

# HSF2和促炎症细胞因子在溃疡性结肠炎中的表达

夏蜀娴, 缪应雷

夏蜀娴, 缪应雷, 昆明医科大学第一附属医院消化内科 云南省昆明市 650032

夏蜀娴, 主要从事炎症性肠病的研究。

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81160055, 81260074

云南省科技厅-昆明医学院联合专项基金资助项目, Nos.

2011FB183, 2007C0010R

云南省卫生厅卫生系统学科带头人培养计划积极资助项目, No. D-201215

云南省社会发展科技计划基金资助项目, No. 2013CA021

作者贡献分布: 夏蜀娴与缪应雷对此文所作贡献均等; 此课题由缪应雷设计; 研究过程由夏蜀娴操作完成; 数据分析由夏蜀娴完成; 本论文写作由夏蜀娴与缪应雷完成。

通讯作者: 缪应雷, 教授, 主任医师, 650032, 云南省昆明市西昌路295号, 昆明医科大学第一附属医院消化内科。

myldu@sina.com

电话: 0871-65324888

收稿日期: 2014-07-14 修回日期: 2014-08-26

接受日期: 2014-09-10 在线出版日期: 2014-10-28

## Expression of heat shock factor 2 and proinflammatory cytokines in ulcerative colitis

Shu-Xian Xia, Ying-Lei Miao

Shu-Xian Xia, Ying-Lei Miao, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81160055 and 81260074; Joint Special Foundation of Science & Technology Department of Yunnan Province and Kunming Medical College, Nos. 2011FB183 and 2007C0010R; Medical Academic Leader Fund of Yunnan Provincial Bureau of Health, No. D-201215; Social Development Science and Technology Projects of Yunnan Province, No. 2013CA021

Correspondence to: Ying-Lei Miao, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, 295 Xichang Road, Kunming 650032, Yunnan Province, China. myldu@sina.com

Received: 2014-07-14 Revised: 2014-08-26

Accepted: 2014-09-10 Published online: 2014-10-28

## Abstract

**AIM:** To examine the mRNA and protein expression of heat shock factor 2 (HSF2) as well as the levels of proinflammatory cytokines like tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) and IL-8 in the colonic mucosa and serum of patients with ulcerative colitis (UC).

**METHODS:** Colonic mucosa and blood specimens were obtained from patients with UC who

were admitted at the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University from February 2013 to February 2014. Patients with abdominal pain or discomfort who were eventually diagnosed with irritable bowel syndrome according to Roman III criteria and had no lesions under colonoscopy were used as controls. UC disease activity evaluation was performed using UC-DAI. The mRNA expression levels of HSF2, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-8 in the mucosa were detected by real-time fluorescence quantitative PCR. Serum concentrations of HSF2, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-8 were detected using ELISA. The correlations of HSF2 expression with disease activity, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-8 in UC were also explored.

**RESULTS:** Twenty UC and five control mucosa specimens were collected, and 60 UC and 20 control blood specimens were obtained. Patients with mild to severe UC had significantly higher mRNA expression of HSF2 (mild:  $1.30 \pm 0.11$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.05$ ; moderate:  $1.50 \pm 0.14$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.01$ ; severe:  $2.02 \pm 0.19$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.01$ ), TNF- $\alpha$  (mild:  $6.28 \pm 1.79$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.05$ ; moderate:  $10.21 \pm 1.68$  vs  $1.00$ ,  $P < 0.01$ ; severe:  $19.23 \pm 4.38$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.01$ ), IL-1 $\beta$  (mild:  $48.91 \pm 13.72$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.05$ ; moderate:  $99.12 \pm 17.28$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.01$ ; severe:  $212.89 \pm 29.69$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.01$ ) and IL-8 (mild:  $27.49 \pm 4.55$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.05$ ; moderate:  $54.73 \pm 12.00$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.01$ ; severe:  $124.73 \pm 26.08$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.01$ ) in the colon mucosa than controls. HSF2 expression had a positive expression correlation with the levels of these pro-inflammatory cytokines ( $r = 0.89, 0.89, 0.80$ ,  $P < 0.001$ ). Serum concentrations of HSF2 (mild:  $0.91$  ng/mL  $\pm 0.33$  ng/mL vs  $0.42$  ng/mL  $\pm 0.29$  ng/mL,  $P < 0.05$ ; moderate:  $1.26$  ng/mL  $\pm 0.28$  ng/mL vs  $0.42$  ng/mL  $\pm 0.29$  ng/mL,  $P < 0.01$ ; severe:  $2.15$  ng/mL  $\pm 0.42$  ng/mL vs  $0.42$  ng/mL  $\pm 0.29$  ng/mL,  $P < 0.01$ ), TNF- $\alpha$  (mild:  $17.29$  pg/mL  $\pm 1.71$  pg/mL vs  $13.45$  pg/mL  $\pm 3.63$  pg/mL,  $P < 0.05$ ; moderate:  $17.42$  pg/mL  $\pm 1.85$  pg/mL vs  $13.45$  pg/mL  $\pm 3.63$  pg/mL,  $P < 0.01$ ; severe:  $21.16$  pg/mL  $\pm 2.15$  pg/mL vs  $13.45$  pg/mL  $\pm 3.63$  pg/mL,  $P < 0.01$ ), IL-1 $\beta$  (mild:  $11.86$  pg/mL  $\pm 5.18$  pg/mL vs  $4.93$

## ■背景资料

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)病情评估仍缺乏金指标, C反应蛋白(C-reaction protein, CRP)、红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate, ESR)、乳铁蛋白、钙卫蛋白等指标虽可在一定程度上反应UC炎症活动程度, 但缺乏特异性, 也无法准确预测黏膜愈合。筛选更具特异性和准确性的体液指标势在必行。

## ■同行评议者

杜奕奇, 副教授, 中国人民解放军第二军医大学长海医院

## ■研究前沿

促炎症细胞因子和抗炎细胞因子的失衡在UC的发病过程中起了枢纽作用。当细胞长期处于炎症等应激下, 热休克转录因子2(heat shock factor 2, HSF2)可通过诱导热休克蛋白(heat shock protein, HSP)的表达抑制蛋白质的错误折叠, 促进变性蛋白质的降解, 对细胞的修复具有重要作用。

pg/mL  $\pm$  2.92 pg/mL,  $P < 0.05$ ; moderate: 15.05 pg/mL  $\pm$  2.90 pg/mL vs 4.93 pg/mL  $\pm$  2.92 pg/mL,  $P < 0.01$ ; severe: 22.77 pg/mL  $\pm$  7.19 pg/mL vs 4.93 pg/mL  $\pm$  2.92 pg/mL,  $P < 0.01$ ) and IL-8 (mild: 19.49 pg/mL  $\pm$  4.38 pg/mL vs 8.25 pg/mL  $\pm$  2.23 pg/mL,  $P < 0.01$ ; moderate: 32.18 pg/mL  $\pm$  6.81 pg/mL vs 8.25 pg/mL  $\pm$  2.23 pg/mL,  $P < 0.01$ ; severe: 60.19 pg/mL  $\pm$  9.71 pg/mL vs 8.25 pg/mL  $\pm$  2.23 pg/mL,  $P < 0.01$ ) in UC patients were significantly higher than those in controls, and HSF2 concentration was also positively correlated with serum levels of these proinflammatory cytokines ( $r = 0.77, 0.73, 0.85, P < 0.001$ ).

**CONCLUSION:** Colonic mRNA expression levels and serum concentrations of HSF2, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-8 increase in UC patients. The expression level of HSF2 is positively correlated with TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-8, suggesting that HSF2 might be used as a new marker for evaluating inflammation activity level in UC.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Heat shock factor 2; Ulcerative colitis; Proinflammatory cytokines

Xia SX, Miao YL. Expression of heat shock factor 2 and proinflammatory cytokines in ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(30): 4683-4690 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4683.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4683>

## 摘要

**目的:** 检测溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)患者结肠黏膜和血清中热休克转录因子2(heat shock factor 2, HSF2)和促炎症细胞因子如肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白介素1 $\beta$ (interleukin 1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、IL-8的转录和翻译水平, 评价HSF2与UC病情严重程度的关系以及其与促炎症细胞因子表达的相关性。

**方法:** 收集2013-02/2014-02昆明医科大学第一附属医院住院治疗的UC患者。选取因腹痛或腹部不适收住昆明医科大学第一附属医院, 经肠镜检查未发现异常黏膜病变, 根据罗马Ⅲ标准诊断为肠易激综合征的患者作为对照组。采集肠黏膜组织和血清。UC病情评估采用溃疡性结肠炎疾病活动指数(UC-disease activity index, UC-DAI)评分系统。实时荧光定量PCR法检测结肠黏膜中HSF2和TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8的mRNA转录水平。ELISA测定血清中HSF2、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8的含量。应用

SPSS17.0统计学软件对实验数据进行统计分析, 探讨HSF2和TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8在结肠黏膜组织及血清中表达的相关性。

**结果:** 共收集UC活动期患者肠黏膜组织样品20例, 对照组5例。UC患者血清样品60例, 对照组血清样品20例。(1)UC患者结肠黏膜组织中HSF2 mRNA(轻度:  $1.30 \pm 0.11$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.05$ ; 中度:  $1.50 \pm 0.14$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.01$ ; 重度:  $2.02 \pm 0.19$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.01$ )、TNF- $\alpha$  mRNA(轻度:  $6.28 \pm 1.79$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.05$ ; 中度:  $10.21 \pm 1.68$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.01$ ; 重度:  $19.23 \pm 4.38$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.01$ )、IL-1 $\beta$  mRNA(轻度:  $48.91 \pm 13.72$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.05$ ; 中度:  $99.12 \pm 17.28$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.01$ ; 重度:  $212.89 \pm 29.69$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.01$ )、IL-8 mRNA(轻度:  $27.49 \pm 4.55$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.05$ ; 中度:  $54.73 \pm 12.00$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.01$ ; 重度:  $124.73 \pm 26.08$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.01$ )的相对表达量较对照组显著增加。且HSF2与TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8的表达具有正相关性( $r = 0.89, 0.89, 0.80, P < 0.001$ ); (2)UC患者HSF2(轻度:  $0.91$  ng/mL  $\pm 0.33$  ng/mL vs  $0.42$  ng/mL  $\pm 0.29$  ng/mL,  $P < 0.05$ ; 中度:  $1.26$  ng/mL  $\pm 0.28$  ng/mL vs  $0.42$  ng/mL  $\pm 0.29$  ng/mL,  $P < 0.01$ ; 重度:  $2.15$  ng/mL  $\pm 0.42$  ng/mL vs  $0.42$  ng/mL  $\pm 0.29$  ng/mL,  $P < 0.01$ )、TNF- $\alpha$ (轻度:  $17.29$  pg/mL  $\pm 1.71$  pg/mL vs  $13.45$  pg/mL  $\pm 3.63$  pg/mL,  $P < 0.05$ ; 中度:  $17.42$  pg/mL  $\pm 1.85$  pg/mL vs  $13.45$  pg/mL  $\pm 3.63$  pg/mL,  $P < 0.01$ ; 重度:  $21.16$  pg/mL  $\pm 2.15$  pg/mL vs  $13.45$  pg/mL  $\pm 3.63$  pg/mL,  $P < 0.01$ )、IL-1 $\beta$ (轻度:  $11.86$  pg/mL  $\pm 5.18$  pg/mL vs  $4.93$  pg/mL  $\pm 2.92$  pg/mL,  $P < 0.05$ ; 中度:  $15.05$  pg/mL  $\pm 2.90$  pg/mL vs  $4.93$  pg/mL  $\pm 2.92$  pg/mL,  $P < 0.01$ ; 重度:  $22.77$  pg/mL  $\pm 7.19$  pg/mL vs  $4.93$  pg/mL  $\pm 2.92$  pg/mL,  $P < 0.01$ )、IL-8(轻度:  $19.49$  pg/mL  $\pm 4.38$  pg/mL vs  $8.25$  pg/mL  $\pm 2.23$  pg/mL,  $P < 0.01$ ; 中度:  $32.18$  pg/mL  $\pm 6.81$  pg/mL vs  $8.25$  pg/mL  $\pm 2.23$  pg/mL,  $P < 0.01$ ; 重度:  $60.19$  pg/mL  $\pm 9.71$  pg/mL vs  $8.25$  pg/mL  $\pm 2.23$  pg/mL,  $P < 0.01$ )血清浓度均显著高于对照组, 且HSF2血清浓度与TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8血清浓度呈正相关性( $r = 0.77, 0.73, 0.85, P < 0.001$ )。

**结论:** HSF2与TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8在溃疡性结肠炎结肠黏膜组织及血清中的表达均增加, 且HSF2与TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8的表达具有正相关性, 提示HSF2可能作为一项新的评估UC炎症活动程度的指标。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 热休克转录因子2; 溃疡性结肠炎; 促炎症细胞因子

**核心提示:** 溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种肠道慢性非特异性炎症性疾病,严重影响患者的健康和生活质量,临床尚缺乏有效的炎症活动评判指标.本研究通过检测UC患者和对照组肠黏膜及血清中热休克转录因子2(heat shock factor 2, HSF2)与肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白介素1 $\beta$ (interleukin 1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、IL-8的表达水平,在一定程度上揭示了HSF2与UC炎症活动程度的相关性,为探索新的体液指标提供了重要线索.

夏蜀娴, 缪应雷. HSF2和促炎症细胞因子在溃疡性结肠炎中的表达. 世界华人消化杂志 2014; 22(30): 4683-4690 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4683.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i30.4683>

## 0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)以反复黏液脓血便为主要表现,重症患者还可出现肠外并发症,目前发病机制尚不完全明确.虽然如今已提出黏膜愈合(mucosal healing, MH)作为UC治疗的最终目标<sup>[1-3]</sup>,但临床上仍缺乏特异性的诊断指标.此外,目前对UC炎症活动性检测的实验室指标均不特异,无法对病情做更为准确的评判,在一定程度上不利于黏膜愈合的治疗.因此,筛选更具特异性和准确性的体液指标势在必行.热休克蛋白(heat shock protein, HSP)是当生物细胞在高温、毒物、自由基、感染、炎症等应激原作用下以基因表达变化为特征的一种防御性反应蛋白,是细胞最原始、最重要的内源性抗损伤机制<sup>[4]</sup>.HSP的表达在转录水平受热休克转录因子(heat shock factors, HSFs)的调控.研究表明, HSP70、HSP25/27可保护肠上皮细胞, HSP70、HSP25/27的表达下调可削弱肠上皮细胞抗炎性应激能力,引发UC<sup>[5-8]</sup>.HSF2可通过诱导HSP70的转录参与肠上皮细胞的保护<sup>[9]</sup>.本研究小组前期通过基因芯片、蛋白质组学及免疫组织化学结果都表明UC患者HSF2表达上调<sup>[10-12]</sup>.因此,进一步检测HSF2和促炎症细胞因子[肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白介素1 $\beta$ (interleukin 1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、IL-8在UC中的表达,有助于探索HSF2在UC诊治中的作用.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 按照我国2012年炎症性肠病诊断与治疗的共识意见<sup>[13]</sup>收集2013-02/2014-02昆明医科大学第一附属医院UC活动期患者.选取因腹痛或腹部不适收住昆明医科大学第一附属医院,经肠镜检查未发现异常黏膜病变,根据罗马III标准诊断为肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)的患者作为对照组.病情评估采用溃疡性结肠炎疾病活动指数(UC-disease activity index, UC-DAI)评分系统.征求同意后,所有UC组与对照组于清晨空腹肘静脉抽取血液样品(治疗前),4000 r/min离心10 min,取血清分装于-80℃冰箱保存.结肠镜下活检钳钳夹新鲜肠黏膜组织,用无菌生理盐水清洗干净后置于冻存管中,于液氮中保存备用.共收集UC活动期患者肠黏膜组织样品20例,对照组5例. UC患者血清样品60例,对照组血清样品20例,患者一般资料如表1, 2.

### 1.2 方法

**1.2.1 实时荧光定量PCR:** (1)按照RNAprep Pure动物组织总RNA提取试剂盒DP431(TIANGEN, 北京)说明书进行肠黏膜组织总RNA提取; (2)1st-Strand cDNA合成按TaKaRa Reverse Transcriptase M-MLV (Rnase H-)(2641A)说明书进行; (3)根据GenBank中人HSF2、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8、GAPDH的基因序列,利用Primer Premier 5.0软件设计引物(北京三博志远).引物序列为: HSF2(139 bp): F: 5'-ATA AGT AGT GCT CAG AAG GTT TCA GA-3'; R: 5'-GAA TAA CTT GTT GCT GTT GTG CAT G-3'; TNF- $\alpha$ (124 bp): F: 5'-TCT CGA ACC CCG AGT GAC AA-3'; R: 5'-TAT CTC TCA GCT CCA CGC CA-3'; IL-1 $\beta$ (169 bp): F: 5'-TTC TTC GAC ACA TGG GAT AAC G-3'; R: 5'-TGG AGA ACA CCA CTT GTT GC T-3'; IL-8(118 bp): F: 5'-AGA GTG ATT GAG AGT GGA CC-3'; R: 5'-ACT TCT CCA CAA CCC TCT G-3'; GAPDH(185 bp): F: 5'-GGA AGG TGA AGG TCG GAG TC-3'; R: 5'-TCA GCC TTG ACG GTG CCA TG-3'; (4)所有cDNA样品配置按照TaKaRa SYBR Premix Ex Taq(Tli RnaseH Plus)的反应体系配制反应液,反应条件为95℃ 30 s 预变性,然后95℃ 5 s, 60℃ 15 s, 72℃ 20 s, 76℃ 10 s, 45个循环, 95℃ 1 min延伸; (5)观察扩增效率(0.8-1.2), 相关系数( $r^2 > 0.98$ ), 有无非特异性产物扩增熔解曲线是否单峰, 有无污染、引物二聚体产生. 根据计算公式: 改变的倍数(fold of change) =  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ,  $\Delta\Delta Ct = (Ct_{\text{靶基因}} - Ct_{\text{内参}})$ .

### ■ 相关报道

HSP是细胞在应激状态下HSP基因表达的产物,可通过调节NF- $\kappa$ B、MAPK中的家族成员,参与TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8、IL-6、IFN- $\gamma$ 等细胞因子的转录调控. HSF作为HSP的转录因子,除可与HSP基因启动子结合,尚可与IL-1 $\beta$ 等细胞因子基因启动子结合,直接或间接介导炎症细胞因子的表达调控.



## ■创新盘点

目前对HSF的研究主要集中在HSF1,对HSF2的认识相对较少,本研究通过检测HSF2与促炎症细胞因子在UC中的转录和翻译水平,为探讨HSF2在UC疾病中的作用提供了一定参考。

表 1 20例UC患者及5例对照组肠黏膜样品一般资料

临床资料	UC			对照组	P值
	轻度	中度	重度		
<i>n</i>	7	8	5	5	
年龄(岁)	46.0 ± 17.2	43.8 ± 5.5	38.0 ± 8.8	42.8 ± 8.9	0.71
性别 <i>n</i> (%)					0.88
男	3(42.8)	5(62.5)	3(60.0)	2(40.0)	
女	4(57.2)	3(37.5)	2(40.0)	3(60.0)	
病程(年)	2.7 ± 2.1	6.6 ± 4.7	2.4 ± 0.5	—	0.09
病变范围 <i>n</i> (%)					
直肠	4(57.2)	3(37.5)	1(20.0)	—	—
左半结肠	2(28.6)	3(37.5)	1(20.0)	—	—
广泛结肠	1(14.2)	2(25.0)	3(60.0)	—	—
UC-DAI	4.4 ± 0.5	7.4 ± 1.3	11.2 ± 0.4	—	<0.001

UC: 溃疡性结肠炎; UC-DAI: 溃疡性结肠炎疾病活动指数。

表 2 60例UC患者及20例对照组血清样品一般资料

临床资料	UC			对照组	P值
	轻度	中度	重度		
<i>n</i>	20	24	16	20	
年龄(岁)	44.1 ± 14.9	44.9 ± 7.9	39.1 ± 12.9	45.6 ± 9.7	0.64
性别 <i>n</i> (%)					0.41
男	8(40.0)	14(58.3)	12(75.0)	8(40.0)	
女	12(60.0)	10(41.7)	4(25.0)	12(60.0)	
病程(年)	3.8 ± 2.7	6.3 ± 6.5	1.8 ± 0.9	—	0.10
病变范围 <i>n</i> (%)					
直肠	12(60.0)	8(33.3)	0(0.0)	—	—
左半结肠	8(40.0)	14(58.3)	2(12.5)	—	—
广泛结肠	0(0.0)	2(8.4)	14(87.5)	—	—
UC-DAI	4.7 ± 0.7	7.4 ± 1.2	11.3 ± 0.5	—	0.02

UC: 溃疡性结肠炎; UC-DAI: 溃疡性结肠炎疾病活动指数。

内参)<sub>处理组</sub>-(Ct靶基因-Ct内参)<sub>未处理组</sub>分析数值。

1.2.2 ELISA检测血清HSF2、TNF-α、IL-1β、IL-8: 血清HSF2(CUSABIO, 武汉)、TNF-α、IL-1β、IL-8(R&D, USA)浓度测定分别按照ELISA试剂盒说明书进行。

**统计学处理** 采用SPSS17.0软件进行统计分析, 计量资料数据经正态性检验均为正态分布, 用mean ± SD表示, 多组间计量资料的比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 组间差异采用成组设计*t*检验分析。采用Pearson法进行相关性分析, *P* < 0.05为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 实时荧光定量PCR 实时荧光定量PCR结果

显示: HSF2、TNF-α、IL-1β、IL-8相对于对照组, 在UC患者肠黏膜组织中表达均增加, 且HSF2与TNF-α、IL-β、IL-8的表达均呈正相关性(图1, 2)。

2.2 ELISA检测血清HSF2、TNF-α、IL-1β、IL-8浓度 根据ELISA试剂盒要求, 按照说明书操作步骤进行血清HSF2、TNF-α、IL-1β、IL-8浓度测定, 结果显示: UC组与对照组相比, HSF2、TNF-α、IL-1β、IL-8血清浓度在轻、中、重3组中均有升高, 组间差异有统计学意义。Pearson相关分析结果显示: 血清HSF2浓度与UC-DAI水平、TNF-α、IL-1β、IL-8浓度呈正相关(图3, 4)。

## 3 讨论

当细胞遭受外界高温、感染、炎症、各种理化

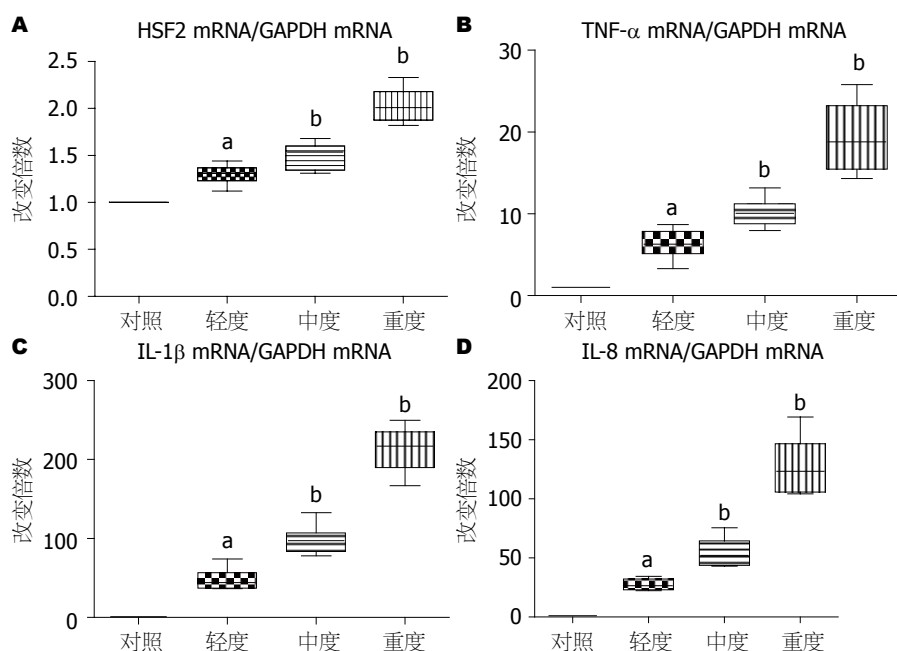


图 1 实时荧光定量PCR. A: HSF2 mRNA; B: TNF-α mRNA; C: IL-1β mRNA; D: IL-8 mRNA. <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 对照组. HSF2: 热休克转录因子2; TNF-α: 肿瘤坏死因子α; IL: 白介素.

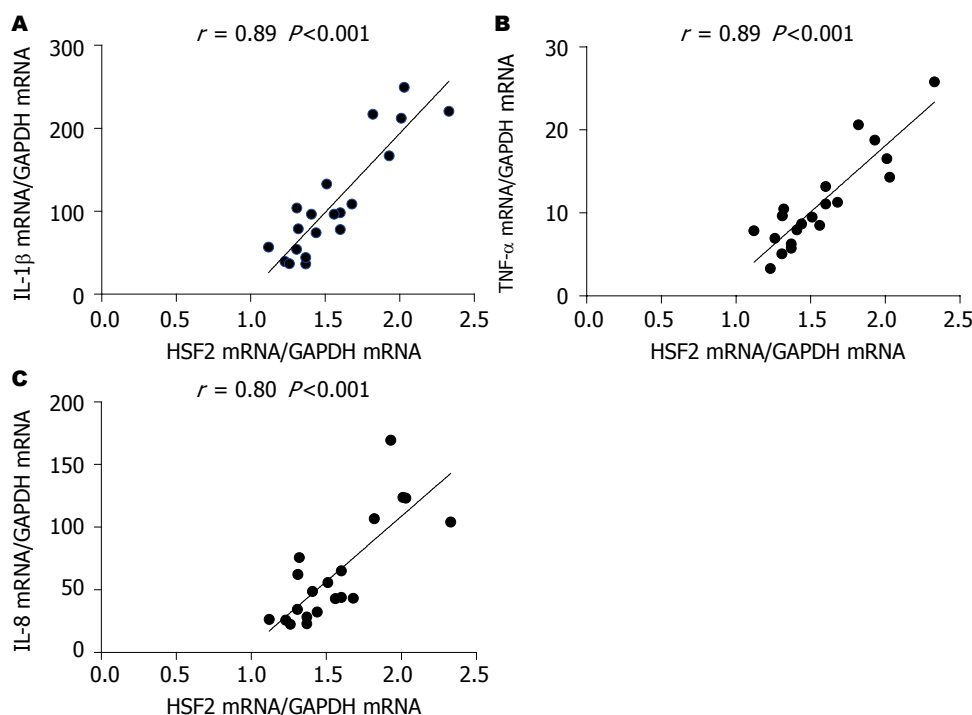


图 2 HSF2 mRNA相对表达量与TNF-α、IL-1β、IL-8 mRNA相对表达量相关性分析. A: HSF2 vs IL-1β,  $r = 0.89$ ,  $P < 0.001$ ; B: HSF2 vs TNF-α,  $r = 0.89$ ,  $P < 0.001$ ; C: HSF2 vs IL-8,  $r = 0.80$ ,  $P < 0.001$ . HSF2: 热休克转录因子2; TNF-α: 肿瘤坏死因子α; IL: 白介素.

#### 同行评价

本文具有较强的创新性, 既往UC研究均关注HSP本身, 对于其调控因子HSF研究较少, 本文从组织和血清两个层面分析了HSF与炎症因子的关系, 对于阐明HSF在UC发病中的作用具有重要价值.

因素刺激时, 为保持细胞内蛋白质功能的稳定, 机体会启动热休克反应防御系统, 通过表HSP发挥保护作用. 研究表明, 肠上皮细胞可分泌具有广谱抗菌作用的防御素、分泌型免疫球蛋白A(IgA)等, 具有保护黏膜免受损伤的重要作用; IL-10、HSP、TGF-β、前列腺素E<sub>2</sub>, 具有促进

肠道免疫耐受的作用, 在体内他们与受体组成完整而庞大的网络, 具有调节免疫反应及促进黏膜损伤后修复的作用<sup>[14]</sup>. HSP能介导细胞内蛋白质的正确装配, 保护新合成的蛋白分子构型, 防止在形成装配正确的多聚体前蛋白亚单位不恰当的折叠和聚集. 该蛋白陪伴蛋白分子

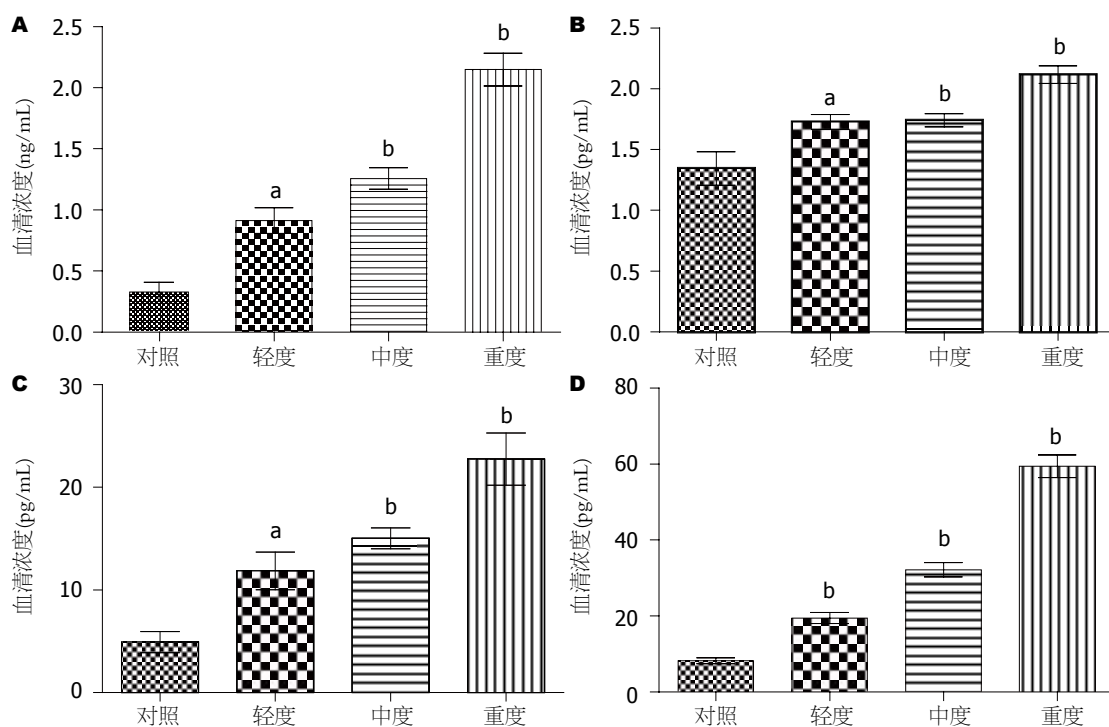


图3 HSF2、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8血清浓度。A: HSF2; B: TNF- $\alpha$ ; C: IL-1 $\beta$ ; D: IL-8。\* $P$ <0.05,  $^bP$ <0.01 vs 对照组。HSF2: 热休克转录因子2; TNF- $\alpha$ : 肿瘤坏死因子 $\alpha$ ; IL: 白介素。

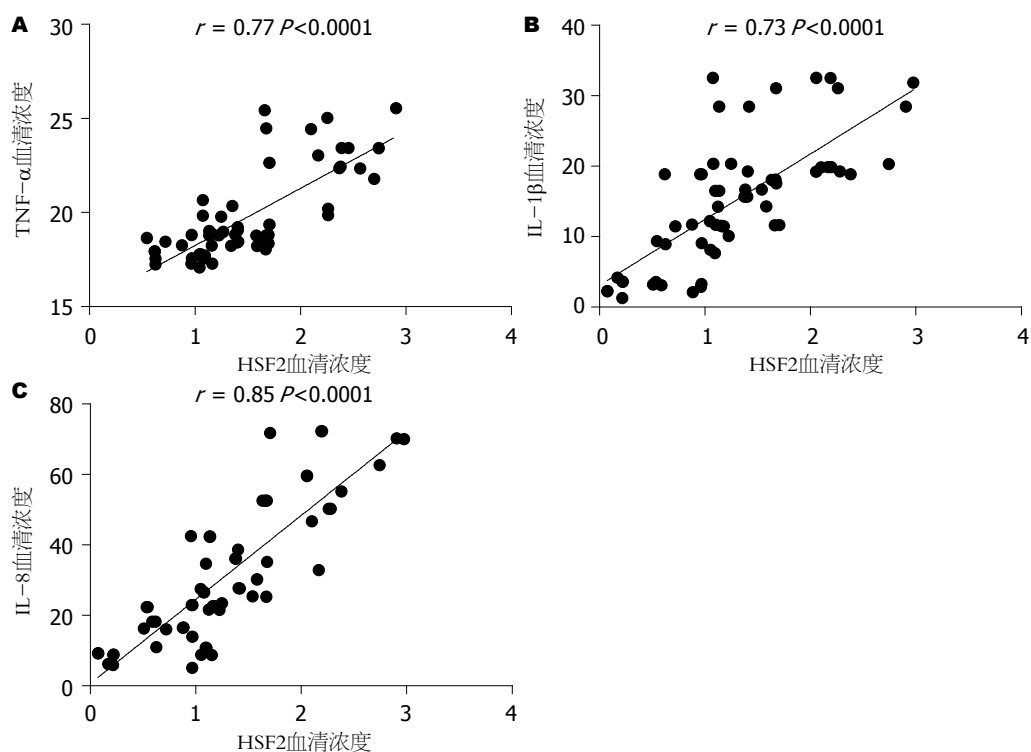


图4 HSF2血清浓度与TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8血清浓度相关性分析。A: HSF2 vs TNF- $\alpha$ ,  $r = 0.77$ ,  $P$ <0.0001; B: HSF2 vs IL-1 $\beta$ ,  $r = 0.73$ ,  $P$ <0.0001; C: HSF2 vs IL-8,  $r = 0.85$ ,  $P$ <0.0001。HSF2: 热休克转录因子2; TNF- $\alpha$ : 肿瘤坏死因子 $\alpha$ ; IL: 白介素。

在细胞内转运和跨膜, 参与蛋白质的折叠、伸展、多聚复合体的组装, 以维持细胞蛋白质稳定和细胞正常生理功能<sup>[15-17]</sup>。HSP的合成受HSF调控。

UC是一种肠道慢性非特异性炎症性疾病, 以肠黏膜充血、水肿、溃疡为特点。病理上, 肠道免疫系统的长期激活在肠黏膜慢性炎症的进展中起重要作用, 已有许多动物炎症模型和研究

发现UC中炎症介质水平明显升高,多种炎症细胞因子可损伤肠上皮细胞,破坏细胞间的紧密连接,使上皮通透性增加,是UC的发生和发展过程中的重要影响因素.其中,TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8就是主要的促炎症细胞因子,他们的含量与UC的炎症状态密切相关.

本研究利用实时荧光定量PCR方法检测TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8在UC患者肠黏膜组织中的转录水平,ELISA方法检测UC患者血清中TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8的浓度.结果发现TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8在UC患者肠黏膜中表达均增加,在血清中的浓度水平也显著高于对照组.这充分说明了促炎症细胞因子与UC关系的密切性.值得我们注意的是,HSF2在UC患者肠黏膜组织和血清中的表达亦显著高于对照组,且与TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8的表达以及病情严重程度呈正相关.我们知道,炎症细胞因子的表达受核因子- $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)、MAPK等信号通路网络调控,多种炎症细胞因子又可激活NF- $\kappa$ B、MAPK,他们之间彼此关联,相互作用.如前所述,HSF2是细胞内源性保护性蛋白质HSP的转录调控因子之一,对细胞有重要保护作用.HSF2可通过调节NF- $\kappa$ B、MAPK中的家族成员,参与细胞因子的转录调控<sup>[18-21]</sup>.本研究发现HSF2在UC患者中的表达水平增加,我们推测可能与其参与了HSP介导的抑制炎症细胞因子的表达信号通路,进而保护黏膜上皮细胞有关.

然而,本研究还存在很多局限性,有很多问题值得我们继续去研究探索.如HSF2的表达并未使TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8的表达降低,说明HSF参与的HSP调控通路不是单一的影响因素.细胞因子的转录调节信号通路之间关系复杂,HSF这一调控机制中间还存在哪些重要的调控因子值得进一步研究.HSF2保护肠上皮细胞的具体作用靶点是什么仍需要更深入的研究.

#### 4 参考文献

- 1 Lichtenstein GR, Rutgeerts P. Importance of mucosal healing in ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 338-346 [PMID: 19637362 DOI: 10.1002/ibd.20997]
- 2 Pineton de Chambrun G, Peyrin-Biroulet L, Lémann M, Colombel JF. Clinical implications of mucosal healing for the management of IBD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 15-29 [PMID: 19949430 DOI: 10.1038/nrgastro.2009.203]
- 3 Neurath MF, Travis SP. Mucosal healing in inflammatory bowel diseases: a systematic review. *Gut* 2012; 61: 1619-1635 [PMID: 22842618 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-302830]
- 4 Hayashida N, Inouye S, Fujimoto M, Tanaka Y, Izu H, Takaki E, Ichikawa H, Rho J, Nakai A. A novel HSF1-mediated death pathway that is suppressed by heat shock proteins. *EMBO J* 2006; 25: 4773-4783 [PMID: 17024176 DOI: 10.1038/sj.emboj.7601370]
- 5 Liu TS, Musch MW, Sugi K, Walsh-Reitz MM, Ropeleski MJ, Hendrickson BA, Pothoulakis C, Lamont JT, Chang EB. Protective role of HSP72 against *Clostridium difficile* toxin A-induced intestinal epithelial cell dysfunction. *Am J Physiol Cell Physiol* 2003; 284: C1073-C1082 [PMID: 12490434 DOI: 10.1152/ajpcell.00134.2002]
- 6 Ren H, Musch MW, Kojima K, Boone D, Ma A, Chang EB. Short-chain fatty acids induce intestinal epithelial heat shock protein 25 expression in rats and IEC 18 cells. *Gastroenterology* 2001; 121: 631-639 [PMID: 11522747 DOI: 10.1053/gast.2001.27028]
- 7 Kojima K, Musch MW, Ropeleski MJ, Boone DL, Ma A, Chang EB. *Escherichia coli* LPS induces heat shock protein 25 in intestinal epithelial cells through MAP kinase activation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 286: G645-G652 [PMID: 14630641 DOI: 10.1152/ajpgi.00080.2003]
- 8 Hu S, Ciancio MJ, Lahav M, Fujiya M, Lichtenstein L, Anant S, Musch MW, Chang EB. Translational inhibition of colonic epithelial heat shock proteins by IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  in intestinal inflammation. *Gastroenterology* 2007; 133: 1893-1904 [PMID: 18054561 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.09.026]
- 9 Sandqvist A, Björk JK, Akerfelt M, Chitikova Z, Grichine A, Vourc'h C, Jolly C, Salminen TA, Nymalm Y, Sistonen L. Heterotrimerization of heat-shock factors 1 and 2 provides a transcriptional switch in response to distinct stimuli. *Mol Biol Cell* 2009; 20: 1340-1347 [PMID: 19129477 DOI: 10.1091/mbc.E08-08-0864]
- 10 廖应雷, 肖玉良, 段丽平, 李晓燕, 陈丽芳, 李红纳. 寡聚核苷酸芯片检测溃疡性结肠炎患者基因表达谱的研究. *中华消化杂志* 2009; 11: 775-777
- 11 陈丽芳, 廖应雷, 杜艳, 李红纳, 肖玉良. CEACAM6, Syndecan-1, PDGFA, HLA-DRB5在溃疡性结肠炎中的表达和意义. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 2971-2975
- 12 廖应雷, 陈丽芳, 杜艳, 李红纳, 朱艳平, 肖玉良. 溃疡性结肠炎血清差异蛋白的筛选研究. *中华消化杂志* 2010; 30: 898-901
- 13 中华医学会分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的一致意见. *中华消化杂志* 2012; 32: 796-813
- 14 祁燕, 王汝俊, 李燕舞, 米红, 唐立海. 溃疡结直肠含药血清对大鼠结肠上皮细胞损伤模型的影响. *中药药理与临床* 2013; 29: 132-135
- 15 Anfinsen CB. Principles that govern the folding of protein chains. *Science* 1973; 181: 223-230 [PMID: 4124164 DOI: 10.1126/science.181.4096.223]
- 16 Hartl FU. Molecular chaperones in cellular protein folding. *Nature* 1996; 381: 571-579 [PMID: 8637592 DOI: 10.1038/381571a0]
- 17 Shinkawa T, Tan K, Fujimoto M, Hayashida N, Yamamoto K, Takaki E, Takii R, Prakasam R, Inouye S, Mezger V, Nakai A. Heat shock factor 2 is required for maintaining proteostasis against febrile-range thermal stress and polyglutamine aggregation. *Mol Biol Cell* 2011; 22: 3571-3583 [PMID: 21813737 DOI: 10.1091/mbc.E11-04-0330]
- 18 Yoo CG, Lee S, Lee CT, Kim YW, Han SK, Shim YS. Anti-inflammatory effect of heat shock protein induction is related to stabilization of I kappa B al-

- pha through preventing I kappa B kinase activation in respiratory epithelial cells. *J Immunol* 2000; 164: 5416-5423 [PMID: 10799907 DOI: 10.4049/jimmunol.164.10.5416]
- 19 Cahill CM, Waterman WR, Xie Y, Auron PE, Calderwood SK. Transcriptional repression of the prointerleukin 1beta gene by heat shock factor 1. *J Biol Chem* 1996; 271: 24874-24879 [PMID: 8926278]
- 20 Singh IS, He JR, Calderwood S, Hasday JD. A high affinity HSF-1 binding site in the 5'-untranslated region of the murine tumor necrosis factor-alpha gene is a transcriptional repressor. *J Biol Chem* 2002; 277: 4981-4988 [PMID: 11734555 DOI: 10.1074/jbc.M108154200]
- 21 Kim SH, Kim D, Jung GS, Um JH, Chung BS, Kang CD. Involvement of c-Jun NH(2)-terminal kinase pathway in differential regulation of heat shock proteins by anticancer drugs. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 262: 516-522 [PMID: 10462506 DOI: 10.1006/bbrc.1999.1229]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

## • 消息 •

### 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

**本刊讯** 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界胃肠病学杂志(英文版)》总被引频次6 979次, 影响因子0.873, 综合评价总分88.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第1位、第3位、第1位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第11位、第156位、第18位; 其他指标: 即年指标0.219, 他引率0.89, 引用刊数619种, 扩散因子8.84, 权威因子2 144.57, 被引半衰期4.7, 来源文献量758, 文献选出率0.94, 地区分布数26, 机构分布数1, 基金论文比0.45, 海外论文比0.71。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界胃肠病学杂志(英文版)》再度被收录为“中国科技核心期刊”(中国科技论文统计源期刊)。根据2011年度中国科技论文与引文数据库(CSTPCD 2011)统计结果,《世界胃肠病学杂志(英文版)》荣获2011年“百种中国杰出学术期刊”称号。