

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2018 年 6 月 8 日 第 26 卷 第 16 期 (Volume 26 Number 16)



16 / 2018

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

- 951 EZH2在肝脏疾病中的研究进展

朱莉, 李明, 朱传武

- 957 直肠神经内分泌肿瘤的内镜诊治进展

张昱, 郭强

基础研究

- 964 RIP3介导肠化胃上皮细胞IL-33的表达

刘梦静, 姜葵, 张君, 周璐, 赵经文, 王邦茂

临床研究

- 972 绍兴市柯桥区60例小儿厌食症的流行病学调查研究

马乐萍

- 979 TERT在胃癌发生发展中的表达变化及其与临床特征的相关性

国麟祺, 陈颖, 滕欣丽, 夏伟滨, 徐剑, 曲义坤

- 986 乙肝肝硬化与乙肝肝硬化合并糖尿病患者肠道菌群结构初步探讨

龙克娇, 刘保文, 卢敏, 冯瑞亚, 韩涛, 向慧玲

- 993 重症急性胰腺炎肠内营养不能耐受的危险因素分析

金丽美, 林陈拉, 刘群

- 999 综合护理干预对急性胰腺炎并发糖尿病患者自我管理能力和生活质量的影响

刘东梅

文献综述

- 1005 低位直肠癌术后肛门生理的改变及其对策

金黑鹰

- 1010 舒兰教授健脾化湿方治疗小儿泄泻经验

郭艳芳, 舒兰, 惠华英, 谭周进

消 息

- 956 《世界华人消化杂志》参考文献要求
963 《世界华人消化杂志》外文字符标准
978 《世界华人消化杂志》栏目设置
985 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
1014 《世界华人消化杂志》修回稿须知

封面故事

吕小平, 广西医科大学第一附属医院消化内科副主任, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, 留学英国. 中华医学会消化病学分会第十届委员会炎症性肠病学组/协作组委员, 科技部科技专家库成员, 全国肝胆病咨询专家, 广西科学基金项目及科技成果评审专家, 中华消化学会广西分会常委, 广西中西医结合学会消化病分会常委, 中国医师协会广西消化内镜分会常委. 主要研究方向: 炎症性肠病的基础和临床; 肝硬化及肝癌发病机制; 消化内镜的诊治. 获广西科技进步奖三等奖1项, 广西卫生适宜技术推广奖一等奖、二等奖和三等奖各1项. 获国家自然科学基金及省厅级科研项目20项, 承担全国多中心临床研究项目5项. 发表专业论文80多篇, 其中SCI论文12篇. 参编教材及专著2部. 培养博士及硕士研究生50名.

本期责任人

编务 李香; 送审编辑 崔丽君; 组版编辑 张砚梁; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 崔丽君; 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 2018-06-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

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

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

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

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

<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: wjgd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc

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

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<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. 本刊被美国《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、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

© 2018 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Contents

Volume 26 Number 16 June 8, 2018

EDITORIAL

- 951 Role of EZH2 in liver disease

Zhu L, Li M, Zhu CW

- 957 Endoscopic treatment of rectal neuroendocrine tumors

Zhang Y, Guo Q

BASIC RESEARCH

- 964 RIP3 mediates IL-33 production in gastric epithelial cells with intestinal metaplasia

Liu MJ, Jiang K, Zhang J, Zhou L, Zhao JW, Wang BM

CLINICAL RESEARCH

- 972 Epidemiological investigation of 60 cases of infantile anorexia in Keqiao district of Shaoxing

Ma LP

- 979 TERT expression in gastric carcinogenesis: Correlation with clinical features

Guo LQ, Chen Y, Teng XL, Xia WB, Xu J, Qu YK

- 986 Structure of intestinal microflora in hepatitis B cirrhosis patients and hepatitis B cirrhosis patients with diabetes mellitus

Long KJ, Liu BW, Lu M, Feng RY, Han T, Xiang HL

- 993 Risk factors for intolerance to enteral nutrition in patients with severe acute pancreatitis

Jin LM, Lin CL, Liu Q

- 999 Effect of comprehensive nursing intervention on self-management ability and quality of life in acute pancreatitis patients with diabetes mellitus

Liu DM

REVIEW

- 1005 Alterations of anal physiological features after surgery for low rectal cancer and management strategies

Jin HY

- 1010 Professor Shulan's Jianpi Huashi prescription for treating infantile diarrhea

Guo YF, Shu L, Hui HY, Tan ZJ

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 26 Number 16 June 8, 2018

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Xiao-Ping Lv, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, No 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Province, China

Indexed/Abstracted by

Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, Abstract Journals, and Scopus.

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Xiang Li* Review Editor: *Li-Jun Cui* Electronic Editor: *Yan-Liang Zhang* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Li-Jun Cui* 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 June 8, 2018

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

<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

<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

© 2018 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.

RIP3介导肠化胃上皮细胞IL-33的表达

刘梦静, 姜葵, 张君, 周璐, 赵经文, 王邦茂

刘梦静, 姜葵, 张君, 周璐, 赵经文, 王邦茂, 天津医科大学总医院消化内科 天津市 300052

姜葵, 主任医师, 主要从事消化系统疾病的研究.

基金项目: 国家自然科学基金青年项目, No. 81200282; 国家自然科学基金面上项目, No. 81470834.

作者贡献分布: 此课题由刘梦静、姜葵及周璐负责设计; 研究过程由刘梦静与张君操作完成; 赵经文负责论文修改; 姜葵与王邦茂负责论文审核.

通讯作者: 姜葵, 主任医师, 教授, 300052, 天津市和平区鞍山道154号, 天津医科大学总医院消化内科. jiangkui@sohu.com
电话: 022-60361553

收稿日期: 2018-03-28
修回日期: 2018-05-03
接受日期: 2018-05-16
在线出版日期: 2018-06-08

RIP3 mediates IL-33 production in gastric epithelial cells with intestinal metaplasia

Meng-Jing Liu, Kui Jiang, Jun Zhang, Lu Zhou, Jing-Wen Zhao, Bang-Mao Wang

Meng-Jing Liu, Kui Jiang, Jun Zhang, Lu Zhou, Jing-Wen Zhao, Bang-Mao Wang, Department of Gastroenterology, General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81200282 and No. 81470834.

Correspondence to: Kui Jiang, Chief Physician, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Tianjin Medical University, Heping District, 154 Anshan Road, Tianjin 300052, China. jiangkui@sohu.com

Received: 2018-03-28
Revised: 2018-05-03
Accepted: 2018-05-16
Published online: 2018-06-08

Abstract

AIM

To explore the relationship between receptor-interacting protein kinase 3 (RIP3) signaling pathway and gastric intestinal metaplasia (GIM), and the regulatory effect of this signaling pathway on inflammatory cytokines.

METHODS

Gastric tissues from healthy controls, patients with chronic non-atrophic gastritis, patients with GIM, and patients with dysplasia were collected to detect the expression of RIP3 in GIM by immunohistochemistry and RT-PCR. Human gastric epithelial cell line GES-1 was stimulated with sodium deoxycholate (DCA) to observe the relationship between CDX2, a key gene involved in intestinal metaplasia, and RIP3 signaling pathway. The regulation of inflammatory cytokines by RIP3 was also assessed.

RESULTS

Compared with the control and chronic non-atrophic gastritis groups, the expression of RIP3 mRNA in the gastric mucosa of GIM patients and dysplasia patients was up-regulated, and the expression of RIP3 protein in the gastric epithelium of GIM patients and dysplasia patients was also up-regulated. In GES-1 cells stimulated with DCA, the expression of CDX2 protein and the RIP3 signaling pathway-associated proteins was increased in a concentration-dependent manner, accompanied by up-regulation of IL-33 expression. Necrostatin-1 (Nec-1), a specific inhibitor of the RIP3 signaling pathway, had no effect on CDX2 expression, but significantly down-regulated the expression of RIP3 and IL-33.

CONCLUSION

RIP3 has no effect on the occurrence of GIM, but it may affect GIM progression by regulating the expression of IL-33 in gastric epithelial cells with intestinal metaplasia, suggesting that it may be a potential therapeutic target for preventing GIM progression.

© The Author(s) 2018. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Receptor-interacting protein kinase 3; Gastric intestinal metaplasia; IL-33

Liu MJ, Jiang K, Zhang J, Zhou L, Zhao JW, Wang BM. RIP3 mediates IL-33 production in gastric epithelial cells with intestinal metaplasia. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2018; 26(16): 964-971 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v26/i16/964.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v26.i16.964>

摘要

目的

探索受体相互作用蛋白激酶3(receptor-interacting protein kinase 3, RIP3)信号通路与胃黏膜肠上皮化生(gastric intestinal metaplasia, GIM)的关系, 及其对炎性细胞因子的调控作用。

方法

收集健康对照, 患有慢性非萎缩性胃炎、GIM和异型增生的胃黏膜组织标本, 通过免疫组化和qRT-PCR分析RIP3在GIM中的表达情况。用脱氧胆酸钠(sodium desoxycholate, DCA)刺激GES-1人胃黏膜上皮细胞系, western blot观察肠上皮化生的关键基因CDX2与RIP3信号通路的关系, 及RIP3信号通路对炎性细胞因子的调控。

结果

与对照组和慢性非萎缩性胃炎组相比, GIM组和异型增生组的胃黏膜RIP3 mRNA表达上调; 同时GIM组和异型增生组胃上皮细胞RIP3蛋白水平表达上调。受DCA刺激的GES-1细胞, RIP3信号通路相关蛋白表达与CDX2蛋白表达均上调, 伴随着IL-33表达的上调; RIP3信号通路的特异性抑制剂(necrostatin-1, Nec-1)对CDX2表达无影响, 但可显著下调RIP3信号通路相关蛋白及IL-33的表达。

结论

RIP3信号通路对GIM的发生无影响, 然而其可能通过调控肠化的胃上皮细胞IL-33的表达影响GIM进展, 提示其可能成为阻止GIM进展的潜在治疗靶点。

© The Author(s) 2018. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 受体相互作用蛋白激酶3; 胃黏膜肠上皮化生; IL-33

核心提要: 受体相互作用蛋白激酶3(receptor-interacting protein kinase 3, RIP3)作为调节炎症信号的关键因子, 其在炎症调控及肿瘤的发生发展中扮演一定的作用。本文就RIP3信号通路在胃黏膜肠上皮化生(gastric intestinal metaplasia, GIM)发生发展中的作用机制进行了初步探讨, 在细胞水平初步发现RIP3信号通路可调控肠化胃上皮细胞IL-33的表达, 进而可能调控GIM进展。

刘梦静, 姜葵, 张君, 周璐, 赵经文, 王邦茂. RIP3介导肠化胃上皮细胞IL-33的表达. *世界华人消化杂志* 2018; 26(16): 964-971 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v26/i16/964.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v26.i16.964>

0 引言

胃黏膜肠上皮化生(gastric intestinal metaplasia, GIM)作为胃癌的独立危险因素, 参与慢性炎症状态所触发的慢性萎缩性胃炎、肠上皮化生、异型增生及肠型胃癌发生的多步骤演化过程, 与胃癌的发病存在密切联系。然而, 到目前为止对于GIM进展至胃癌的相关分子机制知之甚少, 其中一个重要原因即造模困难。在实验中给予小鼠幽门螺杆菌灌胃, 小鼠没有出现典型的GIM和胃癌的病理学特征^[1]。目前认为尾型同源盒基因家族2(caudal-related homeobox gene family, *cdx2*)是肠上皮化生的重要调节因子, *cdx2*的异位表达在肠上皮化生的发生发展中起着至关重要的作用。在肠化形成过程中, *cdx2*基因的表达要早于与*cdx2*属同一基因家族的*cdx1*和其他肠上皮特异基因, 提示*cdx2*基因的表达是肠化生的原因。

近年来, 慢性炎症与胃癌的关系已成为研究热点之一, 目前大量研究证实, 慢性炎症的持续存在存在启动、维持、促进胃癌生长中发挥重要作用。细胞因子作为炎症反应的主要成分, 与胃癌的发生发展密切相关。研究发现IL-8、IL-1 β 等炎性细胞因子基因多态性可影响GIM进展^[2-4]。此外, 研究发现在70%的胃癌(gastric cancer, GC)患者主要表现为3种致癌途径失调: 增殖/干细胞通路(40%), NF- κ B通路(46%)和Wnt/ β -连环蛋白途径(39%)^[5]。NF- κ B和STAT3通路是促炎细胞因子释放的关键调控因子, 也是肿瘤增殖和慢性炎症持续存在的重要介质。研究表明, GC的发生与细胞因子过度表达密切相关, 特别是受NF- κ B调节的IL-1, IL-6, TNF, 且这种相关性大于良性疾病如胃炎^[6]。STAT3通过促进细胞因子活化驱动胃癌发生和发展, IL-6和IL-11为肿瘤发生提供了基础^[7]。

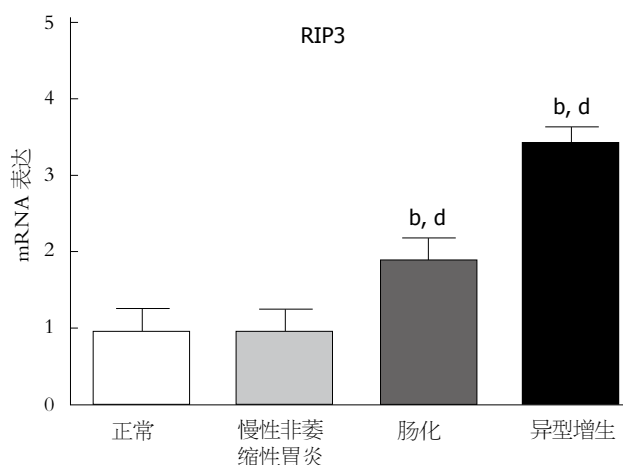


图1 RIP3 mRNA在各组黏膜中的表达。^b $P < 0.01$, 与正常组相比;
^d $P < 0.01$, 与慢性非萎缩性胃炎相比。

最新研究表明受体相互作用蛋白3(receptor-interacting protein 3, RIP3)是调节炎症信号的关键因子,越来越多的研究已证实, RIP3可通过诱导坏死性凋亡或促进炎性细胞因子的产生引发炎症。有研究证实,在许多炎症性疾病的小鼠模型中, RIP3缺陷小鼠呈现减少的炎症反应^[8,9],证明RIP3信号与炎症反应的密切联系。已知危险相关模式分子(DAMPs)是重要的炎症介质,通常情况下,细胞凋亡只产生很少的DAMPs不足以引起炎症反应,然而坏死性凋亡可释放大量的DAMPs^[10]。此外,研究发现高迁移率族蛋白B1(high mobility group protein B1, HMGB1)、线粒体DNA(mtDNA)及IL-33等DAMPs分子与坏死性凋亡导致的炎症反应密切相关^[11]。此外, RIP3可刺激NLRP3炎症小体活化,包括受体分子、凋亡相关斑点样蛋白(ASC)及pro-caspase-1等大分子,进而释放促炎因子IL-1家族成员释放,是炎症反应的重要分子机制之一^[12-14]。因此,了解RIP3信号通路与GIM的关系,及其对炎性细胞因子的调控作用对探索GIM进展有重要作用。

1 材料和方法

1.1 材料 收集天津医科大学总医院2017-04/05经内镜及病理诊断为正常、慢性非萎缩性胃炎、GIM和异型增生的患者胃黏膜标本两块,一块用于免疫组化检查,一块用于实时荧光定量PCR(qRT-PCR)。正常组10例,男6例,女4例,年龄54-60岁,平均年龄57.3岁;慢性非萎缩性胃炎组15例,男8例,女7例,年龄40-70岁,平均年龄55.1岁;肠化组26例,男18例,女8例,年龄41-74岁,平均年龄56.7岁;异型增生组12例,男6例,女6例,年龄40-65岁,平均年龄53岁。患者同意进入本研究,签订知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 免疫组化: 新鲜胃黏膜组织样本置于10%甲醛溶液中固定,常规石蜡包埋。切片常规脱蜡水化,取一定量pH6.0柠檬酸盐缓冲液于微波炉中加热进行抗原修复后滴加3% H_2O_2 孵育10 min,一抗工作液4℃孵育过夜。二抗工作液室温孵育30 min,滴加DAB液显色20 min,淡苏木紫复染细胞核30 s,脱水封片,晾干后观察。
1.2.2 胃黏膜组织样本RNA提取和cDNA合成: 将新鲜胃黏膜组织样本置于Trizol中,使用组织研磨器研磨后加入氯仿离心。吸取上层液体加入异丙醇沉淀RNA,乙醇漂洗,加入DEPC水溶解沉淀检测浓度。根据TIANScript cDNA第一链合成试剂盒进行逆转录反应,合成cDNA。

1.2.3 qRT-PCR: 检测IL-33、IL-1 β 、IL-10、TNF α 、CDX2、RIP3的表达。引物序列参照Gene Bank 数据库中基因的序列,使用ABI公司的Primer Express Software 2.0设计,由金唯智生物科技有限公司合成(表1)。

1.2.4 细胞培养: 人胃黏膜上皮细胞系(GES-1)购自于北京肿瘤研究所,用含10%胎牛血清的DMEM高糖培养液培养,置于37℃、5% CO_2 细胞培养箱中,2 d换液1次,1:2-1:3传代。

1.2.5 Western blot: 提取细胞总蛋白,BCA试剂盒检测蛋白浓度。SDS-PAGE分离蛋白,转至PVDF膜,封闭。一抗孵育4℃过夜。洗涤后二抗室温孵育1 h,再次洗涤。用ECL检测液发光显影定影,Quantity One软件分析。

统计学处理 应用SPSS22.0软件包录入数据并进行数据处理分析。计量资料以mean \pm SD表示正态分布数据,组间差异显著性采用单因素方差分析(One-Way ANOVA)进行统计学分析,组间的两两比较采用LSD法,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 肠化的胃黏膜RIP3 mRNA表达升高 用qRT-PCR检测正常组、慢性非萎缩性胃炎组、肠化组、异型增生组RIP3 mRNA表达水平。结果显示,与正常对照组相比,慢性非萎缩性胃炎组RIP3 mRNA表达无统计学差异,但肠化组和异型增生组表达水平显著升高(P 均 < 0.01)。与慢性非萎缩性胃炎组相比,肠化组和异型增生组RIP3 mRNA表达水平显著升高(P 均 < 0.01)(图1)。

2.2 肠化的胃上皮细胞RIP3蛋白表达升高 应用免疫组化观察RIP3蛋白(炎症信号调节的关键蛋白)在正常组、慢性非萎缩性胃炎组、肠化组和异型增生组的胃上皮细胞中的表达情况。结果显示,与正常对照组相比,慢性非萎缩性胃炎组RIP3蛋白表达无差异,但肠化组

表 1 PCR引物列表

引物名称	引物序列 (5'→3')
GAPDH	上游: CCCTTCATTGACCTCAACTACATGG 下游: CATGGTGGTGAAGACGCCAG
IL-33	上游: TGACGGTGTTGATGGTAAGATG 下游: ACAGAGTGTTCTTGTGTTGG
IL-1β	上游: ATGCACCTGTACGATCACTG 下游: ACAAAGGACATGGAGAACACC
IL-10	上游: CGCATGTGAACTCCCTGG 下游: TAGATGCCTTTCTCTTGGAGC
TNFα	上游: ACTTTGGAGTGATCGGCC 下游: GCTTGAGGGTTTGCTACAAC
CDX2	上游: GCTATAAATGCCAGAGCCAACC 下游: CACAGACCAACAACCCAAACAG
RIP3	上游: TGGCGGTCAAGATCGTAAAC 下游: AATTTAGTCACCAGAGCCGG

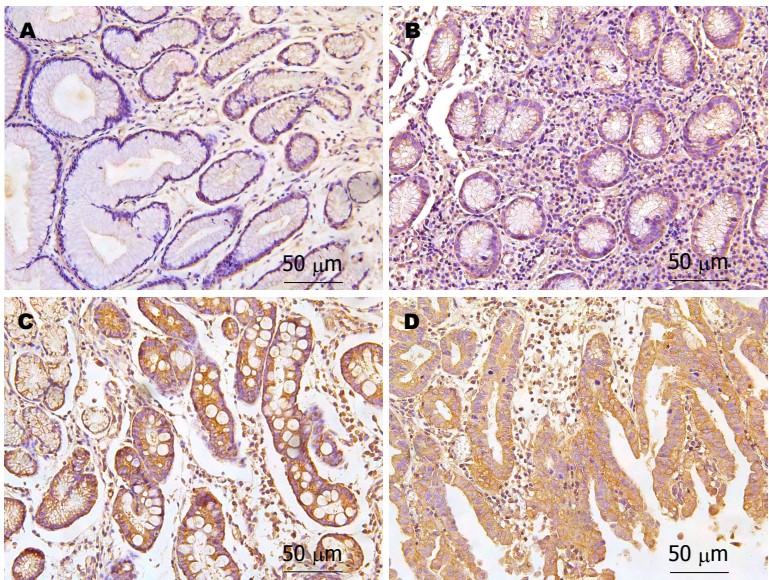


图 2 RIP3蛋白在各组黏膜胃上皮细胞中的表达. 免疫组织化学染色×200. A: 正常; B: 慢性非萎缩性胃炎; C: 肠化; D: 异型增生.

和异型增生组表达水平显著升高. 与慢性非萎缩性胃炎组相比, 肠化组和异型增生组RIP3 蛋白表达水平显著升高, 结果与基因表达水平一致. 这些发现表明在肠化的胃上皮细胞中RIP3信号通路活性升高(图2).

2.3 RIP3信号通路在DCA刺激的GES-1细胞中活性升高

DCA可诱导GES-1细胞表达肠上皮化生的关键基因 *cdx2*^[15,16]. 为进一步证实RIP3信号通路在肠化的胃上皮细胞中的表达情况, 我们在体外给予不同浓度DCA(0 μmol/L、50 μmol/L、100 μmol/L、200 μmol/L、300 μmol/L)刺激GES-1 12h, 应用Western blot检测CDX2、RIP1(RIP3上游信号分子)、RIP3蛋白的表

达水平. 结果显示: 对照组GES-1细胞的CDX2蛋白微表达($P>0.05$), 随着DCA浓度逐渐升高到200 μmol/L, GES-1细胞的CDX2蛋白表达逐渐增强呈浓度依赖性, 浓度升高为300 μmol/L时CDX2蛋白表达减弱, 提示DCA可诱导CDX2表达, 且在一定范围内呈浓度依赖性升高; 同时RIP1、RIP3蛋白表达水平与CDX2蛋白表达呈现相同趋势, 进一步证明RIP3信号通路在肠化的胃上皮细胞中活化(图3).

2.4 RIP3信号通路对CDX2蛋白的表达无影响 为探索RIP3信号通路与GIM的关系, 用RIP3信号通路的特异性抑制剂Nec-1作用于细胞, 观察CDX2与RIP3信

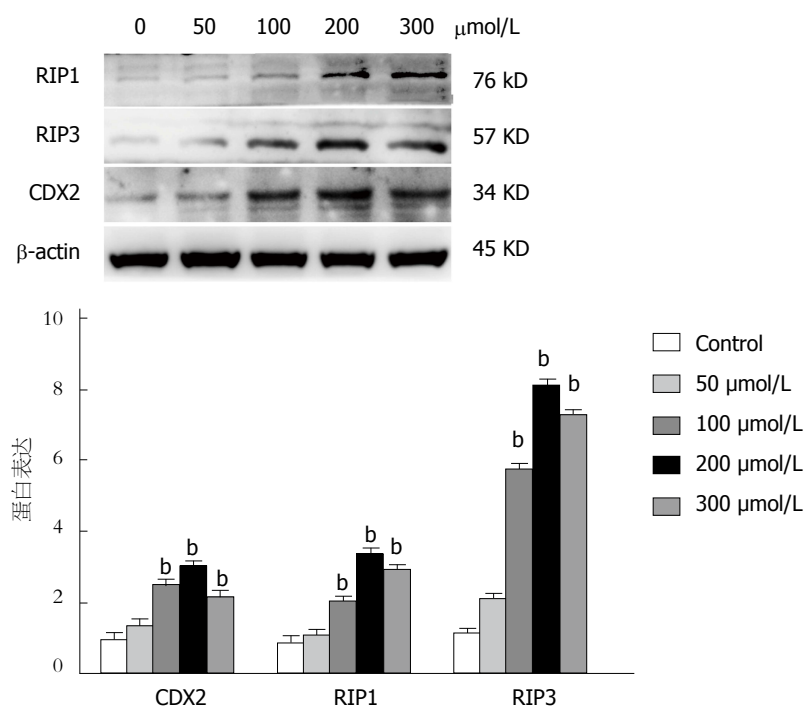


图 3 不同浓度DCA刺激GES-1细胞, RIP3信号通路相关蛋白与CDX2蛋白表达. ^b $P < 0.01$, 与对照组相比. Control: 对照组; DCA: 脱氧胆酸钠; RIP1: 受体相互作用蛋白激酶1; RIP3: 受体相互作用蛋白激酶3.

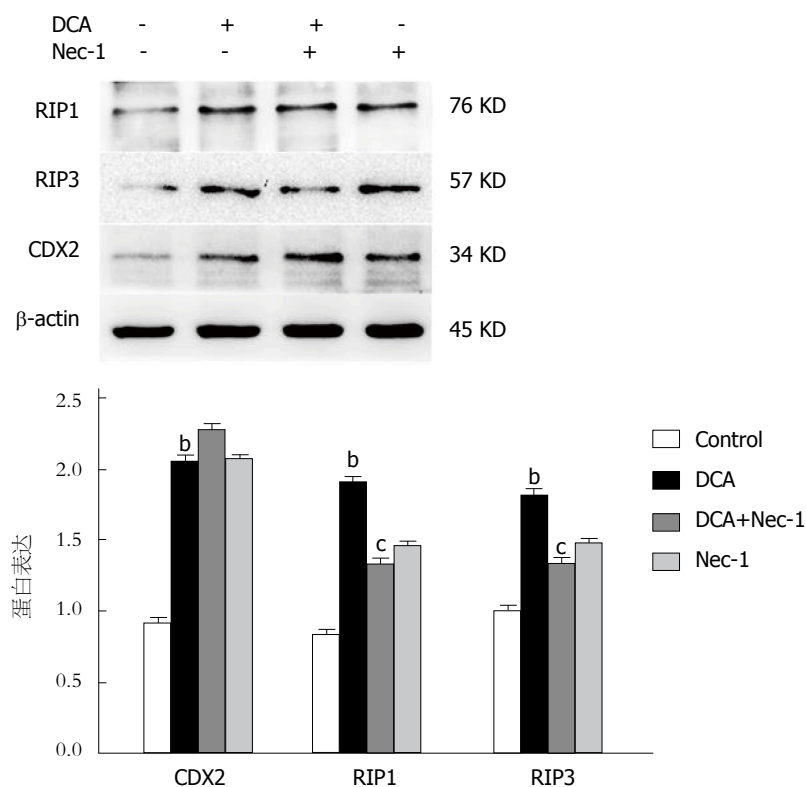


图 4 不同刺激组合, CDX2及RIP3信号通路相关蛋白表达. 其中DCA+Nec-1组是200 μ mol/L DCA刺激GES-1细胞12 h再给予30 μ mol/L Nec-1作用12 h. ^b $P < 0.01$, 与对照组相比; ^c $P < 0.05$, 与DCA组相比. Control: 对照组; DCA: 脱氧胆酸钠; RIP1: 受体相互作用蛋白激酶1; RIP3: 受体相互作用蛋白激酶3.

号通路的表达情况. 与对照组相比, DCA组CDX2与RIP3信号通路相关蛋白表达水平均升高; 与DCA组相比, DCA+Nec-1组CDX2蛋白表达水平无统计学差异

($P > 0.05$), 然而RIP3信号通路相关蛋白表达水平降低(P 均 < 0.01), 证明RIP3信号通路与GIM的发生无关, 而是胃上皮细胞肠化后激活该信号通路, 提示RIP3信号通

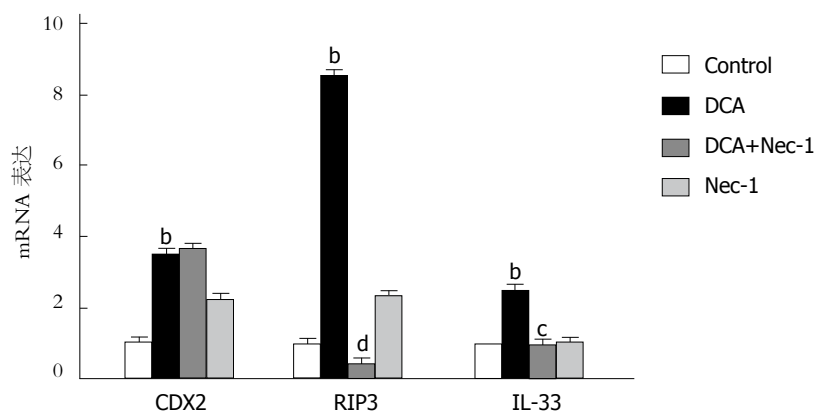


图 5 不同刺激组合, CDX2、RIP3和IL-33 mRNA的表达。^b $P<0.01$, 与对照组相比; ^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$, 与DCA组相比。Control: 对照组; DCA: 脱氧胆酸钠; RIP3: 受体相互作用蛋白激酶3; IL-33: 白介素-33。

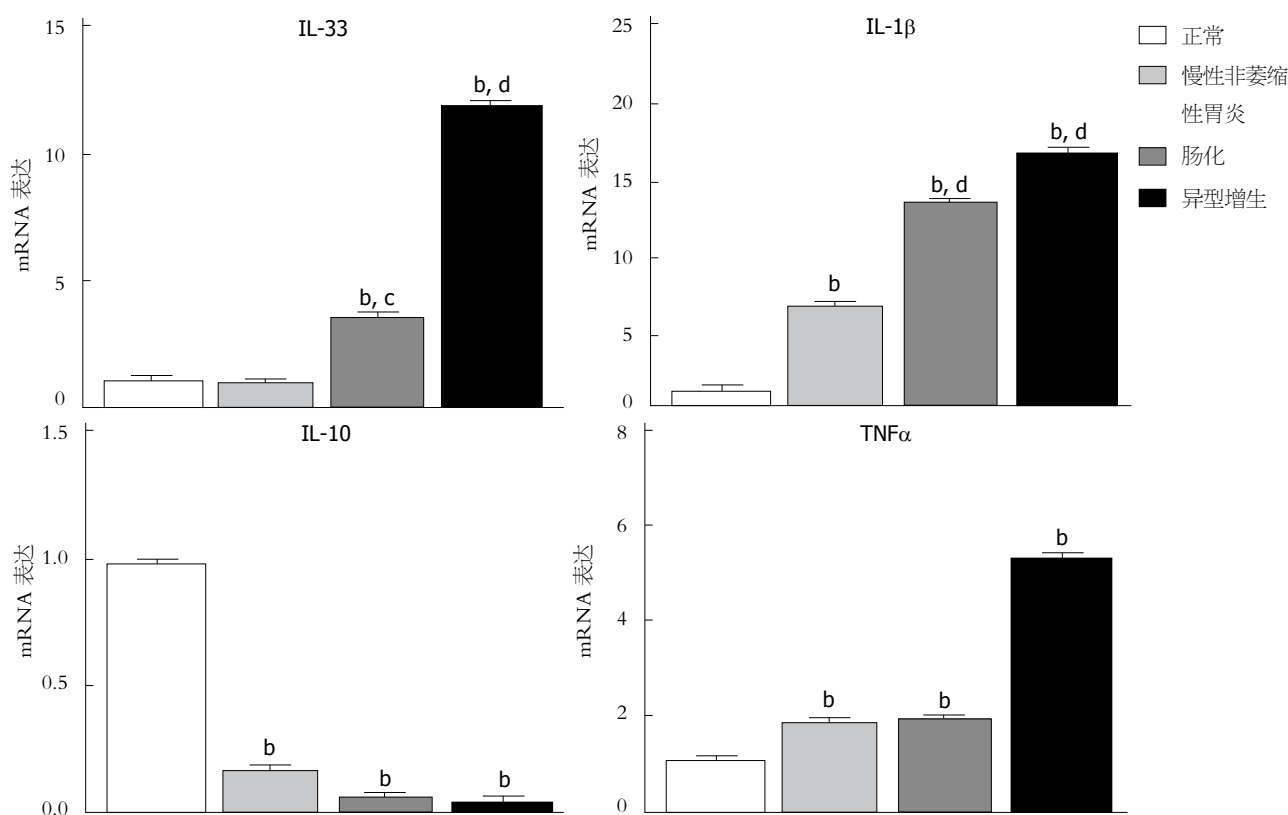


图 6 炎症细胞因子在各组黏膜中的表达。^b $P<0.01$, 与正常组相比; ^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$ 与慢性非萎缩性胃炎相比。IL-33: 白介素-33; IL-1β: 白介素-1β; IL-10: 白介素-10; TNFα: 肿瘤坏死因子。

路可能与GIM进展有关(图4)。

2.5 RIP3信号通路可调控IL-33的表达 我们用qRT-PCR检测GES-1细胞在不同条件下炎症细胞因子IL-33、IL-1β、TNFα、IL-10的表达情况。结果显示: 与对照组相比, DCA组IL-33 mRNA表达水平升高($P<0.01$), IL-1β、TNFα、IL-10的表达无统计学差异; 与DCA组相比, DCA+Nec-1组IL-33 mRNA表达水平显著降低($P<0.05$)。结果表明, RIP3信号通路可调控IL-33的表达(图5)。

同时, 我们用RT-PCR检测正常组、慢性胃炎组、肠化组、异型增生组各组的IL-33、IL-10、IL-1β、TNFα mRNA的表达水平。结果显示, 与正常对照组相比, 慢性胃炎组IL-33mRNA表达无统计学差异, 但肠化组和异型增生组表达水平升高(P 均 <0.05); 与正常对照组相比, 慢性胃炎组、肠化组和轻度异型增生组IL-1β和TNFα mRNA表达水平均升高(P 均 <0.05), IL-10 mRNA表达降低($P<0.05$)。另外, 与慢性胃炎组对比, 肠化组和异型增生组IL-33、IL-1β mRNA表达水平显著

升高(P 均 <0.05), IL-10和TNF α mRNA表达水平无统计学差异(P 均 >0.05)(图6)。

3 讨论

本研究发现肠化的胃黏膜RIP3 mRNA表达升高, 同时肠化的胃上皮细胞RIP3蛋白表达水平升高。此外, 体外实验发现RIP3信号通路对肠化关键基因CDX2表达无影响, 但可调控IL-33的表达。

GIM被认为是一种癌前病变, 但其进展为肠型胃癌的具体分子机制仍未明确。研究表明胃黏膜萎缩、肠化、异型增生及癌变均与胃黏膜的炎性微环境有关^[17,18]。同时, 越来越多的研究证实RIP3信号通路是炎症信号的关键调节因子, 通过坏死性凋亡或其他途径^[19]。本研究发现肠化的胃上皮细胞RIP3信号通路活性升高, 同时DCA刺激GES-1后CDX2与RIP3相关通路蛋白表达均升高, 证明RIP3信号通路与GIM有关。给予RIP3信号通路特异性抑制剂后, 发现RIP3相关蛋白表达下降, 而CDX2蛋白表达无变化, 证明RIP3信号通路与GIM的发生无关, 而是胃黏膜肠上皮化生后激活RIP3信号通路, 表明RIP3信号通路可能与GIM的进展有关。

本研究中发现受DCA刺激GES-1细胞, RIP3信号通路活化, 同时上调IL-33的产生, 对IL-1 β 、TNF α 、IL-10的表达无影响; 抑制RIP3信号通路, IL-33表达降低, 表明RIP3信号通路可调控肠化胃上皮细胞IL-33的产生。此外, 我们研究发现相比于慢性胃炎组, 肠化及异型增生组胃黏膜组织标本中IL-33、IL-1 β 基因表达水平明显升高, TNF α 、IL-10没有明显变化, 揭示RIP3信号通路可能通过影响肠化胃上皮细胞IL-33的表达影响GIM进展。

IL-33作为IL-1家族的一个成员, 既可作为可溶性细胞因子调节Th2免疫反应, 刺激肥大细胞产生前炎症因子, 又可以作为核因子起抑制转录的作用, 在炎症和肿瘤等多种疾病中发挥重要的调控作用。有研究结果发现IL-33在肺癌、乳腺癌和肝癌中表达异常升高, 并且能够促进肿瘤的生长和转移^[20-22]。此外, 有研究发现IL-33在胃癌患者的肿瘤组织和血清中表达升高, 促进胃癌细胞的侵袭能力^[23,24]。同时有研究表明给予小鼠高浓度IL-33可通过促进IL-6和IL-9产生, 促进骨髓源性免疫细胞在胃内的聚集, 从而引起胃黏膜炎症、萎缩和肠化^[25]。另有研究发现IL-33可使胃内巨噬细胞极化为M2型巨噬细胞, 通过IL-33/IL-13途径促进解痉多肽表达性化生进展^[26], 证明IL-33对GIM的进展和胃癌的发生与发展有着极为重要的作用。

总之, RIP3信号通路对GIM的发生无影响, 但其可能通过调控IL-33的表达影响GIM进展, 表明其可能是

阻止GIM进展的潜在靶点。

文章亮点

实验背景

胃黏膜肠上皮化生(gastric intestinal metaplasia, GIM)与胃癌的发病存在密切联系。受体相互作用蛋白激酶3(receptor-interacting protein kinase 3, RIP3)是调节炎症信号的关键因子, 研究已证实 RIP3可通过诱导坏死性凋亡或促进炎性细胞因子的产生而引发炎症。

实验动机

本次实验通过研究RIP3信号通路与GIM发生发展之间的关系, 初步探讨RIP3信号通路在GIM中的重要作用, 提示其可能成为阻止GIM进展的潜在治疗靶点。

实验目标

本次实验拟初步探索RIP3与GIM之间的关系及其对炎性细胞因子的调控作用, 为以后进一步研究GIM的防治提供依据, 对预防胃癌的发生有重要意义。

实验方法

本研究通过收集健康对照, 慢性非萎缩性胃炎、GIM和异型增生患者胃黏膜标本, 采用免疫组化和qRT-PCR检测肠化细胞中RIP3的表达。同时通过体外培养GES-1细胞系, 采用不同浓度DCA刺激细胞, RIP3抑制剂Nec-1干预细胞。用Western blot检测CDX2、RIP3等相关指标的表达。

实验结果

本次实验发现GIM中RIP3信号通路表达升高。RIP3信号通路相关蛋白表达以及CDX2蛋白表达均上调; RIP3信号通路的特异性抑制剂Necrostatin-1对CDX2表达无影响, RIP3信号通路相关蛋白及IL-33的表达显著下调。

实验结论

RIP3信号通路可能通过调控肠化的胃上皮细胞IL-33的表达而影响GIM进展, 可能成为潜在治疗靶点从而阻止GIM进展。

展望前景

本次实验由于时间限制, 暂只完成细胞水平相关实验。拟于以后进一步完善细胞转染和相关动物实验。

4 参考文献

- Varon C, Dubus P, Mazurier F, Asencio C, Chambonnier L,

- Ferrand J, Giese A, Senant-Dugot N, Carlotti M, Mégraud F. Helicobacter pylori infection recruits bone marrow-derived cells that participate in gastric preneoplasia in mice. *Gastroenterology* 2012; 142: 281-291 [PMID: 22062361 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.10.036]
- 2 Kumar S, Kumari N, Mittal RD, Mohindra S, Ghoshal UC. Association between pro-(IL-8) and anti-inflammatory (IL-10) cytokine variants and their serum levels and H. pylori-related gastric carcinogenesis in northern India. *Meta Gene* 2015; 6: 9-16 [PMID: 26380815 DOI: 10.1016/j.mgene.2015.07.008]
- 3 Leung WK, Chan MC, To KF, Man EP, Ng EK, Chu ES, Lau JY, Lin SR, Sung JJ. H. pylori genotypes and cytokine gene polymorphisms influence the development of gastric intestinal metaplasia in a Chinese population. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 714-720 [PMID: 16635219 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2006.00560.x]
- 4 Li ZW, Wu Y, Sun Y, Liu LY, Tian MM, Feng GS, You WC, Li JY. Inflammatory cytokine gene polymorphisms increase the risk of atrophic gastritis and intestinal metaplasia. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 1788-1794 [PMID: 20380014]
- 5 Ooi CH, Ivanova T, Wu J, Lee M, Tan IB, Tao J, Ward L, Koo JH, Gopalakrishnan V, Zhu Y, Cheng LL, Lee J, Rha SY, Chung HC, Ganesan K, So J, Soo KC, Lim D, Chan WH, Wong WK, Bowtell D, Yeoh KG, Grabsch H, Boussioutas A, Tan P. Oncogenic pathway combinations predict clinical prognosis in gastric cancer. *PLoS Genet* 2009; 5: e1000676 [PMID: 19798449 DOI: 10.1371/journal.pgen.1000676]
- 6 Yin Y, Si X, Gao Y, Gao L, Wang J. The nuclear factor- κ B correlates with increased expression of interleukin-6 and promotes progression of gastric carcinoma. *Oncol Rep* 2013; 29: 34-38 [PMID: 23117246 DOI: 10.3892/or.2012.2089]
- 7 Giraud AS, Menheniott TR, Judd LM. Targeting STAT3 in gastric cancer. *Expert Opin Ther Targets* 2012; 16: 889-901 [PMID: 22834702 DOI: 10.1517/14728222.2012.709238]
- 8 McComb S, Cheung HH, Korneluk RG, Wang S, Krishnan L, Sad S. cIAP1 and cIAP2 limit macrophage necroptosis by inhibiting Rip1 and Rip3 activation. *Cell Death Differ* 2012; 19: 1791-1801 [PMID: 22576661 DOI: 10.1038/cdd.2012.5]
- 9 Moriwaki K, Balaji S, McQuade T, Malhotra N, Kang J, Chan FK. The necroptosis adaptor RIPK3 promotes injury-induced cytokine expression and tissue repair. *Immunity* 2014; 41: 567-578 [PMID: 25367573 DOI: 10.1016/j.immuni.2014.09.016]
- 10 Pasparakis M, Vandenabeele P. Necroptosis and its role in inflammation. *Nature* 2015; 517: 311-320 [PMID: 25592536 DOI: 10.1038/nature14191]
- 11 Kaczmarek A, Vandenabeele P, Krysko DV. Necroptosis: the release of damage-associated molecular patterns and its physiological relevance. *Immunity* 2013; 38: 209-223 [PMID: 23438821 DOI: 10.1016/j.immuni.2013.02.003]
- 12 张维康, 潘灵辉. NOD样受体蛋白3炎症小体在呼吸机相关性肺损伤中的作用机制研究. *中华危重病急救医学* 2015; 27: 821-825
- 13 De Nardo D, De Nardo CM, Latz E. New insights into mechanisms controlling the NLRP3 inflammasome and its role in lung disease. *Am J Pathol* 2014; 184: 42-54 [PMID: 24183846 DOI: 10.1016/j.ajpath.2013.09.007]
- 14 肖元廷, 李国逊, 王西墨. NOD 样受体通路在急性腹腔感染早期对大鼠肠屏障的作用机制初探. *中华危重病急救医学* 2013; 25: 527-532
- 15 Li S, Chen X, Zhou L, Wang BM. Farnesoid X receptor signal is involved in deoxycholic acid-induced intestinal metaplasia of normal human gastric epithelial cells. *Oncol Rep* 2015; 34: 2674-2682 [PMID: 26324224 DOI: 10.3892/or.2015.4207]
- 16 Tatsugami M, Ito M, Tanaka S, Yoshihara M, Matsui H, Haruma K, Chayama K. Bile acid promotes intestinal metaplasia and gastric carcinogenesis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2012; 21: 2101-2107 [PMID: 23010643 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-12-0730]
- 17 Fox JG, Li X, Cahill RJ, Andrutis K, Rustgi AK, Odze R, Wang TC. Hypertrophic gastropathy in Helicobacter felis-infected wild-type C57BL/6 mice and p53 hemizygous transgenic mice. *Gastroenterology* 1996; 110: 155-166 [PMID: 8536852]
- 18 Wang TC, Goldenring JR, Dangler C, Ito S, Mueller A, Jeon WK, Koh TJ, Fox JG. Mice lacking secretory phospholipase A2 show altered apoptosis and differentiation with Helicobacter felis infection. *Gastroenterology* 1998; 114: 675-689 [PMID: 9516388]
- 19 于泽奇, 衣泰龙, 程世翔. 受体相互作用蛋白3在炎症中的作用. *医学综述* 2016; 22: 3121-3124
- 20 Jovanovic IP, Pejnovic NN, Radosavljevic GD, Pantic JM, Milovanovic MZ, Arsenijevic NN, Lukic ML. Interleukin-33/ST2 axis promotes breast cancer growth and metastases by facilitating intratumoral accumulation of immunosuppressive and innate lymphoid cells. *Int J Cancer* 2014; 134: 1669-1682 [PMID: 24105680 DOI: 10.1002/ijc.28481]
- 21 Hu LA, Fu Y, Zhang DN, Zhang J. Serum IL-33 as a diagnostic and prognostic marker in non-small cell lung cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14: 2563-2566 [PMID: 23725175]
- 22 Zhang P, Liu XK, Chu Z, Ye JC, Li KL, Zhuang WL, Yang DJ, Jiang YF. Detection of interleukin-33 in serum and carcinoma tissue from patients with hepatocellular carcinoma and its clinical implications. *J Int Med Res* 2012; 40: 1654-1661 [PMID: 23206447 DOI: 10.1177/030006051204000504]
- 23 Yu XX, Hu Z, Shen X, Dong LY, Zhou WZ, Hu WH. IL-33 Promotes Gastric Cancer Cell Invasion and Migration Via ST2-ERK1/2 Pathway. *Dig Dis Sci* 2015; 60: 1265-1272 [PMID: 25655003 DOI: 10.1007/s10620-014-3463-1]
- 24 Sun P, Ben Q, Tu S, Dong W, Qi X, Wu Y. Serum interleukin-33 levels in patients with gastric cancer. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 3596-3601 [PMID: 21643739 DOI: 10.1007/s10620-011-1760-5]
- 25 Buzzelli JN, Chalinor HV, Pavlic DI, Sutton P, Menheniott TR, Giraud AS, Judd LM. IL33 Is a Stomach Alarmin That Initiates a Skewed Th2 Response to Injury and Infection. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* 2015; 1: 203-221.e3 [PMID: 28210674 DOI: 10.1016/j.jcmgh.2014.12.003]
- 26 Petersen CP, Meyer AR, De Salvo C, Choi E, Schlegel C, Petersen A, Engevik AC, Prasad N, Levy SE, Peebles RS, Pizarro TT, Goldenring JR. A signalling cascade of IL-33 to IL-13 regulates metaplasia in the mouse stomach. *Gut* 2018; 67: 805-817 [PMID: 28196875 DOI: 10.1136/gutjnl-2016-312779]

编辑: 崔丽君 电编: 张砚梁





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
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

