

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.12.029

TGR5 和 CDX2 在胃黏膜肠化生及胃癌中的表达及意义 *

石 森¹ 刘彩芳¹ 孙妮娜¹ 倪 阵^{2,3} 韩 川^{2,4} 张 剑² 袁 挺^{2,5} 时永全^{1,2,Δ}

(1 西安医学院 陕西 西安 710021; 2 空军军医大学西京消化病医院 肿瘤生物学国家重点实验室 陕西 西安 710032;

3 中国人民解放军西部战区总医院消化内科 四川 成都 610083; 4 火箭军峨眉疗养院 四川 峨眉 614200;

5 中国人民解放军 150 医院消化内科 河南 洛阳 471000)

摘要 目的:探讨 G 蛋白偶联受体(G protein-coupled receptor, TGR5)和尾型同源盒 2(Caudal type homeobox 2, CDX2)在胃黏膜肠化生(Intestinal Metaplasia, IM)及胃癌中的表达和意义。**方法:**采用免疫组织化学染色法检测 TGR5 和 CDX2 在 57 例慢性胃炎、85 例 IM、98 例胃癌组织中的表达。比较各组间 TGR5 和 CDX2 的表达差异,并分析其与胃癌临床病理参数的关系及与胃癌患者预后的关系。利用 Spearman 秩相关检验分析 TGR5 和 CDX2 表达的相关性。**结果:**IM 和胃癌组织中 TGR5 的高表达率分别为 54.1%和 58.2%,二者比较无显著差异($P>0.05$),但均显著高于慢性胃炎组织($P<0.01$)。TGR5 高表达与胃癌患者 TNM 分期(III+IV 期)($P=0.004$)、淋巴结转移($P=0.046$)及预后较差($P=0.006$)相关。胃癌组织中 CDX2 的高表达率(30.6%)较 IM 组织(48.2%)显著降低($P<0.05$),但其均显著高于慢性胃炎组织($P<0.01$)。CDX2 高表达与胃癌患者 TNM 分期(I+II 期)($P=0.008$)、无淋巴结转移($P=0.014$)、预后较好($P=0.023$)相关。TGR5 和 CDX2 表达在慢性胃炎和 IM 中无相关性($P>0.05$),在胃癌中呈显著正相关($P=0.003$)。**结论:**TGR5 和 CDX2 在 IM 和胃癌组织中均显著上调,可能参与了 IM 和胃癌的发生发展。

关键词:胆汁酸; G 蛋白偶联受体(TGR5); 尾型同源盒 2 (CDX2); 胃黏膜肠上皮化生; 胃癌

中图分类号:R735.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)12-2334-06

Expression and Significance of TGR5 and CDX2 in Gastric Mucosal Intestinal Metaplasia and Gastric Carcinoma*

SHI Miao¹, LIU Cai-fang¹, SUN Ni-na¹, NI Zhen^{2,3}, HAN Chuan^{2,4}, ZHANG Jian², YUAN Ting^{2,5}, SHI Yong-quan^{1,2,Δ}

(1 Xi'an Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710021, China; 2 State Key Laboratory of Cancer Biology & Xijing Hospital of Digestive

Diseases, Air Force Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China; 3 Department of Gastroenterology, The General

Hospital of Western Theater Command, Chengdu, Sichuan, 610083, China; 4 Rocket Army Emei Sanatorium, Emei, Sichuan, 614200, China;

5 Department of Gastroenterology, The 150 Hospital of the People's Liberation Army, Luoyang, Henan, 471000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression and significance of G protein-coupled receptor(TGR5)and Caudal type homeobox 2 (CDX2) in the gastric mucosal intestinal metaplasia (IM) and gastric carcinoma. **Methods:** Immunohistochemical staining was used to detect the expression of TGR5 and CDX2 in 57 cases of chronic gastritis, 85 cases of IM and 98 cases of gastric cancer. The differences in expression of TGR5 and CDX2 between the groups were compared, and the relationship between the expression of TGR5 and CDX2 and the clinicopathological parameters and prognosis of gastric cancer patients were analyzed. Spearman rank correlation test was used to analyze the correlation between the TGR5 and CDX2 expression. **Results:** The high expression rates of TGR5 in the IM and gastric cancer tissue were 54.1% and 58.2%, respectively ($P>0.05$), but they were significantly higher than chronic gastritis tissue($P<0.01$). High expression of TGR5 was associated with TNM stage(III+IV stage)($P=0.004$), lymph node metastasis($P=0.046$), and worse prognosis($P=0.006$) of patients with gastric cancer. The high expression rate of CDX2 in the gastric cancer tissue (30.6%) was significantly lower than that in IM tissue (48.2%)($P<0.05$), but both were significantly higher than those in the chronic gastritis tissue($P<0.01$). High expression of CDX2 was associated with the TNM stage(I+II stage)($P=0.008$), no lymph node metastasis($P=0.014$), and better prognosis($P=0.023$) in patients with gastric cancer. There was no correlation between TGR5 and CDX2 expression in the chronic gastritis and IM ($P>0.05$), but they were positively correlated in the gastric cancer ($P=0.003$). **Conclusions:** TGR5 and CDX2 are significantly up-regulated in both IM and gastric cancer tissues, and may be involved in the occurrence and development of IM and gastric cancer.

Key words: Bile acid; G protein-coupled receptor (TGR5); Caudal type homeobox 2 (CDX2); Intestinal Metaplasia; Gastric Carcinoma

Chinese Library Classification(CLC): R735.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)12-2334-06

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81873554);陕西省创新计划项目(2018TD-003)

作者简介:石森(1992-),硕士研究生,研究方向:胃早癌防治研究,电话:18991606106, E-mail: 1002721793@qq.com

Δ 通讯作者:时永全(1973-),主任医师,教授,博士生导师,主要研究方向:消化系统肿瘤的生物学行为及早癌防治研究, E-mail: shiyquan@fmmu.edu.cn

(收稿日期:2019-01-03 接受日期:2019-01-26)

前言

我国胃癌的发病率和死亡率分别居恶性肿瘤的第三位和第二位,严重威胁人民生命健康^[1,2]。一般认为,胃癌尤其是肠型胃癌的发展遵循 Correa 模型^[3]:慢性浅表性胃炎 -- 慢性萎缩性胃炎 -- 胃黏膜肠化生 (Intestinal Metaplasia, IM)-- 异型增生 -- 原位癌。其中,IM 是重要的癌前病变^[4]。

肠特异性转录因子尾型同源盒 2(Caudal type homeobox 2, CDX2)在调控肠道上皮发育分化和表型维持中发挥重要作用^[5]。CDX2 在正常胃黏膜中不表达,但在 IM 和胃癌组织中异常活化^[6]。细胞实验和转基因鼠研究^[6-9]证实 CDX2 可以直接调控肠特异性分子的转录,诱导 IM 甚至促进胃癌的发生。因此,CDX2 的异位表达和活化是 IM 和胃癌发生的关键。

除了幽门螺旋杆菌感染外,胆汁反流是 IM 和胃癌的重要因素^[10,11]。细胞实验^[12]证实胆汁酸诱导正常胃上皮细胞中 CDX2 及其下游分子的表达。胆汁酸膜受体 G 蛋白偶联受体 (G protein-coupled receptor, TGR5)介导胆汁酸对下游信号通路和细胞功能的调节^[13,14]。因此,TGR5 是否参与肠化生及胃癌的发生发展值得进一步研究。本实验主要检测了 TGR5 和 CDX2 蛋白在慢性胃炎、IM、胃癌组织中的表达,并分析了其临床病理意义和二者相关性,以期为进一步探索胆汁酸在 IM 及胃癌发生发展中的作用机制提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 材料

57 例慢性胃炎中,7 例组织样本选自空军军医大学西京消化病医院病理科存档的 2018 年胃镜下活检标本;慢性胃炎组织芯片(ST806)购买于西安艾丽娜生物科技有限公司,包含 50 例慢性胃炎位点。胃黏膜肠化生组织芯片(ST8017a)购买于西安艾丽娜生物科技有限公司,包含 85 例肠化生位点。胃癌组织芯片(HStmA180Su15)购买于上海芯超生物科技有限公司,包含 98 例胃癌位点,手术时间 2006 年 7 月~2007 年 4 月,随访截至时间 2015 年 7 月 31 日,平均随访 8.2~9.0 年。所有病例均经患者签署知情同意书,本研究经空军军医大学西京消化病医院道德与伦理委员会批准。

兔抗人多克隆抗体 TGR5 (ab72608)、兔抗人单克隆抗体 CDX2(ab76541)均购于 abcam 公司。免疫组化相关试剂购于北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2 免疫组化染色

每例标本常规连续切片 2 张,厚 4 μm ,置于 65 度烤箱过夜;常规二甲苯脱蜡,梯度酒精水化,10%柠檬酸盐修复液,高压加热修复抗原,3% H_2O_2 灭活内源性过氧化物酶,正常山羊血清封闭,配制并滴加 TGR5 (ab72608,1:100) 和 CDX2 (ab76541,1:800)一抗工作液,4 度过夜,滴加二抗,DAB 显色,显微镜下观察显色情况,苏木精复染,梯度酒精脱水,二甲苯透明,中性树脂封片。TGR5 和 CDX2 阳性对照,采用人结肠组织标本;阴性对照,采用 PBS 代替一抗。

1.3 染色结果判定标准

由两名经验丰富的病理专家在不知病理资料的情况下独立阅片。采用半定量法判读结果,染色强度:无着色 0 分,淡黄色 1 分,棕黄色 2 分,深褐色 3 分。阳性细胞百分比:0-5% 0 分,6-25% 1 分,26-50% 2 分,51-75% 3 分,76-100% 4 分。根据两者的乘积判定为:0-4 为低表达,5-12 为高表达。

1.4 统计学方法

使用 SPSS 23.0 统计分析所有数据。 χ^2 检验或 Fisher 精确检验用于分析 TGR5 和 CDX2 在组间的表达差异及与胃癌患者临床病理资料的关系。Spearman 秩相关检验用于分析 TGR5 和 CDX2 两者表达的相关性。Kaplan-Meier 法用于估计生存率,并描绘生存曲线,Log-rank 检验用于比较生存率的差异。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 慢性胃炎、IM 及胃癌组织中 TGR5、CDX2 的表达

慢性胃炎、IM、胃癌组织中 TGR5 表达于细胞膜和/或细胞质中,阳性表达呈现出不同程度的淡黄色至深褐色着色(见图 1 A、B、C)。慢性胃炎中 TGR5 高表达率为 22.8%,IM 中 TGR5 高表达率为 54.1%,胃癌中 TGR5 高表达率为 58.2%。IM 和胃癌组织中 TGR5 的高表达率显著高于慢性胃炎组织($P=0.000$),胃癌与 IM 组织中 TGR5 高表达率比较差异无统计学意义($P>0.05$)(见表 1)。

CDX2 主要在极少数慢性胃炎和 IM、胃癌组织的细胞核着色,阳性表达呈不同程度的浅黄色至深褐色颗粒样,近核周的胞浆中也有少量着色(见图 1 D、E、F)。慢性胃炎中 CDX2 的高表达率为 5.3%,IM 中 CDX2 的高表达率为 48.2%,胃癌中 CDX2 的高表达率为 30.6%。IM 和胃癌中 CDX2 的高表达率均显著高于慢性胃炎组织($P=0.000$),而胃癌组织中 CDX2 高表达率显著低于 IM 组织($P=0.015$)(见表 1)。

表 1 慢性胃炎、IM、胃癌组织中 TGR5 和 CDX2 的表达

Table 1 Expression of TGR5 and CDX2 in the chronic gastritis, Intestinal Metaplasia and gastric cancer

Groups	n	TGR5		χ^2	P value	CDX2		χ^2	P value
		Low	High			Low	High		
CG	57	44(77.2%)	13(22.8%)	13.773 ^a	0.000 ^a	54(94.7%)	3(5.3%)	29.463 ^a	0.000 ^a
IM	85	39(45.9%)	46(54.1%)	18.191 ^b	0.000 ^b	44(51.8%)	41(48.2%)	13.819 ^b	0.000 ^b
GC	98	41(41.8%)	57(58.2%)	0.303 ^c	0.582 ^c	68(69.4%)	30(30.6%)	5.954 ^c	0.015 ^c

Note: CG: Chronic Gastritis; IM: Intestinal Metaplasia; GC Gastric Carcinoma; a: IM vs CG; b: GC vs CG; c: GC vs IM.

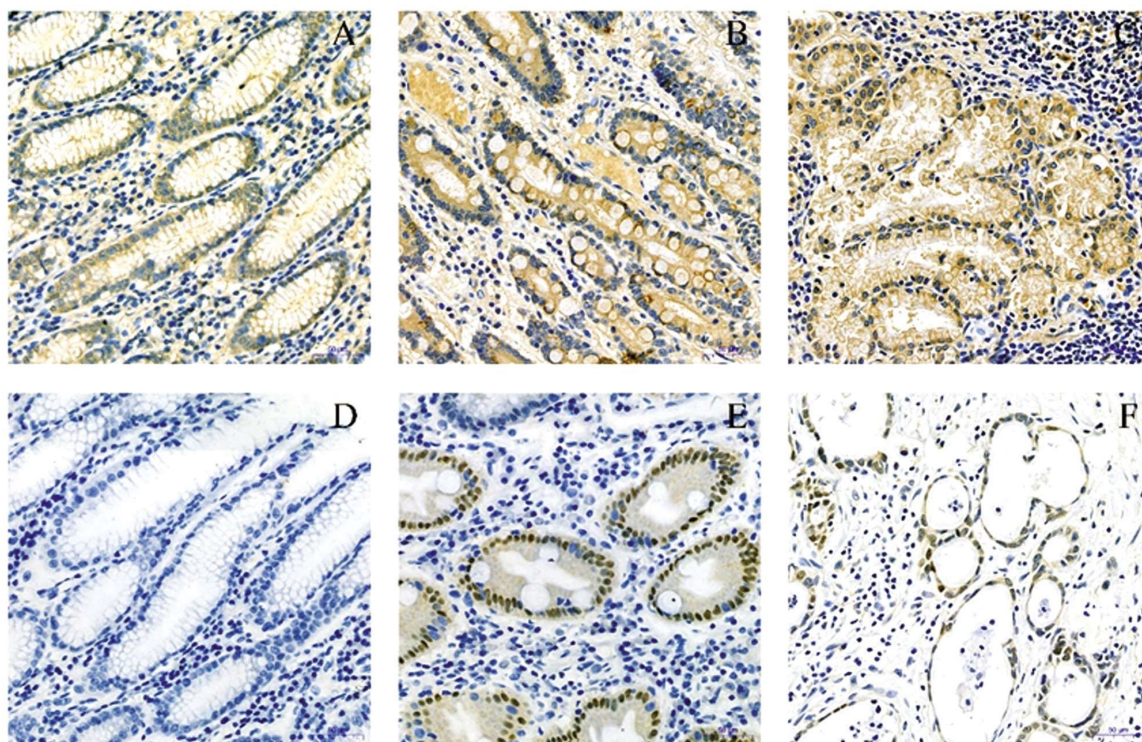


图1 慢性胃炎、IM、胃癌中 TGR5 和 CDX2 的表达

Fig.1 Expression of TGR5 and CDX2 in the chronic gastritis, Intestinal Metaplasia, and gastric cancer

Note: Expression of TGR5 in Chronic Gastritis(A), Intestinal Metaplasia(B), and Gastric Cancer(C)(SP method $\times 20$); Expression of CDX2 in Chronic Gastritis(D), Intestinal Metaplasia(E), and Gastric Cancer(F)(SP method $\times 20$).

2.2 TGR5、CDX2 的表达与胃癌患者临床病理参数的相关性

III+IV 期胃癌组织中 TGR5 的高表达率(70.7%)显著高于 I+II 期胃癌组织(41.0%)($P=0.004$)。有区域淋巴结转移的胃癌组织中 TGR5 的高表达率 (64.8%) 显著高于无淋巴结转移者(42.3%)($P=0.046$)。TGR5 表达与胃癌患者的年龄、性别、肿瘤大小、部位、浸润深度、远处转移、WHO 病理分型、进展期胃癌 Borrmann 分型均无显著相关性($P>0.05$)。

I+II 期胃癌组织中 CDX2 的高表达率(46.2%)显著高于 II+IV 期胃癌组织(20.7%)($P=0.008$)。无淋巴结转移的胃癌组织中 CDX2 的高表达率(50.0%)显著高于有淋巴结转移者(23.9%)($P=0.014$)。CDX2 的表达与胃癌患者的年龄、性别、肿瘤大小、部位、浸润深度、远处转移、WHO 病理分型、Borrmann 分型无显著相关性($P>0.05$)。见表 2。

表 2 TGR5 和 CDX2 的表达与胃癌患者临床病理参数的相关性

Table 2 Correlation of TGR5 and CDX2 expression with the clinical pathological parameters of gastric cancer patients

Parameters	n	TGR5			χ^2	<i>P</i> value	CDX2			χ^2	<i>P</i> value
		Low	High	High rate			Low	High	High rate		
Age ^a											
<60 years	32	16	16	50.0%	1.043	0.307	24	8	25.0%	0.873	0.350
≥ 60 years	64	25	39	60.9%			42	22	34.4%		
Gender											
Male	62	28	34	54.8%	0.767	0.381	43	19	30.6%	0.000	0.993
Female	36	13	23	63.9%			25	11	30.6%		
TNM stage ^a											
I+II	39	23	16	41.0%	8.468	0.004	21	18	46.2%	7.078	0.008
III+IV	58	17	41	70.7%			46	12	20.7%		
T stage ^a											
T1+T2	13	8	5	38.5%	2.284	0.131	8	5	38.5%	0.399	0.528
T3+T4	84	33	51	60.7%			59	25	29.8%		

Lymph node metastasis ^a											
No	26	15	11	42.3%	3.969	0.046	13	13	50.0%	6.048	0.014
Yea	71	25	46	64.8%			54	17	23.9%		
Distant metastasis											
No	89	37	52	58.4%	0.000	1.000	61	28	31.5%	0.037	0.846
Yes	9	4	5	55.6%			7	2	22.2%		
Tumor size ^a											
<5 cm	39	18	21	53.8%	0.544	0.461	25	14	35.9%	1.440	0.230
≥ 5 cm	57	22	35	61.4%			43	14	29.2%		
Location ^a											
Upper	12	4	8	66.7%	6.535	0.088	7	5	41.7%	2.151	0.536
Middle	28	9	19	67.9%			19	9	32.1%		
Lower	50	27	23	46.0%			37	13	26.0%		
Whole	3	0	3	100%			3	0	100%		
WHO type ^a											
TA	17	4	13	76.5%	6.432	0.092	11	6	35.3%	2.272	0.532
MA	8	6	2	25.0%			6	2	25.0%		
SRC	4	1	3	75.0%			4	0	0.0%		
UC	12	5	7	58.3%			10	2	16.7%		
Borrmann type ^a											
I	8	3	5	62.5%	0.931	0.818	3	5	62.5%	7.503	0.057
II	33	16	17	51.5%			27	6	18.2%		
III	37	14	23	62.2%			24	13	35.1%		
IV	11	5	6	54.5%			9	2	18.2%		

Note: a, Except patients without detailed records. TA: Tubular adenocarcinoma; MA: Mucus adenocarcinoma; SRC: Signet ring cell carcinoma; UC: Undifferentiated carcinoma.

2.3 慢性胃炎、IM、胃癌组织中 TGR5 和 CDX2 表达的相关性 性($P>0.05$)(见表 3、4)。而胃癌组织中 TGR5 和 CDX2 表达呈显著正相关($r=0.294$, $P=0.003$)(见表 5)。

表 3 慢性胃炎组织中 TGR5 和 CDX2 表达的相关性($n=57$)

Table 3 Correlation of the expression of TGR5 with CDX2 expression in the chronic gastritis($n=57$)

TGR5	CDX2		r	P value
	Low	High		
Low	43	1	0.246	0.065
High	11	2		

表 4 IM 组织中 TGR5 和 CDX2 表达的相关性($n=85$)

Table 4 Correlation of the expression of TGR5 with CDX2 expression in the intestinal metaplasia($n=85$)

TGR5	CDX2		r	P value
	Low	High		
Low	22	17	0.086	0.436
High	22	24		

表 5 胃癌组织中 TGR5 和 CDX2 表达的相关性(n=98)

Table 5 Correlation of the expression of TGR5 with CDX2 expression in the gastric carcinoma(n=98)

TGR5	CDX2		r	P value
	Low	High		
Low	35	6	0.294	0.003
High	33	24		

2.4 TGR5、CDX2 的表达与胃癌患者生存率的关系

98 例胃癌患者均具有完整的随访资料, 随访时间 8.2-9 年。Kaplane-Meier 生存分析显示 TGR5 高表达的胃癌患者中位生存时间估计值 22 个月, TGR5 低表达者中位生存时间估计值 78 个月。TGR5 高表达胃癌患者生存率显著低于 TGR5 低表达者, 差异有统计学意义($P=0.006$), 见图 2A。CDX2 高表达的胃癌患者中位生存时间估计值 85 个月, 低表达者中位生存时间估计值 23 个月。CDX2 高表达的胃癌患者生存率显著

高于 CDX2 低表达者, 差异有统计学意义($P=0.023$), 见图 2B。根据 TGR5、CDX2 在胃癌中联合表达进行生存分析, 结果显示 TGR5 低表达和 CDX2 高表达患者共 6 例, 5 例截止随访结束仍然存活, 平均生存期约 103 月。TGR5 低表达和 CDX2 低表达者中位生存时间估计值 60 个月。TGR5 高表达和 CDX2 高表达者中位生存时间估计值 50 个月。TGR5 高表达和 CDX2 低表达者中位生存时间估计值 20 个月($P=0.000$)。见图 2C。

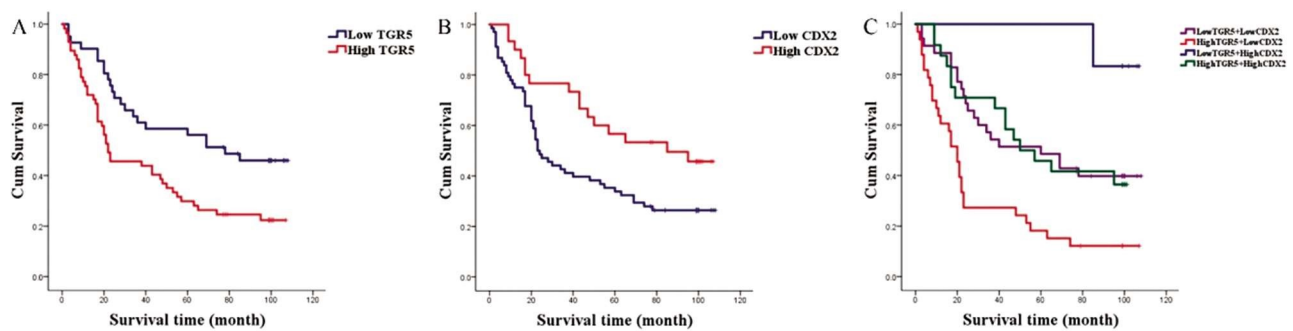


图 2 TGR5 和 CDX2 表达与胃癌患者预后的关系

Fig.2 Correlation of the TGR5 and CDX2 expression with the prognosis of gastric cancer patients

3 讨论

CDX2 是一种肠特异性核转录因子, 可以直接调控许多参与肠细胞增殖、分化、命运决定等过程的基因表达, 如蔗糖酶-异麦芽糖酶(sucrase-isomaltase)、L1- 钙粘蛋白(L1-cadherin)、粘蛋白 2(MUC2)、绒毛蛋白(villin)等^[9], 在肠道发育分化和肠表型维持中发挥重要作用。在成人中, CDX2 表达限于肠道, 在正常胃黏膜中不表达。而 CDX2 异位表达与 IM 密切相关。转基因鼠研究^[7]证实胃特异性表达 CDX2 可引起广泛的 IM, 其不仅具有形态上的转化, 还具备部分肠道功能。本研究结果显示慢性胃炎组织中存在较低的 CDX2 表达, 与之相比, IM 组织中 CDX2 的表达显著增高, 说明 CDX2 的异位表达开始于慢性胃炎阶段, 并在 IM 中显著性高表达, 提示 CDX2 在 IM 的发展中发挥关键作用。这与陈吉等^[15]和孙丹等^[16]的研究结果一致。

Mutoh H 等^[8]经过较长时间的研究发现 CDX2 转基因鼠中的 IM 全部进展至胃癌, 提示 CDX2 可能在胃癌的发生中起促进作用。而 Liu Q 等^[17]研究发现在 IM、异型增生、胃癌的进展中, CDX2 表达逐渐降低。本研究结果显示胃癌组织中 CDX2 的表达显著高于慢性胃炎组织, 但与 IM 组织相比, CDX2 的表达显著降低, 提示 CDX2 可能参与胃癌的发生, 但在胃癌进展阶段具有潜在的肿瘤抑制作用。此外, 我们发现随着胃癌患者 TNM 分期的进展和区域淋巴结转移的出现, CDX2 的表达显

著降低, 提示 CDX2 高表达可能参与胃癌的恶性进展和转移的抑制。李玄等^[18]和王柏桦等^[19]的研究结果与此一致。细胞和裸鼠成瘤实验^[20]结果也显示 CDX2 过表达可以抑制胃癌细胞侵袭, 逆转上皮间质转化。结合胃癌患者 9 年的随访资料, 我们发现 CDX2 低表达胃癌患者的生存率显著低于 CDX2 高表达者, 这与 Masood MA 等^[21]和 Nakayama C 等^[22]的研究结果一致。上述结果提示在胃癌发生的不同阶段, CDX2 发挥着不同的作用, 一方面在胃炎到胃癌过程中, CDX2 活化促进了胃癌的发生, 而在胃癌进展过程中, CDX2 可能通过促进胃癌细胞的肠型分化发挥抑癌作用, 并且 CDX2 高表达可作为胃癌患者预后良好的预测指标。

TGR5 是 G 蛋白偶联受体超家族的成员, 已被鉴定为胆汁酸的膜受体。胆汁酸激活 TGR5 后引起受体内化和 Ga 亚基的释放, 通过激活腺苷酸环化酶(AC)诱导环磷酸腺苷(cAMP)产生增加, 激活蛋白激酶 A(PKA)途径, 调节靶基因表达^[13,14], 参与能量代谢、葡萄糖代谢、炎症反应等调节^[23,24]。TGR5 在机体内表达普遍, 包括胃、肠道、免疫细胞等^[13]。本研究结果显示 TGR5 的表达模式为细胞膜和 / 或细胞质表达。细胞质着色可能与胆汁酸激活 TGR5 后引起受体内化有关。TGR5 在慢性胃炎组织中表达稍弱, 与之相比, 在 IM 组织中表达显著增高, 提示 TGR5 可能在 IM 的发生发展中起重要作用。类似的, Cao W 等^[25]的研究发现 TGR5 在正常胃黏膜中表达较弱, 并且仅在 IM 组织中

检测到 TGR5 强染色。

与慢性胃炎相比,胃癌组织中 TGR5 的表达显著增加,但与 IM 组织比较无显著差异,提示 TGR5 可能参与胃癌的发生发展。但在 IM 至胃癌的进展中,TGR5 的表达没有进一步上调。接下来,我们分析了 TGR5 表达与胃癌患者临床病理参数的关系,发现随着胃癌患者 TNM 分期的进展和区域淋巴结转移的出现,TGR5 的表达显著增加,提示 TGR5 可能在胃癌的恶性进展和转移中起重要作用。与此类似,Carino A 等^[26]通过体内外研究发现 TGR5 在进展期胃癌(III-IV 期)显著高表达。胃癌细胞中 TGR5 的激活可以促进上皮间质转化和侵袭性表型的获得。Cao W 等^[25]研究发现中至强度 TGR5 染色与胃癌患者存活率降低相关。本研究也发现 TGR5 高表达胃癌患者生存率显著低于 TGR5 低表达者,提示 TGR5 高表达可作为胃癌患者预后较差的预测指标。Chen MC 等^[27]的研究结果与此一致。从 TGR5、CDX2 在胃癌中联合表达的生存分析结果来看,TGR5 低表达和 CDX2 高表达患者生存率最高,TGR5 高表达和 CDX2 低表达者生存率最低。这提示二者联合检测可能对胃癌患者预后的预测效果更好,但有待进一步的临床研究证实。

胆汁反流是 IM 和胃癌重要的危险因素之一。临床研究证明^[28]无论有无幽门螺旋杆菌感染,胃内高浓度的胆汁酸与 IM 的风险升高有关。本课题组^[29]先前通过免疫组化检测发现胆汁酸核受体法尼酯衍生物 X 受体(Farnesoid X-activated receptor, FXR)和 CDX2 在 IM 组织中同时过表达并且显著正相关。体外细胞实验证实 FXR/SHP 信号参与胆汁酸诱导的 CDX2 及其下游分子的异位表达,参与 IM 的发生。动物研究^[30]结果显示通过幽门回流胆汁的大鼠模型中,胃腺癌的发生率高达 41%。回顾性研究^[31]也证实胃内存在高浓度胆汁酸的患者,胃癌发病率更高。本研究结果显示与慢性胃炎相比,TGR5 和 CDX2 在 IM 组织中表达均显著增加,但在慢性胃炎和 IM 中二者表达无相关性,提示 TGR5 和 CDX2 均参与 IM 的发生发展,但二者可能不存在上下游或因果关系,可能通过不同的途径发挥作用,具体机制有待进一步的深入研究证实。同时,与慢性胃炎相比,胃癌组织中 TGR5 和 CDX2 表达均增高,且二者表达显著正相关,提示 TGR5 和 CDX2 可能均在胃癌的进展中发挥重要作用。但是,本研究结果提示 CDX2 在肠化生至胃癌的进展中表达下降,与 TNM 分期和淋巴结转移负相关,并且 CDX2 高表达者预后更好。而 TGR5 在肠化生至胃癌的进展中表达并没有进一步改变,与 TNM 分期和淋巴结转移正相关,并且 TGR5 高表达者预后更差,说明 TGR5 和 CDX2 在胃癌发生和进展的不同阶段中的作用不完全一致。

总之,本研究结果表明 TGR5 和 CDX2 在 IM 和胃癌中均呈现高表达,且在胃癌中显著正相关,可能是 IM--胃癌发生的关键因素,并且 CDX2 可能在胃癌的进展中发挥抑癌作用,其高表达可作为胃癌预后良好的参考标志。TGR5 在 IM 至胃癌中表达无进一步变化,与 TNM 分期和淋巴结转移正相关,其高表达可能作为胃癌预后差的参考标志物。

参考文献(References)

- [1] Chen W, Sun K, Zheng R, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2014[J]. Chin J Cancer Res, 2018, 30(1): 1-12
- [2] Yang L, Zheng R, Wang N, et al. Incidence and mortality of stomach cancer in China, 2014[J]. Chin J Cancer Res, 2018, 30(3): 291-298
- [3] Correa P. A human model of gastric carcinogenesis [J]. Cancer Res, 1988, 48(13): 3554-3560
- [4] Giroux V, Rustgi A K. Metaplasia: tissue injury adaptation and a precursor to the dysplasia-cancer sequence[J]. Nat Rev Cancer, 2017, 17(10): 594-604
- [5] Oue N, Sentani K, Sakamoto N, et al. Clinicopathologic and molecular characteristics of gastric cancer showing gastric and intestinal mucin phenotype[J]. Cancer Sci, 2015, 106(8): 951-958
- [6] Barros R, Freund J N, David L, et al. Gastric intestinal metaplasia revisited: function and regulation of CDX2 [J]. Trends Mol Med, 2012, 18(9): 555-563
- [7] Silberg D G, Sullivan J, Kang E, et al. Cdx2 ectopic expression induces gastric intestinal metaplasia in transgenic mice [J]. Gastroenterology, 2002, 122(3): 689-696
- [8] Mutoh H, Sakurai S, Satoh K, et al. Development of gastric carcinoma from intestinal metaplasia in Cdx2-transgenic mice [J]. Cancer Res, 2004, 64(21): 7740-7747
- [9] Joo M K, Park J J, Chun H J. Impact of homeobox genes in gastrointestinal cancer[J]. World J Gastroenterol, 2016, 22(37): 8247-8256
- [10] Jiang J X, Liu Q, Zhao B, et al. Risk factors for intestinal metaplasia in a southeastern Chinese population: an analysis of 28,745 cases[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2017, 143(3): 409-418
- [11] Karimi P, Islami F, Anandasabapathy S, et al. Gastric cancer: descriptive epidemiology, risk factors, screening, and prevention [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2014, 23(5): 700-713
- [12] Li S, Chen X, Zhou L, et al. Farnesoid X receptor signal is involved in deoxycholic acid-induced intestinal metaplasia of normal human gastric epithelial cells[J]. Oncol Rep, 2015, 34(5): 2674-2682
- [13] Martinot E, Sèdes L, Baptissart M, et al. Bile acids and their receptors [J]. Mol Aspects Med, 2017, 56: 2-9
- [14] Duboc H, Taché Y, Hofmann A F. The bile acid TGR5 membrane receptor: from basic research to clinical application [J]. Dig Liver Dis, 2014, 46(4): 302-312
- [15] 陈吉,徐征宇.胃黏膜病变过程中 SOX9、CDX2 基因的表达及相关性研究[J]. 国际消化病杂志, 2018, 38(05): 340-343
- [16] 孙丹,武洋,辛彦,等. Sox2 和 Cdx2 基因编码蛋白在胃癌及其癌前病变中的表达及意义[J]. 现代肿瘤医学, 2016, 24(10): 1585-1591
- [17] Liu Q, Teh M, Ito K, et al. CDX2 expression is progressively decreased in human gastric intestinal metaplasia, dysplasia and cancer [J]. Mod Pathol, 2007, 20(12): 1286-1297
- [18] 李玄,鄧敏,何欢,等. CDX2 表达水平与胃癌患者病理特征及预后的关系[J]. 新医学, 2017, 48(10): 736-741
- [19] 王柏桦,孟加榕,唐忠辉,等. RRMI、CDX2 在胃癌组织中的表达及临床意义[J]. 现代肿瘤医学, 2017, 48(05): 475-478
- [20] Zhang J F, Qu L S, Qian X F, et al. Nuclear transcription factor CDX2 inhibits gastric cancer cell growth and reverses epithelial to mesenchymal transition in vitro and in vivo [J]. Mol Med Rep, 2015, 12(4): 5231-5238
- [21] Masood M A, Loya A, Yusuf M A. CDX2 as a prognostic marker in gastric cancer[J]. Acta Gastroenterol Belg, 2016, 79(2): 197-200
- [22] Nakayama C, Yamamichi N, Tomida S, et al. Transduced caudal type homeobox (CDX) 2/CDX1 can induce growth inhibition on CDX-deficient gastric cancer by rapid intestinal differentiation[J]. Cancer Sci, 2018, 109(12): 3853-3864

- chopulmonary Dysplasia[J]. *Am J Perinatol*, 2017, 34(12): 1199-1204
- [11] Venkatnarayan K, Gupta A, Adhikari KM. Reversible myelofibrosis due to severe Vitamin D deficiency rickets [J]. *Med J Armed Forces India*, 2018, 74(4): 404-406
- [12] Michigami T. Rickets/Osteomalacia. Consensus on Vitamin D Deficiency and Insufficiency in Children [J]. *Clin Calcium*, 2018, 28(10): 1307-1311
- [13] Roizen JD, Li D, O'Leary L, et al. CYP3A4 mutation causes vitamin D-dependent rickets type 3[J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(5): 1913-1918
- [15] Ives R, Humphrey L. Endochondral growth disruption during vitamin D deficiency rickets in a mid-19th century series from Bethnal Green, London, UK[J]. *Am J Phys Anthropol*, 2018, 167(3): 585-601
- [16] Uday S, Högl W. Prevention of rickets and osteomalacia in the UK: political action overdue[J]. *Arch Dis Child*, 2018, 103(9): 901-906
- [17] Kubota T. Rickets/Osteomalacia. Symptomatic vitamin D deficiency in children and its prevention and treatment [J]. *Clin Calcium*, 2018, 28(10): 1381-1386
- [18] Jadhav SP, Golriz F, Atweh LA, et al. CT angiography of neonates and infants: comparison of radiation dose and image quality of target mode prospectively ECG-gated 320-MDCT and ungated helical 64-MDCT[J]. *AJR Am J Roentgenol*, 2015, 204(2): 184-191
- [19] Callahan MJ, Talmadge JM, MacDougall R, et al. The Use of Enteric Contrast Media for Diagnostic CT, MRI, and Ultrasound in Infants and Children: A Practical Approach[J]. *AJR Am J Roentgenol*, 2016, 206(5): 973-979
- [20] Krikke M, Yumani D, Rustenburg C, et al. Assessing bone development in preterm infants using quantitative ultrasonography showed a decline in the early postnatal period [J]. *Acta Paediatr*, 2018, 107(2): 227-233
- [21] Zuccotti G, Viganò A, Cafarelli L, et al. Longitudinal changes of bone ultrasound measurements in healthy infants during the first year of life: influence of gender and type of feeding [J]. *Calcif Tissue Int*, 2011, 89(4): 312-317
- [22] Liao XP, Zhang WL, Yan CH, et al. Reduced tibial speed of sound in Chinese infants at birth compared with Caucasian peers: the effects of race, gender, and vitamin D on fetal bone development[J]. *Osteoporos Int*, 2010, 21(12): 2003-2011
- [23] Rosendahl J, Valkama S, Holmlund-Suila E, et al. Effect of Higher vs Standard Dosage of Vitamin D3 Supplementation on Bone Strength and Infection in Healthy Infants: A Randomized Clinical Trial[J]. *JAMA Pediatr*, 2018, 172(7): 646-654
- [24] Stalnakar KA, Poskey GA. Osteopenia of Prematurity: Does Physical Activity Improve Bone Mineralization in Preterm Infants[J]. *Neonatal Netw*, 2016, 35(2): 95-104
- [25] Schulzke SM, Kaempfen S, Trachsel D, et al. Physical activity programs for promoting bone mineralization and growth in preterm infants[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2014, (4): CD005387
- [26] Hong AR, Kim SW. Effects of Resistance Exercise on Bone Health [J]. *Endocrinol Metab (Seoul)*, 2018, 33(4): 435-444
- [27] Shaw SC, Sankar MJ, Thukral A, et al. Assisted Physical Exercise for Improving Bone Strength in Preterm Infants Less than 35 Weeks Gestation: A Randomized Controlled Trial [J]. *Indian Pediatr*, 2018, 55(2): 115-120
- [28] Liang Y, Ren HY, Zuo PX. Associations Between Maternal Nutrition Knowledge, Attitude, and Practice and 25-Hydroxyvitamin D Levels and Rickets in Children in Xinjiang Province, People's Republic of China[J]. *Asia Pac J Public Health*, 2018, 30(4): 378-386
- [29] Bravo MP, Balboa P, Torrejón C, et al. Bone mineral density, lung function, vitamin D and body composition in children and adolescents with cystic fibrosis: a multicenter study [J]. *Nutr Hosp*, 2018, 35(4): 789-795
- [30] Sugiyama T. Vitamin D and bone health: key involvement of physical activity[J]. *J Intern Med*, 2018, 284(1): 108-109

(上接第 2339 页)

- [23] Donkers J M, Roscam A RLP, van de Graaf SFJ. Developments in bile salt based therapies: a critical overview [J]. *Biochem Pharmacol*, 2018, 161: 1-13
- [24] Đanić M, Stanimirov B, Pavlović N, et al. Pharmacological Applications of Bile Acids and Their Derivatives in the Treatment of Metabolic Syndrome[J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 1382
- [25] Cao W, Tian W, Hong J, et al. Expression of bile acid receptor TGR5 in gastric adenocarcinoma [J]. *Am J Physiol. Gastrointest. Liver Physiol*, 2013, 304(4): G322-327
- [26] Carino A, Graziosi L, D'Amore C, et al. The bile acid receptor GPBAR1 (TGR5) is expressed in human gastric cancers and promotes epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer cell lines [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(38): 61021-61035
- [27] Chen M C, Chen Y L, Wang T W, et al. Membrane bile acid receptor TGR5 predicts good prognosis in ampullary adenocarcinoma patients with hyperbilirubinemia[J]. *Oncol Rep*, 2016, 36(4): 1997-2008
- [28] Matsuhisa T, Arakawa T, Watanabe T, et al. Relation between bile acid reflux into the stomach and the risk of atrophic gastritis and intestinal metaplasia: a multicenter study of 2283 cases[J]. *Dig Endosc*, 2013, 25(5): 519-525
- [29] Zhou H, Ni Z, Li T, et al. Activation of FXR promotes intestinal metaplasia of gastric cells via SHP-dependent upregulation of the expression of CDX2[J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(5): 7617-7624
- [30] Miwa K, Hasegawa H, Fujimura T, et al. Duodenal reflux through the pylorus induces gastric adenocarcinoma in the rat[J]. *Carcinogenesis*, 1992, 13(12): 2313-2316
- [31] Tatsugami M, Ito M, Tanaka S, et al. Bile acid promotes intestinal metaplasia and gastric carcinogenesis[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2012, 21(11): 2101-2107