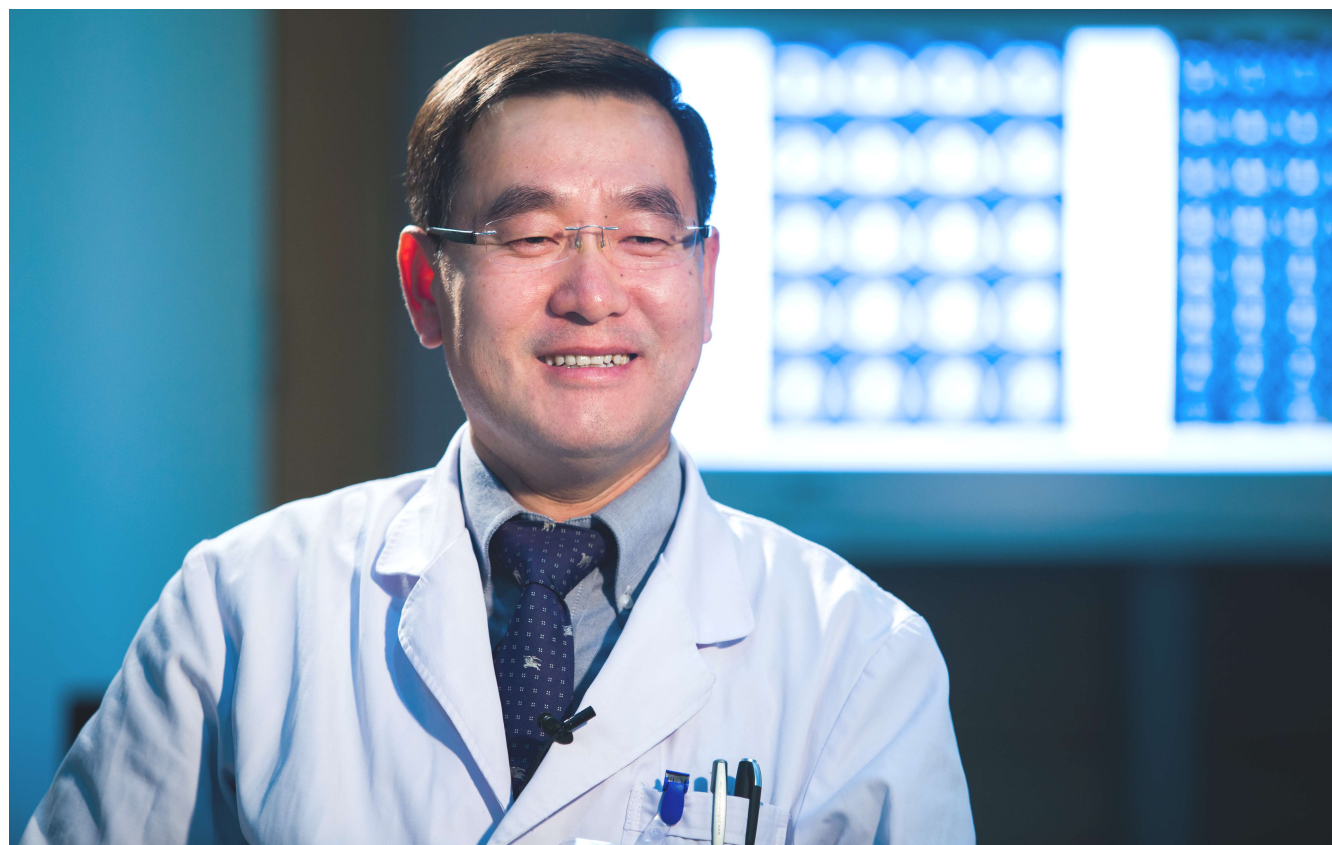


# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

**2017 年 11 月 8 日 第 25 卷 第 31 期 (Volume 25 Number 31)**



**31 / 2017**

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被中国知网《中国期刊全文数据库》, 美国《化学文摘 (Chemical Abstracts, CA)》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘 (EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志 (Abstract Journal, AJ)》数据库收录.

## 述评

- 2747 重症化慢性乙型肝炎患者的识别与管理

林世德, 任艺, 刘璐璐

- 2754 腹腔镜胃癌手术适应证演变趋势的探讨

邵欣欣, 田艳涛

- 2761 低位直肠癌经括约肌间切除术后肛门功能评价

张斌, 丁健华

- 2770 动脉粥样硬化性肠系膜缺血的多层CT诊断进展

任小军

- 2776 肿瘤干细胞研究进展

林继旺, 王宏

## 基础研究

- 2782 HBV S编码链的反基因锁核酸对转基因小鼠体内病毒复制与表达的影响

肖树荣, 许桂丹, 韦武均, 彭彬, 邓益斌

- 2791 母体甲基供体缺乏对子代小鼠结肠炎发生影响的研究

张蕊, 马玉萍, 刘文天

## 文献综述

- 2798 焦亡的研究进展及胰腺腺泡细胞焦亡的研究现状

金相任, 孙备, 白雪巍

2805 脑肠肽对肠屏障损伤的保护作用和机制

关兴芳, 段志军

## 研究快报

2813 互联网随访对慢性乙型肝炎出院患者抗病毒治疗遵医行为及生活质量的影响

盛俊霞, 赵振中, 章海华, 黄荣水

## 临床实践

2819 幽门螺杆菌根治术对合并幽门螺杆菌感染十二指肠溃疡患者胃窦炎症程度及炎症介质影响

赵有英, 詹雅珍

## 病例报告

2825 播散性肉芽肿性肝炎1例

延永琴, 苏哲彬, 郑智勇

## 附录

I – V 《世界华人消化杂志》投稿须知  
I 2017年国内国际会议预告

## 志谢

I – II 志谢《世界华人消化杂志》编委

## 消 息

- 2753 《世界华人消化杂志》参考文献要求  
2760 《世界华人消化杂志》外文字符标准  
2769 《世界华人消化杂志》栏目设置  
2790 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标  
2804 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费  
2812 《世界华人消化杂志》消化护理学领域征稿启事  
2818 《世界华人消化杂志》正文要求  
2824 《世界华人消化杂志》修回稿须知

## 封面故事

《世界华人消化杂志》常务副主编, 田艳涛, 教授, 主任医师, 博士生导师, 100021, 北京市朝阳区潘家园南里17号, 国家癌症中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院胰胃外科. 主要从事胃癌、胰腺癌的外科治疗和研究工作. 现任中国医疗保健国际交流促进会常务理事兼健康科普分会主委、中国医师协会上消化道外科专业委员会委员、中国研究型医院协会消化道肿瘤专业委员会常委. 为科普著作《漫画胃癌防治》主编, 中国常见癌症丛书《胃癌》副主编. 主持国家自然科学基金面上项目、北京市科技计划项目、首都医学发展科研基金等多项课题研究工作. 发表统计源论文、SCI 收录期刊论文70余篇.

## 本期责任人

编务 李香; 送审编辑 闫晋利, 李瑞芳; 组版编辑 李瑞芳; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 闫晋利; 形式规范审核编辑部主任 马亚娟; 最终清样审核总编辑 马连生

## 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2017-11-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科  
王峻平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科  
姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心  
张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

[http://www.wjgnet.com/1009-3079/  
editorialboard.htm](http://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm)

编辑部

马亚娟, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: [wjcd@wjgnet.com](mailto:wjcd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto: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》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被中国知网《中国期刊全文数据库》, 美国《化学文摘(Cheical Abstracts, CA)》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》数据库收录.

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

特别声明

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

定价

每期90.67元 全年36期3264.00元

© 2017 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.



**EDITORIAL**

- 2747 Identification and management of patients with severe exacerbation of chronic hepatitis B

*Lin SD, Ren Y, Liu LL*

- 2754 Evolution trends of indications for laparoscopic surgery in patients with gastric cancer

*Shao XX, Tian YT*

- 2761 Functional outcomes after intersphincteric resection for ultralow rectal cancer

*Zhang B, Ding JH*

- 2770 Progress in multi-slice CT diagnosis of atherosclerotic mesenteric ischemia

*Ren XJ*

- 2776 Progress in research of cancer stem cells

*Lin JW, Wang H*

**BASIC RESEARCH**

- 2782 Antiviral effect of hepatitis B virus S gene-specific anti-gene locked nucleic acid in hepatitis B virus transgenic mice

*Xiao SR, Xu GD, Wei WJ, Peng B, Deng YB*

- 2791 Effect of maternal methyl donor deficient diet on experimental colitis in rat offsprings

*Zhang R, Ma YP, Liu WT*

**REVIEW**

- 2798 Progress in research of pyroptosis of pancreatic acinar cells

*Jin XR, Sun B, Bai XW*

2805 Protective effects of brain-gut peptides against intestinal barrier injury and mechanisms involved

*Guan XF, Duan ZJ*

### **RAPID COMMUNICATION**

2813 Effect of Internet-based follow-up on antiviral treatment compliance and quality of life in discharged patients with chronic hepatitis B

*Sheng JX, Zhao ZZ, Zhang HH, Huang RS*

### **CLINICAL PRACTICE**

2819 Effect of *Helicobacter pylori* eradication therapy on degree of antral inflammation and inflammatory mediators in patients with *Helicobacter pylori* infection and duodenal ulcer

*Zhao YY, Zhan YZ*

### **CASE REPORT**

2825 Disseminated granulomatous hepatitis: A case

*Yan YQ, Su ZB, Zheng ZY*



## Contents

*World Chinese Journal of Digestology*  
Volume 25 Number 31 November 8, 2017

### APPENDIX

I – V Instructions to authors  
I Calendar of meetings and events in 2017

### ACKNOWLEDGMENT

I – II Acknowledgments to reviewers for the *World Chinese Journal of Digestology*

### COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Yan-Tao Tian, Professor, Chief Physician, Department of Pancreatic and Stomach Surgery, National Cancer Center/Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, 17 Panjiayuan Nanli, Chaoyang District, Beijing 100021, China

### Indexed/Abstracted by

Chinese Journal Full-text Database, Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, and Abstract Journals.

### RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Xiang Li* Review Editor: *Jin-Li Yan, Rui-Fang Li* Electronic Editor: *Rui-Fang Li*  
English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Jin-Li Yan* Proof Editor: *Ya-Juan Ma*  
Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

### Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** November 8, 2017

#### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

#### ISSN

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

#### EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

#### EDITORIAL BOARD MEMBERS

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

#### EDITORIAL OFFICE

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

#### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc  
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA  
Fax: +1-925-223-8242  
Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.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 90.67 Yuan for each issue  
RMB 3264 Yuan for one year

#### COPYRIGHT

© 2017 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this open access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

#### SPECIAL STATEMENT

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

#### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

# 母体甲基供体缺乏对子代小鼠结肠炎发生影响的研究

张蕊, 马玉萍, 刘文天

## 背景资料

目前研究发现在溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 患者中存在许多基因的异常甲基化, 因此UC可能由于DNA甲基化改变致病。母鼠子宫中低叶酸会降低成年子鼠肠道总体甲基化水平。炎症性肠病患者的干扰素- $\gamma$  (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ ) 甲基化水平在结肠黏膜中低于外周血T细胞。

张蕊, 刘文天, 天津医科大学总医院消化科 天津市 300052

马玉萍, 邢台市人民医院消化科 河北省邢台市 054000

张蕊, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 本研究由刘文天提出设计理念并指导完成; 实验与数据分析由张蕊与马玉萍完成; 文章由张蕊撰写。

通讯作者: 刘文天, 教授, 300052, 天津市和平区鞍山道154号, 天津医科大学总医院消化科。lwentian64@163.com  
电话: 022-60363800

收稿日期: 2017-09-21

修回日期: 2017-09-30

接受日期: 2017-10-17

在线出版日期: 2017-11-08

## Effect of maternal methyl donor deficient diet on experimental colitis in rat offsprings

Rui Zhang, Yu-Ping Ma, Wen-Tian Liu

Rui Zhang, Wen-Tian Liu, Department of Gastroenterology, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China

Yu-Ping Ma, Department of Gastroenterology, Xingtai People's Hospital, Xingtai 054000, Hebei Province, China

Correspondence to: Wen-Tian Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Tianjin Medical University General Hospital, 154 Anshan Road, Heping District, Tianjin 300052, China. lwentian64@163.com

Received: 2017-09-21

Revised: 2017-09-30

Accepted: 2017-10-17

Published online: 2017-11-08

## Abstract

### AIM

To investigate whether maternal methyl

donor deficiency promotes the pathogenesis and development of ulcerative colitis (UC) by affecting DNA methylation.

## METHODS

Maternal BALB/c mice were fed either a normal diet (C) or a methyl donor deficiency diet (D) from one month before pregnancy until the offspring weaned. Young mice were given dextran sulfate sodium (DSS) or purified water as drink water for five days. The young mice were randomly divided into four groups: C/DSS-, D/DSS-, C/DSS+, and D/DSS+. The degree of colonic inflammation was evaluated; serum folate, vitamin B12, and homocysteine (Hcy) were determined; the expression of interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) in the colonic mucosa was detected; and the methylation level of CpG islands in the *IFNG* promoter was determined.

## RESULTS

The disease activity index (DAI) was significantly higher in the D/DSS+ group than in the C/DSS+ group ( $3.22 \pm 0.55$  vs  $2.22 \pm 0.50$ ,  $P < 0.01$ ). Compared to the normal diet group, the methyl donor deficient diet group had significantly lower serum levels of folic acid ( $8.87 \text{ nmol/L} \pm 1.11 \text{ nmol/L}$  vs  $11.34 \text{ nmol/L} \pm 0.31 \text{ nmol/L}$ ,  $P < 0.01$ ) and vitamin B12 ( $409.2 \text{ ng/L} \pm 56.27 \text{ ng/L}$  vs  $676.1 \text{ ng/L} \pm 1.66 \text{ ng/L}$ ,  $P < 0.01$ ) and significantly higher Hcy ( $8.45 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 0.35 \text{ } \mu\text{mol/L}$  vs  $6.77 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 0.36 \text{ } \mu\text{mol/L}$ ,  $P < 0.01$ ). The IFN- $\gamma$  expression in the colonic mucosa was significantly higher in the C/DSS+ and D/DSS+ groups than in the C/DSS- and D/DSS- groups ( $5.3 \pm 1.2$  vs  $10.6 \pm 10.8$ ,  $\chi^2 = 14.517$ ,  $P < 0.01$ ). The expression level of IFN- $\gamma$  in the colonic mucosa of DSS+ groups was positively related to the degree of inflammation ( $r = 0.853$ ,

## 同行评议者

高峰, 主任医师, 新疆维吾尔自治区人民医院消化专业; 刘杰民, 副主任医师, 贵州省人民医院消化内镜科; 杨柏霖, 教授, 主任医师, 南京中医药大学附属医院肛肠科



0.840;  $P = 0.031, 0.036; P < 0.05$ ). There were no significant differences in the methylation level of all CpG sites or same CpG sites among the four samples.

## CONCLUSION

Methyl donor deficient diet may cause aggravated experimental colitis by increasing the expression of IFN- $\gamma$ . The abnormal expression of IFN- $\gamma$  in the colonic mucosa has no relationship with hypo-methylation of CpG islands in the *IFNG* promoter.

© The Author(s) 2017. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Ulcerative colitis; Methyl donor; DNA methylation; Interferon- $\gamma$

Zhang R, Ma YP, Liu WT. Effect of maternal methyl donor deficient diet on experimental colitis in rat offsprings. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2017; 25(31): 2791-2797 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v25/i31/2791.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v25.i31.2791>

## 摘要

### 目的

探讨母鼠饮食中甲基供体含量的缺乏是否可能通过影响干扰素 $\gamma$ (interferon  $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )基因的甲基化参与子代鼠溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的发生及发展。

### 方法

从母鼠孕前1 mo至生产子鼠哺乳期结束, 分别给予母鼠(Balb/c)正常饮食和甲基供体(叶酸、维生素B12)缺乏饮食。随后母鼠所产子代小鼠分别给予葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)溶液和纯净水作为饮用水。实验子鼠被随机分为4组: 标准饮食无DSS处理组(C/DSS-)、甲基供体缺乏饮食无DSS处理组(D/DSS-)、标准饮食DSS处理组(C/DSS+)、甲基供体缺乏饮食DSS处理组(D/DSS+)。处理5 d后, 评价子鼠结肠黏膜炎症程度, 检测血清叶酸、维生素B12和同型半胱氨酸, 并检测肠组织IFN- $\gamma$ 表达以及干扰素 $\gamma$ 基因(interferon  $\gamma$  gene, *IFNG*)启动子区CpG岛基因甲基化水平。

### 结果

D/DSS+组小鼠较C/DSS+组的结肠黏膜炎症活动指数(disease activity index, DAI)显著增高( $3.22 \pm 0.55$  vs  $2.22 \pm 0.50$ ,  $P < 0.01$ )。D/DSS+和D/DSS-组与C/DSS+和C/DSS-组

相比, 血清叶酸( $8.87 \text{ nmol/L} \pm 1.11 \text{ nmol/L}$  vs  $11.34 \text{ nmol/L} \pm 0.31 \text{ nmol/L}$ ,  $P < 0.01$ )、维生素B12( $409.2 \text{ ng/L} \pm 56.27 \text{ ng/L}$  vs  $676.1 \text{ ng/L} \pm 51.66 \text{ ng/L}$ ,  $P < 0.01$ )显著降低, 同型半胱氨酸显著增高( $8.45 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 0.35 \text{ } \mu\text{mol/L}$  vs  $6.77 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 0.36 \text{ } \mu\text{mol/L}$ ,  $P < 0.01$ )。C/DSS+和D/DSS+组IFN- $\gamma$ 表达较C/DSS-和D/DSS-组显著增高( $5.3 \pm 1.2$  vs  $10.6 \pm 10.8$ ,  $\chi^2 = 14.517$ ,  $P = 0.001$ ,  $P < 0.01$ )。DSS+组的IFN- $\gamma$ 表达水平与结肠炎症程度正相关( $r = 0.853$ ,  $0.840$ ;  $P = 0.031, 0.036; P < 0.05$ )。子鼠结肠黏膜中的*IFNG*启动子区总体甲基化水平以及同一位点的甲基化水平, 4组之间相比无统计学差异( $P > 0.05$ )。

## 结论

母体孕期及哺乳期饮食中甲基供体缺乏可能通过结肠黏膜中IFN- $\gamma$ 表达增高导致子鼠结肠黏膜炎症严重程度增加。子鼠结肠黏膜中IFN- $\gamma$ 的表达异常与*IFNG*启动子区的甲基化无明显相关性, 可能是其他途径导致的。

© The Author(s) 2017. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 溃疡性结肠炎; 甲基供体; 基因甲基化; 干扰素 $\gamma$

**核心提要:** 母体孕期及哺乳期饮食中甲基供体缺乏可能通过结肠黏膜中干扰素 $\gamma$ (interferon  $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )表达增高导致子鼠结肠黏膜炎症严重程度增加。子鼠结肠黏膜中IFN- $\gamma$ 的表达异常与*IFN- $\gamma$* 基因启动子区的甲基化无明显相关性, 可能是其他途径导致引起。

张蕊, 马玉萍, 刘文天. 母体甲基供体缺乏对子代小鼠结肠炎发生影响的研究. *世界华人消化杂志* 2017; 25(31): 2791-2797 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v25/i31/2791.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v25.i31.2791>

## 0 引言

遗传易感性、环境、机体免疫相互作用, 共同参与溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的发病过程, 但其发病机制不明。DNA甲基化是一种重要的表观遗传修饰方式, 其不改变DNA序列仅导致表型的改变从而影响疾病。本研究将从表观遗传学方面探讨UC发病机制。目前认为, 营养和膳食因素可以通过两种机制影响基因甲基化: (1)改变S-腺苷甲

## ■ 研究前沿

目前研究表明叶酸缺乏可以加重UC发病, 补充叶酸可以治疗和缓解UC。DNA甲基化相关的膳食营养如何影响UC患者体内DNA甲基化水平, 通过什么通路或途径参与UC发病是亟待研究的问题。

## ■ 相关报道

对于DSS诱导的小鼠结肠炎模型, 使用甲基化抑制物可以加重结肠炎症程度, 然而补充叶酸后, 小鼠的结肠炎症反应得到改善, 但是并没有研究证实叶酸与UC的肠道某些基因的特异性甲基化有相关性, 如IFNG的甲基化。

硫氨酸(S-adenosylmethionine, SAM)的含量; (2)改变甲基化过程中DNA甲基转移酶(DNA methyltransferases, DNMTs)活性。叶酸等甲基供体能够调节母体表观遗传机制<sup>[1]</sup>, 进而调节表观基因组, 产生表型和疾病易感性的差异<sup>[2]</sup>。此外以小鼠为模型的研究表明, 母体DNA甲基化能够通过孕期营养干预(如补充叶酸)而改变, 从而改变子代表型<sup>[3]</sup>。

在UC动物模型中发现, 干扰素 $\gamma$ (interferon  $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )对于黏膜炎症的产生、发展和维持都起到重要作用。与正常对照组相比, 炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)患者的结肠黏膜中干扰素 $\gamma$ 基因(interferon  $\gamma$  gene, *IFNG*)甲基化水平降低<sup>[4]</sup>, 但是导致结肠黏膜IFNG低甲基化的原因尚不清楚。因此, 推测由于母体叶酸、维生素B12和甲硫氨酸等甲基供体的缺乏可能改变SAM的含量, 直接导致IFN基因低甲基化改变, 使IFN- $\gamma$ 高表达, 进而参与了UC的发病。

## 1 材料和方法

1.1 材料 选择SPF级健康♀( $n = 16$ )及♂7周龄( $n = 8$ )Balb/c小鼠, 饲养于实验动物中心, 所有动物实验方案遵守天津医科大学实验动物伦理委员会相关规定。饲养环境: 通风良好, 环境温度 $24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , 相对湿度 $55\% \pm 5\%$ , 灯光控制在明暗各12 h, 饮食水量充足且不限。主要试剂和仪器: 甲基供体缺乏和标准小鼠饲料(北京华阜康生物科技有限公司); 葡聚糖硫酸钠(美国MP Biomedicals公司); 小鼠叶酸、维生素B12、同型半胱氨酸酶联免疫检测试剂盒(北京方程嘉鸿科技有限公司); 组织DNA提取试剂盒(天根生化公司); 扩增引物(上海赛百胜基因技术有限公司); EZ DNA Methylation-Gold Kit(ZYMO); 通用型SP免疫组织化学染色试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司); 兔抗鼠IFN- $\gamma$ 多克隆抗体(北京博奥森生物科技有限公司); PCRMix体系、T7 RNA and DNA Polymerase、RNaseA、MassARRAY系统(Sequenom公司)光学显微镜(日本Olympus公司); 低温高速离心机(德国Eppendorf公司); 酶标仪(爱普生有限公司); 稳压稳流电泳仪(北京通用分析仪器厂); 全自动凝胶成像系统(上海天能科技有限公司)。

## 1.2 方法

1.2.1 造模: ♀鼠于孕前1 mo分别喂养标准饮

食(C,  $n = 8$ )和甲基供体缺乏饮食(D, 无叶酸、胆碱、维生素B12和甲硫氨酸,  $n = 8$ ), 1 mo后与♂鼠交配, 用阴道栓测定雌鼠是否怀孕, 将怀孕的雌鼠隔离并持续喂养之前相同饮食至所产子鼠断乳, 所有子代小鼠于产后21 d断乳。随后两组子鼠分别随机取6只, 以葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)溶液作为饮用水5 d, 诱导子代小鼠实验性结肠炎, 其余子鼠作为对照组给予纯净水。此时实验小鼠共分为4组, 每组6只(图1): (1)标准饮食未用DSS组(C/DSS-); (2)甲基供体缺乏饮食未用DSS组(D/DSS-); (3)标准饮食并用DSS组(C/DSS+); (4)甲基供体缺乏饮食并用DSS组(D/DSS+)。

1.2.2 样本处理及保存: 一般情况, 观察各组子代小鼠的毛发光泽, 精神状态, 活动情况, 饮食情况以及大便和体质量变化。所有子鼠在麻醉状态下眼球取血, 外周血在室温下静置4-6 h, 待凝固后1500 r/min离心10 min, 分离血清于 $-80^{\circ}\text{C}$ 低温冰箱保存。眼球取血后处死子鼠, 立即暴露腹腔取出所有结肠组织, 用PBS磷酸盐缓冲液洗净后, 一半置于40 g/L甲醛溶液, 一半置于液氮速冻, 置入 $-80^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。

1.2.3 血清甲基供体检测: 血清叶酸、维生素B12、同型半胱氨酸的测定采用酶联免疫吸附法检测三项指标, 全部使用酶联免疫检测试剂盒测定。具体步骤参照试剂盒说明。

1.2.4 子代小鼠结肠黏膜炎症程度和组织学评价: 子代小鼠在DSS处理第1天开始, 每天观察并记录小鼠体质量、粪便性状、活动情况及肛周出血程度。参数包括体质量减轻评分、粪便性状评分和便血程度评分, 通过以上参数计算结肠黏膜炎症活动指数(disease activity index, DAI)<sup>[5]</sup>,  $\text{DAI} = 1/3$ 总评分, 分数范围0-4分。组织学评分 = 受累范围 $\times$ (组织损伤分级评分+炎性细胞浸润程度评分), 最高分为8分<sup>[6]</sup>。

1.2.5 肠黏膜组织IFN- $\gamma$ 表达: 采用免疫组织化学SP方法检测IFN- $\gamma$ 在肠黏膜组织中的表达。位于结肠黏膜组织上皮细胞和肠腺之间, 染色呈黄棕色颗粒的间质炎性细胞为阳性细胞。每张切片中随机选择5个高倍镜视野, 共计数500个细胞, 根据500个细胞中阳性细胞占总细胞的百分比和阳性细胞染色强度程度进行评分。

1.2.6 DNA提取及浓度测定: 按照组织基因组DNA提取试剂盒说明进行操作, 加入蛋白酶使肠道黏膜组织蛋白溶解, 裂解液裂解细胞核

表 1 血清叶酸、维生素B12和同型半胱氨酸浓度

分组	C/DSS-	D/DSS-	C/DSS+	D/DSS+
叶酸(nmol/L)	11.33 ± 0.29	8.47 ± 1.32 <sup>b</sup>	11.34 ± 0.35	9.27 ± 0.77 <sup>b</sup>
维生素B12(ng/L)	678.90 ± 62.17	401.70 ± 38.80 <sup>b</sup>	673.20 ± 44.56	416.70 ± 72.22 <sup>b</sup>
同型半胱氨酸(μmol/L)	6.77 ± 0.40	8.35 ± 0.37 <sup>b</sup>	6.77 ± 0.36	8.55 ± 0.33 <sup>b</sup>

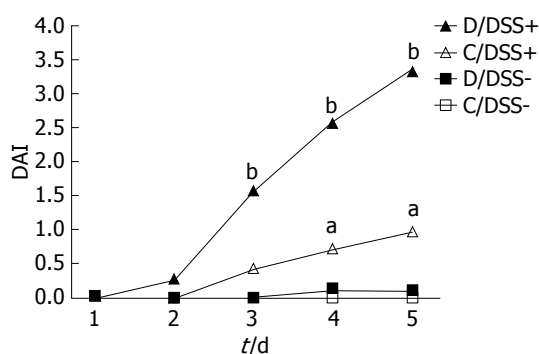
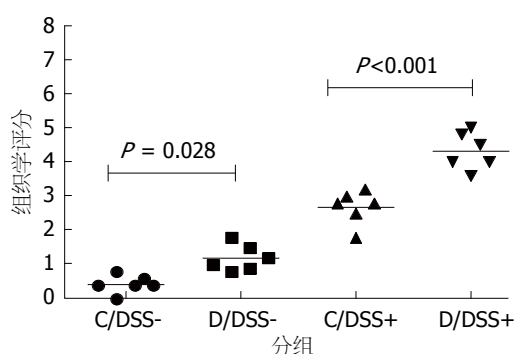
<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs C/DSS-, C/DSS+.图 1 甲基供体缺乏饮食对DAI的影响. <sup>a</sup> $P < 0.05$  vs C/DSS-组; <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs C/DSS+组. DAI: 结肠黏膜炎症活动指数.

图 2 甲基供体缺乏饮食对组织学评分的影响.

后沉淀DNA, 乙醇洗涤后用DNA溶解液溶解. DNA溶液稀释100倍, 用分光光度计分析DNA的纯度.

**1.2.7 Sequenom MassArray甲基化检测:** 使用亚硫酸盐将样本中DNA未甲基化的胞嘧啶(C)全部转化为尿嘧啶(U), 使用一对特殊引物PCR扩增样本, 得到带有T7RNA聚合酶启动子序列的扩增产物, 在体外转录体系中, 用T7RNA聚合酶将产物转录为RNA片段. 由于RNaseA能够特异性识别并切割RNA中U3'端, 将RNA片段切割成带有CpG位点的小片段, 最后在MassArray飞行质谱分析系统上检测产物的甲基化程度.

**统计学处理** 采用SPSS18.0统计软件进行统计学数据分析, 呈正态分布的计量资料以mean ± SD表示并进行 $t$ 检验, 计数资料组间比较采用 $\chi^2$ 检验, 相关性分析采用Spearman相关分析.  $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 血清甲基供体检测** 与标准饮食组(C/DSS-和C/DSS+组)相比, 甲基供体缺乏饮食组(D/DSS-和D/DSS+组)的子代小鼠血清叶酸( $8.87 \text{ nmol/L} \pm 1.11 \text{ nmol/L}$  vs  $11.34 \text{ nmol/L} \pm 0.31 \text{ nmol/L}$ ,  $P < 0.01$ )和维生素B12( $409.2 \text{ ng/L} \pm$

$56.27 \text{ ng/L}$  vs  $676.1 \text{ ng/L} \pm 51.66 \text{ ng/L}$ ,  $P < 0.01$ )显著降低, 同型半胱氨酸( $8.45 \pm 0.35$  vs  $6.77 \pm 0.36 \text{ μmol/L}$ ,  $P < 0.01$ )显著增高, 以上差异均有统计学意义(表1).

**2.2 结肠黏膜炎严重程度的比较** 甲基供体缺乏饮食组的小鼠结肠黏膜炎症程度较高, 主要表现在D/DSS+组较C/DSS+组的DAI显著增高( $3.22 \pm 0.55$  vs  $2.22 \pm 0.50$ ,  $P < 0.01$ ); C/DSS+组较C/DSS-组的DAI高( $0.97 \pm 0.25$  vs  $0.01 \pm 0.01$ ,  $P < 0.05$ ); C/DSS-组和D/DSS-组的DAI无统计学差异(图1). 组织学评分发现, D/DSS-组评分高于C/DSS-组( $1.19$  vs  $0.43$ ,  $P < 0.05$ ), D/DSS+组明显高于C/DSS+组( $4.30$  vs  $2.67$ ,  $P < 0.05$ , 图2, 图3).

**2.3 结肠黏膜组织IFN- $\gamma$ 的表达水平** 小鼠结肠黏膜组织中IFN- $\gamma$ 在C/DSS+和D/DSS+组表达较C/DSS-和D/DSS-组明显增高, 具有显著性差异( $5.3 \pm 1.2$  vs  $10.6 \pm 10.8$ ,  $\chi^2 = 14.517$ ,  $P = 0.001$ ,  $P < 0.01$ ), D/DSS+组与C/DSS+组比较, 差异有统计学意义( $4.3 \pm 0.5$  vs  $11.7 \pm 9.6$ ,  $\chi^2 = 6.791$ ,  $P = 0.034$ ,  $P < 0.05$ , 图4). 且C/DSS+组和D/DSS+组的IFN- $\gamma$ 表达与DAI呈正相关( $r = 0.853$ ,  $0.840$ ;  $P = 0.031$ ,  $0.036$ ;  $P < 0.05$ ).

**2.4 结肠组织IFNG甲基化检测结果** CpG位点分别有-99、-180、-269、-283、-303、-423、-431、-442、-492共9个位点, 其中-180、-423

### 创新点

本文将缺乏甲基供体的子代小鼠结肠炎模型造模成功, 证实了母体甲基供体的缺乏能够使子鼠体内IFN- $\gamma$ 表达增多, 加剧子鼠实验性结肠炎, 但IFN- $\gamma$ 异常与IFNG基因启动子区CpG位点甲基化水平无相关性.



# 应用要点

叶酸等靶向DNA甲基化的化合物将会成为一种有效、低廉、安全的预防和治疗UC的方法.

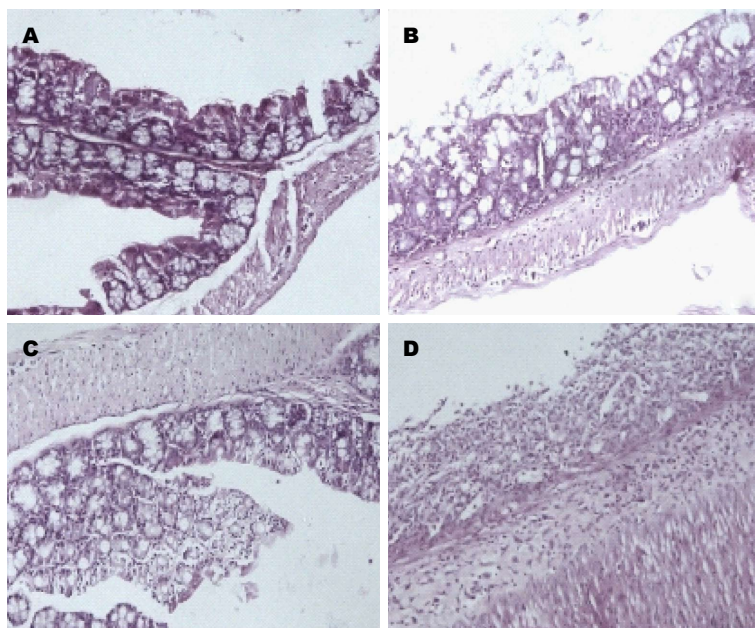


图 3 4组小鼠结肠黏膜HE染色结果(40×). A: C/DSS-组; B: D/DSS-组; C: C/DSS+组; D: D/DSS+组.

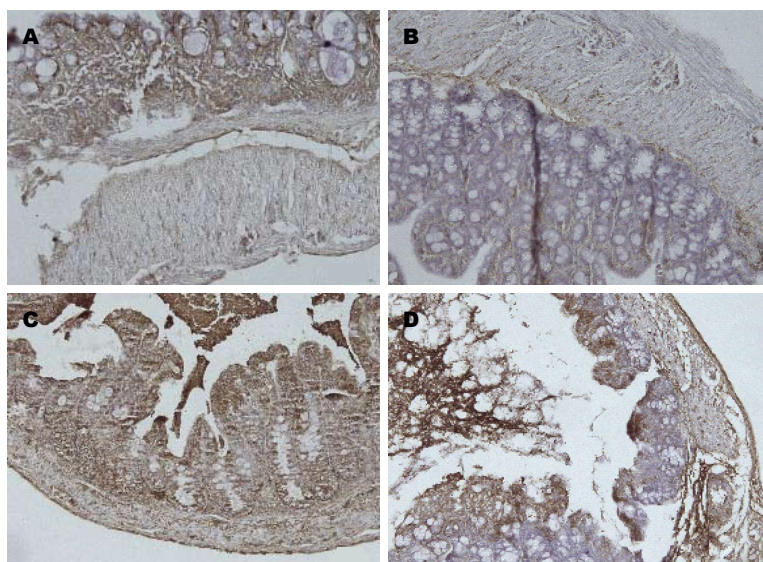


图 4 4组小鼠结肠黏膜IFN- $\gamma$ 表达免疫组织化学染色结果(40×). A: C/DSS-组; B: D/DSS-组; C: C/DSS+组; D: D/DSS+组. IFN- $\gamma$ : 干扰素 $\gamma$ .

两个位点未能得到检测结果, IFNG甲基化水平的最低值出现在D/DSS-组的CpG-442位点, 为0.06(图5). 4组子鼠之间结肠黏膜中IFNG基因启动子区总体甲基化水平相比较, 无明显统计学差异( $P>0.05$ , 图6). 四组子鼠结肠黏膜中IFNG基因启动子区同一CpG位点的甲基化水平比较, 亦无明显统计学差异( $P>0.05$ , 图7).

## 3 讨论

溃疡性结肠炎是一种非特异性炎症性疾病, 为了有效预防疾病发生和探索有效治疗方案, 关

于IBD发病机制的研究越来越多. 近年来, 许多观点认为溃疡性结肠炎的发病是机体与环境间相互作用的结果, 其中, 膳食营养在疾病发生发展中发挥重要作用. 以往的研究表明叶酸和维生素B12缺乏与子代低出生体质量、中心性肥胖、脂肪肝和心肌肥大相关<sup>[7]</sup>, 饮食中叶酸缺乏可能是导致UC发病率增高的原因, 但叶酸是否参与其发病机制尚不明确<sup>[8]</sup>. 本研究结果表明在同样DSS诱导下, 母体孕期及哺乳期饮食中甲基供体缺乏可以使子代小鼠血清叶酸和维生素B12水平降低, 同型半胱氨酸升高. 在IBD患者

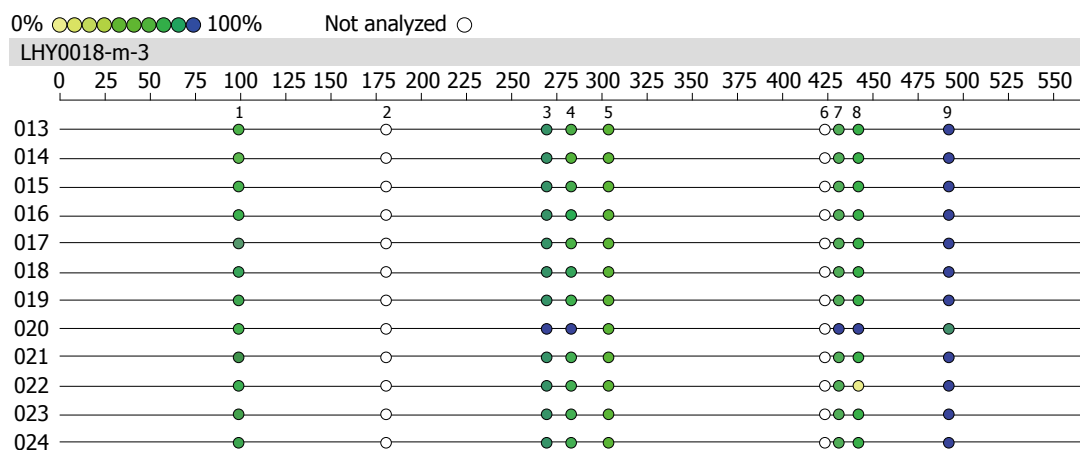


图 5 CpG位点甲基化圆点图. 从黄色到蓝色甲基化程度逐渐增加, CpG位点-180、-423未分析出来.

#### 名词解释

DNA甲基化: 表观遗传的修饰途径之一, 在真核生物中, 甲基供体S-腺苷甲硫氨酸的甲基团通过DNA甲基转移酶催化共价结合到CpG二核苷酸胞嘧啶环的碳5位点形成5-甲基胞嘧啶. 生物体甲基化的方式是稳定的, 可遗传的.

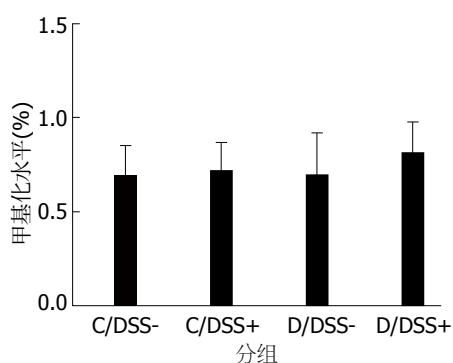


图 6 4组样本总体甲基化水平比较.

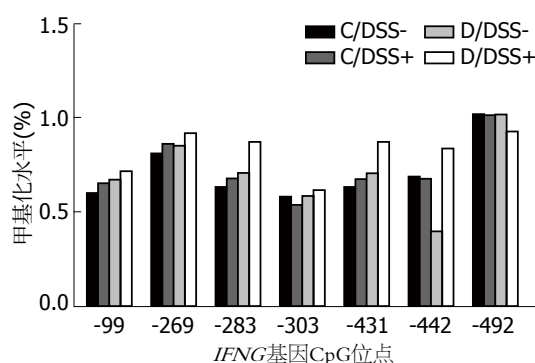


图 7 4组样本不同CpG位点甲基化水平比较.

中经常观察到高同型半胱氨酸血症<sup>[9]</sup>, 同型半胱氨酸是叶酸和维生素B12缺乏的一种生物标志, 可以促进促炎细胞因子和趋化因子的分泌<sup>[10]</sup>, 正常情况下, 同型半胱氨酸在叶酸和维生素B12的作用下合成蛋氨酸和四氢叶酸, 因此叶酸和维生素B12缺乏可以导致同型半胱氨酸升高.

IFN- $\gamma$ 是IBD等慢性炎症中重要的促炎因子<sup>[11]</sup>. 目前全基因组关联研究分析发现12q15位点的 $IFNG$ 基因与UC发病有密切关系<sup>[12]</sup>, 在此基础上, 本文对结肠黏膜IFN- $\gamma$ 表达和DAI进行了相关性分析, 结果显示IFN- $\gamma$ 与DAI正相关, 即IFN- $\gamma$ 可以一定程度上反映小鼠实验性结肠炎的严重程度. 母体孕期及哺乳期饮食中甲基供体缺乏, 可能通过结肠黏膜中IFN- $\gamma$ 表达增高的途径导致子鼠结肠黏膜炎症严重程度增加.

许多观点认为, DNA甲基化是人类复杂性自身免疫性疾病发生发展的重要影响因素. 在真核生物基因组中, DNA甲基化的过程是甲基供体SAM的甲基团通过DNMTs催化共价结合到CpG二核苷酸胞嘧啶环的碳5位点形成5-甲基胞嘧啶. 有研究报道, 实时定量PCR检测IBD

患者LP-T细胞发现,  $IFN-\gamma$ 基因DNA启动子区的甲基化水平降低5%可以导致IFN- $\gamma$ 表达水平增加3倍<sup>[13]</sup>. 为了研究甲基供体缺乏饮食加重实验性结肠炎的机制, 本实验检测了结肠黏膜中 $IFN-\gamma$ 启动子区CpG的甲基化水平, 检测结果并未发现结肠组织IFNG甲基化水平有明显差异, 这可能是由膳食营养与DNA甲基化之间存在的组织特异性决定的, 因此通过饮食调整的DNA甲基化可能具有组织特异性<sup>[14]</sup>. 例如, 叶酸缺乏饮食的大鼠肝脏组织整体DNA低甲基化, 而脑组织高甲基化. 然而本实验只通过鼠的肠道组织提取DNA进行检测, 这就造成了实验结果有一定的局限性.

虽然本研究中母体甲基供体缺乏饮食并未导致子代小鼠 $IFNG$ 基因启动子区CpG位点甲基化水平明显降低, 但是否存在其他影响溃疡性结肠炎发生发展的表观遗传学机制, 仍然值得进一步探讨.

#### 参考文献

- 1 Chango A, Pogribny IP. Considering maternal

# 同行评价

本研究探讨母鼠饮食中甲基供体含量的缺乏是否可能通过影响 *IFN- $\gamma$*  基因的甲基化参与子代鼠溃疡性结肠炎发生及发展, 为溃疡性结肠炎在发病机制研究提供一种新思路。

- 1 dietary modulators for epigenetic regulation and programming of the fetal epigenome. *Nutrients* 2015; 7: 2748-2770 [PMID: 25875118 DOI: 10.3390/nu7042748]
- 2 Lillycrop KA, Burdge GC. Maternal diet as a modifier of offspring epigenetics. *J Dev Orig Health Dis* 2015; 6: 88-95 [PMID: 25857738 DOI: 10.1017/s2040174415000124]
- 3 McKay JA, Wong YK, Relton CL, Ford D, Mathers JC. Maternal folate supply and sex influence gene-specific DNA methylation in the fetal gut. *Mol Nutr Food Res* 2011; 55: 1717-1723 [PMID: 21770049 DOI: 10.1002/mnfr.201100150]
- 4 Gallou-Kabani C, Vigé A, Gross MS, Junien C. Nutri-epigenomics: lifelong remodelling of our epigenomes by nutritional and metabolic factors and beyond. *Clin Chem Lab Med* 2007; 45: 321-327 [PMID: 17378726 DOI: 10.1515/cclm.2007.081]
- 5 Wang L, Jiang X, Liu X, Qian T, Chu Y. Local immune compartments are related to the severity of dextran sodium sulphate induced colitis. *Biosci Trends* 2014; 8: 242-247 [PMID: 25382439 DOI: 10.5582/bst.2014.01088]
- 6 Nagy-Szakal D, Mir SA, Ross MC, Tatevian N, Petrosino JF, Kellermayer R. Monotonous diets protect against acute colitis in mice: epidemiologic and therapeutic implications. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2013; 56: 544-550 [PMID: 23085891 DOI: 10.1097/MPG.0b013e3182769748]
- 7 Guéant JL, Namour F, Guéant-Rodriguez RM, Daval JL. Folate and fetal programming: a play in epigenomics? *Trends Endocrinol Metab* 2013; 24: 279-289 [PMID: 23474063 DOI: 10.1016/j.tem.2013.01.010]
- 8 Leddin D, Tamim H, Levy AR. Is folate involved in the pathogenesis of inflammatory bowel disease? *Med Hypotheses* 2013; 81: 940-941 [PMID: 24045091 DOI: 10.1016/j.mehy.2013.08.025]
- 9 Oussalah A, Guéant JL, Peyrin-Biroulet L. Meta-analysis: hyperhomocysteinaemia in inflammatory bowel diseases. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34: 1173-1184 [PMID: 21967576 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04864.x]
- 10 Robert K, Nehmé J, Bourdon E, Pivert G, Friguet B, Delcayre C, Delabar JM, Janel N. Cystathionine beta synthase deficiency promotes oxidative stress, fibrosis, and steatosis in mice liver. *Gastroenterology* 2005; 128: 1405-1415 [PMID: 15887121 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.02.034]
- 11 Xavier RJ, Podolsky DK. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 2007; 448: 427-434 [PMID: 17653185 DOI: 10.1038/nature06005]
- 12 Silverberg MS, Cho JH, Rioux JD, McGovern DP, Wu J, Annesse V, Achkar JP, Goyette P, Scott R, Xu W, Barmada MM, Klei L, Daly MJ, Abraham C, Bayless TM, Bossa F, Griffiths AM, Ippoliti AF, Lahaie RG, Latiano A, Paré P, Proctor DD, Regueiro MD, Steinhardt AH, Targan SR, Schumm LP, Kistner EO, Lee AT, Gregersen PK, Rotter JI, Brant SR, Taylor KD, Roeder K, Duerr RH. Ulcerative colitis-risk loci on chromosomes 1p36 and 12q15 found by genome-wide association study. *Nat Genet* 2009; 41: 216-220 [PMID: 19122664 DOI: 10.1038/ng.275]
- 13 Gonsky R, Deem RL, Targan SR. Distinct Methylation of IFNG in the Gut. *J Interferon Cytokine Res* 2009; 29: 407-414 [PMID: 19450149 DOI: 10.1089/jir.2008.0109]
- 14 Maegawa S, Hinkal G, Kim HS, Shen L, Zhang L, Zhang J, Zhang N, Liang S, Donehower LA, Issa JP. Widespread and tissue specific age-related DNA methylation changes in mice. *Genome Res* 2010; 20: 332-340 [PMID: 20107151 DOI: 10.1101/gr.096826.109]

编辑: 马亚娟 电编: 李瑞芳







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



ISSN 1009-3079

