

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2016 年 2 月 28 日 第 24 卷 第 6 期 (Volume 24 Number 6)



6/2016

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. 本刊被中国知网《中国期刊全文数据库》, 美国《化学文摘 (Chemical Abstracts, CA)》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘 (EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志 (Abstract Journal, AJ)》数据库收录.



述评

- 827 胶质细胞源性神经营养因子在肠道炎性疾病中作用的研究进展
吴志平, 张德奎
- 833 超声内镜在消化系统疾病介入诊断和治疗研究的新进展
沈妍华, 刘爱群

基础研究

- 842 蓝莓对非酒精性脂肪性肝病大鼠Bcl-2、Bax表达的影响
禹萍, 任婷婷, 程明亮, 赵旦博
- 851 丁酸钠在大鼠肠缺血/再灌注小肠损伤中的作用
唐富波, 张文华, 李雨梦, 胡森, 白晓东
- 858 叶黄素介导Nrf-2/ARE信号途径抑制人结肠癌HT29细胞增殖的作用机制
刘志方, 吴凤秀, 王丽平, 王明臣, 付蕾

临床研究

- 866 miR-409-3b通过下调表皮生长因子蛋白7抑制胃癌侵袭和转移的分子机制
计钰亮, 朱建华, 杨君寅

文献综述

- 873 非生物型人工肝治疗重型肝炎的常见问题及护理对策
罗玲, 张运芝, 袁春兰, 蒋祖利
- 879 胆石症诊疗的荟萃分析进展
邹怡新, 余德才
- 886 功能性消化不良平滑肌舒缩障碍中G蛋白偶联信号转导机制的研究进展
尹晓岚, 唐旭东, 王凤云, 陈婷, 吕林, 马祥雪, 田亚欣
- 894 炎症性肠病肠外临床表现及对应治疗策略的研究进展
张夏璐, 李冶夫, 周平
- 902 粪便标志物在炎症性肠病中的应用进展
朱秀丽, 王巧民

研究快报

- 909 去甲肾上腺素各受体亚型在非酒精性脂肪肝大鼠肝组织的表达
刘娜, 穆华, 郑吉敏, 梁传栋

- 915 利用微阵列芯片技术探究基因
- $FOXQ1$
- 与大肠癌的关系

郑极, 唐慧, 白璇, 岳柯琳, 郭强

临床经验

- 923 放疗在 I E/II E期胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤中的预后价值评价

张廷友, 牛绍青, 张玉晶

- 928 miR-638在胃癌中的表达及其临床意义

黄诗良, 叶桦, 唐有为, 邬丽娜, 郭雯莹, 沈晓伶, 董显文, 张谢

- 933 肝硬化门静脉高压患者B超与胃镜特点相关性分析76例

马琳, 梁陶媛, 张晓

- 938 血管加压素V2受体拮抗剂托伐普坦治疗肝硬化并低钠血症和肝性水肿的系统评价

郭皓, 吴利娟, 金哲, 李小珍, 金建军

- 947 胃液回输对住院ICU患者肠内营养支持效果的影响

王红玉, 晏东波, 刘威威, 段美玲

- 952 广西基层医生功能性胃肠病知识的知晓情况

何宛蓉, 张法灿, 梁列新, 吴柏瑶, 李任富

- 957 结肠息肉临床病理特点分析313例

何洁瑶, 胡以恒, 胡梦成, 洪嘉雯, 张军

- 962 粪便中钙卫蛋白水平对溃疡性结肠炎患者疾病严重程度和复发的评估价值

林松挺

- 967 细致化护理在老年消化系统肿瘤护理中的应用

夏华琴, 章建芳, 沈彩芳

- 972 微创外科疾病谱规律

刘成远, 张豫峰

- 978 国内外肛瘘诊疗现状的对比与启示

陈豪, 冷强, 金黑鹰, 章蓓

病例报告

- 983 胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤1例

谢俏, 魏晟, 董丽凤, 蔡辉

附录

I - V 《世界华人消化杂志》投稿须知

I 2016年国内国际会议预告

志谢

I - II 志谢《世界华人消化杂志》编委

消 息

- 841 《世界华人消化杂志》栏目设置
850 《世界华人消化杂志》参考文献要求
865 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费
872 《世界华人消化杂志》修回稿须知
885 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
951 《世界华人消化杂志》正文要求
971 《世界华人消化杂志》消化护理学领域征稿启事
982 《世界华人消化杂志》外文字符标准

封面故事

《世界华人消化杂志》编委, 张德奎, 教授, 主任医师, 博士生导师, 730030, 甘肃省兰州市城关区萃英门82号, 兰州大学第二医院消化二科. 现任消化二科与食道胃病亚科主任、科技处副处长等多项职务, 为甘肃省卫生厅领军人才, 国家自然科学基金函评专家, 科技部专家库专家. 主要研究方向为肠神经系统在炎症性肠病中作用及机制、消化系统肿瘤侵袭转移的分子机制及消化疾病微创治疗. 其中, 对肠神经系统与炎症性肠病关系的研究在国内处于领先地位, 集中在肠神经胶质细胞(EGC)对肠黏膜屏障作用, EGC对UC相关结肠癌作用, EGC中GDNF自分泌环路作用等研究. 现为《中国现代医学杂志》等国内多种期刊的编委及审稿专家. 主持国家及省自然科学基金面上项目共4项, 省卫生行业基金1项, 参与国家科技惠民项目1项, 共计课题10余项, 在*J path*等国内外刊物发表文章40余篇.

本期责任人

编务 李香; 送审编辑 闫晋利, 都珍珍; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏;
形式规范审核编辑部主任 郭鹏; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2016-02-28

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

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

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

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

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

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

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

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

王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

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

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

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑部

郭鹏, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

手机: 13901166126

传真: 010-85381893

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

8226 Regency Drive, Pleasanton,

CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被中国知网《中国期刊全文数据库》, 美国《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》, 荷兰《医学文摘/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》数据库收录.

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

特别声明

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

定价

每期90.67元 全年36期3264.00元

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有

Contents

Volume 24 Number 6 February 28, 2016

EDITORIAL

- 827 Role of glial cell line-derived neurotrophic factor in intestinal inflammatory diseases
Wu ZP, Zhang DK
- 833 Endoscopic ultrasonography in interventional diagnosis and treatment of digestive diseases
Shen YH, Liu AQ

BASIC RESEARCH

- 842 Effect of blueberry on expression of Bcl-2 and Bax in non-alcoholic fatty liver disease in mice
Yu P, Ren TT, Cheng ML, Zhao DB
- 851 Effect of sodium butyrate on small intestinal injury following intestinal ischemia-reperfusion in rats
Tang FB, Zhang WH, Li YM, Hu S, Bai XD
- 858 Lutein suppresses cell proliferation in human colon cancer cell line HT29 via Nrf-2/ARE signal transduction pathway
Liu ZF, Wu FX, Wang LP, Wang MC, Fu L

CLINICAL RESEARCH

- 866 miR-409-3b inhibits invasion and metastasis of gastric cancer by downregulating EGFL7 protein expression
Ji YL, Zhu JH, Yang JY

REVIEW

- 873 Non-bioartificial liver support system for treating patients with severe hepatitis: Common problems and nursing countermeasures
Luo L, Zhang YZ, Yuan CL, Jiang ZL
- 879 Diagnosis and treatment of cholelithiasis: A review based on meta-analyses
Zou YX, Yu DC
- 886 G protein coupled signal transduction mechanisms in malfunction of smooth muscle relaxation and contraction in functional dyspepsia
Yin XL, Tang XD, Wang FY, Chen T, Lv L, Ma XX, Tian YX
- 894 Extraintestinal manifestations of inflammatory bowel disease and their treatment strategies
Zhang XL, Li YF, Zhou P
- 902 Application of fecal markers in inflammatory bowel disease
Zhu XL, Wang QM

RAPID COMMUNICATION

- 909 Expression of α -adrenergic receptor (AR), β_1 -AR and β_2 -AR in liver tissue of nonalcoholic fatty liver disease rats
Liu N, Mu H, Zheng JM, Liang CD
- 915 Exploring relationship between *FOXQ1* gene and colorectal cancer using microarray technology
Zheng J, Tang H, Bai X, Yue KL, Guo Q

CLINICAL PRACTICE

- 923 Effect of radiotherapy on prognosis of stage I E/II E gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma
Zhang TY, Niu SQ, Zhang YJ
- 928 Clinical significance of expression of miR-638 in gastric carcinoma
Huang SL, Ye H, Tang YW, Wu LN, Guo WY, Shen XL, Dong XW, Zhang X
- 933 Correlations between ultrasonographic and gastroscopic findings of portal hypertension in patients with liver cirrhosis
Ma L, Liang TY, Zhang X
- 938 Vasopressin V2-receptor antagonist tolvaptan for treating cirrhotic patients with hyponatremia and hepatic edema: A systemic review
Guo H, Wu LJ, Jin Z, Li XZ, Jin JJ
- 947 Influence of gastric fluid reinfusion on enteral nutrition support in intensive care unit patients
Wang HY, Yan DB, Liu WW, Duan ML
- 952 Awareness of functional gastrointestinal disorders among primary hospital doctors in Guangxi
He WR, Zhang FC, Liang LX, Wu BY, Li RF
- 957 Clinical and pathologic features of colorectal polyps: Analysis of 313 cases
He JY, Hu YH, Hu MC, Hong JW, Zhang J
- 962 Role of fecal calprotectin in evaluation of disease activity and recurrence of ulcerative colitis
Lin ST
- 967 Application of meticulous nursing care in elderly patients with gastrointestinal tumors
Xia HQ, Zhang JF, Shen CF
- 972 Spectrum of diseases encountered in minimally invasive surgery department
Liu CY, Zhang YF
- 978 Current situation of diagnosis and treatment of anal fistula: Comparison between China and other countries
Chen H, Leng Q, Jin HY, Zhang B

CASE REPORT

- 983 Gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma: A case report
Xie Q, Wei S, Dong LF, Cai H

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 24 Number 6 February 28, 2016

APPENDIX

I – V Instructions to authors
I Calendar of meetings and events in 2016

ACKNOWLEDGMENT

I – II Acknowledgments to reviewers for the *World Chinese Journal of Digestology*

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, De-Kui Zhang, Professor, Chief Physician, Second Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Lanzhou University, 82 Cuiyingmen, Chengguan District, Lanzhou 730030, Gansu Province, China

Indexed/Abstracted by

Chinese Journal Full-text Database, Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, and Abstract Journals.

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Xiang Li* Review Editor: *Jin-Li Yan, Zhen-Zhen Du* Electronic Editor: *Jin-Li Yan*
English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Peng Guo* Proof Editor: *Peng Guo*
Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date February 28, 2016

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

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

EDITOR-IN-CHIEF

Ying-Sheng Cheng, Professor, Department of Radiology, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China

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

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

Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

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

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

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

Jun-Ping Wang, Professor, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

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

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

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

EDITORIAL OFFICE

Peng Guo, Director
World Chinese Journal of Digestology
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-59080035 13901166126
Fax: +86-10-85381893
E-mail: wjcd@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc
8226 Regency Drive, Pleasanton, CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-85381892
Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 90.67 Yuan for each issue
RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2016 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 www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp. If you do not have web access, please contact the editorial office.

miR-409-3b通过下调表皮生长因子蛋白7抑制胃癌侵袭和转移的分子机制

计钰亮, 朱建华, 杨君寅

■背景资料

胃癌是人类最常见的恶性肿瘤之一, 大多数新诊断的胃癌患者已表现为转移性疾病, 这使得对胃癌的治疗仍然是肿瘤学中的重要难题之一。表皮生长因子蛋白7(epidermal growth factor-like domain-containing protein 7, EGFL7)可明显增强细胞运动迁移能力, 是重要的运动刺激因子和肿瘤转移相关因子。

计钰亮, 朱建华, 杨君寅, 武警浙江省总队嘉兴医院消化内科 浙江省嘉兴市 314000

计钰亮, 住院医师, 主要从事胃癌的研究。

作者贡献分布: 计钰亮负责课题的设计及论文的写作; 朱建华负责研究过程及试剂的提供; 杨君寅负责数据分析。

通讯作者: 计钰亮, 住院医师, 314000, 浙江省嘉兴市南湖区南湖路16号, 武警浙江省总队嘉兴医院消化内科。

3163691422@qq.com

电话: 0753-82852851

收稿日期: 2015-11-30

修回日期: 2015-12-21

接受日期: 2016-01-19

在线出版日期: 2016-02-28

miR-409-3b inhibits invasion and metastasis of gastric cancer by downregulating EGFL7 protein expression

Yu-Liang Ji, Jian-Hua Zhu, Jun-Yin Yang

Yu-Liang Ji, Jian-Hua Zhu, Jun-Yin Yang, Department of Gastroenterology, Jiaying Hospital of People's Armed Police Corps, Jiaying 314000, Zhejiang Province, China

Correspondence to: Yu-Liang Ji, Resident Physician, Department of Gastroenterology, Jiaying Hospital of People's Armed Police Corps, 16 Nanhu Road, Nanhu District, Jiaying 314000, Zhejiang Province, China. 3163691422@qq.com

Received: 2015-11-30

Revised: 2015-12-21

Accepted: 2016-01-19

Published online: 2016-02-28

■同行评议者

沙杰, 副主任医师, 江苏省靖江市人民医院消化科

Abstract

AIM: To investigate the inhibitory effect of miR-

409-3b on the invasion and migration of gastric adenocarcinoma and the underlying molecular mechanisms.

METHODS: MicroRNA array was used to screen miRNAs which were significantly differentially expressed between gastric cancer and paracancerous tissue. Bioinformatics was employed to predict the miRNAs related to the regulation of epidermal growth factor-like domain-containing protein 7 (EGFL7). Gastric cancer cells were infected with lentiviral vectors or transfected with miR-409-3b mimics to overexpress miR-409-3b. Western blot was used to detect the changes of EGFL7 in gastric cancer cells. Transwell invasion assay was accomplished to analyze cell invasion ability. Quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) was adopted to detect the expression of miR-409-3b in 80 pairs of gastric cancer tissues and adjacent noncancerous tissues. The relationship between clinical pathological data and EGFL7 expression was analyzed.

RESULTS: MicroRNA array and bioinformatics prediction results supported that miR-409-3b was lowly expressed in gastric carcinoma, and regulated EGFL7. Dual luciferase assay confirmed that miR-409-3b binds to EGFL7. Western blot analysis suggested that EGFL7 was downregulated after miR-409-3b overexpression. qRT-PCR suggested that the relative expression of miR-409-3b in gastric cancer tissues was lower than that in the adjacent noncancerous tissues. Transwell invasion experiments showed that miR-409-

3b infection could significantly reduce the invasion ability of gastric cancer cells *in vitro*. The migration ability of miR-409-3b LV-cells was significantly higher than that of BGC-823 cells. The expression of miR-409-3b was closely related with lymph node metastasis ($P < 0.05$). The expression ratio of miR-409-3b in gastric cancer tissues to adjacent noncancerous tissues was significantly lower in tissues collected from patients with distant metastasis than in those from patients without distant metastasis ($P < 0.05$).

CONCLUSION: miR-409-3b regulates EGFL7 expression at the post-transcriptional level, and then suppresses the invasion and metastasis of gastric adenocarcinoma.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Epidermal growth factor-like domain-containing protein 7; miR-409-3b; Gastric cancer; Metastasis

Ji YL, Zhu JH, Yang JY. miR-409-3b inhibits invasion and metastasis of gastric cancer by downregulating EGFL7 protein expression. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(6): 866-872 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/866.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i6.866>

摘要

目的: 观察miR-409-3b对胃癌细胞侵袭转移的影响, 探讨miR-409-3b通过下调表皮生长因子蛋白7(epidermal growth factor like domain protein 7, EGFL7)调节胃癌侵袭和转移的具体机制。

方法: 通过基因芯片技术筛选出胃癌及癌旁组织差异性表达的微小RNA(microRNA, miRNA); 采用生物学信息学技术预测EGFL7调控相关miRNA, 通过对比上述结果, 筛选出miR-409-3b; 进一步以miR-409-3b慢病毒及miR-409-3b mimics过表达miR-409-3b后, 用Western blot检测胃癌细胞中的EGFL7的表达变化; 采用Transwell侵袭实验及划痕实验检测miR-409-3b慢病毒感染后细胞体外侵袭能力的变化; qRT-PCR检测80例胃癌患者癌组织和癌旁组织中miR-409-3b的表达差异, 并分析miR-409-3b的表达与胃癌患者临床病理之间的关系。

结果: 基因芯片及生物信息学预测发现

miR-409-3b在胃癌组织中低表达, 同时又可能调控EGFL7, 双荧光素酶实验证实miR-409-3b可以结合在EGFL7上, miR-409-3b慢病毒及miR-409-3b mimics过表达miR-409-3b都能在蛋白水平下调EGFL7; miR-409-3b家族3条miRNA的qRT-PCR结果表明癌旁组织相对含量高于胃癌组织; Transwell侵袭实验结果表明: miR-409-3b与感染空载慢病毒相比感染能显著降低胃癌细胞穿的能力。体外划痕实验的结果表明, 经LV-miR-409-3b感染空载慢病毒比BGC-823细胞的迁移能力明显升高。进一步统计结果表明, miR-409-3b与淋巴结转移有关($P < 0.05$), miR-409-3b的C/P值在无远处转移的病例组织比具有远处转移的病例组织中明显升高($P < 0.05$)。

结论: miR-409-3b可以在转录后水平调控EGFL7的表达, 从而抑制胃癌细胞的侵袭和转移。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 表皮生长因子蛋白7; miR-409-3b; 胃癌; 肿瘤转移

核心提示: 本文观察miR-409-3b对胃癌细胞侵袭转移的影响, 得出miR-409-3b可以在转录后水平下调表皮生长因子蛋白7(epidermal growth factor like domain protein, multiple7)的表达, 从而抑制胃癌细胞的侵袭和转移。

计钰亮, 朱建华, 杨君寅. miR-409-3b通过下调表皮生长因子蛋白7抑制胃癌侵袭和转移的分子机制. *世界华人消化杂志* 2016; 24(6): 866-872 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/866.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i6.866>

0 引言

胃癌是人类最常见的恶性肿瘤之一, 最新数据显示其发病率及死亡率高居恶性肿瘤前列, 导致了重大的公共健康负担。虽然对胃癌的治疗取得了显著的进步, 使患者的总体生存期得以提高, 但是复发和转移使胃癌患者的5年生存率仍然很低。而且大多数新诊断的胃癌患者已表现为转移性疾病, 这使得对胃癌的治疗仍然是肿瘤学中的重要难题之一。近年来发现: 表皮生长因子蛋白7(epidermal growth factor-like domain-containing protein 7, EGFL7)可明显增

■ 研究前沿

近年来研究表明一种微小RNA(microRNA, miRNA)通过负性调节靶基因表达, 可在多种疾病病理过程中起重要作用。并且一些miRNA已经被证实与肿瘤发生、发展及转移相关。但在胃癌中EGFL7如何被调控尚未得到证实。

应用要点

本文探究miR-409-3b在癌旁正常胃黏膜组织和胃癌组织中的临床病理学特征的关系及表达差异, miR-409-3b对EGFL7表达的调控及其对胃癌细胞生物学特征影响, 以期为研究胃癌的转移和侵袭提供理论依据。

强细胞运动迁移能力, 是重要的运动刺激因子和肿瘤转移相关因子^[1]。EGFL7是一种内皮细胞源性的调节血管形成的分泌因子。最近的研究报道显示, EGFL7在多种肿瘤组织和肿瘤细胞系中表达, 包括肾癌、恶性神经胶质瘤, 肝癌和结肠癌。EGFL7可能作为预测癌症进展和转移的新分子标记。然而他在胃癌中的具体作用机制目前尚不清楚, 有必要进行下一步深入研究^[2-4]。

EGFL7在胃癌转移和侵袭中起着重要的作用, 但胃癌中调节EGFL7分泌的机制尚不清楚。近年来研究表明一种微小RNA(microRNA, miRNA), 通过负性调节靶基因表达, 可在多种疾病病理过程起重要作用。并且一些miRNA已经被证实与肿瘤发生、发展及转移相关。但在胃癌中EGFL7如何被调控尚未得到证实^[5-7]。因此我们推测还有另外miRNA参与EGFL7转录后的调控。我们利用基因芯片技术检测胃癌组织以及癌旁组织的miRNA表达差异, 并结合生物信息学的预测结果, 初步筛选miR-409-3b可能调节EGFL7又在胃癌中低表达的miRNA分子。并在此基础上, 本文探究miR-409-3b在癌旁正常胃黏膜组织和胃癌组织中的临床病理学特征的关系及表达差异, miR-409-3b对EGFL7表达的调控及其对胃癌细胞生物学特征影响, 以期为研究胃癌的转移和侵袭提供理论依据^[8-10]。

1 材料和方法

1.1 材料 选取80例于2014-04/12在嘉兴医院普外科住院的胃腺癌患者。患者中男性38例, 女性42例, 平均年龄53.6岁, 所有患者均签署了知情同意书, 所有病例分别取癌组织(C组)和癌旁组织(P组, 距癌组织距离>5 cm)^[1]。胃腺癌细胞(BGC-823、MKN-28、SGC-7901)均为本实验室保存。试剂与仪器: miR-409-3b慢病毒(上海吉凯基因化学有限公司); miR-409-3b mimics(广州市锐博生物科技有限公司); TRIzol、逆转录试剂盒及实时荧光定量PCR(qRT-PCR)试剂盒(TaKaRa公司, 日本); miR-409-3b及U6特异RT及PCR引物(广州市锐博生物科技有限公司); 双荧光素酶试剂盒(Promega公司, 美国); 基质胶Transwell小室(Santa cruz公司, 美国); DMEM高糖培养基与胎牛血清(abcam公司, 美国); miR-409-3b慢

病毒(LV-miR-409-3b)及对照(LV-NC, 中杉金桥公司); Cell Lysis Buffer(北京碧云天生物科技有限公司); β -actin及辣根过氧化物酶偶联的二抗(抗兔、抗小鼠、抗羊)均购自美国abcam公司; EGFL7抗体购自Cell Signaling公司Transwell小室(BD公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 人胃腺癌(BGC-823、MKN-28、SGC-7901)细胞用含10%胎牛血清DMEM高糖培养液, 在37 °C、50 mL/L CO₂的培养箱中连续培养, 3-4 d后传代。

1.2.2 qRT-PCR检测: qRT-PCR法检测miR-409-3b表达将BGC-823、MKN-28、SGC-7901细胞密度调整为 1×10^5 /mL接种于6孔板中, 待细胞贴壁后进行实验干预。提取细胞的miRNA做qRT-PCR, 以U6为内参, U6、miR-409-3b引物序列: U6-forward: 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3', U6-reverse: 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'; miR-409-3b-forward: 5'-TATATCCAGCTGGGTGCTAATTGCCG-3', universal primer TGGTGTCTGTTGATAC。使用Transgen Biotech公司qPCR and qRT-PCR SuperMix, Bio-Rad公司CFX, 每组3个复孔, 反应条件为: 94 °C 30 s, 94 °C 5 s, 55 °C 15 s, 72 °C 10 s, 共45个循环。由仪器配套专用软件进行结果分析, 通过与内参对比检测各组细胞中miR-409-3b的表达情况。

1.2.3 Western blot法检测EGFL7蛋白: 将BGC-823、MKN-28、SGC-7901细胞密度调整为 1×10^5 /mL接种于6孔板中, 待细胞贴壁后进行干预实验。继续培养48 h, 收集细胞, Cell Lysis Buffer裂解后检测EGFL7蛋白表达。

1.2.4 Transwell体外侵袭实验: Transwell法检测细胞侵袭能力 用无血清的RPMI 1640培养基5:1稀释Matrigel后取40 μ L稀释液均匀铺在Transwell小室的上室, 37 °C作用30 min备用。将预处理的细胞消化制成细胞悬液 5×10^5 个/mL, 上室中每孔加入细胞悬液400 μ L, 下室中加入600 μ L RPMI 1640培养基, 并在下室另加入10%胎牛血清50 μ L, 36 h后, 用棉签擦去Matrigel和上室内细胞, 4%多聚甲醛固定10 min, 结晶紫染色, PBS洗去多余染料, 随机选取视野进行拍照计数, 以上实验随机重复3次。

1.2.5 miRNA芯片分析: 将胃癌组织和癌旁正常

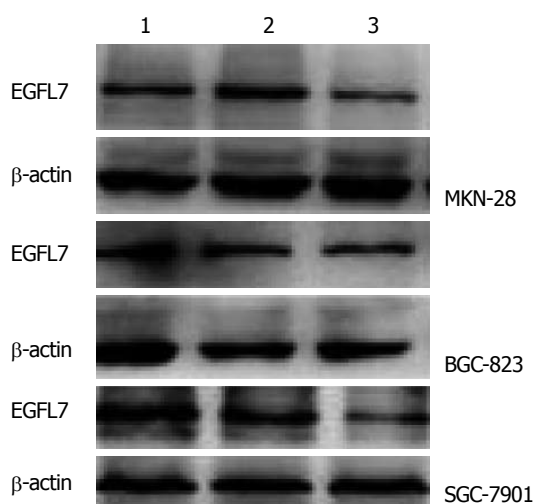


图 1 Western blot检测在不同胃癌细胞中miR-409-3b mimics对EGFL7蛋白表达水平的影响。1: 空白对照; 2: 阴性对照; 3: miR-409-3b。

组织送武汉谷歌生物公司做miRNA基因芯片分析, 检测两种组织中miRNA分子表达差异。

1.2.6 划痕实验: 将细胞接种于6孔培养板, 每组设3复孔, 等细胞生长至100%融合, 用无菌移液器枪头沿培养板底部呈“1”字形划痕, 用PBS洗掉脱落细胞, 倒置显微镜下记录划痕区相对距离, 然后放入培养箱培养48 h, 每隔12 h显微镜下观察划痕修复情况1次, 实验重复3次。

统计学处理 采用SPSS20.0统计软件进行分析, 计量数据用mean±SD表示, 组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA), $P<0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 利用miRNA芯片筛选癌旁组织和胃癌组织表达差异的miRNA分子 miRNA芯片结果表明, 共有475条miRNA在癌旁组织和胃癌组织的表达有差异。

2.2 利用MiRanda和TargetScan预测可能调控EGFL7的靶基因的miRNA分子 对EGFL7调控的miRNA分子预测, 发现miR-409-3b为在胃癌组织里低表达的miRNA并可能调控EGFL7。

2.3 Western blot实验验证miR-409-3b直接靶向调控EGFL7的3'UTR EGFL7在3株胃癌细胞表达水平明显低于癌旁组织, 当用miR-409-3b慢病毒过表达miR-409-3b后得到相似的结果(图1)。

2.4 miR-409-3b对胃癌细胞体外侵袭能力的影响 Transwell侵袭实验结果表明: miR-409-3b与感染空载慢病毒相比感染能显著降低胃

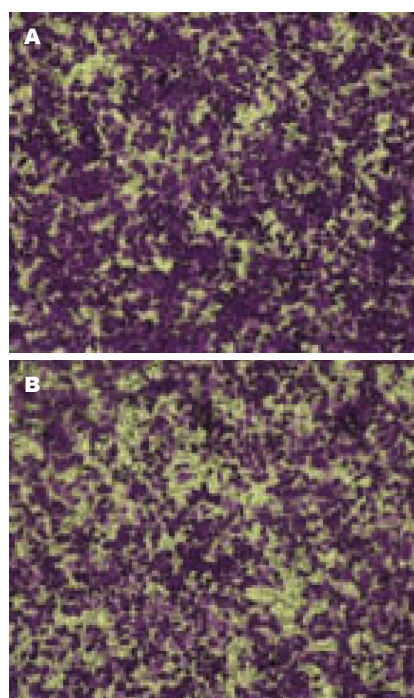


图 2 miR-409-3b慢病毒对BGC-823细胞穿膜能力的影响 (Transwell实验×400) A: 感染空载慢病毒; B: 感染 miR-409-3b病毒。

癌细胞穿膜的能力(图2)。体外划痕实验的结果表明, 经LV-miR-409-3b感染空载慢病毒比BGC-823细胞的迁移能力明显升高(图3)。

2.5 80例胃癌组织和癌旁组织miR-409-3b分子表达水平与临床病理特征之间的关系 收集80例胃癌组织、癌旁组织标本, 利用qRT-PCR检测胃癌组织和癌旁组织miR-409-3b miRNA分子的表达水平。qRT-PCR结果表明miR-409-3b在癌旁组织相对含量高于胃癌组织。分析miR-409-3b在胃癌组织和癌旁组织中相对表达含量的比值(C/P)与年龄、性别、淋巴结转移、远处转移、TMN分期、浸润深度、分化程度、肿瘤直径之间的关系。实验结果表明miR-409-3b在无淋巴结转移的病理组织中C/P比值较有淋巴结转移的病理组织明显升高($P<0.05$); miR-409-3b在无远处转移的病理组织中C/P比值较有远处转移的病理组织明显升高($P<0.05$); 而miR-409-3b与肿瘤的远处转移的差异无统计学意义($P=0.148$)(表1)。

3 讨论

胃癌为全球发病率最高的恶性肿瘤之一, 胃癌的侵袭转移是患者死亡和治疗效果不佳的最主要原因^[8]。而侵袭转移是一个多阶段、多步

同行评价

本文探究miR-409-3b在癌旁正常胃黏膜组织和胃癌组织中的临床病理学特征的关系及表达差异, miR-409-3b对EGFL7表达的调控及其对胃癌细胞生物学特征影响, 具有一定的意义。

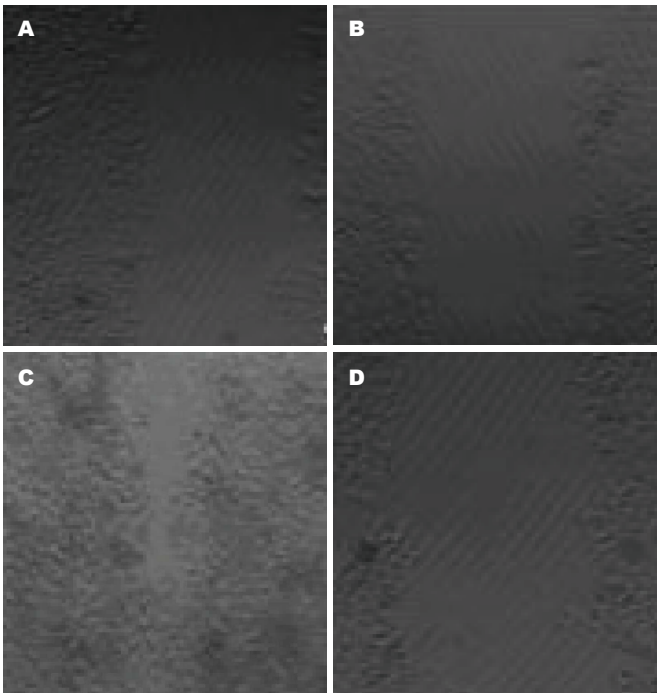


图 3 鉴定感染miR-409-3b慢病毒对BGC-823细胞迁移能力的影响(体外划痕实验×200). A, B: 划痕后0 h; C, D: 划痕后48 h; A, C: 感染空载慢病毒; B, D: 感染miR-409-3b病毒.

表 1 miR-409-3b在胃癌和癌旁组织中C/P比值与临床病理特征的关系

临床病理参数	miR-409-3b	
	C/P	P值
性别		0.701
男	0.96 ± 0.30	
女	0.71 ± 0.12	
年龄(岁)		0.681
>60	0.94 ± 0.33	
<60	0.63 ± 0.13	
淋巴结转移		<0.010
有	0.59 ± 0.04	
无	1.20 ± 0.03	
远处转移		0.900
有	0.79 ± 0.14	
无	0.81 ± 0.11	
TMN分期		0.921
I / II	1.23 ± 0.35	
III/IV	0.62 ± 0.11	
肿瘤直径(cm)		0.173
<5	1.02 ± 0.24	
>5	0.39 ± 0.11	
浸润深度		0.865
未穿透浆膜	0.79 ± 0.40	
穿透浆膜	0.54 ± 0.17	
分化程度		0.711
低分化	0.86 ± 0.30	
中、高分化	0.35 ± 0.07	

本过程包括: 首先癌细胞脱离原发灶、其次癌细胞进入循环系统(淋巴循环和血液循环)、侵袭靶器官、远处定植和新生血管形成, 最终导致转移灶的形成^[8]. 胃癌的侵袭转移牵涉到多个因素、蛋白和基因多方面的调节^[11,12]. miRNAs小分子是在真核生物中发现内源性的具有调控功能的一类非编码RNA, 可通过和靶mRNA互补配对导致mRNA降解或抑制转录后蛋白翻译并最终导致基因沉默^[13]. 研究证实miRNA参与一系列的重要的生物学进程, 包括生长发育、细胞分化、组织器官形成、细胞凋亡和癌症的发生及侵袭转移等. 研究^[14-16]表明, miRNAs与多种恶性肿瘤的发生及侵袭转移密切相关. 因此miRNAs的研究^[17-19]有可能成为判断肿瘤治疗及预后的分子靶点和诊断肿瘤的新的分子标志, 并有助于肿瘤的早发现、早诊断和早治疗.

研究发现EGFL7蛋白包括一个信号肽, 一个EMI结构域、一个EGF结构域、一个EGF-CA结构域以及一个富含亮氨酸、缬氨酸的羧基端. EGFL7在肿瘤中研究常见, 但与miR-409-3b相关研究较为少见^[18].

近年来, miR-409-3b被发现可以调控肿瘤细胞多个生物学过程, 包括细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭等. 研究显示^[20], miR-409-3b可以抑制多种不同实体肿瘤如纤维肉瘤、肺腺癌和膀胱癌的转移. 如miR-409-

骤、多个因素共同参与调控的生物学过程, 基

3b可通过下调c-MET的表达而抑制肺腺癌和膀胱癌的转移^[21-23]。但因技术手段的局限, 本文通过改进传统miRNA作用机制研究策略, 全面揭示miR-409-3b调控胃癌转移的作用机制^[20]。

4 参考文献

- Luo H, Zhang H, Zhang Z, Zhang X, Ning B, Guo J, Nie N, Liu B, Wu X. Down-regulated miR-9 and miR-433 in human gastric carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res* 2009; 28: 82 [PMID: 19531230 DOI: 10.1186/1756-9966-28-82]
- 杨德辉, 陈雪梅, 何俊琳, 王应雄, 丁裕斌, 李荣, 刘学庆. hsa-miR-200a对HEC-1B人子宫内腺癌癌细胞系增殖与凋亡的影响. *第三军医大学学报* 2012; 34: 1608-1612
- Ahn HS, Lee HJ, Yoo MW, Jeong SH, Park DJ, Kim HH, Kim WH, Lee KU, Yang HK. Changes in clinicopathological features and survival after gastrectomy for gastric cancer over a 20-year period. *Br J Surg* 2011; 98: 255-260 [PMID: 21082693 DOI: 10.1002/bjs.7310]
- David CJ, Manley JL. Alternative pre-mRNA splicing regulation in cancer: pathways and programs unhinged. *Genes Dev* 2010; 24: 2343-2364 [PMID: 21041405 DOI: 10.1101/gad.1973010]
- Ito S, Ito Y, Misawa K, Shimizu Y, Kinoshita T. Neoadjuvant chemotherapy. *World J Clin Oncol* 2015; 6: 291-294 [PMID: 26677442 DOI: 10.5306/wjco.v6.i6.291]
- Awasthi N, Schwarz RE. Profile of nintedanib in the treatment of solid tumors: the evidence to date. *Onco Targets Ther* 2015; 8: 3691-3701 [PMID: 26677336 DOI: 10.2147/OTT.S78805]
- Qu Z, Zou X, Zhang X, Sheng J, Wang Y, Wang J, Wang C, Ji Y. Chelidone induces mitotic slippage and apoptotic-like death in SGC-7901 human gastric carcinoma cells. *Mol Med Rep* 2015 Dec 14. [Epub ahead of print] [PMID: 26677104 DOI: 10.3892/mmr.2015.4683]
- Josson S, Gururajan M, Sung SY, Hu P, Shao C, Zhou HE, Liu C, Lichterman J, Duan P, Li Q, Rogatko A, Posadas EM, Haga CL, Chung LW. Stromal fibroblast-derived miR-409 promotes epithelial-to-mesenchymal transition and prostate tumorigenesis. *Oncogene* 2015; 34: 2690-2699 [PMID: 25065597 DOI: 10.1038/ncr.2014.212]
- Margaillan G, Lévesque É, Guillemette C. Epigenetic regulation of steroid inactivating UDP-glucuronosyltransferases by microRNAs in prostate cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2016; 155: 85-93 [PMID: 26385605 DOI: 10.1016/j.jsbmb.2015.09.021]
- Zheng B, Liang L, Huang S, Zha R, Liu L, Jia D, Tian Q, Wang Q, Wang C, Long Z, Zhou Y, Cao X, Du C, Shi Y, He X. MicroRNA-409 suppresses tumour cell invasion and metastasis by directly targeting radixin in gastric cancers. *Oncogene* 2012; 31: 4509-4516 [PMID: 22179828 DOI: 10.1038/ncr.2011.581]
- Verset L, Feys L, Trépant AL, De Wever O, Demetter P. FHL2: a scaffold protein of carcinogenesis, tumour-stroma interactions and treatment response. *Histol Histopathol* 2015 Dec 17. [Epub ahead of print] [PMID: 26676939 DOI: 10.14670/HH-11-709]
- Wu C, Cheng J, Hu S, Deng R, Muangu YW, Shi L, Wu K, Zhang P, Chang W, Wang G, Tao K. Reduced proliferation and increased apoptosis of the SGC-7901 gastric cancer cell line on exposure to GDC-0449. *Mol Med Rep* 2015 Dec 11. [Epub ahead of print] [PMID: 26676867 DOI: 10.3892/mmr.2015.4677]
- Urdinguio RG, Fernandez AF, Lopez-Nieva P, Rossi S, Huertas D, Kulis M, Liu CG, Croce CM, Calin GA, Esteller M. Disrupted microRNA expression caused by Mecp2 loss in a mouse model of Rett syndrome. *Epigenetics* 2010; 5: 656-663 [PMID: 20716963 DOI: 10.4161/epi.5.7.13055]
- Hata K, Yamamoto Y, Kiyomatsu T, Tanaka T, Kazama S, Nozawa H, Kawai K, Tanaka J, Nishikawa T, Otani K, Yasuda K, Kishikawa J, Nagai Y, Anzai H, Shinagawa T, Arakawa K, Yamaguchi H, Ishihara S, Sunami E, Kitayama J, Watanabe T. Hereditary gastrointestinal cancer. *Surg Today* 2015 Dec 16. [Epub ahead of print] [PMID: 26676416 DOI: 10.1007/s00595-015-1283-3]
- Zhu M, Yao X, Wu M, Qian H, Wu Y, Chen Y. Type II cGMP-dependent protein kinase directly inhibits HER2 activation of gastric cancer cells. *Mol Med Rep* 2015 Dec 17. [Epub ahead of print] [PMID: 26676300 DOI: 10.3892/mmr.2015.4688]
- Tsai KW, Wu CW, Hu LY, Li SC, Liao YL, Lai CH, Kao HW, Fang WL, Huang KH, Chan WC, Lin WC. Epigenetic regulation of miR-34b and miR-129 expression in gastric cancer. *Int J Cancer* 2011; 129: 2600-2610 [PMID: 21960261 DOI: 10.1002/ijc.25919]
- Huang T, Kang W, Cheng AS, Yu J, To KF. The emerging role of Slit-Robo pathway in gastric and other gastro intestinal cancers. *BMC Cancer* 2015; 15: 950 [PMID: 26674478 DOI: 10.1186/s12885-015-1984-4]
- Li XW, Shi BY, Yang QL, Wu J, Wu HM, Wang YF, Wu ZJ, Fan YM, Wang YP. Epigenetic regulation of CDH1 exon 8 alternative splicing in gastric cancer. *BMC Cancer* 2015; 15: 954 [PMID: 26674321 DOI: 10.1186/s12885-015-1983-5]
- 汪雷, 刘弋. 整合素 β_1 和 β_3 在胃癌及癌前病变组织的表达及临床意义. *安徽医药* 2011; 15: 1109-1111
- Montagner S, Dehó L, Monticelli S. MicroRNAs in hematopoietic development. *BMC Immunol* 2014; 15: 14 [PMID: 24678908 DOI: 10.1186/1471-2172-15-14]
- Kim TW, Lee SJ, Oh BM, Lee H, Uhm TG, Min JK, Park YJ, Yoon SR, Kim BY, Kim JW, Choe YK, Lee HG. Epigenetic modification of TLR4 promotes activation of NF- κ B by regulating methyl-CpG-binding domain protein 2 and Sp1 in gastric cancer. *Oncotarget* 2015 Dec 10. [Epub ahead of print] [PMID: 26675260 DOI: 10.18632/oncotarget.6549]
- Zhang J, Li C, Zhi X, Ramón GA, Liu Y, Zhang C, Pan F, Cui D. Hairpin DNA-templated silver nanoclusters as novel beacons in strand displacement amplification for microRNA detection. *Anal Chem* 2016; 88: 1294-1302 [PMID: 26675240 DOI: 10.1021/acs.analchem.5b03729]

- 23 Kondo A, de Moura EG, Bernardo WM, Yagi OK, de Moura DT, de Moura ET, Bravo JG, Yamazaki K, Sakai P. Endoscopy vs surgery in the treatment

of early gastric cancer: Systematic review. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 13177-13187 [PMID: 26675093 DOI: 10.3748/wjg.v21.i46.13177]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 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)所有作者均审阅过该文并同意发表, 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出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、补充或删除时, 本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者复核要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期发回的, 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》等国外相关文摘与检索系统收录。



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
8226 Regency Drive, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

