

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

2020 年 3 月 8 日 第 28 卷 第 5 期 (Volume 28 Number 5)



5 / 2020

ISSN 1009-3079



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



基础研究

- 155 EZH2和VEGF在结直肠癌中的表达其与患者预后关系生物信学分析及验证
于立刚, 陈素琴, 毛国良

临床研究

- 167 自我效能对某医院胃癌化疗患者健康素养与生活质量间的中介效应及调节效应
童肖君
- 172 中药辅助治疗幽门螺杆菌感染的Meta分析
姜立根, 卢增珍, 杨柳, 刘华一, 蔡玲玲
- 184 非正式护理对居家老年脑卒中合并功能性消化不良患者生命质量的影响: 基于衰弱和抑郁的中介作用
蒋元华, 付佳, 方玉华

文献综述

- 189 胰腺假性囊肿内引流及超声内镜引导新型蕈型覆膜金属支架治疗进展
冉文斌, 单晶, 孙晓滨

研究快报

- 197 自我效能在老年功能性消化不良患者社会支持和健康促进生活方式间的中介作用
丁妙慧, 叶雅玲, 严莉

消 息

- 183 《世界华人消化杂志》参考文献要求
196 《世界华人消化杂志》修回稿须知
202 《世界华人消化杂志》正文要求

封面故事

佟立权, 哈尔滨医科大学附属第五医院(大庆市人民医院)外科教研室主任、普外科主任、普外一病区主任、主任医师、教授、医学博士、硕士研究生导师。科研工作: 作为项目负责人, 承担省、市级科研项目8项, 包括黑龙江省自然科学基金3项、黑龙江省卫生厅项目1项、黑龙江省教育厅项目1项、大庆高新区创新基金项目1项、大庆市科技局资助项目2项。作为第一完成人, 获黑龙江省科学技术二等奖1项, 黑龙江省医药卫生科技进步一等奖1项、三等奖1项, 大庆市科技进步一等奖2项、二等奖2项、三等奖1项。在国内外学术期刊共发表论文41篇, 其中被SCI收录13篇(第一或通讯作者6篇、合作者7篇)。主要殊荣: 大庆市劳动模范、大庆市政府特殊津贴、大庆市第十一届“十大杰出青年”、黑龙江省五一劳动奖章获得者、大庆市第一届最美劳动者、大庆市工匠称号、2018年黑龙江省龙江名医称号。

本期责任人

编务 王栋梅; 送审编辑 王禹乔; 组版编辑 刘继红; 英文编辑 王天奇;
形式规范审核编辑部主任 李香; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(半月刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2020-03-08

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

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

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

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

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

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

王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

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

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

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

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

编辑部

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

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,

CA 94588, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路
62号, 远洋国际中心D座903室
电话: +86-10-85381892

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

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

特别声明

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

定价

每期136.00元 全年24期3264.00元

© 2020 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Contents

Volume 28 Number 5 March 8, 2020

BASIC RESEARCH

- 155 Relationship between EZH2 and VEGF expression and prognosis in colorectal cancer

Yu LG, Chen SQ, Mao GL

CLINICAL RESEARCH

- 167 Mediating and regulating effects of self-efficacy on health literacy and quality of life in patients with gastric cancer undergoing chemotherapy

Tong XJ

- 172 Efficacy of traditional Chinese medicine as adjunctive treatment for *Helicobacter pylori*: A meta-analysis

Jiang LG, Lu ZZ, Yang L, Liu HY, Cai LL

- 184 Effects of informal nursing care on quality of life in elderly patients with stroke complicated with functional dyspepsia at home: A mediating role based on frailty and depression

Jiang YH, Fu J, Fang YH

REVIEW

- 189 Recent advances in treatment of pancreatic pseudocyst with endoscopic ultrasonography guided lumen-apposing metal stents

Ran WB, Shan J, Sun XB

RAPID COMMUNICATION

- 197 Mediating role of self-efficacy between social support and health-promoting lifestyle in elderly patients with functional dyspepsia

Ding MH, Ye YL, Yan L

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 28 Number 5 March 8, 2020

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Tong Li-Quan, Director Physician, Professor, Doctor of Medicine, Supervisor of Postgraduate, Department of General Surgery, the Fifth Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Jianshe Road No. 213, Longfeng District, Daqing 163316, Heilongjiang Province, China

Indexed/Abstracted by

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

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Dong-Mei Wang*

Review Editor: *Yu-Qiao Wang*

Electronic Editor: *Ji-Hong Liu*

English Language Editor: *Tian-Qi Wang*

Proof Editor: *Xiang Li*

Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date March 8, 2020

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

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

EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

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

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

Jun-Ping Wang, Professor, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi,

Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

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

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

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

EDITORIAL BOARD MEMBERS

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

EDITORIAL OFFICE

Ya-Juan Ma, Director

World Chinese Journal of Digestology

Baishideng Publishing Group Inc

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

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc

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

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

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

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 136 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2020 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this open access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT

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

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

EZH2和VEGF在结直肠癌中的表达其与患者预后关系生物信学分析及验证

于立刚, 陈素琴, 毛国良

于立刚, 陈素琴, 毛国良, 天津武清区人民医院普通外科 天津市 301700

陈素琴, 天津武清区人民医院病理科 天津市 301700

于立刚, 主治医师, 主要从事结直肠癌临床研究.

基金项目: 天津市武清区科技计划项目资助, No. WQKJ201738.

作者贡献分布: 此论文由于立刚与毛国良设计; 研究由于立刚与陈素琴合作完成; 生物信息学数据分析由于于立刚和陈素琴完成; 论文撰写于立刚完成.

通讯作者: 毛国良, 主任医师, 301700, 天津市武清区杨村镇雍阳西道100号, 武清区人民医院普通外科. 15022371856@163.com

收稿日期: 2019-12-17

修回日期: 2020-01-15

接受日期: 2020-02-25

在线出版日期: 2020-03-08

Relationship between EZH2 and VEGF expression and prognosis in colorectal cancer

Li-Gang Yu, Su-Qin Chen, Guo-Liang Mao

Li-Gang Yu, Su-Qin Chen, Guo-Liang Mao, Department of General Surgery, Tianjin Wuqing District People's Hospital, Tianjin 301700, China

Su-Qin Chen, Department of Pathology, Tianjin Wuqing District People's Hospital, Tianjin 301700, China

Supported by: Science and Technology Program of Wuqing District, Tianjin, No. WQKJ201738.

Corresponding author: Guo-Liang Mao, Chief Physician, Department of General Surgery, Wuqing District People's Hospital of Tianjin, No. 100, Yongyang West Road, Wuqing District, Tianjin 301700, China. 15022371856@163.com

Received: 2019-12-17

Revised: 2020-01-15

Accepted: 2020-02-25

Published online: 2020-03-08

Abstract BACKGROUND

Colorectal cancer (CRC) is a common malignant tumor of the digestive system. However, its exact pathogenesis and independent prognostic factors are still unclear. In this study, we analyzed the expression of enhancer of zeste homolog 2 (EZH2) and vascular endothelial growth factor (VEGF) genes in CRC by using bioinformatics method and their relationship with prognosis. The expression of EZH2 and VEGF proteins and their relationship with the patients' clinical characteristics were detected by immunohistochemistry.

AIM

To investigate the expression and mutation status of EZH2 and VEGF in CRC and their relationship with clinicopathological features and prognosis.

METHODS

The expression of EZH2 and VEGF genes in CRC and tumor adjacent tissues was compared in the TCGA database, and the mutations of EZH2 and VEGF genes were analyzed. The expression network of EZH2 and VEGF genes was established with the STRING database and the key genes in the network were screened. According to the expression of EZH2 and VEGF in tumor tissues, the patients were divided into high and low expression groups. Cox regression model and log-rank test were used to compare the difference of total survival and disease-free survival between the high and low expression groups. In addition, 80 patients with CRC who underwent surgery were selected, and their cancer tissues and adjacent tissues were collected. The

expression of EZH2 and VEGF proteins in the above tissues was detected by immunohistochemistry.

RESULTS

Analysis based on the TCGA database showed that the expression levels of *EZH2* and *VEGF* genes in CRC tissues were significantly higher than those in matched normal intestinal epithelial tissues ($P < 0.05$), but they had no significant correlation with clinical stage of CRC ($P > 0.05$). The mutation rates of *EZH2* and *VEGF* genes in human CRC were 1.5% and 1.9%, respectively, and there were significant differences in the expression levels of *EZH2* and *VEGF* mRNA in tissues with different *EZH2* and *VEGF* mutation statuses. There are 22 proteins in the network. The average interaction index of each protein is 10.5, the regional aggregation index is 0.8, and the protein enrichment was obvious ($P < 0.01$). *EZH2*, *DNMT1*, *HDAC2*, *YY1*, and *SUZ12* were screened as the key genes in the network using Cytoscape software. There was no correlation between the expression of *EZH2* and *VEGF* and the total survival time of patients ($P > 0.05$), but the disease-free survival time of patients with high expression of *VEGF* was significantly lower than that of patients with low expression of *VEGF* ($HR = 1.8$, $P < 0.05$). Immunohistochemistry showed that the positive rates of *EZH2* and *VEGF* proteins in CRC tissues were significantly higher than those in adjacent tissues ($P < 0.01$). The positive expression of *EZH2* was related to tumor diameter, differentiation, and Duke stage ($P < 0.05$). The positive expression of *VEGF* was correlated with degree of differentiation and Duke stage ($P < 0.05$).

CONCLUSION

EZH2 and *VEGF* are up-regulated and mutated in CRC tissues. The high expression of *EZH2* and *VEGF* is related to tumor size, differentiation, and Duke stage, and can be used as potential molecular markers for the prognosis of CRC.

© The Author(s) 2020. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colorectal cancer; *EZH2* and *VEGF* genes; Prognosis; Immunohistochemistry

Yu LG, Chen SQ, Mao GL. Relationship between *EZH2* and *VEGF* expression and prognosis in colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2020; 28(5): 155-166

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v28/i5/155.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v28.i5.155>

摘要

背景

结直肠癌(colorectal carcinoma, CRC)是临床上常见的消化系统恶性肿瘤。但其确切发病机制和预后独立

因素仍未阐明。本研究通过生物信息学方法分析了 *zeste* 基因增强子同源物2(enhancer of *zeste* homolog 2, *EZH2*)和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, *VEGF*)基因在CRC中的表达情况及其与患者预后的关系。并采用免疫组化检测了 *EZH2* 和 *VEGF* 蛋白的表达情况及其与患者临床特征的关系。

目的

探讨 *EZH2* 和 *VEGF* 在CRC中的表达、突变情况及其与患者临床病理特征和预后的关系。

方法

首先在TCGA数据库中比较 *EZH2* 和 *VEGF* 基因 mRNA 在肠癌患者癌和癌旁组织中的表达, 同时分析 *EZH2* 和 *VEGF* 基因的突变情况; 采用STRING数据库建立 *EZH2* 和 *VEGF* 基因表达网络并筛选网络中的关键基因。根据 *EZH2* 和 *VEGF* 在肿瘤组织中的表达分为高低表达组, Cox回归模型Log-rank检验比较高表达组患者总生存和无疾病进展生存是否存在差异。同时选取80例肠癌手术患者, 留取患者癌组织和癌旁组织, 采用免疫组织化学法检测上述组织中 *EZH2* 和 *VEGF* 蛋白表达水平。

结果

TCGA数据库显示 *EZH2* 和 *VEGF* 基因在CRC组织中的表达水平显著高于对应的正常肠上皮组织 ($P < 0.05$), 而与肠癌患者的临床分期并无明显相关性 ($P > 0.05$); *EZH2* 和 *VEGF* 基因在人类肠癌中的突变率分别为1.5%和1.9%, 且 *EZH2* 和 *VEGF* 不同突变组织中 mRNA 表达水平存在明显差异。网络中共有22个蛋白, 各蛋白平均相互作用指数为10.5, 区域聚集指数为0.8, 各蛋白富集明显 ($P < 0.01$)。Cytoscape软件筛选出 *EZH2*, *DNMT1*, *HDAC2*, *YY1* 和 *SUZ12* 为网络中的关键基因; *EZH2* 和 *VEGF* 高低表达与患者总生存期均无相关性 ($P > 0.05$), 而 *VEGF* 高表达组患者无疾病进展生存期显著低于低表达组 ($HR = 1.8$, $P < 0.05$)。免疫组化显示, *EZH2* 和 *VEGF* 在肠癌组织中的阳性表达率均显著高于癌旁组织 ($P < 0.01$)。 *EZH2* 阳性表达与肠癌肿瘤直径、分化程度和Duke分期有关 ($P < 0.05$)。而 *VEGF* 阳性表达与肠癌患者分化程度和Duke分期存在相关性 ($P < 0.05$)。

结论

EZH2 和 *VEGF* 在肠癌组织中呈现明显上调表达和突变, 其高表达与肿瘤大小、分化程度和Duke分期有关, 并可作为肠癌预后的潜在分子标志物。

© The Author(s) 2020. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 肠癌; *EZH2* 基因; *VEGF* 基因; 预后; 免疫组化

核心提要: *zeste*基因增强子同源物2(enhancer of *zeste* homolog 2, *EZH2*)和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, *VEGF*)基因mRNA在肠癌组织中的表达水平明显高于癌旁正常组织。EZH2蛋白阳性表达与肠癌肿瘤直径、分化程度和Duke分期有关($P<0.05$)。而VEGF蛋白阳性表达与肠癌患者分化程度和Duke分期有关($P<0.05$)。EZH2和VEGF有望成为肠癌预后的潜在分子标志物。

于立刚, 陈素琴, 毛国良. EZH2和VEGF在结直肠癌中的表达其与患者预后关系生物信息学分析及验证. 世界华人消化杂志 2020; 28(5): 155-166
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v28/i5/155.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v28.i5.155>

0 引言

肿瘤流行病学数据显示, 美国每年结直肠癌(colorectal carcinoma, CRC)发病人数为15万例左右, 死亡人数约为5万^[1]。我国尚无结直肠肿瘤确切的流行病学数据, 但各个地方的结直肠流行病学研究提示近年来其发病率呈现出上升趋势^[2]。早期行CRC根治术的患者预后较好, 而晚期患者预后较差^[3,4]。目前, 关于CRC预后的相关因素研究认为, 患者TNM分期是预后的独立因素。同时, 近年来随着分子生物学技术的不断进步, 结直肠的恶性生物学行为调控机制逐渐明晰, 它是一个涉及多基因多步骤的分子生物调控过程^[5], 在此过程中, 多种蛋白因子参与其中包括*zeste*基因增强子同源物2(enhancer of *zeste* homolog 2, *EZH2*)和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, *VEGF*)等^[6]。*EZH2*基因是果蝇*zeste*基因增强子的人类同源物, 是PcG(Polycomb Group)基因家族的重要成员之一。*EZH2*能够促进细胞增殖、肿瘤细胞扩散, 在多种肿瘤组织中高表达, 与肿瘤恶性程度和患者预后密切相关。而肿瘤的浸润和转移与血管生成密切相关。*VEGF*是肿瘤血管生成的重要因子, 其表达水平与肿瘤微血管生成有关。在本研究中, 我们首先采用生物信息学方法, 分析*EZH2*和*VEGF*基因在肠癌中的表达和突变情况及其与患者预后的关系, 并采用免疫组化对上述生物信息结果进行验证。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 *EZH2*和*VEGF*基因生物信息学分析: 首先在TCGA数据库中比较*EZH2*和*VEGF*基因mRNA在肠癌患者癌组和癌旁组织中的表达, 同时分析*EZH2*和*VEGF*基因的突变情况。STRING数据库(<http://string-db.org/cgi/input.pl>)^[7]对*EZH2*和*VEGF*及相互作用基因进行网络分析, 物种选择人, 作用蛋白不少于20个, 相互作用关系置信度大于0.7。根据*EZH2*和*VEGF*基因mRNA表达中位数

将肠癌分为高低表达组, Cox回归模型Log-rank检验比较高低表达组肠癌患者总生存和无疾病进展生存是否存在差异, 并计算风险比(hazard ratio, HR)。

1.1.2 *EZH2*和*VEGF*功能富集和蛋白-蛋白相互作用网络构建: 采用基因本体论(gene ontology, GO)对*VEGF*和*EZH2*基因和相关蛋白进行功能富集, 包括细胞组分, 分子功能和生物学过程3个层面^[8]。同时利用STRING数据库构建相互作用蛋白网络构建条件为置信度大于0.5^[9]。

1.1.3 *EZH2*和*VEGF*共表达分析: 在TCGA数据库中, 依据与*EZH2*和*VEGF*基因共表达关系, 对与*EZH2*和*VEGF*基因存在相关性的基因进行聚类。同时选取正相关和负相关表达最为明显的2个基因进行分析, 计算spearman相关系数。

1.1.4 组织标本留取及仪器试剂: 回顾性研究我院2015-01/2019-06收治的80例CRC患者的蜡块癌和癌旁组织标本。患者纳入标准: 患者病理明确诊断为CRC; 术前未接受新辅助治疗; 无合并其他系统恶性肿瘤; 患者组织标本获取经患者或家属同意并签订知情同意书。排除标准: 患者CRC诊断不明确; 术前接受新辅助化疗或生物治疗; 合并其他系统恶性肿瘤; 临床病理自理不完整者。本项目研究经天津市武清区人民医院医学伦理委员会批准。采用免疫组织化学SP法检测*EZH2*和*VEGF*在癌组和癌旁组织中的表达水平及其与患者临床病理特征的关系。*EZH2*和*VEGF*单克隆抗体(鼠抗人, 一抗), 拟购自美国cell signaling公司; 鼠抗兔HRP(二抗)抗体, 购自美国sigma公司; PBS缓冲液, 购自武汉博士德生物工程有限公司。

1.2 方法 *EZH2*和*VEGF*免疫组化检测: 组织标本处理及免疫组化操作: (1)脱蜡水化, 将组织切片置于二甲苯中浸泡10 min, 无水乙醇浸泡5 min, 95%, 80%和79%乙醇各浸泡5 min; (2)抗原修复, 水浴锅加入0.01 mol/L枸橼酸钠至95℃, 放入切片15 min; (3)免疫组织化学染色, 按操作指南逐步脱蜡水化、抗原修复、滴加一抗和二抗, 然后显色, 最终封片镜检。

统计学处理 采用SPSS 19.0软件进行统计学处理, 计数资料采用率表示, 组间比较采用 χ^2 检验; 生存分析采用风险比例模型Log-rank检验, 多因素生存分析采用Cox回归模型, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 *EZH2*和*VEGF*在CRC中的表达 TCGA数据库显示, *EZH2*和*VEGF*基因在CRC组织中的表达水平显著高于对应的正常肠上皮组织($P<0.05$), 而*EZH2*和*VEGF*基因表达水平与肠癌患者的临床分期并无明显相关性($P>0.05$)(图1)。

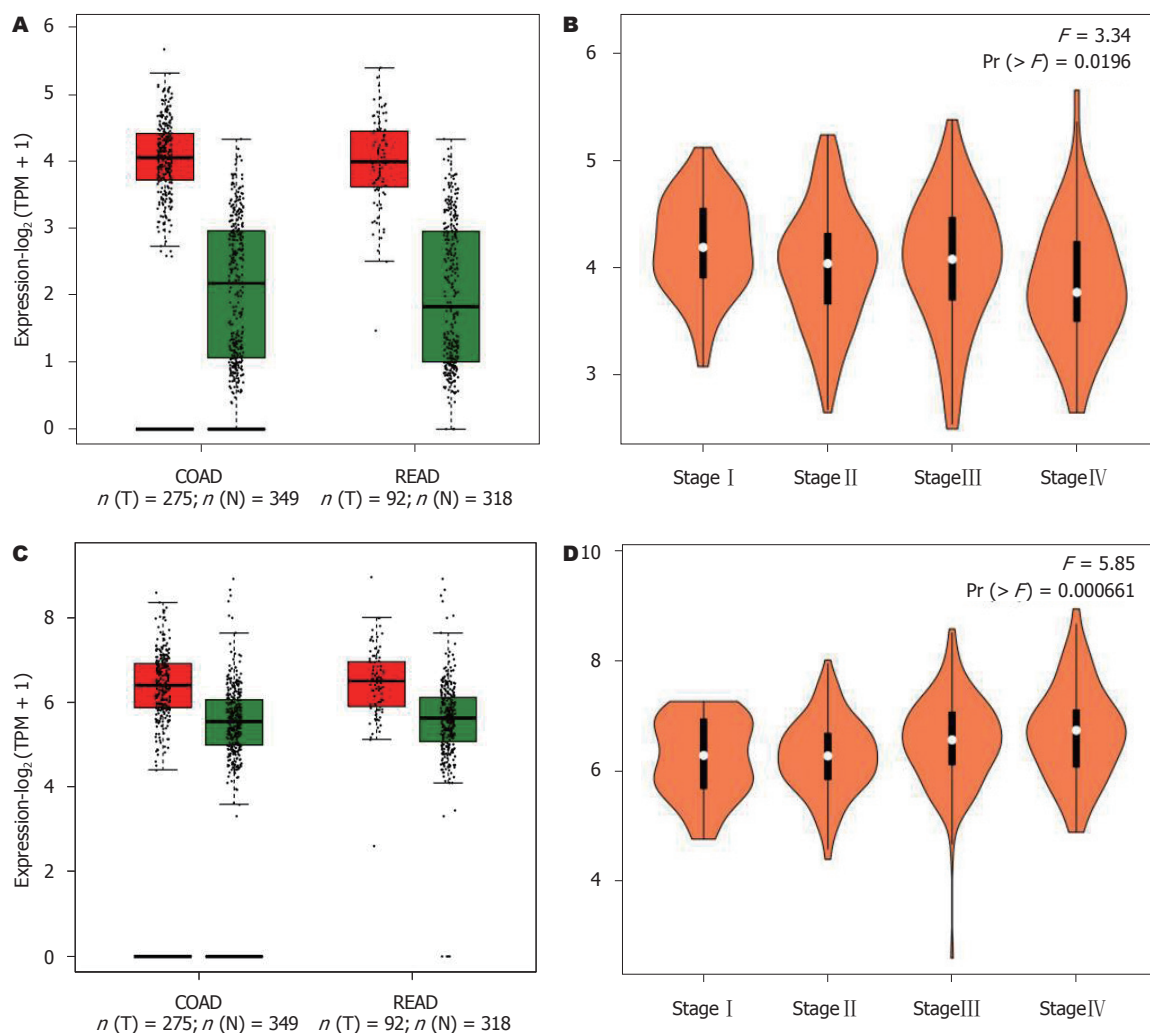


图 1 EZH2和VEGF在结直肠癌中的表达及其与患者临床分期的关系. A: *EZH2*基因mRNA在肠癌患者癌和癌旁组织中的比较; B: *EZH2*基因mRNA在不同临床分期肠癌患者中的比较; C: *VEGF*基因mRNA在肠癌患者癌组织和癌旁组织中的比较; D: *VEGF*基因mRNA在不同临床分期肠癌患者中的比较. EZH2: *zeste*基因增强子同源物2; VEGF: 血管内皮生长因子.

2.2 EZH2和VEGF功能富集 *EZH2*和*VEGF*基因生物学过程、细胞成分和分子功能主要分别富集于细胞增殖调控、ESC/E(Z)复合体和血管内皮生长因子激活受体活性(表1).

2.3 EZH2和VEGF基因突变分析 *EZH2*和*VEGF*基因在人肠癌中的突变率分别为1.5%和1.9%, 且*EZH2*和*VEGF*不同突变组织中期mRNA表达水平存在明显差异(图2).

2.4 EZH2和VEGF相互作用网络分析 *EZH2*和*VEGF*构建相互作用蛋白网络, 网络中共有22个蛋白, 各蛋白平均相互作用指数为10.5, 区域聚集指数为0.8, 各蛋白富集明显($P < 0.01$). Cytohubb软件筛选出*EZH2*, *DNMT1*, *HDAC2*, *YY1*和*SUZ12*为网络中的关键基因(图3).

2.5 EZH2和VEGF共表达分析 *EZH2*和*VEGF*基因正负相关表达的基因进行了聚类分析(图4), *NCAPG2*($r = 0.69$, $P < 0.05$)和*PBX1P1*基因($r = -0.22$, $P < 0.05$)分别于*EZH2*基因正负相关表达(图5A、B). 而*GTPBP2*($r =$

0.598 , $P < 0.05$)和*PECH*与*VEGF*($r = -0.38$, $P < 0.05$)分别于*VEGF*基因正负相关表达(图5C、D).

2.6 EZH2和VEGF表达与患者预后 根据基因在肠癌组织中的表达水平分为高低表达组, 采用Cox回归模型绘制生存曲线, Log-rank检验显示*EZH2*和*VEGF*高低表达组与患者总生存期均无相关性($P > 0.05$), 而*VEGF*高表达组患者无疾病进展生存期显著低于低表达组($HR = 1.8$, $P < 0.05$)(图6).

2.7 EZH2和VEGF表达与临床病理特征关系 *EZH2*主要表达于肠癌细胞的细胞核, 呈现棕黄色颗粒状(图7). *EZH2*在肠癌组织中的阳性表达率为63.8%(51/80), 在癌旁组织中的阳性表达率为6.3%(5/80), 癌组织中*EZH2*阳性表达率显著高于正常肠组织($\chi^2 = 58.13$, $P < 0.01$). *VEGF*表达于细胞质表达, *VEGF*在肠癌患者肿瘤组织中的阳性表达率为60.0%(48/80), 高于癌旁组织26.5%(21/80), 差异有统计学意义($\chi^2 = 18.58$, $P < 0.01$).

表 1 EZH2和VEGF基因相关生物学功能富集

基因功能	基因计数	背景基因	P值
生物血过程			
细胞增殖调控	18	1594	3.47E-13
细胞增殖的正调控	15	878	1.03E-12
基因表达的负调控, 表观遗传	9	117	5.19E-12
血管内皮生长因子信号通路	6	16	4.18E-11
基因表达调控, 表观遗传学	10	251	4.18E-11
内皮细胞迁移的正调控	8	96	5.73E-11
上皮细胞增殖的正调控	9	178	8.25E-11
基因表达的负调控	16	1670	1.14E-10
细胞过程的负调控	21	4454	1.51E-10
细胞成分			
ESC/E(Z)复合体	7	11	4.42E-15
PCG蛋白复合物	8	33	5.02E-15
染色质	10	489	1.86E-09
核染色质	9	333	1.86E-09
swi/snf超家族型配合物	6	67	3.98E-09
含蛋白质复合物	17	4792	3.34E-06
Esc/E(Z)复合体	7	11	4.42E-15
分子功能			
血管内皮生长因子激活受体活性	5	7	1.93E-10
RNA聚合酶 II 近端启动子序列特	9	457	9.52E-08
异性DNA结合			
序列特异性DNA结合	11	1047	2.46E-07
蛋白酪氨酸激酶活性	6	180	9.92E-07
催化活性, 作用于蛋白质	13	2176	1.43E-06
组蛋白脱乙酰酶活性	4	39	2.35E-06
组蛋白脱乙酰酶结合	5	110	2.35E-06
启动子特异性染色质结合	4	43	2.42E-06

EZH2阳性表达与患者性别、年龄、肿瘤发生部和肿瘤直径无明显相关性($P>0.05$), 而EZH2阳性表达与肿瘤分化程度和Duke分期有关($P<0.05$). VEGF阳性表达与肠癌患者分化程度和Duke分期存在相关性($P<0.05$), 与其他病理特征无关(表2).

3 讨论

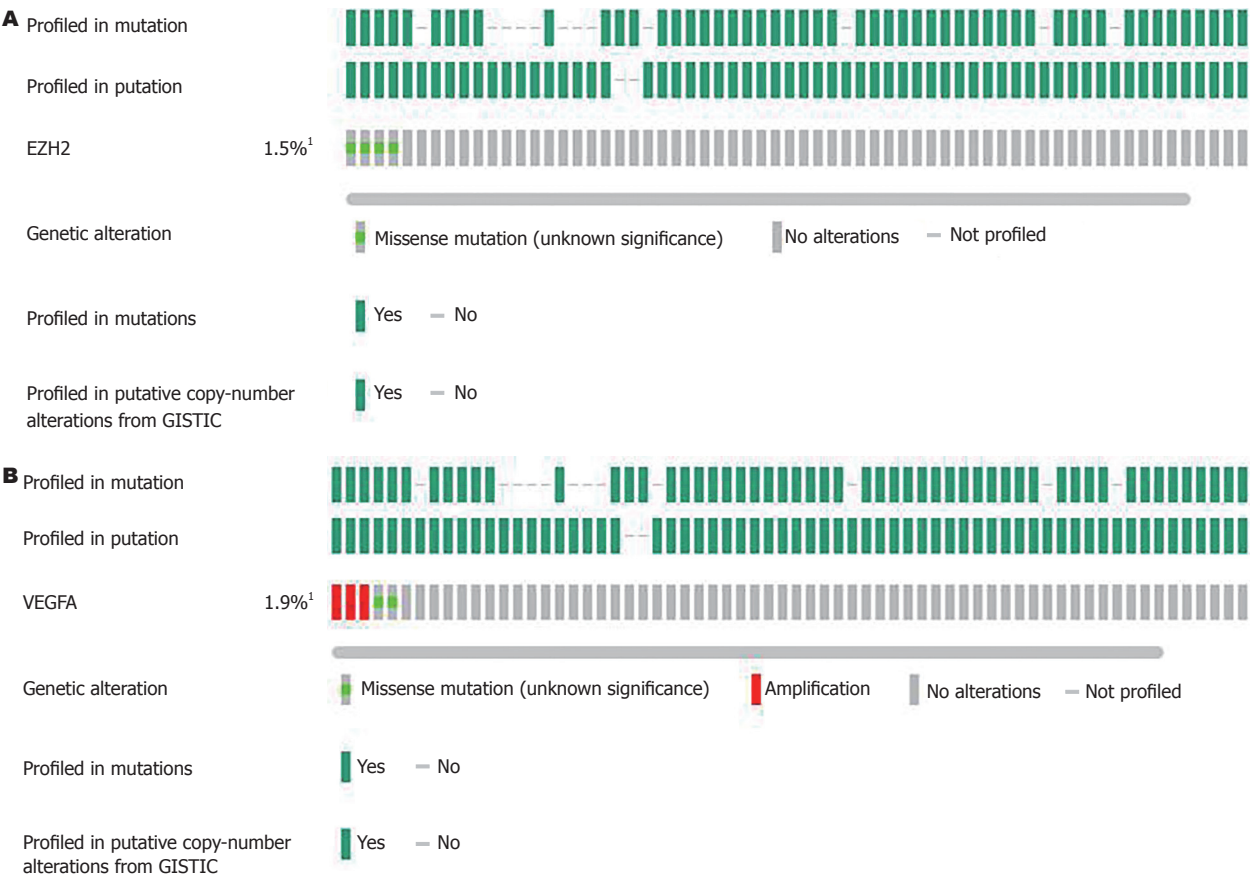
EZH2为果蝇*zeste*基因增强子同源物2, 在多种肿瘤的发生发展中起到重要作用. 该基因的异常表达可能与多种实体肿瘤的恶性表型有关^[8]. EZH2是1996年初Hobert等采用酵母双杂交系统方法发现的一个新基因, 当时命名为ENX-1. 它在体内和体外都能和Vav相互作用, 是果蝇*zeste*基因增强子[E(z)]的人类同源物. 在人类EZH2基因定位于人7染色体3带5区, 为多梳蛋白复合物PcG(Polycomb group)家族重要成员之一. 既往研究发现, EzH2表达产物可以促进肿瘤细胞增殖及扩散, 在多种恶性肿瘤如前列腺癌、膀胱癌、乳腺癌、肝癌、胃癌

等肿瘤中呈现异常表达^[9-12]. 但关于EZH2与结肠癌的关系研究较少, 其与结肠癌发生、发展、侵袭转移等生物学行为之间的关系并不是十分清楚.

VEGF是1989年Ferrara首先发现并报道的, VEGF分子量在34-45 KD之间, 研究显示它属于血小板衍生生长因子家族的一员, 在人体和动物体内的各种组织均有广泛的分布, 不仅是生理组织, 在肿瘤等病理组织中, 也有大量的血管内皮生长因子分布^[13,14]. VEGF是一种能产生多种生物学效应、功能强大的细胞因子, 对肿瘤发生发展影响最大的功能就是促进血管内皮细胞有丝分裂, 故将其命名成血管内皮细胞生长因子^[15,16]. 目前发现的VEGF亚型有VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGF-E、胎盘生长因子(placenta growth factor, PIGF). VEGF家族中, VEGF-A 是主要的血管生长因子, 对于血管内皮的生长起着主要作用, 所以对它的研究也最为成熟, 虽然如此, 对于VEGF-A的作用原理当前仍未研究透彻, 如今, 血管内皮生长因子已经

表 2 EZH2和VEGF蛋白表达与肠癌临床病理特征之间的相关性

分组特征	n = 80	EZH2		P值	VEGF		P值
		阳性(n = 51)	阴性(n = 29)		阳性(n = 48)	阴性(n = 32)	
性别				0.72			0.86
男	49	32	17		30	20	
女	31	19	12		18	13	
年龄(岁)				0.79			0.62
<50	25	16	9		14	11	
≥50	55	35	20		34	21	
肿瘤部位				0.29			0.17
结肠	35	26	9		24	11	
直肠	45	25	20		24	21	
肿瘤直径(cm)				0.01			0.23
>5	34	27	7		23	11	
≤5	46	24	22		25	21	
分化程度				0.03			<0.001
高/中分化	12	11	1		12	0	
低/未分化	68	40	28		36	32	
Duke分期				<0.001			0.04
A/B期	45	20	25		22	23	
C/D期	35	31	4		25	10	



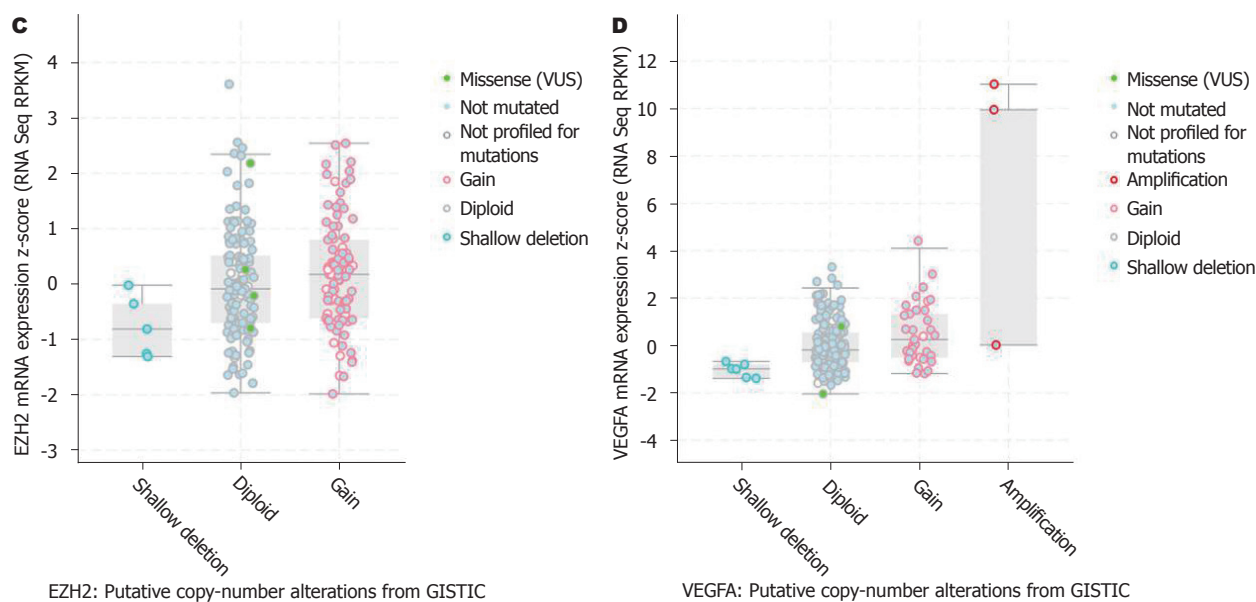


图 2 *EZH2*和*VEGF*基因突变分析. A: *EZH2*基因在肠癌中的突变情况; B: *VEGF*基因在肠癌中的突变情况; C: *EZH2*基因不同突变组织中表达水平比较; D: *VEGFA*基因不同突变组织中表达水平比较. *突变明显; *EZH2*: *zeste*基因增强子同源物2; *VEGF*: 血管内皮生长因子; *VEGFA*: 血管内皮生长因子A.

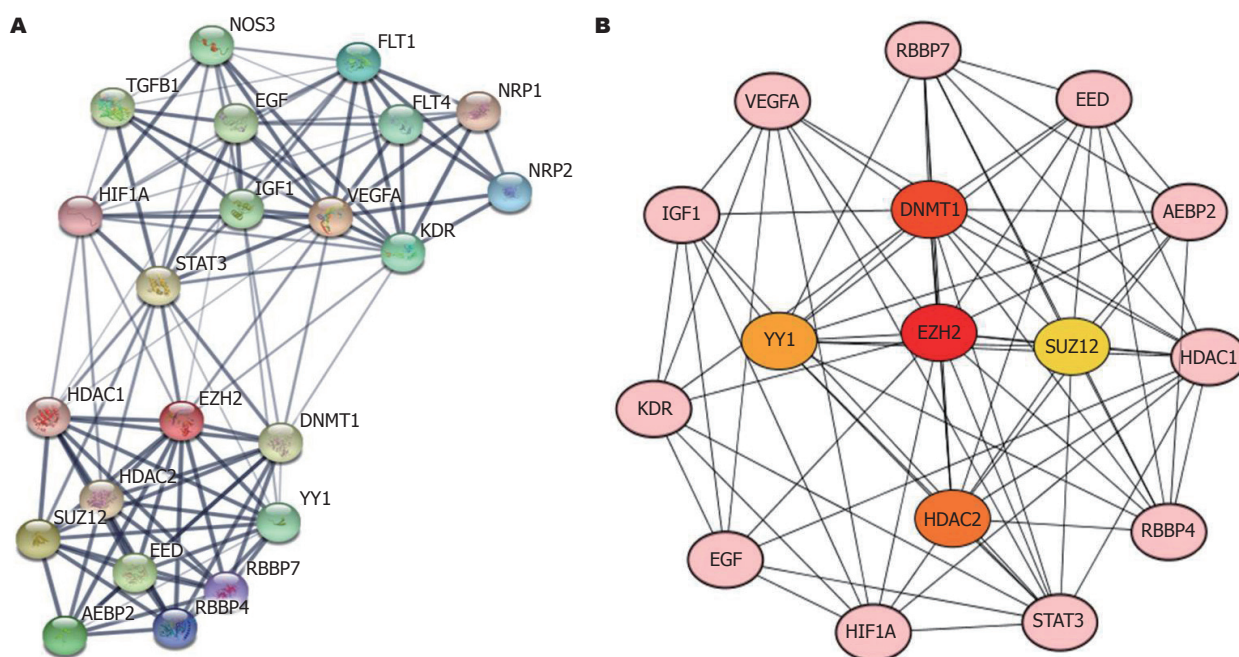
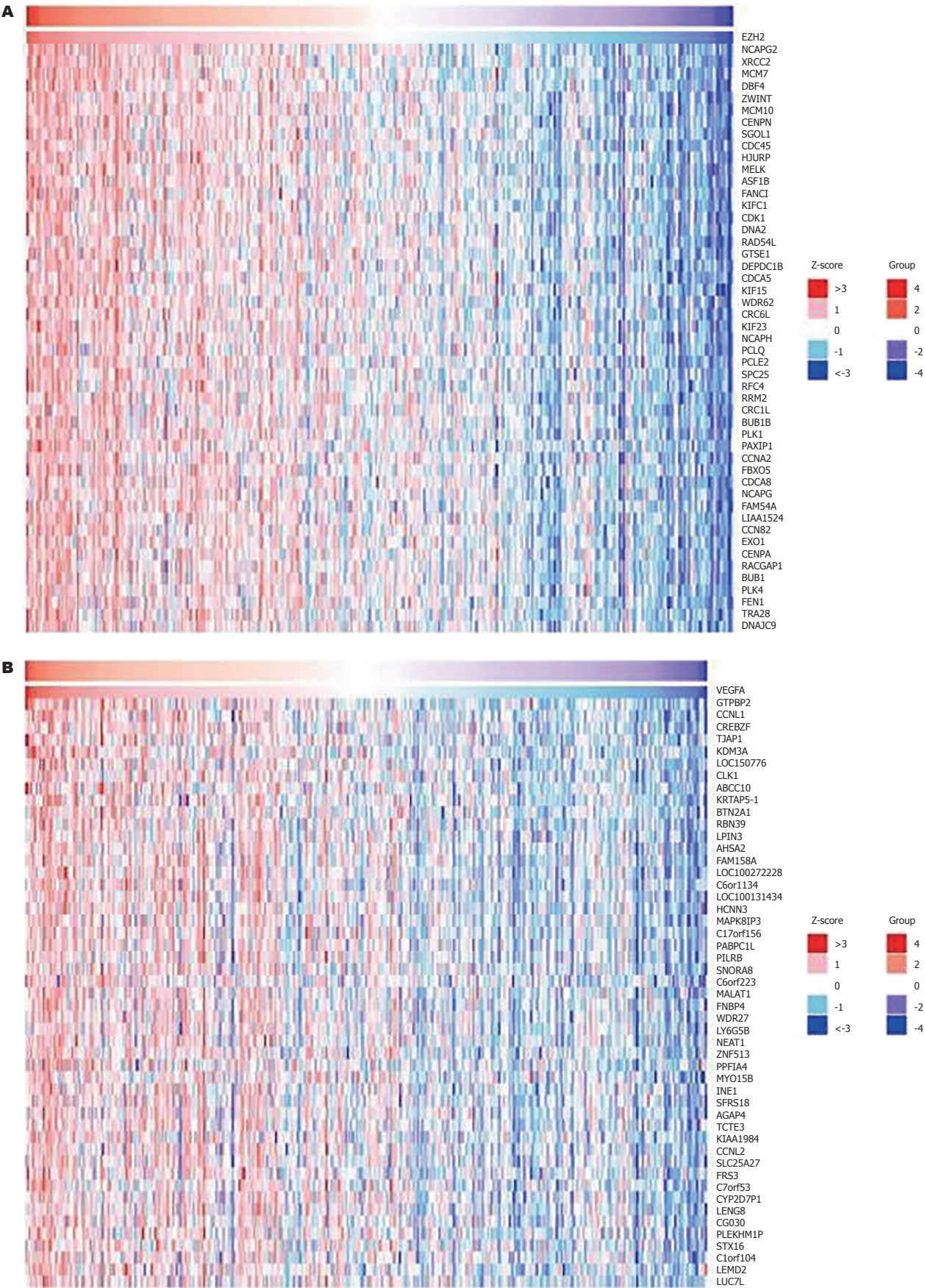


图 3 *EZH2*和*VEGF*相互作用网络. A: STRING数据库中*EZH2*和*VEGF*相互作用网络; B: 网络中的关键基因筛选. *EZH2*: *zeste*基因增强子同源物2; *VEGF*: 血管内皮生长因子; *YY1*: 阴阳因子1; *DNMT1*: DNA甲基转移酶1; *HDAC2*: 组蛋白去乙酰化酶2; *SUZ12*: 多数蛋白复合体12; *IGF1*: 胰岛素生长因子1; *EGF*: 表皮生长因子; *HIF1A*: 缺氧诱导因子1A; *RBBP4*: 视网膜母细胞瘤结合蛋白4; *HDAC1*: 组蛋白去乙酰化酶1; *EED*: 胚胎外胚层发育基因; *RBBP7*: 视网膜母细胞瘤结合蛋白7.

成为研究肿瘤的重要分支, 关于*VEGF-A*、*VEGF-B*、*VEGF-C*、*VEGF-D*、*VEGF-E*等因子的作用原理也成为当下研究的热点. 肿瘤新生血管的生长并不仅受*VEGF*的影响, 除此之外, 还有肿瘤转化因子、坏死因子等因素参与其中, 这些因子通过什么原理对肿瘤组织产生影响, 以及他们之间有没有联系, 这些都是医学界尚

未解决和清楚的问题, 未来一段时间内, 影响肿瘤组织的细胞因子, 尤其是血管内皮细胞生长因子将会是研究的重点和热点问题^[17,18]. *VEGF*蛋白表达与CRC患者的关系研究报道较少.

在本研究中, 我们首先采用生物信息学方法, 分析*EZH2*和*VEGF*基因在肠癌中的表达和突变情况及其与



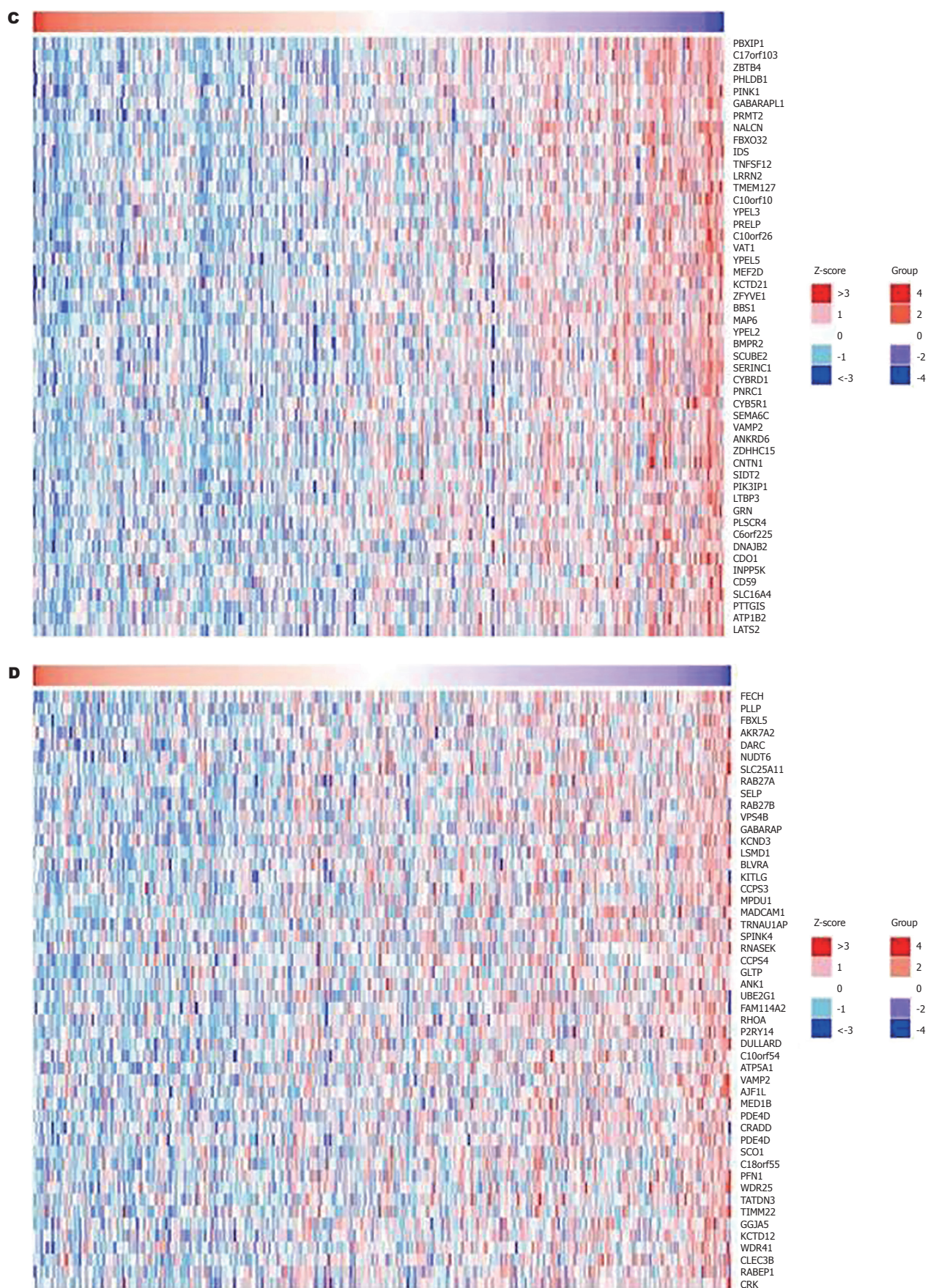


图 4 *EZH2*和*VEGF*及其相关基因共表达分析. A: *EZH2*正相关表达基因; B: *EZH2*负相关表达基因; C: *VEGF*正相关表达基因; D: *VEGF*负相关表达基因. *EZH2*: *zeste*基因增强子同源物2; *VEGF*: 血管内皮生长因子.

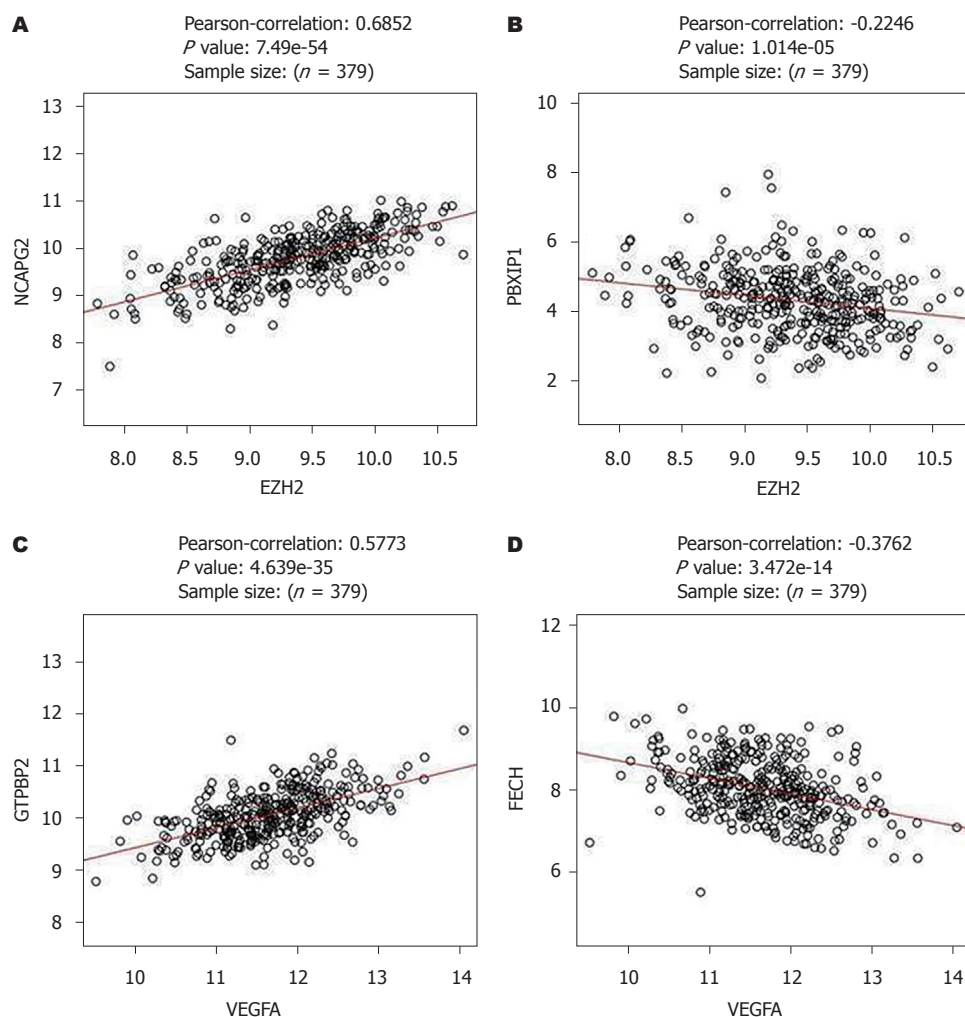


图 5 EZH2和VEGF正负相关表达基因. A: EZH2正相关表达基因; B: EZH2负相关表达基因; C: VEGF正相关表达基因; D: VEGF负相关表达基因. EZH2: *zeste* 基因增强子同源物2; VEGF: 血管内皮生长因子; NCAPG2: 非染色体结构维护凝缩蛋白I复合体G亚基2; GTPBP2: GTD连接蛋白2.

患者预后的关系. 并采用免疫组对上述生物信息结果进行验证. 生物信息分析结果显示, 肠癌组织中EZH2和VEGF表达水平均高于对应的正常肠黏膜上皮, 提示EZH2和VEGF基因在肠癌的发生发展中可能发挥了重要作用. 同时, 我们入组的80例肠癌患者免疫组化也显示肠癌组织中EZH2和VEGF蛋白阳性表达率显著高于正常肠黏膜, 与生物信息分析结果一致. TCGA数据库中, EZH2和VEGF基因均存在明显的突变, 且不同突变组中基因拷贝数存在差异, 说明EZH2和VEGF表达水平可能与突变类型存在一定的关联.

根据基因在肠癌组织中的表达水平分为高低表达组, 采用Cox回归模型绘制生存曲线, Log-rank检验显示EZH2和VEGF高低表达组与患者总生存期均无相关性 ($P>0.05$), 而VEGF高表达组患者无疾病进展生存期显著低于低表达组 ($HR = 1.8, P<0.05$). 说明VEGF高表达患者预后不良, 分析原因可能与VEGF高表达患者肿瘤微血管密度增高, 远处转移风险增加有关. 但其确切分子机制有待进一步评价.

EZH2和VEGF相互作用蛋白网络中, EZH2, DNMT1, HDAC2, YY1和SUZ12基因为关键基因, 上述基因大多参与肿瘤的分裂增殖和侵袭转移生物学过程. 进一步的生存分析认为, VEGF基因高表达患者无疾病进展生存期较短, 其高表达是肠癌患者预后不良的危险因素, 并有望成为肠癌预后的分子标志物.

文章亮点

实验背景

文献报道EZH2和VEGF在多种实体肿瘤中高表达并与肿瘤的发生、发展及恶性生物学行为有关. EZH2和VEGF在结直肠癌(colorectal carcinoma, CRC)中的表达及其与患者临床病理特征及预后关系不明.

实验动机

本研究通过生物信息学方法探讨EZH2和VEGF在CRC中低表达、相关信号通路及与患者预后的关系. 同时采

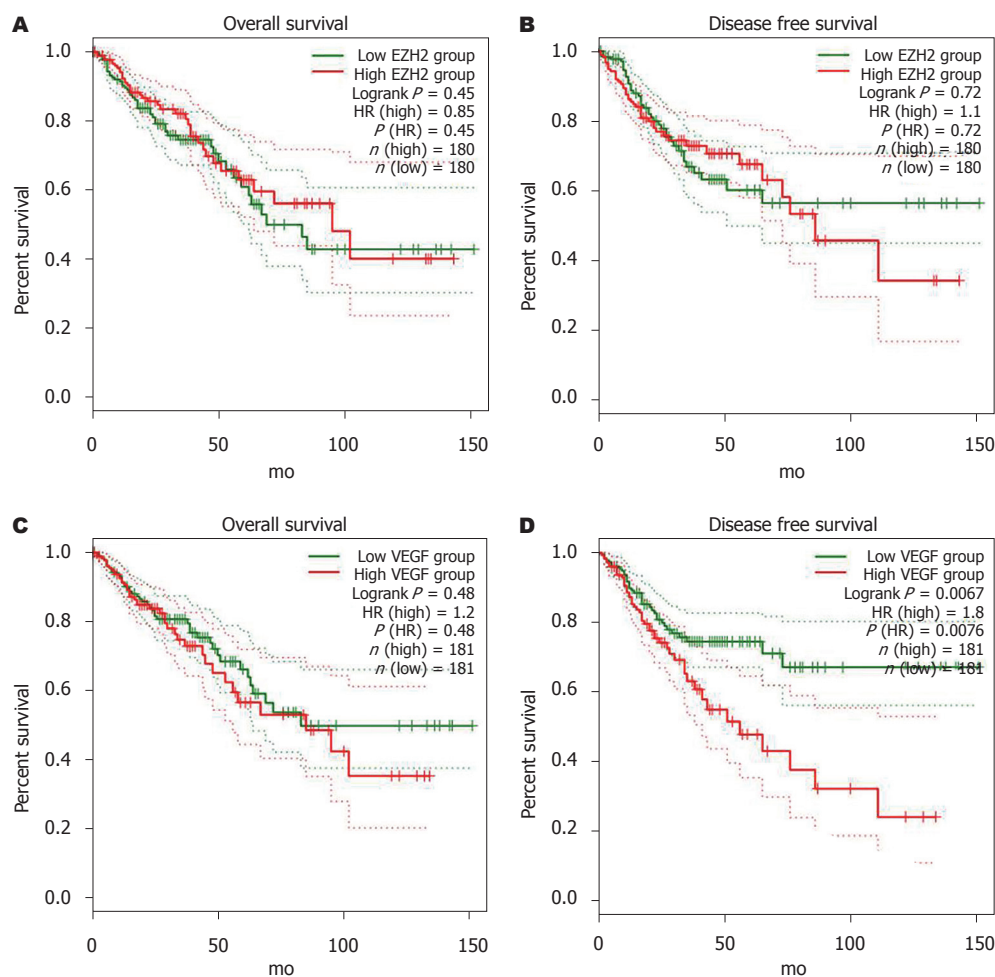


图 6 EZH2和VEGF表达与患者预后关系生存曲线. A: EZH2表达与肠癌患者总生存关系; B: EZH2表达与肠癌患者无疾病进展生存关系; C: VEGF表达与肠癌患者总生存关系; D: VEGF表达与肠癌患者无疾病进展生存关系. EZH2: *zeste*基因增强子同源物2; VEGF: 血管内皮生长因子; HR: 风险比.

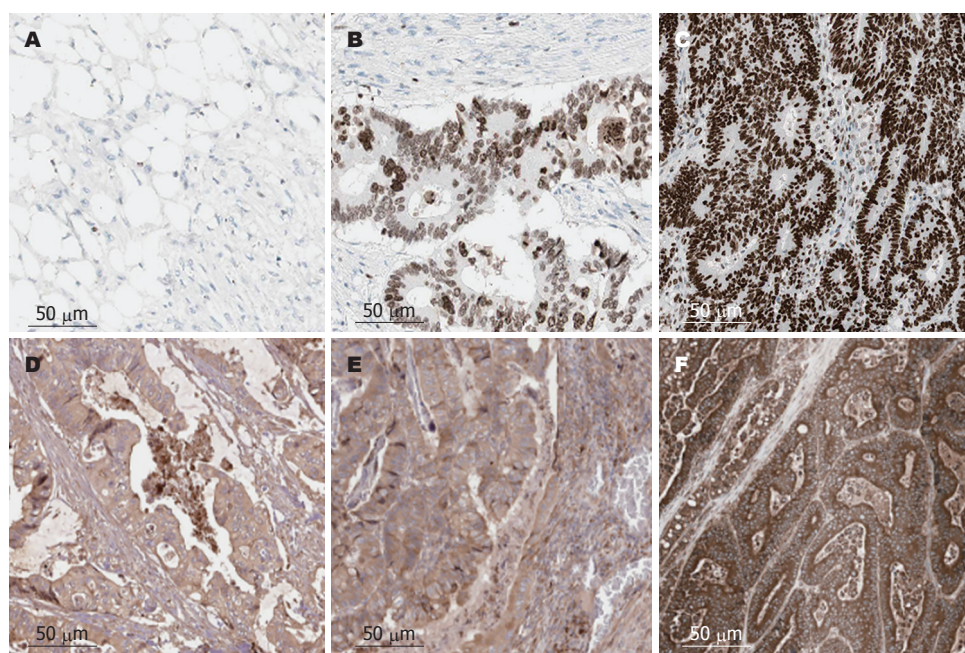


图 7 EZH2在肠癌中的表达. A: EZH2阴性表达; B: EZH2弱阳性表达; C: EZH2强阳性表达; D: VEGF阴性表达; E: VEGF弱阳性表达; F: VEGF强阳性表达. $\times 200$. EZH2: *zeste*基因增强子同源物2; VEGF: 血管内皮生长因子.

用免疫组织化学法验证EZH2和VEGF蛋白表达水平与CRC患者临床病理特征的关系, 佐证生物信息分析结果。

实验目标

探讨EZH2和VEGF在CRC中表达及与患者临床病理和预后的关系, 判断其作为CRC预后分子标志物的可行性。

实验方法

在TCGA数据库中比较EZH2和VEGF基因mRNA在肠癌患者癌和癌旁组织中的表达。构建EZH2和VEGF基因表达网络并筛选网络中的关键基因。比较EZH2和VEGF高低表达组患者总生存和无疾病进展生存是否存在差异。采用免疫组织化学法检测上述组织中EZH2和VEGF蛋白表达水平及其与患者临床病理特征的关系。

实验结果

EZH2和VEGF在CRC组织中的表达水平上调($P<0.05$)。VEGF高表达组患者无疾病进展生存期显著低于低表达组($HR = 1.8, P<0.05$)。EZH2和VEGF蛋白在肠癌组织中的阳性表达率均显著高于癌旁组织($P<0.01$)。EZH2阳性表达与肠癌肿瘤直径、分化程度和Duke分期有关($P<0.05$)。而VEGF阳性表达与肠癌患者分化程度和Duke分期存在相关性($P<0.05$)。

实验结论

EZH2和VEGF基因mRNA在肠癌组织中的表达水平明显高于癌旁正常组织, 且上述基因编码蛋白表达水平与患者的肿瘤直径、分化程度和Duke分期有关。

展望前景

EZH2和VEGF有望成为肠癌预后的潜在分子标志物。

4 参考文献

- 1 Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016. *CA Cancer J Clin* 2016; 66: 7-30 [PMID: 26742998 DOI: 10.3322/caac.21332]
- 2 Chen W, Zheng R, Baade PD, Zhang S, Zeng H, Bray F, Jemal A, Yu XQ, He J. Cancer statistics in China, 2015. *CA Cancer J Clin* 2016; 66: 115-132 [PMID: 26808342 DOI: 10.3322/caac.21338]
- 3 杨洁, 王晨, 徐庆春, 王振宇, 潘刘奎, 吴军. 结直肠癌患者术前NLR、PLR、PDW与其预后的关系. *山东医药* 2018; 58: 66-68

- 4 [DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2018.24.018]
宋蓓, 石红建, 任景丽, 黄优华, 徐强, 孙钟武, 张中平. 散发性结直肠癌组织MMR蛋白表达变化及其与患者临床病理参数和预后的关系. *山东医药* 2018; 58: 73-75 [DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2018.08.021]
- 5 Xiong Y, Wang Y, Tiruthani K. Tumor immune microenvironment and nano-immunotherapeutics in colorectal cancer. *Nanomedicine* 2019; 21: 102034 [PMID: 31207314 DOI: 10.1016/j.nano.2019.102034]
- 6 Li S, Peppelenbosch MP, Smits R. Bacterial biofilms as a potential contributor to mucinous colorectal cancer formation. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer* 2019; 1872: 74-79 [PMID: 31201828 DOI: 10.1016/j.bbcan.2019.05.009]
- 7 Hoffmann R, Valencia A. A gene network for navigating the literature. *Nat Genet* 2004; 36: 664 [PMID: 15226743 DOI: 10.1038/ng0704-664]
- 8 Kim KH, Roberts CW. Targeting EZH2 in cancer. *Nat Med* 2016; 22: 128-134 [PMID: 26845405 DOI: 10.1038/nm.4036]
- 9 Knudsen ES, Dervishaj O, Kleer CG, Pajak T, Schwartz GF, Witkiewicz AK. EZH2 and ALDH1 expression in ductal carcinoma in situ: complex association with recurrence and progression to invasive breast cancer. *Cell Cycle* 2013; 12: 2042-2050 [PMID: 23759596 DOI: 10.4161/cc.25065]
- 10 Yang YA, Yu J. EZH2, an epigenetic driver of prostate cancer. *Protein Cell* 2013; 4: 331-341 [PMID: 23636686 DOI: 10.1007/s13238-013-2093-2]
- 11 Yoo KH, Hennighausen L. EZH2 methyltransferase and H3K27 methylation in breast cancer. *Int J Biol Sci* 2012; 8: 59-65 [PMID: 22211105 DOI: 10.7150/ijbs.8.59]
- 12 Chase A, Cross NC. Aberrations of EZH2 in cancer. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 2613-2618 [PMID: 21367748 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-10-2156]
- 13 Penland SK, Goldberg RM. Combining anti-VEGF approaches with oxaliplatin in advanced colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer* 2004; 4 Suppl 2: S74-S80 [PMID: 15479483 DOI: 10.3816/cc.2004.s.012]
- 14 Díaz-Rubio E, Schmoll HJ. Introduction. Critical role of anti-angiogenesis and VEGF inhibition in colorectal cancer. *Oncology* 2005; 69 Suppl 3: 1-3 [PMID: 16301829 DOI: 10.1159/000088477]
- 15 Carrato A, Gallego-Plazas J, Guillen-Ponce C. Anti-VEGF therapy: a new approach to colorectal cancer therapy. *Expert Rev Anticancer Ther* 2006; 6: 1385-1396 [PMID: 17069524 DOI: 10.1586/14737140.6.10.1385]
- 16 Wilson RH. Novel therapeutic developments other than EGFR and VEGF inhibition in colorectal cancer. *Oncologist* 2006; 11: 1018-1024 [PMID: 17030644 DOI: 10.1634/theoncologist.11-9-1018]
- 17 Martinelli E, Troiani T, Morgillo F, Orditura M, De Vita F, Belli G, Ciardiello F. Emerging VEGF-receptor inhibitors for colorectal cancer. *Expert Opin Emerg Drugs* 2013; 18: 25-37 [PMID: 23216053 DOI: 10.1517/14728214.2013.749856]
- 18 Hansen TF, Jakobsen A. Clinical implications of genetic variations in the VEGF system in relation to colorectal cancer. *Pharmacogenomics* 2011; 12: 1681-1693 [PMID: 22118052 DOI: 10.2217/pgs.11.118]

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,
CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<https://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

