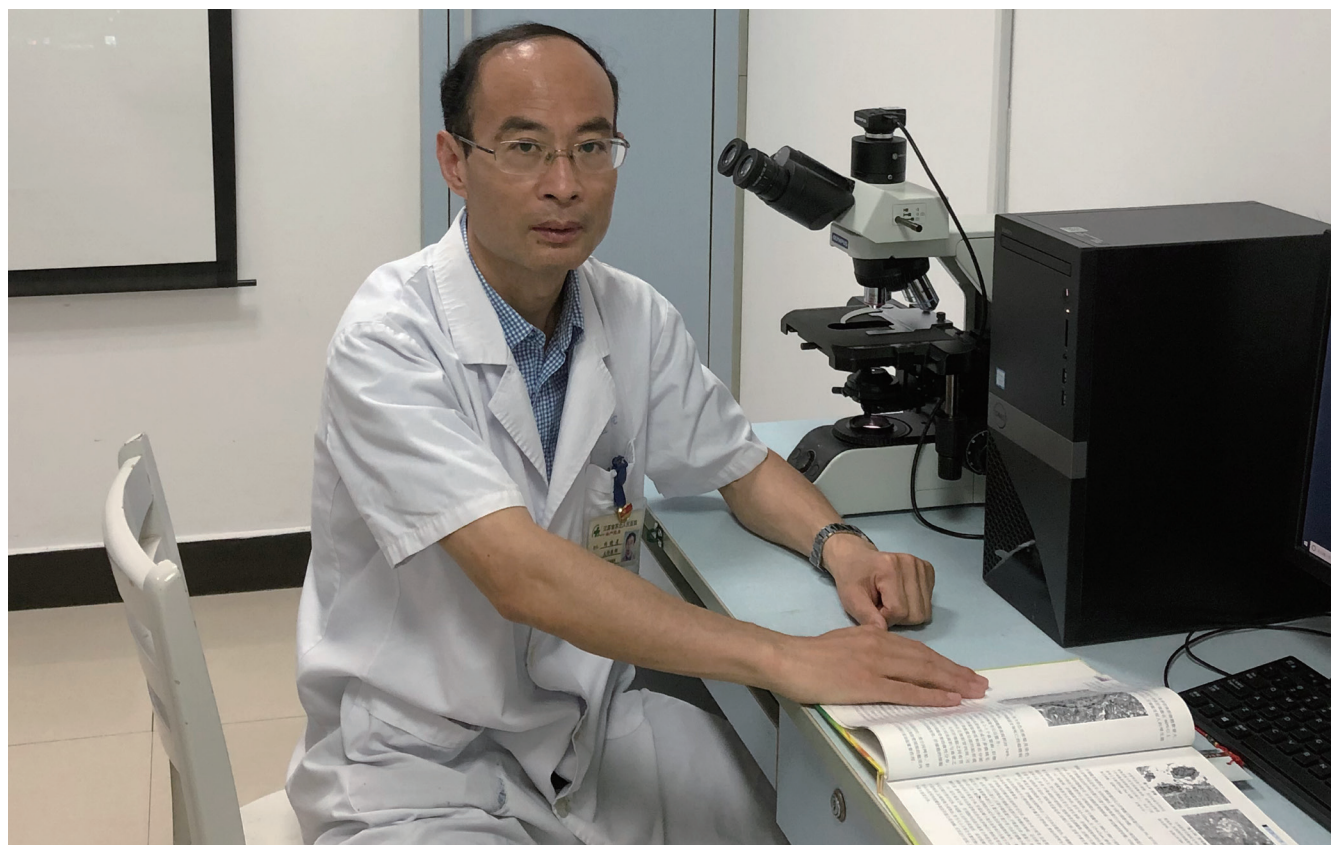


# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

2020 年 9 月 28 日      第 28 卷      第 18 期      (Volume 28 Number 18)



**18/2020**

ISSN 1009-3079



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



### 述评

- 873 人类免疫缺陷病毒的传播途径及影响因素  
杨贵波
- 884 生物大分子的“液-液”相分离及其在生理与疾病中的作用  
陈娅婧, 杨金娥

### 临床研究

- 891 一氧化氮合酶、环氧合酶-2在不同类型胃食管反流病中的表达及意义  
岳爱君, 尹宇杰, 李莹
- 898 不同营养方式在腹腔镜远端胃癌根治术后的临床疗效  
吴国珍, 高胜强, 毛根军, 罗建生

### 文献综述

- 904 肝细胞癌缺氧微环境中低氧诱导因子-1 $\alpha$ 促进癌细胞免疫逃逸及治疗耐受的发生机制  
杨焕珍, 周喜汉
- 914 胰十二指肠切除术胰瘘的相关危险因素及预防措施的最新进展  
杨均兴, 叶思严, 戴东
- 920 肠道黏膜岩藻糖基化与炎症性肠病研究进展  
陈鑫, 李国熊, 方家恒, 徐思楠, 高宇飞, 孙倚天
- 925 正电子发射计算机断层显像在结直肠癌的临床应用及研究进展  
吴彩霞, 王荣福

## 消 息

- 883 《世界华人消化杂志》参考文献要求  
890 《世界华人消化杂志》栏目设置  
903 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费  
913 《肠道微生物与消化系统疾病》书讯

## 封面故事

向晓星, 主任医师, 消化内科主任, 苏北人民医院, 扬州大学临床医学院. 上海第二医科大学内科学博士学位. 扬州大学和大连医科大学硕士生导师. 江苏省临床医学重点专科学术带头人, 扬州市“十三五”临床医学创新团队领军人才. 核心期刊发表论著和综述60余篇, 主持或主要参与国家、省市级科研课题5项, 获得省市级科技进步奖4项. 科研专长为肝脏疾病的应用基础和临床研究.

## 本期责任人

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

## 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(半月刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2020-09-28

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

马亚娟, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,

CA 94588, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,

CA 94588, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)

<https://www.wjgnet.com>

制作

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

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

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

特别声明

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

定价

每期136.00元 全年24期3264.00元

© 2020 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

## Contents

Volume 28 Number 18 September 28, 2020

### EDITORIAL

- 873 Transmission routes of human immunodeficiency virus and affecting factors

*Yang GB*

- 884 Role of liquid-liquid phase separation in cell physiology and diseases

*Chen YJ, Yang JE*

### CLINICAL RESEARCH

- 891 Significance of expression of nitric oxide synthetase and cyclooxygenase-2 in different types of gastroesophageal reflux disease

*Yue AJ, Yin YJ, Li Y*

- 898 Clinical efficacy of different nutritional methods in patients after laparoscopic radical surgery for distal gastric cancer

*Wu GZ, Gao SQ, Mao GJ, Luo JS*

### REVIEW

- 904 Mechanism for hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  to promote immune escape and therapeutic tolerance in hepatocellular carcinoma under hypoxic microenvironment

*Yang HZ, Zhou XH*

- 914 Risk factors and preventive measures for postoperative pancreatic fistula after pancreaticoduodenectomy

*Yang JX, Ye SY, Dai D*

- 920 Fucosylation in the intestinal mucosa and inflammatory bowel disease

*Chen X, Li GX, Fang JH, Xu SN, Gao YF, Sun YT*

- 925 Clinical application and research advancement of positron emission tomography/computed tomography in colorectal cancer

*Wu CX, Wang RF*



## Contents

*World Chinese Journal of Digestology*  
Volume 28 Number 18 September 28, 2020

### COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Xiao-Xing Xiang, Medical Doctor, Postgraduate Tutor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Northern Jiangsu People's Hospital, Clinical Medical College of Yangzhou University, No. 98 West Nantong Road, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China

### Indexed/Abstracted by

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

### RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Dong-Mei Wang*

Review Editor: *Han Zhang*

Production Editor: *Ji-Hong Liu*

English Language Editor: *Tian-Qi Wang*

Proof Editor: *Yun-Xiaojuan Wu*

Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

### Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** September 28, 2020

#### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

#### ISSN

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

#### EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

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

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

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

Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

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

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

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

#### EDITORIAL BOARD MEMBERS

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

#### EDITORIAL OFFICE

Ya-Juan Ma, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

Baishideng Publishing Group Inc

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

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: [wjcd@wjgnet.com](mailto:wjcd@wjgnet.com)

<https://www.wjgnet.com>

#### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc

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

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)

<https://www.wjgnet.com>

### PRODUCTION CENTER

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

### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 136 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

### COPYRIGHT

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

### SPECIAL STATEMENT

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

### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

# 一氧化氮合酶、环氧合酶-2在不同类型胃食管反流病中的表达及意义

岳爱君, 尹宇杰, 李莹

岳爱君, 尹宇杰, 李莹, 天津市职业病防治院急诊内科 天津市 300011

岳爱君, 主治医师, 研究方向为呼吸系统相关方向及胃肠道疾病.

**作者贡献分布:** 此课题由岳爱君、尹宇杰及李莹设计; 研究过程由尹宇杰与李莹操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由尹宇杰与李莹提供; 数据分析由岳爱君、尹宇杰及李莹完成; 本论文写作由岳爱君完成.

**通讯作者:** 岳爱君, 主治医师, 300011, 天津市河东区新开路55号, 天津市职业病防治院急诊内科. heqing19830816@163.com

**收稿日期:** 2020-06-08

**修回日期:** 2020-07-24

**接受日期:** 2020-08-14

**在线出版日期:** 2020-09-28

## Significance of expression of nitric oxide synthetase and cyclooxygenase-2 in different types of gastroesophageal reflux disease

Ai-Jun Yue, Yu-Jie Yin, Ying Li

**Ai-Jun Yue, Yu-Jie Yin, Ying Li**, Department of Emergency Medicine, Tianjin Occupational Disease Prevention Hospital, Tianjin 300011, China

**Corresponding author:** Ai-Jun Yue, Attending Physician, Department of Emergency Medicine, Tianjin Occupational Disease Prevention Hospital, No. 55 Xinchuang Road, Hedong District, Tianjin 300011, China. heqing19830816@163.com

**Received:** 2020-06-08

**Revised:** 2020-07-24

**Accepted:** 2020-08-14

**Published online:** 2020-09-28

## Abstract

### BACKGROUND

Non-erosive reflux disease (NERD), reflux esophagitis (RE), and Barrett's esophagus (BE), the three types of

gastroesophageal reflux disease (GERD), have strong independence, and there are certain differences in their clinical manifestations and prognosis. NERD is the most common, but its diagnosis is the most difficult. Reports show that nitric oxide synthetase (NOS) and cyclooxygenase-2 (COX-2) are highly expressed in GERD, but there are few reports on their expression in different types of GERD. It is speculated that NOS and COX-2 have certain value in the diagnosis of NERD.

### AIM

To explore the significance of expression of NOS and COX-2 in different types of GERD.

### METHODS

From January 2015 to December 2019, 78 GERD patients admitted to the Department of Gastroenterology of our hospital were prospectively selected. According to the type of GERD, they were divided into three groups: NERD, RE, and BE. In addition, 26 healthy people who underwent gastroscopy at the Physical Examination Center of our hospital during the same period were selected as a control group. The expression levels of NOS mRNA and COX-2 mRNA in each group were compared, and the correlation between them was analyzed.

### RESULTS

Endoscopic and histopathological examinations showed that in 78 GERD patients, there were 26 cases of RE, 28 cases of NERD, and 24 cases of BE. There was no significant difference in sex or age among the three groups ( $P > 0.05$ ). The expression levels of NOS mRNA [neuronal nitric oxide synthase (nNOS) mRNA and inducible nitric oxide synthase (iNOS) mRNA] and COX-2 mRNA in the three different types of GERD were significantly higher than those in the control group, and NOS and COX-2 mRNA expression levels in the BE group were

significantly higher than those in the control group. The expression levels of NOS mRNA and COX-2 mRNA in the RE group were significantly higher than those in the NERD group ( $P < 0.05$ ). There was a significant positive correlation between nNOS and iNOS and COX-2 mRNA expression ( $r = 0.900, 0.897, P < 0.05$ ). Receiver operating characteristic curve analysis showed that the areas under the curves of nNOS mRNA, iNOS mRNA, and COX-2 mRNA in diagnosing NERD were 0.662, 0.671, and 0.613, respectively, which showed no significant difference ( $P > 0.05$ ). According to the best critical value, when nNOS mRNA expression was higher than 1.505, the sensitivity was 65.8% and the specificity was 89.3%; when iNOS mRNA was higher than 1.795, the sensitivity was 65.8%; when COX-2 mRNA was higher than 1.895, the sensitivity was 55.3% and the specificity was 92.9%.

## CONCLUSION

NOS and COX-2 are highly expressed in different types of GERD, and their expression is the highest in BE, followed by RE and NERD. NOS and COX-2 expression may have appreciated value for the diagnosis of NERD.

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

**Key Words:** Nitric oxide synthetase; Cyclooxygenase-2; Gastroesophageal reflux disease; Erosive esophagitis; Barrett's esophagus; Expression

**Citation:** Yue AJ, Yin YJ, Li Y. Significance of expression of nitric oxide synthetase and cyclooxygenase-2 in different types of gastroesophageal reflux disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2020; 28(18): 891-897

**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v28/i18/891.htm>

**DOI:** <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v28.i18.891>

## 摘要

### 背景

非糜烂性胃食管反流病(non-erosive reflux disease, NERD)、反流性食管炎(reflux esophagitis, RE)、Barrett食管(barrett esophageal, BE)三种类型NERD转化少, 独立性较强, 临床表现和预后均有一定差异, 其中NERD最为常见, 但诊断难度最大。报道显示, NOS、COX-2在胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)呈高表达, 但在不同类型GERD方面报道较少, 推测一氧化氮合酶(nitric oxide synthetase, NOS)、环氧合酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2)对NERD的诊断有一定价值。

### 目的

探究NOS、COX-2在不同类型胃食管反流病中的表达及意义。

### 方法

前瞻性选取2015-01/2019-12我院内科收治的GERD

患者78例作为观察组, 按照GERD不同类型分为NERD、RE、及BE 3组; 另选取同期在本院门急诊及体检中心进行胃镜检查的26例健康人群作为对照组。比较各组NOS mRNA、COX-2 mRNA表达, 并分析两者相关性, 以及NOS mRNA、COX-2 mRNA对NERD的诊断作用。

## 结果

内镜及组织病理学检查显示, 78例GERD患者中, RE组26例、NERD组28例、BE组24例; 各组患者在性别年龄等一般资料比较无显著差异( $P > 0.05$ ), 3种不同类型GERD的NOS mRNA[神经元型一氧化氮合酶(neuronal nitric oxide synthase, nNOS) mRNA、诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS) mRNA]、COX-2 mRNA表达水平明显高于对照组, 且BE组NOS mRNA、COX-2 mRNA表达水平明显高于RE组, RE组NOS mRNA、COX-2 mRNA表达水平明显高于NERD组, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。nNOS mRNA、iNOS mRNA与COX-2 mRNA均呈显著正相关( $r = 0.900, 0.897, P < 0.05$ )。受试者工作特征曲线分析显示, nNOS mRNA诊断NERD的曲线下面积(area under the curve, AUC)为0.662, iNOS mRNA诊断NERD的AUC为0.671, COX-2 mRNA诊断NERD的AUC为0.613; Z检验AUC发现差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 根据最佳临界值, 当nNOS mRNA高于1.505时, 其敏感度为65.8%, 特异度为89.3%; 当iNOS mRNA高于1.795时, 其敏感度为63.2%, 特异度为100%; 当COX-2 mRNA高于1.895时, 其敏感度为55.3%, 特异度为92.9%。

## 结论

NOS、COX-2在不同类型胃食管反流病中均呈高表达, 其中在BE患者中表达最高, RE患者中表达次之, NERD患者中表达最少, 并且对NERD的诊断有一定参考价值。

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

**关键词:** 一氧化氮合酶; 环氧合酶-2; 胃食管反流病; 糜烂性食管炎; Barrett食管; 表达

**核心提要:** 一氧化氮合酶(nitric oxide synthetase, NOS)、环氧合酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2)在不同类型胃食管反流病中的表达不同, Barrett食管中表达最高, 反流性食管炎中表达次之, 非糜烂性胃食管反流病(non-erosive reflux disease, NERD)患者中最少, 且NOS、COX-2两者呈正相关, 均对NERD的诊断有价值。

**文献来源:** 岳爱君, 尹宇杰, 李莹. 一氧化氮合酶、环氧合酶-2在不同类型胃食管反流病中的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2020; 28(18): 891-897

**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v28/i18/891.htm>



DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v28.i18.891>

## 0 引言

胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)可分为非糜烂性胃食管反流病(non-erosive reflux disease, NERD)、反流性食管炎(reflux esophagitis, RE)、Barrett食管(Barrett esophageal, BE)三种类型。有学者报道<sup>[1]</sup>GERD这三种类型转化少, 独立性较强, 预后有一定差异。随着临床对GERD病理生理机制研究的深入, 其诊断准确性和治疗有效性已得到较大改善, 但由于GERD病因多样, 发病机制复杂, 不同类型GERD病理学表现不尽相同, 在GERD诊治方面仍需进一步加强。在GERD的诊断方面, RE、BE可通过胃镜、病理进行可靠诊断, 但NERD在胃镜下并无食管损伤客观依据, 主要靠临床症状进行辨别, 难度较大。近来研究发现一氧化氮合酶(nitric oxide synthetase, NOS)、环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)可能参与了GERD的发生发展<sup>[2,3]</sup>。但关于NOS、COX-2在不同类型GERD中的表达报道较少, 而关于NOS与COX-2关系的研究更是未见报道。基于此, 本研究对不同类型GERD患者的NOS、COX-2的表达水平进行分析, 旨在分析NOS、COX-2关系, 并为临床不同类型GERD的诊治提供参考, 现将研究结果报告如下。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 一般资料: 前瞻性选取2015-01/2019-12我院内科收治的GERD患者78例作为观察组, 男43例, 女35例, 年龄26-72岁, 平均年龄49.24岁±11.56岁。按照GERD不同类型分为NERD、RE、及BE 3组。

1.1.2 纳入标准: 纳入标准: (1)符合中华医学会消化病学会分会制定的《2014年中国胃食管反流病专家共识意见》<sup>[4]</sup>中关于GERD的诊断标准, 经食管pH监测和病理学检查确诊; (2)患者自愿参与研究, 并签署知情同意书; (3)无腹部手术史; (4)无幽门螺杆菌感染。

1.1.3 排除标准: 排除标准: (1)恶性肿瘤等严重器质性疾病者; (2)消化道出血或消化性溃疡等其他消化性疾病者; (3)糖尿病等严重全身性代谢疾病者; (4)1 wk内呼吸道感染史或肺部感染史者。另选取同期在本院门急诊及体检中心进行胃镜检查的26例健康人群作为对照组。

### 1.2 方法

1.2.1 内镜检查: 检查前14 d停止抑制胃酸分泌及抑制NOS分泌等GERD治疗药物, 检查前12 h常规禁食禁水。对所有纳入对象应用电子内镜(日本Olympus公司, GIF-Q240型)进行检查, 观察并记录胃内组织病理表现,

并根据不同类型进行分组。内镜下表现为RE、BE者, 于病变部位进行活检, 留取1-2块活检组织; 内镜下表现为NERD者或正常对照组成员, 则于食管远端鳞状上皮与柱状上皮交界处上方2 cm处取活检组织1-2块。将取得的标本迅速置于-80℃的液氮中冷藏待检。

1.2.2 实时荧光定量PCR (quantitative real-time PCR, qRT-PCR)检测NOS mRNA及COX-2 mRNA的表达: (1)总RNA提取: 取液氮速冻标本, 研磨裂解后, 利用Trizol试剂盒提取总RNA, 并采用紫外分光光度计(Alpha1型, 上海谱元仪器有限公司)测定RNA纯度, 吸光度(A)比值 $A_{260}/A_{280} \geq 1.8$ 提示RNA提取成功; (2)mRNA逆转录为cDNA: 利用反转录试剂盒将总RNA反转录为cDNA; (3)qRT-PCR扩增: 以反转录得到的cDNA作为模板进行PCR扩增, 以GAPDH基因作为内参照, NOS引物序列由上海生物工程技术公司合成, 参照NCBI GenBank提供的人类基因序列进行设计。COX-2、GAPDH引物序列见表1。PCR反应条件: 94℃预变性60 s, 92℃变性30 s, 56℃退火30 s, 74℃延伸30 s, 重复38个循环。利用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法对组织中NOS mRNA及COX-2 mRNA相对表达量进行计算, 检测中所采用的引物、Trizol试剂盒均有上海生物工程技术公司提供, 其余试剂由北京奥科生物技术有限公司, 试剂盒检测时严格按照试剂盒说明书进行。

统计学处理 采用统计软件SPSS 22.0处理数据, 计数资料行 $\chi^2$ 检验; 计量资料用(mean±SD)表示, 行单因素分析, 进一步两两比较采用SNK检验; 相关性分析采用Person检验; 指标的检测价值采用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线进行分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 各组一般资料比较 内镜及组织病理学检查显示, 78例GERD患者中, RE组26例、NERD组28例、BE组24例; 各组患者在性别年龄等一般资料比较无显著差异( $P > 0.05$ ), 具可比性(表2)。

2.2 各组患者NOS mRNA、COX-2 mRNA表达水平比较 3种不同类型GERD的NOS mRNA[神经元型一氧化氮合酶(neuronal nitric oxide synthase, nNOS) mRNA、诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS) mRNA]、COX-2 mRNA表达水平明显高于对照组(图1和2), 且BE组NOS mRNA、COX-2 mRNA表达水平明显高于RE组, RE组NOS mRNA、COX-2 mRNA表达水平明显高于NERD组, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。详见表3。

2.3 NOS mRNA与COX-2 mRNA的相关性分析 nNOS mRNA、iNOS mRNA与COX-2 mRNA均呈显著正相关( $r = 0.900$ 、 $0.897$ ,  $P < 0.05$ )。见图3和4。

2.4 nNOS mRNA、iNOS mRNA与COX-2 mRNA表达



表 1 实时荧光定量PCR引物序列

基因名称	引物序列(5'-3')
nNOS (正义引物)	AGCCGAGGCCAAAACTGAGAA
nNOS (负义引物)	AATGGGGAGAAATTCGGCTGTG
iNOS (正义引物)	TTCCACGTTGGCAGGGTCCC
iNOS (负义引物)	GATGCCCGCAGGTGTTCCA
COX-2 (正义引物)	TGCTGTACAAGCAGTGGCAA
COX-2 (负义引物)	GCAGCCATTTCTTCTCTCC
GAPDH (正义引物)	GAAGGTGAAGGTCGGAGTC
GAPDH (负义引物)	GAAGATGGTGATGGGATTTTC

nNOS: 神经元型一氧化氮合酶; iNOS: 诱导型一氧化氮合酶; COX-2: 环氧合酶-2.

表 2 各组一般资料比较(*n*, mean ± SD)

分组	性别(男/女)	年龄(岁)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )
对照组( <i>n</i> = 26)	15/11	50.35 ± 8.27	24.50 ± 2.60
NERD组( <i>n</i> = 28)	15/13	49.72 ± 6.94	24.11 ± 2.62
RE组( <i>n</i> = 26)	14/12	49.06 ± 7.79	24.15 ± 2.74
BE组( <i>n</i> = 24)	14/10	48.89 ± 7.39	24.05 ± 2.71
$\chi^2/t$ 值	0.531	0.196	0.149
<i>P</i> 值	0.466	0.899	0.930

NERD: 非糜烂性胃食管反流病; RE: 反流性食管炎; BE: Barrett食管; BMI: 体重指数.

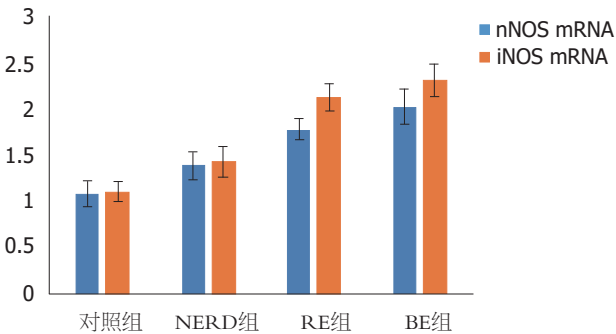


图 1 不同类型胃食管反流病中一氧化氮合酶的表达. nNOS: 神经元型一氧化氮合酶; iNOS: 诱导型一氧化氮合酶; NERD: 非糜烂性胃食管反流病; RE: 反流性食管炎; BE: Barrett食管.

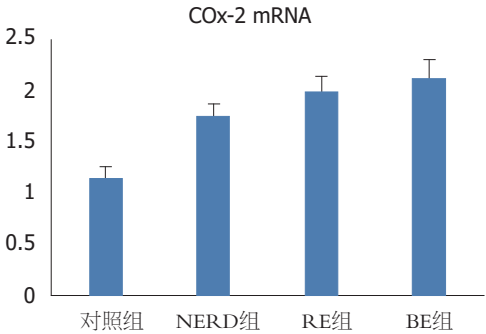


图 2 不同类型胃食管反流病中环氧合酶-2的表达. COX-2: 环氧合酶-2; NERD: 非糜烂性胃食管反流病; RE: 反流性食管炎; BE: Barrett食管.

水平对NERD的诊断 ROC曲线分析显示, nNOS mRNA诊断NERD的AUC为0.662, iNOS mRNA诊断NERD的AUC为0.671, COX-2 mRNA诊断NERD的AUC为0.613; Z检验AUC发现差异无统计学意义( $P>0.05$ ), 根据最佳临界值, 当nNOS mRNA高于1.505时, 其敏感度为65.8%, 特异度为89.3%; 当iNOS mRNA高于1.795 时, 其敏感度为63.2%, 特异度为100%; 当COX-2 mRNA高于1.895时, 其敏感度为55.3%, 特异度为92.9%. 见表4和图5.

3 讨论

近年来GERD发病率呈上升趋势, 不但会引起胃灼热、

胸痛、反酸、吞咽疼痛等消化系统损害, 而且还可累及呼吸系统, 其中BE还可进展为食管腺癌, 严重危害患者生命健康. 目前, GERD的发生机制仍存在争议, 以往观点认为GERD是由胃内容物反流入食管, 使食管腔过度接触胃液引起食管粘膜损伤导致的. 但在动物实验研究中, 该观点并未获得证实, 且临床上有50%以上的GERD为NERD, 内镜下并不表现出食管粘膜损伤<sup>[5,6]</sup>. 越来越多报道显示, 炎性介质介导的食管上皮炎性反应是导致GERD的主要病因, 并且与食管下括约肌(low esophageal sphincter, LES)功能失调、并发食管裂孔疝及食管动力障碍等有关<sup>[7-9]</sup>.

表 3 各组患者一氧化氮合酶mRNA、环氧合酶-2mRNA表达水平比较(mean ± SD)

分组	nNOS mRNA	iNOS mRNA	COX-2 mRNA
对照组( <i>n</i> = 26)	1.08 ± 0.14	1.10 ± 0.09	1.14 ± 0.11
NERD组( <i>n</i> = 28)	1.39 ± 0.15 <sup>a</sup>	1.43 ± 0.16 <sup>a</sup>	1.76 ± 0.10 <sup>a</sup>
RE组( <i>n</i> = 26)	1.78 ± 0.12 <sup>ac</sup>	2.13 ± 0.18 <sup>ac</sup>	1.99 ± 0.15 <sup>ac</sup>
BE组( <i>n</i> = 24)	2.03 ± 0.19 <sup>ace</sup>	2.32 ± 0.21 <sup>ace</sup>	2.12 ± 0.18 <sup>ace</sup>
<i>F</i> 值	194.642	310.931	256.330
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000

<sup>a</sup>*P*<0.05: 与对照组比较; <sup>b</sup>*P*<0.05: 与非糜烂性胃食管反流病组比较; <sup>c</sup>*P*<0.05: 与反流性食管炎组比较. nNOS: 神经元型一氧化氮合酶; iNOS: 诱导型一氧化氮合酶; COX-2: 环氧合酶-2; NERD: 非糜烂性胃食管反流病; RE: 反流性食管炎; BE: Barrett食管.

表 4 神经元型一氧化氮合酶mRNA、诱导型一氧化氮合酶mRNA与环氧合酶-2 mRNA水平诊断非糜烂性胃食管反流病的受试者工作特征结果

检测指标	AUC	Cut-off值	Youden指数	敏感性(%)	特异性(%)
nNOS mRNA	0.662	1.505	0.551	65.8	89.3
iNOS mRNA	0.671	1.795	0.632	63.2	100
COX-2 mRNA	0.613	1.895	0.482	55.3	92.9

AUC: 曲线下面积; nNOS: 神经元型一氧化氮合酶; iNOS: 诱导型一氧化氮合酶; COX-2: 环氧合酶-2.

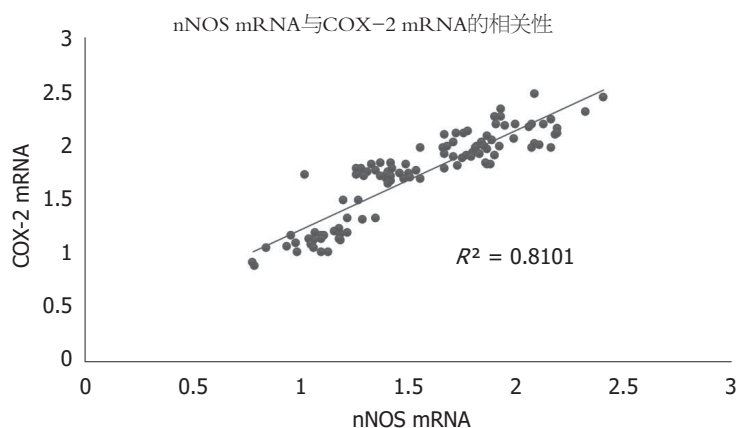


图 3 神经元型一氧化氮合酶mRNA与环氧合酶-2mRNA的相关性分析. nNOS: 神经元型一氧化氮合酶; COX-2: 环氧合酶-2.

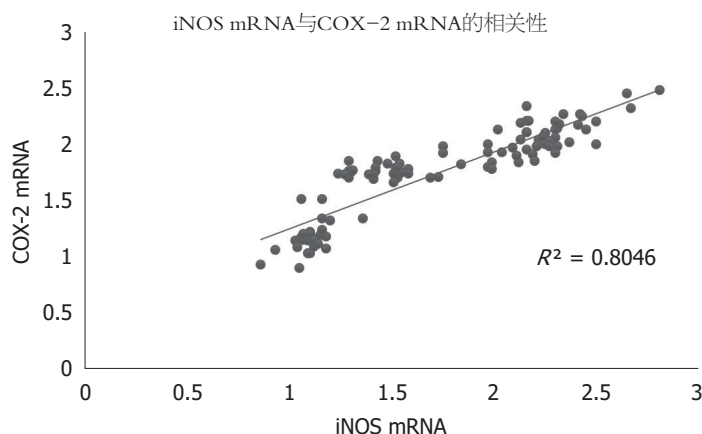


图 4 诱导型一氧化氮合酶mRNA与环氧合酶-2 mRNA的相关性. iNOS: 诱导型一氧化氮合酶; COX-2: 环氧合酶-2.

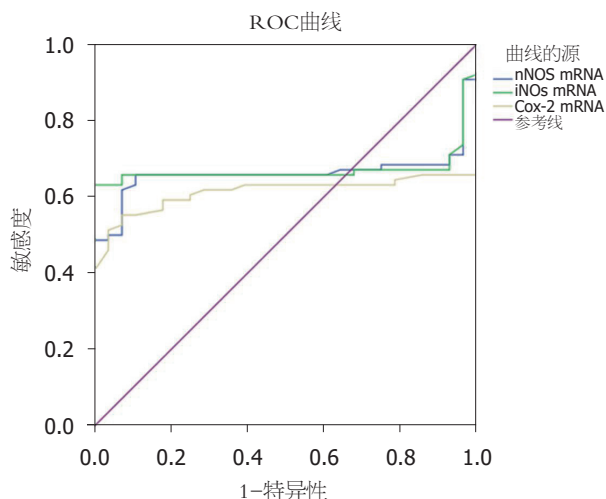


图5 神经元型一氧化氮合酶mRNA、诱导型一氧化氮合酶mRNA与环氧合酶-2 mRNA水平诊断非糜烂性胃食管反流病的受试者工作特征曲线。nNOS: 神经元型一氧化氮合酶; iNOS: 诱导型一氧化氮合酶; COX-2: 环氧合酶-2; ROC: 受试者工作特征。

NOS是介导NO生成的酶, NO为肠神经系统非胆碱能神经、非肾上腺素能的主要抑制性神经递质, 可调节LES功能和食管动力<sup>[10]</sup>。但NO半衰期非常短, 测量难度较大, 因此本研究以NOS水平来反映NO水平。NOS根据其活性可分为诱导型(induced NOS, iNOS)和基本型(constitutive NOS, cNOS), 而cNOS又可分为神经元型NOS (neuron NOS, nNOS)和内皮细胞型NOS (endothelial cell, eNOS)。因食管兴奋主要受神经元支配, 尤以LES神经支配中的抑制性运动神经元为主, 故在本研究中选择中将nNOS纳入研究指标。本研究中, 3种不同类型GERD的NOS mRNA (nNOS mRNA、iNOS mRNA)表达水平显著高于对照组, 且BE组NOS mRNA表达水平显著高于RE组, RE组NOS mRNA表达水平显著高于NERD组。提示nNOS、iNOS可能共同调节LES神经支配的抑制性运动神经元, 引起食管平滑肌功能障碍, 从而加重GERD。笔者认为其原因为NOS高表达可引起NO含量升高, 而NO可调节食管括约肌张力, NO含量升高可引起括约肌松弛<sup>[11]</sup>。RE胃食管粘膜损伤较NERD严重, 出现糜烂症状, 因此NOS表达水平较高, 而BE患者有些细胞开始大量增殖, 病变严重, 故NOS表达水平最高。

GERD的发生发展与炎性因子介导的炎症反应关系密切, 特别是食管粘膜中的促炎性因子。COX-2是在炎症反应组织中高表达, 而在正常组织中组织炎性反应低表达或不表达的一种蛋白, 不仅是免疫白细胞的趋化因子, 合成产物前列腺素E<sub>2</sub>与组织炎性反应直接相关, 而且可降低神经纤维的阈电位<sup>[12]</sup>。杨梅<sup>[13]</sup>在不同类型胃食管反流病患者病变组织中COX-2表达与患者血清炎性因子水平关系研究中表示, COX-2与肿瘤坏死因子- $\alpha$ 、

白细胞介素(interleukin, IL) -1 $\beta$ 、IL-6、IL-8等促炎因子呈显著正相关。本研究结果中, 3种不同类型GERD的COX-2 mRNA表达水平显著高于对照组, 且BE组COX-2 mRNA表达水平最高, RE组次之, NERD组最少, 差异均有统计学意义, 与上述研究结果一致。究其原因可能为COX-2定向趋化胃食管粘膜白细胞, 诱导免疫系统细胞进入感染区域, 并且可合成前列腺素E<sub>2</sub>, 发挥促炎作用, 从而加重炎症组织损伤, 导致细胞异常增殖<sup>[14,15]</sup>。BE患者中COX-2表达水平最高, 是因为BE组织病变较为严重, 进一步可能发展为癌症, 而COX-2高表达被认为早期癌变事件, 因此BE患者中COX-2表达水平最高; RE与NERD的主要区别在是否出现胃食管粘膜糜烂, RE胃食管粘膜糜烂, 炎症较为严重, 故COX-2表达更高。

通过Person相关分析发现, NOS与COX-2表达呈显著正相关, 提示NOS、COX-2可能共同参与了食管黏膜炎症反应和食管下括约肌功能的调节, 协同促进食管黏膜损伤。NERD是最常见的GERD, 但由于在胃镜下没有明确的食管损伤, 故在诊断上有一定难度, 笔者研究中发现不同类型的GERD组织中, NOS与COX-2表达水平不同, 因此推测NOS、COX-2对NERD的诊断有一定价值。本研究经过ROC曲线分析显示, nNOS mRNA诊断NERD的AUC为0.662, iNOS mRNA诊断NERD的AUC为0.671, COX-2 mRNA诊断NERD的AUC为0.613, 提示NOS与COX-2对NERD的诊断有一定价值, 但价值有限, 可能通过联合诊断增强其诊断价值。

#### 4 结论

综上所述, NOS、COX-2在不同类型GERD中均呈高表达, 其中在BE患者中表达最高, RE患者中表达次之, NERD患者中表达最少, 并且对NERD的诊断有一定参考价值。

#### 文章亮点

#### 实验背景

随着人民生活水平、饮食习惯、饮食结构的改变, 胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)在临床较为常见, 近年来发病率呈上升趋势, 已严重影响到民众身心健康。GERD包括非糜烂性胃食管反流病(non-erosive reflux disease, NERD)、反流性食管炎(reflux esophagitis, RE)、Barrett食管(barrett esophageal, BE)三种, 其中RE、BE可通过胃镜、病理进行可靠诊断, 但NERD食管损伤不明显, 诊断有一定难度。已有研究表明, 一氧化氮合酶(nitric oxide synthetase, NOS)、环氧合酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2)在GERD发生发展中扮演重要角色, 但在不同类型GERD方面报道较少, 亟待

完善与充实.

### 实验动机

NOS、COX-2与GERD有关已在诸多研究中被证实,但在不同类型GERD中的表达报道较少,现有的胃镜对NERD诊断效果较差,食管pH对NERD的分型也有难度.因此本研究分析NOS、COX-2在不同类型GERD中的表达,为NERD的早期诊断提供参考.

### 实验目标

探究NOS、COX-2在不同类型胃食管反流病中的表达及意义.

### 实验方法

选取行内镜检查的门诊及住院患者,并依据食管pH监测和病理学检查结果分为NERD组、RE组、及BE组;同时选取本院门诊急及体检中心进行内镜检查的26例健康人群作为对照组.分别比较各亚组NOS mRNA、COX-2 mRNA表达水平,资料采用SPSS 22.0处理.

### 实验结果

NOS、COX-2在不同类型GERD中均呈高表达,其中在BE患者中表达最高,RE患者中表达次之,NERD患者中表达最少,所有组间比较均存在显著差异,且NOS、COX-2呈显著正相关,提示NOS、COX-2相互促进,参与GERD进程,据此笔者进一步分析显示NOS、COX-2对NERD有一定诊断价值.

### 实验结论

NOS、COX-2对GERD的分型有参考价值,对提高临床GERD诊疗有一定意义.

### 展望前景

本研究不足之处在样本量较小,研究中心单一,且未对NOS、COX-2参与炎症反应的机制进行分析,仍需进行大样本量、多中心的试验,进一步明确GERD的发病机制.为新药的研究提供参考.

## 5 参考文献

- 1 美丽克扎提·安扎尔,米热阿依·阿不都哈的尔,高峰. Barrett食管、糜烂性食管炎和非糜烂性反流病食管酸暴露及食管动力学分析. 中华胃食管反流病电子杂志 2018; 5: 49-52 [DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-6899.2018.02.001]

- 2 马乾章,刘鹏,白光. 疏肝和胃降逆汤对胃食管反流病肝胃不和证患者食管黏膜蛋白酶激活受体-2及环氧合酶-2蛋白表达的影响. 世界中医药 2018; 13: 130-133 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-7202.2018.10.032]
- 3 Johnson K, Iyer V, Katzka D, Ravi K, Lennon R, Pendegraft R, Geno D, Alexander J. Poor Relationship Between Fractionated Exhaled Nitric Oxide and Disease Activity in Eosinophilic Esophagitis. *Dysphagia* 2019; 34: 138-144 [PMID: 30043082 DOI: 10.1007/s00455-018-9925-4]
- 4 中华医学会消化病学分会. 2014年中国胃食管反流病专家共识意见. 中华消化杂志 2014; 34: 649-661 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-7125.2015.03.007]
- 5 邱新萍,陈瑞琳,周滔,王慧,许伟,祖茂衡,王勇,宗迎迎. 降逆清热化浊方对非糜烂性胃食管反流病大鼠模型食管组织降钙素基因相关肽的影响. 世界中医药 2019; 14: 112-115 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-7202.2019.03.019]
- 6 胡志伟,田书瑞,吴继敏,汪忠镐,张玉,王峰,杜兴,张丹. 胃食管反流病的普通胃镜学特点: 4086例临床分析. 解放军医学杂志 2018; 43: 46-52 [DOI: 10.11855/j.issn.0577-7402.2018.01.08]
- 7 Maruyama T, Fukata M, Akashi K. Association of atrial fibrillation and gastroesophageal reflux disease: Natural and therapeutic linkage of the two common diseases. *J Arrhythm* 2019; 35: 43-51 [PMID: 30805043 DOI: 10.1002/joa3.12125]
- 8 樊冬杰,侯健,黄玉伟. 六郁汤治疗反流性食管炎临床药效及对血浆TNF- $\alpha$ 、IL-6影响. 中华中医药学刊 2019; 37: 202-204 [DOI: 10.13193/j.issn.1673-7717.2019.01.050]
- 9 刘春丽,罗伟,陈如冲,赖克方,钟南山. 胃食管反流性咳嗽的诱导痰细胞及介质特征分析. 广东医学 2008; 29: 235-237 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-9448.2008.02.028]
- 10 Caracul L, Sastre E, Llévenes P, Prieto I, Funes T, Aller MÁ, Arias J, Balfagón G, Blanco-Rivero J. Acute-on-chronic liver disease enhances phenylephrine-induced endothelial nitric oxide release in rat mesenteric resistance arteries through enhanced PKA, PI3K/AKT and cGMP signalling pathways. *Sci Rep* 2019; 9: 6993 [PMID: 31061522 DOI: 10.1038/s41598-019-43513-y]
- 11 Oshiro T, Miyazato M, Kimura R, Ashikari A. MP38-02 Age-associated changes of nitric oxide-mediated urethral smooth muscle relaxation and external urethral sphincter function in rats. *Journal of Urology* 2018; 199: e500 [DOI: 10.1016/j.juro.2018.02.1229]
- 12 曹能琦,曹晓刚,孙宝林,全勇辉,魏春生. 食管胃结合部腺癌炎症反应和营养状态变化及对预后的影响. 中华普通外科学文献(电子版) 2019; 13: 137-142 [DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-0793.2019.02.011]
- 13 杨梅. PAR-2和COX-2在不同类型胃食管反流病患者病变组织中表达及与患者血清炎症因子水平关系. 现代中西医结合杂志 2016; 25: 3424-3426, 3430 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-8849.2016.31.002]
- 14 杨建杰,张玉林. COX2、CDX2在糜烂性食管炎、Barrate食管及食管腺癌中的表达及意义. 检验医学与临床 2017; 14: 1621-1623 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2017.11.036]
- 15 Prieto P, Jaén RI, Calle D, Gómez-Serrano M, Núñez E, Fernández-Velasco M, Martín-Sanz P, Alonso S, Vázquez J, Cerdán S, Peinado MÁ, Boscá L. Interplay between post-translational cyclooxygenase-2 modifications and the metabolic and proteomic profile in a colorectal cancer cohort. *World J Gastroenterol* 2019; 25: 433-446 [PMID: 30700940 DOI: 10.3748/wjg.v25.i4.433]

科学编辑: 张晗 制作编辑: 刘继红







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



ISSN 1009-3079

