

· 论 著 ·

# NADPH 氧化酶 Nox-4 在不同亚型 GERD 患者食管上皮中的表达及 DIS 发生中的作用

曹正一<sup>1,2</sup>, 买买提·依斯热依力<sup>1,3</sup>, 吾布力卡斯木·吾拉木<sup>1,2</sup>, 艾克拜尔·艾力<sup>1,3</sup>, 李义亮<sup>1</sup>, 阿布拉江·米吉提<sup>1,2</sup>, 阿孜古丽·阿力木江<sup>4</sup>, 克力木·阿不都热依木<sup>1,2,3</sup>

1. 新疆维吾尔自治区人民医院微创、疝和腹壁外科, 新疆 乌鲁木齐 830001;

2. 新疆医科大学, 新疆 乌鲁木齐 830001; 3. 新疆维吾尔自治区人民医院 普外微创研究所, 新疆 乌鲁木齐 830001;

4. 新疆维吾尔自治区人民医院妇产科门诊, 新疆 乌鲁木齐 830001

**摘要:** **目的** 探讨烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)氧化酶4(Nox-4)在不同亚型胃食管反流病(GERD)患者食管上皮中的表达及其在食管上皮细胞间隙增宽(DIS)发生中的意义。**方法** 选取2017年10月至2018年8月在新疆维吾尔自治区人民医院住院的36例GERD患者设为研究组,同期完成体检的健康受试者9例设为对照组。GERD组行24h pH监测、高分辨率食管测压监测并内镜下取食管齿状线上3cm处的局部黏膜作为标本,后续采用HE染色、免疫组化、实时荧光定量反转录-聚合酶链式反应(real-time RT-PCR)、酶联免疫吸附测定(ELISA)等方法检测细胞间隙、氧化应激(Nox-4)、核因子红系相关因子2(Nrf-2)、血红素加氧酶-1(HO-1)以及紧密连接蛋白(TJ蛋白)[咬合蛋白(Occludin)、闭合蛋白-1(Claudin-1)、闭合蛋白-4(Claudin-4)及带状闭合蛋白-1(ZO-1)]的相对表达量。**结果** 食管24h pH监测显示,RE组酸反流(pH≤4)次数以及DeMeester评分明显高于NERD组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。RE组食管下段括约肌(LES)长度、LES静息压、LES残余压及食管远端收缩积分(DCI)等指标略高于NERD组,但两组比较无统计学差异( $P > 0.05$ )。对照组、NERD、RE组GERD患者光镜下测量的细胞间隙分别为(0.64 ± 0.08) μm、(1.14 ± 0.11) μm和(1.27 ± 0.10) μm,两两相比均有统计学差异( $P < 0.01$ )。对照组、NERD、RE组三组间Nox-4 mRNA和血清Nox-4浓度比较有统计学差异( $P < 0.01$ ),RE组Nox-4 mRNA和血清Nox-4浓度最高,对照组最低。Nrf-2、HO-1、Occludin、Claudin-1、Claudin-4及ZO-1 mRNA表达水平在NERD组、RE组分别低于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。**结论** TJ蛋白在不同亚型GERD患者中表达量明显降低,而这些蛋白的低表达可能与酸反流引起食管Nox-4的过量产生有关。

**关键词:** 胃食管反流病; 紧密连接蛋白; 细胞间隙增宽; 氧化应激; 抗氧化蛋白

**中图分类号:** R 571 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2019)05-0581-05

## Expression of NADPH oxidase-4 in esophageal epithelium of different subtypes of GERD patients and its role in the occurrence of DIS

CAO Zheng-yi\*, Maimaiti Yisireyili, Wubulikasimu Wulamu, Aikebaier Aili, LI Yi-liang, Abulajiang Mijiti, Aziguli Alimujiang, Kelimu Abudureyimu

\* Department of Minimally Invasive, Herina and Abdominal Surgery, People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi, Xinjiang 830001, China

Corresponding author: Kelimu Abudureyimu, E-mail: klm6075@163.com

**Abstract: Objective** To investigate the expression of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase 4 (Nox-4) in the esophageal epithelium of patients with different subtypes of gastroesophageal reflux disease (GERD) and the meaning of Nox-4 in the occurrence of dilated intercellular space (DIS). **Methods** Thirty-six patients with GERD admitted to the People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region from October 2017 to August 2018 were enrolled as study group. Nine healthy subjects who completed the physical examination at the same time were set as the control group. In the GERD group, 24 h pH monitoring, high-resolution esophageal manometry was used, and endoscopic local mucosa specimen was taken from 3 cm above the dentate line of the esophagus. Then HE staining, immunohistochemistry, and

reverse transcription-polymerase chain reaction(RT-PCR)and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) were used to detect intercellular space, and the relative expression of oxidative stress (Nox-4), nuclear factor erythroid-derived factor 2-related factor 2 (Nrf-2), heme oxygenase-1 (HO-1) and tight junction proteins (TJ proteins) [Occludin, Claudin-1, Claudin-4, and zonula occludens-1 (ZO-1)]. **Results** Esophageal 24 h pH monitoring showed that the number of acid reflux ( $\text{pH} \leq 4$ ) and DeMeester score in RE group was significantly higher than that in NERD group ( $P < 0.05$ ). The lower esophageal sphincter (LES) length, LES resting pressure, LES residual pressure and distal contractile integral (DCI) in the RE group were slightly higher than those in the NERD group, but there was no significant difference between the two groups ( $P > 0.05$ ). The intercellular space measured by light microscopy in the control group, NERD group, and RE group were  $(0.64 \pm 0.08) \mu\text{m}$ ,  $(1.14 \pm 0.11) \mu\text{m}$ , and  $(1.27 \pm 0.10) \mu\text{m}$ , respectively, and the differences among the pairwise comparisons were statistical significant ( $P < 0.01$ ). There were significant differences in the concentrations of Nox-4 mRNA and serum Nox-4 among the control group, NERD group and RE groups ( $P < 0.01$ ). The concentration of Nox-4 mRNA and serum Nox-4 was the highest in the RE group and the lowest in the control group. The mRNA expression levels of Nrf-2, HO-1, Occludin, Claudin-1, Claudin-4 and ZO-1 in the NERD group and the RE group were significantly lower than those in the control group ( $P < 0.01$ ), respectively. **Conclusion** The expression of TJ protein was significantly decreased in patients with different subtypes of GERD, and the low expression may be related to the overproduction of esophageal Nox-4 caused by acid reflux.

**Key words:** Gastroesophageal reflux disease; Tight junction protein; Dilated intercellular space; Oxidative stress; Antioxidant protein

**Fund program:** Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region (2018D01C134)

胃食管反流病 (gastroesophageal reflux disease, GERD) 是消化系统常见病, 烧心和反酸是 GERD 的典型症状。关于 GERD 的治疗, 针对其酸反流所致症状目前临床的主要药物为质子泵抑制剂 (proton pump inhibitors, PPIs), 但仍有相当一部分 GERD 患者用药后疗效不佳<sup>[1-2]</sup>。这意味着食管炎的严重程度可能不完全与反流物的量有关, 反流性食管炎 (refluxive esophagitis, RE) 的严重程度也不能单纯由反流多少来预判, 其他损害因素的作用也需要被考虑。从相关发病机制研究来看, GERD 可能与食管防御机制 (抗反流屏障、食管酸清除和黏膜抵抗力) 下降有关<sup>[3]</sup>。氧化应激 (reactive oxygen species, ROS) 是许多疾病病理过程中的重要机制, 也一直被认为是 GERD、Barrett 食管和腺癌的发病机制之一<sup>[4]</sup>。本研究通过检测不同类型的 GERD [非糜烂性胃食管反流病 (NERD)、RE] 患者与正常对照组的食管下段上皮层中烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH) 氧化酶 4 (NADPH oxidase 4, NOX-4) 的表达水平、抗氧化蛋白 [核因子红系相关因子 2 (nuclear factor erythroid-derived 2, Nrf-2)、血红素加氧酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1)] 表达水平和紧密连接 (Tight junction, TJ) 蛋白有关的重要指标 [咬合蛋白 (Occludin)、闭合蛋白 (Claudin)、带状闭合蛋白 (ZO)] 表达情况, 分析 GERD 患者症状与 TJ 蛋白表达间的相关性, 探讨食管 Nox-4 的过量产生对细胞间隙增宽 (dilated intercellular space, DIS) 的影响。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 10 月至 2018 年 8 月在新疆维吾尔自治区人民医院住院收治的 36 例患者设定为研究组。研究组患者全例符合 GERD 典型症状及诊断标准。其中 NERD 组 15 例, RE 组 21 例。选同期完成体检的健康受试者 9 例设定为健康对照组, 其中男 5 例, 女 4 例, 年龄  $(34.00 \pm 5.64)$  岁。对照组、NERD 组、RE 组体质指数 (BMI) 比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。RE 组年龄大于对照组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

1.2 纳入标准 (1) 性别不限, 18 ~ 60 岁; (2) 近 1 周中存在烧心、反流、非心源性胸痛 (既往无心脏病相关病史, 入院后完善心电图、心彩超加以排除), 四种反流相关症状 (烧心、胸骨后疼痛、反酸、反食) 至少其中之一; (3) 就诊前 1 周内未服用过任何止酸药物或胃动力药; (4) 有小学及以上文化学历, 能独立完成 Gerd 量表填写; (5) 知情同意。

1.3 排除标准 (1) 有食管、胃十二指肠手术史; (2) 有消瘦、呕吐、吞咽困难、出血、体重下降、贫血等报警症状者; (3) 有食管狭窄、消化性溃疡、食管腺癌、Barrett 食管及胃肿瘤者; (4) 胃镜检查禁忌证或不愿意接受胃镜检查者; (5) 不愿意接受食管 24 h pH 监测者; (6) 孕妇及哺乳期妇女。

1.4 组织标本处理 本研究经医院伦理委员会批准, 均已签署知情同意书。收集患者食管黏膜组织标本, 置于  $-80^\circ\text{C}$  冰箱备用。同步采集患者的清晨空腹

血液 3 ml, 离心取血清, 置于 -20℃ 或 -80℃ 冰箱备用。

1.5 组织病理学检查 食管标本 4% 中性甲醛固定 24 h 后水洗、脱水、透明、浸蜡、包埋, 制成 5 μm 厚切片行 HE 染色。

1.6 间隙测量 各组食管下段组织常规 HE 染色后, 光学显微镜(油镜)下放大千倍并选择不同部位拍摄 10 张光镜照片, 使用 Image J 等图像处理软件数字化测量细胞间隙。

1.7 免疫组化 石蜡切片脱蜡水化后, 10% 过氧化氢甲醛阻断过氧化物酶, 柠檬酸高热法修复抗原, 山羊血清封闭 1 h, 分别在不同切片滴加还原型 NOX-4 一抗(1:100), 4℃ 过夜, PBS 缓冲液冲洗 3 次后, 滴加二抗, 37℃ 孵育 30 min, DAB 显色。以 PBS 液取代一抗作为阴性对照。每例食管组织标本随机取 3 张切片, 光镜下观察黏膜染色情况, 在 400 倍镜下随机取 10 个视野, 应用 Image-Pro Plus 6.0 软件进行拍照, 以明显黄色/棕黄色细胞为阳性细胞。

1.8 实时荧光定量反转录-聚合酶链式反应(real time RT-PCR) 采用 real time RT-PCR 方法检测 Nox-4、Nrf-2、HO-1、Occludin、Claudin1、Claudin4 及 ZO-1 mRNA 的表达。每例组织标本置于 TRIzol 试剂提取总 RNA, 采用天根公司 Fast Quant RT 试剂盒合成第一链 cDNA。由上海生工生物工程股份有限公司设计并合成引物, 各指标及 GAPDH 引物序列和扩增产物长度见表 2。real time RT-PCR 反应严格按照试剂盒操作说明进行。real time RT-PCR, 反应体系为 20 μl, 反应条件为: 95℃ 2 min, 然后 95℃ 20 s, 60℃ 20 s, 72℃ 20 s, 共 40 循环。反应结束后由电脑自动得出荧光曲线及 Ct 值, 采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  计算出各

组目标基因的相对表达量。

1.9 观察指标 24 h 食管 pH 监测胃食管反流病严重程度: 应用电极检测患者 24 h 食管 pH, 测定患者 24 h pH < 4 的总百分时间, pH < 4 的次数, 持续 5 分钟以上的反流次数和最长反流时间, 分析 DeMeester 评分, 评价胃食管反流病严重程度。针对食管组织 ROS 的产生实验, 观察指标使用 Nox-4, 为观察食管组织抗氧化蛋白的表达水平, 使用的指标是 Nrf-2 和 HO-1。食管下段括约肌(lower esophageal sphincter, LES) 长度、LES 静息压、LES 残余压及食管远端收缩积分(distal contractile integral, DCI) 等指标。测量食管组织 TJ 蛋白 Occludin、Claudin-1、Claudin-4 及 ZO-1 的相对表达量。

1.10 统计学方法 运用 SPSS 22.0 软件进行分析。符合正态分布的计量资料均以  $\bar{x} \pm s$  表示, 两组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用方差分析, 两两比较采用 SNK-*q* 检验; 计数资料组间比较采用  $\chi^2$  检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 两组 GERD 患者 24 h 食管酸反流比较 食管 24 h pH 监测显示, RE 组酸反流(pH ≤ 4) 次数以及 DeMeester 评分明显高于 NERD 组(P < 0.01)。RE 组弱酸反流(4 < pH < 7) 次数和所有反流总次数略高于 NERD 组, 但差异无统计学意义(P > 0.05)。见表 3。

2.2 两组 GERD 患者食管动力学比较 RE 组 LES 长度、LES 静息压、LES 残余压及 DCI 积分等指标略高于 NERD 组, 但无统计学差异(P > 0.05)。见表 4。

2.3 三组食管下段上皮细胞间隙 对照组、NERD、RE 组 GERD 患者光镜下测量的细胞间隙分别为 (0.64 ± 0.08) μm、(1.14 ± 0.11) μm 和 (1.27 ± 0.10) μm, 两两相比均有统计学差异(P < 0.01)。

2.4 三组食管组织 Nox-4 表达及血清 Nox-4 水平比较 免疫组化显示, Nox-4 主要表达于食管全层(上皮、黏膜及黏膜下层)(图 1, 以箭头所示)。对照组、NERD、RE 组间 Nox-4 mRNA 表达及血清 Nox-4 浓度比较有统计学差异(P < 0.01)。RE 组 Nox-4 mRNA 表达及血清 Nox-4 浓度最高, 对照组最低。见表 5。

2.5 三组患者食管组织 Nrf-2、HO-1 mRNA 表达比较 抗氧化蛋白的 mRNA 实验结果显示, Nrf-2 和 HO-1 在 NERD 组、RE 组的 mRNA 水平明显低于对照组, 三组比较有统计学差异(P < 0.01)。见表 6。

2.6 三组患者食管组织 TJ 蛋白指标的 mRNA 表达情况 各组食管上皮 TJ 蛋白的 mRNA 实验结果显

表 1 各组患者一般情况比较

组别	例数	男/女(例)	年龄(岁, $\bar{x} \pm s$ )	BMI(kg/m <sup>2</sup> , $\bar{x} \pm s$ )
对照组	9	5/4	34.00 ± 5.64	23.71 ± 2.62
NERD 组	15	7/8	38.91 ± 13.08	24.62 ± 4.03
RE 组	21	13/8	44.36 ± 11.23 <sup>a</sup>	26.02 ± 4.37
$\chi^2/F$ 值		0.823	2.968	1.221
P 值		0.663	0.062	0.305

注: 与对照组比较, <sup>a</sup>P < 0.05。

表 2 定量 RT-PCR 引物序列及产物长度

基因	上游引物(5'→3')	下游引物(5'→3')
Nox-4	CTCAGCGGAATCAATCAGCTGTG	AGAGGAACACGACAATCAGCCTTAG
Nrf-2	ACACGGTCCACAGCTCATC	TGTCAATCAAAATCCATGTCTT
HO-1	ACCCATGACACCAAGGACCAGA	GTGTAAGGACCCATCGGAGAAGC
Occludin	TCAGGGAATATCCACCTATCATTTCAG	CATCAGCAGCAGCCATGTACTCTTCAC
Claudin-1	GTGCTGAGCTAGAGGGTGA	CGGTTATCCATTCTGGCATT
Claudin-4	TCCGCCAAGTATTCTGGCTG	CGTGCCACCTTACACGTAGTT
ZO-1	TCTGCCACAGCTTGGATA	GGTCCCAGCCCCAAGC
GAPDH	TGCACCACCACTGCTTAGC	GGCATGGACTGTGGTCATGAC

示, Occludin、Claudin-1、Claudin-4 及 ZO-1 在 NERD 组、RE 组的 mRNA 水平逐渐降低, 并明显低于对照组, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。见表 7。

### 3 讨论

抗反流屏障功能障碍在 GERD 的发生发展中有重要作用。胃酸侵蚀食管黏膜引起的化学性损伤, 直接导致食管黏膜屏障功能受损, 这也从直观的视角利用微观的角度证明食管黏膜屏障功能受损是 GERD 发生的重要“标志”<sup>[5]</sup>。有学者提出, TJ 可能成为 GERD 食管微观形态结构异常的客观指标<sup>[6]</sup>。食管上皮细胞屏障功能损伤与 TJ 复合物的解离或缺失有关。GERD 大鼠模型中发现, 胃酸导致食管黏膜通透性增强, 使细胞间间隙扩大, 从而导致食管黏膜破坏<sup>[7]</sup>。研究发现, DIS 做为黏膜完整性受损的形态学特征, 促进了胃酸在黏膜下层的渗透, 而渗透至黏膜下层的酸使得 GERD 患者酸敏感性逐渐增高<sup>[8]</sup>。另外一项临床研究也发现, 食管上皮 DIS 直径扩大与 GERD 患者烧心症状直接显著相关<sup>[9]</sup>。研究显示, 胃镜下 NERD 患者食管黏膜组织虽然未见宏观的糜烂性改变, 但食管黏膜完整性的细微缺陷可能导致患者反流的感觉增强或烧心等症状的加重<sup>[10-11]</sup>。

ROS 是许多疾病病理过程中的重要机制, 也一直被认为是 GERD、Barrett 食管和腺癌的发病机制之一<sup>[12]</sup>。ROS 过量生成或细胞内抗氧化防御系统受损导致氧自由基及其相关代谢产物过量聚集, 可引起生物膜脂质过氧化、细胞内蛋白及酶变形、DNA 损害, 最后导致细胞凋亡和组织损伤。ROS 参与 RE 食管黏膜的损伤过程, 激活细胞内信号转录因子 NF- $\kappa$ B 并促发炎症因子[白介素(IL)-8, 干扰素(IFN)- $\gamma$ 等]的转录, 使炎症效应继续扩大, 食管黏膜的损伤不断加重, ROS 的持续作用下可能会并发 Barrett 食管<sup>[13]</sup>。Nrf-2/HO-1 是一种重要的细胞内抗氧化防御途径, 有研究表明 Nrf-2/HO-1 通路调控解毒酶及抗氧化应激酶的表达。有研究报道, Nrf-2 基因的敲除

表 3 两组 GERD 患者 24 h 食管酸反流比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	弱酸反流(4 < pH < 7)次数	酸反流(pH $\leq$ 4)次数	所有反流总次数	DeMeester 评分(分)
NERD 组	15	15.33 $\pm$ 6.56	19.12 $\pm$ 5.36	28.50 $\pm$ 12.13	22.80 $\pm$ 7.62
RE 组	21	22.22 $\pm$ 8.42	30.50 $\pm$ 7.23	34.38 $\pm$ 13.06	34.18 $\pm$ 9.38
<i>t</i> 值		1.936	3.575	0.932	2.491
<i>P</i> 值		0.071	0.003	0.367	0.028

表 4 两组 GERD 患者食管动力学比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	LES 长度(cm)	LES 静息压(mm Hg)	LES 残余压(mm Hg)	DCI 积分
NERD 组	15	3.08 $\pm$ 0.62	14.91 $\pm$ 5.40	5.95 $\pm$ 3.85	898.88 $\pm$ 468.60
RE 组	21	3.28 $\pm$ 0.75	19.16 $\pm$ 8.57	9.04 $\pm$ 4.73	916.50 $\pm$ 502.16
<i>t</i> 值		0.451	1.187	1.432	0.770
<i>P</i> 值		0.664	0.255	0.174	0.940

表 5 三组食管 Nox-4 mRNA 表达及其血清浓度比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	Nox-4 mRNA	血清 Nox-4 (pg/ml)
对照组	9	1.00 $\pm$ 0.00	7.03 $\pm$ 0.89
NERD 组	15	1.57 $\pm$ 0.14 *	20.16 $\pm$ 4.36 **
RE 组	21	2.15 $\pm$ 0.33 **	43.38 $\pm$ 10.30 **
<i>F</i> 值		76.074	86.314
<i>P</i> 值		0.000	0.000

注: 与对照组比较, \* $P < 0.01$ ; 与 NERD 组比较, \*\* $P < 0.01$ 。

表 6 三组食管组织 Nrf-2 及 HO-1 mRNA 表达情况比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	Nrf-2	HO-1
对照组	9	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00
NERD 组	15	0.71 $\pm$ 0.15 *	0.72 $\pm$ 0.14 *
RE 组	21	0.58 $\pm$ 0.13 *	0.66 $\pm$ 0.11 *
<i>F</i> 值		35.744	30.334
<i>P</i> 值		0.000	0.000

注: 与对照组比较, \* $P < 0.01$ 。

表 7 三组食管组织 TJ 蛋白指标的 mRNA 表达情况比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	Occludin	Claudin-1	Claudin-4	ZO-1
对照组	9	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00
NERD 组	15	0.75 $\pm$ 0.14 *	0.76 $\pm$ 0.15 *	0.76 $\pm$ 0.11 *	0.80 $\pm$ 0.13 *
RE 组	21	0.72 $\pm$ 0.09 *	0.65 $\pm$ 0.18 *	0.66 $\pm$ 0.12 *	0.68 $\pm$ 0.12 *
<i>F</i> 值		25.171	16.836	33.438	26.055
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000	0.000

注: 与对照组比较, \* $P < 0.01$ 。

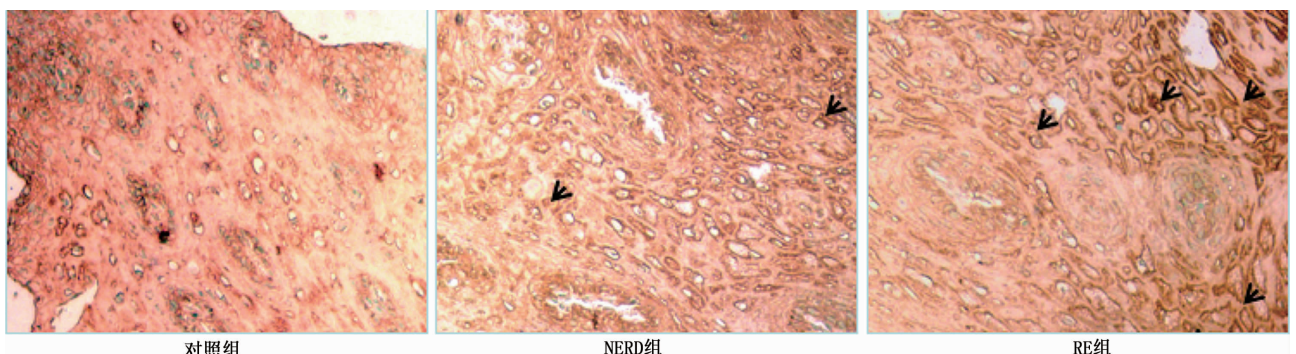


图 1 三组食管组织 Nox-4 表达病理图(免疫组化,  $\times 400$ )

可引起小鼠的胃酸反流并导致食管及胃角化,从而导致食管黏膜损伤<sup>[14-15]</sup>。

另一项动物实验研究亦发现,GERD 小鼠模型中,Nrf-2 同样也具有保护氧化损伤的作用,特别是在胃或混合反流的情况下,Nrf-2 缺乏进一步减少了被回流抑制的跨膜电阻(trans epithelial electrical resistance,TEER)<sup>[15]</sup>,这与他们之前的工作相呼应,提示胃食管反流产生 ROS,其最终诱导食管 DIS,并使得食管上皮屏障功能异常。本研究结果表明,酸反流破坏不同类型 GERD(NERD、RE)患者食管组织氧化/抗氧化系统的平衡,从而引起食管上皮细胞 TJ 蛋白的表达异常,最终导致 DIS 的发生。因此可见,氧化/抗氧化防御系统的平衡紊乱在维持食管黏膜稳态/屏障中起关键作用。

综上所述,DIS 将诱导胃酸或胆汁等胃内容物侵入增宽的细胞间隙中,从而诱导食管上皮/黏膜本身趋化因子和细胞因子的释放,产生炎症反应,最终引起食管上皮屏障功能障碍<sup>[16]</sup>。GERD 患者的食管上皮存在的 TJ 结构和功能的异常(细胞旁通透性增加而出现 DIS)以及 ROS 的表达和分布异常,可能是其发病机制之一。然而,ROS 参与食管 DIS 以及高敏感性的产生机制仍需进一步研究。

## 参考文献

[1] Tadiparthi RA, Bansal A, Wani S, et al. Dilated intercellular spaces and lymphocytes on biopsy relate to symptoms in erosive GERD but not NERD [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2011, 33 (11): 1202 - 1208.

[2] 克力木·阿不都热依木,张成,汪忠镐.胃食管反流病与食管裂孔疝外科临床研究现状与争议[J].*中华胃食管反流病电子杂志*,2014,1(1):4-6.

[3] 杜智,张成,克力木,等.高分辨率食管测压与食管 24h pH 监测 在胃食管反流病中的应用价值[J].*中华胃食管反流病电子杂志*,2015,2(3):147-151.

[4] Farré R, De Vos R, Geboes K, et al. Critical role of stress in in-

creased oesophageal mucosa permeability and dilated intercellular spaces[J]. *Gut*,2007,56(9):1191-1197.

[5] Knowles CH, Aziz Q. Visceral hypersensitivity in non-erosive reflux disease[J]. *Gut*,2008,57(5):674-683.

[6] 刘荣泉,朱海杭.非糜烂性反流病食管下段鳞状上皮细胞间隙增宽的研究进展[J].*国际消化病杂志*,2015,35(2):106-108.

[7] Johannessen R, Skogaker N, Halgunset J, et al. A standardized method for measuring intercellular spaces in esophageal biopsies in patients with suspected gastroesophageal reflux disease (the intercellular space ratio) [J]. *Scand J Gastroenterol*, 2013, 48 (11): 1235 - 1241.

[8] 谭佳成,叶必星,林琳,等.胃食管反流病相关的细胞间隙增宽和紧密连接蛋白[J].*胃肠病学*,2013,18(10):636-638.

[9] Van Itallie CM, Anderson JM. Architecture of tight junctions and principles of molecular composition[J]. *Semin Cell Dev Biol*,2014,36:157-165.

[10] 刘荣泉,傅奕,郑英,等.非糜烂性反流病患者食管上皮细胞钙黏蛋白的表达及细胞间隙的改变[J].*山东医药*,2015,55(21):88-89.

[11] 买买提·依斯热依力,吾布力卡斯木·吾拉木,克力木·阿不都热依木. TRPV-1, PAR-2 在 GERD 患者食管粘膜中的表达及其临床意义[J].*健康世界*,2018,26(14):17-19.

[12] 刘贝妮,姚树坤.食管黏膜屏障功能及其检测方法研究进展[J].*胃肠病学和肝病学杂志*,2014,23(12):1373-1375.

[13] Oh TY, Lee JS, Ahn BO, et al. Oxidative damages are critical in pathogenesis of reflux esophagitis: implication of antioxidants in its treatment[J]. *Free Radic Biol Med*,2001,30(8):905-915.

[14] 刘荣泉,那吉,陶家丽,等.贲门松弛与胃食管反流病患者的食管下段 DIS 改变[J].*胃肠病学和肝病学杂志*,2016,25(1):62-65.

[15] Chen H, Hu Y, Fang Y, et al. Nrf2 deficiency impairs the barrier function of mouse esophageal epithelium[J]. *Gut*,2014,63(5):711-719.

[16] Souza RF, Huo XF, Mittal V, et al. Gastroesophageal reflux might cause esophagitis through a cytokine-mediated mechanism rather than caustic acid injury[J]. *Gastroenterology*,2009,137(5):1776-1784.

收稿日期:2018-11-15 修回日期:2018-12-10 编辑:王国品

(上接第 580 页)

[15] Burdelski C, Reisch V, Hube-Magg C, et al. Cytoplasmic accumulation of sequestosome 1 (p62) is a predictor of biochemical recurrence, rapid tumor cell proliferation, and genomic instability in prostate cancer[J]. *Clin Cancer Res*,2015,21(15):3471-3479.

[16] Komatsu M, Kurokawa H, Waguri S, et al. The selective autophagy substrate p62 activates the stress responsive transcription factor Nrf2 through inactivation of Keap1[J]. *Nat Cell Biol*,2010,12(3):213.

[17] Eskelinen EL. The dual role of autophagy in cancer[J]. *Curr Opin Pharmacol*,2011,11(4):294-300.

[18] Mathew R, Karp CM, Beaudoin B, et al. Autophagy suppresses tumorigenesis through elimination of p62 [J]. *Cell*, 2009, 137 (6): 1062 - 1075.

[19] Mah LY, Ryan KM. Autophagy and cancer [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*,2012,4(1):a008821.

[20] Nihira K, Miki Y, Ono K, et al. An inhibition of p62/SQSTM1 caused autophagic cell death of several human carcinoma cells [J]. *Cancer Sci*,2014,105(5):568-575.

收稿日期:2018-12-18 修回日期:2019-01-20 编辑:王国品