

幽门螺杆菌脂多糖对胃粘膜 shh 信号通路 相关蛋白 Gli、Ptch-1 表达的影响

张 军¹, 张国新², 陈菲菲¹, 何邦顺¹, 叶 峰², 潘晓林²

(1. 南京医科大学附属南京医院消化科, 南京市第一医院消化科, 江苏 南京 210006;

2. 南京医科大学第一附属医院消化科, 江苏 南京 210029)

[摘 要] **目的:**观察幽门螺杆菌(*Helicobacter Pylori*, Hp)脂多糖刺激下胃粘膜细胞 Shh 信号通路发生的变化。**方法:**应用热酚水法提取 Hp 脂多糖, 动态浊度法检测脂多糖浓度, 将人胃粘膜上皮细胞系 GES-1 进行细胞培养后分成 6 组, 分别以浓度为 0 $\mu\text{g/ml}$ 、1 $\mu\text{g/ml}$ 、10 $\mu\text{g/ml}$ 、20 $\mu\text{g/ml}$ 、30 $\mu\text{g/ml}$ 、40 $\mu\text{g/ml}$ 的 Hp 脂多糖进行刺激。刺激 24 h 后, 应用 MTT 法观察各组细胞活性, Western Blot 法对各组细胞中 Shh 信号通路相关蛋白 Gli、Ptch-1 的表达水平进行检测。**结果:**不同浓度 Hp 脂多糖刺激 24h 后, MTT 法检测结果显示随着 Hp 脂多糖浓度增加, Hp 脂多糖对 GES-1 细胞增殖抑制越强, 分别为 $25.8\% \pm 2.7\%$ 、 $34.2\% \pm 3.1\%$ 、 $46.3\% \pm 3.4\%$ 、 $60.8\% \pm 2.1\%$ 、 $82.9\% \pm 2.8\%$ ($r=0.985, P<0.001$); Western Blot 检测结果显示随着 Hp 脂多糖浓度增加, Gli、Ptch-1 表达逐渐下降, Gli 相对表达值分别为 1.286 ± 0.180 、 0.963 ± 0.067 、 0.850 ± 0.085 、 0.566 ± 0.058 、 0.549 ± 0.056 、 0.377 ± 0.047 ($r=-0.945, P<0.001$); Ptch-1 相对表达值分别为 1.688 ± 0.088 、 1.466 ± 0.061 、 1.170 ± 0.065 、 1.042 ± 0.064 、 0.648 ± 0.057 、 0.482 ± 0.074 ($r=-0.985, P<0.001$)。**结论:**Hp 脂多糖能使 Shh 信号通路中相关蛋白的表达明显降低, 提示 Hp 对胃粘膜 Shh 信号通路的影响可能是通过脂多糖实现的。

[关键词] 螺杆菌; 幽门; 脂多糖类; 信号传导; 上皮细胞; 胃黏膜; 细胞, 培养的

[中图分类号] R 742.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1008-9292(2013)05-0543-07

Effect of *Helicobacter Pylori* lipopolysaccharide on expression of Gli and Ptch-1 proteins in sonic hedgehog signaling pathway of gastric mucosa GES-1 cells

ZHANG Jun¹, ZHANG Guoxin², CHEN Feifei¹, HE Bangshun¹, YE Feng², PAN Xiaoling²
(1. Department of Gastroenterology, Nanjing First Hospital, Nanjing Medical University, Nanjing 210006, China; 2. Department of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China)

收稿日期:2013-03-20 修回日期:2013-07-24

基金项目:南京医科大学科技发展基金(2011NJMU027).

作者简介:张 军(1971-),男,副主任医师,主要从事消化道肿瘤及幽门螺杆菌的相关基础与临床研究;E-mail: zhangjun711028@126.com

通讯作者:张国新(1964-),男,博士,博士生导师,教授,主任医师,主要从事幽门螺杆菌的基础与临床研究、消化道肿瘤的防治研究;E-mail:guoxinz@njmu.edu.cn

[**Abstract**] **Objective:** To investigate the effect of *Helicobacter Pylori* lipopolysaccharide (Hp-LPS) on expression of Gli and Ptch-1 proteins in sonic hedgehog (Shh) signaling pathway of gastric mucosa GES-1 cells. **Methods:** The LPS was extracted from Hp by hot phenol water method, and then the concentration of LPS was detected by the kinetic turbidimetric assay. GES-1 cells were stimulated by different concentrations of Hp-LPS (0, 1, 10, 20, 30 and 40 $\mu\text{g/ml}$). The inhibition rates of cell growth were measured by MTT assay after treated with Hp-LPS for 24 h. The expression of Gli and Ptch-1 proteins were determined by Western Blot. **Results:** MTT assay showed that the inhibition rates of GES-1 cell growth after treatment by different concentrations of Hp-LPS (1, 10, 20, 30 and 40 $\mu\text{g/ml}$) were $25.8\% \pm 2.7\%$, $34.2\% \pm 3.1\%$, $46.3\% \pm 3.4\%$, $60.8\% \pm 2.1\%$ and $82.9\% \pm 2.8\%$ respectively ($r = 0.985$, $P < 0.001$). Western blot showed that the expressions of Gli and Ptch-1 proteins were decreased after Hp-LPS treatment (0, 1, 10, 20, 30 and 40 $\mu\text{g/ml}$): the relative expression values of Gli were 1.286 ± 0.180 , 0.963 ± 0.067 , 0.850 ± 0.085 , 0.566 ± 0.058 , 0.549 ± 0.056 and 0.377 ± 0.047 , respectively ($r = -0.945$, $P < 0.001$); those of Ptch-1 were 1.688 ± 0.088 , 1.466 ± 0.061 , 1.170 ± 0.065 , 1.042 ± 0.064 , 0.648 ± 0.057 and 0.482 ± 0.074 , respectively ($r = -0.985$, $P < 0.001$). **Conclusion:** Hp-LPS can decrease the related protein expression of Shh signaling pathway, which indicates that Hp may interfere with the function of Shh signaling pathway in gastric mucosa via the effect of its LPS.

[**Key words**] *Helicobacter pylori*; Lipopolysaccharides; Signal transduction; Epithelial cells; Gastric mucosa; Cells, Cultured

[J Zhejiang Univ (Medical Sci), 2013,42(5):543-549.]

幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*, Hp) 定植于人体胃黏膜表面,其感染与胃十二指肠疾病的发生密切相关^[1]。Hp 脂多糖是 Hp 的致病因子之一,在 Hp 感染相关的疾病中起重要作用。胃上皮细胞完整性的破坏大多数是通过 Hp 表面脂多糖减弱粘膜细胞和细胞外基质蛋白间的相互作用而发生的^[2]。Sonic Hedgehog (Shh) 信号通路在维持成熟组织的内环境稳定,慢性炎症的组织修复和癌症发生等多种进程中发挥着重要作用^[3]。Nishizawa 等^[4]发现,当 Hp 感染形成胃黏膜慢性炎症或萎缩时,Shh 表达下降;早期根除 Hp,Shh 表达可恢复正常。Lee 等^[5]研究发现,伴 Hp 感染的胃癌中,Shh 表达明显上升。可见,Hp 感染对 Shh 信号通路的表达有影响作用,但是目前 Hp 与 Shh 信号通路之间相互作用的具体机制尚未明确。本研究旨在通过体外细胞实验,选择 Hp 的毒力因子脂多糖作为刺激因子,观察脂多糖刺激后

Shh 信号通路中相关蛋白 Gli、Ptch-1 的表达情况,从而探讨 Hp 脂多糖对该信号通路的作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料 人胃黏膜上皮细胞株 GES-1 由南京市第一医院中心实验室提供并保存。Hp 菌株 26695 由江苏省人民医院馈赠。鲎试剂购于厦门市鲎试剂实验厂。Gli、Ptch-1 抗体均购自 cell signal 公司,噻唑蓝 (MTT) 购自美国 Sigma 公司。

1.2 Hp 培养 在微需氧环境中,37℃ 培养,厌氧孵箱内放置少量的水以保持湿度,气体交换使箱内气体氧气、二氧化碳、氮气的质量分数分别为 5%、10%、85%。将菌种 (Hp26695) 接种于哥伦比亚培养基 (加入 10% 的脱纤维羊血),逐日观察培养基中细菌菌落的特征及显微镜下细菌的形态特点。培养 72h 后观察菌落呈无色半透明,针尖样大小,并经快速尿素酶试验判定

阳性,提示培养的细菌为 Hp。

1.3 Hp 脂多糖的制备 参考 Luo^[6] 的热酚水法提取出 Hp 脂多糖,经动态比浊法证实为内毒素,并且测得其浓度为 1.062×10^5 EU/ml ($1 \text{ ng} = 2.5 \text{ EU}$),即最后提取出 Hp 脂多糖浓度为 $42.48 \mu\text{g/ml}$ 。

1.4 GES-1 细胞培养和分组 常规复苏 GES-1 细胞后,使用高糖 DMEM 培养基(含 10% 胎牛血清, pH 7.4),于含 50 ml/l 二氧化碳的 37°C 、饱和湿度的恒温细胞培养箱内培养,约 48 h 换液一次,细胞生长至覆盖约 70%~80% 培养瓶底面时按 1:3 比例传代。预实验除用无 Hp 脂多糖刺激的 GES-1 细胞做阴性对照外,分别用 Hp 脂多糖浓度 $0.5 \mu\text{g/ml}$ 、 $1 \mu\text{g/ml}$ 、 $5 \mu\text{g/ml}$ 刺激 GES-1 细胞,采用 Western Blot 法检测 Shh 信号通路中 Ptch-1 蛋白的表达情况,发现 Hp 脂多糖浓度为 $1 \mu\text{g/ml}$ 时 Ptch-1 蛋白开始较阴性对照组表达降低,考虑 Hp 脂多糖浓度为 $1 \mu\text{g/ml}$ 为最低有效刺激浓度。在此预实验基础上,本实验分 6 组,分别为阴性对照组、脂多糖 $1 \mu\text{g/ml}$ 干预组、 $10 \mu\text{g/ml}$ 干预组、 $20 \mu\text{g/ml}$ 干预组、 $30 \mu\text{g/ml}$ 干预组、 $40 \mu\text{g/ml}$ 干预组。实验时取对数生长期细胞。

1.5 MTT 法检测细胞增殖 将处于对数生长期的细胞,用胰蛋白酶消化后, $450 \times g$ 离心 5 min,收集细胞沉淀,往细胞沉淀中加入高糖 DMEM 培养基制成细胞悬液,以每孔 2×10^5 个细胞加入 96 孔培养板中,每孔体积 $200 \mu\text{l}$,培养 24 h,使细胞同步化后分别加入不同浓度 Hp 脂多糖,同时设不加脂多糖的阴性对照组以及只加入培养基、MTT、二甲基亚砷而无 GES-1 细胞的调零孔。培养 24 h 后,加入 5% MTT $10 \mu\text{l}$,继续培养 4 h 后每孔加入 $150 \mu\text{l}$ 二甲基亚砷(DMSO),室温震荡 10 min 溶解。每组设 5 个复孔,重复 3 次,以 490 nm 为测定波长,用酶标仪检测吸光度值,计算细胞生长抑制率。细胞生长抑制率 = (阴性对照孔吸光度值 - 加 Hp 脂多糖孔吸光度值) / (阴性对照组吸光度值) $\times 100\%$ 。

1.6 Western Blot 法检测 Gli、Ptch-1 蛋白水平

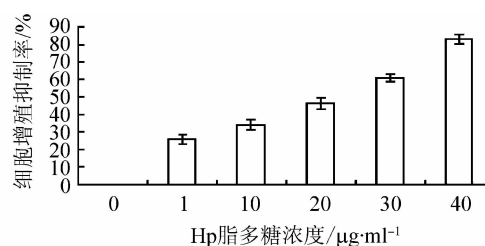
取对数生长期的细胞,接种于 6 孔板,分别加 3 ml 不同浓度脂多糖,培养 24 h 后加入蛋白裂

解液,得到全蛋白提取物,Bradford 法进行蛋白浓度测定。提取的蛋白样品与蛋白上样缓冲液混合后,煮沸 5 min。进行 SDS-PAGE 凝胶电泳、转膜,用 5% 脱脂牛奶封闭 1 h 后,分别加入一抗, 4°C 过夜。TBST 洗 4 次后加入辣根过氧化物酶标记的二抗,室温作用 2 h,再次用 TBST 洗膜,然后使用 ECL 法显色,GIS 凝胶图像分析系统照相并分析处理。上述反应以 β -actin 作为内参照,结果用 Alphamager TM 2200 图像分析系统对胶片扫描并进行平均灰度值(average density values, ADV)测定,以 ADV Gli、Ptch-1 / ADV β -actin 的比值作为各组产物相对表达值。

1.7 统计学分析 采用 SPSS 11.5 统计学软件进行数据处理及分析,多组样本均数间比较采用单因素方差分析;变量间相关分析用 Person 相关分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

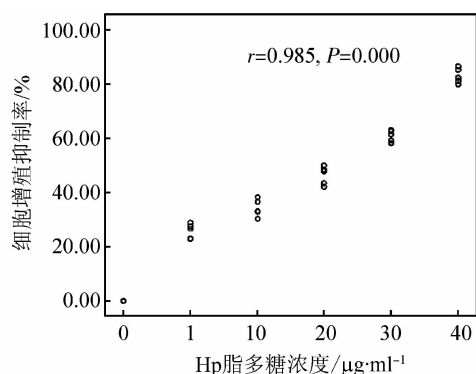
2.1 Hp 脂多糖对 GES-1 细胞增殖的影响 在倒置相差显微镜下可以观察到,经 Hp 脂多糖刺激后细胞形态变圆,分布变稀疏,高浓度组甚至可见到细胞崩解后的碎片、颗粒等;而阴性对照组 GES-1 细胞贴壁良好,轮廓清晰。不同浓度 Hp 脂多糖刺激组的细胞增殖抑制均较阴性对照组增强(均 $P < 0.05$),见图 1。并且随着 Hp 脂多糖浓度增加,其对 GES-1 细胞增殖抑制越强,两者呈正相关($r = 0.985$, $P < 0.001$),见图 2。提示 Hp 脂多糖可以抑制 GES-1 细胞生长。



1~40 $\mu\text{g/ml}$ Hp 脂多糖刺激下细胞增殖抑制率均较 0 $\mu\text{g/ml}$ Hp 脂多糖明显增强(均 $P < 0.05$)。

图 1 不同浓度 Hp 脂多糖对 GES-1 细胞增殖的影响

Fig. 1 The effects of Hp-LPS with different concentrations on GES-1 cell growth



相关性分析结果,随着 Hp 脂多糖浓度增加,GES-1 细胞增殖抑制越强($r = 0.985, P < 0.001$).

图 2 Hp 脂多糖浓度与 GES-1 细胞增殖抑制的相关性分析

Fig. 2 The relation between the concentrations of Hp-LPS and the inhibition rates of GES-1 cell growth

2.2 Hp 脂多糖对 GES-1 细胞 Shh 信号通路相关蛋白 Gli、Ptch-1 表达的影响 图 3 为 Hp 脂多糖干预各组 Gli、Ptch-1 蛋白表达的 Western Blot 结果。表 1、图 4 为蛋白 Gli/ β -actin、Ptch-1/ β -actin 比值分析数据及柱状图。结果显示不同浓度 Hp 脂多糖 Gli、Ptch-1 蛋白的相对表达较阴性对照组均降低(均 $P < 0.05$)。将 Hp 脂多糖浓度与 Gli 蛋白相对表达值进行相关性分析,结果两者呈负相关($r = -0.945, P < 0.001$);将 Hp 脂多糖浓度与 Ptch-1 蛋白相对表达值进行相关性分析,两者也呈负相关($r = -0.985, P < 0.001$),说明随着 Hp 脂多糖浓度的升高,GES-1 细胞中 Shh 信号通路相关蛋白 Ptch-1、Gli 的表达量逐渐减少,见图 5。

3 讨 论

研究发现, Hp 感染后首先是引起慢性炎症,进而发生胃黏膜萎缩、肠上皮化生、不典型增生、最终导致癌变^[7-8]。然而, Hp 确切的致病机制至今还不是很清楚。

Hp 的致病因子分两类:一类是定植因子,如鞭毛、适应性的酶和蛋白等;另一类是毒力因子,它能使机体产生炎症和免疫反应,最终导致一系列疾病的形成。脂多糖是 Hp 的毒力因子之一,在 Hp 感染及 Hp 相关疾病中起重要作

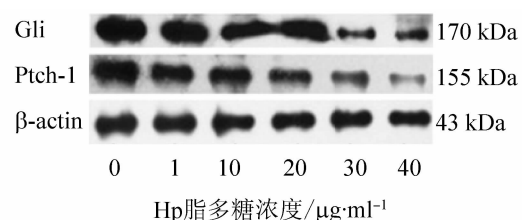


图 3 Western Blot 法检测 GES-1 细胞中 Gli、Ptch-1 蛋白表达结果

Fig. 3 The expression of Gli and Ptch-1 proteins in GES-1 cells detected by Western Blot

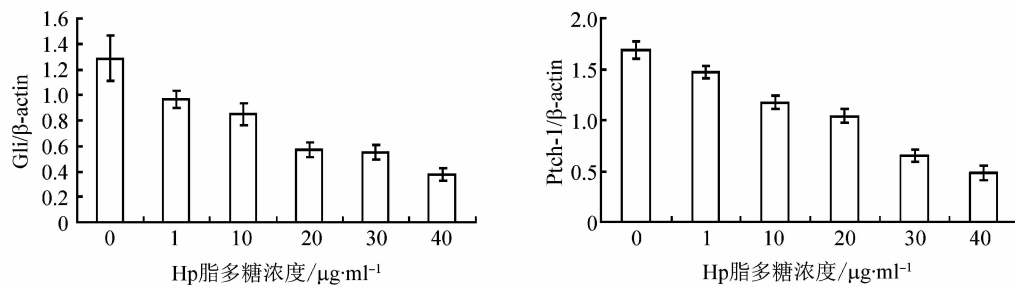
表 1 不同浓度 Hp 脂多糖作用下 GES-1 细胞中 Gli/ β -actin、Ptch-1/ β -actin 比值比较

Table 1 The comparison of Gli protein/ β -actin and Ptch-1 protein/ β -actin ratios in GES-1 cells after treatment of Hp-LPS with different concentrations

($\bar{x} \pm s$)		
Hp 脂多糖浓度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Gli/ β -actin	Ptch-1/ β -actin
0	1.286 ± 0.180	1.688 ± 0.088
1	0.963 ± 0.067	1.466 ± 0.061
10	0.850 ± 0.085	1.170 ± 0.065
20	0.566 ± 0.058	1.042 ± 0.064
30	0.549 ± 0.056	0.648 ± 0.057
40	0.377 ± 0.047	0.482 ± 0.074
F 值	38.086	135.946
P 值	<0.05	<0.05

用。 Hp 脂多糖能介导多种细胞因子和趋化因子的释放,从而介导免疫反应的发生^[9-10]。

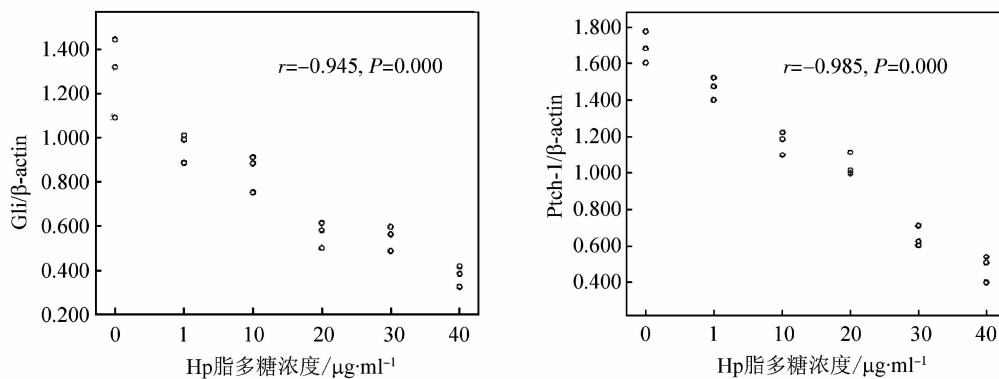
Shh 信号通路是调节昆虫和脊椎动物胚胎发育的经典通路之一。主要由分泌型信号蛋白 Shh 配体、跨膜蛋白受体 Ptch (Ptch1、Ptch2) 和另一跨膜蛋白 Smo 以及下游转录因子 Gli 蛋白 (Gli1、Gli2、Gli3) 组成^[11]。一般认为在缺乏 Shh 配体信号的刺激下, Ptch 与 Smo 结合, Ptch 抑制 Smo 的活性,此时该信号通路处于失活状态;而当 Shh 配体存在时, Shh 配体与跨膜蛋白受体 Ptch 结合后,解除了 Ptch 对 Smo 的抑制, Smo 进入胞质中,引发细胞内信号的下传,激活



Hp 脂多糖各组 Gli、Ptch-1 蛋白的相对表达值较阴性对照组均降低(均 $P < 0.05$).

图 4 不同浓度 Hp 脂多糖作用下 GES-1 细胞中 Gli 蛋白/ β -actin、Ptch-1 蛋白/ β -actin 比值分析柱形图

Fig. 4 The ratios histogram of Gli protein/ β -actin and Ptch-1 protein/ β -actin in GES-1 cells after treatment of Hp-LPS with different concentrations



相关性分析结果,随着 Hp 脂多糖浓度的升高,GES-1 细胞中蛋白 Gli、Ptch-1 的表达量逐渐减少($r = -0.945$ 、 -0.985 ,均 $P < 0.001$).

图 5 Hp 脂多糖浓度与 GES-1 细胞中 Gli 蛋白、Ptch-1 蛋白相对表达值的相关性分析

Fig. 5 The correlation analysis on the concentrations of Hp-LPS and the relative expression value of Gli and Ptch-1 proteins in GES-1 cells

转录因子 Gli, Gli 以全长的形式进入细胞核内,启动靶基因的转录,将细胞外的 Shh 信号传递到细胞内,从而调控细胞的生长发育^[12]。

Suzuki 等^[13]研究发现,蒙古沙鼠在 Hp 感染 51 周后,Shh 基因的表达明显下降,而且该基因的表达与壁细胞的丢失及腺颈部细胞的分化受阻呈正相关。在 Hp 感染阳性患者中,Shh 表达亦显著下调,而且该蛋白表达下调与萎缩及肠化病变严重程度之间存在显著正相关^[14]。可见,Hp 感染对 Shh 信号通路的表达有影响作用,但是目前 Hp 与 Shh 信号通路之间的具体作用机制尚未明确,其通过何种毒力因子造成 Shh 信号通路中相关成员的表达发生变化仍然

不确定。Piotrowski 等^[15]观察了从 Hp 中提取的脂多糖对胃上皮细胞的影响,发现脂多糖能够引起胃粘膜上皮细胞凋亡的显著增加,且凋亡指数与胃炎的严重程度及脂多糖的剂量有关。而本次实验 MTT 结果提示 Hp 脂多糖可以抑制 GES-1 细胞活性,且随着 Hp 脂多糖浓度增加,其抑制能力增强,这与 Piotrowski 等的研究结果一致,但其机制尚不明确。脂多糖对巨噬细胞及胃粘膜细胞有强大的激活作用,释放多种炎性细胞因子。研究显示 Hp 脂多糖能激活 NF- κ B,从而引起多种细胞因子合成和释放^[16]。Kim 等^[17]在人胃癌细胞株(AGS)中用一种特殊的抑制剂抑制 NF- κ B 的激活,结果发

现 Shh 的表达也受到抑制。Yang 等^[18]研究证实,在肺小血管上皮细胞中细菌脂多糖能影响 Shh 信号通路的表达。这些研究均提示 Hp 脂多糖可能是通过 NF- κ B 等因子影响 Shh 信号通路表达。

因此本研究选择 Hp 脂多糖作为刺激因子,探讨 Hp 脂多糖与 Shh 信号通路之间的关系。本实验证实用不同浓度的 Hp 脂多糖刺激 GES-1 细胞后,Shh 信号通路中相关蛋白 Gli 与 Ptch-1 的表达均较阴性对照组明显降低,且随着 Hp 脂多糖浓度的增加,其对 Shh 信号通路相关蛋白 Gli、Ptch-1 的抑制能力增强。本研究提示 Hp 感染后可能通过脂多糖抑制了 Shh 信号通路,从而对细胞产生损伤,并导致细胞的增殖抑制;随着 Hp 脂多糖浓度增加,Shh 信号通路相关成员表达逐渐降低,GES-1 细胞损伤逐渐加重。我们推测可能是随着 Hp 脂多糖浓度增加,更多 Shh 信号通路相关蛋白的表达被抑制,细胞损伤随之加重。

近年来很多研究显示 Shh 信号通路与消化道肿瘤如胃癌关系也十分密切^[14,19]。WHO 已将 Hp 定为胃癌的第一类致癌因子,因此有必要进一步在胃癌细胞中观察 Hp 脂多糖对 Shh 信号通路的影响。此外本研究主要通过体外细胞实验观察到 Hp 脂多糖能影响 Shh 信号通路相关蛋白的表达,在此基础上可进行动物实验,以探讨体内环境下 Hp 脂多糖与 Shh 信号通路两者的相互关系。

References:

- [1] HILDRETH C J, LYNN C, GLASS R M. *Helicobacter pylori* [J]. **JAMA**, 2008, 300 (11): 1374.
- [2] SLOMIANY A. Sucralfate Counteracts the Inhibition of Gastric Mucosal Ucin Receptor by *H. Pylori* Lipopolysaccharide [J]. **Scand J Gastroenterol**, 1995, 210(30): 77-81.
- [3] KATO H, KATO M. Hedgehog signaling pathway and gastrointestinal stem cell signaling network [J]. **Int J Mol Med**, 2006, 18(6): 1019-1023.
- [4] NISHIZAWA T, SUZUKI H, NAKAGAWA I, et al. Early *Helicobacter pylori* eradication restores sonic hedgehog expression in the gastric mucosa of Mongolian gerbils [J]. **Digestion**, 2009, 79(2): 99-108.
- [5] LEE K M, LEE J S, JUNG H S, et al. Late reactivation of sonic hedgehog by *Helicobacter pylori* results in population of gastric epithelial cells that are resistant to apoptosis: implication for gastric carcinogenesis [J]. **Cancer Lett**, 2010, 187(1): 44-53.
- [6] LUO Yi-hui, YAN Jie, MAO Ya-fei. *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide: Biological activities in vitro and in vivo, pathological correlation to human chronic gastritis and peptic ulcer [J]. **World J Gastroenterol**, 2004, 10(14): 2055-2059.
- [7] DIXON M F. Prospects for intervention in gastric carcinogenesis: reversibility of gastric atrophy and intestinal metaplasia [J]. **Gut**, 2001, 49(1): 2-4.
- [8] MEINING A, MORGNER A, MIEHLKE S, et al. Atrophy-metaplasia-dysplasia-carcinoma sequence in the stomach: a reality or merely an hypothesis? [J]. **Best Pract Res Clin Gastroenterol**, 2001, 15(6): 983-998.
- [9] BHATTACHARYYA A, PATHAK S, DATTA S, et al. Mitogen-activated protein kinases and nuclear factor-kappa B regulate *Helicobacter pylori*-mediated interleukin-8 release from macrophages [J]. **Biochem J**, 2002, 368(Pt 1): 121-129.
- [10] INNOCENTI M, SVENNERHOLM A M, QUIDING-JÄRBRINK M. *Helicobacter pylori* lipopolysaccharides preferentially induce CXC chemokine production in human monocytes [J]. **Infect Immun**, 2001, 69(6): 3800-3808.
- [11] HUANGFU D, ANDERSON KV. Signaling from Smo to Ci/Gli: conservation and divergence of Hedgehog pathways from Drosophila to vertebrates [J]. **Development**, 2006, 133(1): 3-14.
- [12] MARTIN J, DONNELLY JM, HOUGHTON J, et al. The Role of sonic hedgehog reemergence during gastric cancer [J]. **Dig Dis Sci**, 2010, 55(6): 1516-1524.
- [13] SUZUKI H, MINEGISHI Y, NOMOTO Y, et al. Down-regulation of a morphogen (sonic hedgehog) gradient in the gastric epithelium of *Helicobacter pylori*-infected Mongolian gerbils [J]. **J Pathol**, 2005, 206(2): 186-197.
- [14] MA X L, SUN H J, WANG Y S, et al. Study of Sonic hedgehog signaling pathway related

- molecules in gastric carcinoma [J]. **World J Gastroenterol**,2006,12(25):3965-3969.
- [15] PIOTROWSKI J, PZOTROWSKI E, SKRODZAK D, et al. Induction of acute gastritis and epithelial apoptosis by *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide [J]. **Scand J Gastroenterol**, 1997, 32:203-211.
- [16] SMITH MF J R, MITCHELL A, LI G, et al. Toll-like Receptor (TLR) 2 and TLR5, but Not TLR4, are required for *Helicobacter pylori*-induced NF-kappaB activation and chemokine expression by epithelial cells [J]. **J Biol Chem**, 2003, 278(35):32552-32560.
- [17] KIM J H, CHOI Y J, LEE S H, et al. Effect of *Helicobacter pylori* infection on the sonic hedgehog signaling pathway in gastric cancer cell [J]. **Oncol Rep**,2010,23(6):1523-1528.
- [18] YANG Y, LI Q, DENG Z, et al. Protection from lipopolysaccharide-induced pulmonary microvascular endothelial cell injury by activation of hedgehog signaling pathway [J]. **Mol Biol Rep**, 2011,38(6):3615-3622.
- [19] LEE S Y, HAN H S, LEE K Y, et al. Sonic hedgehog expression in gastric cancer and gastric adenoma [J]. **Oncol Rep**, 2007, 17(5):1051-1055.
- [责任编辑 沈敏]

李兰娟院士团队在《新英格兰医学杂志》发表 人感染 H7N9 禽流感病毒临床研究论文

国际顶尖医学期刊《新英格兰医学杂志》6月13日出版的第368卷第24期发表了浙江大学医学院附属第一医院传染病诊治国家重点实验室主任李兰娟院士团队的题为《111例H7N9流感病毒感染病人的临床特征》论文,其中对中国早期111例人感染H7N9禽流感病人的人口学特征、症状、体征、实验室检查、影像学变化和自然病程等临床特征进行了系统性描述及分析研究。结果表明,中国早期H7N9流感病毒感染者发病迅速,且多为重症患者,需入住重症监护室,早期抗病毒治疗非常重要。全文链接见 <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1305584#t=article>。

王建有副主任医师团队在《新英格兰医学杂志》发表临床病例报告

由浙江大学医学院附属第二医院皮肤科王建有副主任医师(通讯作者)等撰写的一例具有罕见表现的结缔组织病(原发性干燥综合征)病例报告发表在6月27日出版的《新英格兰医学杂志》第368卷第26期IMAGES IN CLINICAL MEDICINE栏目。结缔组织病是累及多系统的疾病,临床表现复杂多样,干燥综合征主要表现为口干、眼干等症状,本例患者同时伴有泪腺、唾液腺肿大的表现,临床上非常罕见。这类患者在未确诊前有可能就诊于多个不同的临床科室。在专科日益细化的今天,对于累及多系统的疑难少见病例,相关临床专科间的相互合作对疾病的尽早确诊尤为重要。可喜的是,临床已经开始重视这方面的工作,如最近开展的多学科病例讨论会就是非常好的开端。全文链接见 <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMicm1210527>。