID: 22786774 DOI: 10.4049/jimmunol.1200586]
- 33 Watanabe M, Ueno Y, Yamazaki M, Hibi T. Mucosal IL-7-mediated immune responses in chronic colitis-IL-7 transgenic mouse model. *Immunol Res* 1999; 20: 251-259 [PMID: 10741865]
- 34 Tomita T, Kanai T, Nemoto Y, Totsuka T, Okamoto R, Tsuchiya K, Sakamoto N, Watanabe M. Systemic, but not intestinal, IL-7 is essential for the persistence of chronic colitis. *J Immunol* 2008; 180: 383-390 [PMID: 18097039]
- 35 Shinohara T, Nemoto Y, Kanai T, Kameyama K, Okamoto R, Tsuchiya K, Nakamura T, Totsuka T, Ikuta K, Watanabe M. Upregulated IL-7 receptor α expression on colitogenic memory CD4⁺ T cells may participate in the development and persistence of chronic colitis. *J Immunol* 2011; 186: 2623-2632 [PMID: 21217010 DOI: 10.4049/jimmunol.1000057]
- 36 Chetoui N, Boisvert M, Gendron S, Aoudjit F. Interleukin-7 promotes the survival of human CD4⁺ effector/memory T cells by up-regulating Bcl-2 proteins and activating the JAK/STAT signalling pathway. *Immunology* 2010; 130: 418-426 [PMID: 20465565 DOI: 10.1111/j.1365-2567.2009.03244.x]
- 37 Szabo SJ, Kim ST, Costa GL, Zhang X, Fathman CG, Glimcher LH. A novel transcription factor, T-bet, directs Th1 lineage commitment. *Cell* 2000; 100: 655-669 [PMID: 10761931 DOI: 10.1016/S0092-8674(00)80702-3]
- 38 Liu X, Tang Z, Zhang Y, Hu J, Li D, Zang G, Yu Y. Lentivirally overexpressed T-bet regulates T-helper cell lineage commitment in chronic hepatitis B patients. *Mol Med Report* 2012; 6: 361-366 [PMID: 22580570]
- 39 Garrett WS, Glimcher LH. T-bet^{-/-} RAG2^{-/-} ulcerative colitis: the role of T-bet as a peacekeeper of host-commensal relationships. *Cytokine* 2009; 48: 144-147 [PMID: 19666230 DOI: 10.1016/j.cyt.2009.07.007]
- 40 Banner KH, Cattaneo C, Le Net JL, Popovic A, Collins D, Gale JD. Macroscopic, microscopic and biochemical characterisation of spontaneous colitis in a transgenic mouse, deficient in the multiple drug resistance 1a gene. *Br J Pharmacol* 2004; 143: 590-598 [PMID: 15466445 DOI: 10.1038/sj.bjp.0705982]
- 41 Staley EM, Schoeb TR, Lorenz RG. Differential susceptibility of P-glycoprotein deficient mice to colitis induction by environmental insults. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 684-696 [PMID: 19067430 DOI: 10.1002/ibd.20824]
- 42 Panwala CM, Jones JC, Viney JL. A novel model of inflammatory bowel disease: mice deficient for the multiple drug resistance gene, mdr1a, spontaneously develop colitis. *J Immunol* 1998; 161: 5733-5744 [PMID: 9820555]
- 43 Collett A, Higgs NB, Gironella M, Zeef LA, Hayes A, Salmo E, Haboubi N, Iovanna JL, Carlson GL, Warhurst G. Early molecular and functional changes in colonic epithelium that precede increased gut permeability during colitis development in mdr1a(-/-) mice. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 620-631 [PMID: 18275070 DOI: 10.1002/ibd.20375]
- 44 Resta-Lenert S, Smitham J, Barrett KE. Epithelial dysfunction associated with the development of colitis in conventionally housed mdr1a^{-/-} mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 289: G153-G162 [PMID: 15774938 DOI: 10.1152/ajpgi.00395.2004]
- 45 Nones K, Knoch B, Dommels YE, Paturi G, Butts C, McNabb WC, Roy NC. Multidrug resistance gene deficient (mdr1a^{-/-}) mice have an altered caecal microbiota that precedes the onset of intestinal inflammation. *J Appl Microbiol* 2009; 107: 557-566 [PMID: 19302324 DOI: 10.1111/j.1365-2672.2009.04225.x]
- 46 Tanner SM, Staley EM, Lorenz RG. Altered generation of induced regulatory T cells in the FVB.mdr1a(-/-) mouse model of colitis. *Mucosal Immunol* 2013; 6: 309-323 [PMID: 22874899 DOI: 10.1038/mi.2012.73]
- 47 Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol* 2001; 19: 683-765 [PMID: 11244051 DOI: 10.1146/annurev.immunol.19.1.683]
- 48 Asadullah K, Sterry W, Volk HD. Interleukin-10 therapy--review of a new approach. *Pharmacol Rev* 2003; 55: 241-269 [PMID: 12773629 DOI: 10.1124/pr.55.2.4]
- 49 Kühn R, Löhler J, Rennick D, Rajewsky K, Müller W. Interleukin-10-deficient mice develop chronic enterocolitis. *Cell* 1993; 75: 263-274 [PMID: 8402911 DOI: 10.1016/0092-8674(93)80068-P]
- 50 Davidson NJ, Fort MM, Müller W, Leach MW, Rennick DM. Chronic colitis in IL-10^{-/-} mice: insufficient counter regulation of a Th1 response. *Int Rev Immunol* 2000; 19: 91-121 [PMID: 10723680 DOI: 10.3109/08830180009048392]
- 51 Murai M, Turovskaya O, Kim G, Madan R, Karp CL, Cheroutre H, Kronenberg M. Interleukin 10 acts on regulatory T cells to maintain expression of the transcription factor Foxp3 and suppressive function in mice with colitis. *Nat Immunol* 2009; 10: 1178-1184 [PMID: 19783988 DOI: 10.1038/ni.1791]
- 52 Spencer DM, Veldman GM, Banerjee S, Willis J, Levine AD. Distinct inflammatory mechanisms mediate early versus late colitis in mice. *Gastroen-*

- terology 2002; 122: 94-105 [PMID: 11781285 DOI: 10.1053/gast.2002.30308]
- 53 Kutikhin AG. Association of polymorphisms in TLR genes and in genes of the Toll-like receptor signaling pathway with cancer risk. *Hum Immunol* 2011; 72: 1095-1116 [PMID: 21872627 DOI: 10.1016/j.humimm.2011.07.307.]
- 54 Alonzi T, Newton IP, Bryce PJ, Di Carlo E, Lattanzio G, Tripodi M, Musiani P, Poli V. Induced somatic inactivation of STAT3 in mice triggers the development of a fulminant form of enterocolitis. *Cytokine* 2004; 26: 45-56 [PMID: 15050604 DOI: 10.1016/j.cyto.2003.12.002]
- 55 O'Malley JT, Eri RD, Stritesky GL, Mathur AN, Chang HC, Hogenesch H, Srinivasan M, Kaplan MH. STAT4 isoforms differentially regulate Th1 cytokine production and the severity of inflammatory bowel disease. *J Immunol* 2008; 181: 5062-5070 [PMID: 18802110]
- 56 Madara JL, Podolsky DK, King NW, Sehgal PK, Moore R, Winter HS. Characterization of spontaneous colitis in cotton-top tamarins (*Saguinus oedipus*) and its response to sulfasalazine. *Gastroenterology* 1985; 88: 13-19 [PMID: 2856876]
- 57 Saunders KE, Shen Z, Dewhirst FE, Paster BJ, Dangler CA, Fox JG. Novel intestinal *Helicobacter* species isolated from cotton-top tamarins (*Saguinus oedipus*) with chronic colitis. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 146-151 [PMID: 9854080]
- 58 Sundberg JP, Elson CO, Bedigian H, Birkenmeier EH. Spontaneous, heritable colitis in a new substrain of C3H/HeJ mice. *Gastroenterology* 1994; 107: 1726-1735 [PMID: 7958684]
- 59 Arseneau KO, Pizarro TT, Cominelli F. Discovering the cause of inflammatory bowel disease: lessons from animal models. *Curr Opin Gastroenterol* 2000; 16: 310-317 [PMID: 17031094 DOI: 10.1097/00001574-200007000-00004]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

2012 年度《世界华人消化杂志》发文情况

本刊讯 2012-01-01/2012-12-31,《世界华人消化杂志》共收到稿件1539篇,退稿887篇,退稿率57.63%,发表文章652篇,所有文章均经过编委专家同行评议。其中,发表述评34篇(5.21%),基础研究94篇(14.42%),临床研究61篇(9.36%),焦点论坛20篇(3.07%),文献综述114篇(17.48%),研究快报86篇(13.19%),临床经验222篇(34.05%),病例报告21篇(3.22%);文章作者分布遍及全国各地,绝大多数来自高等院校及附属医院。在此,特别感谢为《世界华人消化杂志》进行同行评议的各位编委专家,你们的同行评价对文章发表质量做出了重要贡献;也希望各位编委踊跃为《世界华人消化杂志》继续撰写高质量的评论性文章,为科学知识的传播做出贡献!(《世界华人消化杂志》编辑部)

壮药汗衣台配伍组方体外抗乙型肝炎病毒的疗效

廖丹, 段雪琳

■背景资料

中医药及民族医药在治疗慢性乙型肝炎上历史悠久, 各种复方制剂的搭配与选择都是劳动人民智慧的长期结晶, 对古方、验方、秘方的研究发现复方中药在人体内具有广泛的治疗作用, 不仅具有抗病毒作用, 还能调节机体活动。

廖丹, 段雪琳, 广西中医药大学基础医学院生理教研室 广西壮族自治区南宁市 530001

廖丹, 副教授, 主要从事感染性疾病的基础研究。

广西自然科学基金资助项目, No. 2010GXNSFA013198

广西中医药管理局中医药科技专项课题基金资助项目, No. GZKZ09-11

广西教育厅科研基金资助项目, No. 200810LX002

作者贡献分布: 此研究由廖丹设计; 细胞培养、药物准备以及指标检测由廖丹与段雪琳操作完成; 数据分析与论文撰写由廖丹完成。

通讯作者: 廖丹, 副教授, 530001, 广西壮族自治区南宁市明秀东路179号, 广西中医药大学基础医学院生理教研室. dan9999@126.com
电话: 0771-2244199

收稿日期: 2013-01-14 修回日期: 2013-01-30

接受日期: 2013-02-01 在线出版日期: 2013-03-08

In vitro anti-HBV effect of polyherbal medicine of Chuang herb HanYiTai

Dan Liao, Xue-Lin Duan

Dan Liao, Xue-lin Duan, Guangxi Traditional Medicine University, Nanning 530001, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Guangxi, No. 2010GXNSFA013198; the Special Program of Chinese Medical Science and Technology of the Traditional Medicine Administration of Guangxi, No. GZKZ09-11; and the Science Research Program of the Department of Education of Guangxi, No. 200810LX002

Correspondence to: Dan Liao, Associate Physician, Department of Physiology, Guangxi Traditional Medicine University, Nanning 530001, 179 Mingxiu East Road, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. dan9999@126.com

Received: 2013-01-14 Revised: 2013-01-30

Accepted: 2013-02-01 Published online: 2013-03-08

Abstract

AIM: To compare the effect of polyherbal medicine and single herb of Chuang herb HanYiTai in resisting HBV by detecting HBV antigen and HBV DNA.

METHODS: Different concentrations of HanYiTai and other compounded herbs were co-incubated with 2215 cells *in vitro*, and their toxic effects were detected by XTT method to determine the safe concentrations of HanYiTai and other herbs. Polyherbal compounds were matched with a variety of intoxic concentrations of herbs. Culture medium was changed once every 3 d,

and supernatants were collected 9 d later. The contents of HBsAg and HBeAg in supernatants were measured using ELISA. Meanwhile, the secretion of HBV-DNA was detected using fluorescent quantitative PCR.

RESULTS: The inhibitory effect of polyherbal medicine on the secretion of HBsAg antigen was slightly stronger than that of single HanYiTai group, but the difference was not statistically significant. The inhibitory effect of polyherbal medicine F3-F5 on the secretion of HBeAg and HBVDNA was significantly stronger than that of corresponding concentrations of single HanYiTai ($P = 0.002-0.009$; $P = 0.038-0.05$). Polyherbal medicine at low and middle concentrations (F3-F5) showed stronger inhibitory effect on the secretion of HBVDNA than that at high concentrations (F1-F2) ($P = 0.048-0.015$).

CONCLUSION: Anti-HBV effect of low concentration of polyherbal medicine was better than that of high concentration of polyherbal medicine and corresponding concentration of HanyiTai single herb. The mutual influence and synergy of various pharmaceutical ingredients can not only reduce the concentration of a single drug but also produce a superimposed synergistic effect.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: HanYiTai; Polyherbal medicine; HepG2215; HBV; *In vitro*

Liao D, Duan XL. *In vitro* anti-HBV effect of polyherbal medicine of Chuang herb HanYiTai. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(7): 614-618 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/614.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.614>

摘要

目的: 检测乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)抗原和HBV DNA, 比较壮药汗衣台的复方制剂与单味药在抗乙型肝炎病毒方面的疗效。

方法: 根据壮族民间常用的经验组方, 不同浓

■同行评议者

杨江华, 副教授, 皖南医学院弋矶山医院感染科

度汗衣台及其配伍药分别与体外培养的2215细胞共同孵育,以XTT方法检测他们对2215细胞的毒性作用,选择各种药物对细胞无明显毒害的浓度进行组配;3 d更换一次含药培养液,9 d后收集上清液;用ELISA法测定上清液中乙型肝炎表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)和乙型肝炎e抗原(hepatitis B e antigen, HBeAg)含量,荧光定量PCR法检测上清液中HBV-DNA的分泌。

结果:复方组对HBsAg抗原的抑制作用稍高于单药组,但统计学上无显著意义;中低浓度的复方制剂F3-F5抑制HBeAg以及HBV-DNA分泌的作用明显强于相对应浓度的汗衣台单药组($P = 0.002-0.009$; $P = 0.038-0.05$),而且抑制HBV-DNA分泌的疗效明显优于高浓度的复方制剂F1-F2($P = 0.048-0.015$)。

结论:组方配伍后,中低浓度的复方制剂抗病毒的综合疗效优于相对应浓度汗衣台单味药及高浓度复方制剂,各种药物成分相互影响、协同作用,不仅可以降低单个药物浓度,而且可以产生叠加增效作用。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 汗衣台; 复方中药制剂; 2215细胞; 乙型肝炎病毒; 体外

廖丹, 段雪琳. 壮药汗衣台配伍组方体外抗乙型肝炎病毒的疗效. 世界华人消化杂志 2013; 21(7): 614-618 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/614.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i7.614>

0 引言

“汗衣台(壮语)”,别称“千里找根”^[1],为防己科植物皱波青牛胆的[Tinospora crispa(L.) Miers]的藤茎^[1-3].该属植物在印度、泰国等东南亚国家被广泛药用,是印度阿育吠陀医学中最重要的药物之一^[4,5].据文献记载汗衣台具有通关通窍通脉、通经活血、清热排毒、消炎止痛等作用,多用于治疗跌打骨折刀伤、痢疾腹胀、痈疖肿毒等.研究发现该属植物还具有降血糖^[6],降血压^[4],抗增殖^[5]等活性.而广西壮族民间流传其对慢性乙型肝炎具有良效,我们的前期研究^[7]首次证实壮药汗衣台在体外具有抗乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)作用,阐明了广西民间医用的科学性.为进一步深入研究汗衣台,本实验根据壮族民间常用的治疗慢性乙型肝炎的经验组方对汗衣台进行初步的组方配伍探索研究,

以比较其复方制剂的疗效是否高于单味药,现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 壮药汗衣台由壮族民间灵芝草药堂提供,其他药材如白花蛇舌草等由一般药店提供.各种生药,各50 g,分别置于烧杯中,加适量蒸馏水浸泡30 min后煎煮,沸后用文火煮30 min,滤出煎液,共煎3次,合并滤液,浓缩至生药含量0.5 g/mL,16 000 r/min离心10 min,取上清液调pH值为7.5,一次性0.22 μm 滤器过滤分装后置4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用.细胞HBV-DNA转染的人肝癌细胞HepG2215细胞系购自中南大学湘雅中心实验室细胞库.胎牛血清(美国Gibco公司),DMEM培养基(HyCone公司),0.25%DEPC胰酶(上海吉泰科技有限公司),HBV-DNA荧光定量PCR试剂盒(上海科华生物工程有限公司,批号20071016);乙型肝炎表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)、乙型肝炎e抗原(hepatitis B e antigen, HBeAg)检测试剂盒(上海科华生物工程有限公司);XTT检测试剂盒(碧云天).ABI7500 Fast Real-Time PCR仪(美国ABI公司);CO₂孵箱(美国Thermo Forma公司);酶标仪(Bio-Rad);24孔板(美国Corning公司);离心机(effend);0.22 μm 滤器(millipore)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养:2215细胞以DMEM培养基(含10%胎牛血清)培养于培养瓶中,置37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%CO₂孵箱中生长,待细胞生长至70%-80%时,用0.25%胰酶消化5 min,用吹打管将贴壁的细胞吹打成悬液,按适当比例分瓶继续培养,4-5 d传代1次.每次换液时,检测上清液HBsAg、HBeAg和HBV-DNA分泌情况,待表达稳定后开始实验。

1.2.2 细胞毒性实验:2215细胞用胰酶消化后,轻轻吹打使成单细胞悬液,细胞计数后调节细胞浓度至 1×10^5 cell/mL,按100 μL /孔接种于96孔板中,置37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%CO₂培养箱中培养过夜,待贴壁后吸去上清,分别加入100 μL 含终浓度为1000 $\mu\text{g/mL}$ 、900 $\mu\text{g/mL}$ 、800 $\mu\text{g/mL}$ 、700 $\mu\text{g/mL}$ 、600 $\mu\text{g/mL}$ 、500 $\mu\text{g/mL}$ 、400 $\mu\text{g/mL}$ 、300 $\mu\text{g/mL}$ 、200 $\mu\text{g/mL}$ 、100 $\mu\text{g/mL}$ 、50 $\mu\text{g/mL}$ 、5 $\mu\text{g/mL}$ 、1 $\mu\text{g/mL}$ 的汗衣台、补血署、白花蛇舌草、鸡骨草、芦根、黄栀子、土茯苓、杨桃根各个单味药的DMEM培养液,每个浓度重复5孔,同时设无药细胞对照组及空白对照组.培养72 h

■ 研发前沿

通过体外抗乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)试验研究以及HBV感染实验模型筛选出大量的抗HBV中草药以及复方制剂,但是对抗HBV的有效成分、活性部位及作用机制等核心问题仍然不十分明确。

■ 相关报道

目前对抗HBV中草药的筛选工作以及疗效研究都能应用2215细胞作为研究工具,检测包括病毒S抗原和e抗原以及病毒基因在内的比较敏感和特异的指标,结果比较可靠和具有说服力。

■创新盘点

本实验在检测了8味单药的最高无毒浓度以后,按浓度梯度的方式组成各复方制剂的浓度,虽与实际的用量有较大的差异,但更规范与合理。

表 1 汗衣台、配伍药对2.2.15细胞的毒性作用 (mean ± SD)

分组	浓度(μg/mL)	A值	细胞存活率(%)
细胞对照		1.408 ± 0.018	100.0
空白对照		0.409 ± 0.025	
汗衣台	800	1.278 ± 0.030	90.8
补血署	100	1.265 ± 0.167	85.7
白花蛇舌草	100	1.262 ± 0.033	85.4
鸡骨草	300	1.329 ± 0.027	92.1
芦根	200	1.360 ± 0.113	95.2
黄栀子	100	1.292 ± 0.062	88.4
土茯苓	200	1.328 ± 0.084	90.2
杨桃根	100	1.284 ± 0.103	87.6

由表1可以得出表2。

后滴加新鲜配制的XTT和PMS混合应用液,继续培养4 h,在450 nm波长测定吸光度(A)值。按公式计算细胞存活率{细胞存活率 = $[(A_{\text{实验孔}} - A_{\text{空白对照}}) / (A_{\text{细胞对照}} - A_{\text{空白对照}})] \times 100\%$ }。

1.2.3 配伍药的选择以及复方制剂的配伍方法:根据壮族民间流传的治疗慢性乙型肝炎常用的经验组方(汗衣台、补血署、白花蛇舌草、鸡骨草、芦根、黄栀子、土茯苓、杨桃根)为依据,由于民间用药量大多随个人意愿,参差不齐,我们只能依据细胞毒性试验结果,选择各种药物对细胞无明显毒害的浓度范围进行组配。各种药物的最高无毒浓度混合组成复方一(F1);约1/1.6最高无毒浓度组成复方二(F2);1/4最高无毒浓度组成复方三(F3);约1/8最高无毒浓度组成复方四(F4);约1/80最高无毒浓度组成复方五(F5)。

2 结果

2.1 汗衣台及其配伍药对2215细胞的毒性作用 由于实验原则上只选择对HepG2215细胞无明显毒性作用(即细胞存活率超过85%)的药物浓度为实验用药浓度,并依此决定配伍组方的药量,故XTT实验结果仅显示细胞存活率超过85%的药物最高浓度(表1, 2)。

2.2 汗衣台及其复方制剂对HBsAg、HBeAg分泌的影响 从表3可知,无论是单药组^[7]和复方组均可明显抑制HBsAg、HBeAg的分泌,且呈剂量依赖。复方组对HBsAg抗原的抑制作用稍高于相对应浓度的汗衣台单药组,但统计学上无显著差异;中低浓度复方制剂F3-F5抑制HBeAg分泌的作用明显强于相对应浓度的单药组($P = 0.002-0.009$),显示中低浓度的配伍组合可以产

表 2 复方制剂的组方配伍浓度分布 (μg/mL)

	F1	F2	F3	F4	F5
汗衣台	800	500	200	100	10.0
补血署	100	63	25	13	1.3
白花蛇舌草	100	63	25	13	1.3
鸡骨草	300	200	75	40	3.0
芦根	200	125	50	25	2.5
土茯苓	200	125	50	25	2.5
黄栀子	100	63	25	13	1.3
杨桃根	100	63	25	13	1.3

生良好的抑制病毒e抗原分泌的疗效。

2.3 汗衣台及其复方制剂对HBV-DNA分泌的影响 比较汗衣台及其复方制剂对HBV-DNA分泌的影响,从表4可知,各浓度汗衣台及其复方制剂均可明显抑制HBV-DNA的分泌($P = 0.042-0.000$);中低浓度复方制剂(F3-F5)对HBV-DNA分泌的抑制效果则明显优于相对应浓度的汗衣台单味药($P = 0.038-0.05$);另外,高浓度复方制剂(F1-F2)对病毒的抑制作用不及低浓度(F3-F5)($P = 0.048-0.015$),类似前期研究中干扰素出现的情况。提示中低浓度的单味药组合,一方面可以降低药物对细胞的毒性作用,另一方面仍具有很高的抗病毒活性。

3 讨论

对壮药汗衣台的前期研究表明^[7],短期内,中高浓度的汗衣台抑制2215细胞分泌HBsAg及HBeAg抗原的作用优于干扰素和拉米夫定,而对HBV-DNA的抑制作用不如拉米夫定,但强于干扰素。首次证实汗衣台具有体外抗HBV作用,阐明了广西民间流传医用的科学性。

为进一步深入研究汗衣台,本实验对汗衣台进行初步的组方配伍探索研究,根据壮族民间流传的治疗慢性乙型肝炎常用的经验组方(汗衣台、补血署、白花蛇舌草、鸡骨草、芦根、黄栀子、土茯苓、杨桃根)为依据,各药物均以无明显细胞毒性的浓度决定配伍组方的用量,并采用HepG2215细胞为体外细胞模型,分别给予不同浓度的汗衣台及其相对应浓度的复方制剂相互作用,以比较其复方制剂的抗病毒疗效是否高于单味药。实验结果表明,组方配伍后,中低浓度复方制剂具有明显的抑制HBeAg以及HBV-DNA分泌的作用,其疗效不仅明显优于相对应浓度的汗衣台单味药,而且对于HBV-DNA分泌的抑制作用强于高浓度的配伍组,类似前

■应用要点

复方汗衣台体外抗HBV综合疗效优于汗衣台单味药,阐明了广西壮族民间流传的这一经验用方尚属搭配合理,作为抗HBV药物具有一定的应用前景,值得进一步研究、开发和利用。

表 3 各组药物对2.2.15细胞分泌HBsAg、HBeAg的抑制作用比较 (mean ± SD)

分组	浓度(μg/mL)	HBsAg		HBeAg	
		A值	抑制率(%)	A值	抑制率(%)
汗衣台组	800	1.937 ± 0.095 ^b	43.3	0.663 ± 0.032 ^b	80.2
	500	2.015 ± 0.187 ^b	40.9	0.780 ± 0.015 ^b	76.5
	200	2.813 ± 0.169 ^a	16.7	1.246 ± 0.087 ^b	61.7
	100	3.019 ± 0.071 ^a	10.5	1.586 ± 0.189 ^b	50.9
	10	3.158 ± 0.017 ^a	6.3	2.352 ± 0.110 ^b	26.5
复方组	F1	1.732 ± 0.084 ^b	49.5	0.605 ± 0.057 ^b	82.1
	F2	2.322 ± 0.105 ^b	31.6	0.737 ± 0.004 ^b	77.9
	F3	2.654 ± 0.042 ^b	21.5	0.736 ± 0.042 ^{bcd}	77.9
	F4	2.712 ± 0.075 ^b	19.8	0.928 ± 0.053 ^{bcd}	71.8
	F5	2.925 ± 0.124 ^a	13.3	1.346 ± 0.076 ^{bcd}	58.5
阳性对照组		3.364 ± 0.044		3.187 ± 0.012	
阴性对照组		0.068 ± 0.020		0.040 ± 0.009	

^aP<0.05, ^bP<0.01 vs 阳性对照组; ^cP<0.01 vs 相对应浓度汗衣台组。

表 4 汗衣台及其复方制剂对2.2.15细胞分泌HBVDNA的影响 (mean ± SD)

分组	浓度(μg/mL)	HBV-DNA拷贝数(× 10 ⁵)	抑制率(%)
汗衣台组	800	6.885 ± 1.352 ^b	77.2
	500	7.299 ± 1.083 ^a	75.8
	200	17.143 ± 3.905 ^a	43.2
	100	13.723 ± 6.494 ^a	54.5
	10	17.215 ± 5.629	42.9
复方组	F1	16.408 ± 0.743 ^a	45.6
	F2	15.945 ± 3.584 ^a	47.2
	F3	5.730 ± 1.041 ^{bce}	81.0
	F4	4.282 ± 1.413 ^{bce}	85.8
	F5	7.348 ± 1.814 ^{bce}	75.7
阳性对照组		30.171 ± 0.577	

^aP<0.05, ^bP<0.01 vs 阳性对照组; ^cP<0.05 vs 相对应浓度汗衣台组; ^eP<0.05 vs F1-F2。

期研究中干扰素出现的情况,提示配伍组方可以改变汗衣台的抗病毒疗效,使其在较低浓度仍具有很高的抗病毒活性。由此可以得出结论:组方配伍后,各种药物成分相互影响、协同作用,不仅可以降低单个药物对细胞的毒性,而且可以产生明显的叠加增效作用。

复方中药制剂的有效成分比单味药复杂得多,需考虑药物各有效成分之间的相互影响。现代复方中药制剂的药代动力学研究表明^[8,9],不同的药物经过适当的配伍,确实可以起到协同增效的作用,比如口服甘草加芍药煎剂,血清中的甘草次酸浓度比单服甘草煎剂明显提高,是由于芍药增加了甘草次酸的吸收和延缓了其排泄的结果,表明芍药对甘草具有协同增效的作

用^[10-12]。在我们的组方配伍药中,白花蛇舌草经大量实验证实具有增强机体细胞免疫和体液免疫等作用^[13,14],目前已成为临床上比较常用的一种抗病毒、抗肿瘤中草药;补血署^[15]是广西民间常用的一种用于消肿止痛止血的草药;鸡骨草对急性黄疸型肝炎有良效^[16]等。虽然在此方中各药物成分之间的相互作用尚不明了,但从抗HBV的效果而言,广西民间流传的这一经验用方尚属搭配合理。

众所周知,慢性乙型肝炎的抗病毒治疗是一个长期而艰巨的过程,除了直接或间接地对抗病原之外,机体免疫功能的强弱亦是一个能左右疾病进展的关键因素,干扰素的抗病毒初期疗效虽不如拉米夫定一般立竿见影,但干扰素

■名词解释

阿育吠陀:印度语,生命的科学。根据她的观点,人类应该与自然界和谐共存,而疾病的产生是由于这种和谐被打破。通过利用自然界及其产物恢复这种基本平衡是阿育吠陀医学的主要目的。

■同行评价

本文设计较为合理,具有一定创新性,对探讨中药治疗慢性乙型肝炎进行了新的探索,有一定指导意义。

的作用稳定、作用面广、作用机制多样化等决定其远期疗效优于拉米夫定^[17,18]。汗衣台对HBV的抑制作用呈剂量依赖性,但其复方制剂却与干扰素有着类似的表象,推测汗衣台及其复方制剂除了直接地抑制病毒之外,可能也具有类似干扰素一样的免疫调节作用,其整体效应、远期疗效以及作用机制有待进一步的深入研究。

4 参考文献

- 1 昆明军区后勤部卫生部. 云南中草药选. 昆明: 昆明军区后勤部卫生部, 1970: 120-121
- 2 罗献瑞, 赵素云. 中国防已科资料. 广西植物 1986; 6: 49-61
- 3 袁久志, 吴立军. 青龙胆属药用植物研究进展. 中药研究与信息 2005; 7: 14-17
- 4 Praman S, Mulvany MJ, Allenbach Y, Marston A, Hostettmann K, Siriruga P, Jansakul C. Effects of an n-butanol extract from the stem of *Tinospora crispa* on blood pressure and heart rate in anesthetized rats. *J Ethnopharmacol* 2011; 133: 675-686 [PMID: 21040767 DOI: 10.1016/j.jep.2010.10.052]
- 5 Zulkhairi A, Abdah MA, M Kamal NH, Nursakinah I, Moklas MA, Hasnah B, Fazali F, Khairunnur FA, Kamilah KA, Zamree MS, Shahidan MM. Biological Properties of *Tinospora crispa* (Akar Patawali) and Its Antiproliferative Activities on Selected Human Cancer Cell Lines. *Malays J Nutr* 2008; 14: 173-187 [PMID: 22691774]
- 6 Ruan CT, Lam SH, Chi TC, Lee SS, Su MJ. Borapetoside C from *Tinospora crispa* improves insulin sensitivity in diabetic mice. *Phytomedicine* 2012; 19: 719-724 [PMID: 22579212 DOI: 10.1016/j.phymed.2012.03.009]
- 7 廖丹, 段雪琳. 壮药汗衣台体外抗乙型肝炎病毒疗效研究. 世界华人消化杂志 2013; 21: 171-176
- 8 沈群, 罗佳波. 中药复方药代动力学研究进展. 中国现代应用药学杂志 2004; 21: 457-460
- 9 张明, 侯世祥, 廖工铁. 复方中药制剂药物代谢动力学研究进展(II)-研究成果、意义, 方法评价与展望. 华西药理学杂志 1993; 8: 38-41
- 10 项琪, 程刚, 陈济民. 芍药甘草汤在大鼠体内药代动力学研究. 中国药理学杂志 2000; 35: 615-618
- 11 李娜, 陈西敬, 吴磊, 卢杨, 何焱, 苏云明. 甘草酸对芍药苷大鼠肠吸收的影响. 时珍国医国药 2008; 19: 2908
- 12 王文萍, 王垂杰, 谷松, 曹琦琛, 吕玉萍, 高晶晶, 王淑静. 芍药甘草汤配伍意义的药理学研究. 世界科学技术-中医药现代化 2009; 3: 382-387
- 13 马天舒, 葛迎春, 任慧君, 贾玉红, 刘平, 毋英杰, 刘建旋. 白花蛇舌草注射液对荷瘤小鼠免疫功能影响的研究. 特产研究 2010; 32: 5-7, 12
- 14 罗先钦, 兰波, 杨雪, 胡荣. 白花蛇舌草抗肿瘤和免疫调节作用研究进展. 重庆中草药研究 2011; (1): 35-37
- 15 蓝日春, 樊立勇, 韦作干. 164种特色壮药的分类及来源. 中国民族医药杂志 2011; 17: 36-40
- 16 南京中医药大学. 中药大词典(上). 第2版. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 1693
- 17 中华医学会肝病学会, 中华医学会感染病分会. 慢性乙型肝炎防治指南. 中国临床医生 2010; 40: 66-78
- 18 徐小平, 瞿章书, 姚茂军, 洪桥爱, 张伟, 汤丽娟. 不同国产 α -干扰素治疗慢性乙型肝炎临床对比观察. 临床和实验医学杂志 2012; 11: 1192-1194

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6 448种中文学术期刊参与评价,计算出各刊的最终得分,并将期刊最终得分按照从高到低依次排列,按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围.其中A+(权威期刊)取前5%;A(核心期刊)取前5%-20%;A-(扩展核心期刊)取前20%-30%;B+(准核心期刊)取前30%-50%;B(一般期刊)取前50%-80%;C(较差期刊)为80%-100%。(《世界华人消化杂志》编辑部)

染料木黄酮对人结肠癌SW620细胞生长的抑制

梅庆步, 赵忠新, 郑立红, 陈萍, 刘丹

梅庆步, 郑立红, 陈萍, 刘丹, 齐齐哈尔医学院生物遗传教研室 黑龙江省齐齐哈尔市 161006

赵忠新, 齐齐哈尔市建华医院普外科 黑龙江省齐齐哈尔市 161006

梅庆步, 主要从事生物遗传的相关研究。

齐齐哈尔市科技局基金资助项目

作者贡献分布: 此课题由刘丹与赵忠新设计; 研究过程由梅庆步、刘丹、陈萍及郑立红操作; 本文写作由梅庆步、赵忠新及刘丹完成。

通讯作者: 刘丹, 讲师, 161006, 黑龙江省齐齐哈尔市建华区卜奎大街333号, 齐齐哈尔医学院生物遗传教研室。

7896078_cn@sina.com

电话: 0452-2663174

收稿日期: 2013-01-10 修回日期: 2013-01-26

接受日期: 2013-02-01 在线出版日期: 2013-03-08

Genistein inhibits cell proliferation in human colon cancer cell line SW620

Qing-Bu Mei, Zhong-Xin Zhao, Li-Hong Zheng, Ping Chen, Dan Liu

Qing-Bu Mei, Li-Hong Zheng, Ping Chen, Dan Liu, Department of Biological Genetics, Qiqihar Medical College, Qiqihar 161006, Heilongjiang Province, China

Zhong-Xin Zhao, Department of General Surgery, Qiqihar Jian Hua Hospital, Qiqihar 161006, Heilongjiang Province, China

Supported by: the Foundation of Science and Technology Bureau of Qiqihar City

Correspondence to: Dan Liu, Lecturer, Qiqihar Medical College, Qiqihar 161006, Heilongjiang Province, China. 7896078_cn@sina.com

Received: 2013-01-10 Revised: 2013-01-26

Accepted: 2013-02-01 Published online: 2013-03-08

Abstract

AIM: To investigate the influence of genistein on cell proliferation in human colon cancer cell line SW620.

METHODS: MTT assay, Giemsa staining and Hoechst 33258 fluorescent staining were used to detect the effect of genistein on the growth and morphologic changes of SW620 cells.

RESULTS: Genistein could effectively inhibit the proliferation of SW620 cells in a dose- and time-dependent manner. Under a light microscope, cells treated with genistein showed significantly reduced number, unclear cell membrane

and nuclear boundaries, chromatin marginalization, and chromatin segmentation. Under a fluorescence microscope, the nuclei of some cells treated with genistein presented light blue fluorescence and corrugated changes, which were characteristics of apoptotic cells. The nuclei of few cells presented fragmented fluorescence signal. Apoptosis index was 27.18%.

CONCLUSION: Genistein has an obvious inhibitory effect on the proliferation of SW620 cells, and inducing apoptosis may be one of the mechanisms that are related to anticarcinogenic action of genistein.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Genistein; SW620; Apoptosis

Mei QB, Zhao ZX, Zheng LH, Chen P, Liu D. Genistein inhibits cell proliferation in human colon cancer cell line SW620. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(7): 619-623 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/619.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.619>

摘要

目的: 探讨染料木黄酮对人结肠癌SW620细胞增殖的影响。

方法: 采用MTT法、Giemsa染色法及Hoechst 33258荧光染色法检测染料木黄酮对SW620细胞生长的影响及形态学变化。

结果: 在一定浓度范围内染料木黄酮可抑制人结肠癌SW620细胞的增殖, 其抑制率与作用时间和药物剂量呈依赖关系; 光镜下可见, 药物组细胞数量明显减少, 细胞膜边界不清, 胞浆内可见空泡样结构, 核膜不清晰, 染色质边缘化, 染色质分割成块状; 荧光显微镜下可见, 药物组部分细胞核呈现亮蓝色荧光的为凋亡细胞, 细胞核呈波纹状改变, 个别细胞核可见碎块状荧光信号, 凋亡指数为27.18%。

结论: 染料木黄酮对人结肠癌SW620细胞的增殖有明显的抑制作用, 诱导细胞凋亡可能是染料木黄酮抗结肠癌的作用机制之一。

■背景资料

结肠癌是消化系统常见的恶性肿瘤之一。近年来, 随着人们生活水平的提高, 饮食结构的改变, 结肠癌的发病率及死亡率呈逐年上升的趋势, 严重危害人类的健康。流行病学研究发现, 结肠癌的发病率与大豆食品的摄入量呈明显的负相关, 如何正确利用丰富的大豆资源防治人类疾病成为一项重要课题。

■同行评议者

许剑民, 教授, 上海市复旦大学附属中山医院普外科

■研发前沿

本文明确雌激素及其受体在结肠癌发生、发展中发挥怎样的作用,为实现结肠癌的个体化治疗及预后评估提供依据.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 染料木黄酮; SW620; 细胞凋亡

梅庆步, 赵忠新, 郑立红, 陈萍, 刘丹. 染料木黄酮对人结肠癌SW620细胞生长的抑制. 世界华人消化杂志 2013; 21(7): 619-623 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/619.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.619>

0 引言

结肠癌是消化系常见的恶性肿瘤之一. 近年来, 随着人们生活水平的提高, 饮食结构的改变, 结肠癌的发病率及死亡率呈逐年上升的趋势, 严重危害人类的健康. 流行病学研究发现, 结肠癌的发病率与大豆食品的摄入量呈明显的负相关^[1-4], 而染料木黄酮(genistein, Gen)是大豆中抗癌的主要活性成分, 研究显示其具有显著防治肿瘤的效果. 本研究观察了染料木黄酮对体外培养的人结肠癌SW620细胞增殖的影响和形态学变化, 探讨染料木黄酮诱导结肠癌细胞凋亡的情况.

1 材料和方法

1.1 材料 人结肠癌细胞SW620由哈尔滨医科大学遗传室馈赠. Gen(纯度为98%)、MTT和EDTA(Sigma公司), 优级胎牛血清(Hyclone公司), 胰蛋白酶和DMSO(Amresco公司), DMEM培养基(Gibco公司), hoechst33258(南京凯基生物科技公司), Giemsa stain(Applichem公司), 其余为进口或国产分析纯.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: SW620细胞用含10 mL/L胎牛血清的DMEM培养液置于37 °C、5 mL/L CO₂培养箱中培养, 隔1 d换液, 细胞贴壁生长, 待满瓶底时, 用胰酶消化, 吹打成单细胞, 分瓶传代.

1.2.2 实验分组: 分培养基对照组、溶剂对照组(含0.04%DMSO)、Genistein药物组(10、20、40、80、160 μmol/L).

1.2.3 MTT: 取对数生长期的SW620细胞, 以 4×10^3 个/孔细胞浓度于接种于3块96孔板, 每孔100 μL细胞悬液, 每组设6个复孔, 培养24 h后, 分别加入不同处理因素, 配至200 μL, 3块板分别培养24、48、72 h后, 加入MTT(5 g/L), 每孔20 μL, 继续孵育4 h. 4 h后吸尽每孔中的培养液, 加DMSO 150 μL/孔, 振荡器上振荡10 min, 于自动酶标仪570 nm处测定每孔的吸光度(A)值, 实验重复3次, 计算抑制率(inhibition rate, IR). $IR(\%) = (1 - \text{药物组}$

$A \text{ 值} / \text{对照组} A \text{ 值}) \times 100\%$.

1.2.4 Giemsa染色法: 取对数生长期的SW620细胞, 以 2×10^5 个/孔细胞浓度接种于6孔板, 每孔2 mL细胞悬液, 每组设3个复孔, 培养24 h后, 加入含0.04%DMSO培养液、40 μmol/L Genistein, 处理72 h后, PBS洗3次, 100%甲醇固定10 min, Giemsa工作液(原液1:9稀释)染色1 min, 冲洗, 吹干, 光镜下观察细胞的密度及形态学变化.

1.2.5 Hoechst33258荧光染色法: 取对数生长期的SW620细胞, 以 2×10^5 个细胞浓度接种于直径为2.5 cm的2个培养皿中, 培养24 h后, 加入含0.04%DMSO培养液、40 μmol/L Genistein, 处理72 h后, 用冷Buffer A洗涤细胞2次, 加入1 mL的4%甲醛溶液, 4 °C固定细胞10 min; 滴加200 μL Hoechst33258工作液, 室温避光染色10 min, 水冲净晾干, 置于荧光显微镜下, 选用340 nm的激发蓝光观察细胞凋亡情况, 实验重复3次, 随机计数不同视野的1 000个细胞核, 计算凋亡指数(AI). $AI(\%) = \text{具有明显凋亡特征的细胞核总数} / 1\ 000 \times 100\%$.

统计学处理 数据用mean±SD表示, 采用SPSS16.0软件进行统计分析, 两组间均数比较采用t检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 MTT检测结果 DMSO对结肠癌细胞的增殖无明显的抑制作用, 在一定浓度范围内(10-40 μmol/L)随着染料木黄酮浓度的增加和作用时间的延长, 其对结肠癌细胞的抑制作用逐渐增强, 呈现出剂量和时间依赖性. 当浓度超过80 μmol/L时, 染料木黄酮对结肠癌细胞的抑制作用呈现出减弱的趋势, 浓度为160 μmol/L的染料木黄酮作用24 h时, 反而促进结肠癌细胞的生长, 但随着作用时间的延长, 逐渐体现出抑制生长的作用(表1).

2.2 Giemsa染色法 光学显微镜下, 药物组处理72 h后与对照组比较, 结果显示, 药物组细胞密度明显下降, 细胞膜边界不清, 胞浆内可见空泡样结构, 核膜不清晰, 染色质边缘化, 染色质分割成块状; 对照组细胞核染色均匀, 核仁清晰可见, 未见明显凋亡改变(图1).

2.3 Hoechst33258荧光染色法 荧光显微镜药物组处理72 h后与对照组比较, 结果显示, 药物组部分细胞核呈现亮蓝色荧光的为凋亡细胞, 细胞核呈波纹状改变, 个别细胞核可见碎块状荧光信号, 凋亡指数为27.18%. 对照组细胞呈现均

■相关报道

近年来, 为明确染料木黄酮抗结肠癌的作用, 国内外学者进行了大量的实验研究, 发现结肠癌因其是雌激素的靶组织之一, 与异黄酮类防治激素依赖肿瘤有很多相似之处, 与癌细胞雌激素及其受体水平相关, 因此显示出更为复杂的分子机制.

表 1 Genistein对结肠癌细胞SW620增殖的影响 (mean ± SD)

分组(μmol/L)	A值			抑制率(%)		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
对照组	0.254 ± 0.011	0.569 ± 0.012	0.858 ± 0.015	—	—	—
溶剂对照组	0.252 ± 0.023	0.563 ± 0.018	0.851 ± 0.026	0.79 ± 0.021	1.05 ± 0.015	0.82 ± 0.024
10	0.248 ± 0.014	0.523 ± 0.034	0.728 ± 0.012 ^b	2.36 ± 0.016	8.08 ± 0.028	15.15 ± 0.017
20	0.237 ± 0.006 ^a	0.471 ± 0.016 ^b	0.651 ± 0.013 ^b	6.69 ± 0.008	17.22 ± 0.012	24.13 ± 0.015
40	0.230 ± 0.013 ^a	0.430 ± 0.014 ^b	0.468 ± 0.013 ^b	9.45 ± 0.011	24.43 ± 0.015	45.45 ± 0.011
80	0.242 ± 0.014 ^a	0.451 ± 0.013 ^b	0.634 ± 0.016 ^b	4.72 ± 0.017	20.74 ± 0.011	26.11 ± 0.014
160	0.299 ± 0.035 ^b	0.521 ± 0.012 ^b	0.746 ± 0.011 ^b	-17.72 ± 0.029	8.44 ± 0.016	13.05 ± 0.013

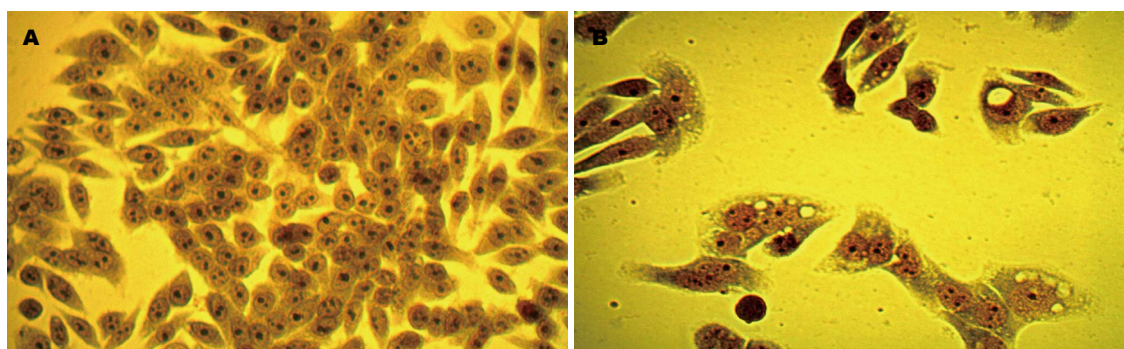
^a*P* < 0.05, ^b*P* < 0.01 vs 对照组.

图 1 Giemsa染色法观察Genistein对SW620细胞形态的影响(×400). A: 对照组; B: Genistein组.

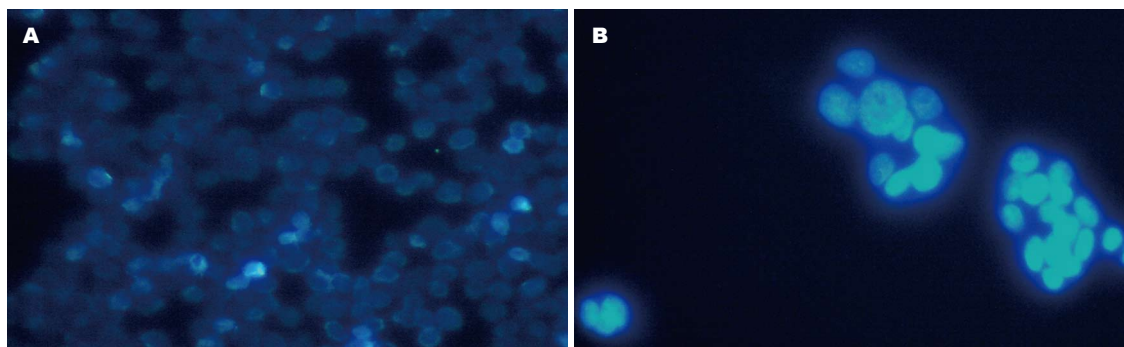


图 2 Hoechst 33258荧光染色法观察Genistein诱导SW620细胞凋亡的形态学变化(×400). A: 对照组; B: Genistein组.

匀的低蓝色荧光信号(图2).

3 讨论

肿瘤的发生是在遗传易感性的基础上, 由于各种致癌因子的作用, 导致细胞凋亡受阻或增殖过度的结果, 细胞凋亡在肿瘤的发生、发展过程中起着重要作用. 因此, 诱导肿瘤细胞凋亡被视为抗肿瘤药物研究和开发的新靶点.

染料木黄酮是一种异黄酮类的植物雌激素, 其结构与17β-雌二醇相似^[5], 具有多种生物学活性且基本无毒^[6], 尤以显著的抗肿瘤效果^[7-9]而

备受关注. 研究显示, 染料木黄酮能有效抑制前列腺癌^[10]、卵巢癌^[11]、乳腺癌^[12]、肝癌^[13-16]等多种肿瘤细胞的增殖, 诱导凋亡是其主要作用机制之一. 为探讨染料木黄酮对结肠癌细胞的生长抑制作用, 本研究以体外培养的人结肠癌SW620细胞为模型, 检测染料木黄酮对SW620细胞增殖和凋亡的影响. 结果显示, 在一定浓度范围内(10-40 μmol/L)随着染料木黄酮浓度的增加和作用时间的延长, 其对结肠癌细胞的抑制作用逐渐增强, 呈现剂量和时间依赖性; 形态学检测是鉴定细胞凋亡最可靠的方法之一^[17],

■创新盘点

国内外学者对染料木黄酮抗结肠癌细胞增殖的观点不一致, 体内外实验结果显示抑制和促进两种相反的结论, 有必要进一步探讨染料木黄酮在结肠癌发生、发展中的分子机制, 为染料木黄酮用于临床治疗提供充分的理论依据.

■应用要点

本文观察染料木黄酮对体外结肠癌细胞增殖的影响和形态学变化,探讨其诱导结肠癌细胞凋亡的情况,药物的双向作用提示染料木黄酮预防结肠癌受摄入异黄酮的类别、消耗量及个体雌激素和ER水平等因素的影响。

Giemsa染色结果显示,药物组细胞密度明显下降,细胞膜边界不清,胞浆内可见空泡样结构,核膜不清晰,染色质边缘化,染色质分割成块状;Hoechst33258荧光结果显示,药物组部分细胞核呈现亮蓝色荧光的为凋亡细胞,细胞核呈波纹状改变,个别细胞核可见碎块状荧光信号,凋亡指数为27.18%。此结果与国内外报道Genistein抑制结肠癌细胞增殖情况^[18-21]一致。

近年来,部分学者对染料木黄酮的抗结肠癌作用提出异议,Zhi等^[22]的体外研究结果显示,染料木黄酮可能促进结肠癌的形成。作者在研究染料木黄酮的抗肿瘤作用时,采用肝癌细胞MHCC97-L和结肠癌细胞SW620两类细胞,在作用于肝癌细胞的实验中,该药无双向作用^[23];而在作用于结肠癌细胞时,药物出现明显的高浓度促进癌细胞生长的现象。Nagata^[24]指出,大豆异黄酮预防乳腺癌受摄入异黄酮的类别、消耗量及个体雌激素水平和雌激素受体(ER)水平等因素的影响,这些因素的不同可能产生不一致的结果。Choi等^[25]发现,染料木黄酮对ER α (+)乳腺癌细胞MCF-7的增殖影响表现为双向作用(促进或抑制),在一定浓度内可促进癌细胞的增殖并上调ER α 的表达,而对ER α /c-erbB-2(+)的乳腺癌细胞ZR-75-1没有双向作用,且可下调ER α 和c-erbB-2的表达,提示染料木黄酮对乳腺癌细胞的抗增殖作用与ER α 和c-erbB-2受体表达有关。Hwang等^[26]发现,染料木黄酮对由17 β -雌二醇(E2)诱导的卵巢癌细胞增殖有抑制作用,并通过ER介导,特别是ER α 。Gaete等^[27]报道,染料木黄酮因刺激乳腺癌细胞生长而不是理想的雌激素替代产品。结肠是雌激素的主要靶器官之一,结肠癌是否为雌激素依赖性肿瘤目前尚无明确的定论,但雌激素及ER在结肠癌的发生、发展中发挥一定的作用^[28]。Caiazza等^[29]研究发现,E2对ER β 的上调作用,对ER β 的抗结肠作用起到了放大作用。Notarnicola等^[30]发现,CB1受体可视为结肠癌SW620、DLD-1、HT-29细胞系的雌激素敏感基因,通过17 β -雌二醇上调CB1的表达可以进一步揭示雌激素控制结肠癌细胞增殖的机制。另外,当雌激素作用于靶组织后,可在极短时间内发挥作用,这种瞬时效应提示雌激素可能不需要通过活化基因的途径,而是直接激活某些信号通路,与ER的基因组效应协同发挥作用。本研究出现的药物的双向作用与雌激素和ER水平是否相关,是否存在其他因素的影响,尚待进一步的研究。因此,不能排除染料木黄酮是结肠癌

形成的促进因素,有必要深入探讨内在的分子机制,为染料木黄酮的临床治疗提供充分的理论依据。

4 参考文献

- 1 Oba S, Nagata C, Shimizu N, Shimizu H, Kametani M, Takeyama N, Ohnuma T, Matsushita S. Soy product consumption and the risk of colon cancer: a prospective study in Takayama, Japan. *Nutr Cancer* 2007; 57: 151-157 [PMID: 17571948]
- 2 Murff HJ, Shrubsole MJ, Smalley WE, Wu H, Shyr Y, Ness RM, Zheng W. The interaction of age and hormone replacement therapy on colon adenoma risk. *Cancer Detect Prev* 2007; 31: 161-165 [PMID: 17433566]
- 3 Spector D, Anthony M, Alexander D, Arab L. Soy consumption and colorectal cancer. *Nutr Cancer* 2003; 47: 1-12 [PMID: 14769532]
- 4 Ollberding NJ, Lim U, Wilkens LR, Setiawan VW, Shvetsov YB, Henderson BE, Kolonel LN, Goodman MT. Legume, soy, tofu, and isoflavone intake and endometrial cancer risk in postmenopausal women in the multiethnic cohort study. *J Natl Cancer Inst* 2012; 104: 67-76 [PMID: 22158125 DOI: 10.1093/jnci/djr475]
- 5 Banerjee S, Li Y, Wang Z, Sarkar FH. Multi-targeted therapy of cancer by genistein. *Cancer Lett* 2008; 269: 226-242 [PMID: 18492603 DOI: 10.1016/j.canlet.2008.03.052]
- 6 Wei H, Saladi R, Lu Y, Wang Y, Palep SR, Moore J, Phelps R, Shyong E, Lebwohl MG. Isoflavone genistein: photoprotection and clinical implications in dermatology. *J Nutr* 2003; 133: 3811S-3819S [PMID: 14608119]
- 7 王丽斌, 王玉华. 金雀异黄酮抗肿瘤实验研究进展. *实用肿瘤杂志* 2012; 27: 96-100
- 8 魏华波, 马海蓉, 王振华. 植物雌激素抗肿瘤作用机制研究进展. *食品科学* 2011; 32: 274-277
- 9 Sarkar FH, Adsule S, Padhye S, Kulkarni S, Li Y. The role of genistein and synthetic derivatives of isoflavone in cancer prevention and therapy. *Mini Rev Med Chem* 2006; 6: 401-407 [PMID: 16613577]
- 10 Hörmann V, Kumi-Diaka J, Durity M, Rathinavelu A. Anticancer activities of genistein-topotecan combination in prostate cancer cells. *J Cell Mol Med* 2012; 16: 2631-2636 [PMID: 22452992 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2012.01576.x]
- 11 Ning Y, Li Q, Xiang H, Liu F, Cao J. Apoptosis induced by 7-difluoromethoxy-5,4'-di-n-octyl genistein via the inactivation of FoxM1 in ovarian cancer cells. *Oncol Rep* 2012; 27: 1857-1864 [PMID: 22447287 DOI: 10.3892/or.2012.1739]
- 12 Li Y, Chen H, Hardy TM, Tollefsbol TO. Epigenetic regulation of multiple tumor-related genes leads to suppression of breast tumorigenesis by dietary genistein. *PLoS One* 2013; 8: e54369 [PMID: 23342141 DOI: 10.1371/journal.pone.0054369]
- 13 陈鹏, 邓小凡, 胡明道. Genistein与顺铂协同抗肝癌的体外研究. *昆明医学院学报* 2010; 31: 79-83
- 14 Mansoor TA, Ramalho RM, Luo X, Ramalheite C, Rodrigues CM, Ferreira MJ. Isoflavones as apoptosis inducers in human hepatoma HuH-7 cells. *Phytother Res* 2011; 25: 1819-1824 [PMID: 21495101 DOI: 10.1002/ptr.3498]
- 15 Gu Y, Zhu CF, Dai YL, Zhong Q, Sun B. Inhibi-

- tory effects of genistein on metastasis of human hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 4952-4957 [PMID: 19842228 DOI: 10.3748/wjg.15.4952]
- 16 Jin CY, Park C, Kim GY, Lee SJ, Kim WJ, Choi YH. Genistein enhances TRAIL-induced apoptosis through inhibition of p38 MAPK signaling in human hepatocellular carcinoma Hep3B cells. *Chem Biol Interact* 2009; 180: 143-150 [PMID: 19497411 DOI: 10.1016/j.cbi.2009.03.020]
 - 17 陈誉华. 医学细胞生物学. 第4版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 345
 - 18 凌航, 陈裕庆, 高美钦, 张文敏. Genistein联合5-FU对人结肠癌细胞株SW480增殖与凋亡的影响. *中华肿瘤防治杂志* 2010; 17: 912-915
 - 19 龚军, 王正文, 朱明才, 汤为学, 黄义明, 彭彬, 李兴华. 金雀异黄素和5-FU对人结肠癌细胞株(SW480)的相互作用的体外观察. *中国现代医学杂志* 2006; 16: 873-876
 - 20 Zhu Q, Meisinger J, Van Thiel DH, Zhang Y, Mo-barhan S. Effects of soybean extract on morphology and survival of Caco-2, SW620, and HT-29 cells. *Nutr Cancer* 2002; 42: 131-140 [PMID: 12235645]
 - 21 Arai N, Ström A, Rafter JJ, Gustafsson JA. Estrogen receptor beta mRNA in colon cancer cells: growth effects of estrogen and genistein. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 270: 425-431 [PMID: 10753641]
 - 22 Zhi H, Yamada Y, Hirose Y, Kato K, Sheng H, Zheng Q, Oyama T, Asano N, Kuno T, Hara A, Mori H. Effect of 2-(carboxyphenyl) retinamide and genistein on the formation of early lesions in 1,2-dimethylhydrazine-induced colon carcinogenesis in rats. *Asian Pac J Cancer Prev* 2007; 8: 33-38 [PMID: 17477768]
 - 23 刘丹, 赵忠新. Genistein与5-FU联合对人肝癌细胞MHCC97-L的抗增殖作用. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 2474-2478
 - 24 Nagata C. Factors to consider in the association between soy isoflavone intake and breast cancer risk. *J Epidemiol* 2010; 20: 83-89 [PMID: 20173308]
 - 25 Choi EJ, Kim GH. Antiproliferative activity of daidzein and genistein may be related to ER α /c-erbB-2 expression in human breast cancer cells. *Mol Med Report* 2013 Jan 21. [Epub ahead of print] [PMID: 23337939 DOI: 10.3892/mmr.2013.1283]
 - 26 Hwang KA, Kang NH, Yi BR, Lee HR, Park MA, Choi KC. Genistein, a soy phytoestrogen, prevents the growth of BG-1 ovarian cancer cells induced by 17 β -estradiol or bisphenol A via the inhibition of cell cycle progression. *Int J Oncol* 2013; 42: 733-740 [PMID: 23229410 DOI: 10.3892/ijo.2012.1719]
 - 27 Gaete L, Tchernitchin AN, Bustamante R, Villena J, Lemus I, Gidekel M, Cabrera G, Astorga P. Daidzein-estrogen interaction in the rat uterus and its effect on human breast cancer cell growth. *J Med Food* 2012; 15: 1081-1090 [PMID: 23216111 DOI: 10.1089/jmf.2011.0322]
 - 28 张全安, 徐瀚峰, 冯继峰. 雌激素和大肠癌关系的研究进展. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 272-275
 - 29 Caiazza F, Galluzzo P, Lorenzetti S, Marino M. 17Beta-estradiol induces ERbeta up-regulation via p38/MAPK activation in colon cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 359: 102-107 [PMID: 17524358]
 - 30 Notarnicola M, Messa C, Orlando A, Bifulco M, Laezza C, Gazzerri P, Caruso MG. Estrogenic induction of cannabinoid CB1 receptor in human colon cancer cell lines. *Scand J Gastroenterol* 2008; 43: 66-72 [PMID: 18938775]

■同行评价

本文设计合理, 方法恰当, 结果真实, 有一定的科研价值。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

Wnt3、Wnt3a在胃癌组织中的表达及意义

官文华, 杨堃, 赵文君, 刘希双, 王秀娟

■背景资料

Wnt信号通路与人类多种肿瘤的发生密切相关, 尤其在消化系统肿瘤的发生、发展中。目前, 在对胃癌的研究中, 已有较多关于Wnt信号通路异常活化的报道, 但更多着眼于β-catenin/TCF等关键环节, 因此Wnt信号通路在胃癌中的作用远未明确。本文对胃癌组织中Wnt3、Wnt3a、Wnt5a、Wnt8a及β-catenin基因进行检测和分析。目前相关研究报道较少。

官文华, 赵文君, 刘希双, 青岛大学医学院附属医院内镜诊疗科 山东省青岛市 266003

杨堃, 青岛大学医学院附属医院中心实验室 山东省青岛市 266003

王秀娟, 青岛市第八人民医院 山东省青岛市 266100

山东省自然科学基金资助项目, No. ZR2009CQ040

作者贡献分布: 官文华、刘希双及杨堃对此文所作贡献均等; 此课题由刘希双、杨堃及赵文君设计; 研究过程由官文华与王秀娟操作完成; 研究所用器材及分析工具由杨堃提供; 数据统计分析由官文华与杨堃完成; 本论文写作由官文华与刘希双完成。

通讯作者: 刘希双, 主任医师, 266003, 山东省青岛市江苏路16号, 青岛大学医学院附属医院内镜诊疗科。liuxishuang1@sina.com
电话: 0532-82911525

收稿日期: 2013-01-15 修回日期: 2013-01-30

接受日期: 2013-02-01 在线出版日期: 2013-03-08

Significance of expression of Wnt3 and Wnt3a in gastric carcinoma

Wen-Hua Guan, Kun Yang, Wen-Jun Zhao,
Xi-Shuang Liu, Xiu-Juan Wang

Wen-Hua Guan, Wen-Jun Zhao, Xi-Shuang Liu, Department of Endoscopic Diagnostics and Therapeutics, the Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China

Kun Yang, Central Laboratory, the Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China

Xiu-Juan Wang, Eighth People's Hospital of Qingdao City, Qingdao 266100, Shandong Province, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Shandong Province, No. ZR2009CQ040

Correspondence to: Xi-Shuang Liu, Chief Physician, Department of Endoscopic Diagnostics and Therapeutics, the Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, 16 Jiangsu Road, Qingdao 266003, Shandong Province, China. liuxishuang1@sina.com

Received: 2013-01-15 Revised: 2013-01-30

Accepted: 2013-02-01 Published online: 2013-03-08

Abstract

AIM: To detect the expression of Wnt3, Wnt3a, Wnt5a, Wnt8a and β-catenin in chronic atrophic gastritis (CAG) and gastric carcinoma (GC), and to investigate the role of the Wnt signaling pathway in the pathogenesis of GC.

METHODS: The mRNA expression of Wnt3, Wnt3a, Wnt5a and Wnt8a in 26 fresh CAG and 40 GC tissue samples was examined using Real-time RT-PCR. The protein expression of

β-catenin was detected by Western blot.

RESULTS: The mRNA expression levels of Wnt3 and Wnt3a were significantly increased in GC (1.9940 ± 0.1311 vs 1.3349 ± 0.2487 , $P < 0.05$; 2.3033 ± 0.3979 vs 1.2835 ± 0.2815 , $P < 0.05$) and were associated with lymph node metastasis and TNM stage. The expression of Wnt5a and Wnt8a did not significantly differ between CAG and GC (both $P > 0.05$). Western blot analysis showed that the relative expression of β-catenin protein was significantly elevated in GC compared with CAG (0.6290 ± 0.1369 vs 0.2341 ± 0.0975 , $P < 0.05$).

CONCLUSION: Our results suggest that Wnt3 and Wnt3a may be critically involved in the activation of the Wnt signaling pathway and in the carcinogenesis and progression of GC.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Chronic atrophic gastritis; Gastric cancer; β-catenin; Wnt signaling pathway; Gene expression

Guan WH, Yang K, Zhao WJ, Liu XS, Wang XJ. Significance of expression of Wnt3 and Wnt3a in gastric carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(7): 624-628 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/624.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.624>

摘要

目的: 探讨Wnt3、Wnt3a、Wnt5a、Wnt8a和β-catenin基因在胃癌及慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)组织中的表达及在胃癌发生、发展中的作用。

方法: 应用Real-time RT-PCR方法检测26例CAG和40例胃癌组织中Wnt3、Wnt3a、Wnt5a、Wnt8a mRNA的表达情况, Western blot检测β-catenin蛋白的表达。

结果: Wnt3和Wnt3a mRNA的表达在胃癌组织中较CAG中升高(1.9940 ± 0.1311 vs 1.3349 ± 0.2487 , $P < 0.05$; 2.3033 ± 0.3979 vs 1.2835 ± 0.2815 , $P < 0.05$), 并与胃癌的淋巴结转移及

■同行评议者

冯志杰, 主任医师,
河北医科大学第二医院消化内科

TNM分期具有相关性, 而Wnt5a和Wnt8a在两种组织中的表达无显著差异($P>0.05$), Western blot结果显示 β -catenin蛋白在胃癌中表达升高(0.6290 ± 0.1369 vs 0.2341 ± 0.0975 , $P<0.05$).

结论: Wnt/ β -catenin信号通路在胃癌组织中呈活化状态, 而Wnt3和Wnt3a可能在启动此通路的激活过程中起到了主要作用, 并参与了胃癌的发生发展.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 慢性萎缩性胃炎; 胃癌; β -catenin; Wnt信号通路; 基因表达

官文华, 杨堃, 赵文君, 刘希双, 王秀娟. Wnt3、Wnt3a在胃癌组织中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(7): 624-628 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/624.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i7.624>

0 引言

胃癌是我国最常见的恶性肿瘤之一, 大部分患者在确诊时已处于中晚期, 其病死率居各种肿瘤第2位, 5年生存率较低. 胃癌的发生发展是一个多因素、多基因、多阶段共同作用的复杂过程, 其具体的致病机制仍不清楚. 目前已有研究发现, 在包括胃癌在内的多种人类肿瘤中都存在Wnt通路的异常激活^[1-6]. Wnt通路是细胞中一条重要的、保守的信号转导途径, 参与了胚胎发育、细胞增殖、分化与凋亡等多种生物学过程的调控. Wnt通路的失调与许多人类疾病有着密切的联系. 当细胞中存在异常Wnt信号时, 可导致其下游成分 β -catenin不能经过正常磷酸化及降解而在胞质中过度累积. 而 β -catenin是一种多功能胞浆蛋白, 既是经典Wnt通路的关键枢纽分子, 也参与正常细胞中黏着复合体的形成, 介导同型细胞间的黏附. 本研究对40例胃癌及26例慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)组织中Wnt家族成员Wnt3、Wnt3a、Wnt5a和Wnt8a的表达情况进行观察, 初步探讨几种Wnt蛋白在Wnt信号通路的激活以及胃癌发生发展中的作用.

1 材料和方法

1.1 材料 收集 2011-05/2011-12青岛大学医学院附属医院普外科胃癌手术标本40例. 其中男29例, 女11例, 年龄36-79岁, 中位年龄62.5岁, 男女比例2.64:1, 经病理诊断低分化腺癌27例, 高

分化腺癌12例, 印戒细胞癌1例. 患者术前均未接受放化疗. 另外胃镜普通活检钳取26例胃窦组织, 经病理诊断为CAG. 其中男14例, 女12例, 年龄43-70岁, 中位年龄57岁. 所有组织取出后立即置于液氮冻存, 并迅速转移至-80℃冰箱保存. RNAiso RNA抽提试剂、逆转录试剂盒和SYBR Green荧光定量PCR试剂盒均购自TaKaRa公司; PCR引物使用ABI公司Primer Express软件设计, 由上海生工生物工程公司合成; 蛋白酶抑制剂Halt™ Protease Inhibitor Cocktail购自Thermo Scientific公司; β -catenin和GAPDH一抗、HRP标记羊抗兔二抗购自美国Cell Signaling公司.

1.2 方法

1.2.1 总RNA提取及Real-time RT-PCR检测: TRIzol法提取组织总RNA, 紫外分光光度仪测定RNA的纯度和含量. 逆转录反应依照TaKaRa公司逆转录试剂盒说明书进行操作. 将逆转录产物进行PCR反应, 反应体系如下: cDNA 2 μ L, 2 \times SYBR Premix Ex Taq II 10 μ L, 5 μ mol/L上、下游引物各1.6 μ L, ddH₂O 4.8 μ L(PCR引物序列见表1). 于Roche LightCycler Real-time PCR仪中进行PCR反应, 反应条件为: 95℃变性30 s; 95℃ 5 s, 60℃ 30 s, 共40个循环. 反应结束后分析融解曲线, 并由扩增曲线得到各产物的Ct值, 2^{- $\Delta\Delta$ Ct}法计算目的基因和内参基因之间的相对含量.

1.2.2 蛋白抽提及Western blot分析: 于20 mg组织中加入150 μ L含有蛋白酶抑制剂的RIPA裂解液, 低温下匀浆提取总蛋白. BCA法测定蛋白浓度后, 保存在-80℃冰箱备用. 电泳前取50 μ g蛋白标本加入上样缓冲液于100℃加热变性5 min, 10%SDS-PAGE胶中电泳2 h后将蛋白转移至PVDF膜. 将膜置于含有5%脱脂奶粉的PBST中封闭1 h, 加入1:1 000稀释的 β -catenin或GAPDH一抗于4℃孵育过夜, 再与1:3 000稀释的HRP标记羊抗兔二抗室温孵育1 h, PBST洗膜3次后ECL化学发光显色. Vilber Fusion Fx7凝胶成像仪摄取图像, Quantity One软件测定条带灰度值, 计算 β -catenin/GAPDH灰度比值.

统计学处理 使用SPSS19.0软件进行统计学分析, 应用非配对t检验分析各组间的差异. 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 Wnt3、Wnt3a在胃癌中表达升高 Real-time PCR结果显示, 胃癌组织中Wnt3和Wnt3a mRNA的相对表达量与CAG组相比较分别升

■ 研发前沿

Wnt信号通路在调控胚胎发育、参与细胞增殖、分化与凋亡中的作用已逐渐被人们认识, 其异常活化可以导致人类多种肿瘤的发生. 两者间的相关性已成为目前的研究热点.

■ 相关报道

Benhaj等发现Wnt3a在部分人类乳腺癌细胞系中表达增高,而Wnt3、Wnt8a则没有明显变化。Katoh等在对37种人类癌细胞系的研究中发现Wnt3在A549肺癌细胞系和MNK45胃癌细胞系中的表达水平相对较高。

表 1 PCR引物序列

	上游序列	下游序列	扩增产物片段(bp)
Wnt3	AGCGCCTCGGAGATGGTAGTA	CTGGGTTGGGCTCACAAAAGT	148
Wnt3a	CAGGGTGAAGACATGCTGGTG	CGAGGCGCTGTCGTACTTGT	82
Wnt5a	TCGACTATGGCTACCGCTTTG	CGTTGTTGTGCAGGTTTCATGA	114
Wnt8a	GTGAGAGCCACCATGAAAAGGA	ATTTCATTTTCAGCGCCTGG	146

表 2 胃癌和慢性萎缩性胃炎组织中Wnt基因mRNA表达水平

	慢性萎缩性胃炎	胃癌	P值
Wnt3	1.3349 ± 0.2487	1.9940 ± 0.1311	0.0174
Wnt3a	1.2835 ± 0.2815	2.3033 ± 0.3979	0.0497
Wnt5a	1.8269 ± 0.1781	1.7802 ± 0.1772	0.8545
Wnt8a	1.5263 ± 0.2302	1.0229 ± 0.2238	0.1255

高了49.37%和79.45%,差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。而Wnt5a和Wnt8a mRNA在两种组织中的表达量未发现明显差异($P < 0.05$,表2)。

2.2 胃癌中 β -catenin蛋白水平较CAG组升高 我们应用Western blot方法检测了 β -catenin蛋白的表达,结果显示 β -catenin蛋白在CAG及胃癌组织中的相对表达量分别为 0.2341 ± 0.0975 和 0.6290 ± 0.1369 ,胃癌组较CAG组升高1.69倍,差异具有统计学意义($P = 0.0407$,图1,2)。

2.3 Wnt基因表达水平与胃癌临床病理参数之间的关系 Wnt3a和Wnt5a在50岁以上以及TNM III-IV期的胃癌患者中的表达显著高于50岁以下以及TNM I-II期的患者;Wnt3a在淋巴结转移组中的表达量较无转移组升高0.97倍,而Wnt3和Wnt8a在淋巴结转移组中的表达量则较无转移组分别降低了19.73%和67.28%,差异均具有统计学意义;Wnt3、Wnt3a和Wnt5a的表达与胃癌的浸润深度无显著关联,而Wnt8a在未侵及浆膜层的患者中表达升高(表3)。

3 讨论

Wnt家族是一类富含半胱氨酸的分泌性糖蛋白,目前在人类中已发现19种Wnt蛋白家族成员,他们通过与细胞表面基质及其特异性受体卷曲蛋白(Frizzled, Fz)相互作用,激活下游的Wnt信号转导通路^[7]。 β -catenin是经典Wnt信号通路的关键枢纽分子, β -catenin的氨基末端有数个酪氨酸蛋白激酶(CK1 α)和糖原合成酶激酶3 β (GSK-3 β)的磷酸化位点,这些位点的磷酸化与去磷酸化对调控 β -catenin的功能转换起到重要作用^[8,9]。当

Wnt信号通路激活时,细胞中的 β -catenin不能经过正常磷酸化及降解而导致其在胞质中累积并转移到细胞核中激活下游靶基因转录,从而产生特定的生物学效应^[10]。

目前研究发现在多种人类肿瘤中都存在一种或多种Wnt基因家族成员的异常表达,这些基因的表达失调可能参与了下游Wnt信号通路的激活,从而导致了肿瘤的发生、发展^[11-13]。也有研究发现,正常成熟细胞中缺乏Wnt信号,在导入异常外源性Wnt信号或突变的 β -catenin基因后,细胞的转录活性提高,进而导致正常细胞发生癌变^[14]。Benhaj等^[15]发现Wnt3a在部分人类乳腺癌细胞系中表达增高,而Wnt3、Wnt8a则没有明显变化。Katoh等^[16]在对37种人类癌细胞系的研究中发现Wnt3在A549肺癌细胞系和MNK45胃癌细胞系中的表达水平相对较高。上述结果提示Wnt3、Wnt3a表达失调导致的Wnt信号通路活化与肿瘤的发生有着密切的关系。本研究检测了Wnt3、Wnt3a、Wnt5a、Wnt8a mRNA以及 β -catenin蛋白在CAG和胃癌组织中的表达情况,发现在胃癌组织中Wnt3、Wnt3a及 β -catenin的表达量明显增高,这些结果提示Wnt/ β -catenin通路在胃癌中处于活化状态,且Wnt3、Wnt3a可能在启动胃癌中Wnt通路的活化过程中起到了主要作用。本研究同时发现Wnt3a的高表达与胃癌患者的年龄、淋巴结转移及TNM分期相关,说明其参与了胃癌的发展过程,并且与胃癌转移以及较差的预后具有相关性。我们推测这可能与胃癌中高表达的Wnt3a激活Wnt通路导致大量 β -catenin在胞质中累积有关。正常细胞中无Wnt信号时,胞质内 β -catenin大部分与细胞膜上E-钙黏蛋白(E-cadherin)结合形成黏着复合体,介导同型细胞间的黏附,对维持上皮形态结构的完整性和细胞极性起到重要作用^[17]。在癌组织中可能存在黏着复合体异常表达,使癌细胞丧失极性,具备侵袭性。肿瘤细胞间黏附功能减弱是肿瘤浸润和转移的关键。而李俊国等^[18]应用免疫组织化学法发现Wnt3a在胃溃疡和胃癌组织中无

表 3 Wnt基因mRNA表达水平与胃癌临床病理参数之间的关系

	年龄(岁)		侵及浆膜层		淋巴结转移		TNM分期	
	≤50	>50	无	有	无	有	I-II	III-IV
Wnt3	2.01 ± 0.21	1.95 ± 0.17	2.26 ± 0.07	1.87 ± 0.18	2.23 ± 0.14 ^a	1.79 ± 0.19	2.26 ± 0.13 ^b	1.61 ± 0.17
Wnt3a	1.49 ± 0.26	2.67 ± 0.55 ^a	1.66 ± 0.23	2.58 ± 0.56	1.50 ± 0.21	2.95 ± 0.66 ^a	1.41 ± 0.21	3.64 ± 0.89 ^a
Wnt5a	1.17 ± 0.38	1.99 ± 0.18 ^a	1.50 ± 0.39	1.90 ± 0.18	1.56 ± 0.29	1.95 ± 0.21	1.43 ± 0.31	2.40 ± 0.12 ^a
Wnt8a	0.82 ± 0.49	1.03 ± 0.25	1.52 ± 0.47 ^a	1.90 ± 0.18	1.62 ± 0.35 ^a	0.53 ± 0.22	1.46 ± 0.37	0.64 ± 0.31

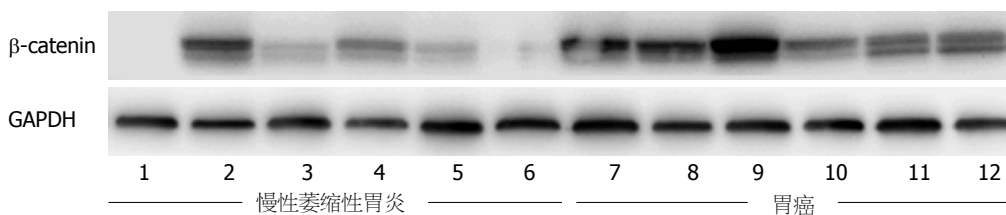
^aP<0.05, ^bP<0.01.

图 1 β-catenin和内参GAPDH在胃癌和慢性萎缩性胃炎组织中的表达. 1-6: 慢性萎缩性胃炎组织标本; 7-12: 胃癌组织标本.

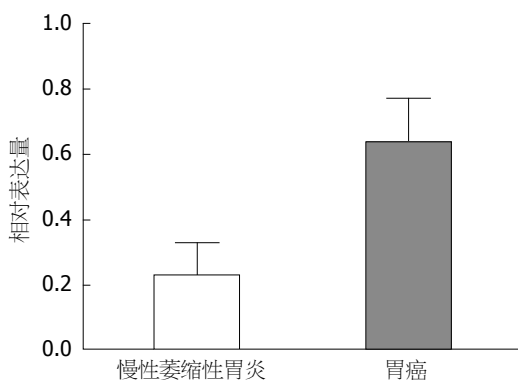


图 2 胃癌和慢性萎缩性胃炎组织中β-catenin蛋白表达水平的比较.

表达, 推测Wnt3a蛋白仅对细胞的分化成熟起重要作用, 并未作为分泌蛋白参与胃癌的发病与转移. 本研究与此相反, 可能是由于实验的局限性而未能完全反应表达情况, 因此尚需进一步全面深入的研究.

另外, 我们的研究结果显示Wnt5a和Wnt8a的表达在胃癌组织和CAG组织中无显著差异, 提示Wnt5a和Wnt8a可能不是启动胃癌中Wnt通路活化的主要分子. Saitoh等^[19,20]在研究中发现Wnt8a在多种人类胚胎癌细胞系中存在高表达, 而在胰腺癌、乳腺癌及脑瘤细胞系中并未检测到其表达. 而且他们还发现Wnt5a在部分胃癌组织中表达升高, 而在许多胃癌细胞系中Wnt5a表达水平却较低, 甚至未检测到^[21,22]. 这些研究表明, 在不同的肿瘤发生、发展过程中, Wnt5a

和Wnt8a可能发挥了不同甚至截然相反的作用, 其分子机制可能存在较大差异. 但也有相反的报道, Wnt5a mRNA在胃癌组织中高表达, 且与胃癌的分期、预后、组织学分型及淋巴结转移相关^[23,24]. 我们推测这可能与Wnt5a参与非经典Wnt通路有关, 而其具体的分子机制仍不清楚.

综上所述, 本文对胃癌中Wnt家族成员Wnt3、Wnt3a、Wnt5a和Wnt8a的表达以及他们与胃癌各临床病理参数之间的关系进行了系统的研究, 结果表明相对Wnt5a和Wnt8a, Wnt3和Wnt3a可能在启动胃癌中Wnt信号通路的活化过程中起到了更为主要的作用, 并且其表达与胃癌转移及较差的预后相关, 参与了胃癌的发生发展. 这些发现可望为胃癌的早期诊断及基因治疗提供依据, 但目前关于胃癌中Wnt基因表达活化机制及其与胃癌发生发展之间的关系还远未明确, 其在胃癌诊断和治疗中的作用需要更深层次的研究.

4 参考文献

- 1 Moravec M. [Colorectal cancer and canonical Wnt signalling pathway]. *Cas Lek Cesk* 2012; 151: 335-342 [PMID: 22913786]
- 2 Lachenmayer A, Alsinet C, Savic R, Cabellos L, Toffanin S, Hoshida Y, Villanueva A, Minguez B, Newell P, Tsai HW, Barretina J, Thung S, Ward SC, Bruix J, Mazzaferro V, Schwartz M, Friedman SL, Llovet JM. Wnt-pathway activation in two molecular classes of hepatocellular carcinoma and experimental modulation by sorafenib. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 4997-5007 [PMID: 22811581 DOI:

■应用要点

由于胃癌病因未明, 缺乏有效地一级预防, 二级预防成为重点, 因此早期诊断及治疗成为重点. 分子靶向治疗是目前肿瘤治疗的研究热点之一. 本文研究了Wnt信号通路中Wnt基因及β-catenin在慢性胃炎到胃癌的发生过程的表达量, 为胃癌的治疗提供新的思路.

■同行评价

本文技术路线可行,方法先进,对探讨胃癌的发生发展具有一定的理论价值。

- 3 10.1158/1078-0432.CCR-11-2322]
- 3 Zhu J, Zhang S, Gu L, Di W. Epigenetic silencing of DKK2 and Wnt signal pathway components in human ovarian carcinoma. *Carcinogenesis* 2012; 33: 2334-2343 [PMID: 22964660 DOI: 10.1093/carcin/bgs278]
- 4 Cai C, Zhu X. The Wnt/ β -catenin pathway regulates self-renewal of cancer stem-like cells in human gastric cancer. *Mol Med Report* 2012; 5: 1191-1196 [PMID: 22367735 DOI: 10.3892/mmr.2012.802]
- 5 Pan KF, Liu WG, Zhang L, You WC, Lu YY. Mutations in components of the Wnt signaling pathway in gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 1570-1574 [PMID: 18330950 DOI: 10.3748/wjg.14.1570]
- 6 Zhang H, Xue Y. Wnt pathway is involved in advanced gastric carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2008; 55: 1126-1130 [PMID: 18705344]
- 7 Dierick H, Bejsovec A. Cellular mechanisms of wingless/Wnt signal transduction. *Curr Top Dev Biol* 1999; 43: 153-190 [PMID: 9891886 DOI: 10.1016/S0070-2153(08)60381-6]
- 8 Kitagawa M, Hatakeyama S, Shirane M, Matsumoto M, Ishida N, Hattori K, Nakamichi I, Kikuchi A, Nakayama K, Nakayama K. An F-box protein, FWD1, mediates ubiquitin-dependent proteolysis of β -catenin. *EMBO J* 1999; 18: 2401-2410 [PMID: 10228155 DOI: 10.1093/emboj/18.9.2401]
- 9 Liu C, Li Y, Semenov M, Han C, Baeg GH, Tan Y, Zhang Z, Lin X, He X. Control of β -catenin phosphorylation/degradation by a dual-kinase mechanism. *Cell* 2002; 108: 837-847 [PMID: 11955436 DOI: 10.1016/S0092-8674(02)00685-2]
- 10 Boyer B, Vallés AM, Edme N. Induction and regulation of epithelial-mesenchymal transitions. *Biochem Pharmacol* 2000; 60: 1091-1099 [PMID: 11007946 DOI: 10.1016/S0006-2952(00)00427-5]
- 11 Carmon KS, Loose DS. Development of a bioassay for detection of Wnt-binding affinities for individual frizzled receptors. *Anal Biochem* 2010; 401: 288-294 [PMID: 20227380 DOI: 10.1016/j.ab.2010.03.009]
- 12 Yan L, Della Coletta L, Powell KL, Shen J, Thames H, Aldaz CM, MacLeod MC. Activation of the canonical Wnt/ β -catenin pathway in ATF3-induced mammary tumors. *PLoS One* 2011; 6: e16515 [PMID: 21304988 DOI: 10.1371/journal.pone.0016515]
- 13 Cheng JH, She H, Han YP, Wang J, Xiong S, Asahina K, Tsukamoto H. Wnt antagonism inhibits hepatic stellate cell activation and liver fibrosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 294: G39-G49 [PMID: 18006602 DOI: 10.1152/ajpgi.00263.2007]
- 14 Aoki M, Hecht A, Kruse U, Kemler R, Vogt PK. Nuclear endpoint of Wnt signaling: neoplastic transformation induced by transactivating lymphoid-enhancing factor 1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 139-144 [PMID: 9874785 DOI: 10.1073/pnas.96.1.139]
- 15 Benhaj K, Akcali KC, Ozturk M. Redundant expression of canonical Wnt ligands in human breast cancer cell lines. *Oncol Rep* 2006; 15: 701-707 [PMID: 16465433]
- 16 Katoh M. Molecular cloning and characterization of human WNT3. *Int J Oncol* 2001; 19: 977-982 [PMID: 11604997]
- 17 Tian X, Liu Z, Niu B, Zhang J, Tan TK, Lee SR, Zhao Y, Harris DC, Zheng G. E-cadherin/ β -catenin complex and the epithelial barrier. *J Biomed Biotechnol* 2011; 2011: 567305 [PMID: 22007144 DOI: 10.1155/2011/567305]
- 18 李俊国, 寸向农, 杨开明. Wnt3a、 β -catenin与CyclinD1在胃癌和胃溃疡组织中的表达及其临床意义. *川北医学院学报* 2012; 27: 201-205
- 19 Saitoh T, Mine T, Katoh M. Expression and regulation of WNT8A and WNT8B mRNAs in human tumor cell lines: up-regulation of WNT8B mRNA by beta-estradiol in MCF-7 cells, and down-regulation of WNT8A and WNT8B mRNAs by retinoic acid in NT2 cells. *Int J Oncol* 2002; 20: 999-1003 [PMID: 11956596]
- 20 Saitoh T, Katoh M. Molecular cloning and characterization of human WNT8A. *Int J Oncol* 2001; 19: 123-127 [PMID: 11408932]
- 21 Saitoh T, Mine T, Katoh M. Up-regulation of WNT8B mRNA in human gastric cancer. *Int J Oncol* 2002; 20: 343-348 [PMID: 11788899]
- 22 Saitoh T, Mine T, Katoh M. Frequent up-regulation of WNT5A mRNA in primary gastric cancer. *Int J Mol Med* 2002; 9: 515-519 [PMID: 11956659]
- 23 Kurayoshi M, Oue N, Yamamoto H, Kishida M, Inoue A, Asahara T, Yasui W, Kikuchi A. Expression of Wnt-5a is correlated with aggressiveness of gastric cancer by stimulating cell migration and invasion. *Cancer Res* 2006; 66: 10439-10448 [PMID: 17079465 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-2359]
- 24 刘晓红, 曹智新, 耿明, 曹永成, 王义, 辛萱, 王翠翠, 毕利泉. Wnt-5a基因在胃癌中的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1222-1226

编辑 田滢 电编 鲁亚静



胆红素吸附联合血浆置换治疗高胆红素血症42例

赵和平, 侯田青, 丁保华, 张自然, 邢笑洁, 智慧, 申晓方

赵和平, 侯田青, 丁保华, 张自然, 邢笑洁, 智慧, 申晓方, 中国人民解放军150医院肝病诊疗研究中心 河南省洛阳市 471003

赵和平, 主任医师, 主要从事各种肝病的诊疗研究。

作者贡献分布: 此课题由赵和平、丁保华及张自然设计; 研究过程由邢笑洁、智慧及申晓方操作完成; 数据分析由侯田青完成; 本论文写作由赵和平、侯田青、丁保华及张自然完成。

通讯作者: 赵和平, 主任医师, 471003, 河南省洛阳市高新区, 中国人民解放军150医院肝病诊疗研究中心。

zhaohp150@sina.com

收稿日期: 2012-11-16 修回日期: 2012-12-30

接受日期: 2013-01-25 在线出版日期: 2013-03-08

Therapeutic effect of plasma exchange combined with bilirubin adsorption for hyperbilirubinemia: An analysis of 42 cases

He-Ping Zhao, Tian-Qing Hou, Bao-Hua Ding, Zi-Ran Zhang, Xiao-Jie Xing, Hui Zhi, Xiao-Fang Shen

He-Ping Zhao, Tian-Qing Hou, Bao-Hua Ding, Zi-Ran Zhang, Xiao-Jie Xing, Hui Zhi, Xiao-Fang Shen, Center for Hepatology Diagnosis and Treatment, the 150th Hospital of Chinese PLA, Luoyang 471003, Henan Province, China

Correspondence to: He-Ping Zhao, Chief Physician, Center for Hepatology Diagnosis and Treatment, the 150th Hospital of Chinese PLA, Luoyang 471003, Henan Province, China. zhaohp150@sina.com

Received: 2012-11-16 Revised: 2012-12-30

Accepted: 2013-01-25 Published online: 2013-03-08

Abstract

AIM: To analyze the therapeutic effect of plasma exchange (PE) combined with bilirubin adsorption (BA) in the treatment of hyperbilirubinemia.

METHODS: Forty-two patients with hyperbilirubinemia (55 events altogether) treated by PE combined with BA, including 28 males and 14 females, were enrolled. Their mean age was 52.14 years \pm 8.52 years.

RESULTS: The overall response rate was 95.24% for the combination treatment group and 76.66% for the normal treatment group. There was a significant difference in the overall response rate between the two groups ($P < 0.05$). Both groups

had a significant improvement in liver function after treatment. The combination treatment was more effective in the improvement of TBil and alkaline phosphatase (ALP) levels (both $P < 0.05$).

CONCLUSION: PE combined with BA is safe and effective in the treatment of hyperbilirubinemia.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Hyperbilirubinemia complication; Liver failure; Complications occurrence; Bilirubin adsorption; Plasma exchange; Artificial liver

Zhao HP, Hou TQ, Ding BH, Zhang ZR, Xing XJ, Zhi H, Shen XF. Therapeutic effect of plasma exchange combined with bilirubin adsorption for hyperbilirubinemia: An analysis of 42 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(7): 629-632 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/629.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.629>

摘要

目的: 观察胆红素吸附(bilirubin adsorption, BA)联合血浆置换(plasma exchange, PE)治疗高胆红素血症的临床疗效。

方法: 采用BA联合PE治疗高胆红素血症患者42例(共55例次), 其中男28例, 女14例; 平均年龄52.14岁 \pm 8.52岁。

结果: BA联合PE治疗组总有效率为95.24%, 常规治疗组总有效率为76.66%。两组总有效率相比, 有显著性差异($P < 0.05$); 两组治疗前后肝功能改善比较有显著性差异, 两组治疗后血清总胆红素、碱性磷酸酶改善比较有显著性差异($P < 0.05$)。

结论: BA联合PE治疗高胆红素血症是安全有效的治疗方法, 并发症发生率低。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 高胆红素血症; 肝功能衰竭; 并发症; 胆红素吸附; 血浆置换; 人工肝

赵和平, 侯田青, 丁保华, 张自然, 邢笑洁, 智慧, 申晓方。胆

■背景资料

各种原因导致的高胆红素血症患者, 病情较重, 临床不适症状明显, 然而单纯内科药物治疗效果不佳。胆红素吸附(BA)联合血浆置换(PE), 是近年来应用于临床的新型组合型人工肝支持系统, 该联合治疗既具有吸附和置换的优点, 同时又相互弥补各自的不足, 并可减少血浆的用量, 治疗高胆红素血症疗效确切。

■同行评议者

江建新, 副主任医师, 贵阳医学院附属医院肝胆外科; 杨江华, 副教授, 皖南医学院弋矶山医院感染科; 马欣, 主任医师, 甘肃省人民医院消化科; 邵先玉, 教授, 泰山医学院附属医院消化内科

■研究前沿

胆红素吸附联合血浆置换作为近年来应用于临床的新型组合型人工肝支持系统, 对其疗效及安全性的深入评价成为临床应用的研究热点。

红素吸附联合血浆置换治疗高胆红素血症42例. 世界华人消化杂志 2013; 21(7): 629-632 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/629.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i7.629>

0 引言

高胆红素血症是指各种肝病引起的胆红素代谢障碍, 血液中胆红素水平升高, 从而造成一系列病理生理改变. 胆红素吸附(bilirubin absorption, BA)联合血浆置换(plasma exchange, PE), 是近年来应用于临床的新型组合型人工肝支持系统, 该联合治疗既具有吸附和置换的优点, 同时又相互弥补各自的不足, 并可减少血浆的用量, 治疗高胆红素血症疗效确切^[1]. 本研究回顾性分析2008-01/2011-12在中国人民解放军第150医院肝病诊疗研究中心治疗的102例高胆红素血症患者的临床资料, 其中有42例高胆红素血症患者进行BA联合PE治疗, 取得较好疗效, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2008-01/2011-12在中国人民解放军第150医院肝病诊疗研究中心住院的高胆红素血症患者102例, 其中男69例, 女33例; 平均年龄53.84岁±9.41岁. 急性乙型黄疸性肝炎5例, 急性戊型肝炎9例, 急性重型肝炎5例, 亚急性肝功能衰竭9例, 慢性重型肝炎23例, 乙型肝炎肝硬化16例, 丙型肝炎肝硬化8例, 酒精性肝硬化8例, 药物性肝炎8例, 自身免疫性肝炎6例, 原发性胆汁性肝硬化5例. 其中BA联合PE治疗组42例, 男28例, 女14例; 年龄33-63岁, 平均52.14岁±8.52岁. 常规治疗组60例, 男45例, 女15例; 年龄38-73岁, 平均55.07岁±10.04岁. 两组患者在性别、年龄、治疗前肝功能检测结果等方面比较, 差异无显著性意义($P>0.05$). BA: 人工肝治疗仪(IQ-21型, 日本), 应用人工肝专用管路, 行股静脉插管建立体外循环通路. PE: 一次性血浆分离用血液回路(日本旭化成), 膜型血浆分离器(OP-05w), 胆红素吸附器(BRS-350, 日本).

1.2 方法

1.2.1 诊断标准: 病毒性肝炎诊断按2000年全国(西安)病毒性肝炎学术会议确定的标准^[2]: 85.5 $\mu\text{mol/L}$ <血清总胆红素(total bilirubin, TBil)<171.1 $\mu\text{mol/L}$ 诊断为高胆红素血症.

1.2.2 治疗: (1)常规治疗组患者异甘草酸镁注射液150 mg, 还原型谷胱甘肽1.2 g, 加入5%葡萄糖注射液250 mL, 静滴, 1次/d; 多烯磷酸胆碱注射

液20 mL加入5%葡萄糖注射液250 mL, 静滴; 腺苷蛋氨酸注射液(思美泰)1.5 g, 加入5%葡萄糖注射液250 mL, 静滴, 1次/d; 口服熊去氧胆酸胶囊250 mg, 2次/d. BA联合PE治疗组在对照组治疗的基础上给予BA联合PE治疗; (2)先制定治疗模式, 行BA, 吸附时间4 h, 血液流量100-150 mL/min, 血浆分离速度30-45 mL/min, 达到目标吸附量后停止治疗. 变治疗模式为PE, 对血液循环管路进行安装后进行选择性PE, 血液流量100-150 mL/min, 使血浆输入与血浆分离速度一致(为20-34 mL/min), 采用2 L用过的置换液袋收集废浆, 置换液为新鲜冰冻血浆2 600-3 000 mL. 两组均以3 wk为1个疗程. 1个疗程后统计疗效.

1.2.3 观察指标: 临床检测项目包括TBil($\mu\text{mol/L}$), 碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)(U/L), 谷酰转氨酶(γ -glutamyl transpeptidase, GGT)(U/L)等, 治疗期间每周检测1次, 比较治疗前后的变化.

1.2.4 疗效判定标准^[3]: 显效: 血清总胆红素较原值下降50%以上; 有效: 血清总胆红素较原值下降20%-50%; 无效: 血清总胆红素较原值下降不足20%.

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件处理, 计量资料用mean±SD表示, 分析采用 t 检验; 计数资料以率(%)表示, 分析采用 χ^2 检验; $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组临床疗效比较 常规治疗组患者中显效26例(43.33%), 有效20例(33.33%), 无效14例(23.33%), 总有效率为76.66%; BA联合PE治疗组患者中显效28例(66.67%), 有效12例(28.57%), 无效2例(4.76%), 总有效率为95.24%; 两组总有效率比较, 有显著性差($P<0.05$).

2.2 两组治疗前后TBil、ALP、GGT检测结果 两组治疗前后肝功能改善比较有显著性差异, 两组治疗后血清总胆红素、碱性磷酸酶改善比较有显著性差异($P<0.05$, 表1).

2.3 并发症的发生情况及处置措施 BA联合PE治疗组42例患者在55例次BA联合PE治疗中出现并发症9例次(16.36%), 其中血浆过敏反应6例次(10.91%), 循环血路压力异常增高3例次(5.45%), 被迫暂停治疗, 更换静脉管路后继续治疗; 一过性血压下降1例次(1.82%). 全部病例治疗期间及治疗后无畏寒、寒战、发热、出血或深静脉留置管部位渗血等情况发生. 血浆过敏反应: 主要

表 1 两组治疗前后TBil, ALP, GGT检测结果比较 (mean ± SD)

分组	总胆红素($\mu\text{mol/L}$)	碱性磷酸酶(U/L)	谷氨转氨酶(U/L)
常规治疗组			
治疗前	118.6 ± 18.4	229.4 ± 59.3	191.3 ± 73.5
治疗后	48.2 ± 19.1 ^b	129.2 ± 48.1 ^a	58.0 ± 24.6 ^b
BA联合PE治疗组			
治疗前	121.5 ± 17.8	211.2 ± 53.2	198.4 ± 79.1
治疗后	33.7 ± 15.4 ^{bc}	94.2 ± 57.1 ^{ac}	52.4 ± 27.6 ^b

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ 同组治疗前组vs治疗后; ^c $P < 0.05$ vs 治疗后组间比较。

表现为皮肤瘙痒及荨麻疹, 无严重过敏反应发生, 经肌内注射盐酸氯丙嗪、静脉滴注葡萄糖酸钙后不适症状消失, 均不影响治疗。循环管路压力异常增高: 发生在BA治疗阶段, 给予小分子肝素, 0.9%氯化钠溶液冲洗处理。一过性血压下降: 发生在循环回路建立后15 min, 表现为胸闷、憋气, 血压逐渐下降, 立即予快速补充0.9%氯化钠溶液约200 mL后不适症状消失, 血压逐渐回升至正常, 顺利完成治疗。

3 讨论

高胆红素血症是目前肝病治疗的难题之一, 肝脏是机体解毒、合成、代谢的重要器官, 肝功能障碍时, 常常合并严重的胆红素代谢紊乱, 高胆红素血症可以直接对中枢系统、肾脏、凝血功能、心血管系统等产生严重影响, 各种原因导致的高胆红素血症患者病情重, 临床症状明显, 并发症多, 极易发展为重型肝炎, 单纯内科药物治疗效果不佳。目前血液净化技术已广泛的应用于肝衰竭的辅助治疗^[4-6], 人工肝支持系统治疗高胆红素血症患者疗效确切。

PE治疗能够清除患者血液中大量胆红素、内毒素、改善内环境, 从而暂时替代或辅助肝脏功能, 阻断有害物质加重肝损害, 为肝细胞再生争取时间; 同时还有补充凝血因子、调节免疫等作用。血浆置换后胆红素降低接近50%^[7-9], 但治疗需要大量的血浆, 容易受血浆用量限制, 特别是罕见血型患者, 而且血浆有导致过敏反应及输血感染等并发症可能。

BA采用树脂吸附剂, 树脂的类型、颗粒大小、孔率决定了对毒素的吸附能力^[7]。治疗中使用的吸附柱对胆红素及各种毒素有较好的吸附能力, 文献报道每根吸附柱可使血浆总胆红素下降29%^[7,10-12]。血浆中游离胆红素被吸附后, 与血浆白蛋白结合的胆红素部分解离再被吸附,

而白蛋白及凝血因子未被吸附清除。血浆胆红素吸附作为人工肝支持系统的重要组成部分, 克服了血浆用量限制、血浆过敏、输血感染风险等不良反应。

BA联合PE既充分发挥了两种治疗模式的各自治疗作用, 又相互弥补了两种治疗模式单独应用时的不足, 故该联合治疗模式拓宽了单纯BA的适用范围, 减少了血浆用量, 缓解了血浆供应短缺的困难, 能及时为高胆红素血症患者提供人工肝支持治疗, 延缓疾病的发展, 提高肝功能衰竭患者的救治水平^[13-16]。

杨杰等^[11]方法将25例肝衰竭的患者随机分为吸附组和置换组, 吸附组采用血浆胆红素吸附治疗, 置换组采用血浆置换治疗, 比较两组治疗前后胆红素的浓度变化、临床症状改善情况, 同时观察治疗后不良反应及存活率; 结果显示吸附组及置换组治疗后, 胆红素明显降低, 吸附组无1例发生出血、休克、过敏等严重并发症, 置换组1例患者出现过敏性皮疹, 1例发热, 对症处理后均好转; 得出结论: 血浆胆红素吸附能有效降低血清胆红素水平, 降低炎症因子水平, 改善肝衰竭患者预后, 与血浆置换比较, 血浆胆红素吸附无明显不良反应, 不受血浆用量限制, 无输血感染风险。本组研究中55例次的BA联合PE治疗结果显示: (1)BA联合PE治疗组总有效率为95.23%, 常规治疗组总有效率为76.66%。两组总有效率比较, 有显著性差异($P < 0.05$); (2)两组治疗前后肝功能改善比较有显著性差异, 两组治疗后血清总胆红素、碱性磷酸酶改善比较有显著性差异($P < 0.05$), 且并发症发生率低, 说明该联合治疗方法是安全的、有效的, 在目前血源紧张的情况下, 应用BA联合PE治疗高胆红素血症不失为有效、安全的治疗手段之一。但高胆红素血症患者经治疗肝功能恢复后, 在原发病得到根本治疗以前, 临床观察到血浆胆红素水

■创新盘点

胆红素吸附联合血浆置换对于高胆红素血症的临床疗效及安全性的报道较少见到, 本研究为此类患者的临床治疗开辟了新的途径。

■同行评价

本文设计合理、论据充分、结论明确,对临床具有一定指导意义。

平仍有一定反弹,仍有部分患者病情进展,我们建议根据患者病情和经济情况定期(3-7 d)多次(2-3次)进行血浆置换和胆红素吸附对远期预后更好。此外,抗病毒、保肝消炎、抗纤维化等综合治疗也是关键性治疗。

4 参考文献

- 1 邢汉前,高登莲,赵鸿,张彬,洪艳清,刘振红,刘俊微,钟志芳,吕平,赵军. 血浆吸附灌流联合血浆置换治疗肝衰竭和高胆红素血症的临床研究. 传染病信息 2009; 22: 284-287
- 2 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案. 中华肝脏病杂志 2000; 12: 324-329
- 3 中华医学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组、中华医学会肝病学分会重型肝病与人工肝学组. 肝衰竭诊疗指南. 中华内科杂志 2006; 45: 1053-1056
- 4 赵继红,王冰月,田洁,袁萍,杜智. 应用血浆灌流吸附联合血液滤过技术治疗重症肝炎的临床探讨. 中国血液净化杂志 2006; 5: 82-84
- 5 Denisova EN, Sharipova VR, Purlo NV, Sukhanova GA, Biriukova LS. [Use of fractional plasma separation and adsorption (Prometheus technology) in the treatment of acute liver failure]. *Anesteziol Reanimatol* 2009; (2): 45-49 [PMID: 19514440]
- 6 Oppert M, Rademacher S, Petrasch K, Jörres A. Extracorporeal liver support therapy with Prometheus in patients with liver failure in the intensive care unit. *Ther Apher Dial* 2009; 13: 426-430 [PMID: 19788460 DOI: 10.1111/j.1744-9987.2009.00761.x]
- 7 李涛,袁萍,韩涛,李隼,方淑昌,骆力群. 用HB-H-6树脂血浆灌流治疗重度黄疸临床研究. 中国血液净化 2009; 8: 264-266
- 8 魏屏,张景辉,刘薇,朱祥珍. TRAIL在重型肝炎患者PBMC和血清中的表达及血浆置换治疗前后的变化. 世界华人消化杂志 2011; 19: 2063-2067
- 9 高加齐,骆家富. 茵陈赤丹汤联合腺苷蛋氨酸注射液治疗高胆红素血症16例. 河南中医 2011; 31: 45-46
- 10 邢汉前,高登莲,赵鸿,刘俊微,刘素霞,钟志芳,颜丽,赵军. 胆红素吸附联合血浆置换治疗肝功能衰竭和高胆红素血症的并发症防治. 生物医学工程与临床 2010; 14: 494-497
- 11 杨杰,王惠明,杨聚荣,任姜汶,王云燕,何娅妮. 血浆置换与胆红素吸附治疗肝衰竭的临床研究. 中国血液净化 2010; 9: 624-626
- 12 覃雪英,陆启峰,覃后继,黄美金,陆春雷,丘海先. 血浆置换联合大黄灌肠治疗重型肝炎高胆红素血症疗效观察. 中国医药导报 2010; 7: 15-17
- 13 明全,邱绍勤,钱宜丹,陈行军. 小剂量血浆置换治疗慢性肝炎高胆红素血症临床研究. 肝脏 2007; 12: 158-159
- 14 中华传染病与寄生虫病学会人工肝学组. 人工肝支持系统的适应证、禁忌证和疗效判断. 中华肝脏病杂志 2002; 10: 405
- 15 张胜男,顾汉卿. 胆红素吸附树脂的研究进展. 透析与人工器官 2007; 18: 26-38
- 16 陈星,刘欣瑜,彭佑铭,张磊,刘伏友. 不同吸附剂对肝衰竭患者血浆总胆红素、血氨及胆汁酸的吸附作用对比研究. 中国血液净化 2008; 7: 657-660

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

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

电刺激治疗脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍

岳雨珊, 谢斌, 程洁, 张文毅, 朱毅

岳雨珊, 谢斌, 程洁, 朱毅, 南京中医药大学第二临床医学院
江苏省南京市 210046

张文毅, 江苏省人民医院钟山康复分院 江苏省南京市
210014

岳雨珊, 硕士, 主要从事康复医学与理疗学方面的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81202735

2012年度江苏省高校“青蓝工程”培养对象基金资助项目

作者贡献分布: 此课题由朱毅设计; 研究过程由岳雨珊、谢斌、程洁及张文毅共同完成; 文献检索由岳雨珊与谢斌完成; 资料提取由岳雨珊与程洁完成; 数据分析由岳雨珊与张文毅完成; 本文写作由岳雨珊完成。

通讯作者: 朱毅, 教授, 210046, 江苏省南京市栖霞区仙林大道138号, 南京中医药大学第二临床医学院。zhuyi1010@163.com
收稿日期: 2013-01-08 修回日期: 2013-01-28

接受日期: 2013-02-01 在线出版日期: 2013-03-08

Electrical stimulation therapy for neurogenic bowel dysfunction after spinal injury

Yu-Shan Yue, Bin Xie, Jie Cheng, Wen-Yi Zhang, Yi Zhu

Yu-Shan Yue, Bin Xie, Jie Cheng, Yi Zhu, the Second Clinical Medical School, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, Jiangsu Province, China
Wen-Yi Zhang, Zhongshan Rehabilitation Branch, Jiangsu Provincial People's Hospital, Nanjing 210014, Jiangsu Province, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81202735; and the 2012 Jiangsu Provincial University Qinglan Training Program

Correspondence to: Yi Zhu, Professor, the Second Clinical Medical School, Nanjing University of Chinese Medicine, 138 Xianlin Dadao, Xixia District, Nanjing 210046, Jiangsu Province, China. zhuyi1010@163.com

Received: 2013-01-08 Revised: 2013-01-28

Accepted: 2013-02-01 Published online: 2013-03-08

Abstract

AIM: To assess the efficacy of electrical stimulation therapy in the treatment of neurogenic bowel dysfunction after spinal injury.

METHODS: PubMed, MEDLINE, EMBASE, Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL), ISI Web of Knowledge, OVID, CNKI, VIP, and Wanfang Data were searched for clinical studies that evaluated electrical stimulation therapy for neurogenic bowel dysfunction after spinal injury from the date of creation of databases to October 2012. The bibliographies of the retrieved studies

were also searched. Researchers read included studies carefully and extracted data strictly.

RESULTS: A total of 11 studies were included. Electrical stimulation therapies mainly included transcutaneous electrical stimulation, transrectal electrostimulation, intravesical electrical stimulation, and sacral nerve modulation. Electrical stimulation could adjust gut innervation, increase the local blood flow of the gastrointestinal tract, promote protein synthesis, and improve bowel control of bowel and symptoms of fecal incontinence or constipation in patients with spinal injury.

CONCLUSION: The current evidence shows that to some extent, electrical stimulation therapy could improve neurogenic bowel dysfunction after spinal injury. However, the number of clinical studies that have been reported on this direction was small, especially the number of randomized controlled trials. In addition, the number of subjects included in the retrieved studies was small, and the intensity, outcomes and follow-up cycles were inconsistent. More large-sample and high-quality clinical studies need to be done to evaluate the efficacy of electrical stimulation therapy in the management of bowel function in patients with spinal injury.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Electrical stimulation therapy; Spinal injury; Neurogenic bowel dysfunction; Clinical research

Yue YS, Xie B, Cheng J, Zhang WY, Zhu Y. Electrical stimulation therapy for neurogenic bowel dysfunction after spinal injury. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(7): 633-640 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/633.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i7.633>

摘要

目的: 了解电刺激疗法治疗脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍的临床研究现状。

方法: 计算机检索PubMed、MEDLINE、

■背景资料

脊髓损伤患者常伴有不同程度的神经源性肠道功能障碍, 严重妨碍患者的社会融入及生活质量。电刺激疗法创伤小, 安全有效, 操作简单方便, 可通过调节神经支配, 促进蛋白质合成, 改善局部血流等方式来提高脊髓损伤患者的肠道控制能力, 改善肠道功能。但目前国内外关于电刺激疗法治疗脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍的临床研究报道数量有限, 并且质量也有待进一步的提高。

■同行评议者

张志坚, 教授, 福州总医院消化内科; 刘占举, 教授, 同济大学附属上海市第十人民医院

■ 研发前沿

基于ICF理论的指导,脊髓损伤患者的康复不仅需要关注功能与结构的改善,还需关注活动能力的提高,社会参与及融合的实现。电刺激疗法作为一种疗效显著、性价比高、耐受性好、不良反应少的干预手段,未来在脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍方面有较大发展和应用前景。

EMbase、Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL)、ISI Web of Knowledge、OVID、中国知网、万方和维普数据库中关于电刺激疗法治疗脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍的临床研究报道,同时检索已纳入文献的参考文献。检索时间从建库至2012-10。研究人员对纳入文献进行全文阅读及资料提取。

结果:共纳入11篇文献,通过分析发现:电刺激疗法主要包括经皮电刺激疗法、经直肠电刺激疗法、经膀胱电刺激疗法、骶神经调节疗法,通过调节脊髓损伤患者包括脊柱裂患儿、脊髓脊膜膨出患者、腰椎间盘突出症患者的肠道内、外的神经支配,改善胃肠道的局部血流,促进蛋白质合成,提高患者的肠道控制能力,改善患者的大便失禁或便秘的症状。

结论:电刺激疗法在一定程度上能改善脊髓损伤患者的神经源性肠道功能障碍,但目前关于这方向的临床研究报道数量较少,且其中的随机对照试验数量尤为稀少,同时纳入研究中样本量小,干预强度、结局指标、随访周期不一致,故仍需开展大样本量、实验设计更完善的临床研究,来进一步验证电刺激疗法对脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍的治疗效果。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词:电刺激疗法;脊髓损伤;神经源性肠道功能障碍;临床研究

岳雨珊, 谢斌, 程洁, 张文毅, 朱毅. 电刺激治疗脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍. 世界华人消化杂志 2013; 21(7): 633-640
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/633.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i7.633>

0 引言

大部分脊髓损伤患者在受伤后,肠道运动异常,肛门结肠感觉功能下降,肛门内、外括约肌控制力降低,既发一系列的神经源性肠道功能障碍,包括大便失禁或不成形、便秘、腹痛、腹胀等,这些均严重影响患者的日常生活活动能力的提高及社会参与功能的实现。有研究表明,患者肠道功能受损的程度与脊髓损伤的部位、程度及病程相关^[1,2]。

常规的治疗方法,包括电刺激疗法,饮食调节,口服润肠通便类药物、栓剂,结肠造口,生物电刺激等,主要通过促进肠道内粪便的排空,加强肛门括约肌的力量,来改善脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍。

其中,电刺激疗法主要包括经皮电刺激、经直肠电刺激、经膀胱电刺激及骶神经调节疗法。自1958年, Katona^[3]首次采用电刺激疗法治疗神经源性肠道功能障碍之后,陆续有相关研究报道出来,表明电刺激疗法是安全有效的,通过促进蛋白质合成,改善局部血流,调节受刺激肌肉的神经支配等方式,来提高肠道控制能力,改善肠道功能。但就目前这方向的临床研究现状而言,虽然肠道功能障碍对脊髓损伤患者生活质量的影响程度不亚于下肢功能障碍和膀胱功能障碍,但关于电刺激疗法在肠道功能障碍方面的研究数量明显低于该疗法在下肢功能障碍和膀胱功能障碍方面的研究,且在有限的临床研究报道中,随机对照试验数目不多,多数为自身对照试验,且纳入研究中样本量的数目有限。

故我们希望通过通过对PubMed、MEDLINE、EMbase、Cochrane Central Register of Controlled Trials(CENTRAL)、ISI Web of Knowledge、OVID、中国知网、万方和维普数据库进行检索,更为深入的了解目前国内外关于电刺激疗法治疗脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍的临床研究现状,并做一简单调查分析,以期对科研工作者、医务工作者提供理论指导。

1 材料和方法

1.1 材料 本研究以目前国内外已发表的可检索获取的电刺激疗法治疗脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍的临床研究报道为材料。

1.2 方法

1.2.1 文献纳入标准:(1)研究设计为关于电刺激疗法治疗脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍的临床研究报道;(2)研究对象为脊髓损伤患者,包括脊髓损伤、脊柱裂、脊髓脊膜膨出、椎间盘突出、椎间孔狭窄等;(3)干预措施为电刺激疗法,包括经皮电刺激疗法、经直肠电刺激疗法、经膀胱电刺激疗法、骶神经调节疗法等;(4)结局指标主要包括每周排便次数、每周大便失禁次数、每次排便时间、肛门直肠感觉、肛门结肠测压、大便性状、排便时的感觉、神经源性肠道功能评分、患者主观满意度、阴部神经末端运动延迟时间和肛门内超声检查。

1.2.2 文献排除标准:(1)重复多次发表;(2)未提供主要结局指标及所提供数据不全面,且索取无果;(3)仅有摘要而索取全文未果。

1.2.3 检索策略:外文数据库PubMed、MEDLINE、EMbase、Cochrane Central Register

of Controlled Trials (CENTRAL)、ISI Web of Knowledge、OVID的检索策略为: [Electrical Stimulation* or Stimulation*, Electric or Stimulation Therapy, Electric or Electrotherapy or Therapeutic Electric Stimulation or Electrical Stimulation Therapy or Therapy, Electrical Stimulation or Therapeutic Electrical Stimulation or Stimulation, Therapeutic Electrical or Transcutaneous Electric Nerve Stimulation](干预措施) and [Spinal Cord Injury* or Spinal Cord Trauma* or Myelopathy*, Traumatic or Spinal Cord Transection* or Spinal Cord Laceration* or Post-Traumatic Myelopathy* or Spinal Cord Contusion * or Injury*, Spinal or Spina bifida or Myelomeningocele or Intervertebral disc or Foraminal stenosis](损伤部位) and [Neurogenic bowel dysfunction or Constipation or Dyschezia or Colonic Inertia or Fecal Incontinence* or Incontinence*, Fecal or Bloating or Abdominal Pain* or Pain*, Abdominal](功能障碍) and [Biomedical Research or Medical Research or Clinical Research or Clinical Protocol* or Treatment Protocol* or Clinical Research Protocol*](研究类型). 中文数据库知网、万方、维普的检索策略为: [电刺激或者经皮电刺激或者经皮干扰电刺激或者经直肠电刺激或者经膀胱电刺激或者骶神经调节或者干扰电疗法](干预措施)并且[脊髓损伤或者脊柱裂 或者脊髓脊膜膨出或者脊柱损伤或者椎间盘突出或者椎间孔狭窄](损伤部位)并且[神经源性肠道功能障碍或者便秘或者大便失禁或者腹胀或者腹痛](功能障碍)并且[临床研究或者临床报道](研究类型). 文献检索起止时间均为从建库至2012-10, 文种不限.

1.2.4 检索步骤: (1)在PubMed、MEDLINE、EMbase、Cochrane Central Register of Controlled Trials(CENTRAL)、ISI Web of Knowledge、OVID数据库中, 对检索词进行自由词及主题词检索; 在知网、万方及维普数据库中对检索词进行全文检索; (2)对所获文献去重后, 阅读文献的题目和摘要, 若文题和摘要初步符合纳入标准, 则进一步查找阅读全文, 若不符合纳入标准, 则剔除; (3)对所获全文的文献依据纳入标准进行全文阅读, 并通过手工检索和电子数据库检索的方式查找所获全文的文献后附录的参考文献.

1.2.5 文献资料提取: (1)对所获文献去重; (2)2名独立的研究人员依据纳入标准, 对所获文献的题目和摘要进行初步阅读, 选取初步符合纳入

标准的文献; (3)对初步符合纳入标准的文献获取全文, 2名独立的研究人员, 依据纳入标准, 对这批文献进行全文阅读, 达成共识, 做出最终纳入还是剔除该文献的决定; (4)2名研究人员认真阅读全文, 提取资料并交叉核对, 内容包括纳入文献、纳入研究对象、干预措施及结果的一般信息.

2 结果

2.1 纳入研究的一般情况 初步检索得相关文献103篇, 其中英文87篇, 中文16篇; 剔除重复文献60篇; 依据纳入标准, 阅读文题和摘要, 剔除明显不符合纳入标准的文献29篇, 纳入文献14篇; 进一步查找并阅读全文, 剔除文献3篇, 均为综述类文献, 其中2篇关注经直肠电刺激疗法改善神经源性肠道功能障碍, 1篇关注电极植入疗法改善大、小便失禁症状, 最终纳入文献11篇, 其中英文文献10篇, 中文文献1篇; 随机对照试验2篇, 自身对照试验8篇, 病例分析1篇. 纳入研究的基本信息见表1.

2.2 纳入研究对象的一般情况 纳入的研究对象中, 以儿童居多, 脊髓损伤类型主要为脊髓脊膜膨出、脊柱裂, 且研究对象的数量普遍<30(表2).

2.3 干预措施的一般信息 纳入研究中采用的干预手段主要为经皮电刺激疗法、经直肠电刺激疗法、经膀胱电刺激疗法及骶神经调节疗法. 一般情况下, 经皮、直肠、膀胱电刺激疗法为无创疗法, 而骶神经调节疗法为有创疗法, 强度大多以患者的主观感觉来衡量. 但各疗法的治疗周期及治疗参数如电极摆放位置、电极面积大小、频率、脉宽、振幅等均不一致(表3, 4).

2.4 结果的一般信息 纳入研究表明: 电刺激疗法是安全、高效的, 纳入研究中出现不良反应或脱落、失访情况的文献率不到50%. 该疗法可通过促进蛋白质合成, 改善局部血流, 调节骶神经、局部皮肤神经纤维及肠道周边的交感、副交感神经对肠道的调控, 从而提高肠道控制能力, 缩短肠道管理时间, 改善肠道功能. 但现有临床研究的可靠性、真实性受到随机对照试验数量有限, 纳入研究样本量小, 同质性不高, 随访周期短等因素的干扰, 还有待进一步论证(表5).

3 讨论

脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍严重影响患者的生活质量及社会融入^[15], 主要包括大便失禁和便秘. 部分患者脊髓损伤后, 肛门外括约肌神

■ 相关报道

目前国内外关于电刺激疗法治疗脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍的最新报道, 分别为: 廖曼霞等的研究表明干扰电疗法能调节胃结肠反射及直肠的排便反射, 促进胃肠蠕动, 以免内容物在肠道内长时间停留以致水分被过度吸收, 改善肠道功能; Worsøe等的研究表明背生殖器神经电刺激疗法可降低肠道的肌张力, 加快肠道运动, 促进肠道排空, 提高肠道控制能力.

■创新盘点

近年来陆续有报道说明电刺激疗法干预脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍有很好的疗效,但多为单中心、样本量较少的自身对照试验,缺乏大规模、多中心的随机对照试验或高质量的循证报道为其疗效提供证明。本文通过对电刺激疗法干预脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍的临床报道进行调查分析,提供客观、理性、公正的结论,为进一步的临床及科研工作提供科学指导。

表 1 纳入研究的一般信息

作者	年份	期刊	影响因子	期刊级别	地区	文献类型
Marshall等 ^[4]	1997	Eur J Pediatr Surg	0.335	SCI	英国	随机对照试验
Kajbafzadeh等 ^[5]	2012	Int J Colorectal Dis	2.4	SCI	伊朗	随机对照试验
Balcom等 ^[6]	1997	J Urol	2.486	SCI	美国	自身对照试验
Palmer等 ^[7]	1997	J Urol	2.486	SCI	美国	自身对照试验
Creasey等 ^[8]	2001	Arch Phys Med Rehabil	1.371	SCI	美国	自身对照试验
Han等 ^[9]	2004	J Urol	3.713	SCI	韩国	自身对照试验
Jarrett等 ^[10]	2005	Br J Surg	3.722	SCI	英国	自身对照试验
Walker等 ^[11]	2011	Clin Orthop Relat Res	2.5	SCI	美国	自身对照试验
Lansen-Koch等 ^[12]	2011	Colorectal Dis	2.9	SCI	荷兰	自身对照试验
Worsøe等 ^[13]	2012	Spinal Cord	1.805	SCI	丹麦	自身对照试验
廖曼霞 ^[14]	2005	中国临床康复	0.658	中文核心	中国	病例分析

表 2 纳入研究对象的一般信息

纳入研究	诊断	数量	年龄(年)(mean ± SD)	性别(女/男)
Marshall等 ^[4]	脊柱裂	50	9.1(3.4)	21/29
Kajbafzadeh等 ^[5]	脊髓脊膜膨出	30	6.7(2.9)	17/13
Balcom等 ^[6]	腰骶部脊髓脊膜膨出	11	未报导	2/9
Palmer等 ^[7]	脊髓脊膜膨出	55	6.7(2-14)	27/28
Creasey等 ^[8]	脊柱损伤(截瘫、四肢瘫)	23	40(14-67)	7/16
Han等 ^[9]	脊柱裂	24	8.1(3.9-13.2)	15/9
Jarrett等 ^[10]	脊柱损伤(椎间盘突出、外伤、椎间孔狭窄, 外科手术干预)	13	58(39-73)	9/4
Walker等 ^[11]	脊柱裂	15	7(4-12)	7/8
Lansen-Koch等 ^[12]	脊柱裂	10	26.4(11.1-46.0)	4/6
Worsøe等 ^[13]	完全性脊髓损伤(胸部)	7	50(39-67)	1/6
廖曼霞 ^[14]	脊髓损伤	30	36.4(15-70)	5/25

表 3 干预措施的一般信息(I)

纳入研究	干预措施	创伤	强度	治疗时间/次	疗程	治疗频率
Marshall等 ^[4]	经皮电刺激	无	以患者产生主观感觉为度, 如刺痛或远端肌肉收缩	60 min	6 wk	1次/d
Kajbafzadeh等 ^[5]	经皮干扰电刺激	无	以患者能耐受且不引发运动反应为度	20 min	5 wk	3次/wk
Balcom等 ^[6]	经皮低强度的治疗性电刺激	无	低强度, 以患者自感刺痛或痒痛为度	10.5 h	9 mo	6次/wk
Palmer等 ^[7]	经直肠电刺激疗法	无	2-3 mA	30 min	2-3 wk	5次/wk
Creasey等 ^[8]	植入式神经假体疗法	有	自主调节	自主调节	12 mo	自主调节
Han等 ^[9]	经膀胱内电刺激	有	以患者能耐受为度, 40-45 mA	60 min	4 wk	5次/wk
Jarrett等 ^[10]	骶神经调节疗法	有	以患者产生自主感觉为度	自主调节	12 mo	自主调节
Walker等 ^[11]	夜间阈值电刺激疗法	无	以患者自感可耐受刺痛感为度	夜间睡眠时	9 mo	6次/wk
Lansen-Koch等 ^[12]	骶神经调节疗法	有	以产生感觉和运动反应为度	自主调节	3 wk	自主调节
Worsøe等 ^[13]	背生殖器神经电刺激	无	2倍的泌尿生殖肛门反射阈值	96 min	自主调节	自主调节
廖曼霞 ^[14]	干扰电疗法	无	以能引起明显肌肉收缩反应为度	20 min	35-37 d	1次/d

经支配缺失, 压力下降, 自主神经功能紊乱, 结肠收缩不规则, 运动功能减弱, 导致便秘, 主要表现为平均每周末大便性状不规则的次数>1次。另还有部分脊髓损伤患者, 病程较长, 活动减少,

食欲减退, 蛋白质、维生素及纤维素摄入不足, 胃肠蠕动减慢, 食物在肠道内停留时间过长, 水分被过度吸收, 同时由于疼痛、紧张等情绪会诱发植物神经功能紊乱, 引起交感神经兴奋, 导

表 4 干预措施的一般信息(2)

纳入研究	干预措施	电极摆放位置	电极面积(cm ²)	频率	脉宽	振幅	循环周期
Marshall等 ^[4]	经皮电刺激	1. 与骶2、骶3、骶4神经根对应的骶前皮肤; 2. 肛门	1. 2×2 2. 3×5	10 Hz	200 ms	以患者主观感觉为度如刺痛 觉、远端肌肉收缩或能耐受 情况下, 调至最高水平	4 s(2 s收缩; 2 s放松)
Kajbafzadeh等 ^[6]	经皮干扰电刺激	1. 双侧肋缘以下的前腹部皮肤 2. 胸12至腰1对应的任意一侧背部皮肤	2.5×3.5	5-25 Hz	250 us	0-50 mA	6 s(3 s收缩; 3 s放松)
Balcom等 ^[6]	经皮低强度的治疗性电刺激	第一阶段: 1. 手臂 第二阶段: 1. 正中线旁的前腹部肌肉、椎旁肌肉; 2. 臀肌、 直肠	未报导	5-55次/s	280 ms	最大电流强度为0.46 uA/mm ²	未报导
Palmer等 ^[7]	经直肠电刺激疗法	直肠	探头, 进入直肠2-3 cm	15-20 Hz	未报导	2-3mA	8-9 s(5 s收缩; 3-4 s放松)
Creasey等 ^[8]	植入式神经假体疗法	骶2至骶4神经根	未报导	未报导	未报导	未报导	未报导
Han等 ^[9]	经膀胱内电刺激	膀胱	未报导	22 Hz	0.2 ms	40-45mA	未报导
Jarrett等 ^[10]	骶神经调节疗法	骶神经	未报导	15 Hz	210 us	患者能自主感觉水平上下微动	连续性
Walker等 ^[11]	夜间阈值电刺激疗法	胸段脊髓损伤: 1. 腰肌; 2. 臀中肌 腰骶段脊髓损伤: 1. 臀中肌; 2. 股四头肌 骶骨膜	未报导	35 Hz	280 ms	以患者感到舒适的刺痛感为 度, 一般<7 mA	24 s(12 s收缩; 12 s放松)
Lansen-Kooch等 ^[12]	骶神经调节疗法	骶骨膜	未报导	未报导	未报导	未报导	未报导
Worsoe等 ^[13]	背生神经电刺激	1. 阴蒂; 2. 阴唇	1. 10×20; 2. 直径32 mm	20 Hz	200 us	2倍的泌尿生殖肛门反射阈值	连续性
廖曼霞 ^[14]	干扰电疗法	1. 升结肠、降结肠; 2. 左半结肠、直肠	未报导	10 Hz	未报导	未报导	未报导

表 5 结果的一般信息

纳入研究	不良反应	脱落或失访	结果	治疗机制	局限性	优势
Marshall等 ^[4]	无	无	经皮电刺激疗法可明显降低夜间尿失禁 率, 但对最大及平均膀胱容量、自发性排 便等方面没有明显影响	经皮电刺激疗法可通过电磁场给予肠道 直接的电刺激输入, 调节肠道功能。同时 患儿本身的自然恢复能力, 父母及治疗参 与者的鼓励均能促进患儿肠道功能的 恢复	纳入研究对象的同质性不高, 在年龄、损伤部位、损伤程 度、父母的辅助程度、儿童 主观努力程度等方面均存在 较大差异	无创、安全
Kajbafzadeh等 ^[6]	无	无	干扰电疗法是安全、无创、高效的, 可 降低括约肌的压力及肠道肛门抑制反射, 增加排便次数, 改善脊髓脊髓膨出患儿 的便秘症状	经皮干扰电疗法可以加强盆骶肌的力量, 调节骶神经、局部皮肤神经纤维及肠道 周边的交感、副交感神经对肠道的控制	纳入研究量少, 随访时间短; 安 全、无创、无 痛、性价比 高、操作简单方便	无创、安全

■应用要点
运用电刺激疗法
干预脊髓损伤后
神经源性肠道功
能障碍, 克服了创
伤较大、不良反
应较多的缺陷, 创
伤小、安全性及
依从性好、不良
反应少、性价比
高、操作简单方
便、疗效显著, 为
电刺激疗法干预
脊髓损伤后神经
源性肠道功能障
碍的传统疗法提
供了新思路, 适于
临床推广。

同行评价

本文对脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍的症状、治疗现状做了较全面的综述,尤其对不同方法的电刺激的疗效作了客观的分析,也对目前研究存在的问题以及进一步研究的注意点,进行了个人错误的介入,是一篇不错的Meta分析之间的文章。

强度低、性价比	高、依从性及安全性好,操作简单方便,低创伤,耐受性好,疗效持久	强
Balcom等 ^[6]	无	有(小孩主观不愿在夜间睡眠时接受电刺激疗法)
Palmer等 ^[7]	无	有(由于交通原因无法及时到达医疗单位接受治疗)
Creasey等 ^[8]	有(感染;短暂的神经损害;压力性尿失禁;下肢肌张力增高)	有(发生意外性垂直骨折;更换就医单位;骶神经根阻断术不完全)
Han等 ^[9]	有(不适感;下肢肌张力增高;尿路感染)	无
Jarrett等 ^[10]	有(电极摆放位置疼痛;既发便秘和排泄问题)	有(电极、电线弯曲或移位;电池没电;既发疼痛、便秘等功能障碍)
Walker等 ^[11]	无(治疗强度过大,既发骨折或需进一步的手术干预;未看到明显的改善;无法探索既发功能障碍的原因;失去联系)	有
Lansen-Koch等 ^[12]	无	无
Worsøe等 ^[13]	无	无
廖曼霞 ^[4]	无	无

致胃肠蠕动功能减弱, 从而引发便秘, 主要表现为每周大便活动少于2次或者在超过一半的肠道活动中感到排空困难或未排空. 目前关于脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍的常规疗法主要包括药物治疗(抗胆碱能药物、抗生素等)、饮食调节^[16]、灌肠^[17-19]、生物反馈疗法^[20]、栓剂或软化剂、手术治疗等. 但效果不是很理想, 例如生物反馈疗法治疗12 mo后, 患者的排便频率虽趋向正常化, 但却始终未学会主动收缩肛门外括约肌. 因而推出了电刺激疗法, 主要包括经皮电刺激疗法、经直肠电刺激疗法、经膀胱电刺激疗法、骶神经调节疗法, 通过改善血流, 促进蛋白质合成, 加强肌肉力量, 调节感觉的传入、传出及自主神经通路, 改善肠道功能.

经皮电刺激疗法安全、无创、无痛^[21,22], 性价比高, 操作简单方便, 适用于轻、中度便秘患者. 该疗法通过刺激腹部皮肤的神经纤维, 激活肠道内、外的交感、副交感神经纤维, 调节神经网络中控制肠道功能的骶反射, 降低肛门内、外括约肌的压力及肛门直肠抑制反射, 降低排便难度, 增加排便频率, 改善腹痛、腹胀的症状^[5].

经直肠电刺激疗法耐受性好, 疗效持久, 无不良反应, 创伤小, 适用于脊髓损伤后大便失禁患者. 该疗法通过提高肠道控制能力, 增强便感, 减少肠道运动, 从而降低尿布或垫子的使用率及大便失禁的发生率.

经膀胱内电刺激疗法操作简单方便且高效, 适用于脊髓损伤后的大便失禁人群, 但疗程偏长. 该疗法通过改善C纤维功能, 刺激膀胱影响背根神经节, 再通过神经元之间的连结及中枢的输入, 调节肠道及内、外肛门括约肌的活动, 进而改变肠道的习惯, 提高肠道的控制能力. 有研究表明通过经膀胱内电刺激疗法治疗后, 75%患儿的肠道控制能力改善, 且其中50%的患儿获得了完全的肠道控制能力. 另还有研究表明, 肠道功能的改善与膀胱功能的改善呈正相关^[9].

研究者通过选择性的骶神经根电刺激疗法, 发现骶2至骶4神经根对于膀胱及肠道功能调节尤为重要, 故提出骶神经调节疗法. 该疗法低创高效^[23-30], 适用于脊髓损伤后大便失禁患者. 通过调节肠道的自主神经功能, 减少自主神经反射异常, 增加骶副交感神经的活性, 控制远端肠道的运动, 增加结肠黏膜的血流量, 来提高肠道控制能力, 降低大便失禁及衣物受污情况的发生率, 减少栓剂及抗胆碱能药物的使用, 缩短肠道管理时间^[8].

目前关于电刺激疗法改善脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍的临床研究中, 由于把研究对象纳入空白对照组进行至少为期2-3 wk的空白治疗不符合伦理学要求, 故随机对照试验的数量很少, 多为自身对照试验, 但这会导致一些问题, 如无法准确说明自然恢复或物理治疗的疗效占多大比例, 及由于随机分组、盲法的缺失, 会融入研究对象、干预者及资料搜集人员的主观情绪的干扰, 影响数据的真实性、可靠性. 同时阅读本文的纳入研究, 发现研究对象数量有限, 病程长短不一, 存在脱落或失访, 这些均可能影响研究本身的质量. 故为了进一步验证电刺激疗法治疗脊髓损伤后神经源性肠道功能障碍的治疗效果, 还需开展大样本量的, 设计更完善的随机对照试验研究. 现阶段的研究中, 患者的脊髓损伤程度描述不清, 部分结局指标为主观指标, 故在下一阶段的研究中, 我们应更加准确地设定研究对象的纳入标准, 探寻各种电刺激疗法的具体适用人群, 为临床工作提供指导, 同时还需将我们的结局指标客观化, 避免患者及其家属的主观情绪如过高的期望值影响到对干预效果的客观评价, 提高研究质量.

4 参考文献

- 1 Liu CW, Huang CC, Chen CH, Yang YH, Chen TW, Huang MH. Prediction of severe neurogenic bowel dysfunction in persons with spinal cord injury. *Spinal Cord* 2010; 48: 554-559 [PMID: 20065986 DOI: 10.1038/sc.2009.181]
- 2 Faaborg PM, Christensen P, Finnerup N, Laurberg S, Krogh K. The pattern of colorectal dysfunction changes with time since spinal cord injury. *Spinal Cord* 2008; 46: 234-238 [PMID: 17893697 DOI: 10.1038/sj.sc.3102121]
- 3 Katona F. [Electric stimulation in the diagnosis and therapy of bladder paralysis]. *Orv Hetil* 1958; 99: 277-278 [PMID: 13553376]
- 4 Marshall DF, Boston VE. Altered bladder and bowel function following cutaneous electrical field stimulation in children with spina bifida--interim results of a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Eur J Pediatr Surg* 1997; 7 Suppl 1: 41-43 [PMID: 9497117 DOI: 10.1055/s-2008-1071209]
- 5 Kajbafzadeh AM, Sharifi-Rad L, Nejat F, Kajbafzadeh M, Talaei HR. Transcutaneous interferential electrical stimulation for management of neurogenic bowel dysfunction in children with myelomeningocele. *Int J Colorectal Dis* 2012; 27: 453-458 [PMID: 22065105 DOI: 10.1007/s00384-011-1328-z]
- 6 Balcom AH, Wiatrak M, Biefeld T, Rauen K, Langenstroer P. Initial experience with home therapeutic electrical stimulation for continence in the myelomeningocele population. *J Urol* 1997; 158: 1272-1276 [PMID: 9258193 DOI: 10.1016/S0022-5347(01)64452-5]
- 7 Palmer LS, Richards I, Kaplan WE. Transrectal electrostimulation therapy for neuropathic bowel

- dysfunction in children with myelomeningocele. *J Urol* 1997; 157: 1449-1452 [PMID: 9120978 DOI: 10.1016/S0022-5347(01)65017-1]
- 8 Creasey GH, Grill JH, Korsten M, U HS, Betz R, Anderson R, Walter J. An implantable neuroprosthesis for restoring bladder and bowel control to patients with spinal cord injuries: a multicenter trial. *Arch Phys Med Rehabil* 2001; 82: 1512-1519 [PMID: 11689969 DOI: 10.1053/apmr.2001.25911]
 - 9 Han SW, Kim MJ, Kim JH, Hong CH, Kim JW, Noh JY. Intravesical electrical stimulation improves neurogenic bowel dysfunction in children with spina bifida. *J Urol* 2004; 171: 2648-2650 [PMID: 15118442 DOI: 10.1097/01.ju.0000108542.27476.b8]
 - 10 Jarrett ME, Matzel KE, Christiansen J, Baeten CG, Rosen H, Bittorf B, Stösser M, Madoff R, Kamm MA. Sacral nerve stimulation for faecal incontinence in patients with previous partial spinal injury including disc prolapse. *Br J Surg* 2005; 92: 734-739 [PMID: 15838899 DOI: 10.1002/bjs.4859]
 - 11 Walker JL, Ryan SW, Coburn TR. Does threshold nighttime electrical stimulation benefit children with spina bifida? A pilot study. *Clin Orthop Relat Res* 2011; 469: 1297-1301 [PMID: 20878557 DOI: 10.1007/s11999-010-1596-x]
 - 12 Lansen-Koch SM, Govaert B, Oerlemans D, Melenhorst J, Vles H, Cornips E, Weil EH, van Heurn E, Baeten CG, van Gemert WG. Sacral nerve modulation for defaecation and micturition disorders in patients with spina bifida. *Colorectal Dis* 2012; 14: 508-514 [PMID: 21689346 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2011.02678.x]
 - 13 Worsøe J, Fynne L, Laurberg S, Krogh K, Rijkhoff NJ. Acute effect of electrical stimulation of the dorsal genital nerve on rectal capacity in patients with spinal cord injury. *Spinal Cord* 2012; 50: 462-466 [PMID: 22231543 DOI: 10.1038/sc.2011.159]
 - 14 廖曼霞. 吸附电极位置对干扰电治疗神经源性肠道功能障碍的改善作用. *中国临床康复* 2005; 9: 190 [DOI: 10.3321/j.issn: 1673-8225.2005.02.113]
 - 15 Engkasan JP, Sudin SS. Neurogenic bowel management after spinal cord injury: Malaysian experience. *J Rehabil Med* 2013; 45: 141-144 [PMID: 23053003 DOI: 10.2340/16501977-1074]
 - 16 Krogh K, Christensen P. Neurogenic colorectal and pelvic floor dysfunction. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2009; 23: 531-543 [PMID: 19647688 DOI: 10.1016/j.bpg.2009.04.012]
 - 17 Kim JY, Koh ES, Leigh J, Shin HI. Management of bowel dysfunction in the community after spinal cord injury: a postal survey in the Republic of Korea. *Spinal Cord* 2012; 50: 303-308 [PMID: 22105460 DOI: 10.1038/sc.2011.124]
 - 18 Furlan JC, Urbach DR, Fehlings MG. Optimal treatment for severe neurogenic bowel dysfunction after chronic spinal cord injury: a decision analysis. *Br J Surg* 2007; 94: 1139-1150 [PMID: 17535012 DOI: 10.1002/bjs.5781]
 - 19 Faaborg PM, Christensen P, Kvitsau B, Buntzen S, Laurberg S, Krogh K. Long-term outcome and safety of transanal colonic irrigation for neurogenic bowel dysfunction. *Spinal Cord* 2009; 47: 545-549 [PMID: 19104513 DOI: 10.1038/sc.2008.159]
 - 20 Yang DH, Myung SJ, Jung KW, Yoon IJ, Seo SY, Koh JE, Yoon SM, Kim KJ, Ye BD, Byeon JS, Jung HY, Yang SK, Kim JH. Anorectal function and the effect of biofeedback therapy in ambulatory spinal cord disease patients having constipation. *Scand J Gastroenterol* 2010; 45: 1281-1288 [PMID: 20602567 DOI: 10.3109/00365521.2010.483741]
 - 21 Gossrau G, Wähner M, Kuschke M, Konrad B, Reichmann H, Wiedemann B, Sabatowski R. Micro-current transcutaneous electric nerve stimulation in painful diabetic neuropathy: a randomized placebo-controlled study. *Pain Med* 2011; 12: 953-960 [PMID: 21627767 DOI: 10.1111/j.1526-4637.2011.01140.x]
 - 22 Bennett MI, Hughes N, Johnson MI. Methodological quality in randomised controlled trials of transcutaneous electric nerve stimulation for pain: low fidelity may explain negative findings. *Pain* 2011; 152: 1226-1232 [PMID: 21435786 DOI: 10.1016/j.pain.2010.12.009]
 - 23 Thomas GP, Dudding TC, Rahbour G, Nicholls RJ, Vaizey CJ. Sacral nerve stimulation for constipation. *Br J Surg* 2013; 100: 174-181 [PMID: 23124687 DOI: 10.1002/bjs.8944]
 - 24 Hilmy M, Tatarov O, McQueen L, Small D, Granitsiotis P, Conn IG. Sacral nerve stimulation for urinary dysfunction: the first year of the Scottish national service. *Scott Med J* 2012; 57: 200-203 [PMID: 23138579 DOI: 10.1258/smj.2012.012117]
 - 25 Skull A, Hull TL. Sacral nerve stimulation for fecal incontinence. *Expert Rev Med Devices* 2012; 9: 477-482 [PMID: 23116074 DOI: 10.1586/erd.12.37]
 - 26 Steele SS. Sacral nerve stimulation: 50 years in the making. *Can Urol Assoc J* 2012; 6: 231-232 [PMID: 23093527 DOI: 10.5489/cuaj.12194]
 - 27 Hubsher CP, Jansen R, Riggs DR, Jackson BJ, Zaslaw S. Sacral nerve stimulation for neuromodulation of the lower urinary tract. *Can J Urol* 2012; 19: 6480-6484 [PMID: 23040633]
 - 28 Martellucci J, Naldini G, Carriero A. Sacral nerve modulation in the treatment of chronic pelvic pain. *Int J Colorectal Dis* 2012; 27: 921-926 [PMID: 22203519 DOI: 10.1007/s00384-011-1394-2]
 - 29 Govaert B, Maeda Y, Alberga J, Buntzen S, Laurberg S, Baeten CG. Medium-term outcome of sacral nerve modulation for constipation. *Dis Colon Rectum* 2012; 55: 26-31 [PMID: 22156864 DOI: 10.1097/DCR.0b013e31823898a5]
 - 30 Leroi AM, Lenne X, Dervaux B, Chartier-Kastler E, Mauroy B, Normand LL, Grise P, Faucheron JL, Parc Y, Lehur PA, Mion F, Damon H, Barth X, Leriche A, Saussine C, Guy L, Haab F, Bresler L, Sarraon JP, Bensadoun H, Rullier E, Slim K, Sielezneff I, Mourey E, Ballanger P, Michot F. Outcome and cost analysis of sacral nerve modulation for treating urinary and/or fecal incontinence. *Ann Surg* 2011; 253: 720-732 [PMID: 21475012 DOI: 10.1097/SLA.0b013e318210f1f4]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



《世界华人消化杂志》投稿须知

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569) 是一份同行评议和开放获取期刊(Open Access Journal, OAJ), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病学实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文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, 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)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 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

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

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, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

2.3 外文字符 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, $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T, V_{max} 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。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。

2.4 计量单位 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 kD改为 M_r 30 000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 $1 \times 10^{12}/L$, WBC数用 $1 \times 10^9/L$, 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, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 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; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、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; 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。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值的文句中, 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, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO₂, 50 mL/L CO₂; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为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)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 (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 ν ; (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 \pm 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$, 平均数 \pm 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$. 统计学显著性用 $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP < 0.05$, $^dP < 0.01$; 第三套为 $^eP < 0.05$, $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995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1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L \pm 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6 347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g \pm 420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg \pm 0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm \pm 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. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可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 \rightarrow 23.5 \rightarrow 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; $101 \leq \text{分母} \leq 1\,000$, 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1 486 800.475 65. 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 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 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, 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. 作者标准为: (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, 并对文章的重要的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, 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》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志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 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 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: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

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

3.8 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

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

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

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: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

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

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

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. wejd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象。应描述课题的基本设计, 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, 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、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(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 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: ^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^a $P<0.05$, ^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

角注码号. 如马连生^[1]报告……, 潘伯荣等^[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: 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: 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.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcyj.asp>

4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投

稿须知下载网址:<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>. 审稿过程平均时间需要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, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

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

6.2 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, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、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、作者符合要点承诺书、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; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 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.

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号
远洋国际中心D座903室
电话: 010-5908-0035
传真: 010-8538-1893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26

美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会

会议地点: 美国旧金山

联系方式: www.gicasym.org

2013-02-10/15

2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia 会议

会议地点: 美国

联系方式: info@keystonesymposia.org

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)

会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城

联系方式: <http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508>

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会

会议地点: 美国休斯顿

联系方式: [http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11\[1\]](http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1])

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议

会议地点: 美国

联系方式: cme.med.miami.edu/x88.xml

2013-03-01/31

2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2013-03-01/04

2013加拿大消化疾病周(CDDW)

会议地点: 加拿大

联系方式: www.cag-acg.org/cddw

2013-03-07/10

亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议

会议地点: 新加坡

联系方式: www.apaslconference.org

2013-03-15/17

2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛

会议地点: 深圳市

联系方式: ewancool@hotmail.com

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会

会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛

联系方式: <http://www.centraalsurg.org/meeting/futuremtgs.html>

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)

会议地点: 北京市

联系方式: www.crdinnovation.com

2013-04-19/23

2013第2届国际肿瘤学论坛

会议地点: 瑞士

联系方式: cihexpo@163.com

2013-05-23/25

2013第六届世界癌症大会

会议地点: 西安市

联系方式: bithuiyi@163.com

2013-05-20/22

2013年第三届内分泌与代谢大会

会议地点: 西安市

联系方式: nancy@bitconferences.cn

2013-05-31/06-04

2013美国临床肿瘤协会年会

会议地点: 美国芝加哥

联系方式: yangxinxue999@163.com

2013-06-07/09

中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议

会议地点: 武汉市

联系方式: csonsc@VIP.163.com

2013-06-21/23

中国消化科学论坛

会议地点: 张家界市

联系方式: casgmail@126.com

2013-07-13/14

中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 银川市

联系方式: lilyjia@163.com

2014-09-26/30

第39届欧洲临床肿瘤学会年会

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html>

2013-10-18/20

第二十二届亚太抗癌大会

会议地点: 天津市

联系方式: secretariat@apcc2013.com

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

陈洪 副教授
东南大学附属中大医院消化科

陈其奎 教授
中山大学附属第二医院消化内科

陈亚军 教授
首都医科大学附属北京儿童医院普外科

杜奕奇 副教授
中国人民解放军第二军医大学长海医院

郭晓钟 教授
中国人民解放军沈阳军区总医院消化内科

郭永红 副主任医师
西安交通大学医学院第二附属医院感染科

韩天权 教授
上海交通大学医学院附属瑞金医院外科, 上海消化外科研究所

何晓顺 教授
中山大学附属第一医院

洪天配 教授
北京大学第三医院内分泌科

江建新 副主任医师
贵阳医学院附属医院肝胆外科

江学良 教授
中国人民解放军济南军区总医院消化科

孔静 副教授
中国医科大学附属盛京医院胆道、血管外科、微创外科

李刚 教授
北京大学医学部生物化学与分子生物学系

李华 副教授
中山大学器官移植研究所, 中山大学附属第三医院肝脏移植中心

李勇 副教授
上海中医药大学附属市中医医院消化科

刘连新 教授
哈尔滨医科大学第一临床医学院

刘亮 副主任医师
复旦大学胰腺癌研究所, 复旦大学附属肿瘤医院胰腺肝胆外科

刘平 教授
南京医科大学第一附属医院(江苏省人民医院)肿瘤内科

陆云飞 教授
广西医科大学第一附属医院

潘阳林 副主任医师
中国人民解放军第四军医大学西京医院消化病医院消化六科

秦春宏 副主任医师
南华大学附属第二医院普外科

施诚仁 教授
上海交通大学医学院附属新华医院小儿外科

汤静 主管药师
上海交通大学附属第一人民医院药学部

唐文富 副教授
四川大学华西医院中西医结合科

王俊平 教授
山西省人民医院消化科

王来友 副教授
广东药学院中医药研究院

吴道澄 教授
西安交通大学生命学院

肖秀英 副主任医师
上海市徐汇区中心医院肿瘤科

姚登福 教授
南通大学附属医院

周南进 研究员
江西省医学科学研究所

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会
代章：_____

2012年1月





百世登
Baishideng®

Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**
Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart Road, Wan Chai,
Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

