

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2021 年 10 月 28 日 第 29 卷 第 20 期 (Volume 29 Number 20)



20 / 2021

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。



述评

- 1151 胰腺癌免疫治疗研究现状
孙诚谊

临床研究

- 1158 HGF/Met/JNK信号通路介导的细胞自噬在肝硬化癌变进程中的作用
彭全斌, 朱书渊, 汪望月
- 1167 L3-PMI在乙肝肝硬化相关慢加急性肝衰竭患者预后评估中的作用
叶青, 蔡均均, 闫俊卿, 吕蓉
- 1174 结肠镜下息肉切除日间手术的临床价值分析
金曜, 杨帆, 徐继宗, 张弦

文献综述

- 1179 RNA化学修饰在消化道肿瘤中的作用
付学明, 王文杰, 宋自芳
- 1186 外泌体在胰腺癌诊疗应用中的研究进展
李宗倍, 李华志, 郭春海, 崔宏力
- 1191 非甾体类抗炎药相关小肠损伤的研究进展
罗洋, 朱兰平, 雷月, 赵经文, 王邦茂, 陈鑫
- 1201 基于深度学习的人工智能技术在结直肠息肉性质鉴别中的应用
朱兴旺, 严俊, 何英丽, 刘刚, 李汛

消 息

- 1157 《腹痛的诊断、鉴别诊断与治疗》书讯
1166 《世界华人消化杂志》正文要求
1178 《世界华人消化杂志》修回稿须知
1200 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
1206 《世界华人消化杂志》参考文献要求

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、住院医师规范化培训外科基地主任、普外科主任、主任医师、教授、医学博士、硕士研究生导师。承担省、市级科研项目9项, 包括黑龙江省自然科学基金3项、黑龙江省总工会创新基金项目1项、黑龙江省卫生厅项目1项、黑龙江省教育厅项目1项等。作为第一完成人, 获省市科技进步奖8项, 包括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项等。在国内外学术期刊共发表论文42篇, 其中被SCI收录13篇(第一或通讯作者6篇、合作者7篇)。

本期责任人

编务 张砚梁; 送审编辑 张砚梁; 组版编辑 张砚梁; 英文编辑 王天奇;
形式规范审核编辑部主任 马玉洁; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(半月刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2021-10-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

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

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

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

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

编辑部

王金磊, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,

CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: wcjd@wjgnet.com<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,

CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com<https://www.wjgnet.com>

制作

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

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物。本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(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

© 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.



EDITORIAL

- 1151 Current status of immunotherapy for pancreatic cancer
Sun CY

CLINICAL RESEARCH

- 1158 Autophagy mediated by the HGF/Met/JNK signaling pathway is involved in carcinogenesis of liver cirrhosis
Peng QB, Zhu SY, Wang WY
- 1167 Role of L3-PMI in prognostic evaluation of patients with acute-on-chronic liver failure related to hepatitis B cirrhosis
Ye Q, Cai JJ, Yan JQ, Lv R
- 1174 Clinical value of daytime colonoscopic polypectomy
Jin Y, Yang F, Xu JZ, Zhang X

REVIEW

- 1179 Role of RNA modification in gastrointestinal tumors
Fu XM, Wang WJ, Song ZF
- 1186 Role of exosomes in diagnosis and treatment of pancreatic cancer
Li ZB, Li HZ, Guo CH, Cui HL
- 1191 Research progress of non-steroidal anti-inflammatory drug-induced small intestinal injury
Luo Y, Zhu LP, Lei Y, Zhao JW, Wang BM, Chen X
- 1201 Application of deep learning based artificial intelligence technology in identification of colorectal polyps
Zhu XW, Yan J, He YL, Liu G, Li X

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 29 Number 20 October 28, 2021

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Li-Quan Tong, Chief Physician, Daqing People's Hospital, No. 213, Jianshe Road, Longfeng District, Daqing 163316, Heilongjiang Province, China. tlq777666@163.com

Indexed/Abstracted by

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

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Yan-Liang Zhang*

Review Editor: *Yan-Liang Zhang*

Production Editor: *Yan-Liang Zhang*

English Language Editor: *Tian-Qi Wang*

Proof Editor: *Yu-Jie Ma*

Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date October 28, 2021

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

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

EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

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

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

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

Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

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

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

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

EDITORIAL BOARD MEMBERS

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

EDITORIAL OFFICE

Jin-Lei Wang, Director

World Chinese Journal of Digestology

Baishideng Publishing Group Inc

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

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc

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

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

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

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 136 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2021 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this open access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT

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

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

HGF/Met/JNK信号通路介导的细胞自噬在肝硬化癌变进程中的作用

彭全斌, 朱书渊, 汪望月

彭全斌, 朱书渊, 丽水市第二人民医院消化内科 浙江省丽水市 323000

汪望月, 浙江省人民医院消化内科 浙江省杭州市 310014

彭全斌, 主治医师, 研究方向为消化内科.

作者贡献分布: 彭全斌及朱书渊对此文所作贡献均等; 此课题由彭全斌, 朱书渊, 汪望月设计; 研究过程由彭全斌, 朱书渊, 汪望月操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由朱书渊提供; 数据分析由彭全斌及朱书渊完成; 本论文写作由彭全斌及朱书渊完成.

通讯作者: 彭全斌, 主治医师, 323000, 浙江省丽水市莲都区环城北路69号, 丽水市第二人民医院消化内科. fanfan967914@163.com

收稿日期: 2021-05-12

修回日期: 2021-06-03

接受日期: 2021-09-29

在线出版日期: 2021-10-28

Autophagy mediated by the HGF/Met/JNK signaling pathway is involved in carcinogenesis of liver cirrhosis

Quan-Bin Peng, Shu-Yuan Zhu, Wang-Yue Wang

Quan-Bin Peng, Shu-Yuan Zhu, Department of Gastroenterology, Second People's Hospital of Lishui, Lishui 323000, Zhejiang Province, China

Wang-Yue Wang, Department of Gastroenterology, Zhejiang Provincial People's Hospital, Hangzhou 310014, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Quan-Bin Peng, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Second People's Hospital of Lishui, No. 69 Huancheng North Road, Liandu District, Lishui 323000, Zhejiang Province, China. fanfan967914@163.com

Received: 2021-05-12

Revised: 2021-06-03

Accepted: 2021-09-29

Published online: 2021-10-28

Abstract

BACKGROUND

Liver cancer stem cell-like cells (CSCs) have strong self-

renewal and tumorigenic capabilities, and play a key role in the progression of liver cirrhosis to liver cancer. We identified liver Axin2⁺CD90⁺ cells as CSCs in liver cirrhosis, and observed the effect of autophagy mediated by the HGF/Met/JN signaling pathway during the progression of liver cirrhosis to liver cancer.

AIM

To determine the role of HGF/Met/JNK signaling pathway-mediated autophagy in the carcinogenesis of liver cirrhosis and the effect of c-Met inhibitor on this process.

METHODS

Eight non-cirrhotic surgical specimens were collected from patients with hepatic hemangioma. In September 2007, 18 alcohol-related and 30 chronic hepatitis B-related cirrhosis biopsy samples were collected in our hospital. These patients were followed until December 2015. Three surgical liver cancer samples from patients with alcohol-related cirrhosis, and eight liver cancer samples from patients with hepatitis B-related cirrhosis were collected by surgery. Eight-week-old male SD rats were injected intraperitoneally with 50 mg/kg diethylnitrosamine twice a week for 8 wk to establish a liver cirrhosis model. Western blot was used to detect tissue autophagy status, HGF levels, and changes in HGF/Met/JNK signaling pathway molecules in humans and rats. The c-Met inhibitor EMD1214063 was used to treat cirrhotic rats, evaluate cell proliferation and apoptosis, and assess changes in HGF/Met/JNK signaling pathway molecules.

RESULTS

Compared with normal liver tissue, the level of autophagy in cirrhosis was significantly increased ($P < 0.05$), while the decrease in autophagy was associated with the progression of cirrhosis to liver cancer. At the same time, the production of HGF in these abnormal samples was significantly increased. The liver cirrhosis tissue was first stratified according to autophagy status and HGF expression, and the levels of

p-Met, t-Met, and p-JNK were found to be significantly elevated in autophagy-enhanced Axin2-positive cells ($P < 0.05$). Cell proliferation was significantly reduced after 8 and 11 wk of treatment ($P < 0.05$), and TUNEL staining showed that the c-Met inhibitor EMD1214063 had no significant effect on hepatocyte apoptosis. Western blot analysis using whole liver lysates from control and EMD1214063 treated groups at weeks 8 and 11 showed that the levels of p-Met, p-JNK, and HGF were significantly reduced at both time points.

CONCLUSION

HGF/Met/JNK signaling pathway-mediated autophagy is involved in the carcinogenesis of cirrhosis, and c-Met inhibitors can play a therapeutic role in this process.

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

Key Words: HGF/Met/JNK signaling pathway; Autophagy; c-Met inhibitor; Cirrhosis

Citation: Peng QB, Zhu SY, Wang WY. Autophagy mediated by the HGF/Met/JNK signaling pathway is involved in carcinogenesis of liver cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(20): 1158-1166
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i20/1158.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i20.1158>

摘要

背景

肝癌干细胞样细胞(hepatocarcinoma stem cell-like cells, CSCs)具有较强的自我更新和肿瘤发生能力, 在肝硬化进展至肝癌的进程发挥关键作用。我们将肝脏Axin2+CD90+细胞鉴定为肝硬化的CSCs, 并观察了HGF/Met/JNK信号通路介导的细胞自噬在肝硬化进展至肝癌期间的作用。

目的

明确肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)/Met/JNK信号通路介导的细胞自噬在肝硬化癌变进程中的作用。

方法

从肝血管瘤患者中共收集8例非肝硬化手术标本; 2007-09, 在本院收集了18例酒精相关, 30例慢性乙型肝炎相关肝硬化活检样本。这些患者随访至2015-12。来自患者的3例外科肝癌样本与酒精相关的肝硬化, 通过手术收集来自乙型肝炎相关肝硬化患者的8个肝癌样本。8 wk龄雄性SD大鼠每周两次腹腔内注射50 mg/kg二乙基亚硝胺持续8 wk建立肝硬化模型。Western-blotting检测人和大鼠进行的组织自噬状态、HGF的水平及HGF/Met/JNK信号途径分子的变化。采用c-Met抑制剂EMD1214063治疗肝硬化大鼠并评估细胞增殖和凋亡, 同时评估HGF/Met/JNK信号途径分子的变化。

结果

相较于正常肝组织对照, 肝硬化患者的自噬水平显著升高(全部 $P < 0.05$), 而自噬水平的下降与肝硬化进展为肝癌有关; 同时, 这些肝硬化异常自噬样本中HGF的产生显著增加。肝硬化肝脏根据自噬状态和HGF表达首先分层后发现p-Met、t-Met及p-JNK水平在自噬增强的Axin2阳性细胞中显著升高(全部 $P < 0.05$)。治疗8 wk和11 wk后细胞增殖显著减少(全部 $P < 0.05$), 而TUNEL染色的结果显示细胞的c-Met抑制剂EMD1214063对肝细胞的凋亡并无明显影响。在第8周和第11周使用来自对照和EMD1214063处理组的全肝裂解物的Western印迹分析显示p-Met、p-JNK及HGF在11 wk的大鼠中显著降低, 而t-Met、p-JNK及HGF在8 wk的大鼠中显著降低。

结论

HGF/Met/JNK信号通路介导的细胞自噬参与肝硬化癌变进程中, 并且c-Met抑制剂能够在肝硬化进程中发挥治疗作用。

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

关键词: HGF/Met/JNK信号通路; 自噬; c-Met抑制剂; 肝硬化

核心提要: 肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)/Met/JNK信号通路介导的细胞自噬参与肝硬化癌变进程中, 并且c-Met抑制剂能够在肝硬化进程中发挥治疗作用。

文献来源: 彭全斌, 朱书渊, 汪望月. HGF/Met/JNK信号通路介导的细胞自噬在肝硬化癌变进程中的作用. *世界华人消化杂志* 2021; 29(20): 1158-1166

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i20/1158.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i20.1158>

0 引言

肝硬化是由酒精性肝病和慢性肝炎等肝病引起的弥漫性的慢性肝损伤, 若不及时治疗, 可进一步发展为肝癌, 这是慢性肝病的自然过程。目前对于肝硬化进展为肝癌的细胞和分子机制知之甚少。近年研究发现, 肝癌干细胞样细胞(hepatocarcinoma stem cell-like cells, CSCs)具有较强的自我更新和肿瘤发生能力, 在肝硬化进展至肝癌的进程发挥关键作用^[1]。研究显示^[2,3], Wnt/β-catenin信号转导通路可能参与维持了正常干细胞的自我更新和祖细胞的增殖或分化, 而Axin2作为靶基因, 在信号级联反应中起负调节因子的作用。学者研究发现^[4], Wnt信号维持的肝Axin2+细胞具有自我更新的能力并发挥肝干细胞的作用, 而若Axin2基因敲除或发生突变将促进或维

持肺癌^[5]、卵巢癌^[6]、骨肉瘤^[7]和肝癌^[8]中的癌症干细胞样特征. 因此, 我们推测肝脏Axin2+细胞可能作为肝硬化进展为肝癌过程中的肝脏CSCs的重要标志物.

自噬是细胞生长、发育、成熟和分化的重要生理过程, 在细胞处于应激状态时, 可产生细胞内营养、生长因子和能量, 以支持细胞存活, 若营养缺乏, 缺氧或缺血^[9]等应激状态持续存在, 可导致细胞的死亡. 研究发现^[10], 细胞自噬过程中所产生的细胞因子或生长因子可独立激活内源性信号刺激细胞增殖和增殖, 甚至促进细胞干性. 由于肝硬化、肝细胞纤维化等病理变化不断损伤肝细胞^[11], 可导致细胞的异常自噬. 因此, 自噬可能在肝硬化进展为肝癌过程中发挥重要作用.

研究表明^[12,13], 分化簇90(cluster of differentiation 90, CD90)被证实是肝脏CSCs更稳定的标志物. 因此, 在本研究中, 我们将肝脏Axin2+CD90+细胞鉴定为肝硬化的CSCs, 并观察了肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)/Met/JNK信号通路介导的细胞自噬在肝硬化进展至肝癌期间的作用.

1 材料和方法

1.1 材料 从肝血管瘤患者中共收集8例非肝硬化手术标本和血样; 2007-09, 在本院收集了18例酒精相关, 30例慢性乙型肝炎相关肝硬化活检样本. 这些患者随访至2015-12. 来自患者的3例外科肝癌样本与酒精相关的肝硬化, 通过手术收集来自乙型肝炎相关肝硬化患者的8个肝癌样本. 这些组织样品立即用于随后的实验, 或者在活组织检查或手术切除后固定在多聚甲醛和石蜡包埋中. 根据世界卫生组织标准进行肝癌的组织病理学诊断. 排除纤维板层肝癌, 胆管癌和合并肝胆管癌. 本研究经医院伦理委员会批准. 从每位患者获得书面知情同意书.

1.2 方法

1.2.1 动物模型: 为了建立肝硬化至肝癌进展的模型, 8 wk龄雄性Sprague Dawley大鼠每周两次腹腔内注射50 mg/kg二乙基亚硝胺(N0258-1G; 美国Sigma-Aldrich公司), 持续8 wk. 给大鼠喂食常规饮食4 wk. 对大鼠进行活组织检查以评估肝硬化和自噬状态的存在. 大鼠也接受c-Met抑制剂Tepotinib(EMD1214063, 15 mg/kg; Selleck), 每周两次通过腹腔内注射给药4 wk. 在适当的情况下, 将一组正常大鼠或具有媒介物注射的大鼠作为对照. 在最终处理后, 在另外8 wk和11 wk时间点的观察后杀死大鼠. 整个实验期为20 wk.

1.2.2 流式细胞术: 取小块肝组织(1 mm³)在超净台中采用2 mL无菌注射器的推动杆于10 cm培养皿中进行研磨后, 经过40 μm的滤网过滤后, PBS洗涤两遍后用于流式上机. 使用BD Accuri C6(美国BD Biosciences公司)通

过流式细胞术测定人Axin2+CD90+, Axin2+CD133+和Axin2+Epcam+细胞. 来自每种类型的人肝硬化肝脏的Axin2+和Axin2-细胞被分类并在体外进一步分析.

1.2.3 球囊细胞形成测定: 分选的人Axin2+CD90+, Axin2+CD90-和Axin2-CD90-细胞以1000个细胞/孔的密度在Dulbecco改良的Eagle培养基中培养/F12培养基(美国HyClone公司)补充2%B27(美国Invitrogen公司), 100 U/mL青霉素和100 μg/mL链霉素, 20 ng/mL表皮生长因子和20 ng/mL碱性成纤维细胞生长因子(美国PeproTech公司)使用超低附着六孔板(美国Corning公司)2 wk. 每3 d将细胞暴露于新鲜培养基中. 计算形成的直径>75 μm的球体.

1.2.4 蛋白质印迹: 自噬标记物微管相关蛋白轻链(microtubule-associated protein light chain, LC3)-I/LC3-II和P62及肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)表达通过蛋白质印迹在上述分选的细胞和不同的人和大鼠肝脏样品中检测, 有或没有处理. 还进行蛋白质印迹以检测上述分选细胞Met和JNK的磷酸化.

1.2.5 免疫组化及细胞凋亡分析: 在最后一次处理后4 wk(最后一次二乙基亚硝胺注射后12 wk), 切割具有不同自噬状态和不同处理的4 μm厚的大鼠肝硬化肝脏横切面, 并进行TUNEL(中国南通碧云天生物技术研究所)和Ki-67(碧云天)染色.

统计学处理 样本量通过使用网站上的两个比例比较公式计算: <http://powerandsamplesize.com/Calculators/>. 所有数据均以mean±SD表示. 在用Bartlett检验证明方差同质性之后, 使用单向方差分析, 然后在适当的情况下使用Student-Newman-Keuls检验来评估统计学显著性. $P<0.05$ 的值被认为是统计学上显著的. 所有实验至少重复三次.

2 结果

2.1 肝硬化进展为肝癌与异常自噬有关 我们首先通过Western-blotting检测了不同肝硬化和进展为肝癌的肝硬化标本的自噬水平的变化, 结果如图1所示, 从图中可见, 相较于正常肝组织对照, 肝硬化患者的自噬水平显著升高(全部 $P<0.05$), 而自噬水平的下降与肝硬化进展为肝癌有关. 这些结果显示在肝硬化进展为肝癌期间, Axin2+细胞向Axin2+CD90+细胞的转变与异常自噬有关. Axin2/增强绿色荧光蛋白(enhanced green fluorescent protein, EGFP)+CD90+细胞存在于具有异常自噬的人肝硬化样本中, 其进一步发展成维持Axin2/EGFP+CD90+细胞的肝癌.

2.2 自噬依赖性HGF表达是肝硬化的参与者 我们进一步通过Western-blotting分析上述人肝硬化样本的HGF水平. 结果如图2所示, 根据肝硬化中的自噬状态首先对所

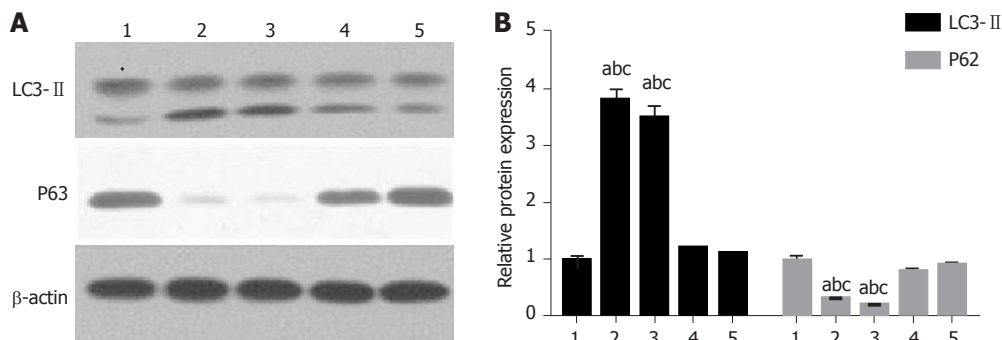


图 1 Western-blotting分析人肝硬化样本的自噬水平. A: 在肝硬化进展为肝癌期间自噬相关蛋白的蛋白表达条带图; B: 自噬相关蛋白表达量的柱形图. LC3-II: 微管相关蛋白轻链; 1: 正常肝组织; 2: 酒精性肝硬化肝组织; 3: 乙型肝炎肝硬化肝组织; 4: 因酒精性肝硬化转化的肝细胞癌肝组织; 5: 因乙型肝炎转化的肝细胞癌肝组织. * $P < 0.05$, 与正常对照组织比较; ^a $P < 0.05$, 与因酒精性肝硬化转化的肝细胞癌肝组织比较; ^b $P < 0.05$, 与因乙型肝炎转化的肝细胞癌肝组织比较.

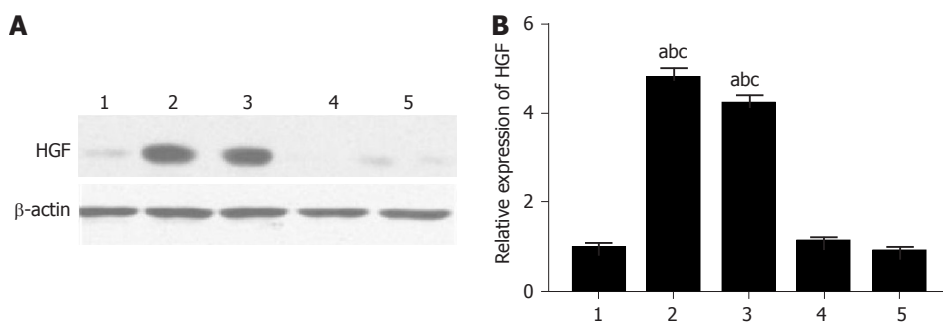


图 2 Western-blotting分析人肝硬化样本的HGF水平. HGF: 肝细胞生长因子. 1: 正常肝组织; 2: 酒精性肝硬化肝组织; 3: 乙型肝炎肝硬化肝组织; 4: 因酒精性肝硬化转化的肝细胞癌肝组织; 5: 因乙型肝炎转化的肝细胞癌肝组织. * $P < 0.05$, 与正常对照组织比较; ^a $P < 0.05$, 与因酒精性肝硬化转化的肝细胞癌肝组织比较; ^b $P < 0.05$, 与因乙型肝炎转化的肝细胞癌肝组织比较.

有样品进行分层, 发现肝硬化异常自噬样本中HGF的产生显著增加. 这些结果显示自噬依赖性HGF表达是肝硬化中产生Axin2+CD90+细胞所必需的.

2.3 自噬相关HGF/Met/JNK信号通路用于在肝硬化中将Axin2+细胞转变成Axin2+CD90+细胞 我们通过Western-blotting分析不同种类人肝硬化样本的自噬相关的HGF/Met/JNK途径分子水平, 结果如图3所示, 从图中可见, Axin2-细胞和Axin2+细胞从不同类型的人肝硬化肝脏中分选, 所述肝硬化肝脏根据自噬状态和HGF表达首先分层后发现p-Met、t-Met及p-JNK在水平在自噬增强的Axin2阳性细胞中显著升高(全部 $P < 0.05$). 自噬相关的HGF/Met/JNK信号通路用于在肝硬化中将Axin2+细胞转变成Axin2+CD90+细胞.

2.4 c-Met抑制剂EMD1214063能够对肝硬化大鼠发挥治疗效应 我们进一步建立大鼠肝硬化模型后, 采用c-Met抑制剂EMD1214063干预肝硬化大鼠, 结果如图4所示, Ki-67染色显示, 治疗8 wk和11 wk后细胞增殖显著减少(全部 $P < 0.05$), 而TUNEL染色的结果显示细胞的c-Met抑制剂EMD1214063对肝细胞的凋亡并无明显影响.

2.5 EMD1214063抑制肝硬化大鼠模型中的HGF/Met/JNK

信号传导 我们采用Western印迹分析第8周和第11周肝硬化大鼠肝组织中HGF/Met/JNK信号通路的表达, 结果显示, p-Met、p-JNK及HGF在11 wk的大鼠中显著降低, 而t-Met、p-JNK及HGF在8 wk的大鼠中显著降低(图5).

3 讨论

肝硬化对肝癌的发生具有很高的风险. 在这项研究中, 我们通过确定肝硬化肝脏中肝脏CSC样细胞的起源, 提出了从肝硬化到肝癌的新进展. 我们发现肝Axin2/EGFP+CD90+细胞来源于Axin2/EGFP+细胞, 在具有异常自噬的人和大鼠肝硬化肝脏中获得CSC特性, 并促成肝癌发生. 由于HGF表达的增加或减少, 肝硬化肝脏中自噬的诱导或抑制通过诱导或减少来自Axin2/EGFP+细胞的肝Axin2/EGFP+CD90+细胞的产生来促进或预防肝癌发生. 进一步的细胞学实验显示肝硬化中自噬依赖性HGF表达激活肝Axin2/EGFP+细胞中的Met/JNK信号传导, 导致向Axin2/EGFP+CD90+CSC样细胞的转变. HGF敲低或抑制肝硬化中Met/JNK传导的活化阻止了Axin2/EGFP+CD90+细胞的形成和进一步的肝癌发生. 我们的研究结果表明, 在肝硬化中CSCs产生的机制中, HGF/

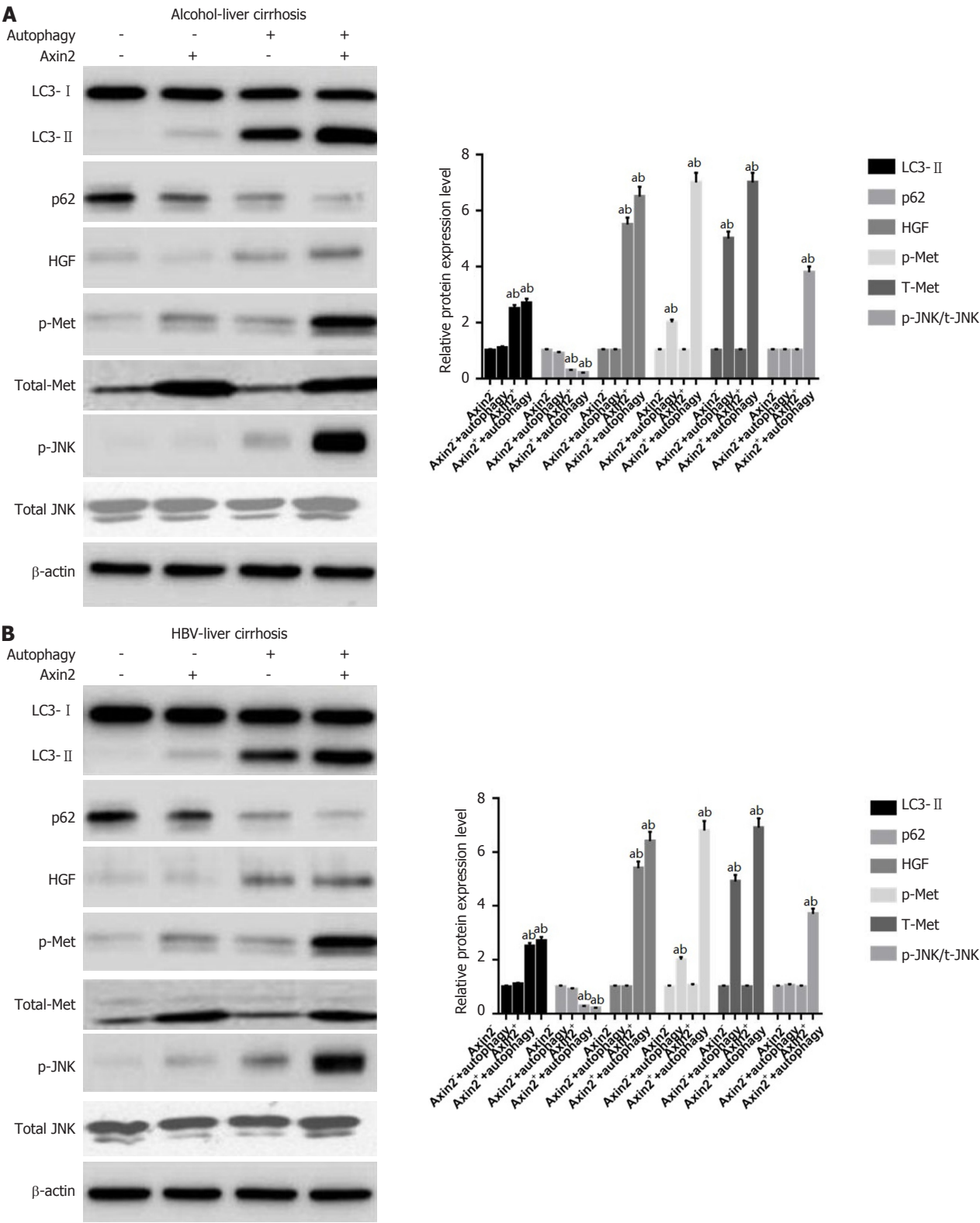


图 3 Western-blotting分析不同种类人肝硬化样本的自噬相关的HGF/Met/JNK途径分子水平. A: 酒精性肝硬化肝组织中自噬相关蛋白及HGF/Met/JNK信号途径相关蛋白的表达; B: 乙肝肝硬化肝组织中自噬相关蛋白及HGF/Met/JNK信号途径相关蛋白的表达; ^a $P < 0.05$, 与空白对照; ^b $P < 0.05$, 与Axin2+自噬未激活细胞比较. HGF: 肝细胞生长因子.

Met/JNK的自噬依赖性激活在肝癌发生中起着至关重要的作用, 破坏该过程可提供一种有希望的治疗方法来预防肝硬化进展为肝癌.

肝脏CSC是癌细胞的一小部分, 表达干细胞相关转录因子Sox2和Oct4, 具有自我更新, 分化和肿瘤发生的强大能力^[1]. 目前, 肝脏CSCs起源的机制及其在肝癌发

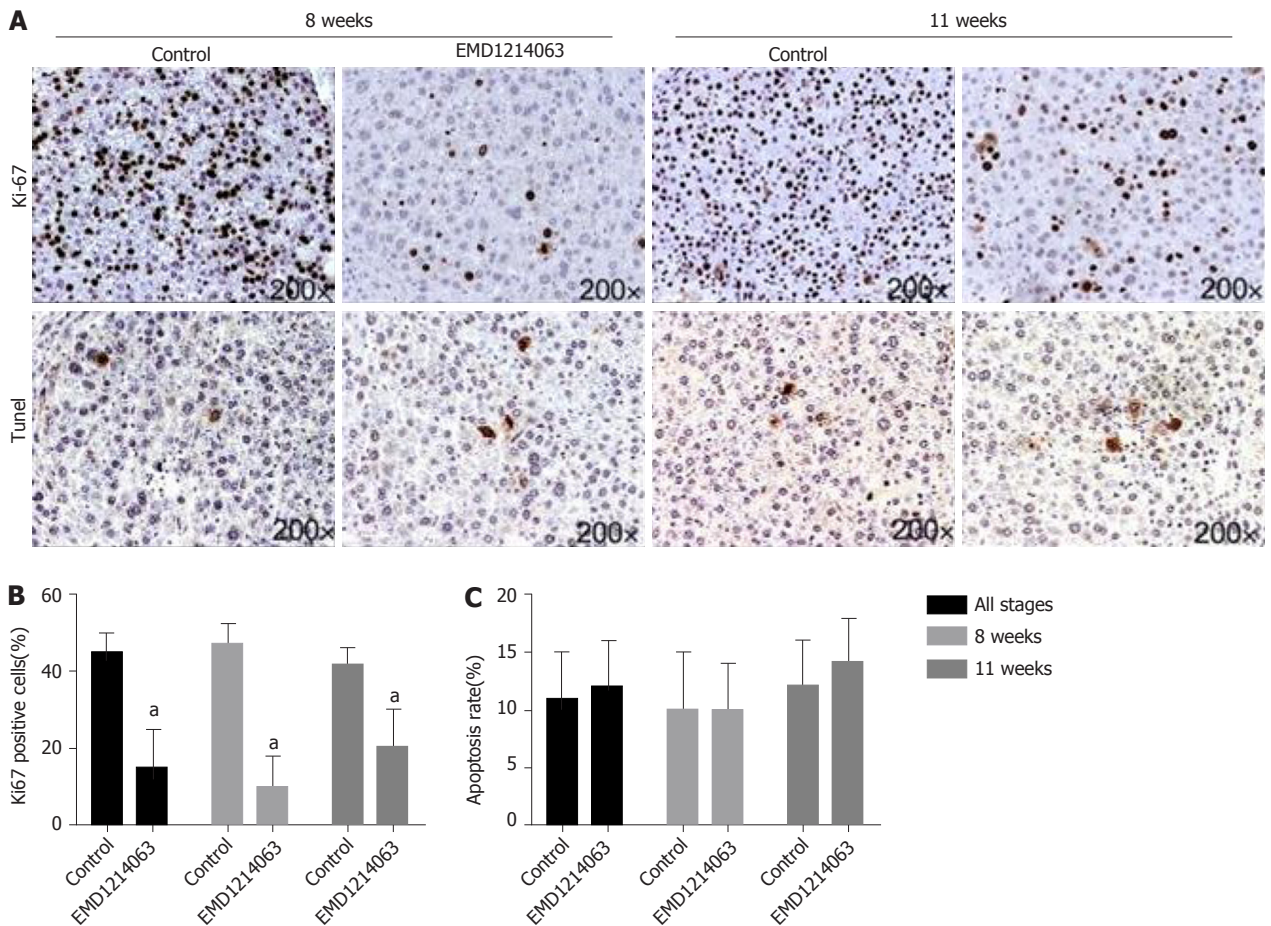


图 4 EMD1214063在肝硬化大鼠模型中治疗8 wk和11 wk后减少细胞增殖。A: 肝组织的Ki-67染色及TUNEL染色图片; B: 肝组织Ki-67染色的阳性细胞计数图; C: TUNEL染色的细胞凋亡计数图。* $P < 0.05$ 与对照大鼠比较。

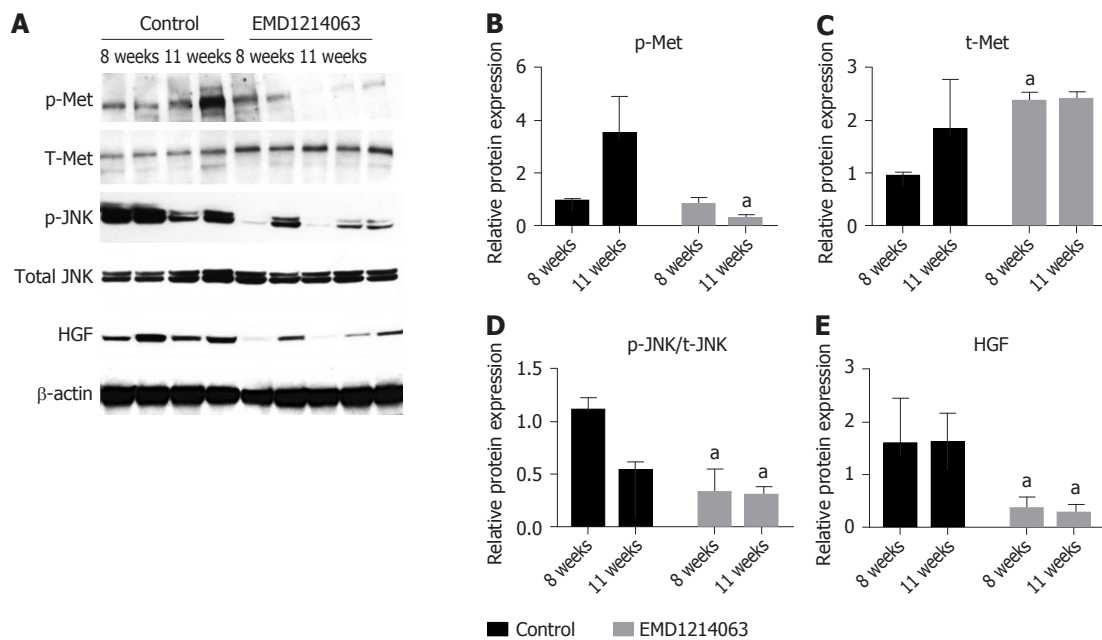


图 5 EMD1214063抑制肝硬化大鼠模型中的c-MET信号传导。A: 肝硬化大鼠肝组织c-MET信号传导途径相关蛋白的表达条带图; B: p-Met蛋白相对表达量的柱形图; C: t-Met蛋白相对表达量的柱形图; D: p-JNK及总JNK蛋白相对表达量的柱形图; E: HGF蛋白相对表达量的柱形图。HGF: 肝细胞生长因子; JNK: c-Jun氨基末端激酶。* $P < 0.05$ 与对照大鼠比较。

生中的作用尚不清楚. 理论上推测肝脏CSCs起源于正常干细胞^[13], 最近的一项研究表明, 肝脏Axin2+细胞可以自我更新以响应Wnt/ β -连环蛋白刺激^[4]. 在本研究中, 我们使用肝硬化分选肝细胞. 干性反应标记物Axin2, 以及充分记录的CSC标记物CD90, 其在肝脏CSC中显示稳定表达, 在不同细胞系中不变^[13]. 我们发现这些肝脏Axin2+CD90+细胞表达高水平的Sox2和Oct4并且能够在体外形成球体以及在体内产生肿瘤异种移植. 此外, 与具有很少或没有Axin2+CD90+细胞的肝硬化肝脏相比, 具有高百分比的肝Axin2+CD90+细胞的肝硬化肝脏进展为肝癌. 此外, 这些Axin2+CD90+细胞也存在于肿瘤异种移植和肝癌组织中, 其表现出CSC的不对称自我更新分裂性状^[14]. 除了从Axin2Cre获得的肝EGFP+CD90+细胞获得的类似结果之外: Rosa26EGFP具有EGFP标记的Axin2细胞的肝硬化大鼠肝脏, 减少大鼠肝硬化中EGFP+CD90+细胞数量的治疗显著阻止肝癌发生. 这些发现表明肝脏Axin2+CD90+细胞在肝硬化进展为肝癌期间承担CSC的责任.

目前的研究进一步证明肝硬化中Axin2+细胞产生的肝Axin2+CD90+细胞依赖于Met/JNK信号传导的激活. 以往的研究表明, JNK和STAT3信号传导对于平滑肌肉瘤的肿瘤发生, 胶质瘤干细胞的自我更新^[18]和非小细胞肺癌的CSC特性至关重要^[15]. 但是, 我们发现Met的活化作为上游受体酪氨酸激酶对于激活下游JNK信号传导并诱导Axin2/EGFP+细胞中的CD90表达至关重要. 通过药理学抑制剂抑制肝硬化中的Met/JNK信号传导能够减少分选的肝Axin2/EGFP+细胞向Axin2/EGFP+CD90+细胞的转变并预防肝癌发生. 尽管Wnt/ β -catenin信号在多种癌症中全面参与诱导和维持CSC表型^[16,17], 之前的研究发现 β -catenin在肝Axin2/EGFP+CD90-细胞和Axin2/EGFP+CD90+中均有显著表达. 来自肝硬化的细胞和 β -连环蛋白表达不受磷酸化Met的调节, 表明肝Axin2/EGFP+细胞向Axin2/EGFP+CD90+细胞转变不需要Wnt/ β -连环蛋白信号传导. 相反, Wnt/ β -连环蛋白信号传导是正常肝脏中肝Axin2+细胞自我更新所必需的^[4], 并且 β -连环蛋白在Axin2/EGFP-细胞中不表达, 但在Axin2/EGFP+细胞中表达, 仍然表现出一定程度Sox2和Oct4的表达和克隆性, 表明Wnt/ β -连环蛋白信号传导负责维持Axin2+细胞的正常干性特征, 并且Met/JNK信号传导负责Axin2/EGFP+CD90+细胞在肝脏中的肝硬化和致癌性. 虽然Axin2的表观遗传失调会通过调节Wnt/ β -连环蛋白信号传导而影响CSC样性状, 但之前研究的数据也表明^[5,6], 在没有失调的情况下, Axin2/ β -catenin信号为其他信号提供了干细胞背景. 产生肝脏CSC. 此外, 除了在肝Axin2/EGFP-细胞中不存在Met磷酸化之外, 肝Axin2/

EGFP-细胞中的Met表达也显著低于Axin2/EGFP+细胞中的Met表达. 该发现表明, Met的充分表达可能是其磷酸化和下游JNK信号传导的激活的先决条件, 以诱导Axin2/EGFP+细胞向Axin2/EGFP+CD90+细胞的转变.

LC3被认为是自噬的标志, 其作为可溶性LC3- I 和脂质化LC3- II 存在. LC3- I 转化为LC3- II 并在自噬体与溶酶体融合后降解. 因此, LC3- II 是LC3的可靠标记, 并且LC3- II 的量与自噬体的数量相关, 其能够用于预测自噬活性^[18]. 之前Lee等人^[19]的研究显示LC3能够用于肝癌的预测. 另外, 自噬衔接蛋白p62能够用于识别泛素化蛋白聚集, 并通过与LC3的结合将它们与自噬体联系起来, 而自噬体是选择性自噬过程中溶酶体降解所必需的载货过程. 有研究显示^[20]p62参与到肝癌的发生发展调控中.

HGF是Met磷酸化的配体. 我们的结果显示Met和下游JNK和STAT3都在来自肝硬化的Axin2/EGFP+细胞中被磷酸化, 具有显著的HGF表达. 通过shRNA干扰抑制肝硬化肝脏中HGF的表达, 有效抑制EGFP+细胞中的Met和JNK磷酸化, 消除其向EGFP+CD90+细胞的转变, 减少肝癌发生, 表明肝硬化肝脏中EGFP+CD90+CSCs的产生和肝癌的发生. HGF/Met/JNK依赖性方式. 肝脏Axin2/EGFP-和Axin2/EGFP+细胞中的 β -连环蛋白表达不受肝硬化中HGF表达的调节, 这进一步暗示HGF/Met/JNK信号传导是造成肿瘤发生过程中致癌性的主要原因. Axin2+CD90+CSCs在肝硬化中的作用. 然而, 肝脏Axin2+/EGFP+细胞中HGF/Met/JNK信号传导的激活以及随后转变成Axin2+/EGFP+CD90+细胞依赖于肝硬化中的自噬. 由于病理改变, 肝硬化肝脏患有慢性营养不良损伤^[11], 导致自噬, 通过营养和生长因子的产生支持细胞存活对抗营养^[9]我们发现异常自噬的诱导来影响肝硬化肝脏^[21]. 自噬存在能够进一步诱导肝硬化肝脏中HGF的表达. 肝硬化中的自噬缺乏抑制了HGF表达, 然后未能激活Axin2+细胞中的Met/JNK信号传导. 最重要的自噬缺陷或干扰通过抑制HGF/Met/JNK信号通过抑制Axin2+CD90+CSCs的产生, 有效地预防肝硬化中的肝癌发生, 支持自噬诱导促进肿瘤性肝结节观点^[22].

4 结论

本研究存在一定的不足, 由于研究时间较短, 很难在短期内收集到大量的病例, 由于大部分患者均为手术切除病例, 部分活检病例在实验前均经患者及家属同意进行取样, 因此, 组织样本量是足够进行实验, 由于但样本数量较少, 可能会对实验结果造成偏倚, 在下一步的研究中我们将进一步扩大病例数进行研究.

总之, HGF/Met/JNK信号通路介导的细胞自噬参与到肝硬化癌变进程中, 并且c-Met抑制剂能够在肝硬化进

程中发挥治疗作用。

文章亮点

实验背景

肝硬化是由酒精性肝病和慢性肝炎等肝病引起的弥漫性的慢性肝损伤, 若不及时治疗, 可进一步发展为肝癌, 这是慢性肝病的自然过程。目前对于肝硬化进展为肝癌的细胞和分子机制知之甚少。

实验动机

自噬在肝硬化进展至肝癌的病理进程中发挥重要作用, 探求其具体发病机制, 为肝癌的防治提供新的靶点。

实验目标

观察肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)/Met/JNK信号通路介导的细胞自噬在肝硬化进展至肝癌期间的作用, 旨在探求肝硬化进展至肝癌的发病机制。

实验方法

选择非肝硬化手术标本及酒精相关、慢性乙型肝炎相关肝硬化活检样本及外科肝癌样本, 同时, 运用二乙基亚硝胺建立大鼠肝硬化模型, 并运用EMD1214063干预。Western-blotting检测人和大鼠肝组织自噬状态、HGF的水平及HGF/Met/JNK信号途径分子的变化。评估大鼠肝组织中细胞增殖和凋亡。

实验结果

肝硬化肝脏根据自噬状态和HGF表达首先分层后发现p-Met、t-Met及p-JNK在水平在自噬增强的Axin2阳性细胞中显著升高(全部 $P<0.05$)。p-Met、p-JNK及HGF在11 wk的大鼠中显著降低, 而t-Met、p-JNK及HGF在8 wk的大鼠中显著降低。

实验结论

HGF/Met/JNK信号通路介导的细胞自噬与肝硬化癌变进程密切相关, 且c-Met抑制剂能够在肝硬化进程中发挥治疗作用。

展望前景

HGF/Met/JNK信号通路介导的细胞自噬可能是肝硬化癌变进程中的重要机制, 并且c-Met抑制剂可能为防治肝硬化进展至肝癌提供了新的药物选择。

5 参考文献

- 1 章艳春、荣震、蒋锐沅、付彬、洪晓华、莫春梅. 中药复方制剂抑制CD133+肝癌干细胞增殖及干性转录因子的表达. 中国组织工程研究 2021; 1970-1977

- 2 全柳霞, 吴立然, 李晶. Axin2基因对肝癌细胞中Wnt/ β -catenin信号通路相关分子表达的调控及机制. 中国生物制品学杂志 2019; 5 [DOI: 10.13200/j.cnki.cjb.002606]
- 3 Lim X, Tan SH, Yu KL, Lim SB, Nusse R. Axin2 marks quiescent hair follicle bulge stem cells that are maintained by autocrine Wnt/ β -catenin signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 2016; 113: E1498-E1505 [PMID: 26903625 DOI: 10.1073/pnas.1601599113]
- 4 Wang B, Zhao L, Fish M, Logan CY, Nusse R. Self-renewing diploid Axin2(+) cells fuel homeostatic renewal of the liver. *Nature* 2015; 524: 180-185 [PMID: 26245375 DOI: 10.1038/nature14863]
- 5 Fang L, Cai J, Chen B, Wu S, Li R, Xu X, Yang Y, Guan H, Zhu X, Zhang L, Yuan J, Wu J, Li M. Aberrantly expressed miR-582-3p maintains lung cancer stem cell-like traits by activating Wnt/ β -catenin signalling. *Nat Commun* 2015; 6: 8640 [PMID: 26468775 DOI: 10.1038/ncomms9640]
- 6 Wu G, Liu A, Zhu J, Lei F, Wu S, Zhang X, Ye L, Cao L, He S. MiR-1207 overexpression promotes cancer stem cell-like traits in ovarian cancer by activating the Wnt/ β -catenin signaling pathway. *Oncotarget* 2015; 6: 28882-28894 [PMID: 26337084 DOI: 10.18632/oncotarget.4921]
- 7 Martins-Neves SR, Corver WE, Paiva-Oliveira DI, van den Akker BE, Briaire-de-Brujin IH, Bovée JV, Gomes CM, Cleton-Jansen AM. Osteosarcoma Stem Cells Have Active Wnt/ β -catenin and Overexpress SOX2 and KLF4. *J Cell Physiol* 2016; 231: 876-886 [PMID: 26332365 DOI: 10.1002/jcp.25179]
- 8 Chai S, Ng KY, Tong M, Lau EY, Lee TK, Chan KW, Yuan YF, Cheung TT, Cheung ST, Wang XQ, Wong N, Lo CM, Man K, Guan XY, Ma S. Octamer 4/microRNA-1246 signaling axis drives Wnt/ β -catenin activation in liver cancer stem cells. *Hepatology* 2016; 64: 2062-2076 [PMID: 27639189 DOI: 10.1002/hep.28821]
- 9 李岩, 杨大业, 张德巍. 长链非编码RNA MEG3对肝癌细胞增殖及自噬能力的影响. 现代肿瘤医学 2019; 27: 27-30 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2019.03.005]
- 10 Wang X, Sun W, Shen W, Xia M, Chen C, Xiang D, Ning B, Cui X, Li H, Li X, Ding J, Wang H. Long non-coding RNA DILC regulates liver cancer stem cells via IL-6/STAT3 axis. *J Hepatol* 2016; 64: 1283-1294 [PMID: 26812074 DOI: 10.1016/j.jhep.2016.01.019]
- 11 凡畅, 吴芙蓉, 张家富, 姜辉. 细胞焦亡在肝纤维化发生发展中的作用. 临床肝胆病杂志 2020; 36: 187-189
- 12 Zhang X, Jiang P, Shuai L, Chen K, Li Z, Zhang Y, Jiang Y, Li X. miR-589-5p inhibits MAP3K8 and suppresses CD90⁺ cancer stem cells in hepatocellular carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res* 2016; 35: 176 [PMID: 27835990 DOI: 10.1186/s13046-016-0452-6]
- 13 Oikawa T. Cancer Stem cells and their cellular origins in primary liver and biliary tract cancers. *Hepatology* 2016; 64: 645-651 [PMID: 26849406 DOI: 10.1002/hep.28485]
- 14 彭榆翀. 肝癌干细胞的分离、培养及PI3K/AKT信号通路对肝癌细胞系MHCC-97H中CD90+干样细胞的影响. 广西医科大学 2019
- 15 Kitanaka C, Sato A, Okada M. JNK Signaling in the Control of the Tumor-Initiating Capacity Associated with Cancer Stem Cells. *Genes Cancer* 2013; 4: 388-396 [PMID: 24349636 DOI: 10.1177/1947601912474892]
- 16 Song W, Ma Y, Wang J, Brantley-Sieders D, Chen J. JNK signaling mediates EPHA2-dependent tumor cell proliferation, motility, and cancer stem cell-like properties in non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 2014; 74: 2444-2454 [PMID: 24607842 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-2136]
- 17 Gong L, Song J, Lin X, Wei F, Zhang C, Wang Z, Zhu J, Wu S, Chen Y, Liang J, Fu X, Lu J, Zhou C, Song L. Serine-arginine protein kinase 1 promotes a cancer stem cell-like phenotype through activation of Wnt/ β -catenin signalling in NSCLC. *J Pathol* 2016; 240: 184-196 [PMID: 27391422 DOI: 10.1002/path.4767]
- 18 Li S, Tan HY, Wang N, Cheung F, Hong M, Feng Y. The Potential

- and Action Mechanism of Polyphenols in the Treatment of Liver Diseases. *Oxid Med Cell Longev* 2018; 2018: 8394818 [PMID: 29507653 DOI: 10.1155/2018/8394818]
- 19 Lee YJ, Hah YJ, Kang YN, Kang KJ, Hwang JS, Chung WJ, Cho KB, Park KS, Kim ES, Seo HY, Kim MK, Park KG, Jang BK. The autophagy-related marker LC3 can predict prognosis in human hepatocellular carcinoma. *PLoS One* 2013; 8: e81540 [PMID: 24282606 DOI: 10.1371/journal.pone.0081540]
- 20 Manley S, Williams JA, Ding WX. Role of p62/SQSTM1 in liver physiology and pathogenesis. *Exp Biol Med (Maywood)* 2013; 238: 525-538 [PMID: 23856904 DOI: 10.1177/1535370213489446]
- 21 Bourdeau V, Ferbeyre G. CDK4-CDK6 inhibitors induce autophagy-mediated degradation of DNMT1 and facilitate the senescence antitumor response. *Autophagy* 2016; 12: 1965-1966 [PMID: 27532423 DOI: 10.1080/15548627.2016.1214779]
- 22 Kowalik MA, Perra A, Ledda-Columbano GM, Ippolito G, Piacentini M, Columbano A, Falasca L. Induction of autophagy promotes the growth of early preneoplastic rat liver nodules. *Oncotarget* 2016; 7: 5788-5799 [PMID: 26735341 DOI: 10.18632/oncotarget.6810]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》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 $7.5\text{ cm} \times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条黏贴在正文内, 不能使用浆糊黏贴。 (5) 致谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。



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

