

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.08.004

网络首发 http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20190201.1004.009.html(2019-02-01)

雌激素-ER $\alpha$ -36 信号通路参与胃黏膜肠上皮化生的发生\*桂华伟<sup>1</sup>,王绪明<sup>2</sup>,黄利华<sup>1</sup>,黄莹<sup>2</sup>,陈琼霞<sup>2</sup>,刘丽江<sup>2△</sup>

(1.湖北省武汉市第四医院病理科 430032; 2.病理诊断所组织病理部,湖北武汉,430056)

**[摘要]** **目的** 研究雌激素-ER $\alpha$ -36 信号通路参与胃黏膜肠上皮化生的发生机制。**方法** 构建小鼠胃黏膜肠上皮化生动物模型,构建上调和沉默 ER $\alpha$ -36 表达的 GES-1 细胞重组细胞株,用常规苏木素-伊红(HE)染色,免疫组织化学、Western blot 等方法检测肠上皮化生的发生及相关标志物的表达。**结果** 在雄性小鼠中建立肠上皮化生动物模型的成功率远高于雌性小鼠( $P < 0.05$ ),但与去卵巢雌性小鼠比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );男性肠上皮化生的发生率高于绝经前女性( $P < 0.05$ ),但与绝经后女性比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。本实验发现在人肠上皮化生的胃黏膜组织中高表达新型雌激素受体 ER $\alpha$ -36 及 COX-2,而高表达 ER $\alpha$ -36 的胃黏膜细胞往往高表达肠上皮细胞标志物 COX-2。**结论** 雌激素-ER $\alpha$ -36 信号通路可能与胃黏膜肠上皮化生过程有关,并在其中发挥重要作用。

**[关键词]** 雌激素;ER $\alpha$ -36;肠上皮化生;COX-2**[中图法分类号]** R573**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2019)08-1275-05**Estrogen-ER $\alpha$ -36 signaling pathway involved in the development of intestinal metaplasia in gastric mucosa\***GUI Huawei<sup>1</sup>,WANG Xuming<sup>2</sup>,HUANG Lihua<sup>1</sup>,HUANG Xuan<sup>2</sup>,CHEN Qiongxia<sup>2</sup>,LIU Lijiang<sup>2△</sup>

(1. Department of Pathology, the Forth Hospital of Wuhan city, Wuhan, Hubei 430032, China;

2. Pathological Department of Jiangda Pathological Diagnosis Institute, Wuhan, Hubei 430056, China)

**[Abstract]** **Objective** To study the relationship between estrogen-ER $\alpha$ -36 signaling pathway and intestinal metaplasia in gastric mucosa. **Methods** A mouse model of intestinal metaplasia in gastric mucosa was established, recombinant GES-1 cell line up-regulated or silenced the expression of ER- $\alpha$  36 were constructed. The occurrence of intestinal metaplasia and the expression of related markers were detected by routine HE staining, immunohistochemistry and Western blot. **Results** The success rate of establishing intestinal metaplasia animal model in male mice was much higher than that in female mice ( $P < 0.05$ ), but there was no statistically significant difference when compared with ovariectomized female mice. The incidence of intestinal metaplasia in men was higher than that in premenopausal women, but there was no significant difference between men and women after menopause. In this study, it was found that ER $\alpha$ -36, a novel estrogen receptor, was highly expressed in gastric mucosal cells with intestinal metaplasia, while COX2, a marker of intestinal epithelial cells, was highly expressed in gastric mucosal cells with high expression of ER-36. **Conclusion** Estrogen-ER $\alpha$ -36 signaling pathway plays an important role in gastric mucosal intestinal metaplasia.

**[Key words]** estrogen;ER $\alpha$ -36;intestinal metaplasia;COX-2

胃癌是全球发病率位居第 4 位的恶性肿瘤,而在中国,其发病率常高居第 2 位<sup>[1-2]</sup>。胃癌早期发现率低,一经发现多为进展期。5 年生存率低,病死率高,居恶性肿瘤的第 2 位<sup>[1-2]</sup>。慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)是我国胃癌的主要癌前病变,其肠上皮化生(肠化)是 CAG 的重要病变之一。因此,肠化被认为是肠型胃癌的主要癌前病变<sup>[3]</sup>,但

其发生机制不详。

研究发现,男性与绝经期前女性胃癌发病率之比为 2 : 1,而女性绝经期后,这种差异逐渐消失。因此推测女性体内生理性较高浓度的雌激素可能阻碍或延缓了胃癌的发病<sup>[4-5]</sup>。来自大样本量、多地区的流行病学报道,CAG 的男性患者肠化发生率远高于女性患者,而无幽门螺杆菌(Helicobacter pylori, H. py-

lori)感染的女性患者绝经后 CAG 的发病率逐渐升高且病变加重。肠型胃癌的病变中出现肠化的比例及严重程度,男性往往高于女性。使用抗雌激素药物他莫昔芬可降低伴有肠化的胃炎发生。动物实验发现,雌性动物体内生理性较高浓度雌激素可阻碍 CAG 实验动物模型中肠化的发生、发展<sup>[3,6-11]</sup>。因此,目前认为,肠化确实存在显著的性别差异<sup>[12]</sup>。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** BALB/c 小鼠购于华中科技大学同济医学院实验动物中心,雌性 200 只和雄性 100 只,6~8 周龄,无特定病原体(SPF)级;N-甲基-N-硝基-N-亚硝基胍(MNNG)购自上海润成生物科技有限公司,ER $\alpha$ -36 抗体由美国王兆一教授馈赠(克瑞屯大学,美国内布拉斯加州),GES-1 细胞购自湘雅医学院实验中心,COX-2 抗体(sc-19999)、内参  $\beta$ -actin 抗体(sc-517582)购自 Santa Cruz 公司,相应的辣根酶标记山羊抗兔 IgG(ZB-5301)、辣根酶标记山羊抗小鼠 IgG(ZB-5305)及通用型免疫组织化学 SP 试剂盒(小鼠/兔链霉卵白素-生物素法检测系统,SP-9000)购自北京中杉金桥生物技术有限公司。用于 Western blot 检测的增强化学发光试剂 ECL 和 BCA 蛋白定量试剂盒为上海碧云天生物技术有限公司(上海,中国)产品。聚偏氟乙烯(PVDF)膜购自美国 Millipore 公司。

## 1.2 方法

**1.2.1 BALB/c 小鼠胃黏膜肠化动物模型构建** 雌性小鼠 200 只,雄性小鼠 100 只,6~8 周龄,体质量约 20 g,选取 100 只雌性小鼠按文献介绍的实验方法去除双侧卵巢<sup>[13]</sup>,1 周后待伤口愈合进行正式实验,实验分为 3 组,雌性小鼠 100 只,去除卵巢雌性小鼠 100 只和雄性小鼠 100 只。每组各挑选 10 只作为对照组,仅给予普通食物和饮水,其余 90 只用于建立小鼠胃黏膜肠化动物模型。将 MNNG 溶解于超纯水中做成储存液(储存浓度为 1 g/L)。使用前将储存液用蒸馏水稀释至终浓度 100  $\mu$ g/L。除对照组小鼠外其余组小鼠从铝箔包裹饮水瓶中自由摄取 MNNG 溶液(唯一水源)。同时,给予不规律饮食(第 1 天足够的饲料后第 2 天禁食,交替进行)。在 10 周后,处死解剖全部小鼠,通过镜下观察胃黏膜组织学变化(显微镜下观察是否出现杯状细胞及出现比例)以验证是否成功建成小鼠胃黏膜肠化动物模型。所有动物实验都经江汉大学医学伦理学委员会批准。

**1.2.2 慢性胃炎人体组织标本中肠化发生率检测** 收集分析江大病理诊断所和湖北省武汉市第四医院 2010 年 1 月至 2016 年 12 月所有慢性胃炎活检标本共计 5 326 例,其中男 3 084 例,女 2 242 例。所有标

本收集后,用 10% 的中性甲醛固定后,常规石蜡包埋,切片、制片、苏木素-伊红(HE)染色后,经两个中级职称及以上的病理专科医生复片并对肠化程度分级(直径少于 1/3 腺体出现肠化为 1 级轻度,1/3~2/3 腺体出现肠化为 2 级中度,>2/3 腺体出现肠化为 3 级重度)。因为围绝经期(45~55 岁)的雌激素变化情况比较复杂,所以去除围绝经期女性和相应年龄的男性患者,仅仅研究未绝经和完全绝经的女性患者。所有人体组织标本的获取都经江汉大学医学伦理学委员会批准且患者知情同意。

**1.2.3 免疫组织化学检测** 免疫组织化学检测严格按照通用 SP 试剂盒说明书进行操作,石蜡包埋切片常规脱蜡至水,经过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)孵育 10 min 去除内源性过氧化物酶活性,柠檬酸钠缓冲液进行抗原修复,然后 10% 胎牛血清室温封闭 10 min,一抗 37  $^{\circ}$ C 孵育 2 h,二抗 37  $^{\circ}$ C 孵育 30 min,最终用 DAB 显色,苏木素复染,脱水、透明、封片。

**1.2.4 Western blot 实验** 收集慢性胃炎人体组织冰冻材料标本(伴有肠化和不伴肠化各 15 例),用液氮研磨方法收集蛋白,进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),电泳后湿转至 PVDF 膜,含 5% 脱脂奶粉的 TBST(含 0.1% Tween-20 的 TBS) 37  $^{\circ}$ C 封闭 60 min,一抗 ER $\alpha$ -36、CDX-2、 $\beta$ -actin 抗体 4  $^{\circ}$ C 孵育过夜。TBST 漂洗 3 次,每次 5 min,加入相应的辣根过氧化物酶标记的羊抗小鼠或羊抗兔 IgG,37  $^{\circ}$ C 孵育 60 min。TBST 漂洗 5 min  $\times$  3 次, ECL 化学发光试剂检测。

**1.2.5 细胞转染和不同浓度雌激素联合 MNNG 对 GES-1 细胞中 ER $\alpha$ -36 和 COX-2 表达的影响** ER $\alpha$ -36 表达质粒和 siRNA 干扰质粒由王兆一教授馈赠,本实验室保存。细胞转染按照 LipoFiter™ Liposomal Transfection Reagent 试剂盒说明书操作步骤进行转染。1  $\times$  10<sup>6</sup> 个 GES-1 细胞被接种于 10 cm 直径的培养皿中过夜,24 h 后换新鲜培养基。按照说明书要求,将 4.6  $\mu$ g 的 ER $\alpha$ -36 表达质粒(过表达组)或 siRNA 干扰质粒(干扰组)分别混合于 4.8  $\mu$ L LipoFiter™ Liposomal Transfection Reagent 转染试剂,分别转染细胞。转染 6 h 后换新的不含转染试剂的培养基,接着培养 48 h 后,用于实验。细胞分别用 20  $\mu$ mol/L 的 MNNG、0.1 nmol/L(生理性低浓度)的雌二醇(E<sub>2</sub>)、5  $\mu$ mol/L(药理性高浓度)的 E<sub>2</sub>、20  $\mu$ mol/L 的 MNNG 联合 0.1 nmol/L 的 E<sub>2</sub>、20  $\mu$ mol/L 的 MNNG 联合 5  $\mu$ mol/L 的 E<sub>2</sub> 处理 24 h 后,用 Western blot 方法检测 ER $\alpha$ -36 及 COX-2 的表达。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS10.0 软件分析数据,

正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用  $t$  检验, 多组间比较采用方差分析。计数资料比较采用  $\chi^2$  检验, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 BALB/c 小鼠胃黏膜肠化动物模型构建** 实验结果显示, 建模 10 周时, 雄性小鼠和去卵巢雌性小鼠中, 肠化的发生率明显高于雌性小鼠, 见表 1。雄性对照组, 去卵巢雌性小鼠对照组和雌性对照组小鼠均未出现肠化现象。

表 1 小鼠胃黏膜肠化动物模型出现肠化的性别差异 (n)

组别	n	无	轻度	中度	重度	$\chi^2$	P
雌性小鼠	90	44	25	17	4	73.25 <sup>a</sup>	<0.01 <sup>a</sup>
雄性小鼠	90	3	15	30	42	58.66 <sup>b</sup>	<0.01 <sup>b</sup>
去卵巢雌性小鼠	90	10	12	27	41	4.27 <sup>c</sup>	0.23 <sup>c</sup>

$\chi^2$ 、P 值为肠化发生率比较所得; <sup>a</sup>: 雌性小鼠 vs. 雄性小鼠; <sup>b</sup>: 雌性小鼠 vs. 去卵巢雌性小鼠; <sup>c</sup>: 雄性小鼠 vs. 去卵巢雌性小鼠

**2.2 不同性别肠化的发生率** 人体慢性胃炎组织材料中, 男性与女性相比, 男性肠化的发生率和严重程度高于绝经前的女性, 但是与绝经以后的女性差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 2。

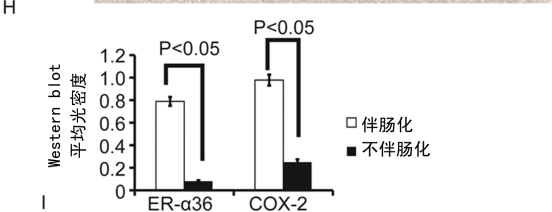
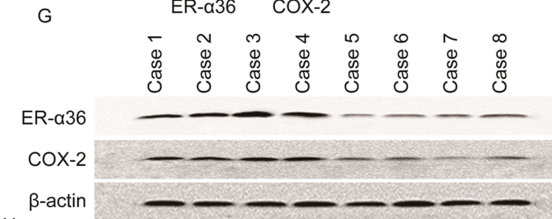
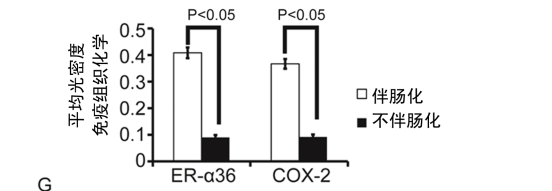
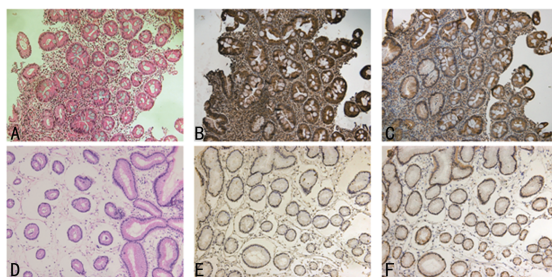
表 2 慢性胃炎人体组织出现肠化的性别差异及绝经影响

性别	<45 岁 (n)	>55 岁 (n)	$\chi^2$	P
男	404	1 576	21.8	<0.01
女	220	1 320		

**2.3 人体组织标本免疫组织化学检测结果** 收集来源于江大病理诊断所和湖北省武汉市第四医院的伴有重度肠化的慢性胃炎样本和不伴有肠化的慢性胃炎新鲜人体组织样本各 20 例, 用免疫组织化学的方法检测胃黏膜腺体中 ER $\alpha$ -36 和 COX-2 的表达, ER $\alpha$ -36、COX-2 阳性表达主要定位于胃黏膜细胞的细胞膜和细胞质。用 Image-pro plus 6.0 软件分析阳性表达区的平均光密度。结果显示, 伴有肠化的慢性胃炎样本, ER $\alpha$ -36 和 COX-2 的表达均明显高于不伴有肠化的慢性胃炎样本, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见图 1A~G。

**2.4 人体新鲜胃炎组织样本 Western blot 实验检测结果** 收集来源于江大病理诊断所的人体新鲜胃炎组织样本, 其中包括伴有重度肠化的慢性胃炎标本和不伴有肠化的慢性胃炎人体组织样本各 15 例。用液氮研磨加上 RIPA 裂解液按照说明书方法提取组织蛋白后, 加入蛋白酶抑制剂后放入 -80 °C 冰箱保存。伴有重度肠化的慢性胃炎样本中 ER $\alpha$ -36 和 COX-2

的表达均高于不伴有肠化的胃炎样本, 其差异有统计学意义 (均  $P < 0.05$ )。见图 1H~I。



A: 伴有肠化的慢性胃炎 HE 染色 ( $\times 200$ ); B: 伴有肠化的慢性胃炎高表达 ER $\alpha$ -36 ( $\times 200$ ); C: 伴有肠化的慢性胃炎高表达 COX-2 ( $\times 200$ ); D: 不伴有肠化的慢性胃炎 HE 染色 ( $\times 200$ ); E: 不伴有肠化的慢性胃炎低表达 ER $\alpha$ -36 ( $\times 200$ ); F: 不伴有肠化的慢性胃炎低表达 COX-2 ( $\times 200$ ); G: 选取伴有肠化的慢性胃炎和不伴有肠化的慢性胃炎各 100 例, 用免疫组织化学方法分别检测 ER $\alpha$ -36 和 COX-2 表达, 用 Image-pro plus 6.0 软件分析平均光密度; H: Western blot 方法检测伴有肠化的慢性胃炎 (case 1~case 4) 和不伴有肠化的慢性胃炎 (case 5~case 8) 中 ER $\alpha$ -36 和 COX-2 表达; I: 伴有和不伴有肠化的慢性胃炎新鲜组织标本各 15 例, 用 Western blot 方法分别检测 ER $\alpha$ -36 和 COX-2 表达, 用 Image-pro plus 6.0 软件分析平均光密度

图 1 伴有和不伴有肠化的慢性胃炎标本中 ER $\alpha$ -36 和 COX-2 表达

**2.5 不同浓度 E<sub>2</sub> 对 ER $\alpha$ -36 和 COX-2 表达的影响** 实验结果显示, 单独使用 MNNG 处理不能诱导 ER $\alpha$ -36 和 COX-2 的表达, 生理性低浓度 E<sub>2</sub> 不能单独诱导 COX-2 的表达, 可以促进 ER $\alpha$ -36 的表达, 药理性高浓度 E<sub>2</sub> 不能单独诱导 COX-2 的表达, 可以抑制 ER $\alpha$ -36 的表达。生理性低浓度 E<sub>2</sub> 和 MNNG 联合处理后 ER $\alpha$ -36 表达增高, 且 COX-2 的表达也增高; 药理性高浓度 E<sub>2</sub> 和 MNNG 联合处理后不能诱导 COX-2 高表达, 见图 2。

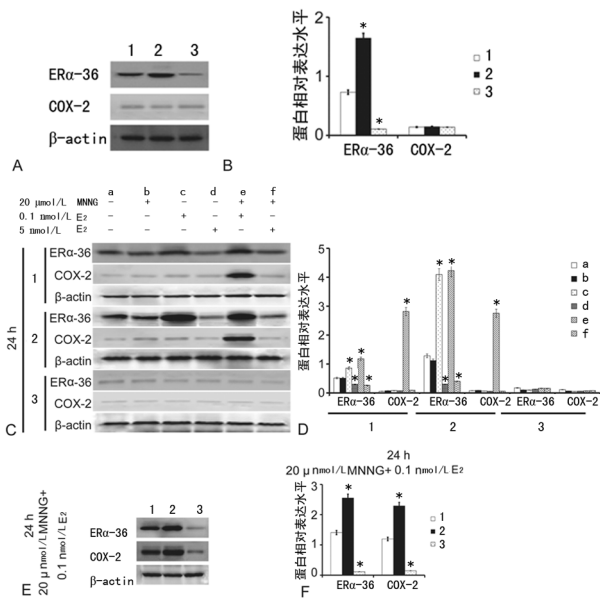


图2 不同浓度E<sub>2</sub>对ER $\alpha$ -36和COX-2表达的影响

A、B:过表达和下调ER $\alpha$ -36表达的GES-1细胞株中ER $\alpha$ -36和COX-2表达(\*:P<0.05,与GES-1组比较);C、D:单独或联合用MNNG,生理性低浓度E<sub>2</sub>(0.1 nmol/L)和药理性高浓度E<sub>2</sub>(5  $\mu$ mol/L)处理正常胃黏膜细胞GES-1及其重组细胞株24 h后ER $\alpha$ -36和COX-2表达变化[\*:P<0.05,与同种细胞同种蛋白的组中溶剂对照组(a)比较];E、F:联用MNNG和生理性低浓度E<sub>2</sub>处理GES-1和重组细胞株24 h后,ER $\alpha$ -36和COX-2表达变化[\*:P<0.05,与同种细胞组中同种蛋白的溶剂对照组(a)比较];1:GES-1组;2:过表达组;3:干扰组

### 3 讨论

流行病学的调查数据提示,肠化的发生,可能与E<sub>2</sub>有关。E<sub>2</sub>可通过与E<sub>2</sub>受体(ER)结合而发挥多种生物学效应。研究显示体内的多种细胞/组织/器官(经典的E<sub>2</sub>依赖性器官,如乳腺、子宫、卵巢等;非E<sub>2</sub>依赖性器官,如胃、肝、肠、神经系统与心血管系统等)均能对E<sub>2</sub>产生信号应答<sup>[14-15]</sup>。E<sub>2</sub>信号在老年痴呆、骨质疏松症、冠状动脉粥样硬化性心脏病及某些恶性肿瘤(如乳腺癌、神经胶质母细胞瘤及胃癌等)的发生发展中发挥重要作用<sup>[14-20]</sup>。

E<sub>2</sub>介导的信号传导途径,近年来获得如下进展:(1)ER包括ER $\alpha$ 和ER $\beta$ 两个亚型;(2)ER $\alpha$ 和ER $\beta$ 可表达于细胞核和细胞膜;(3)E<sub>2</sub>介导的信号传导包括细胞核(经典途径)、细胞膜(非经典途径)和线粒体途径(mtDNA途径),因此E<sub>2</sub>参与执行的生物学功能(如细胞生长,分化与凋亡等)并非仅依赖于细胞核途径;(4)除传统相对分子质量为66 $\times$ 10<sup>3</sup>的ER $\alpha$ -66(经典的ER $\alpha$ )外,新发现了相对分子质量为46 $\times$ 10<sup>3</sup>的ER $\alpha$ -46和36 $\times$ 10<sup>3</sup>的ER $\alpha$ -36两个新亚型。ER $\alpha$ -66主要介导E<sub>2</sub>的细胞核信号通路(经典通路),而ER $\alpha$ -46和ER $\alpha$ -36主要介导E<sub>2</sub>的细胞膜信号通路(非经典通路),其中ER $\alpha$ -46和ER $\alpha$ -66同源性极强,较难对

其开展特异性的研究<sup>[5,19-20]</sup>。ER $\alpha$ -36的分子生物学特征为:(1)其蛋白中缺少AF1和AF2功能区,其转录启动子位于ER $\alpha$ -66基因的第二个内含子中;(2)其功能及表达不完全依赖于ER $\alpha$ -66,其作用机制类似于生长因子受体,可经细胞膜起始的E<sub>2</sub>信号传导发挥生物学功能;(3)可抑制ER $\alpha$ -66和ER $\beta$ 介导的细胞核E<sub>2</sub>途径;(4)针对ER $\alpha$ -36的药物对乳腺癌细胞生长有抑制作用<sup>[5,20-21]</sup>。

MNNG是一种可以诱导CAG肠化、不典型增生,甚至胃癌的化学物。前期实验结果显示,MNNG在雄性大鼠更容易诱导出肠化的动物模型。本实验结果也证实了这个现象,提示MNNG诱导肠化的发生过程中有E<sub>2</sub>参与作用,机制不明。

COX是前列腺素类生物合成的限速酶,共有2个亚型,COX-1和COX-2,是一种膜结合蛋白质,近年研究较多,COX-2与胃黏膜肠化、不典型增生及癌变的发生有关<sup>[22-26]</sup>。编码COX-2的基因位于人类1号染色体q25.2~q25.3,全长约8.3 kb,蛋白全长227个氨基酸<sup>[22-26]</sup>。胃黏膜发生肠化时,COX-2表达增加<sup>[22-26]</sup>。

本实验的结果显示,低浓度E<sub>2</sub>与MNNG作用于胃黏膜细胞株,如果ER $\alpha$ -36低表达,那么COX-2的表达不增加,ER $\alpha$ -36增加,则COX-2的表达也增加,提示ER $\alpha$ -36也参与了肠化的过程。

综上所述,低浓度E<sub>2</sub>与MNNG通过ER $\alpha$ -36信号通路共同参与胃黏膜肠化过程。

### 参考文献

- [1] CHEN W,ZHENG R,BAADE P D,et al. :Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [2] KHAZAEI S, REZAEIAN S, SOHEYLIZAD M, et al. Global Incidence and Mortality Rates of Stomach Cancer and the Human Development Index; an Ecological Study [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2016, 17(4): 1701-1704.
- [3] PARK Y H, KIM N. Review of atrophic gastritis and intestinal metaplasia as a premalignant lesion of gastric cancer[J]. J Cancer Prev, 2015, 20(1): 25-40.
- [4] LOPE V, FERNANDEZ DE LARREA N, PEREZ-GOMEZ B, et al. Menstrual and reproductive factors and risk of gastric and colorectal cancer in Spain[J]. PLoS One, 2016, 11(10): e0164620.
- [5] WANG X, DENG H, ZOU F, et al. :ER-alpha36-mediated gastric cancer cell proliferation via the c-Src pathway[J]. Oncol Lett, 2013, 6(2): 329-335.
- [6] MAO X Y, XU S F, LIU Q, et al. Anatomical predilection of intestinal metaplasia based on 78,335 endoscopic cases [J]. Saudi J Gastroenterol, 2016, 22(2): 154-160.

- [7] KATO S, MATSUKURA N, TOGASHI A, et al. Sex differences in mucosal response to *Helicobacter pylori* infection in the stomach and variations in interleukin-8, COX-2 and trefoil factor family 1 gene expression[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2004, 20 Suppl 1:17-24.
- [8] CHUNG S J, PARK M J, KANG S J, et al. Effect of annual endoscopic screening on clinicopathologic characteristics and treatment modality of gastric cancer in a high-incidence region of Korea[J]. *Int J Cancer*, 2012, 131(10): 2376-2384.
- [9] SHIN N, JO H J, KIM W K, et al. Gastric pit dysplasia in adjacent gastric mucosa in 414 gastric cancers: prevalence and characteristics[J]. *Am J Surg Pathol*, 2011, 35(7): 1021-1019.
- [10] MOON C M, KIM S H, LEE S K, et al. Chronic tamoxifen use is associated with a decreased risk of intestinal metaplasia in human gastric epithelium[J]. *Dig Dis Sci*, 2014, 59(6): 1244-1254.
- [11] OHTANI M, GE Z, GARCIA A, et al. 17 beta-estradiol suppresses *Helicobacter pylori*-induced gastric pathology in male hypergastrinemic INS-GAS mice[J]. *Carcinogenesis*, 2011, 32(8): 1244-1250.
- [12] KIM H J, CHOI B Y, BYUN T J, et al. The prevalence of atrophic gastritis and intestinal metaplasia according to gender, age and *Helicobacter pylori* infection in a rural population[J]. *J Prev Med Public Health*, 2008, 41(6): 373-379.
- [13] 陈祥和, 李世昌, 孙朋, 等. 下坡跑对生长期雌性去卵巢小鼠成骨细胞分化和骨形成的影响[J]. *中国运动医学杂志*, 2014, 33(2): 130-134, 178.
- [14] RONDON-LAGOS M, VILLEGAS V E, RANGEL N, et al. Tamoxifen resistance; emerging molecular targets[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(8): E1357.
- [15] BRANN D W, MAHESH V B. Beneficial effects of estrogens in the brain and cardiovascular system[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2014, 389(1/2): 1.
- [16] LIU M, GOSS P E, INGLE J N, et al. Aromatase inhibitor-associated bone fractures; a case-cohort GWAS and functional genomics[J]. *Mol Endocrinol*, 2014, 28(10): 1740-1751.
- [17] PROSSNITZ E R, BARTON M. Estrogen biology; new insights into GPER function and clinical opportunities [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2014, 389(1/2): 71-83.
- [18] BURKE S L, HU T, FAVA N M, et al. Sex differences in the development of mild cognitive impairment and probable Alzheimer's disease as predicted by hippocampal volume or white matter hyperintensities[J]. *J Women Aging*, 2019, 31(2): 140-164.
- [19] LIU Y, HUANG L, GUAN X, et al. ER-alpha36, a novel variant of ERalpha, is involved in the regulation of tamoxifen-sensitivity of glioblastoma cells[J]. *Steroids*, 2016, 111: 127-133.
- [20] WANG X, HUANG X, FU Z, et al. Biphase ER-alpha36-mediated estrogen signaling regulates growth of gastric cancer cells[J]. *Int J Oncol*, 2014, 45(6): 2325-2330.
- [21] WANG Z Y, YIN L. Estrogen receptor alpha-36 (ER-alpha36): A new player in human breast cancer[J]. *Mol Cell Endocrinol*. 2015, 418: 193-206.
- [22] ROSARIO PINHEIRO D D, HARADA M L, RODRIGUEZ BURBANO R M, et al. COX-2 gene expression and methylation profile in *Sapajus apella* as an experimental model for gastric adenocarcinoma[J]. *Genet Mol Biol*, 2018, 41(2): 496-501.
- [23] ABDELLATIF K R A, FADALY W A A, ELSHAIER Y, et al. Non-acidic 1,3,4-trisubstituted-pyrazole derivatives as lonazolac analogs with promising COX-2 selectivity, anti-inflammatory activity and gastric safety profile [J]. *Bioorg Chem*, 2018, 77: 568-578.
- [24] MA N X, SUN W, WU J, ET AL. Compound wumei powder inhibits the invasion and metastasis of gastric cancer via Cox-2/PGE2-PI3K/AKT/GSK3beta/beta-catenin signaling pathway [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2017, 2017: 3039450.
- [25] YANG H, HUANG S, WEI Y, et al. Curcumin enhances the anticancer effect of 5-fluorouracil against gastric cancer through down-regulation of COX-2 and NF-kappaB signaling pathways[J]. *J Cancer* 2017, 8(18): 3697-3706.
- [26] ABDELGAWAD M A, BAKR R B, EL-GENDY A O, et al. Discovery of a COX-2 selective inhibitor hit with anti-inflammatory activity and gastric ulcer protective effect [J]. *Future Med Chem*, 2017, 9(16): 1899-1912.

(收稿日期:2018-12-30 修回日期:2019-01-15)