

清热化湿方对 MNU 联合幽门螺杆菌感染 相关胃癌细胞中 CD14、NF- κ B 及 IL-6 表达的影响

黄李冰雪¹ 张涛² 钟婵¹ 刘畅² 孙艳珍² 黄晓燕³ 陈远能^{2*}

(1. 广西中医药大学 广西南宁 530000; 2. 广西中医药大学附属瑞康医院 广西南宁 530000;
3. 广西中医药大学第一附属医院 广西南宁 530000)

摘要:目的 观察清热化湿方对 N-甲基-N-亚硝基脲(MNU)联合幽门螺杆菌感染相关胃癌组织中 CD14、NF- κ B 及 IL-6 表达的影响,探讨清热化湿方防治胃癌可能的机制。方法 取 90 只雄性 5 周龄 BALB/c 小鼠,随机分为正常组、模型组、清热化湿方治疗组(低、中、高剂量组)、对照组共 6 组,每组 15 只。除正常组外,其余各组采用 MNU 联合幽门螺杆菌灌胃法制备胃癌模型。幽门螺杆菌定植成功后,低、中、高剂量组分别予低、中、高剂量清热化湿方药液灌胃,对照组予西药灌胃,正常组及模型组予等剂量蒸馏水灌胃。给药至第 38 周末后取材,采用透射电镜观察小鼠胃黏膜组织病理学变化及超微结构改变;Western blot 和 Real-time PCR 分别检测胃黏膜 CD14、NF- κ B、IL-6 蛋白及 mRNA 的表达,ELISA 测定其表达量。结果 模型组镜下见正常黏膜局部脱落,纤维组织增生,炎性细胞浸润,不规则异型腺体增生,呈中分化腺癌改变。治疗组见不同程度黏膜上皮细胞排列不整、缺失,呈散在溃疡改变,少许炎性细胞浸润,未见异型细胞。模型组 CD14、NF- κ B 蛋白及 mRNA 的表达上升,治疗组表达下降($P < 0.05$),而各组间 IL-6 蛋白及 mRNA 的表达差异无统计学意义($P > 0.05$);模型组 CD14、NF- κ B、IL-6 的含量表达上升,治疗组表达下降($P < 0.05$)。结论 清热化湿方可能通过下调 CD14、NF- κ B 的表达以达到防治幽门螺杆菌感染相关胃癌的作用。

关键词:清热化湿方; 胃癌; 幽门螺杆菌; CD14; NF- κ B

DOI 标识: doi: 10.3969/j.issn.1008-0805.2019.05.009

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1008-0805(2019)05-1053-05

胃癌(gastric cancer, GC)是世界范围内第三大癌症死亡相关原因^[1],也是我国最常见的消化道恶性肿瘤之一。胃癌是胃癌前病变(gastric cancer precursor lesions, GCPLs) Correa's 级联反应的产物^[2]:以非萎缩性炎症开始,逐渐发展为慢性萎缩性胃炎(CAG)、完全性和不完全性肠上皮化生(IM)、异型增生,最终形成胃癌。其中,幽门螺杆菌(helicobacter pylori, H. pylori)感染是这一过程的主要启动因子。幽门螺杆菌作为 I 类致癌因子早已被大家所共识,但其所致胃癌发生的分子机制仍不明确,可能与其感染诱发的慢性炎症破坏宿主免疫为胃癌的发生提供了合适的微环境有关。近年来,有关 CD14 与胃肠道肿瘤的研究明显增加。有研究数据证实^[3],CD14 在幽门螺杆菌感染相关胃癌细胞中呈阳性表达。胃癌细胞分化程度越差,临床分期越高,CD14 表达阳性率越高。CD14 过表达的胃癌细胞可上调 NF- κ B 介导的炎症反应^[4],激活 NF- κ B 通路,促进下游相关细胞因子如 IL-6 的表达。课题前期离体实验已发现,清热化湿方可能通过抑制 CD14 过度活化发挥防治胃癌的效用^[5,6]。本实验拟通过在体研究清热化湿方对幽门螺杆菌感染相关胃癌组织中 CD14、NF- κ B、IL-6 表达的影响,深入探讨清热化湿方防治胃癌的可能机制,旨在为清热化湿方治疗幽门螺杆菌感染相关胃癌提供参考依据。

1 材料与仪器

1.1 动物及细胞株 SPF 级雄性 BALB/c 小鼠 90 只,购自湖南斯

莱克景达实验动物有限公司,动物许可证号: SCXK(湘)2001-0003,动物合格证号: 0060892。动物饲养于广西中医药大学实验动物中心,使用许可证编号: SCXK(桂)2010-0001。幽门螺杆菌悉尼菌株 SS1 系南昌大学第一附属医院消化病重点实验室惠赠。

1.2 试剂与仪器 内参抗体: GADPH(36 KDa),哥伦比亚血琼脂基础(货号 CM911)、无菌脱纤维绵羊血(北京索莱宝科技有限公司,产地:北京),N-甲基-N-亚硝基脲(MNU):美国 sigma 公司(货号 N136701),10%中性福尔马林固定液,2.5%戊二醛,二甲苯,10%中性甲醛,苏木素,伊红,BCA 蛋白定量试剂盒(北京华肽先锋生物科技有限公司),一次性 RNA 提取试剂盒。RM2135 Leica 切片机(德国)、倒置光学显微镜(日本 OLYMPUS CKX41, U-CTR30-2)、离心机,细菌计数板,真空镀膜机,临界点干燥仪等。

1.3 药物 清热化湿方组成:藿香 6 g,川厚朴 3 g,姜半夏 4.5 g,淡豆豉 9 g,泽泻 4.5 g,黄连 12 g,栀子 12 g,赤茯苓 9 g,杏仁 9 g,生薏苡仁 12 g,白豆蔻 1.8 g,猪茯苓 4.5 g。用蒸馏水煎成清热化湿方药液,浓缩配制成 1g 原生药/1ml 的药液,过滤分装于 4℃ 冰箱保存。对照组灌胃药组组成:兰索拉唑肠溶胶囊(批号: H20065186,生产厂家:扬子江药业集团有限公司,15mg),阿莫西林胶囊(批号: H44021351,生产厂家:珠海联邦制药有限公司,250mg),克拉霉素(批号: H20031041,生产厂家:江苏恒瑞医药有限公司,500mg)。

2 方法

2.1 模型制备 将 90 只雄性 5 周龄 BALB/c 小鼠,适应性室温喂养 1 周后,随机分为正常组、模型组、治疗组(中药低、中、高组)、对照组共 6 组,每组 15 只。除正常组外,其余各组根据文献^[7]报道的方法制备小鼠胃癌模型:将 Hp-SS1 菌株接种于 7% 琼脂羊培养基,密封于厌氧培养罐并置于 37℃ 细菌培养箱培

收稿日期: 2018-10-18; 修订日期: 2019-02-20

基金项目: 国家自然科学基金(81360531);

广西一流学科建设重点项目(2018XK81)

作者简介: 黄李冰雪(1992-),女(汉族),湖北荆州人,广西中医药大学在读硕士研究生,主要从事消化系统疾病诊治工作。

* 通讯作者简介: 陈远能(1964-),男(汉族),广西平南人,广西中医药大学附属瑞康医院主任医师,教授,博士学位,主要从事消化系统疾病诊治的研究工作。

养 48h 后,用接种环将细菌刮下,溶于布氏肉汤,制成 *H. pylori* 菌液;将制备好的 *H. pylori* 菌液按 CFU = 10⁹/ml 给小鼠灌胃,隔天 1 次,循环 5 次;将 MNU 溶于纯水中,使其配比为 5mg: 3ml。除正常组同步饲养外,其余各组均分别予 0.3ml 灌胃,每周 1 次,持续 10 周;同时记录各组小鼠死亡、体重、毛发、耗食量、活动等情况。

2.2 分组干预 幽门螺杆菌定植成功后,对照组利用西药灌胃:兰索拉唑肠溶胶囊每次 2 粒(30mg),每日 1 次;克拉霉素每次 1 粒(0.5g),每日 2 次;阿莫西林每次 4 粒(1.0g),每日 2 次;按成人用药的 6 倍给药。中药低、中、高剂量组分别给予低、中、高剂量清热化湿方药液灌胃;正常组及模型组予等剂量蒸馏水灌胃,各组每天给药 1 次,连续至第 38 周末。

2.3 标本采集 将全部小鼠于第 38 周末脱椎处死,迅速剖取食管末端至十二指肠球部之间全部胃组织。沿胃大弯将胃剪开,用 0.9% 生理盐水冲洗,剪取 1/2 的胃组织做快速尿素酶试验;其余 1/2 的胃组织冲洗干净,选择病变明显处的胃组织,剪切后迅速置于液氮、10% 中性甲醛和电镜固定液中备用。

2.4 指标检测

2.4.1 胃黏膜组织病理变化观察 取 10% 中性福尔马林固定液固定好的小鼠胃,切取病灶,流水冲洗干净后放入生物脱水机进行逐级脱水、透明、石蜡浸泡、包埋切片 4μm,常规 HE 染色及封片,光镜下观察胃黏膜组织炎症和癌变情况。

2.4.2 胃黏膜组织超微结构变化 用电镜固定液固定小鼠胃组织,常规进行脱水、浸透、包埋、超薄切片、醋酸铀染色和透射电镜观察超微结构的变化。

2.4.3 幽门螺杆菌感染的检测 采用快速尿素酶试验(小鼠处死后取胃黏膜,在液体快速尿素酶试剂中 3min 内指示剂变红为阳性)及改良 Giemsa 染色(黏膜组织通过固定、包埋、脱水、切片、Giemsa 染色、自来水冲洗 2~3min、晾干)进行 *H. pylori* 感染检测。

2.4.4 胃黏膜组织 CD14、NF-κB 及 IL-6 蛋白表达的检测 采用 Western blot 技术检测胃癌组织 CD14、NF-κB 及 IL-6 蛋白的表达。将 GAPDH 作为内参,以目的基因与 GAPDH 蛋白的比值作为目的基因的相对表达量,采用凝胶成像系统扫描,以特异性条带浓度与面积乘积作为有效值,以此反映蛋白表达水平(具体过程:制备蛋白、SDS-PAGE 凝胶电泳、转膜、封闭、抗原抗体反应、显色、检测分析)。

2.4.5 胃黏膜组织 CD14、NF-κB 及 IL-6 mRNA 表达的检测 采用荧光定量 PCR 法(Real-time PCR)检测胃癌组织 CD14、NF-κB 及 IL-6 mRNA 的表达,以 β-actin 为内参照,严格按照试剂说明书操作步骤进行操作,以目的基因与 β-actin mRNA 比值作为目的基因的相对表达量。CD14、NF-κB 及 IL-6 引物序列见表 1。

表 1 目的基因及内参基因的引物序列 bp

基因名称	引物序列	扩增片段长度(bp)
Mus-CD14-F	AATTGGTCGAACAAGCCCGT	131
Mus-CD14-R	ACAGGCTCCATGCTCGGTA	
Mus-NF-κB-F	CCACAAGGGGACATGAAGCA	198
Mus-NF-κB-R	GATGTTACCCCCAGAGACCT	
Mus-IL6-F	TGACTCCAGCTTATCTCTTGTTG	245
Mus-IL6-R	ACAGAAGCATGATCCCGGA	
Mus-β-actin-F	GAGACCTTCAACACCCAGC	
Mus-β-actin-R	ATGTCACGCACGATTCCC	263

2.4.6 胃黏膜组织 CD14、NF-κB 及 IL-6 含量的检测 取适量小鼠胃组织块,称重后,加入 5~10ml 预冷 PBS 并在冰上进行充分研磨后利用超声破碎进一步处理,最后将制备好的匀浆液于 5000 × g 离心 5min,留取上清待测。采用酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测胃癌组织 CD14、NF-κB 及 IL-6 的表达含量,严格按照 ELISA 试剂盒步骤进行操作,酶标仪测定波长 450nm 处 OD 值。

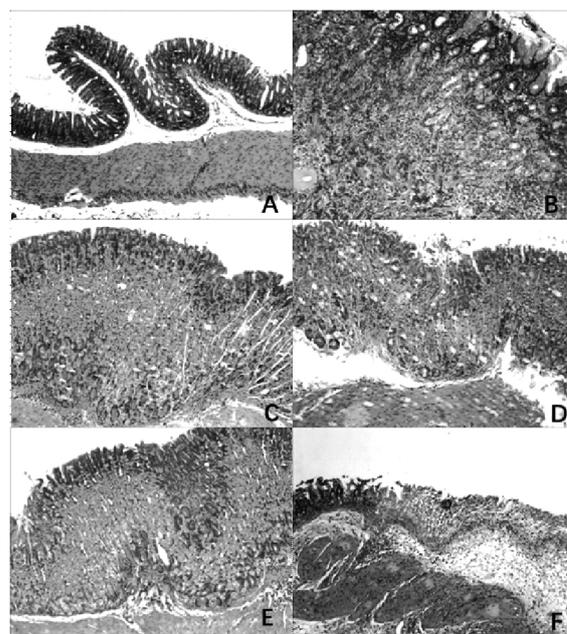
2.5 统计学分析 用 SPSS 24.0 软件进行统计学分析,计量资料符合正态分布,用 $\bar{x} \pm s$ 表示,利用 *F* 检验进行统计学分析;计数资料采用秩和检验。

3 结果

3.1 各组小鼠的一般情况 正常组正常饮食、大小便,无死亡。模型组:第 13 周开始,部分小鼠出现食量减少、毛发稀疏、嗜睡、疲乏、拱背、互咬尾巴等现象,死亡 4 只。中药低、中、高剂量治疗组及西药对照组各有 2 只小鼠死亡。经解剖发现,部分小鼠腹腔脏器穿孔、粘连及局部肝脏黑变。

3.2 各组小鼠胃黏膜组织病理学变化及幽门螺杆菌感染变化

3.2.1 病理学变化 正常组:黏膜完整,各层结构清晰,未见炎症细胞浸润及上皮异型增生(图 1-A);模型组:正常黏膜局部脱失,纤维组织增生,较多炎症细胞浸润,内见不规则异型腺体增生,符合中分化腺癌改变(图 1-B)。中药低、中、高剂量组:黏膜上皮排列不整,见部分上皮细胞缺失,呈散在溃疡改变,少许炎症细胞浸润,未见异型细胞(图 1-C、D、E)。对照组:黏膜上皮细胞缺失,炎症细胞浸润,符合溃疡改变,少许细胞呈异型增生(图 1-F)。

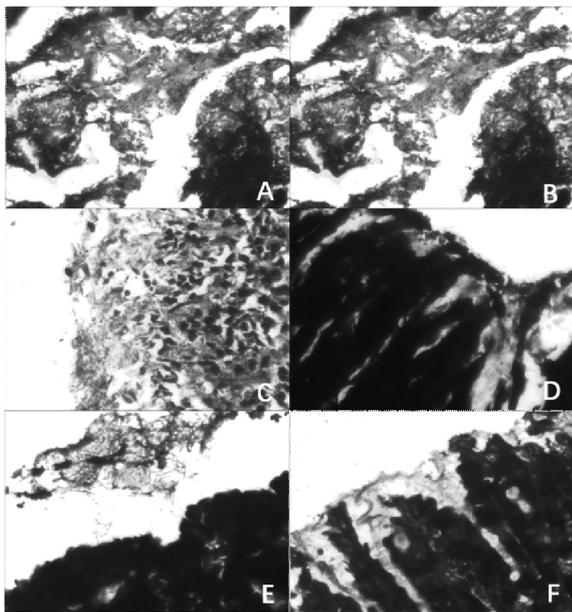


A - 正常组; B - 模型组; C - 中药低剂量组; D - 中药中剂量组; E - 中药高剂量组; F - 对照组

图 1 小鼠胃黏膜组织病理学变化(50 ×)

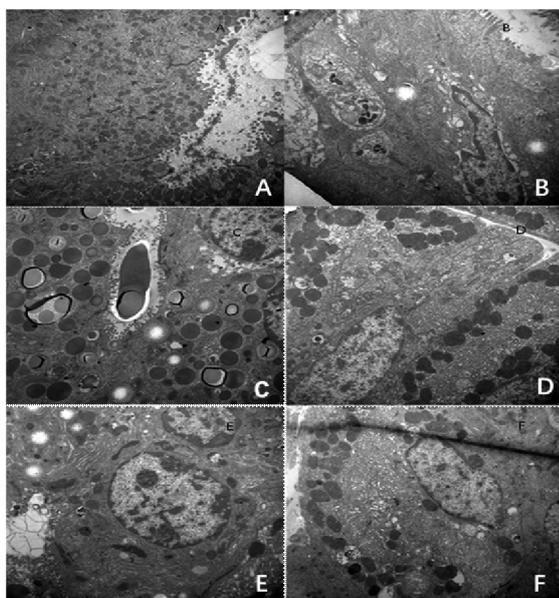
3.2.2 吉姆萨染色检测各组小鼠幽门螺杆菌感染变化 光镜下:胃黏膜细胞核呈蓝色或紫色,胞浆呈粉红色,幽门螺杆菌呈平滑的淡蓝色至蓝色,弯曲状或弧形,主要分布在胃黏膜及胃小凹表面,呈单个散在、片灶状或成团聚集。组织背景清晰,胃黏膜病变易见。见图 2。

3.3 各组小鼠胃黏膜组织超微结构变化 正常组:胃上皮细胞表面见黏液细胞和柱状上皮细胞,游离面见短小微绒毛,腺腔内依次可见紧密连接、桥粒连接和间隙连接(图3-A)。模型组:细胞间隙连接结构破坏严重,癌细胞散在间质内,染色质周颗粒或染色质间颗粒密集增多,核仁边集呈环形;内质网及高尔基体复合体不发达(图3-B)。中药低、中、高剂量组:细胞间隙连接结构破坏,间隙增宽,上皮细胞游离面微绒毛脱落;分化较差的上皮细胞和肠化生细胞核质比>1,分叶核增多,核仁边集,见少许凋亡小体(图3-C、D、E)。



A - 正常组; B - 模型组; C - 中药低剂量组;
D - 中药中剂量组; E - 中药高剂量组; F - 对照组

图2 吉姆萨染色检测各组小鼠幽门螺杆菌感染变化(12 000 ×)



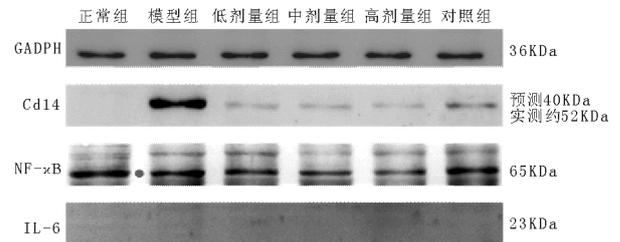
A - 正常组; B - 模型组; C - 中药低剂量组;
D - 中药中剂量组; E - 中药高剂量组; F - 对照组

图3 电镜下小鼠胃黏膜超微结构变化(12 000 ×)

3.4 各组小鼠胃黏膜 CD14、NF-κB 及 IL-6 蛋白表达 Western blot 检测结果显示,模型组 CD14、NF-κB 蛋白表达量上升,

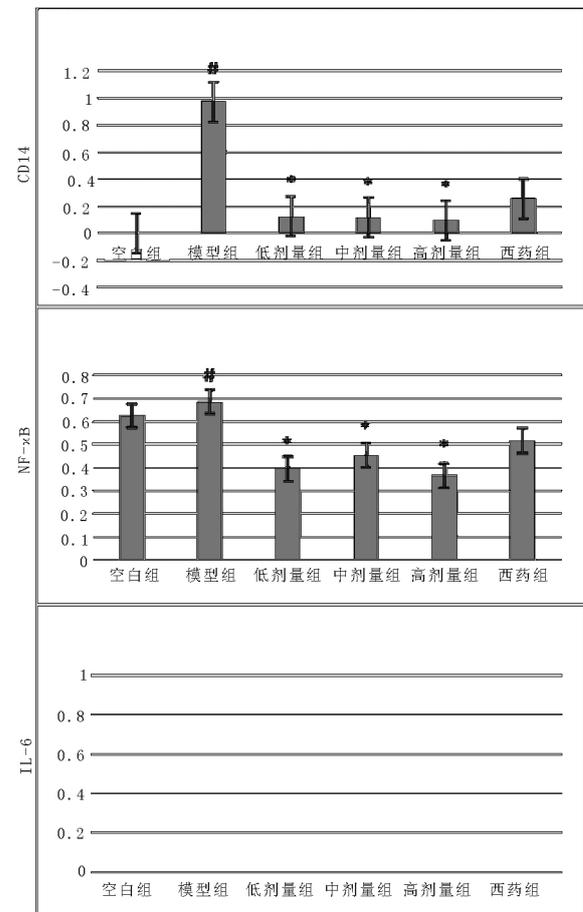
低、中、高剂量组 CD14、NF-κB 蛋白表达量较模型组下降($P < 0.05$); IL-6 蛋白表达量过低,各组显影均无表达($P > 0.05$)。见图4~5。

3.5 各组小鼠胃黏膜 CD14、NF-κB、IL-6 mRNA 表达 Real-time PCR 检测结果提示,模型组 CD14、NF-κB mRNA 的表达上升,低、中、高剂量组表达下降($P < 0.05$); 而 IL-6 各组均未见明显表达,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图6。



SDS-PAGE 分离胶浓度 12%, 上样量: 蛋白 15 μg、marker: 5 μl;
上样顺序: 正常组(空白组)→模型组→
低剂量组→中剂量组→高剂量组→对照组

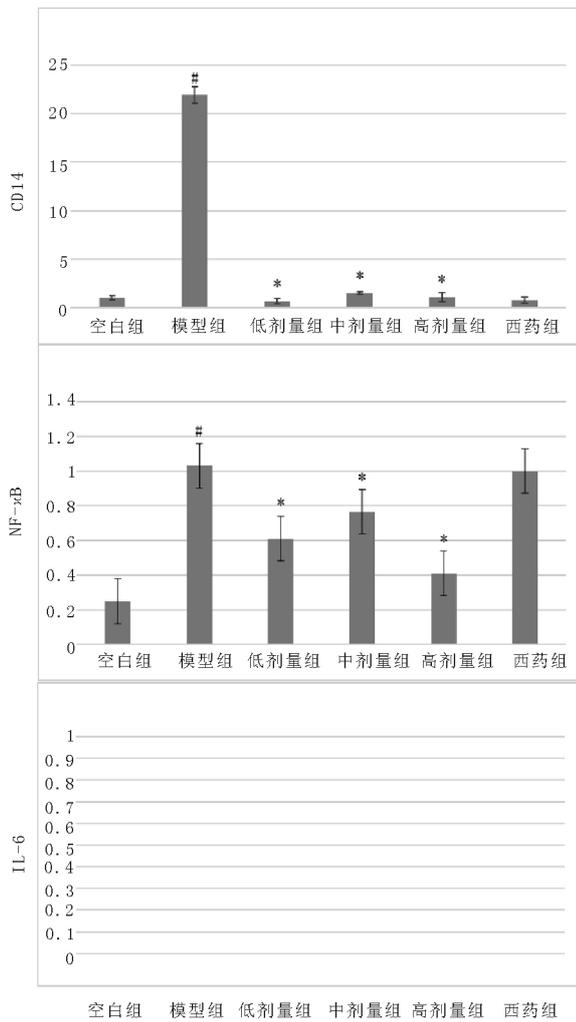
图4 各组小鼠胃黏膜 CD14、NF-κB、IL-6 蛋白表达



与空白组比较, # $P < 0.05$ 差异有统计学意义;
与模型组比较, * $P < 0.05$ 差异有统计学意义

图5 各组小鼠胃黏膜 CD14、NF-κB、IL-6 蛋白相对表达量的比较

3.6 各组小鼠胃黏膜 CD14、NF-κB、IL-6 含量的表达 与正常组比较,模型组 CD14、NF-κB、IL-6 表达上调($P < 0.05$); 低、中、高剂量组 CD14、NF-κB、IL-6 表达较模型组下降($P < 0.05$)。见图7。



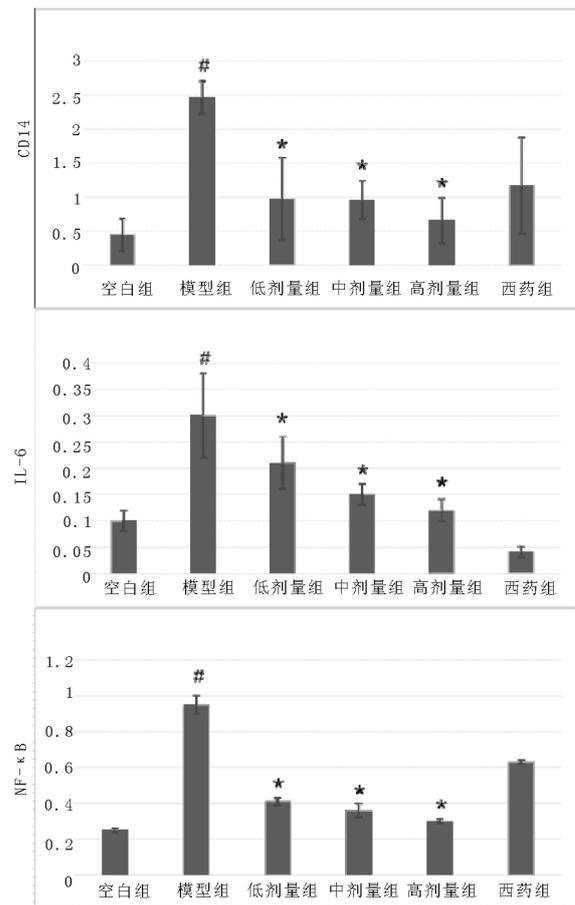
IL-6 在胃癌组织中表达量太低 检测不出
与空白组比较, # $P < 0.05$ 差异有统计学意义;
与模型组比较, * $P < 0.05$ 差异有统计学意义

图6 各组小鼠胃黏膜 CD14、NF-κB、IL-6mRNA 相对表达量的比较

4 讨论

中医学上对于胃癌有较早的认识,其在历代中医文献里并没有确切的病名,只有对其相关症状的描述,例如食癯、伏梁、心腹积等。胃癌病位在胃,涉及脾、肝,主要是因情志内伤、饮食不节、损伤脾胃所致,进而正气内虚、血滞成瘀、日渐成积;最后形成本虚标本,气滞、痰瘀湿毒为标。现代医学认为幽门螺杆菌感染是胃癌发生的高危因素^[8]。幽门螺杆菌属中医“浊毒、邪气”范畴,其在中医脾胃湿热证型中感染率最高^[9],认为幽门螺杆菌是湿热浊毒的一种。脾胃虚弱是幽门螺杆菌感染的前提,幽门螺杆菌感染可损伤脾胃,进一步加重脾胃虚弱^[10]。现代药理学研究证实,黄连、黄芩、大黄对幽门螺杆菌具有明显的抑制作用^[11]。故课题组将清热化湿方应用于幽门螺杆菌感染相关胃癌的治疗,其疗效显著。全方由藿香、川厚朴、姜半夏、淡豆豉、泽泻、黄连、栀子、赤茯苓、杏仁、生薏苡仁、白豆蔻和猪茯苓 12 味药组成,共奏芳香化湿、燥湿化痰、清热解暑之效。前期在广西自然科学基金指导下,发现 CD14 启动子区的多态性与胃癌易感性密切相关^[12]。CD14 启动区具有多重多态性,其中 CD14-159 C/T 多态性^[13]和 CD14-260C/T 多态性^[14]已被证实可增加幽门螺杆菌感染患者

发生胃癌的风险。



与空白组比较, # $P < 0.05$ 差异有统计学意义;
与模型组比较, * $P < 0.05$ 差异有统计学意义

图7 各组小鼠胃黏膜 CD14、NF-κB、IL-6 含量的比较

炎症被称为是恶性肿瘤的第七大生物学特征^[15],其可向肿瘤微环境提供一系列生物活性分子^[16],包括维持细胞增殖的生长因子、抑制细胞凋亡的生存因子、促血管生成因子等,来诱导肿瘤的发生。大量流行病学资料表明,持续幽门螺杆菌感染引起的非可控性炎症与胃癌的发生密切相关。脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)是幽门螺杆菌内毒素的主要成分,可诱导宿主产生免疫应答,促进炎症细胞因子 IL-1β、TNF-α、IL-6、IL-8 等分泌。CD14 作为脂多糖的高亲和力模式识别受体,主要由单核细胞、巨噬细胞及中性粒细胞表达及生成^[17],参与 LPS 的识别和 NF-κB 的转位并介导下游一系列的炎症反应。NF-κB 是天然免疫和炎症的关键调节因子^[18],同时也是重要的内源性肿瘤促进因子。Li 等^[19]报道显示,在 CD14 表达下调的胃癌细胞中,LPS 对胃癌细胞凋亡的抑制作用被阻断,由此推测 LPS 可能通过 CD14-TLR4 及其下游的 NF-κB 信号通路调节胃癌细胞的凋亡。持续的幽门螺杆菌感染后,CD14 与 LPS 结合蛋白(LPB)结合,形成 LPS-LPB-CD14-TLR4-MD2 复合物,激活 NF-κB 信号通路,胃黏膜通过反复的炎症刺激诱导大量炎症细胞因子释放,经过模式识别受体介导的固有免疫或获得性免疫,放大炎症反应,加重组织损伤;在组织修复过程中可能出现 DNA 错配、基因位点突变等,最终导致胃癌发生^[20]。由此我们推测,或许可以通过抑制 CD14 高表达引起的炎症反应来阻碍幽门螺杆菌感染相关胃癌的发生。

本研究结果显示,模型组 CD14、NF- κ B 呈高表达,而低、中、高剂量组表达明显下调,以高剂量组最为显著,且上述变化对应胃黏膜组织病理学改变。但是各组 IL-6 蛋白及 mRNA 的表达比较差异无统计学意义,可能与 IL-6 在胃癌细胞中表达量太低无法检测相关。IL-6 作为肿瘤相关炎症因子,不仅与肿瘤的大小有关,还影响着肿瘤患者的存活率。目前,根据本研究结果,笔者认为清热化湿方可能通过抑制 CD14 表达,阻断了 LPS 下游的信号传递,抵消了 LPS 的激活作用,使得下游炎症转录因子 NF- κ B 表达下调,诱导炎症缓解,促进胃癌细胞凋亡并抑制其增殖,继而起到防治幽门螺杆菌感染相关胃癌的作用,但是关于清热化湿方对 IL-6 的影响有待进一步的研究分析及评价。

参考文献:

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[R]. CA Cancer J Clin 2018, 68(6): 394.
- [2] Companioni O, Bonet C, Garcia N, et al. Genetic variation analysis in a follow-up study of gastric cancer precursor lesions confirms the association of MUC2 variants with the evolution of the lesions and identifies a significant association with NFKB1 and CD14 [J]. Int J Cancer, 2018, 143(11): 2777.
- [3] Li K, Dan Z, Hu X, et al. CD14 overexpression upregulates TNF- α -mediated inflammatory responses and suppresses the malignancy of gastric carcinoma cells[J]. Mol Cell Biochem 2013, 376(1-2): 137.
- [4] Zhou Y, Xia L, Liu Q, et al. Induction of Pro-Inflammatory Response via Activated Macrophage-Mediated NF- κ B and STAT3 Pathways in Gastric Cancer Cells [J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 47(4): 1399.
- [5] 许文彬, 陈远能, 张涛, 等. 清热化湿方调节 PI3K-AKT 信号诱导自噬维持胃黏膜稳态防治幽门螺杆菌感染相关胃癌的机制[J]. 中华中医药学刊 2016, 34(10): 2335.
- [6] 张涛, 黄会云, 陈思羽, 等. 稳定沉默 CD14 胃癌 SGC-7901 细胞系变化及清热化湿类方药干预研究[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(3): 762.
- [7] 孙艳珍, 张涛, 陈良荣, 等. 幽门螺杆菌联合 MNU 灌胃法制备 balb/c 小鼠胃癌模型研究[J]. 重庆医学 2017, 46(20): 2806.
- [8] Plummer M, Franceschi S, Vignat J, et al. Global burden of gastric cancer attributable to Helicobacter pylori [J]. Int J Cancer, 2015, 136(2): 487.
- [9] 赵婕, 赵丽华. 胃热汤治疗幽门螺杆菌阳性慢性萎缩性胃炎疗效观察[J]. 河南中医 2018, 38(3): 431.
- [10] 林秋蓉, 张怡, 陈冠儒, 等. 邪正发病学说与消化性溃疡发病之关联探析[J]. 亚太传统医药 2018, 14(1): 107.
- [11] 史娇. 半夏泻心汤加味治疗幽门螺杆菌相关性胃炎的效果评定[J]. 当代医药论丛 2018, 16(13): 190.
- [12] 平倩, 张涛, 陈玉, 等. CD14 启动子区多态性介导幽门螺杆菌参与胃癌中上皮-间质转化路径的机制研究[J]. 广东医学, 2014, 35(24): 3916.
- [13] Gong AM, Li XY, Xie YQ, et al. Association between CD14 SNP-159 C/T and gastric cancer: an independent case-control study and an updated meta-analysis [J]. Onco Targets Ther 2016, 9: 4337.
- [14] Li K, Dan Z, Hu XJ, et al. Association of CD14/-260 polymorphism with gastric cancer risk in Highland Tibetans [J]. World Gastroenterol, 2014, 20(10): 2688.
- [15] Mantovani A, Allavena P, Sica A. Cancer-related inflammation [J]. Nature 2008, 454(7203): 436.
- [16] Hanahan D. Hallmarks of cancer: the next generation [J]. Cell 2011, 144(5): 646.
- [17] Leung TF, Tang NL, Wong GW. CD14 and toll-like receptors: potential contribution of genetic factors and mechanisms to inflammation and allergy [J]. Curr Drug Targets Inflamm Allergy 2005, 4(2): 169.
- [18] O'Reilly LA, Putoczki TL, Mielke LA, et al. Loss of NF- κ B1 Causes Gastric Cancer with Aberrant Inflammation and Expression of Immune Checkpoint Regulators in a STAT-1-Dependent Manner [J]. Immunity 2018, 48(3): 570.
- [19] Li K, Dan Z, Nie Y, et al. CD14 knockdown reduces lipopolysaccharide-induced cell viability and expression of inflammation-associated genes in gastric cancer cells in vitro and in nude mouse xenografts [J]. Mol Med Rep 2015, 12(3): 4332.
- [20] Li X, Li M, Huang S, et al. The effect of buffalo CD14 shRNA on the gene expression of TLR4 signal pathway in buffalo monocyte/macrophages [J]. Cel Mol Biol Lett 2014, 19(4): 623.