

• 论 著 •

肠上皮细胞中 SDC-1、LRG1 的表达与 UC 患者屏障功能损伤的相关性研究

张雪芹,王凤仙,张晖敏,唐 源[△]

云南省曲靖市第一人民医院消化内科,云南曲靖 655000

摘 要:目的 研究肠上皮细胞中多配体蛋白聚糖 1(SDC-1)、富亮氨酸 α -2 糖蛋白 1(LRG1)的表达与溃疡性结肠炎(UC)患者屏障功能损伤的相关性。方法 该研究采用前瞻性研究方法,选择 2018 年 1 月至 2020 年 5 月在该院进行诊断及治疗的 UC 患者 120 例作为观察组,根据简化 UC 活动指数(CDAI)分析,缓解期患者 56 例,活动期患者 64 例,另选取同期该院治疗的肠息肉患者 120 例作为对照组,采用免疫组化法对患者的 SDC-1、LRG1 水平进行检测,比较观察组与对照组,不同严重程度 UC 患者的肠上皮细胞中 SDC-1、LRG1 及肠道黏膜的肠道屏障指标,分析肠上皮细胞中 SDC-1、LRG1 的表达与溃疡性结肠炎患者屏障功能损伤的相关性。结果 观察组患者的 SDC-1、LRG1 水平显著低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);缓解组患者的 SDC-1、LRG1 水平显著高于进展组,差异有统计学意义($P<0.05$);观察组患者的肠道屏障指标一氧化氮(NO)、半乳糖凝集素 3(galectin-3)、密封蛋白(OCLN)、galectin-1、紧密连接蛋白 1(ZO-1)及扣带蛋白(cingulin)水平显著低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);缓解组患者的一氧化氮(NO)、galectin-3、OCLN、galectin-1、ZO-1 及 cingulin 水平显著低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);相关性分析显示,患者的 SDC-1、LRG1 水平与 NO、galectin-3、OCLN、galectin-1、ZO-1 及 cingulin 水平呈正相关。结论 肠上皮细胞中 SDC-1、LRG1 的表达与溃疡性患者屏障功能损伤显著相关性,可作为临床诊断的重要依据。

关键词:多配体蛋白聚糖 1; 富亮氨酸 α -2 糖蛋白 1; 溃疡性结肠炎; 肠道屏障功能; 结肠息肉

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.20.019

中图法分类号:R574.62

文章编号:1673-4130(2021)20-2519-04

文献标志码:A

Correlation between the expression of SDC-1 and LRG1 in intestinal epithelial cells and barrier function injury in UC patients

ZHANG Xueqin, WANG Fengxian, ZHANG Huimin, TANG Yuan[△]

Department of Gastroenterology, the First People's Hospital of Qujing, Qujing, Yunnan 655000, China

Abstract: **Objective** To study the relationship between the expression of syndecan-1 (SDC-1), leucine-rich- α -2-glycoprotein1 (LRG1) in intestinal epithelial cells and barrier function injury in ulcerative colitis (UC) patients. **Methods** This study used a prospective research method. A total of 120 patients with UC diagnosed and treated in the hospital from January 2018 to May 2020 were selected as the observation group. According to the simplified UC activity index (CDAI) analysis, 56 patients were in remission stage, 64 patients were in active stage. Another 120 patients with intestinal polyps treated in the hospital during the same period were selected as the control group. The levels of SDC-1 and LRG1 in patients were detected by immunohistochemistry. The levels of SDC-1 and LRG1 in intestinal epithelial cells of patients with ulcerative colitis of different severity were compared between the observation group and the control group, as well as the intestinal barrier indexes of intestinal mucosa. The correlation between the expression of SDC-1 and LRG1 in intestinal epithelial cells and the barrier function damage of patients with ulcerative colitis was analyzed. **Results** The levels of SDC-1 and LRG1 in the observation group were significantly lower than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The levels of SDC-1 and LRG1 in the remission group were significantly higher than those in the progressive group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The intestinal barrier indexes of nitric oxide (NO), galectin-3, occludin (OCLN), galectin-1, zonula occludens 1 (ZO-1) and cingulin in the observation group were significantly higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). NO, galectin-3, OCLN, galectin-1,

作者简介:张雪芹,女,副主任医师,主要从事胃肠病学,肠内营养方面的研究。 [△] **通信作者:**E-mail:1984537202@qq.com。

本文引用格式:张雪芹,王凤仙,张晖敏,等.肠上皮细胞中 SDC-1、LRG1 的表达与 UC 患者屏障功能损伤的相关性研究[J].国际检验医学杂志,2021,42(20):2519-2522.

ZO-1 and cingulin in the remission group were significantly higher than those in the progressive group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The levels of SDC-1 and LRG1 were positively correlated with the levels of NO, galectin-3, OCLN, galectin-1, ZO-1 and cingulin. **Conclusion** The expressions of SDC-1 and LRG1 in intestinal epithelial cells are significantly correlated with barrier function damage in patients with ulcerative disease, which can be used as an important basis for clinical diagnosis.

Key words: syndecan-1; leucine-rich-alpha-2-glycoprotein1; ulcerative colitis; intestinal barrier function; colonic polyps

溃疡性结肠炎(UC)属于非特异性肠道炎性疾病之一^[1],患者主要表现为腹痛及腹泻的频繁发作。流行病学调查显示^[2],随着居民饮食结构的显著改变,溃疡性结肠炎的发病率呈现逐年上升的趋势。有研究认为^[3],在 UC 的进展中,病灶部位的炎症反应及应激反应发挥着重要作用,通过对肠上皮细胞内皮功能的不断破坏,肠上皮的屏障功能显著受到破坏,进一步加重患者的临床症状。多配体蛋白聚糖 1 (SDC-1)是重要的 I 型跨膜蛋白,在正常的生理情况下,SDC-1 主要表达于肠道上皮细胞的细胞膜。研究显示,SDC-1 可通过对肠道黏膜组织的修复及免疫功能的调节作用,进而维持正常的肠道黏膜的屏障功能^[4]。富亮氨酸 α -2 糖蛋白 1 (LRG1)在肠黏膜组织的血管生成中具有显著的意义。同时对于炎症因子的凋亡、迁移及信号转导中发挥重要作用^[5]。本研究主要通过肠上皮细胞中 SDC-1、LRG1 的表达与 UC 患者屏障功能损伤的相关性分析,为临床诊断及治疗效果评估提供科学依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究采用前瞻性研究方法,选择 2018 年 1 月至 2020 年 5 月在本院进行诊断及治疗的 UC 患者 120 例作为研究对象,其中,男 65 例,女 55 例,年龄 36~60 岁,平均 (48.25 ± 10.25) 岁,平均体质质量指数(BMI)为 $(24.59 \pm 3.61) \text{ kg/m}^2$,平均病程 (15.23 ± 2.06) 月,根据简化 UC 活动指数(CDAI)分析^[6],CDAI 在 150 以下则为缓解期,否则为进展期。缓解期患者 56 例,进展期患者 64 例。另选取同期本院治疗的肠息肉患者 120 例作为对照组,两组患者的性别、年龄及 BMI 之间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。纳入标准:(1)均符合溃疡性结肠炎诊断标准并经纤维镜病理确诊^[7];(2)均知情同意。排除标准:(1)近期采用糖皮质激素治疗患者;(2)近期采用免疫抑制剂治疗患者;(3)合并急性或慢性感染患者;(4)肝肾功能异常未能进行纤维镜检查患者。所有患者均签署知情同意书,并经本院伦理委员会论证通过。

1.2 研究方法 患者的肠上皮细胞 SDC-1、LRG1 水平检测:采用纤维结肠镜对 UC 及结肠息肉患者的病灶部位进行采集,采用石蜡包埋对以上标本进行处理,连续切片处理,切片的厚度为 $2 \mu\text{m}$,通过对以上切片进行常规脱蜡及水化处理后,采用枸橼酸盐缓冲液进行抗原修复,使用 3% 的过氧化氢进行阻断过氧化氢酶,同时滴加山羊血清后在室温下密闭 30 min,

使用 SDC-1 抗体 1:200(北京博奥森生物技术有限公司,生产批号:20150211)及 LRG1 抗体 1:100(上海艾博抗贸易有限公司,生产批号:20150820)后,在 4°C 下进行孵育过夜,在反应增强液中进行室温下孵育 20 min,使用辣根过氧化物酶标记的二抗在室温下孵育 20 min,随后采用二氨基联苯胺进行显色,采用 1% 的乙醇对以上标本进行分化,使用苏木精进行复染,采用梯度乙醇进行脱水,同时采用二甲苯进行透明处理,封片。在 400 倍显微镜下对患者的胶片进行观察,在观察过程中,取 5 个视野,每个视野对 100 个肿瘤细胞进行计数,根据染色深度以及阳性细胞比率对肠道上皮细胞的 SDC-1、LRG1 水平进行检测。SDC-1 以及 LRG1 表达情况结果评估:阳性表达率在 5% 以下则为 0 分,阳性表达率在 $6\% \sim <25\%$ 则为 1 分,阳性表达率在 $26\% \sim <50\%$ 则为 2 分,阳性表达率在 $51\% \sim <75\%$ 则为 3 分,阳性表达率在 $\geq 75\%$ 以上则为 4 分。染色强度分析:无染色情况则为 0 分,染色为浅黄色则为 1 分,染色为黄色则为 2 分,染色为棕黄色则为 3 分,阳性表达率及染色强度的乘积则为 SDC-1 及 LRG1 表达量^[8]。两组患者的肠道屏障功能检测:采用 RIRP 裂解液对以上标本的研磨处理液进行裂解,同时在 $1\,000 \text{ r/min}$ 离心 10 min 后,取上层液体,采用酶联免疫吸附试验法对以上液体进行一氧化氮(NO)、半乳糖凝集素 3(galectin-3)、密封蛋白(OCLN)、galectin-1、紧密连接蛋白 1(ZO-1)、扣带蛋白(cingulin)等情况进行比较。

1.3 观察指标 分别对观察组患者及对照组患者、缓解组及进展组患者的 SDC-1、LRG1 水平、NO、galectin-3、OCLN、galectin-1、ZO-1 及 cingulin 水平进行比较,分析肠上皮组织 SDC-1、LRG1 水平与 NO、galectin-3、OCLN、galectin-1、ZO-1 及 cingulin 水平的相关性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS26.0 统计学软件进行分析,计数资料以例数或百分率表示,组间采用 χ^2 检验;计量资料的采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者的 SDC-1、LRG1 水平比较 观察组患者的 SDC-1、LRG1 水平显著低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 不同严重程度 UC 患者的 SDC-1、LRG1 水平比较 缓解组患者的 SDC-1、LRG1 水平显著显著高于

进展组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 1 两组患者的 SDC-1、LRG1 水平比较($\bar{x}\pm s$)			
组别	<i>n</i>	SDC-1	LRG1
观察组	120	2.27±0.31	2.33±0.94
对照组	120	4.44±1.14	4.77±1.27
<i>t</i>		20.121	16.917
<i>P</i>		<0.001	<0.001

2.3 两组患者的肠道屏障功能比较 观察组患者的 NO、galectin-3、OCLN、galectin-1、ZO-1 及 cingulin 水平显著低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

2.4 不同严重程度溃疡性结肠炎患者的肠道屏障功

能比较 缓解组患者的 NO、galectin-3、OCLN、galectin-1、ZO-1 及 cingulin 水平显著低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 4。

表 2 不同严重程度 UC 患者的 SDC-1、LRG1 水平比较($\bar{x}\pm s$)			
组别	<i>n</i>	SDC-1	LRG1
缓解组	56	3.52±1.22	3.56±1.39
进展组	64	1.17±0.37	1.25±0.37
<i>t</i>		13.867	12.068
<i>P</i>		<0.001	<0.001

2.5 相关性分析 通过相关性分析,患者的 SDC-1、LRG1 水平与 NO、galectin-3、OCLN、galectin-1、ZO-1 以及 cingulin 水平呈正相关。见表 5。

表 3 两组患者的肠道屏障功能比较($\bar{x}\pm s$)							
组别	<i>n</i>	NO (U/L)	galectin-3 (ng/mL)	OCLN (pg/mL)	galectin-1 (ng/mL)	ZO-1 (ng/mL)	cingulin (pg/mL)
观察组	120	9.77±2.24	3.27±1.31	252.04±24.24	5.27±1.72	1.77±0.26	148.89±23.37
对照组	120	15.27±4.94	7.77±2.27	452.88±24.17	11.27±3.73	4.03±2.27	360.02±22.69
<i>t</i>		11.108	18.809	64.272	16.002	10.835	71.004
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 4 不同严重程度 UC 患者的肠道屏障功能比较($\bar{x}\pm s$)							
组别	<i>n</i>	NO (U/L)	galectin-3 (ng/mL)	OCLN (pg/mL)	galectin-1 (ng/mL)	ZO-1 (ng/mL)	cingulin (pg/mL)
缓解组	56	12.22±2.22	3.56±0.37	211.77±27.24	4.55±1.31	1.06±0.24	122.27±26.72
进展组	64	7.62±3.37	3.01±0.39	298.06±26.94	6.09±1.27	2.58±0.55	179.31±25.73
<i>t</i>		8.928	7.893	17.414	6.530	20.036	11.900
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 5 相关性分析						
指标	NO	galectin-3	OCLN	galectin-1	ZO-1	cingulin
SDC-1						
<i>r</i>	0.836	0.521	0.577	0.877	0.830	0.646
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
LRG1						
<i>r</i>	0.469	0.712	0.753	0.635	0.811	0.597
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

3 讨 论

目前对于 UC 的发病机制的研究尚不明确,有研究认为^[9],UC 患者的自身免疫系统、肠道屏障及炎症反应水平的平衡显著相关性。随着疾病的进展,局部病灶部位的炎症反应水平的显著升高,肠道黏膜组织的氧化应激反应水平显著升高,肠黏膜组织的氧自由基水平显著升高,进一步形成恶性循环^[10]。

SDC-1 又被称之为 CD138,作为硫酸乙酰肝素蛋

白聚糖家族的重要成员,在正常的生理作用下,肠黏膜组织的 SDC-1 水平较高,较高的 SDC-1 水平通过对肠黏膜组织的修复及局部病灶部位的免疫功能的调节作用,同时对于肠黏膜组织的上皮细胞的紧密结构具有显著的维持作用^[11]。而在溃疡性结肠炎患者的病变过程中,大量的炎症细胞及其分泌的促炎症细胞因子,造成正常的肠黏膜细胞在其胞外域进行脱落,同时失去活性^[12]。同时随着患者的 SDC-1 水平

的下降,肠道组织的修复功能显著下降^[13]。本研究中,通过对 UC 患者及结肠息肉患者的 SDC-1 水平进行比较,UC 患者的 SDC-1 显著低于肠息肉患者,且随着患者疾病的进展,患者的 SDC-1 显著下降,也在一定程度上验证了以上研究。耿丽等^[14]通过对 UC 患者的 SDC-1 水平的比较,随着疾病的进展,患者的 SDC-1 水平显著下降,与本研究一致。

有研究报道显示^[10],LRG1 在肠道上皮细胞的黏附、炎性细胞的迁移及信号转导过程中发挥重要作用。而在肠道黏膜的自我修复过程中,局部病灶部位的毛细血管发挥重要作用,既是肠道黏膜细胞修复营养物质传送的重要依据,也是炎性因子及其他有害因子新陈代谢的重要途径。而近年来的研究发现^[15],LRG1 与肠道新生血管的新陈代谢显著相关。其主要通过对患者的转化生长因子的有效刺激性作用,进一步对转化生长因子的转录因子的刺激性作用,激活白细胞抑制因子蛋白,对于局部炎性反应水平的降低具有积极的意义。而在本研究中,UC 患者的 LRG1 水平显著低于结肠息肉患者,同时随着患者的病情加重,患者的 LRG1 显著下降。霞明等^[16]对溃疡性结肠炎患者的 LRG1 水平比较,随着患者的疾病进展,患者的 LRG1 显著下降,与本研究一致。

而在对患者的肠道屏障功能的分析中,随着患者的疾病进展,NO、galectin-3、OCLN、galectin-1、ZO-1 及 cingulin 水平显著上升,在对疾病的进展中,病灶部位的氧化应激反应显著升高,机体的 NO 大量释放^[17]。galectin-3、galectin-1 是肠道上皮细胞之间的极性状态及紧密连接状态的重要指标,随着疾病的进展,患者的肠上皮细胞的凋亡情况显著,而细上皮细胞的紧密程度显著下降,galectin-3、galectin-1 也随之下降。OCLN、ZO-1 及 cingulin 水平也是肠道黏膜组织的完整性的重要依据,而随着疾病的进展,局部病灶部位的炎性反应及氧化应激反应水平的显著升高,肠道黏膜组织的完整性显著破坏^[18]。而在相关性的分析中,溃疡性结肠炎患者的 SDC-1、LRG1 水平与肠道黏膜组织的完整性呈正相关。提示,通过对患者的 SDC-1、LRG1 水平的检测,通过对患者的肠道黏膜组织的完整性分析,可进一步对患者的病情以及治疗效果进行评估。

综上所述,肠上皮细胞中 SDC-1、LRG1 的表达与 UC 患者屏障功能损伤显著相关,可作为临床诊断的重要依据。

参考文献

[1] 张宁,周晓丽,刘帅. 加味葛根芩连汤联合常规治疗对重度湿热型溃疡性结肠炎患者的临床疗效[J]. 中成药, 2020,42(2):351-355.

[2] 张琴,万健,吴开春,等. 溃疡性结肠炎癌变流行病学调查:一项全国多中心回顾性研究[J]. 中华炎性肠病杂志, 2017,1(3):155-159.

[3] 赵昌东,赵红艳,柯希权,等. 焦虑与抑郁心理对溃疡性结肠炎患者神经内分泌免疫的影响研究[J]. 中国全科医学, 2020,23(2):234-239.

[4] ZHANG S,WANG X,XIE X,et al. Activated Syndecan-1 shedding contributes to mice colitis induced by dextran sulfate sodium[J]. Digest Dis Sci, 2011, 56(4):1047-1056.

[5] 汪洋,刘肇修,卞兆连,等. LRG1 促进肠黏膜上皮细胞增殖参与溃疡性结肠炎发病机制的研究[J]. 南通大学学报(医学版),2018,38(1):9-12.

[6] 刘肇修,管程齐,陆翠华,等. LRG-1 在溃疡性结肠炎与结肠癌组织中的表达[J]. 山东医药,2018,58(25):9-12.

[7] 欧阳钦. 溃疡性结肠炎临床诊断指南[J]. 临床消化病杂志,2007,19(1):4-6.

[8] 夏守兵,许春杰,蒋春晖,等. 溃疡性结肠炎及其恶性并发症的生物信息学分析和潜在治疗药物筛选[J]. 上海交通大学学报(医学版),2020,40(3):317-325.

[9] 徐甜,连雅君,李振汉,等. 当归-白芍药对治疗溃疡性结肠炎的网络药理学研究[J]. 中华中医药学刊,2020,38(1):173-176.

[10] IRENE M. Inhibitors of the janus kinases: a new oral treatment option for ulcerative colitis[J]. J Clin Gastroenterol,2020,54(10):911.

[11] KRISTEN K R,MELODY S,DEHGHAN L A. Sccats,et al. Use of biological medications does not increase postoperative complications among patients with ulcerative colitis undergoing colectomy: a retrospective cohort analysis of privately insured patients[J]. Ascrs, 2020, 63(11):1524-1533.

[12] EVELYN W, SOPHIE-CHRISTIN H, EVELYN G, et al. Health-related quality of life, work productivity and costs related to patients with inflammatory bowel disease in Austria[J]. J Med Econ,2020,23(10):1061-1071.

[13] JONAS H, MARIA L L, MARIA L, et al. Genetic and shared environmental risk factors do not lead to eosinophil activation in healthy twins of IBD patients[J]. Scand J Gastroentero,2020,55(10):1163-1170.

[14] 耿丽,王许平,杨贝贝,等. MMP-7、SDC-1 在炎症性肠病中的表达及其意义[J]. 胃肠病学,2019,24(3):165-168.

[15] WEN X C,LIU C,J S,et al. A new Cu(Ⅱ)-based coordination polymer: protective activity against ulcerative colitis via regulating the level of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines[J]. Inorg Nano-met Chem,2020, 50(10):944-948.

[16] 霞明,朱杰伦,陈娟,等. 溃疡性结肠炎患者结肠黏膜组织中 LRG1、TGF-β 和 Smad2 表达水平及临床意义[J]. 临床和实验医学杂志,2018,17(11):1149-1153.

[17] 孙茜,文武,蹇贻,等. 血清 IL-17、IL-23 水平与溃疡性结肠炎患者 Hp 感染的相关性[J]. 国际检验医学杂志, 2020,41(14):1729-1731.

[18] 牛敏,刘淑敏,杜艳. 溃疡性结肠炎患者粪便中艰难梭菌毒素基因 A/B 携带情况的研究[J]. 国际检验医学杂志, 2017,38(4):436-438.