

碱性成纤维细胞生长因子在胃溃疡愈合中的表达及意义

贺建华, 罗和生

贺建华, 罗和生, 武汉大学人民医院消化内科 湖北省武汉市 430060
贺建华, 男, 1970年7月生, 湖北恩施人, 土家族, 1992年武汉大学医学院本科毕业(原湖北医科大学)目前在湖北恩施自治州中心医院工作, 现为武汉大学人民医院消化内科硕士生。
项目负责人: 罗和生, 430060, 湖北省武汉市, 武汉大学人民医院消化内科。
luotang@public.wh.hb.cn
电话: 027-88041919-2135
收稿日期: 2002-08-03 接受日期: 2002-08-23

Expression of basic fibroblast growth factor (bFGF) in healing human gastric ulcer

Jian-Hua He, He-Sheng Luo

Jian-Hua He, He-Sheng Luo, Department of Gastroenterology, People's Hospital, Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China
Correspondence to: He-Sheng Luo, Department of Gastroenterology, People's Hospital, Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China. luotang@public.wh.hb.cn
Received: 2002-08-03 Accepted: 2002-08-23

Abstract

AIM: To investigate changes of basic fibroblast growth factor (bFGF) in the healing of human gastric ulcer.

METHODS: The expression of basic fibroblast growth factor (bFGF) in human gastric mucosa: normal (20 cases), active stage of gastric ulcer (24 cases), healing stage of gastric ulcer (26 cases) and scarring stage of gastric ulcer (20 cases) was detected by immunohistochemical methods and computerized image analysis.

RESULTS: The expression intensity of bFGF was different among normal gastric mucosa and mucosa at different stages of gastric ulcer. The expression in normal gastric mucosa was weakly positive, at the active stage of gastric ulcer was positive, at the healing stage and scarring stage was strongly positive. The positive signal of bFGF was localized in granulation tissues, extracellular matrix (ECM), fibroblasts and endothelial cells. There were significant differences in average integral optic density and area density among different stages of gastric ulcer and normal gastric mucosa (0.247 ± 0.042 , 0.321 ± 0.096 , 0.296 ± 0.048 vs 0.125 ± 0.062 , $P < 0.05$; 0.131 ± 0.024 , 0.165 ± 0.031 , 0.162 ± 0.028 vs 0.081 ± 0.008 , $P < 0.05$) They were significantly higher at the healing stage and scarring stage than that at the active stage in average integral optic density and area density (0.321 ± 0.096 , 0.296 ± 0.048 vs 0.247 ± 0.042 , $P < 0.05$; 0.165 ± 0.031 , 0.162 ± 0.028 vs 0.131 ± 0.024 , $P < 0.05$).

CONCLUSION: The changes of bFGF were closely related to the healing of human gastric ulcer, and rational use of bFGF can promote the healing of gastric ulcer.

He JH, Luo HS. Expression of basic fibroblast growth factor (bFGF) in healing human gastric ulcer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2003;11(1): 61-64

摘要

目的: 探讨人胃溃疡愈合过程中碱性成纤维细胞生长因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF) 的变化及其作用。

方法: 采用免疫组织化学法, 对正常胃黏膜(20例)、胃溃疡活动期(24例)、愈合期(26例)和瘢痕期(20例)组织的bFGF的表达进行定位观察和图像半定量分析。

结果: bFGF在正常胃黏膜呈弱阳性表达, 在胃溃疡急性期呈阳性表达, 在愈合期和瘢痕期呈强阳性表达。阳性信号主要位于腺上皮、细胞外基质、成纤维细胞和内皮细胞中。bFGF平均光密度值和面密度值在胃溃疡活动期、愈合期、瘢痕期与正常胃黏膜相比均有显著性差异 (0.247 ± 0.042 & 0.321 ± 0.096 & 0.296 ± 0.048 vs 0.125 ± 0.062 , $P < 0.05$; 0.131 ± 0.024 & 0.165 ± 0.031 & 0.162 ± 0.028 vs 0.081 ± 0.008 , $P < 0.05$), 在愈合期及瘢痕期组织与活动期溃疡相比也有显著性差异 (0.321 ± 0.096 & 0.296 ± 0.048 vs 0.247 ± 0.042 , $P < 0.05$; 0.165 ± 0.031 & 0.162 ± 0.028 vs 0.131 ± 0.024 , $P < 0.05$)。

结论: 在人胃溃疡愈合过程中, 存在着内源性bFGF由弱到强的演变, 说明bFGF与胃溃疡愈合密切相关。临床上合理应用bFGF有助于消化性溃疡愈合。

贺建华, 罗和生. 碱性成纤维细胞生长因子在胃溃疡愈合中的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2003;11(1):61-64
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/61.htm>

0 引言

消化性溃疡愈合是一个十分复杂的过程, 包括上皮、黏膜肌层和结缔组织的重建。其中会涉及到一系列细胞和分子机制的参与。许多生长因子参与了其愈合过程^[1,2]。碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)即为其中一种。有研究认为外源性bFGF可促进实验性胃、十二指肠溃疡愈合^[3-5], 但有关人胃溃疡愈合过程中内源性bFGF的变化研究较少。我们采用免疫组织化学方法, 对bFGF在正常胃黏膜、胃溃疡活动期、愈合期和瘢痕期的表达情况进行了研究, 探讨bFGF在胃溃疡愈合中的变化及作用。

1 材料和方法

1.1 材料 全部胃溃疡标本均来源于胃镜取材。胃溃疡分期采用日本学者崎田隆夫倡导的分期法, 将溃疡分为活动期(active stage)、愈合期(healing stage)和瘢痕期(scarring stage)。其中活动期(GA组)24例, 愈合期(GH组)

26例,瘢痕期(GS期)20例,标本均取自溃疡边缘,每例取两块,一块用于免疫组化,一块用于HE染色.另取20例完整胃窦黏膜组织作对照.标本经10%中性甲醛固定,脱水,石蜡包埋,切片后备用.

1.2 方法 (1)组织学观察采用HE染色,光镜下观察溃疡各期组织结构.(2)组织碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)表达采用免疫组织化学SABC法.bFGF免疫组织化学染色试剂盒购于武汉博士德生物工程有限公司,操作按试剂盒说明书进行.将石蜡切片脱蜡并进行抗原热修复后系列染色,其中一抗用抗体稀释液按1:100稀释.光镜观察,结果以胞质或/和胞膜着棕色者为阳性.另用PBS代替一抗为阴性对照.在400倍光镜下观察,每个视野观察100个细胞,按染色强度或细胞阳性数确定表达强度.不染色,表达强度即为阴性.染色较弱,每个视野阳性细胞数少于10个为弱阳性;中度染色,每个视野阳性细胞数10-30个为阳性;强染色,每个视野阳性细胞数>30个为强阳性.(3)图像半定量分析应用HPIAS-1000型全自动医学图像彩色分析系统,分别测定正常胃黏膜、胃溃疡活动期、愈合期和瘢痕期中胃组织bFGF的平均积分光密度值和面密度值.每张切片随机选取5个视野,然后取其均值.

统计学处理 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用t检验.

2 结果

2.1 组织学观察 溃疡活动期:主要表现为黏膜变性、坏死,大量中性粒细胞为主的炎性细胞浸润和少量新生肉芽组织;愈合期:各种炎性细胞减少,可见再生的腺体组织、毛细血管、纤维结缔组织;瘢痕期:肉芽组织逐渐纤维化和胶原形成,腺体重构.

2.2 bFGF在正常胃黏膜、溃疡活动期、愈合期和瘢痕期组织的定位及表达 在正常胃窦黏膜,bFGF有弱阳性表达,主要位于腺体组织(图1),在溃疡活动期bFGF呈阳性表达,主要位于腺上皮,细胞外基质及炎性细胞中(图2);在溃疡愈合期和瘢痕期均有强阳性表达,主要位于再生腺体组织,成纤维细胞和内皮细胞中(图3,4).

2.3 胃组织bFGF图像半定量分析结果见表1 bFGF平均积分光密度值在胃溃疡各期与正常胃黏膜组相比均有显著差异($P < 0.05$).在胃溃疡愈合期和瘢痕期与活动期相比均有显著差异($P < 0.05$).bFGF平均面密度值在胃溃疡各期与正常胃黏膜组均有显著差异($P < 0.05$),在愈合期和瘢痕期与活动期相比均有显著性差异($P < 0.05$).

表1 正常胃黏膜和胃溃疡各期bFGF平均积分光密度值和面密度值比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	积分光密度	面密度
正常胃黏膜(GN)	20	0.125 ± 0.062	0.081 ± 0.008
溃疡急性期(GA)	24	0.247 ± 0.042 ^a	0.131 ± 0.024 ^a
溃疡愈合期(GH)	26	0.321 ± 0.096 ^{ab}	0.165 ± 0.031 ^{ab}
溃疡瘢痕期(GS)	20	0.296 ± 0.048 ^{ab}	0.162 ± 0.028 ^{ab}

^a $P < 0.05$, vs GN组; ^b $P < 0.05$, vs GA组.

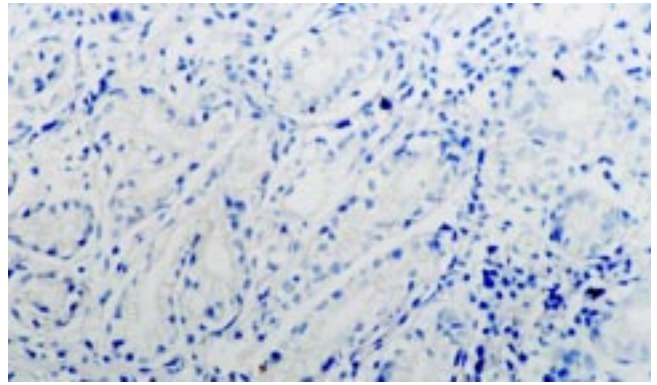


图1 正常胃黏膜:bFGF表达呈弱阳性(ABC×200)

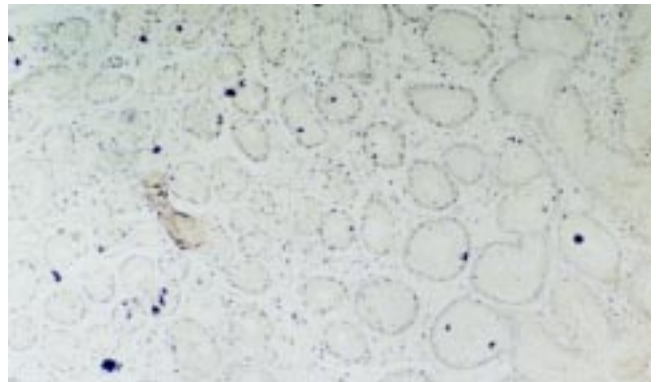


图2 胃溃疡活动期:bFGF呈阳性,主要位于腺体,一些炎性细胞(ABC×100)

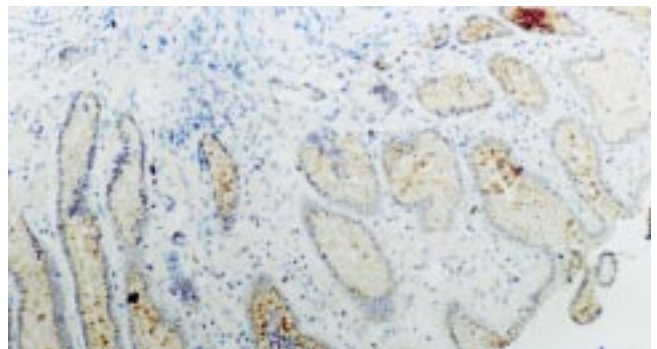


图3 胃溃疡愈合期:bFGF呈强阳性表达,主要位于腺体,成纤维细胞细胞外基质,毛细血管内皮(ABC×100)

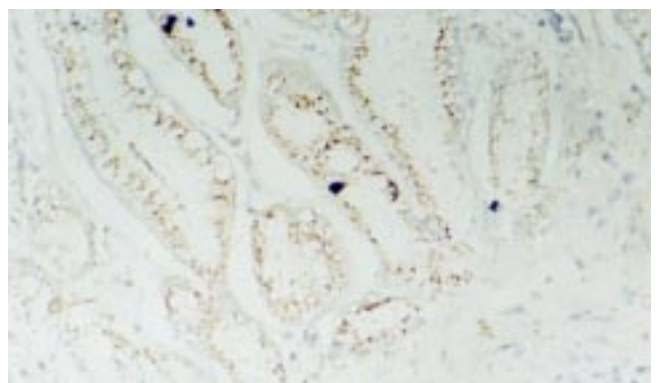


图4 胃溃疡瘢痕期:bFGF呈强阳性表达,主要位于腺体,成纤维结缔组织血管内皮(ABC×200)

3 讨论

损伤修复是多种细胞,生长因子和细胞外基质相互作用的复杂过程,生长因子在损伤修复过程中起着重要作用^[6,7].碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)是一种对创伤修复有重要调控作用的细胞因子^[8-12],其参与了调控组织修复的全过程,包括调控炎症反应、诱导毛细血管胚芽形成,促进上皮及肉芽组织生长.早期生长反应素-1(Erg-1)对组织修复有重要作用,而Erg-1的许多作用均依赖于bFGF在组织中的释放和旁分泌.成纤维细胞生长因子主要通过三条途径发挥其促分裂效应:(1)通过受体介导.流式细胞仪检测发现,成纤维细胞生长因子促进细胞增生的作用发生在与受体结合后,可能会促使细胞周期中的G₀期与G₁期细胞减少,S期加速;(2)通过限制性的酶解作用,在酶的作用下使与肝素结合的无活性的FGF变成可溶性的、有活性的FGF;(3)通过FGF结构修饰而发挥作用.此外,成纤维细胞生长因子还具有非促分裂激素样活性,可以趋化炎症细胞与组织修复细胞向创面聚集,发挥抗感染作用和产生生长因子释放的级联效应.

由于胃溃疡是穿透黏膜肌层或其以下的坏死病灶,因而他的愈合过程也十分复杂,包括坏死物的清除、基底部长出肉芽组织,进而形成纤维组织和瘢痕组织及血管的生成,上皮重构等过程.溃疡愈合在形态、发生、衍化和分期上与皮肤伤口愈合特别相似,所以同样也会涉及到一系列细胞和分子机制参与^[13-24].有研究认为外源性bFGF可加速实验性胃、十二指肠溃疡愈合.Szabo et al利用bFGF可促进慢性伤口血管形成并加速其愈合的特性,把具有酸稳定特性的bFGF(bFGF-CS23)用于治疗鼠十二指肠球部溃疡,结果显示bFGF虽不影响胃酸和胃蛋白酶的分泌,却比西米替丁更有效地促进溃疡面血管形成,加速溃疡愈合.王军志 et al^[3]利用rh-bFGF治疗实验性大、小鼠胃溃疡,发现溃疡边缘再生上皮宽度,肉芽组织内毛细血管密度及瘢痕组织内胶原含量提高,并促进再生腺体成熟与溃疡边缘组织RNA合成.Ernst et al^[4]应用bFGF局部注射治疗小鼠胃溃疡,可加速溃疡愈合.而应用抗bFGF抗体则会使溃疡愈合延迟.许志华 et al^[5]应用rh-bFGF局部注射治疗162例胃、十二指肠溃疡患者,证实其确实能明显加快溃疡愈合.

Satoh et al^[25]曾研究发现在小鼠胃溃疡愈合过程中内源性bFGF起很重要的作用.但有关人胃溃疡愈合过程中内源性bFGF变化研究较少.我们采用免疫组织化学方法检测bFGF在人胃溃疡中的表达情况.结果显示:正常胃黏膜中bFGF呈弱阳性表达,活动期胃溃疡呈阳性表达;在愈合期和瘢痕期均呈强阳性表达.阳性信号主要位于腺体组织、成纤维细胞、细胞外基质、内皮细胞中.bFGF平均积分光密度和面密度值,在胃溃疡各期与正常胃黏膜相比均有显著性差异($P < 0.05$),在胃溃疡

愈合期和瘢痕期与胃溃疡活动期相比有显著性差异($P < 0.05$).从实验结果观察,bFGF存在于正常胃黏膜,在胃溃疡愈合过程中有从弱至强的演变过程,推测可能与溃疡愈合有关.胃黏膜损伤或(和)溃疡可激活编码bFGF及其受体的基因,导致bFGF增加.bFGF增多,可刺激上皮移行、增生,刺激成纤维细胞增生和细胞外基质形成,促进结缔组织形成和新生血管生成^[26,27].瘢痕期bFGF表达较愈合期有所减少,但仍呈高表达状态,二者无显著差别($P > 0.05$),可能与瘢痕期组织结构仍需改造,还需要bFGF的作用.因为高质量的溃疡愈合应有良好的绒毛结构、完整的腺体和丰富的Goblet细胞,即使溃疡面有肉眼观愈合和上皮形成,但如果缺乏腺体结构或绒毛,标志组织学恢复不良^[28,29].故推测bFGF在影响溃疡愈合质量方面起重要的调控作用.一些溃疡愈合不良或难治性溃疡可能存在一些生长因子减少或缺乏^[30].国外学者曾研究认为胃溃疡组织中bFGF表达高于正常胃黏膜^[31].我们的研究更详细地阐明了溃疡愈合过程中内源性bFGF的变化规律,说明bFGF参与了胃溃疡的修复.为bFGF用于临床治疗消化性溃疡提供了一定的理论依据,将为消化性溃疡的治疗开辟一条新途径.

4 参考文献

- Milani S, Calabro A. Role of growth factor and their receptors in gastric ulcer healing. *Microsc Res Tech* 2001;53:360-371
- Szabo S, Vincze A. Growth factors in ulcer healing: lessons from recent studies. *J Physiol Paris* 2000;94:77-81
- Wang JZ, Wu YJ, Rao CM, Gao MT, Li WG. Effect of recombinant human basic fibroblast growth factor on stomach ulcers in rats and mice. *Zhongguo Yaoli Xuebao* 1999;20:763-768
- Ernst H, Konturek PC, Hahn EG, Stosiek HP, Brzozowski T, Konturek SJ. Effect of local injection with basic fibroblast growth factor (bFGF) and neutralizing antibody to bFGF on gastric ulcer healing, gastric secretion, angiogenesis and gastric blood flow. *J Physiol Pharmacol* 2001;52:377-390
- 许志华, 吕惠政, 邓俊涛, 于万娜, 周建春, 周忠春. 局部注射细胞生长肽并口服法莫替丁治疗消化性溃疡. *世界华人消化杂志* 1999;7:85-86
- 邢峰, 郭宝琛, 付小兵. 生长因子通过调节肠道细胞凋亡来参与肠道的损伤与修复. *世界华人消化杂志* 2002;10:230-233
- Kunimoto BT. Growth factors in wound healing: the next great innovation? *Ostomy Wound Manage* 1999;45:56-64
- Fu XB, Yang YH, Sun TZ, Gu XM, Jiang LX, Sun XQ. Effect of intestinal ischemia-reperfusion on expressions of endogenous basic fibroblast growth factor and transforming growth factor α in lung and its relation with lung repair. *World J Gastroenterol* 2000;6:353-355
- 蒋礼先, 付小兵, 孙同柱, 杨银辉, 顾小曼. 鼠缺血肠癌基因c-jun活化碱性成纤维细胞生长因子受体表达的关系. *世界华人消化杂志* 1999;7:498-500
- 杨银辉, 付小兵, 孙同柱, 蒋礼先, 顾小曼. bFGF对缺血再灌注后肠道内源性bFGF和TGF- β 表达的影响. *世界华人消化杂志* 1999;7:793-794
- Fu XB, Shen ZY, Chen YL, Xie JH, Guo ZR, Zhang ML. Randomised placebo-controlled trial of use of topical recombinant bovine basic fibroblast growth factor for second-degree burns. *The Lancet* 1998;352:1661-1664
- Tarnawski A, Szabo IL, Husain SS, Soreghan B. Regeneration of gastric mucosa during ulcer healing is triggered by growth factors and transduction pathways. *J Physiol Paris* 2001;95:337-344
- Kontrurek PC, Brzozowski T, Kontrek SJ, Ernst H, Drozdowicz D, Pajdo R, Hahn EG. Expression of epidermal growth factor and

- transforming growth factor alpha during ulcer healing Time sequence study: *Scand J Gastroenterol* 1997;32:6-15
- 14 Palomino A, Hernandez-Bernal F, Haedo W, Franco S, Mas JA, Fernandez JA, Soto G, Alonso A, Gonzalez T, Lopez-Saura P. A Multicenter, randomized, double-blind clinical trial examining the effect of oral human recombinant epidermal growth factor on the healing of duodenal ulcers. *Scand J Gastroenterol* 2000;35:1016-1022
- 15 Niki S, Matsubayashi H, Mizoue T, Mizuguchi Y, Sanada J, Takei K, Miwa K, Horibe T, Niido T, Seki T, Kawaguchi M, Saitou T. Study of transforming growth factor alpha expression in duodenal ulcer. *Nippon Shokibyo Gakkai Zasshi* 1999;96:385-391
- 16 Longman RJ, Douthwaite J, Sylvester PA, Poulosom R, Corfield AP, Tomas MG. Coordinated localization of mucins and trefoil peptides in the ulcer associated cell lineage and the gastrointestinal mucosa. *Gut* 2000;47:792-800
- 17 Tominaga K, Arakawa T, Kim S, Iwao H, Kobayashi K. Increased expression of transforming growth factor -beta during gastric ulcer healing in rats. *Dig Dis Sci* 1997;42:616-625
- 18 Hori K, Shiota G, Kawasaki H. Expression of HGF and c-met receptor in gastric mucosa during ulcer healing. *Scand J Gastroenterol* 2000;35:23-31
- 19 Kinoshita Y, Kishi K, Asahara M, Matasushima Y, Wang HY, Miyazawa K, Kitamura N, Chiba T. Production and activation of hepatocyte growth factor during the healing of rat gastric ulcers. *Digestion* 1997;58:225-231
- 20 Szabo S, Vincze A, Sandor Z, Judas M, Gombos Z, Pedram A, Levin E, Hagar J, Iaquinto G. Vascular approach to gastroduodenal ulceration new studies with endothelins and VEGF. *Dig Dis Sci* 1998;43(Suppl 9):40S-45S
- 21 Takahashi M, Kawabe T, Ogura K, Maeda S, Mikami Y, Kaneko N, Terano A, Omata M. Expression of vascular Endothelial Growth Factor at the human gastric ulcer margin and in cultured gastric fibroblasts: a new angiogenic factor for gastric ulcer healing. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;234:493-498
- 22 Jones MK, Kawanaka H, Baatar D, Szabo IL, Tsugawa K, Pai R, Koh GY, Kim I, Sarfeh IJ, Tarnaski AS. Gene therapy for gastric ulcers with single local injection of naked DNA encoding VEGF and angiopoietin-1. *Gastroenterology* 2001;121:1040-1047
- 23 陈宝雯, 王洪涛, 刘正新, 贾博琦, 马清钧. 外源性表皮生长因子治疗大鼠慢性胃溃疡对原癌基因表达的影响. *世界华人消化杂志* 1999;7:504-506
- 24 胡义亭, 甄承恩, 邢国章, 张曼利, 张建新, 王鼎鑫, 卢亚敏. 消化性溃疡患者转化生长因子 α 、表皮生长因子和前列腺素 E2 的关系. *世界华人消化杂志* 2002;10:43-47
- 25 Satoh H, Shino A, Sato F, Asano S, Murakami I, Inatomi N, Nagaya H, Kato K, Szabo S, Folkman J. Role of endogenous basic fibroblast growth factor in the healing of gastric ulcers in rats. *Jpn J Pharmacol* 1997;73:59-71
- 26 Jones MK, Tomikawa M, Mohajer B, Tarnawski AS. Gastrointestinal mucosal regeneration: role of growth factor. *Front Biosci* 1999;15:D303-309
- 27 Akiba Y, Nakamura M, Oda M, Kimura H, Miura S, Tsuchiya M, Ishii H. Basic fibroblast growth factor increases constitutive nitric oxide synthase during healing of rat gastric ulcers. *J Clin Gastroenterol* 1997;25(Suppl):S122-128
- 28 易超文, 李晓冬, 易粹琼. 消化性溃疡愈合的动力学及影响因素. *华人消化杂志* 1998;6:1007-1009
- 29 余善强, 周福生, 崔琦珍, 王建华. 溃疡愈合质量研究进展. *华人消化杂志* 1998;6:1010-1011
- 30 Shih SC, Chien CL, Tseng KW, Lin SC, Kao CR. Immunohistochemical studies of transforming growth factor-beta and its receptors in the gastric mucosa of patients with refractory gastric ulcer. *J Formos Med Assoc* 1999;98:613-620
- 31 Hull MA, Brough JL, Powe DG, Carter GI, Jenkins D, Hawkey CJ. Expression of basic fibroblast growth factor in intact and ulcerated human gastric mucosa. *Gut* 1998;43:525-536

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2003 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

美国国立医学图书馆 2002 年度收录中国医学期刊名单

(2002-07-19)

本刊讯 美国《医学索引 (Index Medicus /MEDLINE, IM) 是世界上公认的重要的医学检索工具, 由世界上最大的医学信息中心 - 美国国立医学图书馆 (National Library of Medicine, NLM) 编辑出版. 2002 年度美国国立医学图书馆收录我国医学期刊 58 种, 分别为法医学杂志 (中), 湖南医科大学学报 (中), 华西口腔医学杂志 (中), 华西医科大学学报 (中) 环境科学 (中), 临床耳鼻咽喉科杂志 (中), 色谱 (中), 生理科学进展 (中), 生理学报 (中) 生物工程学报 (中), 生物化学与生物物理学报 (中), 生物医学工程学报 (中) 实验生物学报 (中), **世界胃肠病学杂志 (英)**, 同济医科大学学报 (英), 微生物学报 (中) 卫生研究 (中), 细胞研究 (英), 香港医学杂志 (英) 亚洲男科学杂志 (英文版), 亚洲太平洋公共健康杂志 (英), 眼科学报 (中), 药学学报 (中), 遗传学报 (中), 应用生态学报 (中) 中国寄生虫学与寄生虫病杂志 (中), 中国科学 (C 辑) (英), 中国修复重建外科杂志 (中) 中国药理学报 (英), 中国医疗器械杂志 (中), 中国医学科学院学报 (英), 中国医学科学院学报 (中), 中国应用生理学杂志 (中), 中国中西医结合杂志 (中), 中国中药杂志 (中) 中华病理学杂志 (中), 中华创伤杂志 (英), 中华妇产科杂志 (中), 中华肝脏病杂志 (中) 中华结核和呼吸杂志 (中), 中华口腔医学杂志 (中), 中华内科杂志 (中), 中华烧伤杂志 (中), 中华实验和临床病毒学杂志 (中), 中华外科杂志 (中), 中华血液学杂志 (中), 中华眼科学杂志 (中), 中华医学遗传学杂志 (中), 中华医学杂志 (英), 中华医学杂志 (中), 中华预防医学杂志 (中), 中华整形烧伤外科杂志 (中), 中药材 (中), 中医杂志 (英).

(世界胃肠病学杂志社 2002-10-18)