

溃疡性结肠炎患者 RAGE 表达及血清 sRAGE 水平的临床研究

周艳, 邢祖忠

湖南省脑科医院消化内科, 湖南 长沙 410007

摘要: **目的** 探讨溃疡性结肠炎(UC)患者糖基化终末产物受体(RAGE)的表达、血清可溶性糖基化终末产物受体(sRAGE)水平及其临床意义。**方法** 2012年3月至2014年3月收治的36例UC患者为UC组(活动期14例,缓解期22例),20例健康体检者为健康对照组,20例结肠镜检查肠黏膜正常者为正常对照组,20例普通结肠炎肠镜检查肠黏膜正常者为疾病对照组。采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测各组血清sRAGE、C反应蛋白(CRP)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平,免疫组化染色检测结肠黏膜RAGE表达。**结果** UC组患者血清sRAGE、CRP、TNF- α 水平均高于疾病对照组和健康对照组(P 均 <0.05),活动期患者的血清sRAGE、CRP水平均高于缓解期(P 均 <0.05);各组血清中sRAGE水平和CRP、TNF- α 水平呈正相关关系($r=0.4936,0.5984$; P 均 <0.05)。UC组病变区的RAGE表达阳性率(86.1%)明显高于正常区(50.0%)及疾病对照组(55.0%)、正常对照组(45.0%),差异均有统计学意义(P 均 <0.05),但UC组正常区、疾病对照组、正常对照组的结肠黏膜RAGE表达阳性率之间差异均无统计学意义(P 均 >0.05)。**结论** RAGE及sRAGE可能参与了UC的发病,是UC独特的免疫炎症性发病特点的反映。

关键词: 溃疡性结肠炎; 糖基化终末产物受体; 可溶性糖基化终末产物受体; C反应蛋白; 肿瘤坏死因子- α
中图分类号: R 574.62 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2015)07-0848-03

Clinical study on RAGE expression and serum sRAGE level in patients with ulcerative colitis

ZHOU Yan, XING Zu-zhong

Department of Gastroenterology, Hunan Brain Hospital, Changsha, Hunan 410007, China

Abstract: **Objective** To investigate the expression of receptor for advanced glycation end products (RAGE) and the level of serum soluble receptor for advanced glycation end products (sRAGE) and the clinical significance in patients with ulcerative colitis (UC). **Methods** Thirty-six UC patients (14 cases for active stage, 22 cases for remission stage) treated in our hospital from March 2012 to March 2014 were collected as UC group; 20 healthy subjects were served as health control group; 20 patients with normal colon mucous membrane confirmed by colonoscopy served as normal control group; 20 common colitis patients with normal colon mucous membrane by colonoscopy were served as disease control group. The levels of serum sRAGE, C-reactive protein (CRP) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and RAGE expression in colon mucous membrane tissues was detected by immunohistochemical staining. **Results** The levels of serum sRAGE, CRP and TNF- α in UC group were all significantly higher than those in disease control group and health control group (all $P < 0.05$). The levels of serum sRAGE and CRP in active stage patients were all significantly higher than those in remission stage patients (all $P < 0.05$). The sRAGE levels in each group were positively correlated with CRP and TNF- α levels ($r = 0.4936, 0.5984$; all $P < 0.05$). The positive expression rate of RAGE in diseased region of UC group (86.1%) was significantly higher than those in normal region of UC group (50.0%), disease control group (55.0%) and normal control group (45.0%) (all $P < 0.05$), but there were no statistical differences in positive expression rates of RAGE among normal region of UC group, disease control group and normal control group (all $P > 0.05$). **Conclusion** RAGE and sRAGE might be involved in occurrence of UC and could be a unique reflection of immune inflammatory disease characteristics.

Key words: Ulcerative colitis; Receptor for advanced glycation end products; Soluble receptor for advanced glycation

end products; C-reactive protein; Tumor necrosis factor- α

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)属于一种慢性非特异性炎症病变,和免疫失调密切相关。目前,国内外很少有研究 UC 与糖基化终末产物受体(receptor for advanced glycation end products, RAGE)、可溶性糖基化终末产物受体(soluble receptor for advanced glycation end products, sRAGE)的相关性^[1]。本研究对 2012 年 3 月至 2014 年 3 月我院消化内科收治的 36 例 UC 患者的临床资料进行分析,探讨 UC 与 RAGE、sRAGE 的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 采用随机抽样的方法选取 2012 年 3 月至 2014 年 3 月我院消化内科收治的 36 例 UC 患者,所有患者的诊断均符合 2007 年济南全国消化疾病学术会议对我国 UC 诊断治疗规范的共识意见,均知情同意^[2]。其中男 22 例,女 14 例;年龄 36~71 岁,平均(48.95±2.28)岁;14 例患者处于活动期,22 例患者处于缓解期;该 36 例作为 UC 组,选取其中 30 例患者的正常结肠区黏膜作为对照。另选取 20 例普通结肠炎患者作为疾病对照组,其中男 11 例,女 9 例;年龄 35~72 岁,平均(48.57±3.54)岁。同时选取同期来我院进行健康体检的 20 例人员作为健康对照组,其中男 13 例,女 7 例;年龄 32~71 岁,平均(46.89±2.45)岁。同时间段病理诊断为正常肠黏膜的 20 例结肠镜检查者作为正常对照组,其中男 12 例,女 8 例;年龄 28~75 岁,平均(51.72±2.65)岁。各组年龄、性别等一般资料比较差异无统计学意义(P 均>0.05),具有可比性。本研究通过医院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 标本获取 清晨空腹采集受检对象 2 ml 肘静脉血,分离血清,然后将其在 EP 管中放置,保存在-80℃冰箱中待测^[3]。肠镜下活检分别钳取炎症部位及正常部位 2 块黏膜,用 4% 甲醛将其固定,常规石蜡包埋,切片待测;将正常肠黏膜的蜡块标本从病理科调取出来(所有肠黏膜均经病理诊断为正常),切片待测^[4]。

1.2.2 血清 sRAGE、C 反应蛋白(CRP)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)测定 运用 ELISA 法对血清中人 sRAGE、CRP、TNF- α 进行测定,测定过程严格依据说明书中的操作步骤^[5]。

1.2.3 免疫组化染色检测 RAGE 表达 购买美国

Santa Cruz 公司生产的肠道黏膜标本 RAGE 鼠抗人单克隆抗体,北京中杉金桥生物技术有限公司生产的 PV-6000 免疫组化检测试剂,福州迈新生物技术开发有限公司生产的 DAB 显色液。运用免疫组化二步法染色进行检测^[6],稀释一抗浓度为 1:20,同时用 PBS 替代一抗,作为阴性对照^[7]。

1.3 阳性结果判断 RAGE 表达阳性的标志为光学显微镜下为棕黄色颗粒,和背景非特异性染色相比具有明显较高的着色强度^[8]。运用双盲法对组织切片进行细致观察,选取 5 个不重叠的高倍镜视野,每个视野中读取 200 个细胞,计算阳性细胞百分数,取其平均值,将其和半定量评分标准结合起来进行半定量评估^[9]。如果评分时依据染色强度,则 0 分无着色,1 分淡黄色(弱),2 分浅棕色(中),3 分深棕色(强);如果评分时依据阳性细胞百分数,则 0 分<5%,1 分 5%~25%,2 分 26%~50%,3 分 51%~75%,4 分>75%。两种评分相乘,阴性(-) \leq 1 分,弱阳性(+)2~4 分,阳性(++)5~8 分,强阳性(+++)9~12 分^[10]。

1.4 统计学处理 运用 SPSS 20.0 统计软件进行统计学处理。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间资料两两比较用方差检验;用 Pearson 检验相关性分析;用 χ^2 检验分析不同组别肠黏膜中 RAGE 的表达情况。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组患者血清中 sRAGE、CRP、TNF- α 水平比较

UC 组患者的 sRAGE、CRP、TNF- α 水平均高于疾病对照组和健康对照组(P 均<0.05),UC 活动期患者的 sRAGE、CRP 水平均高于缓解期(P 均<0.05)。见表 1。各组患者血清中 sRAGE 水平和 CRP、TNF- α 水平均呈正相关关系($r = 0.4936, 0.5984; P$ 均<0.05)。

表 1 各组患者血清中 sRAGE、CRP、TNF- α 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	sRAGE(pg/ml)	CRP(mg/ml)	TNF- α (pg/ml)
UC 组	36	11400.00±506.68 ^{*#}	3.61±0.15 ^{*#}	386.81±17.56 ^{*#}
活动期	14	13100.00±847.40 ^Δ	4.12±0.21 ^Δ	-
缓解期	22	9889.09±1934.08	3.21±0.67	-
疾病对照组	20	3406.00±439.89	1.10±0.12	132.02±13.12
健康对照组	20	3199.68±316.16	0.93±0.11	120.26±12.26

注:与疾病对照组比较,^{*} $P < 0.05$;与健康对照组比较,[#] $P < 0.05$;与缓解期比较,^Δ $P < 0.05$ 。

表 2 各组患者结肠黏膜 RAGE 表达情况比较 例(%)

组别	例数	-	+	++	+++	阳性
UC 组						
病变区	36	5(13.9)	9(25.0)	9(25.0)	13(36.1)	31(86.1) ** ^Δ
正常区	30	15(50.0)	9(30.0)	4(13.3)	2(6.7)	15(50.0)
疾病对照组	20	9(45.0)	5(25.0)	4(20.0)	2(10.0)	11(55.0)
正常对照组	20	11(55.0)	5(25.0)	3(15.0)	1(5.0)	9(45.0)

注:与疾病对照组比较,* $P < 0.05$;与正常对照组比较,[#] $P < 0.05$;与正常区比较,^Δ $P < 0.05$ 。

2.2 各组患者结肠黏膜 RAGE 表达情况比较 UC 组病变区的 RAGE 表达阳性率 86.1%,明显高于正常区(50.0%)、疾病对照组(55.0%)、正常对照组(45.0%),差异有统计学意义(P 均 < 0.05),但 UC 组正常区、疾病对照组、正常对照组的结肠黏膜 RAGE 表达阳性率之间差异均无统计学意义(P 均 > 0.05)。见表 2。

3 讨论

RAGE 属于一种跨膜蛋白,由胞内域、跨膜段、胞外域三种配体受体构成。sRAGE 是 RAGE 的内源分泌型不同异形体,发生机制为 RAGE mRNA 选择性剪接或 RAGE 的胞外域直接脱落,由于其不具有跨膜段,因此在循环系统中具有较高的含量^[7]。近年来,sRAGE 在一系列免疫失调的相关疾病中被当做炎症生物标记物^[11]。UC 属于一种慢性非特异性炎症病变,和免疫失调密切相关,目前,国内外很少有研究 UC 与 RAGE、sRAGE 的相关性^[12]。本研究结果显示,UC 组病变区的 RAGE 表达阳性率显著高于黏膜正常区、疾病对照组、正常对照组,说明在 UC 的发病过程中,RAGE 可能通过某种途径参与其中^[13],同时也在一定程度上将 RAGE 致病的独特性体现了出来,可以认为其只在 UC 的独特发病过程中参与,并没有明显影响到普通肠炎的致病^[14]。本研究结果还表明,UC 组患者的血清 sRAGE、CRP、TNF- α 水平均高于疾病对照组和健康对照组,活动期患者的 sRAGE、CRP 水平均高于缓解期;各组患者血清中 sRAGE 表达水平和 CRP、TNF- α 表达水平呈正相关关系^[15]。说明 UC 独特的免疫炎症性发病特点可能在 RAGE、sRAGE 表达中得到有效反映^[16]。但本组病例数较少,有关 RAGE、sRAGE 表达与 UC 发病的关系,尚需进一步深入研究。

参考文献

- [1] 马静. 髓系衍生抑制性细胞在溃疡性结肠炎癌变中的作用[D]. 太原:山西医科大学,2013.
- [2] 刘维新,张坤,任益,等. 溃疡性结肠炎及溃疡性结肠炎相关性

结肠癌小鼠模型中血管生成因子的表达及其与血管新生的关系[J]. 中国医科大学学报,2013,42(3):231-234,266.

- [3] 张永锋,郭长军,谭永港,等. 溃疡性结肠炎相关性结肠癌差异表达的 miRNA 的筛选研究[J]. 中国中西医结合消化杂志,2014,22(2):65-68.
- [4] 林艳,周然,林连捷,等. 溃疡性结肠炎患者血清 25(OH)维生素 D 水平与疾病活动性的相关性[J]. 解剖科学进展,2014,20(2):142-144,150.
- [5] 刘刚,韩洪秋. 中国溃疡性结肠炎诊治规范的解析[J]. 胃肠病学和肝病学杂志,2012,21(9):785-788.
- [6] 李霞,曲波,姜海燕. 等. 激素依赖型溃疡性结肠炎的治疗进展[J]. 胃肠病学和肝病学杂志,2013,22(1):95-98.
- [7] Felicità Baratelli, Mary Le, George B, et al. Do mast cells play a pathogenetic role in neurofibromatosis type 1 and ulcerative colitis? [J]. Exp Mol Pathol,2014,96(2):230-234.
- [8] Civitelli F, Di Nardo G, Oliva S, et al. Ultrasonography of the colon in pediatric ulcerative colitis: a prospective, blind, comparative study with colonoscopy[J]. J Pediatr,2014,165(1):78-84.
- [9] van Dekken H, Wink JC, Vissers KJ, et al. Wnt pathway-related gene expression during malignant progression in ulcerative colitis[J]. Acta Histochem,2007,109(4):266-272.
- [10] Ambrosini R, Barchiesi A, Di-Mizio V, et al. Inflammatory chronic disease of the colon: how to image[J]. Eur J Radiol,2007,61(3):442-448.
- [11] Romano M, Bifulco P, Cesarelli M, et al. Foetal heart rate power spectrum response to uterine contraction[J]. Med Biol Eng Comput, 2006,44(3):188-201.
- [12] Zhang DK, Cheng LN, Huang XL, et al. Tetrandrine ameliorates dextran-sulfate-sodium-induced colitis in mice through inhibition of nuclear factor-kappaB activation [J]. Int J Colorectal Dis, 2009, 24(1):5-12.
- [13] Bresci G, Parisi G, Capria A, et al. Duration of remission and long-term prognosis according to the extent of disease in patients with ulcerative colitis on continuous mesalazine treatment [J]. Colorectal dis, 2008,10(8):814-817.
- [14] 古求知,老膺荣,范宇鹏,等. 黄煌教授经方治疗慢性溃疡性结肠炎的经验[J]. 中国临床研究,2012,25(7):712-713.
- [15] 肖茂林,张薇,唐喜玉,等. 缺血性结肠炎 36 例临床分析[J]. 中国临床研究,2012,25(8):781-782.
- [16] 王琴. 早产儿坏死性小肠结肠炎 1 例护理体会[J]. 中国临床研究,2013,26(12):1397-1398.

收稿日期:2015-02-15 修回日期:2015-03-12 编辑:王国品