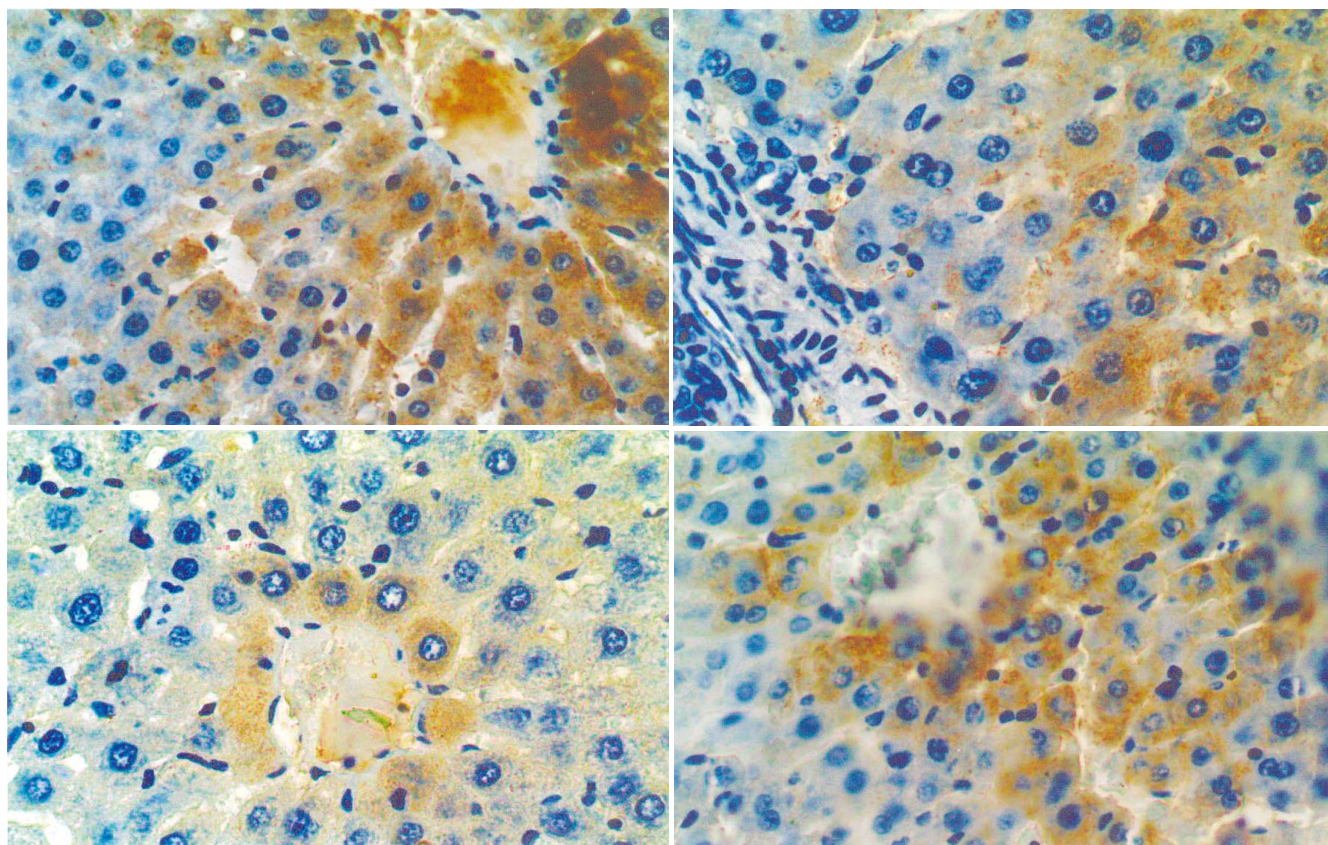


世界华人消化杂志

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2005 年 10 月 15 日 第 13 卷 第 19 期 (Volume 13 Number 19)



19/2005

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

世界华人消化杂志被评为中国科技核心期刊,
2003年百种中国杰出学术期刊,

《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学
类的核心期刊, 中国科技论文统计源期刊.

世界华人消化杂志的英文摘要被美国《化学文摘》,
荷兰《医学文摘库/医学文摘》,
俄罗斯《文摘杂志》收录.

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

目次

2005年10月15日

第13卷

第19期

(总第147期)

述评

- 2289 胃癌表遗传学的研究进展 滕玥, 戴冬秋
2294 胃肠癌术后应用抗生素致伪膜性肠炎 马振海, 戴冬秋, 徐惠绵

基础研究

- 2297 谷氨酰胺对大鼠肝脏缺血再灌注损伤时肝组织谷胱甘肽含量和Bcl-2、Bax蛋白表达的影响
贾昌俊, 戴朝六, 张旭, 徐锋, 崔凯, 许永庆
2302 生存素siRNA表达质粒对MGC-803细胞增殖的影响
赵伟红, 郭俊明, 肖丙秀, 管忠, 肖东升
2306 人F3-GRIM19基因的克隆与表达 孙厚良, 刘洋, 李甲初, 曾昭淳
2310 解偶联蛋白-2在大鼠非酒精性脂肪肝中的表达
顾小红, 张云东, 冯爱娟
2314 COX-2在Barrett食管和食管腺癌中的表达及意义
刘心娟, 王邦茂, 阎雪燕, 刘文天, 吕宗舜, 张洁
2318 奥曲肽联合汉防己甲素对人胃癌细胞增殖的影响
王龙, 朱金水, 陈维雄, 朱励, 达伟, 王秀玲
2323 EB潜伏膜蛋白表达与肠上皮化生胃黏膜幽门螺杆菌感染的相关性
刘东屏, 于继红, 李茵茵, 王炳元
2327 瘦素及硬脂酰CoA去饱和酶-1在高脂饮食大鼠非酒精性脂肪肝发病中的作用
陆元善, 范建高, 方继伟, 丁晓东, 杨兆瑞
2332 从肠肌间神经丛抑制性神经递质的改变探讨IBS不同亚型的发病机制
徐俊荣, 罗金燕, 尚磊, 孔武明

临床研究

- 2339 便秘型肠易激综合征结肠黏膜组织蛋白质组双向凝胶电泳分析
彭丽华, 杨云生, 孙刚, 王巍峰
2343 生理盐水冲洗提高多层CT门脉造影图像质量的临床研究 肖亮, 徐克

文献综述

- 2349 与胃癌相关的DNA甲基化研究进展 张晔, 袁媛
2355 胃肠黏膜抗损伤和修复新进展 王玮, 孙梅
2360 钙和维生素D预防结直肠癌的机制及其临床应用 陆嵘, 房静远
2364 重症急性胰腺炎并发肾损害的发病机制 张喜平, 王蕾

研究快报

- 2371 应用抑制性消减杂交技术克隆乙型肝炎病毒DNA PTP1的反式调节基因
高学松, 成军, 甄真, 郭江, 张黎颖, 陶明亮
2375 活血健脾补肾法对结肠炎小鼠结肠组织TNF- α 及其mRNA表达的影响
张永锋, 陈如山, 吴正治, 李明, 陈曼茵
2378 蜜调通关散及其拆方对家兔肠道作用机制 梁劲军, 黄阳勇, 庆方
2381 复方甘草甜素下调细胞周期素依赖性激酶1启动子表达
王志凌, 成军, 张连峰, 邵凤娟, 刘蔚, 刘妍, 陶明亮

临床经验

- 2386 内镜下双重色素法联合超声内镜对食管早期癌及癌前病变的诊断价值
刘一品, 黄留业, 李延青
2389 中医药对乙型肝炎患者肝癌前期状态的干预17例
屠红, 张菁, 成伟中, 韩镭, 陆敏, 曹宏伟, 陈复华, 耿沁
2392 奥沙拉秦钠对溃疡性结肠炎一氧化氮合酶表达的影响 郝俊鸣, 江学良, 佟艳铭
2395 应用SELDI-TOF-MS技术建立直肠癌筛选血清蛋白质指纹图谱模型
闫志勇, 钱冬萌, 丁守怡, 宋旭霞, 王斌
2398 消化道肿瘤CT动脉造影分析83例 朱晓玲, 冯妹婷
2401 脐血与新鲜冰冻血浆治疗慢性重型肝炎的疗效比较
卢家桀, 唐红, 王晓辉, 刘真真, 叶慧

致 谢	2404 致谢世界华人消化杂志编委
消 息	2293 欢迎订阅2006年《世界华人消化杂志》 2301 第11届全国中西医结合结直肠肛门病学术会议征文通知 2309 2006年世界华人消化杂志由半月刊改为旬刊出版发行 2317 第一届全国临床营养支持学术会议通知 2326 2006年即将召开的国际会议 2331 消化道肿瘤外科治疗2006高级论坛征文通知 2338 《世界华人消化杂志》欢迎投稿 2348 WJG和世界华人消化杂志全文网站免费开通 2363 首届北京地坛感染病学术会议 2385 2006年第5届全国肝脏疾病学术研讨会议征文通知
封面故事	贾昌俊, 戴朝六, 张旭, 徐锋, 崔凯, 许永庆. 谷氨酰胺对大鼠肝脏缺血再灌注损伤时肝组织谷胱甘肽含量和 Bcl-2、Bax 蛋白表达的影响. 世界华人消化杂志 2005;13(19):2297-2301 http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/2297.asp
国际会议	13th United European Gastroenterology Week, UEGW October 15-20, 2005 American College of Gastroenterology Annual Scientific Meeting October 28-November 2, 2005 ISGCON 2005 November 11-15, 2005 isgcon2005@yahoo.co.in isgcon2005.com Advanced Capsule Endoscopy Users Course November 18-19, 2005 www.asge.org/education II Latvian Gastroenterology Congress November 29, 2005 gec@stradini.lv www.gastroenterologs.lv 2005 CCFA National Research and Clinical Conference - 4th Annual Advances in the Inflammatory Bowel Diseases December 1-3, 2005 c.chase@imedex.com www.imedex.com/calendars/therapeutic.htm 10th World Congress of the International Society for Diseases of the Esophagus February 22-25, 2006 isde@sapmea.asn.au www.isde.net

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 2005-10-15

原刊名 新消化病学杂志

名 誉 总 编 辑 潘伯荣 社 长 总 编 辑 马连生

编 辑 部 主 任 张海宁 中 文 编 辑 潘伯荣 张海宁

英 文 编 辑 张海宁 排 版 校 对 张敏 张勇 李琪

编辑 世界华人消化杂志编辑委员会
030001, 山西省太原市双塔西街77号

出版 世界胃肠病学杂志社

100023, 北京市2345信箱

E-mail: wcjd @ wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

电话: 010-85381901

传真: 010-85381893

印刷 北京科信印刷厂

发行 国内: 北京报刊发行局

国外: 中国国际图书贸易总公司

(100044, 北京市399信箱)

订购 全国各地邮电局

邮购 世界胃肠病学杂志社发行部

(100023, 北京市2345信箱)

电话: 010-85381901

传真: 010-85381893

世界华人消化杂志被评为中国科技核心期刊, 2003年百种中国杰出学术期刊, 《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学类的核心期刊, 中国科技论文统计源期刊. 世界华人消化杂志的英文摘要被美国《化学文摘》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘》, 俄罗斯《文摘杂志》收录.

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表世界胃肠病学杂志社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.

2005年版权归世界胃肠病学杂志社所有

ISSN 1009-3079

CN 14-1260/R

邮发代号

82-262

国外代号

M 4481

国内定价

每期24.00元 全年576.00元

广告经营许可证

1401004000050

www.wjgnet.com

World Chinese Journal of Digestology

October 2005 Contents in Brief Volume 13 Number 19

EDITORIAL

Advancement in research of gastric cancer epigenetics

Teng Y, Dai DQ 2289

Pseudomembrane colitis induced by usage of antibiotic after gastric intestinal cancer operation

Ma ZH, Dai DQ, Xu HM 2294

BASIC RESEARCH

Effects of glutamine on glutathione content and expression of Bcl-2 and Bax protein during hepatic ischemia and reperfusion injury in rats

Jia CJ, Dai CL, Zhang X, Xu F, Cui K, XU YQ 2297

Effects of survivin siRNA expression plasmid on proliferation of MGC-803 cells

Zhao WH, Guo JM, XIAO BX, Guan Z, Xiao DS 2302

Cloning and expression of human F3-GRIM19 gene

Sun HL, Liu Y, Li JC, Zeng ZC 2306

Expression of uncoupling protein 2 in nonalcoholic fatty liver of rats

Gu XH, Zhang YD, Feng AJ 2310

Expression of COX-2 in Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma and its significance

Liu XJ, Wang BM, Yan XY, Liu WT, LV ZS, Zhang J 2314

Inhibitory effects of tetrandrine combined with octreotide on proliferation of gastric cancer cell lines cultured *in vitro*

Wang L, Zhu JS, Chen WX, Zhu L, Da W, Wang XL 2318

Relationship between expression of Epstein-Barr virus latent membrane protein and *H pylori* infection in gastric mucosa with intestinal metaplasia

Liu DP, Yu JH, Li YY, Wang BY 2323

Roles of leptin and stearyl-CoA desaturase-1 in pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease induced by a fat-rich diet

Lu YS, Fan JG, Fang JW, Ding XD, Yang ZR 2327

Role of inhibitory neurotransmitter of myoenteric plexus in carcinogenesis of irritable bowel syndrome with different subtypes

Xu JR, Luo JY, Shang L, Kong WM 2332

CLINICAL RESEARCH

Proteomic analysis of colonic mucosa by two-dimensional gel electrophoresis in constipation-predominant irritable bowel syndrome

Peng LH, Yang YS, Sun G, Wang WF 2339

Clinical application of normal saline flush in multi-detector CT photography on portal vein

Xiao L, Xu K 2343

REVIEW

Advancement in research of gastric cancer related DNA methylation

Zhang Y, Yuan Y 2349

New advancement in rehabilitation and anti-damage of gastric intestinal mucosa

Wang W, Sun M 2355

Mechanism and clinical usage of calcium and vitamin D in prevention of rectal cancer

Lu R, Fang JY 2360

Mechanism of severe acute pancreatitis combined with renal damage

Zhang XP, Wang L 2364

BRIEF REPORT

Cloning of hepatitis B virus DNA PTP1 transactivating genes by suppression subtractive hybridization technique

Gao XS, Cheng J, Zhen Z, Guo J, Zhang LY, Tao ML 2371

Effects of *Huoxue*, *Jianpi* and *Bushen* recipe on expression of TNF- α and its mRNA in mice with colitis

Zhang YF, Chen RS, Wu ZZ, Li M, Chen MY 2375

Effects of *Mitiao Tongguansan* decoction and its different ingredients on function of intestinal tract in rabbits

Liang JJ, Huang YY, Qing F 2378

Down-regulatory effects of glycyrrhizin on expression of cyclin-dependent kinase 1 gene promoter

Wang ZL, Cheng J, Zhang LF, Shao FJ, Liu W, Liu Yan, Tao ML 2381

CLINICAL PRACTICE

Evaluation of double staining combined with endosonography in detection of early esophageal cancer and precancerous lesions

Liu YP, Huang LY, Li YQ 2386

Traditional Chinese Medicine intervention for development of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B: an analysis of 17 cases

Tu H, Zhang J, Cheng WZ, Han L, Lu M, Cao HW, Chen FH, Geng Q 2389

Effects of olsalazine sodium on expression of nitric oxide synthase in patients with ulcerative colitis: an analysis of 36 cases

Hao JM, Jiang XL, Tong YM 2392

Establishment of serum protein pattern model for screening rectal carcinoma by SELDI-TOF-MS

Yan ZY, Qian DM, Ding SY, Song XX, Wang B 2395

Analysis of artery computed tomography angiography for digestive tumor in 83 cases

Zhu XL, Feng ST 2398

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

World Chinese Journal of Digestology Monthly
Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date October 15, 2005

Honorary-Editor-in-Chief

Bo-Rong Pan

President and Editor-in-Chief

Lian-Sheng Ma

Edited by Editorial Board of

World Chinese Journal of Digestology

PO Box 2345, Beijing 100023, China

Published by The WJG Press

PO Box 2345, Beijing 100023, China

Overseas Distributor

China International Book Trading Corporation

PO Box 399, Beijing 100044, China

Code No.M4481

Mail-Order Circulation Section, The WJG Press

PO Box 2345, Beijing 100023, China

Telephone: +86-10-85381901

Fax: +86-10-85381893

Email: wcjd @ wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

Copyright © 2005 by The WJG Press

便秘型肠易激综合征结肠黏膜组织蛋白质组双向凝胶电泳分析

彭丽华, 杨云生, 孙刚, 王巍峰

彭丽华, 杨云生, 孙刚, 王巍峰, 中国人民解放军总医院消化内科 北京市 100853

彭丽华, 女, 1972年生, 北京市人, 汉族, 硕士, 主治医师, 主要从事消化系统疾病的临床工作和胃肠功能性及动力疾病的研究。

通讯作者: 杨云生, 100853, 北京市复兴路28号, 解放军总医院消化内科. yangys@163bj.com

电话: 010-66939747

收稿日期: 2005-08-06 接受日期: 2005-08-25

Proteomic analysis of colonic mucosa by two-dimensional gel electrophoresis in constipation-predominant irritable bowel syndrome

Li-Hua Peng, Yun-Sheng Yang, Gang Sun, Wei-Feng Wang

Li-Hua Peng, Yun-Sheng Yang, Gang Sun, Wei-Feng Wang, Department of Gastroenterology, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China

Correspondence to: Yun-Sheng Yang, Department of Gastroenterology, General Hospital of Chinese PLA, 28 Fuxing Road, Beijing 100853, China. yangys@163bj.com

Received: 2005-08-06 Accepted: 2005-08-25

Abstract

AIM: To analyze the differential expression of proteome in colonic mucosa between patients with constipation-predominant irritable bowel syndrome (C-IBS) and the healthy controls.

METHODS: Two dimensional polyacrylamide gel electrophoresis (2-DE) technique and computer-assisted image analysis were used to separate the protein spots and analyze the differential expression of proteome in the colonic mucosa of the healthy controls and patients with C-IBS.

RESULTS: A total of 308 protein spots were identified in the average gel of the healthy controls, and 238 in patients with C-IBS. A total of 178 protein spots were matched, and the mean matching rate was 74.49%. There were 18 protein spots that were significantly differentially expressed. Of those 18 protein spots, the expression of 3 spots were increased markedly, while 15 were decreased significantly.

CONCLUSION: The proteomic expression in colonic mucosa of patients with C-IBS is significantly different from that of the healthy controls, which may be associated with the pathogenesis of C-IBS.

Key Words: Colonic diseases; Constipation; Proteome; Two-dimensional gel electrophoresis; Irritable bowel syndrome

Peng LH, Yang YS, Sun G, Wang WF. Proteomic analysis of colonic mucosa by two-dimensional gel electrophoresis in constipation-predominant irritable bowel syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2005;13(19):2339-2342

摘要

目的: 分析便秘型肠易激综合征(C-IBS)患者与正常人结肠黏膜组织蛋白质表达的差异。

方法: 采用双向凝胶电泳(2-DE)技术和计算机辅助的图像分析方法, 对C-IBS患者与正常人结肠黏膜组织蛋白质进行分离和比较分析。

结果: 正常对照组平均胶蛋白斑点数为308, C-IBS组平均胶蛋白斑点数为238, 与正常对照组平均胶匹配点数为178, 匹配率74.79%。有18个蛋白质点的表达量存在明显差异, 其中有3个蛋白点表达发生明显上调, 有15个蛋白点表达发生明显下调。

结论: C-IBS患者与正常人结肠黏膜组织蛋白质表达存在明显差异, 可能与C-IBS的发病机制有关。

关键词: 结肠疾病; 便秘; 蛋白质组; 双向凝胶电泳; 肠易激综合征

彭丽华, 杨云生, 孙刚, 王巍峰. 便秘型肠易激综合征结肠黏膜组织蛋白质组双向凝胶电泳分析. *世界华人消化杂志* 2005;13(19):2339-2342

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/2339.asp>

0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是以腹痛或腹部不适伴排便异常为特征的一种功能性肠病, 便秘型IBS(constipation-predominant IBS, C-IBS)是其中的一种亚型^[1-5]。目前对IBS发病机制的研究涉及神

经、免疫、内分泌等诸多方面^[6-12],但其确切的发病机制尚不清楚.采用蛋白质组学分析可以识别及鉴定一种细胞或组织所表达的全部蛋白质及它们的表达模式,从蛋白质整体水平上探讨一些重要的生理、病理现象的本质,揭示疾病发生、发展的规律.我们应用双向凝胶电泳技术对C-IBS患者和正常人的结肠黏膜组织进行分析,以期发现其蛋白质表达的差异,为揭示IBS的发病机制提供依据.

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 结肠黏膜组织 C-IBS组4例,诊断符合功能性胃肠疾病罗马II诊断标准.正常对照组取自健康学员及肠息肉内镜下切除术后复查正常者共4例,无消化系统、神经系统症状和体征,无近期服药史,结肠镜检查排除肠道器质性病变者.每例分别于回盲部、直肠、乙状结肠每部位取活检2块,共6块,于冰盐水(含0.1 mmol/L PMSF)中清洗干净,滤纸吸去多余的液体,立即置液氮中速冻保存备用,此过程在组织离体10 min内完成.

1.1.2 试剂 超纯尿素(urea),硫脲(sulfocarbamide),丙烯酰胺(acrylamide),甲叉-双丙烯酰胺(N,N'-methylenebisacrylamide),十二烷基磺酸钠(SDS),过硫酸铵(APS)均购自Sigma公司.二硫苏糖醇(DTT),甘氨酸(glycine)购自Promega公司.四甲基乙二胺(TEMED)购自Bio-Rid公司.碘乙酰胺(indoacetamide)购自Acros公司.苯甲基磺酰氟(PMSF)购自北京中预卫科生物工程公司.DNA酶和RNA酶购自北京华美生物工程公司.低分子量蛋白标记, pH 3-10固相化线性18 cm干胶条(IPG strip), IPG buffer, Destreak均购自Amersham Biosciences公司.所用溶液均用去离子水配制.

1.1.3 仪器 低温高速离心机(Hermle, Z323K),超声破碎机(Artek, Altrasonic 2 000),紫外分光光度计(Unico, UV-2 000),循环水浴箱(Julabo), IPG phor等电聚焦仪, IPG持胶槽,灌胶模具, Ettan DALT II电泳槽均为Amersham pharmacia biotech公司产品,扫描仪(Umax, powerlook 2 100XL).

1.1.4 计算机分析软件 Amersham Biosciences公司的ImageMaster 2D version 5.0软件.

1.2 方法

1.2.1 结肠黏膜组织蛋白质的提取 按40 mg样品加100 μ L组织裂解液的比例加入裂解液(8 mol/L尿素, 2 mol/L硫脲, 40 g/L CHAPS, 20 g/L TritonX-100, 40 mmol/L Tris, 1 mmol/L EDTA, 5 mmol/L $MgCl_2$, 60 mmol/L DTT, 1 mmol/L PMSF, 0.1 g/L DNA酶, 0.025 g/L RNA酶),置冰浴上

予匀浆器手工匀浆.匀浆液予超声破碎仪破碎,每次10 s,共6次.以14 000 g置于4℃离心30 min.取上清,分装,贮存于-70℃冰箱,同时用考马斯亮蓝法测定提取液中的蛋白质浓度.

1.2.2 第一向固相pH梯度(IPG)等电聚焦 主要按Gorg *et al*^[13]方法略有改动.取上述蛋白质样品,按1 mg的上样量计算出蛋白质上样体积,依该体积加入蛋白质样品,加入重泡胀液(8 mol/L尿素, 20 g/L CHAPS, 痕量溴酚蓝), 1.75 μ L IPG Buffer, 4 μ L Destreak至终体积350 μ L,在液体快速混合器及手掌型离心机上分别混匀.将样本均匀加入持胶槽中,胶面向下放入18 cm IPG干胶条,避免气泡产生,然后滴加覆盖油800 μ L,置于IPG phor等电聚焦仪上.重泡胀和等电聚焦在20℃下自动进行,自动程序电泳参数设置如下:重水化0 V 14 h \rightarrow 200 V 1 h \rightarrow 500 V 1 h \rightarrow 1 000 V 1 h \rightarrow 3 000 V 1 h \rightarrow 4 000 V 1 h \rightarrow 8 000 V 4 h,至30 000 V h.等电聚焦后,IPG胶条分别在平衡液A(50 mmol/L tris-HCl pH 8.8, 6 mol/L尿素, 300 mL/L甘油, 20 g/L SDS, 痕量溴酚蓝, 10 g/L DTT)和平衡液B(50 mmol/L tris-HCl pH 8.8, 6 mol/L尿素, 300 mL/L甘油, 20 g/L SDS, 痕量溴酚蓝, 25 g/L碘乙酰胺)中各平衡15 min后用去离子水润洗胶条1 s,并用滤纸吸去多余的液体.

1.2.3 第二向垂直平板SDS PAGE 配制125 g/L的均匀SDS聚丙烯酰胺凝胶.将平衡后的IPG胶条胶面向上移至凝胶的上方,胶条一端放上低分子量蛋白标记10 μ L, 5 g/L的琼脂糖封闭.电泳参数:初始功率为5 w, 45 min,待溴酚蓝前沿移入SDS胶时,以恒功率30 w,直至溴酚蓝前沿抵达胶边缘处为止,约3.5 h.

1.2.4 考马斯亮蓝染色 将凝胶在固定液(甲醇400 mL/L, 冰乙酸100 mL/L, 去离子水500 mL/L)中固定40 min,脱色液(乙醇250 mL/L, 冰乙酸80 mL/L, 去离子水670 mL/L)中脱色2 min, 0.2 g/L考马斯亮蓝染色液中染色60 min,然后在脱色液中脱色10 min、20 min,更换脱色液过夜.

1.2.5 凝胶图像采集与分析 应用Umax powerlook 2100XL扫描仪采集凝胶图像,应用Amersham Biosciences公司的ImageMaster 2D version 5.0软件进行图像分析.

2 结果

2.1 C-IBS组和正常对照组结肠黏膜蛋白质组双向凝胶电泳图谱 经图像分析显示在相同设定值条件下获取的蛋白斑点,以其中一块胶为参考胶进行4块胶间的斑点匹配.图1A所示为正常对照组结肠黏膜组织双向凝胶电泳平均胶图谱.图1B所示为C-IBS组结肠

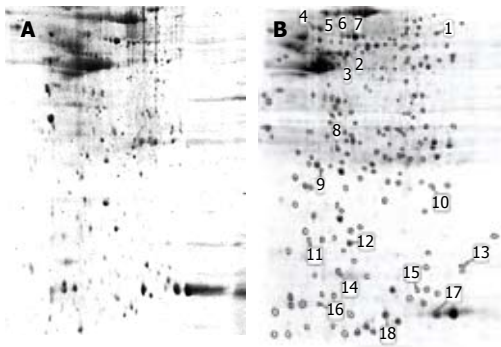


图1 结肠黏膜组织双向凝胶电泳平均胶图谱. A: 正常对照组; B: C-IBS组.

黏膜组织双向凝胶电泳平均胶图谱. 两个样品以 $pI = 4.5-10$ 和分子质量 $13-90\text{ ku}$ 范围的蛋白斑点分布最多. 正常对照组平均胶蛋白斑点数为308, C-IBS组平均胶蛋白斑点数为238, 与正常对照组平均胶匹配点数为178, 匹配率74.79%.

2.2 C-IBS蛋白质组的表达变化 比较两组平均胶, 发现有18个蛋白质点的表达存在明显差异. 其中有3个蛋白点表达发生明显上调(表1, 序号同图1B标注的蛋白点序号), 有15个蛋白点表达发生明显下调(表2, 序号同图1B标注的蛋白点序号).

表1 C-IBS组发生明显上调的蛋白点信息

No	Spot	Match	Volumn(CV)		pI	$M_r(\text{ku})$
			No	C-IBS		
1	69	24	11	709.000	5 487.500	7.195 69.369
2	108	51	45	708.667	23 813.000	5.823 60.214
3	115	58	25	387.667	8 235.500	5.769 58.234

表2 C-IBS组发生明显下调的蛋白点信息

No	Spot	Match	Volumn(CV)		pI	$M_r(\text{ku})$
			No	C-IBS		
4	60	19	17	915.667	34 306.500	5.238 70.907
5	64	20	44	161.333	67 592.500	5.363 70.568
6	74	28	15	988.000	29 635.000	5.725 68.129
7	75	27	30	366.333	53 379.500	5.826 67.870
8	206	145	24	863.000	37 939.500	5.627 32.208
9	228	176	6	030.000	11 593.000	5.341 28.444
10	241	187	5	574.000	9 242.500	7.103 26.433
11	265	217	10	164.667	19 161.000	5.114 19.974
12	266	220	37	899.000	69 590.500	5.801 19.879
13	279	238	9	521.000	15 876.500	7.595 17.988
14	282	243	24	688.667	49 402.000	5.606 17.523
15	291	253	8	079.333	13 286.000	6.881 16.493
16	303	270	9	117.000	16 816.000	5.267 15.618
17	308	279	97	098.667	197 559.000	7.192 15.250
18	312	280	77	492.333	157 468.000	6.336 15.123

3 讨论

IBS是一种常见的消化系疾病,但其发病机制尚不

清楚,一般认为是一种功能性肠病,发病机制有肠道运动异常机制、内脏高敏感性机制^[14,15]、脑肠相互作用机制^[16]、5-羟色胺作用机制^[17,18],以及近年来提出的神经免疫内分泌网络调控机制^[19]等.近年来对于IBS发病机制的研究取得了长足的进步,已发现IBS患者可能存在肠道肥大细胞(mast cell, MC)数目及活性的改变^[20-22],血中或结肠黏膜5-HT(5-hydroxytryptamine, 5-HT)^[23,24]、胃动素、血管活性肠肽等胃肠激素^[25-27]的异常,白三烯 B_4 、组胺等血清生物活性物质的改变^[28],外周血淋巴细胞 CD_4/CD_8 比值的变化^[29],提示IBS肠道功能异常与肠黏膜一些细胞及分子的变化具有关系;近来也有研究发现IBS肠道平滑肌间有淋巴细胞浸润、间质细胞数目改变、神经元变性^[30],脑、脊髓、肠道神经递质改变等^[31,32],这些研究都为IBS的病理机制提供了细胞分子生物学的基础.运用双向凝胶电泳的研究方法,可以识别结肠黏膜组织表达的蛋白质谱,从整体上把握蛋白质表达的差异,为IBS发病机制的研究提供线索.

我们通过改进蛋白质提取过程和优化双向凝胶电泳参数,得到了分辨率和重复性良好的双向凝胶电泳图谱,匹配率74.79%,完全能够满足进行蛋白质组研究所需的要求.其中关键的步骤是裂解液的组成成分,蛋白质提取时裂解液与组织的配比,上样量的选择,一向IPG胶条的选择,二向SDS凝胶浓度的选择以及双向电泳参数的设置等.通过比较C-IBS患者和正常人结肠黏膜组织蛋白质组电泳图谱得到蛋白质在表达数量和强度上的差异,对这两种蛋白质组表达差异的分析结果显示,细胞内多种蛋白成分在疾病发生发展过程中出现了变化,有3个蛋白点表达发生明显上调,有15个蛋白点表达发生明显下调.这些蛋白质成分可能参与了IBS生物学特征改变的调节与控制.我们已获得了这些蛋白质的分子量和等电点,在筛选出这些差异表达蛋白质的基础上,进一步的质谱分析可以鉴定这些蛋白质的种类,明确其功能,为认识疾病发病机制提供线索.对IBS患者的蛋白质组学研究不仅能为揭示IBS的发病机制提供新的研究方向,其发现的差异表达蛋白质也可能成为疾病诊断的分子标记,进而还可能成为治疗和药物开发的靶点,因而具有重要的理论和实践意义.

4 参考文献

- 1 Somers SC, Lembo A. Irritable bowel syndrome: evaluation and treatment. *Gastroenterol Clin North Am* 2003; 32: 507-529
- 2 Mearin F, Balboa A, Badia X, Baro E, Caldwell E, Cucala M, Diaz-Rubio M, Fueyo A, Ponce J, Roset M, Talley NJ. Irritable bowel syndrome subtypes according to bowel habit: revisiting the alternating subtype. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15: 165-172
- 3 詹丽杏, 李兆申. 肠易激综合征的诊断与治疗. *世界华人消化杂志*

- 2001; 9: 1177-1179
- 4 许小幸, 李定国, 宋光辉, 周惠清, 刘清华. 肠易激综合征402例发病时间分布及症状特征. 世界华人消化杂志 2003; 11: 1234-1236
- 5 陈仕珠. 肠易激综合征发病机制研究进展. 华人消化杂志 1998; 6: 1094-1096
- 6 Wood JD. Neuropathophysiology of irritable bowel syndrome. *J Clin Gastroenterol* 2002; 35: S11-S22
- 7 Lea R, Whorwell PJ. Psychological influences on the irritable bowel syndrome. *Minerva Med* 2004; 95: 443-450
- 8 Schwetz I, Bradesi S, Mayer EA. The pathophysiology of irritable bowel syndrome. *Minerva Med* 2004; 95: 419-426
- 9 Drossman DA. The functional gastrointestinal disorders and the Rome II process. *Gut* 1999; 45: II1-II5
- 10 彭丽华, 杨云生. 肥大细胞与功能性胃肠疾病. 世界华人消化杂志 2003; 11: 651-653
- 11 Spiller RC, Jenkins D, Thornley JP, Hebden JM, Wright T, Skinner M, Neal KR. Increased rectal mucosal enteroendocrine cells, T lymphocytes, and increased gut permeability following acute *Campylobacter* enteritis and in post-dysenteric irritable bowel syndrome. *Gut* 2000; 47: 804-811
- 12 Pata C, Erdal ME, Deric E, Yazar A, Kanik A, Ulu O. Serotonin transporter gene polymorphism in irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1780-1784
- 13 Gorg A, Obermaier C, Boguth G, Harder A, Scheibe B, Wildgruber R, Weiss W. The current state of two-dimensional electrophoresis with immobilized pH gradients. *Electrophoresis* 2000; 21: 1037-1053
- 14 Bouin M, Plourde V, Boivin M, Riberdy M, Lupien F, Laganier M, Verrier P, Poitras P. Rectal distention testing in patients with irritable bowel syndrome: sensitivity, specificity, and predictive values of pain sensory thresholds. *Gastroenterology* 2002; 122: 1771-1777
- 15 Quigley EM. Disturbances of motility and visceral hypersensitivity in irritable bowel syndrome: biological markers or epiphenomenon. *Gastroenterol Clin North Am* 2005; 34: 221-233
- 16 Blomhoff S, Spetalen S, Jacobsen MB, Malt UF. Phobic anxiety changes the function of brain-gut axis in irritable bowel syndrome. *Psychosom Med* 2001; 63: 959-965
- 17 Miwa J, Echizen H, Matsueda K, Umeda N. Patients with constipation-predominant irritable bowel syndrome (IBS) may have elevated serotonin concentrations in colonic mucosa as compared with diarrhea-predominant patients and subjects with normal bowel habits. *Digestion* 2001; 63: 188-194
- 18 Talley NJ. Serotonergic neuroenteric modulators. *Lancet* 2001; 358: 2061-2068
- 19 杨云生. 肠易激综合征神经免疫内分泌网络调控机制. 胃肠病学和肝病学杂志 2002; 11: 320-322
- 20 O'Sullivan M, Clayton N, Breslin NP, Harman I, Bountra C, McLaren A, O'Morain CA. Increased mast cells in the irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil* 2000; 12: 449-457
- 21 李兆申, 董文珠, 邹多武, 邹晓平, 张文俊. 肠易激综合征肠黏膜肥大细胞的实验研究. 解放军医学杂志 2002; 27: 628-630
- 22 Barbara G, Stanghellini V, De Giorgio R, Cremon C, Cottrell GS, Santini D, Pasquelli G, Morselli-Labate AM, Grady EF, Bunnett NW, Collins SM, Corinaldesi R. Activated mast cells in proximity to colonic nerves correlate with abdominal pain in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2004; 126: 693-702
- 23 詹丽杏, 许国铭, 李兆申, 邹多武, 金震东, 屠振兴. 肠易激综合征患者活动期和缓解期血浆5-HT、5-HIAA的变化. 第二军医大学学报 2003; 24: 152-154
- 24 杨艺, 邓长生. 肠易激综合征患者一氧化氮和5-羟色胺含量改变. 世界华人消化杂志 1999; 7: 640-641
- 25 Simren M, Bjornsson ES, Abrahamsson H. High interdigestive and postprandial motilin levels in patients with the irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil* 2005; 17: 51-57
- 26 Palsson OS, Morteau O, Bozyski EM, Woosley JT, Sartor RB, Davies MJ, Johnson DA, Turner MJ, Whitehead WE. Elevated vasoactive intestinal peptide concentrations in patients with irritable bowel syndrome. *Dig Dis Sci* 2004; 49: 1236-1243
- 27 Simren M, Stotzer PO, Sjoval H, Abrahamsson H, Bjornsson ES. Abnormal levels of neuropeptide Y and peptide YY in the colon in irritable bowel syndrome. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15: 55-62
- 28 彭丽华, 杨云生, 孙刚, 王巍峰, 孙晓华. 冰水灌胃刺激对大鼠肠道敏感性及其血清生物活性物质的影响. 解放军医学杂志 2005; 30: 51-53
- 29 令狐恩强, 杨云生. 肠易激综合征患者外周血T淋巴细胞亚群分析. 中华消化杂志 2002; 22: 423-425
- 30 Tornblom H, Lindberg G, Nyberg B, Veress B. Full-thickness biopsy of the jejunum reveals inflammation and enteric neuropathy in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2002; 123: 1972-1979
- 31 王巍峰, 杨云生, 孙刚, 彭丽华. 肠易激综合征大鼠P物质能神经通路的改变. 世界华人消化杂志 2005; 13: 214-218
- 32 王巍峰, 杨云生, 孙刚, 彭丽华. 肠易激综合征大鼠模型肠神经系统神经递质表达的初步研究. 胃肠病学和肝病学杂志 2004; 13: 578-583

电编 张敏 编辑 张海宁