

· 临床论著 ·

慢性糜烂性胃炎 HGF、c-Met 相关性研究

王彦刚¹ 吕静静¹ 董 环² 周盼盼¹

摘要 目的 观察慢性糜烂性胃炎患者血清及胃黏膜组织肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)及 HGF 受体(c-Met)相关性。**方法** 选择 70 例慢性糜烂性胃炎患者,分为浊毒内蕴证和肝胃不和证组,检测两组血清 HGF 表达水平及胃黏膜组织 HGF、c-Met 表达水平。分析胃黏膜组织 HGF、c-Met 相关性及血清和胃黏膜组织 HGF 相关性。**结果** 浊毒内蕴组 HGF、c-Met 表达水平明显高于肝胃不和组($P < 0.05$);胃黏膜组织中 HGF 和 c-Met 的表达呈正相关($r = 0.831, P < 0.05$);血清 HGF 水平和胃黏膜组织中 HGF 的表达呈正相关($r = 0.656, P < 0.05$)。**结论** 慢性糜烂性胃炎浊毒内蕴证与 HGF、c-Met 存在相关性。

关键词 慢性糜烂性胃炎;浊毒内蕴证;肝细胞生长因子;肝细胞生长因子受体

Correlation Research on HGF and c-Met of Chronic Erosive Gastritis Patients WANG Yan-gang¹, LV Jing-jing¹, DONG Huan², and ZHOU Pan-pan¹ 1 Gastroenterology Department, Hebei Province Hospital of Chinese Medicine, Shijiazhuang (050011); 2 Graduate School of Hebei Medical University, Shijiazhuang (050017)

ABSTRACT Objective To observe the correlation of hepatocyte growth factor (HGF) and Hepatocyte growth factor receptor (c-Met) in serum and gastric mucosa tissues of chronic erosive gastritis patients. **Methods** Totally 70 patients with chronic erosive gastritis were selected and assigned to turbidity toxin intrinsic syndrome group and Gan-wei disharmony syndrome group, HGF expression level of serum, and HGF, c-Met expression level of gastric mucosa tissues were measured; the correlation of HGF and c-Met in gastric mucosa tissues, and the correlation of HGF in serum and gastric mucosa tissues were analyzed. **Results** The expression level of HGF and c-Met in turbidity toxin intrinsic syndrome group was higher than that in Gan-wei disharmony syndrome group ($P < 0.05$); the expression level of HGF in gastric mucosa tissues was positively correlated with c-Met ($r = 0.831, P < 0.05$); the expression level of HGF in serum was positively correlated with that of gastric mucosa tissues ($r = 0.656, P < 0.05$). **Conclusions** There was correlation between turbidity toxin intrinsic syndrome of Chronic Erosive Gastritis patients and the expression level of HGF and c-Met.

KEYWORDS chronic erosive gastritis; turbidity toxin intrinsic syndrome; hepatocyte growth factor; receptor of Hepatocyte growth factor

慢性糜烂性胃炎(chronic erosive gastritis, CEG)又称慢性胃炎伴糜烂,是指不同原因引起的胃黏膜上皮破损,但未达到肌层的一种特殊类型的胃炎^[1],是消化系统疾病中的常见病和多发病。临床表现多以慢性上腹部疼痛或不适、胀满、烧心反酸、嗝气

为主要症状,亦可无任何症状^[2]。其症状轻重与胃黏膜病变程度并非一致,尤其是隆起糜烂性胃炎,多数伴有肠上皮化生及不典型性增生的癌前病变^[3]。近年来,随着经济发展、精神紧张和工作压力的增大,加之饮酒及煎炸炙烤之品摄入增多,CEG 发病率逐年上升^[4],部分患者甚至会发生癌变。

近年来,肝细胞生长因子/肝细胞生长因子受体(hepatocyte growth factor/hepatocyte growth factor receptor, HGF/c-Met)信号通路已成为学术界研究的热点,该通路是 HGF 与其配体 c-Met 蛋白结合而引起一系列信号传导的酶促反应^[5,6]。本研究

基金项目:河北省科学技术研究与发展计划(No.10276103D)

作者单位:1.河北省中医院脾胃病科(石家庄 050011);2.河北医科大学研究生学院(石家庄 050017)

通讯作者:王彦刚, Tel: 0311-69095007, E-mail: piwei001@163.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20170203.003

以 CEG 浊毒内蕴证患者为切入点,探讨 CEG 浊毒内蕴证患者与血清和胃黏膜组织中 HGF、c-Met 表达水平的相关性。

资料与方法

1 诊断标准及辨证分型标准 CEG 诊断参照《中国慢性胃炎共识意见》^[7];病理诊断标准参考《慢性胃炎中西医结合诊疗共识意见》^[8]。中医辨证分型参考《慢性胃炎中西医结合诊疗共识意见》^[8]及参考文献^[9]。

1.1 浊毒内蕴证

脾胃湿热证主症:胃脘痞胀或疼痛;舌质红,苔黄腻或黄厚。次症:胃脘灼热;口苦口臭;恶心呕吐;大便黏滞;脉滑数或濡数。

胃络瘀阻证:主症:胃脘痛有定处,拒按;舌质紫暗或暗红,有瘀点或瘀斑。次症:胃痛日久不愈;大便色黑;面色晦暗;脉弦涩。具备以上两证主症的两个症状和次症的两个症状即为浊毒内蕴证。

1.2 肝胃不和证

主症:脘肋胀满或胀痛,呃逆,嗳气,吞酸,脉弦。次症:胃脘嘈杂,情志不舒,善太息,纳呆。具备以上3项主症,或者具备主症2项主症加2项次症,即可诊断。

2 纳入及排除标准 纳入标准:经电子胃镜检查确诊为 CEG,经中医辨证明确诊断为浊毒内蕴证与肝胃不和证的患者,年龄 20~80 岁,病程>1 年,签署知情同意书。排除标准:哺乳期及妊娠期的患者;并发胃溃疡、十二指肠溃疡及胃黏膜病理诊断发生恶变的患者;合并严重的心脑血管疾病、肝肾疾病及血液系统疾病、精神病患者。同时符合两个及两个以上证型的患者。

3 一般资料 70 例均为 2014 年 3 月—2015 年 10 月就诊于河北省中医院脾胃病科 CEG 浊毒内蕴证或肝胃不和证患者。其中浊毒内蕴证 41 例,女性 22 例,男性 19 例,平均年龄(52±11)岁;肝胃不和证 29 例,女性 15 例,男性 14 例,平均年龄(50±12)岁,两组一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究方案经河北省中医院伦理委员会批准(批号:20100101)。

4 观察指标及方法 填写 CEG 调查量表^[10],收集基本信息、中医四诊信息。中医证型浊毒内蕴证与肝胃不和证诊断由 2 名副主任以上中医师根据诊断标准共同判定。

4.1 胃镜与病理组织学检查 在胃镜下于胃窦部糜烂处取胃黏膜组织 2~3 块,活检深度要求达到黏膜肌层。用 10% 的福尔马林固定 6 h,常规脱水,二甲

苯透明,石蜡包埋,切片(4 μm),65℃ 烤箱中烤片 30 min,封片,以便检测组织中蛋白含量。胃黏膜病理程度分级参考《慢性胃炎中西医结合诊疗共识意见》^[8]病理诊断标准,慢性炎症:以单个核细胞浸润为主,根据黏膜层慢性炎性细胞的密集程度和浸润深度分级,且两者均可时以前者为主;活动性炎症:中性粒细胞浸润;轻度肠上皮化生:肠化生区占腺体和表面上皮总面积 1/3 以下;中度:占 1/3~2/3;重度:占 2/3 以上。

4.2 血清 HGF 含量检测 清晨采集患者空腹外周肘正中静脉血 3 mL,500 r/min 离心 15 min 后分离血清,-30℃ 保存备用。待标本集齐后,从冰箱中取出标本,室温下融化后,采用反向竞争 ELISA 法对 HGF 进行检测。人血清 HGF 检测试剂盒由上海蓝基生物科技有限公司提供。按照试剂盒说明书进行操作。结果判定:复孔值取平均数为测量值;每个标本的 OD 值应减去空白对照孔的 OD 值;绘制标准曲线,在标准曲线上通过标本的 OD 值查出其浓度,计算浓度时应乘以稀释倍数。

4.3 胃黏膜组织 HGF 及 c-Met 检测 采用免疫组化 SP 法,HGF 多克隆兔抗人抗体由美国 Abgent 公司提供,c-Met 多克隆兔抗人抗体由美国 Proteintech 公司提供。试剂盒由北京中杉金桥生物技术有限公司提供。按照试剂盒说明书进行操作。结果判定:HGF 蛋白、c-Met 蛋白的表达主要在细胞质中。阴性对照用 PBS 液代替一抗进行孵育。阳性表达均为细胞质出现黄棕色颗粒,高倍镜下(40×)将每张切片随机选择 5 个阳性区域,应用 Image-Pro Plus 软件进行图像分析,分别统计 HGF、c-Met 的累积光密度值(IOD),取各切片 5 个视野均数作为统计值。

5 统计学方法 采用 SPSS 21.0 软件进行统计学分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 或 t' 检验,计数资料采用 χ^2 检验,相关性采用 Person 相关分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

1 两组血清 HGF、胃黏膜 HGF 及 c-Met 比较 (表 1) 与浊毒内蕴证组比较,肝胃不和组血清 HGF、胃黏膜 HGF 及 c-Met 降低($P<0.05$)。

表 1 两组血清 HGF、胃黏膜 HGF 及 c-Met 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	血清 HGF (ng/mL)	胃黏膜 HGF (IOD)	c-Met (IOD)
浊毒内蕴证	41	0.74±0.15	34 030±20 410	66 687±25 411
肝胃不和证	29	0.40±0.14*	17 381±9 184*	16 787±7 133*

注:与浊毒内蕴证组比较,* $P<0.05$

2 两组患者胃黏膜病理程度比较(表 2) 两组比较,两组的肠化程度分布有差别,浊毒内蕴证组胃黏膜肠化程度升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 2 两组患者胃黏膜病理程度比较 (例)

组别	例数	炎症	轻度肠化	中度肠化	重度肠化	异型增生
浊毒内蕴证	41	19	9	7	4	2
肝胃不和证	29	15	7	4	2	1

3 胃黏膜组织中 HGF 和 c-Met 相关性(图 1) 胃黏膜组织中 HGF 和 c-Met 表达呈正相关($r = 0.831, P = 0.000$)。

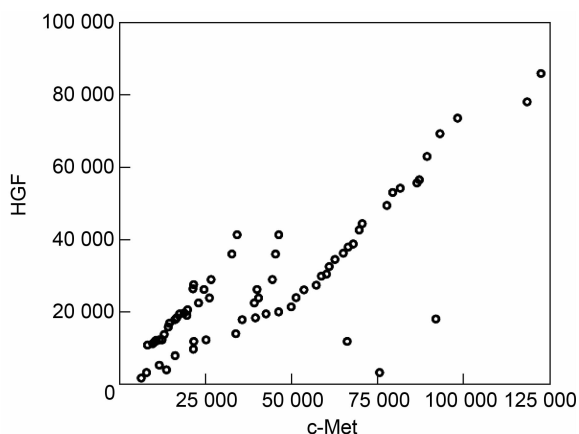


图 1 胃黏膜组织 HGF 与 c-Met 相关性

4 血清和胃黏膜组织 HGF 的相关性(图 2) 血清 HGF 水平和胃黏膜组织中 HGF 表达呈正相关($r = 0.656, P = 0.000$)。

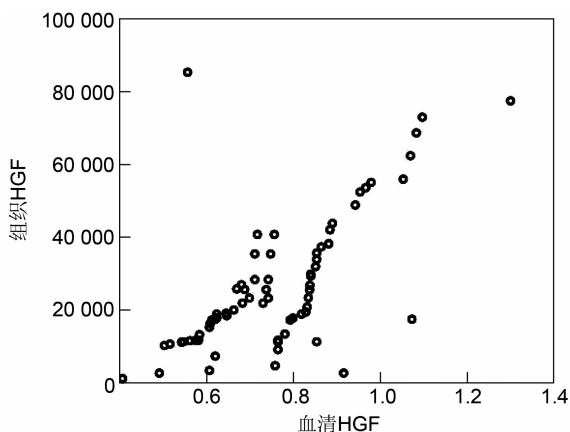


图 2 胃黏膜组织和血清 HGF 相关性

讨 论

CEG 常与消化性溃疡、慢性浅表性胃炎、慢性萎缩性胃炎等伴发,且发病率逐年提高。其病因及发病机理尚未明确阐明。研究发现 CEG 患者抗壁细胞抗

体阳性率增高,抗核抗体阳性,说明 CEG 可能具有自身免疫的特点^[11]。李佃贵教授总结前人经验并结合临床实际,提出中医学浊毒理论,认为浊毒既是致病因素,也是病理产物^[12]。现代经济发展,社会心理应激,常导致内伤七情;生活起居异常,劳逸失度,嗜食膏粱厚味;环境恶化,气候异常等外感六淫之邪,均可损伤脾脏,导致脾失健运,水湿内生,初为湿盛,湿盛则浊凝,浊凝则为痰,湿浊痰郁久则化热,热极则生毒,毒寓于热,热由毒生,变由毒起,形成浊毒之邪,浊毒蕴积内蕴脏腑,肉腐而成 CEG^[13]。

HGF 可引起多种细胞反应,如有丝分裂、形态发生、运动等^[14,15]。c-Met 蛋白是原癌基因 c-Met 编码的具有酪氨酸激酶活性的产物,是肝细胞生长因子受体。正常情况下,HGF/c-Met 只是短暂的激活,与正常胚胎形成、组织再生、创伤修复和血管生成有关^[15,16],在组织损伤时有维持体内平衡的作用^[17]。当正常细胞过度表达 HGF 时,会导致细胞发生恶变^[18]。

本研究显示,与肝胃不和证组比较,浊毒内蕴证组中 HGF 和 c-Met 的表达量均增高,差异有统计学意义($P < 0.05$),说明“浊毒”与 CEG 的发生发展密切相关,可能是导致 CEG 发生发展的重要因素,其机制可能是 HGF、c-Met 表达异常增多,HGF/c-Met 信号通路异常激活,引起一系列异常的信号级联反应,导致胃黏膜损伤、修复延迟,细胞异常生长、增殖及凋亡减少,进而发展成肠上皮化生,甚至异型增生。

本研究结果显示,HGF 与 c-Met 在 CEG 患者胃黏膜组织中均呈现高表达,说明 CEG 的胃黏膜组织细胞处于高度分裂增殖状态,并具有癌变倾向。本研究结果中,胃黏膜组织 HGF 表达水平呈正相关性,说明 HGF 与其受体 c-Met 结合后,激活 HGF/c-Met 信号通路,从而引起一系列信号传导的酶促反应,可能是通过建立自身分泌环,持续激活信号通路,使得 c-Met 胞质内的酪氨酸残基发生自身磷酸化,成为许多受体蛋白的停泊位点,吸引更多的分子和酶停靠,刺激胃黏膜细胞分裂增殖,降解细胞外基质蛋白,导致胃黏膜发生损伤,甚至癌变^[19,20]。因此 HGF、c-Met 的过度表达,HGF/c-Met 信号通路的激活作为细胞过度分裂、增殖及恶变的关键因素之一,可能是导致 CEG 发生、发展及恶变的重要原因。

有研究发现当消化道黏膜出现糜烂、溃疡时,黏膜上皮可通过早期的上皮重建和上皮细胞分裂增殖两个过程进行修复,而 HGF 参与了这两种修复机制^[21]。

本研究结果显示,CEG 患者血清 HGF 水平较健

康人群 ($<0.2 \text{ ng/mL}$) 升高,可能是由于当胃黏膜出现糜烂时,HGF 作为影响胃黏膜上皮细胞迁移和增殖最主要的内源性刺激物,参与了损伤胃黏膜的修复过程,其在促进损伤胃黏膜残存细胞迁移增殖的同时还可诱导上皮细胞分化成胃肠腺管状结构。本研究结果中,血清 HGF 水平与胃黏膜组织中 HGF 的表达呈正相关性,说明血清 HGF 升高可能是由胃黏膜组织损伤介导产生的,因 HGF 在参与组织损伤、修复过程中,可诱导炎症因子,如 COX-2 的表达,刺激间质细胞产生更多的 HGF,这一正反馈调节使得血清 HGF 水平升高。提示检测血清 HGF 水平对判断 CEG 患者胃黏膜损伤程度有一定的参考价值。

浊毒内蕴证组与肝胃不和证组患者肠化分布程度不同,推断浊毒内蕴证组可能肠化程度重,浊毒的形成机制可能与肠化形成机制相似,治疗浊毒可能有助于肠化的逆转。

本研究所选病例数较少,且均来自于河北省中医院,不能完全反应该疾病整体人群的特征。此外,不能完全排除因个人体质不同而造成的个体差异。因此,对于此类患者的研究还需要进一步深入开展。

参 考 文 献

- [1] 唐莉. 单兆伟益气清热护膜法治疗慢性糜烂性胃炎的思路[J]. 江苏中医药, 2015, 47(2): 19-20.
- [2] 于皆平, 沈志祥, 罗和生主编. 实用消化病学[M]. 北京: 科学出版社, 2007: 241.
- [3] 许娟. 慢性糜烂性胃炎中医证型与胃癌前病变相关性研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2012, 14(12): 142-143.
- [4] Du Y, Li Z, Zhan X, et al. Anti-inflammatory effects of rebamipide according to *Helicobacter pylori* status in patients with chronic erosive gastritis: a randomized sucralfate-controlled multicenter trial in China-STARS study [J]. Dig Dis Sci, 2008, 53(11): 2886-2895.
- [5] Trusolino L, Bertotti A, Comoglio PM, et al. MET signalling: principles and functions in development, organ regeneration and cancer [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2010, 11(12): 834-848.
- [6] Yıldız Y, Sokmensuer C, Yalcin S. Evaluation of c-Met, HGF, and HER-2 expressions in gastric carcinoma and their association with other clinicopathological factors [J]. Onco Targets Ther, 2016, 22(9): 5809-5817.
- [7] 中华医学会消化病学分会. 中国慢性胃炎共识意见[J]. 胃肠病学, 2013, 18(1): 24-36.

- [8] 中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会. 慢性胃炎中西医结合诊疗共识意见[J]. 现代消化及介入诊疗, 2012, 3(17): 172-177.
- [9] 张金丽, 王彦刚, 周盼盼, 等. 化浊解毒和胃方对慢性萎缩性胃炎癌前病变患者胃液成分的影响[J]. 中医杂志, 2014, 55(5): 400-403.
- [10] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则(试行)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 134-139.
- [11] 阮青河俊. “芪苓乌贝汤”治疗慢性糜烂性胃炎脾胃湿热证的理论及临床研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2012.
- [12] 王正品, 李佃贵, 杜艳茹, 等. 浊毒致病论与现代中医病因学[J]. 中医杂志, 2010, 51(1): 11-13.
- [13] 王彦刚, 杜艳茹主编. 李佃贵特色调理脾胃病[M]. 北京: 人民军医出版社, 2011: 3-10.
- [14] Shen ZL, Song KY, Ye YJ, et al. Significant differences in the clinicopathological characteristics and survival of gastric cancer patients from two cancer centers in China and Korea[J]. J Gastric Cancer, 2015, 15(1): 19-28.
- [15] Kwon Y, Smith BD, Zhou Y, et al. Effective inhibition of c-MET-mediated signaling, growth and migration of ovarian cancer cells is influenced by the ovarian tissue microenvironment [J]. Oncogene, 2015, 34(2): 144-153.
- [16] Hecht M, Papoutsim M, Tran HD, et al. Hepatocyte growth factor/c-Met signaling promotes the progression of experimental human neuroblastomas [J]. Cancer research, 2004, 64(17): 6109-6118.
- [17] Peruzzi B, Bottaro DP. Targeting the c-Met signaling pathway in cancer [J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(12): 3657-3660.
- [18] Zhao Y, Zhao J, Mialki RK, et al. Lipopolysaccharide-induced phosphorylation of c-Met tyrosine residue 1003 regulates c-Met intracellular trafficking and lung epithelial barrier function [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2013, 305(1): 56-63.
- [19] Lai AZ, Abella JV, Park M. Crosstalk in Met receptor oncogenesis [J]. Trends Cell Biol, 2009, 19(10): 542-551.
- [20] Paliouras GN, Naujokas MA, Park M. Pak4, a novel Gab1 binding partner, modulates cell migration and invasion by the Met receptor [J]. Mol Cell Biol, 2009, 29(11): 3018-3032.
- [21] 宁晓暄, 陈彩平. 肝细胞生长因子与消化系统疾病[J]. 国外医学·消化系疾病分册, 2001, 21(3): 159-162.

(收稿: 2016-05-15 修回: 2017-01-03)

责任编辑: 赵芳芳