

HMGB1和TLR4在食管鳞癌组织中的表达及临床意义

梁旭阳, 李 伟, 马艳芹, 张志梅, 贺艳琳

梁旭阳, 张志梅, 江苏省连云港市第一人民医院消化内镜中心 江苏省连云港市 222002

李伟, 马艳芹, 江苏省连云港市第一人民医院消化内科 江苏省连云港市 222002

贺艳琳, 江苏省连云港市第一人民医院病理科 江苏省连云港市 222002

梁旭阳, 主治医师, 主要从事消化系统疾病临床、内镜及基础研究.

基金项目: 连云港市第一人民医院青年英才豪森基金资助项目, No. QN130203.

作者贡献分布: 梁旭阳与李伟设计了此课题; 梁旭阳、马艳芹及张志梅完成了研究过程; 梁旭阳、刘毅、贺艳琳及齐冬雪提供了研究所用新试剂及分析工具; 梁旭阳进行了数据分析; 梁旭阳撰写了此文.

通讯作者: 李伟, 主任医师, 222002, 江苏省连云港市新浦区通灌北路182号, 江苏省连云港市第一人民医院消化内科. 362008621@qq.com
电话: 0518-85885015

收稿日期: 2016-05-22
修回日期: 2016-07-03
接受日期: 2016-07-19
在线出版日期: 2016-08-18

Clinical significance of expression of high mobility group protein B1 and Toll-like receptor 4 in esophageal squamous cell carcinoma

Xu-Yang Liang, Yi Li, Yan-Qin Ma, Zhi-Mei Zhang, Yan-Lin He

Xu-Yang Liang, Zhi-Mei Zhang, Digestive Endoscopy Center, the First People's Hospital of Lianyungang, Lianyungang 222002, Jiangsu Province, China

Yi Li, Yan-Qin Ma, Department of Gastroenterology, the

First People's Hospital of Lianyungang, Lianyungang 222002, Jiangsu Province, China

Yan-Lin He, Department of Pathology, the First People's Hospital of Lianyungang, Lianyungang 222002, Jiangsu Province, China

Supported by: Youth Talent Haosen Fund of the First People's Hospital of Lianyungang, No. QN130203.

Correspondence to: Yi Li, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First People's Hospital of Lianyungang, 182 Tongguan North Road, Lianyungang 222002, Jiangsu Province, China. 362008621@qq.com

Received: 2016-05-22
Revised: 2016-07-03
Accepted: 2016-07-19
Published online: 2016-08-18

Abstract

AIM: To detect the expression of high mobility group protein B1 (HMGB1) and Toll-like receptor 4 (TLR4) in human esophageal squamous cell carcinoma and analyze their clinical significance.

METHODS: The expression of HMGB1 and TLR4 was detected by EnVision immunohistochemical staining method in 72 esophageal squamous carcinoma specimens and 15 matched normal tissue specimens. Statistical methods were used to analyze the relationship between the expression of HMGB1 and TLR4 and clinical and pathological parameters.

RESULTS: The expression of HMGB1 and TLR4 in esophageal squamous carcinoma tissues was significantly higher than that in matched normal tissues ($P < 0.05$). HMGB1 and TLR4 expression was positively associated with lymphatic metastasis and TNM stage ($P <$

■ **背景资料**
食管癌恶性程度高, 早期诊断率低, 易发生转移, 治疗效果差, 预后较差. 加强其发病机制的研究有助于早期诊断与及时治疗. 高迁移率族蛋白B1 (high mobility group protein B1, HMGB1) 和Toll样受体4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 参与调控多种肿瘤发生、发展的多项生物学功能, 但具体机制尚不完全清楚.

■ **同行评议者**
常丽丽, 主任医师, 石家庄市第一医院消化内科; 刘鹏飞, 主任医师, 东南大学医学院附属江阴医院消化内科

■ 研究前沿

HMGB1是一种与染色体结合的非组蛋白, 研究表明其在多种肿瘤的发生、发展过程中起重要作用. HMGB1能与多种TLR相互作用, 其中TLR4能显著提高包括结肠癌、胃癌等的发生率. 目前联合检测二者在食管鳞癌中表达的相关报道甚少.

0.05), but negatively correlated with tumor size and degree of differentiation. The expression of HMGB1 and TLR4 had a significant positive correlation ($r = 0.377$, $P < 0.01$).

CONCLUSION: The expression of HMGB1 and TLR4 in esophageal squamous carcinoma tissues is associated with lymphatic metastasis and TNM stage, and the joint detection of HMGB1 and TLR4 expression may help evaluate the degree of malignancy of esophageal squamous carcinoma. HMGB1/TLR may be used as important biological indicators reflecting the prognosis of esophageal cancer and important targets for therapy of esophageal cancer.

© The Author(s) 2016. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: High mobility group protein B1; Toll-like receptor 4; Esophageal squamous cell carcinomas

Liang XY, Li Y, Ma YQ, Zhang ZM, He YL. Clinical significance of expression of high mobility group protein B1 and Toll-like receptor 4 in esophageal squamous cell carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(23): 3495-3501 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v24/i23/3495.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i23.3495>

摘要

目的: 探讨高迁移率族蛋白B1(high mobility group protein B1, HMGB1)和Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)在人食管鳞状细胞癌(食管鳞癌)组织中的表达及其临床意义.

方法: 选择72例食管鳞癌标本, 15例癌旁正常组织标本, 采用EnVision免疫组织化学染色法检测HMGB1和TLR4在食管鳞癌组织及癌旁正常组织中的表达, 并应用统计学方法对其表达与临床病理因素进行分析.

结果: 食管鳞癌组织中HMGB1、TLR4的表达显著高于正常组织($P < 0.05$), 且与淋巴结转移及TNM分期相关($P < 0.05$), 与肿瘤大小、分化程度等无相关性. 食管鳞癌组织HMGB1和TLR4的表达呈显著正相关($r = 0.377$, $P < 0.01$).

结论: 食管鳞癌组织中HMGB1、TLR4的表达显著高于癌旁正常组织, 且其表达与淋巴结转移及TNM分期相关, 联合检测二者可能有助于评估食管鳞癌的恶性程度. 因此, HMGB1/TLR信号通路有可能作为反映食管

癌预后的重要生物学指标及抗食管癌的重要靶点.

© The Author(s) 2016. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 高迁移率族蛋白B1; Toll样受体4; 食管鳞癌

核心提示: 高迁移率族蛋白B1(high mobility group protein B1, HMGB1)和Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)在多种肿瘤的发生、发展过程中起重要作用. 通过对食管鳞癌组织中HMGB1、TLR4表达的检测及其与病理因素关系的分析, 推测HMGB1/TLR信号通路有可能作为反映食管癌预后的重要生物学指标及抗食管癌的重要靶点.

梁旭阳, 李伟, 马艳芹, 张志梅, 贺艳琳. HMGB1和TLR4在食管鳞癌组织中的表达及临床意义. *世界华人消化杂志* 2016; 24(23): 3495-3501 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v24/i23/3495.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i23.3495>

0 引言

食管癌是消化系最常见的恶性肿瘤之一, 其中食管鳞状细胞癌是食管癌最常见的病理类型, 其恶性程度高, 易发生转移, 预后较差, 在所有肿瘤中发病率居第5位, 死亡率居第4位^[1]. 食管癌早期诊断率低, 临床确诊时大都为中晚期, 部分甚至已发生转移, 治疗效果差. 高迁移率族蛋白(high mobility group protein, HMG)是一类与染色体结合的非组蛋白, 广泛参与调节DNA复制、转录、重组和修复等多种重要核内生物学功能. 近来研究发现其与多种肿瘤的生长、浸润、转移有关, 然而其在肿瘤发生发展中的具体机制尚不清楚. HMGB1能与多种Toll-样受体(Toll-like receptor, TLR)相互作用, 主要有TLR2、TLR4和TLR9. HMGB1与TLR结合后, 主要通过髓样分化因子(myeloid differentiation factors 88, MyD88)依赖信号通路转导, 激活核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)活性, 引起肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、白介素(interleukin, IL)-1、IL-6、IL-8等促炎细胞因子的基因表达上调并大量释放^[2,3]. 有研究^[4-6]证实TLR表达的上调与胃癌、肺癌、卵巢癌等发生、发展有密切关系, 且TLR4是目前发现与肿瘤发病关系最密

切的TLR家族成员之一. 本研究通过免疫组织化学法检测HMGB1和TLR4在食管鳞癌组织及癌旁正常组织中的表达情况, 探讨二者在食管鳞癌发展过程中的关联性及其与临床病理参数的关系.

1 材料和方法

1.1 材料 收集连云港市第一人民医院病理科2011-01/2014-09具有完整临床资料食管鳞癌存档石蜡标本72例(A组). 癌旁正常黏膜组织(癌缘外6 cm, 并经病理证实无肿瘤细胞)15例(B组)进行对照. 所有病例均经病理确诊为单一鳞状细胞癌, 患者术前未经放疗、化疗. 患者男62例, 女10例, 年龄43-74岁, 平均62岁; 其中高分化鳞癌14例, 高中及中分化鳞癌共48例, 中低及低分化鳞癌共10例; 侵犯深度为黏膜及黏膜下层12例, 肌层14例, 外膜及邻近结构46例, 伴有淋巴结转移26例, 无淋巴结转移46例. 根据美国癌症联合委员会(American joint committee on cancer, AJCC)和国际抗癌联盟(International Union Against Cancer, IUCC)2009年制订的第7版食管癌TNM分期和分段标准, 临床分期 I 期8例、II a期21例、II b期24例、III a期11例、III b期3例、III c期4例、IV期1例. 羊抗人HMGB1单克隆抗体、羊抗人TLR4单克隆抗体均购自美国Abcam公司; EnVision免疫组织化学试剂盒购自北京中杉生物技术有限公司.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学EnVision二步法检测HMGB1、TLR4的表达: 制作4 μ m厚连续石蜡切片, 70 $^{\circ}$ C烤箱3 min, 常规脱蜡与水化, 高温高压法抗原修复(修复液柠檬酸缓冲0.01 mol/L、pH 6.0), 自然冷却至室温; 3% H_2O_2 孵育10 min, 滴加一抗(HMGB1稀释比1:300、TLR4稀释比1:200), 4 $^{\circ}$ C冰箱过夜, 滴加二抗室温孵育15 min, DAB显色, 苏木素复染, 分化脱水, 透明, 中性树胶封片. 用已知阳性切片做阳性对照, PBS代替一抗作阴性对照.

1.2.2 结果判定: 所有免疫组织化学染色结果均有两位病理科医生在双盲条件下完成, 并根据食管鳞癌细胞(HMGB1定位于细胞质或细胞核, TLR4定位于细胞膜和细胞质)出现淡黄色至棕褐色颗粒, 定位明确, 染色明显, 高倍镜下随机选择5个视野(每个视野观

察细胞不少于200个), 根据阳性细胞百分比及染色强度进行判定. 阳性细胞 $\leq 10.0\%$ 为0分, 10.0%-25.0%为1分, 26.0%-50.0%为2分, 51.0%-75.0%为3分, $\geq 76.0\%$ 为4分. 无色为0分, 淡黄色为1分, 棕黄色为2分, 棕褐色为3分. 取上述两项评分的乘积作为总积分, 总积分 ≥ 5 为阳性表达.

统计学处理 采用SPSS22.0软件进行统计学分析, 计数资料用百分比表示, 采用 χ^2 检验; 计量资料采用单因素方差分析, 相关性采用Spearman等级相关分析. 以 $\alpha = 0.05$ 作为检验水准. $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 HMGB1、TLR4蛋白在食管鳞癌组织中的表达情况 HMGB1主要表达于食管鳞癌细胞和部分间质细胞核和细胞质中, 阳性染色呈淡黄色至棕黄色. 食管鳞癌癌旁正常组织中很少见阳性染色, 说明HMGB1在食管鳞癌组织中有过度表达(图1A, B). HMGB1蛋白在食管鳞癌和癌旁正常组织中的阳性表达率为68.1% vs 20.0%, 差异有统计学意义($P < 0.01$).

TLR4主要表达于食管鳞癌细胞浆和/或细胞膜, 阳性染色呈棕黄色至棕褐色, 食管鳞癌癌旁正常组织中很少见阳性染色, 说明TLR4在食管鳞癌组织中有过度表达(图1C, D). 本实验结果显示TLR4蛋白在食管鳞癌和癌旁正常组织中的阳性表达率为66.7% vs 26.7%, 有统计学差异($P < 0.05$).

2.2 食管鳞癌HMGB1、TLR4蛋白表达和临床病理参数的关系 在72例食管鳞癌组织中, HMGB1的表达与年龄、性别、肿瘤大小以及肿瘤分化程度无关, 随着淋巴结转移及TNM分期的增加而逐渐升高, 差异有统计学意义. 同样可见TLR4的表达与患者年龄、性别以及肿瘤大小、分化程度亦无关, 与淋巴结转移和TNM分期呈正相关, 且差异明显(表1).

2.3 食管鳞癌组织中HMGB1和TLR4阳性表达的相关性 在食管鳞癌组织中HMGB1和TLR4蛋白表达的阳性率分别为68.1%(49/72)和66.7%(48/72), 两者同阳性率为52.8%, 同阴性率为18.1%, 两者异常表达率为29.2%. 通过关联性分析发现, HMGB1和TLR4在食管鳞癌组织表达呈正相关, 其相关性有统计学意义($r = 0.377, P < 0.01$).

■ 相关报道

Bauer等报道了TLR4的持续激活被认为是慢性炎症持续存在进而发展为恶性肿瘤的重要因素. Santini等的研究表明TLR4信号能够上调肿瘤细胞miR-155、miR-146的表达, 促进炎性的肿瘤微环境的形成与肿瘤的发展.

■ 创新盘点

本研究选择人食管鳞癌标本, 采用EnVision免疫组织化学染色法检测HMGB1和TLR4在食管鳞癌组织及癌旁正常组织中的表达, 并探讨其表达与临床病理因素之间的关系。

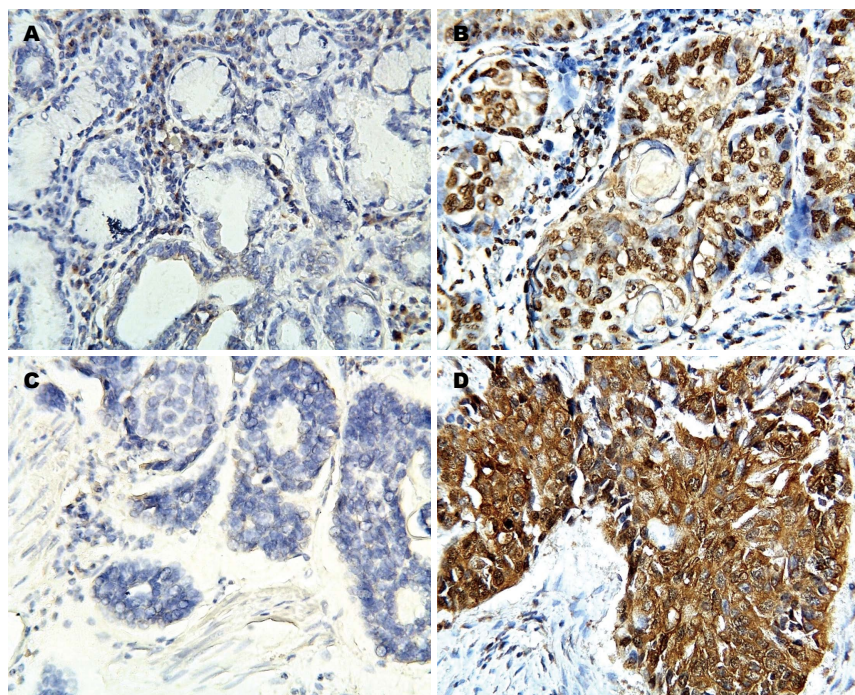


图1 HMGB1与TLR4在食管鳞癌及癌旁正常组织中的表达(IHC × 400). A: HMGB1在食管鳞癌癌旁正常组织中的表达; B: HMGB1在食管鳞癌组织中的表达; C: TLR4在食管鳞癌癌旁正常组织中的表达; D: TLR4在食管鳞癌组织中的表达. HMGB1: 高迁移率族蛋白B1; TLR4: Toll样受体4.

3 讨论

炎症通常是宿主抵御微生物病原体入侵、组织破坏和抗肿瘤的一种防护措施。然而近年来研究显示慢性炎症会增加肿瘤进展的风险^[7], 慢性反流性食管炎则是食管癌发展的高危因素^[8]。

诸多研究表明, 发生恶性肿瘤时, 由于肿瘤细胞基因表达和肿瘤组织微环境(如缺氧、营养缺乏等)的改变, 肿瘤细胞、炎性细胞等HMGB1通常表达增强和释放增多, 另外肿瘤坏死细胞也释放部分HMGB1^[9], 对肿瘤部位局部炎症反应和肿瘤生长速率可能起调节作用。研究表明HMGB1在多种肿瘤的发生、发展过程中起重要作用, 如肝细胞癌^[10-14]、胰腺癌^[15-17]、肾透明细胞癌^[18]、前列腺癌^[19]、结直肠癌^[20-22]、胃癌^[23-25]等。本研究结果显示, HMGB1在食管鳞癌组织中阳性表达率为68.06%(49例), 显著高于癌旁正常组织中阳性表达率20.00%(3例), 差异有统计学意义, 提示HMGB1的表达与食管鳞癌的发生具有相关性。在食管鳞癌组织中, HMGB1的表达与年龄、性别以及肿瘤大小、分化程度无关, 而与淋巴结有否转移及TNM分期有关, 表明HMGB1与食管鳞癌的侵袭和转移能力密切相关。

TLR是最近发现的一种模式识别受体,

其中TLR2、TLR4、TLR9等已被研究证实。TLR的生物学功能中最突出的就是促进细胞因子的合成和释放, 引发炎症反应^[26]。近年来研究^[27,28]表明由自身免疫疾病或者病原微生物感染引起的许多慢性炎症是相应恶性肿瘤的癌前病变, 这些病原微生物包括幽门螺杆菌、人乳头瘤病毒、乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、EB病毒等, 他们感染机体促进消化系统肿瘤、宫颈癌、肝癌、造血系统肿瘤的发生发展。热休克蛋白(heat shock protein, HSP)是一类重要的内源性的TLR配体, 肿瘤细胞释放的HSP60、HSP70、HSP90能够激活肿瘤相关的巨噬细胞的TLR4, 诱导促炎性细胞因子的分泌, 从而促进肿瘤的生长^[29]。TLR2和TLR4的持续激活被认为是慢性炎症持续存在进而发展为恶性肿瘤的重要因素^[30]。亦有研究^[31]表明TLR2、TLR3、TLR4和TLR9信号能够上调miR-155的表达, TLR2、TLR4和TLR5信号能够上调肿瘤细胞miR-146的表达, 促进炎性的肿瘤微环境的形成与肿瘤的发展。肿瘤表面的TLR激活后还可以损伤免疫细胞的抗肿瘤作用, 从而改变炎症反应原本的防御性作用, 促进肿瘤的增殖和侵袭^[32]。TLR存在不同基因的多态性, 已经发现的TLR多态性有几百种,

表 1 HMGB1、TLR4表达与食管鳞癌临床病理参数的关系

临床病理特征	HMGB1		P值	TLR4		P值
	阴性	阳性		阴性	阳性	
年龄(岁)			0.079			1.000
≤62	9	30		13	26	
>62	14	19		11	22	
性别			0.092			0.904
男	17	45		20	42	
女	6	4		4	6	
分化程度			0.612			0.185
高/高中/中	21	41		23	39	
中低/低	2	8		1	9	
浸润深度			0.156			0.083
T1-2	11	15		12	14	
T3-4	12	34		12	34	
淋巴结转移			0.011			0.010
N0	20	26		22	24	
N1-4	3	23		2	24	
远处转移			0.831			0.800
M0	23	47		24	46	
M1	0	2		0	2	
TNM分期			0.009			0.030
I / II	22	31		22	31	
III/IV	1	18		2	17	

HMGB1: 高迁移率族蛋白B1; TLR4: Toll样受体4.

但其中绝大部分功能未知. 近期研究^[33]表明, TLR4的遗传多态性Asp299Gly和Thr399Ile是多种癌症高发的显著性标志. TLR4的多态性显著提高了包括结肠直肠癌、胃癌、肝癌和乳腺癌的发生率^[34]. 本研究显示, 食管鳞癌组织中TLR4表达显著高于癌旁正常对照组, 差异有统计学意义($P<0.05$). 与HMGB1在食管鳞癌组织中表达相似, 随着肿瘤淋巴结发生转移及TNM分期增加, TLR4表达有增高趋势, 提示TLR4高表达者, 食管鳞状细胞癌的侵袭性和转移性增高.

HMGB1主要受体是晚期糖基化终末产物受体(receptor for advanced glycation end-products, RAGE)和TLR. HMGB1能与多种TLR相互作用, 主要有TLR2、TLR4和TLR9. HMGB1与TLR结合后, 主要通过MyD88依赖信号通路转导, 激活NF- κ B活性, 引起TNF- α 、IL-1、IL-6、IL-8等促炎细胞因子的基因表达上调并大量释放^[2,3]. 本研究中HMGB1表达与TLR4表达具有相关性, 从一定程度上说明HMGB1-TLR4信号通路在食管癌的转移与侵

袭过程中发挥重要作用, 其具体机制有待进一步深入研究.

总之, HMGB1与TLR4在食管癌发生发展中起重要作用, 与食管癌转移侵袭相关. 因此联合检测二者在食管癌组织中的表达, 可能有助于阐明食管癌发生发展机制, 作为判断预后的指标之一, 为食管癌的治疗寻找新的靶点.

志谢: 感谢连云港市第一人民医院病理科刘毅与齐冬雪给予本实验的大力支持.

4 参考文献

- 赫捷, 陈万青. 中国肿瘤登记年报. 第2012版. 北京: 军事医学科学出版社, 2012: 12
- Kang JW, Koh EJ, Lee SM. Melatonin protects liver against ischemia and reperfusion injury through inhibition of toll-like receptor signaling pathway. *J Pineal Res* 2011; 50: 403-411 [PMID: 21355876 DOI: 10.1111/j.1600-079X.2011.00858.x]
- Wang S, Schmaderer C, Kiss E, Schmidt C, Bonrouhi M, Porubsky S, Gretz N, Schaefer L, Kirschning CJ, Popovic ZV, Gröne HJ. Recipient Toll-like receptors contribute to chronic graft dysfunction by both MyD88- and TRIF-dependent signaling. *Dis Model Mech* 2010; 3: 92-103 [PMID: 20038715 DOI: 10.1242/dmm.003533]

应用要点

本研究为评估食管鳞癌的恶性程度及预后寻找了新的指标, 并可能为食管癌治疗提供新靶点.

■同行评价

本研究发现食管鳞癌组织中HMGB1、TLR4的表达显著高于癌旁正常组织, 且其表达与淋巴结转移及TNM分期相关, 推测HMGB1/TLR4信号通路有可能作为反映食管癌预后的重要生物学指标及抗食管癌的重要靶点。该研究有较高学术价值和意义。

- 4 Schmausser B, Andrusis M, Endrich S, Müller-Hermelink HK, Eck M. Toll-like receptors TLR4, TLR5 and TLR9 on gastric carcinoma cells: an implication for interaction with *Helicobacter pylori*. *Int J Med Microbiol* 2005; 295: 179-185 [PMID: 16044857 DOI: 10.1016/j.ijmm.2005.02.009]
- 5 Droemann D, Albrecht D, Gerdes J, Ulmer AJ, Branschoid D, Vollmer E, Dalhoff K, Zabel P, Goldmann T. Human lung cancer cells express functionally active Toll-like receptor 9. *Respir Res* 2005; 6: 1 [PMID: 15631627 DOI: 10.1186/1465-9921-6-1]
- 6 Kelly MG, Alvero AB, Chen R, Silasi DA, Abrahams VM, Chan S, Visintin I, Rutherford T, Mor G. TLR-4 signaling promotes tumor growth and paclitaxel chemoresistance in ovarian cancer. *Cancer Res* 2006; 66: 3859-3868 [PMID: 16585214 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-3948]
- 7 Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature* 2008; 454: 436-444 [PMID: 18650914 DOI: 10.1038/nature07205]
- 8 van der Woude CJ, Kleibeuker JH, Jansen PL, Moshage H. Chronic inflammation, apoptosis and (pre-)malignant lesions in the gastro-intestinal tract. *Apoptosis* 2004; 9: 123-130 [PMID: 15004509 DOI: 10.1023/B: APPT.0000018794.26438.22]
- 9 Tang D, Kang R, Zeh HJ, Lotze MT. High-mobility group box 1 and cancer. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1799: 131-140 [PMID: 20123075 DOI: 10.1016/j.bbagr.2009.11.014]
- 10 Cheng P, Dai W, Wang F, Lu J, Shen M, Chen K, Li J, Zhang Y, Wang C, Yang J, Zhu R, Zhang H, Zheng Y, Guo CY, Xu L. Ethyl pyruvate inhibits proliferation and induces apoptosis of hepatocellular carcinoma via regulation of the HMGB1-RAGE and AKT pathways. *Biochem Biophys Res Commun* 2014; 443: 1162-1168 [PMID: 24361892 DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.12.064]
- 11 Dong YD, Cui L, Peng CH, Cheng DF, Han BS, Huang F. Expression and clinical significance of HMGB1 in human liver cancer: Knockdown inhibits tumor growth and metastasis in vitro and in vivo. *Oncol Rep* 2013; 29: 87-94 [PMID: 23042506 DOI: 10.3892/or.2012.2070]
- 12 Yan W, Chang Y, Liang X, Cardinal JS, Huang H, Thorne SH, Monga SP, Geller DA, Lotze MT, Tsung A. High-mobility group box 1 activates caspase-1 and promotes hepatocellular carcinoma invasiveness and metastases. *Hepatology* 2012; 55: 1863-1875 [PMID: 22234969 DOI: 10.1002/hep.25572]
- 13 Liu F, Zhang Y, Peng Z, Gao H, Xu L, Chen M. High expression of high mobility group box 1 (hmgb1) predicts poor prognosis for hepatocellular carcinoma after curative hepatectomy. *J Transl Med* 2012; 10: 135 [PMID: 22747650 DOI: 10.1186/1479-5876-10-135]
- 14 Cheng BQ, Jia CQ, Liu CT, Lu XF, Zhong N, Zhang ZL, Fan W, Li YQ. Serum high mobility group box chromosomal protein 1 is associated with clinicopathologic features in patients with hepatocellular carcinoma. *Dig Liver Dis* 2008; 40: 446-452 [PMID: 18294942 DOI: 10.1016/j.dld.2007.11.024]
- 15 Wittwer C, Boeck S, Heinemann V, Haas M, Stieber P, Nagel D, Holdenrieder S. Circulating nucleosomes and immunogenic cell death markers HMGB1, sRAGE and DNase in patients with advanced pancreatic cancer undergoing chemotherapy. *Int J Cancer* 2013; 133: 2619-2630 [PMID: 23729200 DOI: 10.1002/ijc.28294]
- 16 Kang R, Tang D. Autophagy in pancreatic cancer pathogenesis and treatment. *Am J Cancer Res* 2012; 2: 383-396 [PMID: 22860230]
- 17 Chung HW, Lim JB, Jang S, Lee KJ, Park KH, Song SY. Serum high mobility group box-1 is a powerful diagnostic and prognostic biomarker for pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Sci* 2012; 103: 1714-1721 [PMID: 22703527 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2012.02358.x]
- 18 Takeuchi T, Sakazume K, Tonooka A, Zaitu M, Takeshima Y, Mikami K, Uekusa T. Cytosolic HMGB1 expression in human renal clear cell cancer indicates higher pathological T classifications and tumor grades. *Urol J* 2013; 10: 960-965 [PMID: 24078503]
- 19 Gnanasekar M, Kalyanasundaram R, Zheng G, Chen A, Bosland MC, Kajdacsy-Balla A. HMGB1: A Promising Therapeutic Target for Prostate Cancer. *Prostate Cancer* 2013; 2013: 157103 [PMID: 23766911 DOI: 10.1155/2013/157103]
- 20 Yao X, Zhao G, Yang H, Hong X, Bie L, Liu G. Overexpression of high-mobility group box 1 correlates with tumor progression and poor prognosis in human colorectal carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2010; 136: 677-684 [PMID: 19898867 DOI: 10.1007/s00432-009-0706-1]
- 21 Lee H, Park M, Shin N, Kim G, Kim YG, Shin JS, Kim H. High mobility group box-1 is phosphorylated by protein kinase C zeta and secreted in colon cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 424: 321-326 [PMID: 22750245 DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.06.116]
- 22 Lee H, Song M, Shin N, Shin CH, Min BS, Kim HS, Yoo JS, Kim H. Diagnostic significance of serum HMGB1 in colorectal carcinomas. *PLoS One* 2012; 7: e34318 [PMID: 22496788 DOI: 10.1371/journal.pone.0034318]
- 23 Akaike H, Kono K, Sugai H, Takahashi A, Mimura K, Kawaguchi Y, Fujii H. Expression of high mobility group box chromosomal protein-1 (HMGB-1) in gastric cancer. *Anticancer Res* 2007; 27: 449-457 [PMID: 17352266]
- 24 Bao G, Qiao Q, Zhao H, He X. Prognostic value of HMGB1 overexpression in resectable gastric adenocarcinomas. *World J Surg Oncol* 2010; 8: 52 [PMID: 20579387 DOI: 10.1186/1477-7819-8-52]
- 25 Chung HW, Lee SG, Kim H, Hong DJ, Chung JB, Stronck D, Lim JB. Serum high mobility group box-1 (HMGB1) is closely associated with the clinical and pathologic features of gastric cancer. *J Transl Med* 2009; 7: 38 [PMID: 19476625 DOI: 10.1186/1479-5876-7-38]
- 26 Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 2006; 124: 783-801 [PMID: 16497588 DOI: 10.1016/j.cell.2006.02.015]
- 27 Rakoff-Nahoum S, Medzhitov R. Toll-like receptors and cancer. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 57-63 [PMID: 19052556 DOI: 10.1038/nrc2541]
- 28 Kuper H, Adami HO, Trichopoulos D. Infections as a major preventable cause of human cancer. *J*

- Intern Med* 2000; 248: 171-183 [PMID: 10971784]
- 29 Lee CH, Wu CL, Shiau AL. Toll-like receptor 4 signaling promotes tumor growth. *J Immunother* 2010; 33: 73-82 [PMID: 19952954 DOI: 10.1097/CJI.0b013e3181b7a0a4]
- 30 Bauer AK, Dixon D, DeGraff LM, Cho HY, Walker CR, Malkinson AM, Kleeberger SR. Toll-like receptor 4 in butylated hydroxytoluene-induced mouse pulmonary inflammation and tumorigenesis. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97: 1778-1781 [PMID: 16333033 DOI: 10.1093/jnci/dji403]
- 31 Nahid MA, Satoh M, Chan EK. MicroRNA in TLR signaling and endotoxin tolerance. *Cell Mol Immunol* 2011; 8: 388-403 [PMID: 21822296 DOI: 10.1038/cmi.2011.26]
- 32 Albin A, Sporn MB. The tumour microenvironment as a target for chemoprevention. *Nat Rev Cancer* 2007; 7: 139-147 [PMID: 17218951 DOI: 10.1038/nrc2067]
- 33 Santini D, Angeletti S, Ruzzo A, Dicuonzo G, Galluzzo S, Vincenzi B, Calvieri A, Pizzagalli F, Graziano N, Ferraro E, Lorino G, Altomare A, Magnani M, Graziano F, Tonini G. Toll-like receptor 4 Asp299Gly and Thr399Ile polymorphisms in gastric cancer of intestinal and diffuse histotypes. *Clin Exp Immunol* 2008; 154: 360-364 [PMID: 18826495 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2008.03776.x]
- 34 Pimentel-Nunes P, Teixeira AL, Pereira C, Gomes M, Brandão C, Rodrigues C, Gonçalves N, Boal-Carvalho I, Roncon-Albuquerque R, Moreira-Dias L, Leite-Moreira AF, Medeiros R, Dinis-Ribeiro M. Functional polymorphisms of Toll-like receptors 2 and 4 alter the risk for colorectal carcinoma in Europeans. *Dig Liver Dis* 2013; 45: 63-69 [PMID: 22999059 DOI: 10.1016/j.dld.2012.08.006]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

本刊讯 本刊正文标题层次为 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献。序号一律左顶格写, 后空 1 格写标题; 2 级标题后空 1 格接正文。以下逐条陈述: (1) 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。(2) 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。(3) 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。(4) 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图 1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$; 第 3 套为^e $P<0.05$, ^f $P<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、- 应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片。彩色图片大小 $7.5\text{ cm} \times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条黏贴在正文内, 不能使用浆糊黏贴。(5) 志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
8226 Regency Drive, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

