

高糖对大鼠结肠平滑肌细胞表达内源性胰岛素样生长因子1的影响

徐新寓, 王云, 杨微微, 林琳

■背景资料

糖尿病胃肠动力障碍与胃肠自主神经、Cajal间质细胞及平滑肌细胞病变相关, 胰岛素样生长因子-1(IGF-1)可促进平滑肌细胞分化、增殖, 并保护Cajal间质细胞, 该因子缺乏是本疾病病理基础之一。

徐新寓, 王云, 杨微微, 林琳, 南京医科大学第一附属医院消化科 江苏省南京市 210029

徐新寓, 在读硕士, 主要从事胃肠动力性疾病方面的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30971354

江苏省国际科技合作计划基金资助项目, No. BZ2011044

江苏省研究生教育创新工程基金资助项目, No. CXZZ11_0704

作者贡献分布: 该课题由王云、徐新寓及林琳共同设计; 研究过程由徐新寓、王云及杨微微操作完成; 研究所用试剂及分析工具由王云与徐新寓提供; 数据分析由徐新寓完成; 论文撰写由徐新寓完成; 林琳与王云协助课题设计并修改论文。

通讯作者: 林琳, 教授, 210029, 江苏省南京市广州路300号, 南京医科大学第一附属医院消化科。lin9100@yahoo.com.cn

电话: 025-68136920

收稿日期: 2011-12-20 修回日期: 2012-02-20

接受日期: 2012-03-20 在线出版日期: 2012-04-28

High glucose down-regulates the expression of endogenous insulin-like growth factor-1 in rat colonic smooth muscle cells

Xin-Yu Xu, Yun Wang, Wei-Wei Yang, Lin Lin

Xin-Yu Xu, Yun Wang, Wei-Wei Yang, Lin Lin, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30971354; the International Science and Technology Cooperation Program of Jiangsu Province, No. BZ2011044; the Graduate Innovation Project Foundation of Jiangsu Province, No. CXZZ11_0704

Correspondence to: Lin Lin, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, 300 Guangzhou Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. lin9100@yahoo.com.cn

Received: 2011-12-20 Revised: 2012-02-20

Accepted: 2012-03-20 Published online: 2012-04-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of high glucose on the expression of endogenous insulin-like growth factor-1 (IGF-1) in rat colonic smooth muscle cells (SMCs).

METHODS: Rat colonic SMCs were separated, cultured, identified by immunofluorescence staining of α -actin, and divided into three groups: normal glucose group (5.5 mmol/L glucose), mannitol control group (5.5 mmol/L glucose plus 19.5

mmol/L mannitol) and high glucose group (25 mmol/L glucose). After treatment, cell proliferation was determined using Cell Counting Kit-8, and cell cycle analysis was performed by flow cytometry. ELISA was designed to measure the content of IGF-I in SMCs culture supernatants. Real-time quantitative-PCR and Western blotting were performed to analyze the mRNA and protein expression of IGF-1 in SMCs.

RESULTS: Compared to the normal glucose group, treatment with high glucose significantly inhibited the proliferation of rat colonic SMCs (0.494 ± 0.0030 vs 0.597 ± 0.044 , $P < 0.05$), resulted in cell accumulation in the G1 phase ($90.850\% \pm 0.706\%$ vs $55.202\% \pm 3.807\%$, $P < 0.05$) and a significant decrease in the percentage of cells in the S phase ($3.622\% \pm 0.156\%$ vs $30.780\% \pm 3.808\%$, $P < 0.05$), and decreased the content of IGF-I in SMCs culture supernatants (208.000 ng/L ± 31.443 ng/L vs 265.750 ng/L ± 26.538 ng/L, $P < 0.05$) and the expression of IGF-I mRNA and protein (2.037 ± 0.196 vs 2.257 ± 0.273 ; 0.247 ± 0.045 vs 0.906 ± 0.103 , both $P < 0.05$). However, there were no significant differences in the above parameters between the normal glucose group and mannitol control group.

CONCLUSION: High glucose inhibits the proliferation of rat colonic SMCs and decreases the expression of endogenous IGF-1 in SMCs.

Key Words: High glucose; Smooth muscle cell; Cell cycle; Insulin-like growth factor-1

Xu XY, Wang Y, Yang WW, Lin L. High glucose down-regulates the expression of endogenous insulin-like growth factor-1 in rat colonic smooth muscle cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(12): 998-1003

摘要

目的: 探讨高糖对大鼠结肠平滑肌细胞(SMCs)表达内源性胰岛素样生长因子1(IGF-1)的影响。

方法: 酶解法分离培养SD大鼠结肠SMCs, α -actin免疫荧光鉴定, 然后将大鼠结肠SMCs

■同行评议者

洪天配, 教授, 北京大学第三医院内分泌科

随机给予葡萄糖不同浓度(5.5 mmol/L和25 mmol/L)组及甘露醇对照组(5.5 mmol/L葡萄糖+19.5 mmol/L甘露醇)刺激, CCK8实验检测SMCs增殖情况; 流式细胞术检测SMCs细胞周期; ELISA检测培养液上清中IGF-1的含量; Western blot、Real-time PCR法检测SMCs合成内源性IGF-1的表达变化。

结果: 高糖(25 mmol/L)抑制大鼠结肠SMCs的增殖, 在24 h与正常糖浓度间差异最大(0.494 ± 0.003 vs 0.597 ± 0.044 , $P < 0.05$); 高糖使约90%的结肠SMCs停滞在G₁期($90.850\% \pm 0.706\%$ vs $55.202\% \pm 3.807\%$, $P < 0.05$), 进入S期的SMCs明显减少($3.622\% \pm 0.156\%$ vs $30.780\% \pm 3.808\%$, $P < 0.05$); 高糖环境中, 结肠SMCs合成分泌的IGF-1减少(208.000 ng/L ± 31.443 ng/L vs 265.750 ng/L ± 26.538 ng/L, $P < 0.05$), SMCs表达内源性的IGF-1 mRNA和蛋白也均减少(2.037 ± 0.196 vs 2.257 ± 0.273 ; 0.247 ± 0.045 vs 0.906 ± 0.103 , $P < 0.05$)。

结论: 高糖抑制大鼠结肠SMCs增殖, 使SMCs内源性IGF-1表达减少。

关键词: 高糖; 结肠平滑肌细胞; 细胞周期; 胰岛素样生长因子1

徐新寓, 王云, 杨微微, 林琳. 高糖对大鼠结肠平滑肌细胞表达内源性胰岛素样生长因子1的影响. 世界华人消化杂志 2012; 20(12): 998-1003
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/998.asp>

0 引言

糖尿病胃肠动力障碍是糖尿病(diabetes mellitus, DM)的慢性并发症之一, 发生于30%-50%的糖尿病患者^[1,2]。DM胃肠动力障碍不仅使患者出现诸多胃肠症状, 且使患者血糖更加难以控制, 严重影响患者生存质量, 并带来沉重的经济负担^[3,4]。目前有学者认为DM胃肠动力障碍是一种胃肠道神经肌肉的营养障碍, 而非单纯的“功能性”障碍。其发病与胃肠自主神经、Cajal间质细胞(interstitial cells of Cajal, ICC)及平滑肌细胞(smooth muscle cells, SMCs)病变有关, 而营养因子缺乏在细胞损伤中亦有不可或缺的作用^[5,6]。胰岛素样生长因子1(insulin-like growth factor 1, IGF-1)是胃肠道SMCs生长、增殖、分化的重要营养因子, 对胃肠道起搏细胞ICC亦具有保护作用。有研究证实该病与胃肠道IGF-1信号的缺乏密切相关^[6-8]。本文旨在探讨高糖是否影响结肠SMCs表达内源性的IGF-1, 为进一步探讨糖尿病

胃肠动力障碍的相关机制提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料 SD大鼠, 雌雄不拘, 体质量150-200 g, 由南京医科大学医学实验动物中心提供。低糖/高糖DMEM培养液(Gibco, USA)、甘露醇(Amresco)、胎牛血清(Gibco, USA)、II型胶原酶(Sigma)、大豆胰蛋白酶抑制剂(Gibco, USA)、青链霉素混悬液(Gibco, USA)、 α -actin抗体(北京博奥森), Cell Counting Kit-8(CCK-8试剂盒, 碧云天)、PI/RNase Staining Buffer(BD Pharmingen, USA)、IGF-1抗体(ab36532; Abcam, Cambridge, MA)、Quantikine Mouse/Rat IGF-I Immunoassay(R&D, UK)。

1.2 方法 IGF-1引物由Invitrogen公司合成, 序列参照文献[9,10]。

1.2.1 结肠SMCs的分离和培养^[11-13]: SD大鼠以10%水合氯醛腹腔麻醉后, 快速自肛门上2 cm取结肠10 cm左右, 用含抗生素的Hepes-Ringer缓冲液反复冲洗, 去除黏膜层和浆膜层。将平滑肌组织剪碎, 置入消化液(0.1%的II型胶原酶和0.01%的大豆胰蛋白酶抑制剂)中消化、离心, DMEM培养液重悬细胞, 过筛; 于950 mL/L O₂和50 mL/L CO₂, 37 °C孵育箱中培养, SMCs长至致密单层时, 传代培养。采用第2代SMCs进行实验。

1.2.2 结肠SMCs的鉴定^[11-13]: 取对数生长期的SMCs, 胰蛋白酶消化, 制成单细胞悬液; 将SMCs接种到放置载玻片的培养皿中, 置CO₂孵育箱中培养1-3 d待SMCs长至单层时, 取出载玻片。PBS冲洗、丙酮固定, 3% H₂O₂阻断内源性过氧化物酶; 滴加 α -actin一抗(1:100), 4 °C过夜, PBS冲洗, 滴加罗丹明标记的羊抗兔IgG二抗, 室温避光湿盒中孵育1 h, PBS冲洗, 滴加Hoechst染核, PBS冲洗、封片, 观察特异性荧光。

1.2.3 分组与处理: 将 2.5×10^8 /L的SMCs接种于含100 mL/L胎牛血清的DMEM培养液中培养至70%融和后, PBS洗涤, 加入含2.5 mL/L胎牛血清的培养基饥饿24 h。分别给予正常糖浓度组(5.5 mmol/L葡萄糖)、甘露醇高渗对照组(5.5 mmol/L葡萄糖+19.5 mmol/L甘露醇)和高糖浓度组(25 mmol/L)的培养液刺激。

1.2.4 CCK8实验检测细胞增殖情况: 收集对数期细胞, 调整细胞悬液浓度为5 000个细胞/100 μ L, 接种于96孔板, 入CO₂孵育箱培养过夜后显微镜下观察细胞单层铺盖满孔的60%, 给予含2.5 mL/L胎

■ 研发前沿

糖尿病胃肠动力障碍时可发生平滑肌萎缩、纤维化, 但平滑肌细胞病变在糖尿病胃肠动力障碍机制中的作用仍不清楚。

■相关报道

Kuemmerle等学者发现胃肠平滑肌合成内源性IGF-1; Horvath等发现IGF-1促进胃肠平滑肌细胞合成干细胞因子(SCF), 以保护胃肠起搏细胞ICC.

牛血清的培养液饥饿24 h, 给予3种不同的培养液刺激, 收集不同时间点的细胞; 每孔加入10 μ L的CCK8溶液, 在培养箱内继续孵育1 h, 450 nm测定吸光度(A)值.

1.2.5 流式细胞术检测细胞周期: 将3组不同培养液处理的SMCs培养24 h, 胰酶消化收集细胞, 冰PBS洗2遍, 弃上清, 加入1 mL 70%预冷乙醇中, 吹打均匀, 4 $^{\circ}$ C固定过夜; 固定好的细胞离心, 弃上清, PBS洗2遍; 1 mL PBS重悬细胞后过滤, 离心弃上清后, 加入PI/RNase至终浓度50 g/L, 避光染色至少30 min, 上机检测.

1.2.6 ELISA法检测培养液上清中IGF-1的浓度: 收集不同组细胞培养液, 离心取上清, 加1:2稀释的待检样品100 μ L于上述已包被的反应孔中, 室温孵育2 h(同时做空白孔和标准孔); 洗涤5次后每孔加酶标抗体100 μ L, 室温孵育2 h; 洗涤5次后每孔加底物显色液100 μ L, 室温避光显色30 min; 每孔加入100 μ L的终止液终止反应, 在450 nm波长下读板.

1.2.7 Real-time PCR检测IGF-1 mRNA表达: 按TRIzol试剂提取各组细胞的总mRNA, 以cDNA为模板进行PCR扩增. PCR的反应条件: 95 $^{\circ}$ C预变性30 s; 95 $^{\circ}$ C退火5 s, 60 $^{\circ}$ C延伸30 s, 共循环40次. IGF-1上游引物: 5'-GGCATTGTG-GATGAGTGTG-3'; 下游引物: 5'-GTCTT-GGGCATGTCAGTGTG-3'. 18 S RNA上游引物: 5'-GGCATCGTTTATGGTCGGAAC-3'; 下游引物: 5'-GCGAAAGCATTGCGCAAGAA-3'.

1.2.8 Western blot法检测IGF-1蛋白表达: 蛋白裂解液提取各组细胞蛋白, BCA法测定蛋白浓度. 120 μ g蛋白/泳道加样, 恒流30 mA电泳, 恒压100 V转膜45 min, 封闭2 h. 加入IGF-1一抗(1:100), 4 $^{\circ}$ C过夜; 二抗(1:10 000), 37 $^{\circ}$ C孵育, 曝光、显影.

统计学处理 所有数据录入SPSS13.0软件包分析, 以mean \pm SD表示, 采用成组t检验, $P<0.05$ 为有显著性差异.

2 结果

2.1 不同浓度葡萄糖对大鼠结肠SMCs增殖的影响 与正常糖浓度组相比, 从12 h起高糖(25 mmol/L)在各时间点(24、48、72、96 h)均可抑制大鼠结肠SMCs的增殖, 差异有统计学意义(0.420 ± 0.025 vs 0.527 ± 0.069 ; 0.494 ± 0.003 vs 0.597 ± 0.044 ; 0.540 ± 0.024 vs 0.634 ± 0.049 ; 0.509 ± 0.118 vs 0.568 ± 0.008 ; 0.463

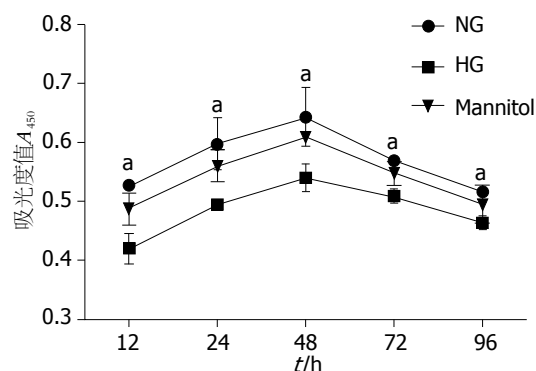


图1 不同浓度葡萄糖对大鼠结肠SMCs增殖的影响. NG: 正常糖浓度组; HG: 高糖浓度组; Mannitol: 甘露醇对照组. $^aP<0.05$ vs NG.

±0.109 vs 0.516 ± 0.008 , $P<0.05$), 在24 h两者间差异最为显著; 因此选用不同浓度葡萄糖培养第24小时的SMCs进行后续试验. 甘露醇对照组与正常糖浓度组比, 结肠SMCs增殖无差异($P>0.05$, 图1).

2.2 不同浓度葡萄糖对大鼠结肠SMCs细胞周期的影响 与正常糖浓度组相比, 高糖(25 mmol/L)使约90%的SMCs停滞在G1期($90.850\%\pm0.706\%$ vs $55.202\%\pm3.807\%$, $P<0.05$), S期细胞明显减少($3.622\%\pm0.156\%$ vs $30.780\%\pm3.808\%$, $P<0.05$), 提示高糖抑制SMCs进入S期; 而甘露醇对照组与正常糖浓度组比, 结肠SMCs的细胞周期变化无差异($P>0.05$, 表1).

2.3 不同浓度葡萄糖对大鼠结肠SMCs培养液上清中IGF-1含量的影响 与正常糖浓度组相比, 高糖(25 mmol/L)环境下, SMCs合成分泌IGF-1明显减少(208.000 ng/L \pm 31.443 ng/L vs 265.750 ng/L \pm 26.538 ng/L, $P<0.05$), 而甘露醇对照组与正常糖浓度组比, SMCs合成分泌的IGF-1无差异(247.000 ng/L \pm 36.833 ng/L vs 265.750 ng/L \pm 26.538 ng/L, $P>0.05$, 表2).

2.4 不同浓度葡萄糖对大鼠结肠SMCs表达内源性IGF-1 mRNA的影响 高糖(25 mmol/L)可抑制内源性IGF-1 mRNA的表达(2.037 ± 0.196 vs 2.257 ± 0.273 , $P<0.05$); 而甘露醇对照组与正常糖浓度组比, SMCs表达内源性IGF-1mRNA无差异($P>0.05$, 图2A).

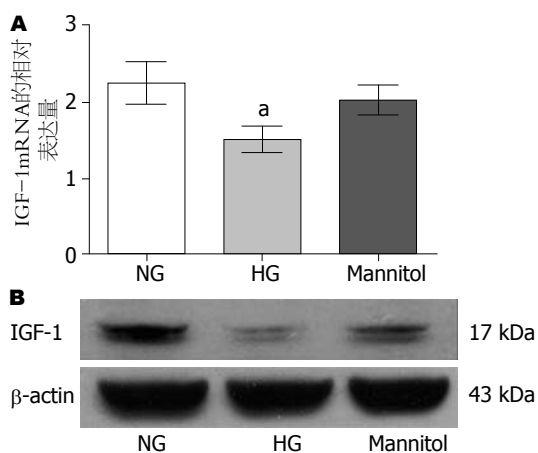
2.5 不同浓度葡萄糖对大鼠结肠SMCs表达内源性IGF-1蛋白的影响 Western blot结果与Real-time PCR结果一致, 即高糖(25 mmol/L)抑制内源性IGF-1蛋白的表达(0.247 ± 0.045 vs 0.906 ± 0.103 , $P<0.05$); 而甘露醇对照组与正常糖浓度组比, SMCs表达内源性IGF-1蛋白无差异($P>0.05$, 图2B).

表 1 不同浓度葡萄糖对大鼠结肠SMCs细胞周期的影响 (% , mean \pm SD)

分组	G0/1	S	G2/M
正常糖浓度组	55.202 \pm 3.807	30.780 \pm 3.808	13.918 \pm 1.112
甘露醇对照组	53.232 \pm 4.110	26.753 \pm 5.541	12.837 \pm 0.849
高糖浓度组	90.850 \pm 0.706 ^a	3.622 \pm 0.156 ^a	5.530 \pm 0.597 ^a

^a $P < 0.05$ vs 正常糖浓度组.表 2 不同浓度葡萄糖对大鼠结肠SMC培养液上清中IGF-1含量的影响 ($n = 3$, mean \pm SD)

分组	IGF-1浓度(ng/L)
正常糖浓度组	265.750 \pm 26.538
甘露醇对照组	247.000 \pm 36.833
高糖浓度组	208.000 \pm 31.443 ^a

^a $P < 0.05$ vs 正常糖浓度组.图 2 不同浓度葡萄糖对大鼠结肠SMCs表达内源性IGF-1的影响. A: IGF-1 mRNA; B: IGF-1蛋白. NG: 正常糖浓度组; HG: 高糖浓度组; Mannitol: 甘露醇对照组. ^a $P < 0.05$ vs NG.

3 讨论

DM胃肠动力障碍临床上主要表现为胃肠排空延迟^[14-16]. 有研究报道: 在病程长、血糖控制差的糖尿病患者^[17,18]及某些糖尿病动物模型^[8,19]的胃组织标本中发现平滑肌萎缩、纤维增生, SMCs超微结构破坏, 出现凋亡甚至坏死的现象. 然而在链脲霉素(streptozotocin, STZ)诱导的糖尿病大鼠^[20,21]和NOD小鼠^[22]中均发现有结肠SMCs肥大的现象. 是由于长期高糖作用, 还是其他因素导致胃肠平滑肌病变尚不明确. 因此, 本文探讨了高糖对体外培养大鼠结肠SMCs的直接作用. 本实验证实高糖可减少SMCs的DNA复制, 抑制结肠SMCs的增殖. 高糖是否促进大鼠结肠SMCs的凋亡, 尚需进一步研究.

■应用要点

本研究提示高糖影响大鼠结肠平滑肌细胞合成内源性IGF-1, 可能是糖尿病时胃肠局部营养因子缺乏的原因之一, 为临床治疗糖尿病胃肠动力障碍提供治疗靶点.

IGF-1是体内重要的生长因子, 可在机体的多数组织中表达, 通过内分泌、旁分泌、自分泌的途径发挥生物学作用^[23]. 在胃肠道, IGF-1可刺激肠上皮细胞、成纤维细胞、胃肠SMCs增殖, 且相比于血循环中的IGF-1, 由胃肠局部合成分泌的内源性IGF-1可能对肠道SMCs生长、分化及胃肠起搏细胞ICC体积的维持发挥更重要的作用^[24,25], 因为: (1)转基因小鼠模型中, 肠道局部过表达的IGF-1能促进小肠SMCs增生^[26,27]; (2)特异性敲除肝源性IGF-1的小鼠, 肠道局部IGF-1仍可刺激SMCs生长发育^[28]; (3)内源性IGF-1可促进体外培养的人肠道SMCs增殖, 抑制其凋亡^[24,29]; (4)在血糖正常的小鼠, 发现使其胃肠道局部IGF-1的合成减少可使胃肠起搏细胞ICC的体积明显下降^[6]. 本实验证实高糖使大鼠结肠SMCs内源性的IGF-1 mRNA表达减少, 且合成分泌的IGF-1蛋白亦减少. 我们推测: 糖尿病时, 可能由于高糖抑制胃肠道SMCs合成内源性IGF-1, 因而SMCs增殖受抑制.

在胃肠道中, ICC、肠神经元和SMCs构成“功能元件”, 共同调节胃肠道的生理功能^[30,31]. ICC作为胃肠道的起搏细胞, 对胃肠道的动力调节起主导作用^[32]. 而维持ICC成熟表型所需的干细胞生长因子(stem cell factor, SCF)主要来自SMCs. Horváth等^[7,8]在DM胃轻瘫小鼠的研究中发现: DM时IGF-1信号减弱, 导致SMCs萎缩, SCF表达减低, 从而使ICC数量缺失及功能障碍, 使小鼠出现胃轻瘫症状. 我们的前期实验亦证实: 体外培养大鼠胃窦、结肠SMCs, 给予外源性IGF-1, 可促进SMCs增殖和SCF表达^[33,34]. 因此IGF-1可能通过促进胃肠SMCs生长、抑制其凋亡、诱导其表达SCF而对ICC起保护作用, 因此在糖尿病胃肠动力障碍中, 高糖可能作为上游影响因子, 抑制SMCs合成分泌IGF-1, 进而导致SCF表达减少、ICC功能及网络结构受损.

总之, 本实验初步证实了高糖可抑制结肠SMCs增殖, 减少结肠SMCs表达内源性的IGF-1, 为进一步探讨DM胃肠动力障碍相关机制提供

同行评价

本研究论点新颖, 为探索糖尿病胃肠动力障碍、平滑肌病变提供了新思路。

了新的依据, 也为DM胃肠动力障碍的治疗拓展了新的思路。但是高糖是否通过影响结肠SMCs内源性IGF-1的表达, 进一步影响SMCs内SCF的合成, 从而导致ICC的受损; 以及高糖是如何影响结肠SMCs内源性IGF-1的表达, 是否与IGF-1相关信号通路有关, 有待进一步研究。

参考文献

- Icks A, Haastert B, Rathmann W, Wareham N. Prevalence of gastrointestinal symptoms in patients with type 2 diabetes: a population-based study. *Arch Intern Med* 2002; 162: 1067-109; author reply 1069
- Wang YR, Fisher RS, Parkman HP. Gastroparesis-related hospitalizations in the United States: trends, characteristics, and outcomes, 1995-2004. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 313-322
- Gautam A, Baluch A, Kaye AD, Frost EA. Modern strategies for the anesthetic management of the patient with diabetes. *Middle East J Anesthesiol* 2009; 20: 187-197
- Simmons RK, Unwin N, Griffin SJ. International Diabetes Federation: An update of the evidence concerning the prevention of type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2010; 87: 143-149
- Vittal H, Farrugia G, Gomez G, Pasricha PJ. Mechanisms of disease: the pathological basis of gastroparesis--a review of experimental and clinical studies. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2007; 4: 336-346
- Ordög T, Hayashi Y, Gibbons SJ. Cellular pathogenesis of diabetic gastroenteropathy. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2009; 55: 315-343
- Horváth VJ, Vittal H, Ordög T. Reduced insulin and IGF-I signaling, not hyperglycemia, underlies the diabetes-associated depletion of interstitial cells of Cajal in the murine stomach. *Diabetes* 2005; 54: 1528-1533
- Horváth VJ, Vittal H, Lörincz A, Chen H, Almeida-Porada G, Redelman D, Ordög T. Reduced stem cell factor links smooth myopathy and loss of interstitial cells of cajal in murine diabetic gastroparesis. *Gastroenterology* 2006; 130: 759-770
- Hamzeh M, Robaire B. Identification of early response genes and pathway activated by androgens in the initial segment and caput regions of the regressed rat epididymis. *Endocrinology* 2010; 151: 4504-4514
- Shynlova O, Tsui P, Dorogin A, Langille BL, Lye SJ. Insulin-like growth factors and their binding proteins define specific phases of myometrial differentiation during pregnancy in the rat. *Biol Reprod* 2007; 76: 571-578
- 袁玉丰, 余盈娟, 林琳. ERK1/2 siRNA干扰质粒对IGF-1诱导结肠平滑肌细胞产生干细胞因子的影响. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 575-580
- 余盈娟, 袁玉丰, 林琳. 胰岛素对结肠平滑肌细胞增殖及其表达干细胞因子的影响. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 674-679
- 余盈娟, 袁玉丰, 林琳. 胰岛素促进结肠平滑肌细胞合成干细胞因子的信号转导途径. *中华消化杂志* 2011; 31: 681-685
- Tang DM, Friedenberg FK. Gastroparesis: approach, diagnostic evaluation, and management. *Dis Mon* 2011; 57: 74-101
- Parkman HP, Hasler WL, Fisher RS. American Gastroenterological Association technical review on the diagnosis and treatment of gastroparesis. *Gastroenterology* 2004; 127: 1592-1622
- Friedenberg FK, Parkman HP. Advances in the management of gastroparesis. *Curr Treat Options Gastroenterol* 2007; 10: 283-293
- Pasricha PJ, Pehlivanov ND, Gomez G, Vittal H, Lurken MS, Farrugia G. Changes in the gastric enteric nervous system and muscle: a case report on two patients with diabetic gastroparesis. *BMC Gastroenterol* 2008; 8: 21
- Moscato GJ, Driver M, Guy RJ. A form of necrobiosis and atrophy of smooth muscle in diabetic gastric autonomic neuropathy. *Pathol Res Pract* 1986; 181: 188-194
- Diani AR, Gerritsen GC, Stromsta S, Murray P. A study of the morphological changes in the small intestine of the spontaneously diabetic Chinese hamster. *Diabetologia* 1976; 12: 101-109
- Forrest A, Parsons M. The enhanced spontaneous activity of the diabetic colon is not the consequence of impaired inhibitory control mechanisms. *Auton Autacoid Pharmacol* 2003; 23: 149-158
- Forrest A, Huizinga JD, Wang XY, Liu LW, Parsons M. Increase in stretch-induced rhythmic motor activity in the diabetic rat colon is associated with loss of ICC of the submuscular plexus. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 294: G315-G326
- Ordog T, Irwin N, Takayama I, Ward SM, Sanders KM. Depletion of interstitial cells of Cajal and electrical abnormalities in a murine model of diabetic colon dysfunction. *Neurogastroenterol Motil* 2004; 16: 664
- Ohlsson C, Mohan S, Sjögren K, Tivesten A, Isgaard J, Isaksson O, Jansson JO, Svensson J. The role of liver-derived insulin-like growth factor-I. *Endocr Rev* 2009; 30: 494-535
- Kuemmerle JF. Endogenous IGF-I protects human intestinal smooth muscle cells from apoptosis by regulation of GSK-3 beta activity. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 288: G101-G110
- Flynn RS, Murthy KS, Grider JR, Kellum JM, Kuemmerle JF. Endogenous IGF-I and alphaVbeta3 integrin ligands regulate increased smooth muscle hyperplasia in stricturing Crohn's disease. *Gastroenterology* 2010; 138: 285-293
- Wang J, Niu W, Nikiforov Y, Naito S, Chernauek S, Witte D, LeRoith D, Strauch A, Fagin JA. Targeted overexpression of IGF-I evokes distinct patterns of organ remodeling in smooth muscle cell tissue beds of transgenic mice. *J Clin Invest* 1997; 100: 1425-1439
- Ohneda K, Ulshen MH, Fuller CR, D'Ercole AJ, Lund PK. Enhanced growth of small bowel in transgenic mice expressing human insulin-like growth factor I. *Gastroenterology* 1997; 112: 444-454
- Sjögren K, Liu JL, Blad K, Skrtic S, Vidal O, Wallenius V, LeRoith D, Törnelli J, Isaksson OG, Jansson JO, Ohlsson C. Liver-derived insulin-like growth factor I (IGF-I) is the principal source of IGF-I in blood but is not required for postnatal body growth in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 7088-7092
- Kuemmerle JF. Autocrine regulation of growth in cultured human intestinal muscle by growth factors. *Gastroenterology* 1997; 113: 817-824
- Kito Y, Ward SM, Sanders KM. Pacemaker potentials generated by interstitial cells of Cajal in the murine intestine. *Am J Physiol Cell Physiol* 2005; 288:

- C710-C720
- 31 Wang XY, Sanders KM, Ward SM. Intimate relationship between interstitial cells of cajal and enteric nerves in the guinea-pig small intestine. *Cell Tissue Res* 1999; 295: 247-256
- 32 Sanders KM, Koh SD, Ward SM. Interstitial cells of cajal as pacemakers in the gastrointestinal tract. *Annu Rev Physiol* 2006; 68: 307-343
- 33 宁月季, 张蔚, 成家飞, 李学良, 王美峰, 林琳. 胰岛素样生长因子1对大鼠结肠平滑肌细胞中干细胞因子表达的影响. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 3502-3506
- 34 宁月季, 张蔚, 李慧, 成家飞, 李学良, 林琳. 胰岛素样生长因子 I 对结肠平滑肌细胞产生干细胞因子的调控. *中华消化杂志* 2010; 30: 241-245

编辑 张姗姗 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

本刊讯 为了保证作者来稿及时发表, 同时保护作者与世界华人消化杂志的合法权益, 本刊对修回稿要求如下.

1 修回稿信件

来稿包括所有作者签名的作者投稿函. 内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该文代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版版权转让给本刊编辑部.

2 稿件修改

来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见寄回给作者修改, 而作者必须于15 d内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料寄回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回的, 作重新投稿处理.

3 版权

本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期); 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有. 编辑部可将文章在《中国学术期刊光盘版》等媒体上长期发布; 作者允许该文章被美国《化学文摘》、《荷兰医学文摘库/医学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》、《中国生物学文摘》等国内外相关文摘与检索系统收录.