

疏肝和胃方含药血清对食管上皮细胞损伤的干预作用

汪陆叶¹, 孙永顺^{2*}

1. 南京中医药大学南通中西医结合临床学院, 南通市第三人民医院中西医结合肝病科, 江苏 南通 226000

2. 上海中医药大学附属市中医院脾胃病科, 上海 200071

DOI:10.61369/MRP.2025080034

摘 要 : 目的: 探讨疏肝和胃方含药血清对 GERD 食管上皮细胞损伤的干预作用。方法: 实验分四组, 除正常组外, 其余三组予胰蛋白酶刺激 HEEC 构建 GERD 体外细胞模型。正常组和模型组予生理盐水含药血清孵育, 中药组予疏肝和胃方含药血清孵育, 西药组予雷贝拉唑肠溶胶囊含药血清孵育。24h 后通过 ELISA 方法检测 IL-8、IL-1 β 和 PAF, WB 检测 PAR-2、Claudin1 和 Claudin4。所得结果采用 SPSS26.0 统计分析。结果: 与正常组相比, 模型组 PAR-2、IL-8、IL-1 β 和 PAF 显著增加 ($P<0.05$), Claudin1 和 Claudin4 显著降低 ($P<0.05$); 与模型组相比, 中西药组 PAR-2、IL-8 和 PAF 均显著降低 ($P<0.05$), 中药组 IL-1 β 显著降低 ($P<0.05$), 西药组 IL-1 β 呈降低趋势 ($P>0.05$), 且中药组表达均低于西药组, 其中中西药组 IL-8 和 PAF 表达有统计学差异 ($P<0.05$), 中西药组 Claudin1 显著升高 ($P<0.05$), 中药组 Claudin4 显著升高 ($P<0.05$), 西药组 Claudin4 呈升高趋势 ($P>0.05$), 且中药组表达均显著高于西药组 ($P<0.05$)。结论: 疏肝和胃方可以通过降低 PAR-2、IL-8、IL-1 β 和 PAF 的表达, 增加 Claudin1 和 Claudin4 蛋白的表达, 改善食管黏膜炎症损伤, 有效的治疗 GERD, 且疗效优于雷贝拉唑。

关 键 词 : GERD; PAR-2; 炎性因子; Claudin; 疏肝和胃方

Intervention Effect of Serum Containing Soothing Liver and Stomach Decoction on Injured Esophageal Epithelial Cells

Wang Luye¹, Sun Yongshun^{2*}

1. Nantong Clinical College of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine of Nanjing University of Chinese Medicine, Integrated Traditional Chinese and Western Medicine for Liver Diseases, Nantong Third People's Hospital, Nantong, Jiangsu 226000

2. Shanghai Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200071

Abstract : Objective: To explore the intervention effect of serum containing soothing liver and stomach decoction on injured esophageal epithelial cells. Methods: The experiment was divided into four groups. In addition to the normal group, the other three groups were given trypsin to stimulate HEECs to construct GERD cell model in vitro. The normal group and the model group were incubated with serum containing normal saline, the traditional Chinese medicine group were incubated with serum containing soothing liver and stomach decoction, and the Western medicine group were incubated with serum containing rabeprazole enteric capsule. IL-8, IL-1 β and PAF were detected by ELISA, PAR-2, Claudin1 and Claudin4 were detected by WB. The results were analyzed by SPSS26.0. Results: Compared with the normal group, PAR-2, IL-8, IL-1 β and PAF increased significantly ($P<0.05$), Claudin1 and Claudin4 decreased significantly ($P<0.05$). Compared with the model group, PAR-2, IL-8 and PAF were decreased significantly ($P<0.05$) in the traditional Chinese medicine group and the Western medicine group, IL-1 β was decreased significantly ($P<0.05$) in the traditional Chinese medicine group, while IL-1 β in the Western group showed a decreasing trend, and the western medicine group was lower than that in the western medicine group ($P>0.05$). The expression of IL-8 and PAF in the traditional Chinese medicine group was significantly lower than in Western medicine group ($P<0.05$). Claudin1 was increased significantly in the Chinese and Western medicine group ($P<0.05$), Claudin4 was increased significantly in the traditional Chinese medicine

基金项目: 中国国家自然科学基金面上项目 (项目编号: 81874402, 82174128)。

作者简介: 汪陆叶 (1992—), 女, 汉族, 江苏南通人, 硕士, 住院医师, 研究方向: 中医药防治脾胃病。E-mail: 1114374420@qq.com。

通讯作者: 孙永顺 (1977—), 男, 汉族, 上海人, 博士研究生, 主任医师, 上海中医药大学附属市中医院脾胃病科, 研究方向: 中医药防治脾胃病。E-mail: 13764403043@163.com。

group ($P<0.05$), while Claudin4 in the Western group showed an increasing trend ($P>0.05$), and the expression of the traditional Chinese medicine group was significantly higher than that in Western medicine group ($P<0.05$). Conclusion: Soothing liver and stomach decoction can effectively treat GERD by decreasing the expression of PAR-2, IL-8, IL-1 β and PAF, increasing the expression of Claudin1 and Claudin4, improving the inflammatory injury of esophageal mucosa, and it works better than rabeprazole.

Keywords : GERD; PAR-2; inflammatory factor; Claudin; soothing liver and stomach decoction

胃食管反流病 (GERD) 是由胃及十二指肠内容物反流到食管引起, 通常伴有烧心、反酸或其他食管外症状, 如胸痛、慢性咳嗽等, 是最常见的上消化道疾病之一^[1]。近年来, 由于人们的生活水平提高以及生活方式和饮食习惯的改变, GERD 的发病率每年都在增加^[2]。目前酸抑制剂是治疗 GERD 的主要药物^[3], 然而临床上发现约有 10%-40% 的患者采用标准剂量 PPI 治疗 8 周后仍无效或症状不能完全缓解^[4], 严重影响患者的生活质量。

越来越多的中药有效成分因其广泛的生物活性和独特的药理作用被应用到新药物研究和开发中, 为防治 GERD 提供新的思路。本研究构建 GERD 体外细胞模型, 予含药血清孵育损伤的 HEEC, 探讨疏肝和胃方含药血清对 GERD 食管上皮细胞损伤的干预作用, 为临床使用疏肝和胃方治疗 GERD 提供可靠的理论依据。

一、材料与方法

(一) 实验材料

1. 实验动物

采用清洁级 8 周龄雄性 SD 大鼠, 体重 300 ± 50 g, 来源: 上海杰思捷实验动物有限公司, 实验大鼠许可证号: SCXK (沪) 2018-0004。SD 大鼠适应性喂养一周, 饲养于上海中医药大学附属市中医医院动物房屏障环境内, 室温 $20-26^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 $55\% \pm 5\%$, 光/暗循环 12 小时, 4 只/笼。所有的 SD 大鼠都得到了充足的颗粒饲料及饮用水。所有程序均通过了上海中医药大学附属市中医医院实验动物使用伦理及福利审查。

2. 实验药物

疏肝和胃方: 柴胡 12g、延胡索 9g、炒白芍 15g、枳壳 12g、旋覆花 12g、代赭石 15g、黄连 3g、吴萸 3g、太子参 12g、甘草 6g; 雷贝拉唑肠溶胶囊: 20mg/粒, 7 粒/盒及生理盐水均为上海中医药大学附属市中医医院药剂科提供。

3. 实验细胞

正常人食管上皮永生细胞株 (HEEC) 购买于上海圆创生物科技有限公司。

4. 实验试剂

DMEM 不完全高糖培养基 (KGM12800), PBS 缓冲液 (YXB5001), 0.25% 胰蛋白酶 (含 EDTA) (KGM125200), 澳洲胎牛血清 (10099-141C), 胰蛋白酶粉 (YC70855), Cell Counting Kit-8 (C0039), RIPA 裂解液 (P0013B),

PMSF (100mM) (ST506), BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (P0010), PAGE 凝胶快速制备试剂盒 (12.5%) (PG113), SDS-PAGE 电泳液 (P0014B), Western 转膜液 (P0021B), QuickBlock™ Western 封闭液 (P0252q), Anti-PAR2 antibody (ab180953), Anti-Claudin1 antibody (ab15098), Anti-Claudin4 antibody (ab53156), GAPDH (D110016), HRP-conjugated Goat Anti-Rabbit IgG (D110058), 三色预染蛋白 Marker10kDa-250kDa (WJ103L), BeyoECL Plus (P0018S), Human IL-8 ELISA Kit (E-EL-H6008), 人 IL-1 beta ELISA 试剂盒 (Ab214025), Human platelet activating factor, PAF ELISA Kit (CSB-E07929h)。

5. 实验仪器与设备

二氧化碳培养箱 (HF90), 净化工作台 (VS-840-1), 高速离心机 (5200), 显微镜 (倒置式) (DMIL), 0.2 μm 过滤器 (4612), PVDF 膜 (IPVH00010), 酶标仪 (Epoch2), 电热恒温培养箱 (GHP-9160), 电子天平 (AL204-IC), 三恒多用电泳仪电源 (DYY-12), MiniProGel™ 蛋白制胶、电泳与转膜系统 (E6150), Image Lab 影像采集系统 (ChemiDoc XRS+ with Image Lab Software), 生物安全柜 (BIOsafe12)。

(二) 实验方法

1. HEEC 细胞诱导刺激模型

实验设置 6 个实验组: 正常组、0.1nM、0.3nM、1nM、3nM、10nM 胰蛋白酶刺激组, 每组设置 5 个复孔。将 HEEC 以 $1 \times 10^5/\text{ml}$ 接种于 96 孔板中, 每孔 100 μl , 置于培养箱内孵育, 24h

后更换为无血清的 DMEM 培养基平衡细胞。12h 后予对应的溶液刺激 6h，使用 CCK-8 试剂检测各组细胞活力。

2. 含药血清制备

采用随机数字法，将 18 只 SD 大鼠随机分为 3 组：正常组、疏肝和胃方组和雷贝拉唑肠溶胶囊组。在适应性喂养结束后灌胃，中药组灌胃生药量为 11.25g/kg·d，西药组灌胃生药量为 4.17mg/kg·d，按 1ml/100g·次·日灌胃，连续灌胃 5 天，末次给药 1h 后麻醉大鼠，在无菌条件下行腹主动脉采血，4℃静置，待凝固析出血清后离心，吸取上清即为含药血清，置于 56℃水浴锅中灭活 30min，并用 0.2μm 针孔滤器过滤除菌，置于 -80℃冰箱中保存备用。

3. 含药血清对 HEEC 细胞活力的影响

实验设置 10 个实验组：DMEM 培养基组，5%、10%、20% 生理盐水组含药血清，5%、10%、20% 疏肝和胃方组含药血清，5%、10%、20% 雷贝拉唑肠溶胶囊组含药血清，每组设置 5 个复孔。

将 HEEC 以 8×10^4 /ml 接种于 96 孔板中，每孔 100μl，置于培养箱内孵育，24h 后更换为无血清的 DMEM 培养基。12h 后予对应浓度的含药血清培养 HEEC 24h，使用 CCK-8 试剂检测各组细胞活力。

4. WB 检测 HEEC 细胞中 PAR-2、Claudin1 和 Claudin4 的表达

PBS 清洗后在冰上裂解，半小时后用细胞刮刀刮下。静置数分钟后离心，收集上清；检测各组蛋白浓度后调整蛋白样品的终浓度为 1μg/μl。将所有样品加热充分变性蛋白。组装电泳槽，倒入 SDS-PAGE 电泳液，拔去梳齿，上样，盖上上盖，接通电源（每孔上样量为 20μl）；电泳结束后取出玻璃板开始转膜；将 PVDF 膜放置在封闭液中封闭 1h 后孵育一抗，4℃冰箱内孵育过夜；洗膜，室温下孵育二抗 1h；用 TBST 洗膜后显影，利用 Image Lab 影像采集系统拍摄照片。采用 Image J 分析软件分析。

5. ELISA 检测 HEEC 细胞上清液中 IL-8、IL-1β 和 PAF 的表达

从 -80℃冰箱中取出样本，融化离心取上清检测，设定标准品孔、样品孔和空白孔，每组 3 个复孔，加入 100μl 对应样品，贴上覆膜，37℃下孵育 90min；甩尽液体，加入 100μl 的生物素化抗体工作液，孵育 1h；甩干，加入 350μl 洗涤液，浸泡 1min，甩干，重复 3 次；加酶结合物 100μl，孵育 30min；甩干，洗板 5 次；加入底物溶液 90μl，避光孵育 15min；加入终止液 50μl 终止反应；在 450nm 波长下测量各孔的 OD 值。

6. 统计方法

应用 SPSS26.0 分析所得数据，计量资料以均数 ± 标准差表示，满足正态分布及方差齐性检测的计量资料组间比较采用单因素方差分析，两两比较采用 LSD 法，反之予非参数检验，P<0.05 时为有统计学差异。

二、实验结果

（一）不同浓度胰蛋白酶溶液对 HEEC 细胞活力的影响

细胞活力随着胰蛋白酶溶液浓度的增加而下降，采用 GraphPad Prism 9.0 软件计算出半数致死浓度（LC50）为 0.65nM，并用于后

续实验。（图中每一个数值均为三次实验的均值）

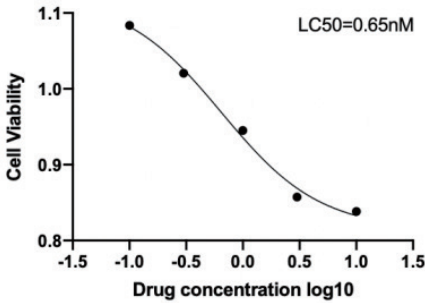


图1 不同浓度胰蛋白酶溶液对 HEEC 细胞活力的影响

（二）不同浓度、组别含药血清对 HEEC 细胞活力的影响

与 5% 生理盐水组含药血清相比，5% 中药组 OD 值升高（P>0.05），5% 西药组 OD 值降低（P>0.05），与 5% 中药组相比，5% 西药组 OD 值显著降低（P<0.05）；与 10% 生理盐水组相比，10% 中药组 OD 值显著升高（P<0.05），10% 西药组 OD 值降低（P>0.05），与 10% 中药组相比，10% 西药组 OD 值显著降低（P<0.05）；与 20% 生理盐水组相比，20% 中药组 OD 值显著升高（P<0.05），20% 西药组 OD 值降低（P>0.05），与 20% 中药组相比，20% 西药组 OD 值显著降低（P<0.05）。上述结果提示在 10% 及 20% 浓度下，细胞增殖均有统计学差异，而 10% 与 20% 细胞增殖无统计学差异，故选择 10% 的血清浓度作为后续实验。

表 1 不同浓度、组别含药血清对 HEEC 细胞活力的影响（OD 值）

组别	5%	10%	20%
生理盐水组	0.799 ± 0.093	0.778 ± 0.077	0.801 ± 0.091
中药组	0.924 ± 0.110	0.981 ± 0.414*	1.007 ± 0.128*
西药组	0.709 ± 0.780#	0.709 ± 0.108#	0.795 ± 0.126#

注：与对应浓度生理盐水组相比，*P<0.05；与对应浓度中药组相比，#P<0.05。

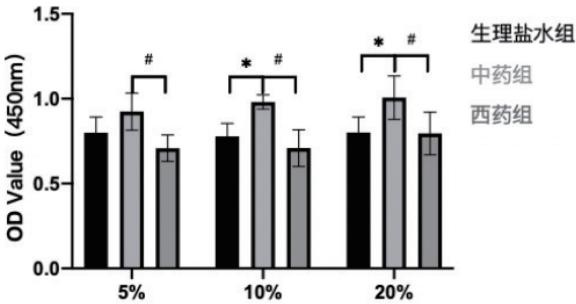


图2 不同浓度、组别含药血清对 HEEC 细胞活力的影响

（三）含药血清干预后 PAR-2、Claudin1 和 Claudin4 的表达

PAR-2：与正常组相比，模型组表达显著升高（P<0.05），与模型组相比，中药组和西药组表达显著降低（P<0.05），且中药组表达低于西药组（P>0.05）。

Claudin1：与正常组相比，模型组表达显著降低（P<0.05），与模型组相比，中药组和西药组表达显著升高（P<0.05），且中药组表达显著高于西药组（P<0.05）。

Claudin4: 与正常组相比, 模型组表达显著降低 ($P<0.05$), 与模型组相比, 中药组表达显著升高 ($P<0.05$), 西药组表达升高 ($P>0.05$), 且中药组表达显著高于西药组 ($P<0.05$)。

表2 四组 HEEC 细胞上清液中 PAR-2、Claudin1 和 Claudin4 相对灰度值比较

组别	PAR-2	Claudin1	Claudin4
正常组	0.190 ± 0.004	0.347 ± 0.020	0.423 ± 0.046
模型组	0.256 ± 0.041*	0.275 ± 0.023*	0.300 ± 0.068*
中药组	0.176 ± 0.026#	0.394 ± 0.037#	0.414 ± 0.007#
西药组	0.153 ± 0.019#	0.339 ± 0.022#Δ	0.308 ± 0.026Δ
F 值	8.631	10.679	7.082
P 值	P=0.007	P=0.004	P=0.012

注: 与正常组相比, * $P<0.05$; 与模型组相比 # $P<0.05$; 与中药组相比, Δ $P<0.05$ 。

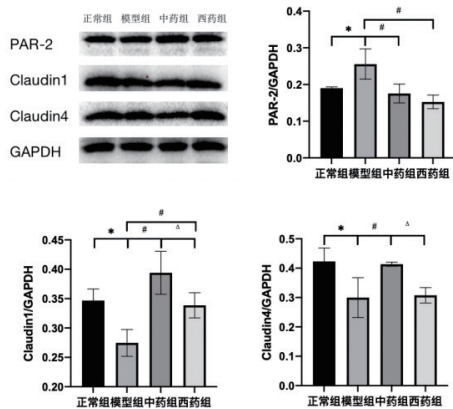


图3 四组 HEEC 细胞上清液中 PAR-2、Claudin1 和 Claudin4 相对灰度值比较

(四) 含药血清干预后 IL-8、IL-1β 和 PAF 的表达

IL-8: 与正常组相比, 模型组显著升高 ($P<0.05$), 与模型组相比, 中药组和西药组显著降低 ($P<0.05$), 且中药组显著低于西药组 ($P<0.05$)。

IL-1β: 与正常组相比, 模型组显著升高 ($P<0.05$), 与模型组相比, 中药组显著降低 ($P<0.05$), 西药组降低 ($P>0.05$), 中药组低于西药组 ($P>0.05$)。

PAF: 与正常组相比, 模型组显著升高 ($P<0.05$), 与模型组相比, 中药组和西药组显著降低 ($P<0.05$), 且中药组显著低于西药组 ($P<0.05$)。

表3 四组 HEEC 细胞上清液中 IL-8、IL-1β 和 PAF 的表达情况

组别	IL-8 (pg/ml)	IL-1β (pg/ml)	PAF (ng/ml)
正常组	578.796 ± 14.114	59.220 ± 3.986	233.167 ± 3.326
模型组	637.582 ± 13.385*	74.206 ± 5.424*	285.449 ± 9.226*
中药组	591.483 ± 8.466#	62.607 ± 3.836#	242.682 ± 1.121#
西药组	615.359 ± 6.571#Δ	65.967 ± 4.445	259.278 ± 7.668#Δ
F 值	16.509	6.209	40.290
P 值	P=0.001	P=0.017	P<0.0001

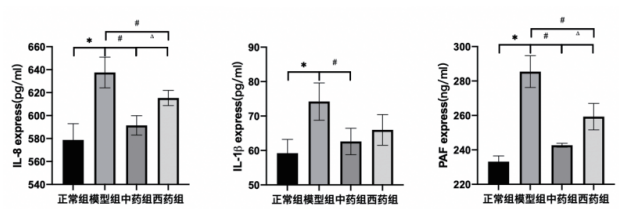


图4 四组 HEEC 细胞上清液中 IL-8、IL-1β 和 PAF 的表达情况

三、讨论

蛋白酶激活受体2 (PAR-2) 是其家族唯一可被胰蛋白酶或类胰蛋白酶激活的受体, 广泛存在于消化道, 在炎症、免疫、应激等病理过程中并发挥重要作用^[5]。在 GERD 中, 除胃酸反流外, 富含胰蛋白酶的十二指肠反流是另一个重要的致病因素^[6], 反流的胰蛋白酶可以激活 PAR-2, 这可能是造成 GERD 食管损伤的潜在因素。

反流的胰蛋白酶激活 PAR-2 可增加白细胞介素 IL-8 的表达诱发食管炎症, 引起食管上皮损伤^[7]。IL-8 吸引中性粒细胞, 中性粒细胞可以释放丝氨酸蛋白酶, 从而进一步激活 PAR-2^[8]。在食管炎模型和慢性食管炎患者中, 食管黏膜产生并释放的血小板活化因子 (PAF) 异常增高, 对外周白细胞具有强的趋化和活化作用, 在介导食管上皮损伤中起到重要作用^[9]。另有研究发现, 食管黏膜分泌的 PAF 可抑制肌肉的收缩, 并刺激食管环形肌分泌 IL-6, 进而诱发 IL-1β 的分泌, IL-1β 可以独立改变神经源性食管肌肉收缩, 从而增加黏膜暴露机会, 进一步加剧炎症^[10]。这表明 PAR-2 活化介导食管黏膜炎症是导致食管损伤发生的病理基础, PAR-2 在食管炎症反应中发挥了重要作用, 可能是治疗 GERD 的有益靶点。

食管上皮的相对不渗透性是屏障功能的关键因素, 与紧密连接蛋白 (TJ) 有关^[11]。GERD 动物实验和体外模型研究表明食管黏膜存在 Claudin 蛋白表达及定位的改变^[12], Claudin1 在鳞状上皮中最丰富, Claudin4 在各种组织的细胞膜上表达, 在胃肠道中表达最丰富^[13], 是食管鳞状上皮重要的紧密连接蛋白, 其异常表达导致 TJ 变弱, 降低细胞-细胞黏附的稳定性, 从而促进了分离, 提高了上皮渗透率。

中医学将 GERD 归属“反胃”“吐酸”“食管瘁”等范畴, 病位在食管, 属胃, 但还与脾和肝胆有关。肝胃失和引起的气机升降失常是导致 GERD 的关键因素, 情志不畅, 肝失条达, 横逆犯胃; 饮食不节伤胃滞脾, 终至胃气不能下行, 上逆为患。肝升发疏泄失常, 影响胃的通降, 导致浊气不降或上逆, 就会出现肝胃不和之证。因此疏肝理气、和胃降逆成为治疗本病的基本治则, 遂立疏肝和胃方, 方中诸药并用, 使郁结得解, 肝气条达, 脾升胃降。

本研究结果显示, 与正常组相比, 模型组 PAR-2、IL-8、IL-1β 和 PAF 显著增加 ($P<0.05$), Claudin1 和 Claudin4 显著降低 ($P<0.05$); 与模型组相比, 中西药组 PAR-2、IL-8 和 PAF 均显著降低 ($P<0.05$), 中药组 IL-1β 显著降低 ($P<0.05$), 西药组 IL-1β 呈降低趋势 ($P>0.05$), 且中

药组表达均低于西药组，其中中西药组 IL-8 和 PAF 有统计学差异 ($P<0.05$)，中西药组 Claudin1 显著升高 ($P<0.05$)，中药组 Claudin4 显著升高 ($P<0.05$)，西药组 Claudin4 呈升高趋势 ($P>0.05$)，且中药组表达均显著高于西药组 ($P<0.05$)。

综上所述，疏肝和胃方可以通过降低 PAR-2、IL-8、IL-1 β 和 PAF 的表达，增加 Claudin1 和 Claudin4 蛋白的表达，改善食管黏膜损伤，有效的治疗 GERD，且疗效优于雷贝拉唑。

参考文献

- [1]Eusebi LH, Ratnakumaran R, Yuan Y, et al. Global prevalence of, and risk factors for, gastro-oesophageal reflux symptoms: a meta-analysis. *Gut*. 2018 Mar;67(3):430–440.
- [2]汪忠镐, 吴继敏, 胡志伟, 等. 中国胃食管反流病多学科诊疗共识 [J]. 中华胃食管反流病电子杂志, 2020, 7(01):1–28.
- [3]DeVault KR, Castell DO; American College of Gastroenterology. Updated guidelines for the diagnosis and treatment of gastroesophageal reflux disease. *Am J Gastroenterol*. 2005 Jan;100(1):190–200.
- [4]Fass R, Sifrim D. Management of heartburn not responding to proton pump inhibitors. *Gut*. 2009 Feb;58(2):295–309.
- [5]李榕萍, 曹雯, 张靖娟, 等. 疏肝健脾和胃方对难治性胃食管反流病患者食管黏膜 PAR2 及 TRPV1 蛋白表达的影响 [J]. 福建医药杂志, 2017, 39(02):80–82.
- [6]Xiaopeng B, Tanaka Y, Ihara E, et al. Trypsin induces biphasic muscle contraction and relaxation via transient receptor potential vanilloid 1 and neurokinin receptors 1/2 in porcine esophageal body. *Eur J Pharmacol*. 2017 Feb 15;797:65–74.
- [7]Shan J, Oshima T, Chen X, et al. Trypsin impaired epithelial barrier function and induced IL-8 secretion through basolateral PAR-2: a lesson from a stratified squamous epithelial model. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2012 Nov 15;303(10):G1105–12.
- [8]Souza RF. Bringing GERD Management up to PAR-2. *Am J Gastroenterol*. 2010 Sep;105(9):1944–6.
- [9]Ma J, Altomare A, de la Monte S, et al. HCl-induced inflammatory mediators in esophageal mucosa increase migration and production of H2O2 by peripheral blood leukocytes. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2010 Sep;299(3):G791–8.
- [10]Harnett KM, Rieder F, Behar J, et al. Viewpoints on Acid-induced inflammatory mediators in esophageal mucosa. *J Neurogastroenterol Motil*. 2010 Oct;16(4):374–88.
- [11]Kim JJ, Kim N, Park JH, et al. Comparison of Tight Junction Protein-Related Gene mRNA Expression Levels between Male and Female Gastroesophageal Reflux Disease Patients. *Gut Liver*. 2018 Jul 15;12(4):411–419.
- [12]Chu CL, Zhen YB, Lv GP, et al. Microalterations of esophagus in patients with non-erosive reflux disease: in-vivo diagnosis by confocal laser endomicroscopy and its relationship with gastroesophageal reflux [J]. *Am J Gastroenterol*. 2012, 107(6): 864–874.
- [13]Hashimoto I, Oshima T. Claudins and Gastric Cancer: An Overview. *Cancers (Basel)*. 2022 Jan 7;14(2):290.