

# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

**2016 年 4 月 28 日 第 24 卷 第 12 期 (Volume 24 Number 12)**



**12/2016**

ISSN 1009-3079



《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被中国知网《中国期刊全文数据库》, 美国《化学文摘 (Chemical Abstracts, CA)》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘 (EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志 (Abstract Journal, AJ)》数据库收录.

## 编辑委员会

2015-01-01/2017-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》2015-2017年度编辑委员会，由1040位专家组成。其中，上海市146位、北京市130位、江苏省81位、广东省69位、湖北省53位、辽宁省48位、山东省45位、浙江省42位、陕西省40位、黑龙江省34位、福建省29位、四川省30位、河北省28位、天津市28位、广西壮族自治区21位、贵州省22位、湖南省21位、安徽省20位、河南省20位、吉林省20位、甘肃省18位、江西省18位、云南省17位、重庆市17位、新疆维吾尔自治区15位、山西省11位、海南省8位、内蒙古自治区3位、宁夏回族自治区2位、青海省2位、香港特别行政区1位及美国1位。

### 总顾问

陈可冀教授  
纪小龙教授  
王苑本教授  
杨春波教授  
杨思凤教授

### 主编

程英升教授  
党双锁教授  
江学良教授  
刘连新教授  
刘占举教授  
吕宾教授  
马大烈教授  
王俊平教授  
王小众教授  
姚登福教授  
张宗明教授

### 编委

#### 消化内科学

白爱平副教授  
白岚教授  
柏愚副教授  
蔡全才副教授  
柴宁莉主任医师  
常丽丽主任医师  
陈国忠主任医师  
陈洪教授  
陈明锴教授  
陈其奎教授  
陈伟副主任医师  
陈卫昌教授  
陈卫刚教授  
陈贻胜教授  
陈源副教授  
程斌教授

池肇春教授  
迟宝荣教授  
迟雁副教授  
褚传莲副教授  
崔立红教授  
戴菲副主任医师  
丁浩主治医师  
丁士刚教授  
丁雯瑾主治医师  
丁震副主任医师  
董蕾教授  
董卫国教授  
杜雅菊主任医师  
杜奕奇教授  
段志军教授  
樊冬梅副主任医师  
樊晓明教授  
范一宏主任医师  
冯百岁教授  
冯志杰主任医师  
傅春彬主任医师  
甘华田教授  
高凌副教授  
戈之铮教授  
关晓辉主任医师  
郭津生主任医师  
郭晓钟教授  
韩双印主任医师  
韩英教授  
郝建宇教授  
郝丽萍副教授  
郝微微主任医师  
郝英霞主任医师  
何继满教授  
黄杰安主任医师  
黄晓东主任医师  
黄颖秋教授  
黄缘教授

黄志刚主任医师  
霍丽娟主任医师  
季光教授  
季国忠教授  
贾国葆副教授  
贾林教授  
菅向东主任医师  
江米足教授  
姜春萌教授  
姜慧卿教授  
姜相君主任医师  
蒋波涛副主任医师  
蒋益主任医师  
金博主任医师  
金海燕教授  
蓝宇教授  
李淑德教授  
李瑜元教授  
李兆申教授  
梁洁副教授  
林军教授  
林琳教授  
林志辉教授  
刘爱群副主任医师  
刘冰熔教授  
刘德良教授  
刘凤斌教授  
刘改芳主任医师  
刘海峰主任医师  
刘亮明副教授  
刘鹏飞主任医师  
刘平教授  
刘文天教授  
龙云主治医师  
芦永福副教授  
罗和生教授  
罗素霞主任医师  
吕农华教授

吕小平教授  
马红主任医师  
马欣主任医师  
毛恩强教授  
毛高平教授  
毛华教授  
孟庆华教授  
孟祥军主任医师  
缪应雷主任医师  
宁守斌主任医师  
牛春燕教授  
欧希龙副教授  
潘秀珍教授  
潘阳林副教授  
钦丹萍教授  
曲宝戈主任医师  
任粉玉教授  
沙杰副主任医师  
邵先玉教授  
沈琳主任医师  
沈薇教授  
沈卫东副主任医师  
施瑞华教授  
石定主任医师  
石振东副主任医师  
时永全教授  
宋军副教授  
孙自勤教授  
汤绍辉教授  
唐世刚教授  
唐映梅副主任医师  
田德安教授  
田宇彬教授  
虞必光教授  
宛新建副教授  
汪安江副主任医师  
汪余勤副主任医师  
王承党教授

王江滨教授  
王良静研究员  
王蓉主任医师  
王甦副教授  
王蔚虹教授  
王晓娣主任医师  
王志荣教授  
王忠莉主任医师  
吴晓玲副主任医师  
夏金荣主任医师  
夏时海教授  
向晓星主任医师  
谢会忠教授  
辛永宁副教授  
徐灿副教授  
徐辉主任医师  
徐可树教授  
徐萍教授  
许翠萍主任医师  
许钟副主任医师  
薛博瑜教授  
阳学风教授  
杨建民教授  
杨长青教授  
姚定康教授  
叶丽萍教授  
于珮主任医师  
展玉涛主任医师  
张福奎主任医师  
张国顺主任医师  
张国顺主任医师  
张海蓉教授  
张锦华主任医师  
张明鑫主治医师  
张庆瑜教授  
张秋瓚主任医师  
张涛副主任医师  
张伟副主任医师



张炜副教授  
张小晋主任医师  
张雅丽主任医师  
张艳丽副主任医师  
张燕主任医师  
张志宏副主任医师  
郑家驹主任医师  
郑培永研究员  
郑鹏远教授  
郑盛副教授  
郑素军主任医师  
郑敏副教授  
钟碧慧教授  
钟捷教授  
钟卫一副主任医师  
钟英强教授  
周国雄主任医师  
周力主任医师  
周新民教授  
周莹群副主任医师  
朱强教授  
朱小三主治医师  
朱元民主任医师  
左秀丽主任医师

## 消化外科学

白日星主任医师  
白松主任医师  
白雪副主任医师  
白雪巍副主任医师  
白玉作教授  
白玉奎主任医师  
卜献民副教授  
蔡建春教授  
蔡建辉教授  
蔡金贞教授  
柴新群主任医师  
陈炳官教授  
陈大伟主任医师  
陈光教授  
陈海龙教授  
陈积圣教授  
陈进宏主任医师  
陈凜教授  
陈龙奇主任医师  
陈平教授  
陈汝福教授  
陈思曾教授  
陈晓鹏教授  
陈孝平教授  
陈钟教授  
程树群副教授  
迟天毅副教授  
仇毓东教授  
褚海波主任医师  
崔清波副教授  
崔彦主任医师  
崔云甫教授  
戴朝六教授  
戴冬秋教授  
单云峰主任医师  
丁健华主任医师  
丁义涛教授  
丁永斌主任医师  
杜国盛主任医师  
杜顺达副教授  
杜潇副教授

范应方主任医师  
范跃祖教授  
方哲平主任医师  
房学东教授  
傅红副教授  
傅廷亮教授  
傅小云副主任医师  
傅晓辉副教授  
高军副主任医师  
高毅主任医师  
葛海燕教授  
耿庆教授  
耿智敏主任医师  
宫轲教授  
龚建平主任医师  
顾国利副主任医师  
顾晋教授  
顾岩教授  
管小青教授  
韩天权教授  
郝纯毅主任医师  
何向辉教授  
何裕隆教授  
侯纯升主任医师  
胡安斌教授  
黄成副主任医师  
黄耿文 副主任医师  
计勇教授  
姜卫东教授  
贾云鹤教授  
江艺主任医师  
姜波健教授  
姜洪伟主任医师  
蒋小华副教授  
焦作义教授  
金黑鹰教授  
金山主任医师  
靖昌庆主任医师  
鞠少卿教授  
康春博副主任医师  
克力木·阿不都热  
依木教授  
孔静副教授  
兰平教授  
李德宇主任医师  
李富宇教授  
李革副教授  
李海民教授  
李华教授  
李华山主任医师  
李江涛主任医师  
李靖教授  
李宁主任医师  
李胜研究员  
李涛副主任医师  
李文岗副教授  
李小红教授  
李晓武教授  
李徐奇副教授  
李旭副教授  
李汛教授  
李勇教授  
李幼生教授  
李玉民教授  
李元新教授  
李云龙副教授  
李哲夫主任医师

李正荣副教授  
李宗芳教授  
梁道明副教授  
梁建教授  
梁廷波主任医师  
刘宝林教授  
刘超教授  
刘飞德副主任医师  
刘刚主任医师  
刘宏斌主任医师  
刘宏鸣副教授  
刘厚宝主任医师  
刘江文主任医师  
刘金钢教授  
刘金华副主任医师  
刘亮副主任医师  
刘权焰教授  
刘三光副教授  
刘尚国副教授  
刘逸副主任医师  
刘作金主任医师  
卢实春教授  
陆才德主任医师  
禄韶英副教授  
骆成玉教授  
吕云福教授  
麻勇副研究员  
孟繁杰教授  
孟庆成副教授  
牟一平教授  
倪俊副主任医师  
牛伟新教授  
潘光栋主任医师  
潘明新主任医师  
彭利教授  
彭南海教授  
彭松林副教授  
齐清会教授  
乔世峰主任医师  
秦华东教授  
秦建民主任医师  
秦仁义教授  
邱成志教授  
邱江锋主任医师  
邱伟华主任医师  
邱云峰主任医师  
曲兴龙主任医师  
任宁主任医师  
阮翊主任医师  
尚东主任医师  
邵万金主任医师  
申占龙副教授  
沈世强教授  
沈志勇主任医师  
施宝民教授  
施诚仁教授  
石毓君副研究员  
帅晓明副教授  
宋京海主任医师  
宋武教授  
宋新明教授  
宋振顺教授  
苏松副教授  
孙诚谊教授  
孙光副主任医师  
孙文兵教授  
孙象军副主任医师

孙星副教授  
孙学英教授  
孙勇副主任医师  
孙勇伟主任医师  
孙昀副主任医师  
谭晓冬教授  
汤朝晖副主任医师  
汤绍涛教授  
唐南洪教授  
唐哲教授  
陶凯雄教授  
田虎主任医师  
佟立权主任医师  
万赤丹教授  
汪波主任医师  
汪昱主任医师  
王从俊副教授  
王道荣主任医师  
王德盛副主任医师  
王凤山教授  
王刚副研究员  
王宏副主任医师  
王坚教授  
王健生教授  
王蒙副教授  
王巍主任医师  
王卫东主任医师  
王小明主任医师  
王晓锋副主任医师  
王晓鹏副主任医师  
王雪峰主任医师  
王毅军教授  
王永兵主任医师  
王悦华主任医师  
王长森教授  
王振军教授  
王征副主任医师  
王铮副研究员  
王志明教授  
王忠裕教授  
尉继伟教授  
魏东主任医师  
魏益平副主任医师  
邬林泉教授  
吴德全教授  
吴帆副主任医师  
吴立胜副主任医师  
吴硕东主任医师  
吴伟顶副主任医师  
吴文川副主任医师  
吴文溪教授  
吴晓峰副主任医师  
吴学东教授  
伍晓汀主任医师  
向国安主任医师  
向进见副主任医师  
肖江卫主任医师  
肖卫东副教授  
谢斌辉主任医师  
谢敏主任医师  
谢义民副主任医师  
谢于副主任医师  
徐阿曼教授  
徐锋副教授  
徐进副教授  
徐迅迪教授  
徐泱副主任医师

许洪卫主任医师  
许建新副主任医师  
许剑民教授  
许庆文主任医师  
薛东波教授  
薛英威教授  
闫峰副教授  
杨柏霖主任医师  
杨家和主任医师  
杨晓军副主任医师  
姚英民教授  
殷佩浩副主任医师  
殷正丰教授  
于则利教授  
俞富祥副教授  
禹正杨副教授  
喻春钊教授  
元海成主治医师  
袁周副主任医师  
臧璐副主任医师  
翟博副主任医师  
张安平副教授  
张丰深主任医师  
张宏教授  
张建文主任医师  
张进祥副教授  
张俊副研究员  
张力为副教授  
张连阳教授  
张鹏副研究员  
张万广副教授  
张西波副教授  
张新晨教授  
张振海副主任医师  
赵宝生主任医师  
赵礼金主任医师  
赵青川主任医师  
郑虹主任医师  
郑建勇副教授  
郑民华教授  
支巧明主治医师  
智绪亭教授  
周进学副教授  
周平红教授  
周彤教授  
周伟平教授  
周翔宇副主任医师  
周志祥教授  
朱海宏副主任医师  
朱继业教授  
朱建平主任医师  
朱建伟教授  
朱世凯副主任医师  
朱小朝副主任医师  
朱正钢教授  
朱志军教授  
邹小明教授

## 消化感染病学

白浪副教授  
陈国凤主任医师  
陈红松研究员  
陈建杰教授  
陈良主任医师  
陈茂伟教授  
程明亮教授  
程书权教授

戴二黑教授  
丁惠国教授  
丁向春副教授  
范学工教授  
冯金生教授  
高润平教授  
高泽立副教授  
龚作炯教授  
顾生旺主任医师  
管世鹤教授  
郭永红副主任医师  
郭国信主任医师  
胡康洪教授  
靳雪源主任医师  
卡世全主任医师  
兰英华副教授  
梁跃东副教授  
林潮双主任医师  
林世德教授  
刘纯杰研究员  
刘妍副研究员  
刘正稳教授  
楼宏强副教授  
卢秉久教授  
伦永志副教授  
马丽娜主任医师  
毛德文教授  
孟忠吉教授  
缪梓萍主任医师  
聂青和教授  
彭亮副主任医师  
钱福初副主任技师  
钱林学主任医师  
秦波教授  
裘云庆教授  
盛吉芳主任医师  
施光峰教授  
孙明瑜研究员  
孙维会副主任医师  
谭华炳教授  
童巧霞主任医师  
涂相林主任医师  
王春荣副主任技师  
王多春研究员  
王凯教授  
王怡主任医师  
吴君主任医师  
谢仕斌主任医师  
邢卉春教授  
胥婕主任医师  
宣世英教授  
颜学兵教授  
杨东亮教授  
杨贵波教授  
杨江华副教授  
姚鹏主任医师  
于建武教授  
张明辉主任医师  
张婷副主任技师  
张一教授  
张占卿主任医师  
赵春华副主任技师  
赵秀英副教授  
郑瑞丹副教授  
周陶友副教授  
朱传武教授  
朱新宇教授  
庄林主任医师

庄英杰主任医师

### 消化中医药学

陈涛教授  
杜群研究员  
郭湘潭教授  
黄培副主任医师  
贾永森副教授  
李军祥教授  
李康副教授  
李卫强副教授  
李锐波教授  
李勇副教授  
刘成海研究员  
刘绍能主任医师  
鲁玉辉副教授  
马赟副教授  
马增春研究员  
南极星教授  
牛英才研究员  
秦冬梅副教授  
任路教授  
司富春教授  
斯拉甫·艾白教授  
孙学刚教授  
谭周进教授  
唐旭东主任医师  
唐勇研究员  
王兵主任医师  
王富春教授  
王晶副教授  
王来友副教授  
王笑民主任医师  
吴焕淦教授  
谢春娥主任医师  
谢胜主任医师  
徐庆教授  
许玲教授  
严兴科教授  
杨宗保副教授  
袁红霞研究员  
张永生副研究员  
周本杰主任药师  
祝晨陈教授

### 消化肿瘤学

曹巍教授  
曹秀峰教授  
曹志成院士  
常树建副主任医师  
陈锦飞主任医师  
陈绍勤副教授  
陈淑珍研究员  
陈思宇主任医师  
陈主初教授  
崔杰峰副研究员  
代智副研究员  
戴益琛教授  
丁克峰教授  
董稚明教授  
范辉副教授  
冯继红副教授  
冯茂辉副教授  
符兆英教授  
傅剑华教授  
高林波副研究员  
关泉林教授  
何帮顺讲师  
侯凤刚副教授

胡冰教授  
胡兵副研究员  
胡国清教授  
华东教授  
华海清教授  
江家骥教授  
江建新副主任医师  
姜又红教授  
蒋敬庭教授  
蒋晓东教授  
金晶主任医师  
靖大道教授  
李成刚副教授  
李杰主任医师  
李苏宜教授  
李伟华教授  
李子禹教授  
梁国刚教授  
梁后杰教授  
梁颖讲师  
刘宝瑞教授  
刘炳亚研究员  
刘国龙教授  
刘云鹏教授  
柳长柏教授  
卢宁副主任医师  
卢晓梅教授  
陆斌副教授  
孟立娜教授  
聂飏副主任医师  
朴龙镇副教授  
曲春枫教授  
沈克平主任医师  
史颖弘副教授  
隋红副教授  
谭煌英主任医师  
谭宁副研究员  
谭盛葵教授  
谭诗云教授  
唐景峰副教授  
唐亚雄研究员  
田华副研究员  
田艳涛主任医师  
王成锋主任医师  
王阁教授  
王凯峰副主任医师  
王凯娟教授  
王伟主治医师  
魏国副主任医师  
吴健雄主任医师  
向邦德主任医师  
肖文华主任医师  
肖秀英副主任医师  
徐建明主任医师  
徐克成教授  
颜兵主治医师  
杨宏强副教授  
杨秋蒙副主任医师  
伊力亚尔·夏合丁教授  
袁媛教授  
张德奎主任医师  
张方信主任医师  
张凤春教授  
张静姝研究员  
张佃主任医师  
张晓丽副教授  
张毅教授  
张钰副研究员  
郑丽端副教授

周福有教授  
周建奖教授  
朱永良副研究员

### 消化影像学

白彬主任医师  
曾宪春主任医师  
陈天武教授  
管樛主任医师  
郭顺林教授  
郭万亮副教授  
胡红杰主任医师  
季倩副主任医师  
李德春主任医师  
李健丁教授  
龙学颖副主任医师  
吕维富教授  
马立恒副主任医师  
马苏美主任医师  
饶圣祥副主任医师  
任刚副主任医师  
任小军副主任医师  
沈君教授  
唐磊主任医师  
王劲主任医师  
王军主任医师  
王荣福教授  
王学梅教授  
王雅棣教授  
危安主任医师  
文碧秀教授  
吴晶涛主任医师  
肖恩华教授  
肖文波主任医师  
徐辉雄教授  
严惟力副教授  
杨薇副教授

### 消化内镜及介入治疗学

陈凤媛副教授  
陈素钻主任医师  
陈小勇主任医师  
陈鑫副主任医师  
丁西平主任医师  
冯对平副主任医师  
高道健副教授  
高峰主任医师  
郭强主任医师  
孔德润教授  
李家平教授  
李鹏教授  
刘杰民主任医师  
刘展主任医师  
茅爱武教授  
施宏主任医师  
孙冬林主任医师  
孙明军教授  
田锦林副主任医师  
万军教授  
王艳红主治医师  
王跃东主任医师  
吴杰主任医师  
吴灵飞教授  
余日胜主任医师  
张火俊副教授  
张立玮教授  
钟良主任医师  
诸葛宇征主任医师

### 消化中西医结合学

陈泽雄主任医师  
邓晶晶副主任医师  
杜业勤主任医师  
高月求教授  
郭卉主任医师  
霍介格主任中医师  
孔桂美讲师  
梅武轩教授  
南月敏主任医师  
唐文富教授  
王宪波教授  
王学美研究员  
魏睦新教授  
袁建业副研究员  
张春虎副教授  
赵岩教授

### 消化基础研究

安增梅副主任医师  
蔡文品副主任技师  
曾涛副教授  
曾柱教授  
陈杰副主任药师  
陈敬贤教授  
陈晓教授  
崔莲花教授  
崔梅花主任医师  
邓安梅教授  
邓庆副研究员  
邓益斌教授  
邱阜生主任医师  
董玉兰副教授  
段义农教授  
高国全教授  
高英堂研究员  
顾兵副研究员  
郭澄教授  
郭俊明教授  
郭长江研究员  
哈小琴主任医师  
黄辰教授  
黄河副教授  
黄坚副主任医师  
黄昆教授  
黄维亮主任检验师  
黄文林教授  
姜宏教授  
蒋炜副教授  
雷招宝主任药师  
黎观红教授  
李东辉教授  
李刚教授  
李瀚旻教授  
李君文研究员  
李玲副教授  
李孟森教授  
李妹副主任医师  
李树德副教授  
李文贵副教授  
李夏青教授  
李欣副教授  
李欣教授  
李焱副研究员  
李增山副教授  
李铮教授  
刘克辛教授  
刘起胜副教授  
刘树业主任技师  
刘松林教授



刘旭东副主任医师  
刘长征副教授  
柳增善教授  
陆伦根主任医师  
罗茂副研究员  
宁钧宇副研究员  
彭宗根副研究员  
乔明琦教授  
秦雪教授  
曲芬教授  
任浩副教授  
沈东炎副教授  
沈美龙主任医师  
沈涛副教授  
石松林副教授  
宋景春副主任医师  
苏兆亮副教授  
孙同文教授  
台桂香教授  
谭学瑞教授  
汤静副主任药师  
田文静副教授  
汪海峰教授  
汪思应教授  
王改平副教授  
王健教授  
王明荣研究员  
王钦红教授  
王书奎教授  
王晓东主任医师  
王秀伶教授  
王勇教授  
王友亮副研究员  
魏继福研究员  
文彬研究员  
吴道澄教授  
吴江锋教授  
吴军研究员  
吴俊华副教授  
吴巧凤副研究员

吴志强副教授  
伍义行教授  
夏敏教授  
胥萍主任医师  
秧茂盛教授  
杨金娥副教授  
姚继红教授  
阴赓宏研究员  
岳昌武副教授  
张达矜副研究员  
张红杰教授  
张丽军研究员  
张利生教授  
张淑坤副研究员  
张卓副教授  
赵海梅副教授  
赵鹏伟讲师  
赵建教授  
郑曙云副教授  
周春祥教授  
周南进研究员  
周晓武副主任医师  
朱益民教授  
朱争艳研究员  
庄园副研究员

#### 消化病理学

陈云昭副教授  
樊祥山副主任医师  
耿明主任医师  
郭炜教授  
韩安家教授  
何清主任医师  
季菊玲副教授  
李慧副教授  
李忠武副教授  
林洁副教授  
刘芳芳副主任医师  
刘丽江教授

陆建波主任医师  
门秀丽教授  
莫发荣副教授  
潘兴华副主任医师  
齐晓薇副主任医师  
秦阳华主治医师  
石雪迎主任医师  
孙青主任医师  
王宝根副主任医师  
王金胜教授  
王莉主任医师  
王娅兰教授  
颜宏利教授  
杨勤教授  
余宏宇教授  
张锦生教授  
赵春玲副教授  
郑建明教授  
朱亮副教授

#### 消化护理学

安力彬教授  
成杰副主任护师  
崔岩副主任护师  
单信芝副主任护师  
丁焕娟副主任护师  
方英副主任护师  
房辉副教授  
高薇副主任护师  
葛淑芝副主任护师  
谷敏副主任护师  
郭会敏主管护师  
郭巧珍主管护师  
赫玲玲主任护师  
黄砚萍副主任护师  
惠娜主管护师  
吉建华副主任护师  
江丽萍副主任护师  
江萍主任护师

金凤娟副主任护师  
金爽主任护师  
靳雁副主任护师  
孔德玲副主任护师  
李金娜主任护师  
李俊玲主任护师  
李卡副主任护师  
李丽副主任护师  
李连红主任护师  
李琬主任护师  
李敏香副主任护师  
李雯副主任护师  
李秀芬副主任护师  
李淳副主任护师  
廖培娇副主任护师  
林征教授  
刘慧萍主任护师  
刘永宁副主任护师  
龙晓英主任护师  
卢根娣主任护师  
罗凝香副主任护师  
马久红副主任护师  
马燕兰主任护师  
孟志新副主任护师  
潘爱红副主任护师  
潘玉凤副主任护师  
齐向秀主管护师  
齐艳副主任护师  
乔晓斐副主任护师  
乔筱玲副主任护师  
任珍主任护师  
史铁英主任护师  
宋江美副主任护师  
宋艳燕副主任护师  
孙丽娟副主任护师  
孙莉副主任护师  
孙晓美副主任护师  
唐碧云副主任护师  
唐鲁主管护师

陶然主管护师  
滕莉副主任护师  
田银娣主管护师  
王春英副主任护师  
王红副主任护师  
王家香主任护师  
王庆华副教授  
王晓春副主任护师  
王琇副主任护师  
王宇副主任护师  
王玉娟主任护师  
韦健主管护师  
席惠君副主任护师  
谢璐芬主管护师  
许璧瑜副主任护师  
薛海燕副主任护师  
薛素梅主任护师  
杨会副主任护师  
杨云英主任护师  
姚丽文副主任护师  
叶海丹副主任护师  
尹安春主任护师  
俞静娴副主任护师  
袁晓青副主任护师  
张彩云主任护师  
张洁副主任护师  
张丽副主任护师  
张丽燕主管护师  
张琳琳副教授  
张敏副主任护师  
张善红副主任护师  
张咏梅教授  
赵艳伟副主任护师  
郑粉善副主任护师  
郑思琳主任护师  
郑雪梅副主任护师  
周文琴副主任护师  
周霞霞副教授  
朱秀琴副主任护师  
朱颖副主任护师

## 目次

2016年4月28日 第24卷 第12期 (总第524期)

## 述评

- 1783 胃癌影像学的研究进展

蔡嵘, 任刚

- 1791 使用超细内镜直接经口胆道检查与治疗新进展

石定, 吴冬

## 基础研究

- 1797 肝再生磷酸酶3对SGC7901细胞迁移侵袭及RhoC表达的影响

章宗帅, 何守搞

- 1806 TNF-
- $\alpha$
- 激活大鼠胆管上皮细胞Jagged-1的表达并诱导其上皮-间质转化

李潼, 郭兵, 高杨, 于奇宏, 李锦锦, 鲜文静, 蒋帅, 郑启昌, 张勇

## 临床研究

- 1812 IL-28B在乙型肝炎相关性肝癌中的表达及其临床意义

徐峰, 于莹, 杨永红, 刘华, 王娟

## 文献综述

- 1819 胃食管反流病中医治疗经验小结

管华全, 谭峰, 李飞, 樊巧玲

- 1824 乙型肝炎病毒共价闭合环状DNA在慢性乙型肝炎治疗中的分子生物学研究进展

李保胜, 孙殿兴

- 1832 慢性乙型肝炎抗病毒免疫治疗的新策略

周佩, 钟晓祝, 廖慧华

- 1840 治疗溃疡性结肠炎药物的最新进展

陈锋, 严常开

- 1846 母乳微生物种类和来源及其对新生子代作用的研究进展

李思奇, 马守庆, 余凯凡, 朱伟云

## 研究快报

- 1853 肝细胞膜蛋白MRP3、MRP4在大鼠幽门结扎性肝损伤中的表达变化

王欢, 佟山, 红梅, 徐艳华, 巴图德力根, 韩志强, 图拉, 巴根那



- 1860 维生素D<sub>3</sub>衍生物MART-10对人胰腺癌BxPC-3细胞的生长及survivin mRNA、c-myc蛋白、P21蛋白表达的影响  
杨晟, 林军

## 临床经验

- 1866 EOX与FOLFIRI方案一线治疗晚期胃癌的疗效比较  
李建旺, 黄春珍, 元建华, 陈琼慧
- 1874 健康体检人群Fibrotouch受控衰减参数的相关影响因素  
宋玉君, 常晓, 李晓宇, 张鹏, 田宇彬
- 1880 乌鲁木齐市社区居民非酒精性脂肪肝流行现状调查  
宋江美, 咸亚静, 莫合德斯·斯依提, 林素兰
- 1885 不同病程的慢性乙型肝炎病毒感染者外周血中调节性T细胞和自然杀伤细胞的表达及相关性  
张晓慧, 姜金丽, 段钟平, 陈煜
- 1891 肝移植围术期输血对术后并发症发生的影响  
王淑英, 雷光林, 孙佳轶, 刘佳, 刘志国
- 1898 水飞蓟宾联合恩替卡韦治疗乙型肝炎肝硬化的临床疗效  
蔡建刚, 朱婷婷, 刘芙蓉, 黄志刚
- 1903 肝硬化患者自发性细菌性腹膜炎危险因素Meta分析  
申红霞, 姜小平, 裴新伟, 郑晓, 杜文婷, 赵贝贝, 王文娟
- 1910 腹腔镜肝切除治疗肝癌合并肝硬化的短期疗效  
王琦, 段键, 林杰, 黄汉飞, 徐王刚, 夏志超, 张伟鑫, 曾仲
- 1916 氟哌噻吨美利曲辛联合曲美布汀治疗伴有焦虑抑郁的肠易激综合征患者的疗效评估  
韩静, 孙光斌, 张宝芹, 王柏清, 李甜甜
- 1921 急诊PCI术后消化道出血的相关因素  
徐意, 楼玉凤
- 1926 腹腔镜超声在机器人辅助腹部肿瘤微创治疗中的应用  
高楠, 牟培源, 白媛媛, 周宁新
- 1931 *MDR1* G2677T基因多态性在预测紫杉醇为主的化疗方案治疗晚期消化系难治性恶性肿瘤疗效中的价值  
汪铁军, 谢中华, 郑元秀, 黄芳芳, 沈靖

## 病例报告

- 1938 原发性胆汁性肝硬化合并肺间质病变1例  
龙历, 吴亚云

## 附录

- I - V 《世界华人消化杂志》投稿须知  
I 2016年国内国际会议预告

## 志谢

- I - II 志谢《世界华人消化杂志》编委

## 消 息

- 1805 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标  
1831 《世界华人消化杂志》外文字符标准  
1852 《世界华人消化杂志》修回稿须知  
1859 《世界华人消化杂志》参考文献要求  
1865 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费  
1873 《世界华人消化杂志》栏目设置  
1902 《世界华人消化杂志》正文要求  
1930 《世界华人消化杂志》消化护理学领域征稿启事

## 封面故事

《世界华人消化杂志》编委,任刚,主任医师,硕士生导师,医学博士,200092,上海市杨浦区控江路1665号,上海交通大学医学院附属新华医院放射科.主要从事胃肿瘤及儿童腹部肿瘤影像学及相关基础研究.目前担任中国研究型医院学会放射学专业委员会会员,中国教育部科技评价与评审信息系统评审专家,上海市学位委员会论文评审专家和上海市科学技术专家库成员.担任《世界华人消化杂志》等4本期刊的编委及审稿专家.以第一作者发表SCI论文4篇(总IF = 8.7),以第一作者或通讯作者发表统计源期刊论文60篇,以负责人完成省部级及局级课题3项,参编专业著作4本.

## 本期责任人

编务 李香;送审编辑 闫晋利,都珍珍;组版编辑 闫晋利;英文编辑 王天奇;责任编辑 郭鹏;形式规范审核编辑部主任 郭鹏;最终清样审核总编辑 马连生

## 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2016-04-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编

程英升,教授,200233,上海市,上海交通大学附属第六人民医院放射科

党双锁,教授,710004,陕西省西安市,西安交通大学医学院第二附属医院感染科

江学良,教授,250031,山东省济南市,中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘连新,教授,150001,黑龙江省哈尔滨市,哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

刘占举,教授,200072,上海市,同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾,教授,310006,浙江省杭州市,浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈,教授,200433,上海市,中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

王俊平,教授,030001,山西省太原市,山西省人民医院消化科

王小众,教授,350001,福建省福州市,福建医科大学附属医院消化内科

姚登福,教授,226001,江苏省南通市,南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明,教授,100073,北京市,首都医科大学北京电力医院普外科

编辑部

郭鹏,主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025,北京市朝阳区东四环中路62号,远洋国际中心D座903室

电话:010-59080035

手机:13901166126

传真:010-85381893

E-mail:wcjd@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc

8226 Regency Drive, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025,北京市朝阳区东四环中路62号,远洋国际中心D座903室

电话:010-85381892

传真:010-85381893

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议,开放获取和在线出版的学术刊物.本刊被中国知网《中国期刊全文数据库》,美国《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》,荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》数据库收录.

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>),所有办公流程一律可以在线进行,包括投稿、审稿、编辑、审读,以及作者、读者和编者之间的信息反馈交流.

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点,除非特别声明.本刊如有印装质量问题,请向本刊编辑部调换.

定价

每期90.67元 全年36期3264.00元

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有



## Contents

Volume 24 Number 12 April 28, 2016

### EDITORIAL

1783 Advances in imaging of gastric cancer

*Cai R, Ren G*

1791 Advances in direct peroral cholangioscopy using an ultrathin endoscope

*Shi D, Wu D*

### BASIC RESEARCH

1797 Influence of phosphatase of regenerating liver 3 on cell migration, invasion and expression of RhoC in SGC7901 cells

*Qin ZS, He SG*

1806 Tumor necrosis factor-alpha up-regulates expression of Jagged-1 and induces epithelial-mesenchymal transition in rat cholangiocytes *in vitro*

*Li T, Guo B, Gao Y, Yu QH, Li JJ, Xian WJ, Jiang S, Zheng QC, Zhang Y*

### CLINICAL RESEARCH

1812 Clinical significance of IL-28B expression in HBV related hepatocellular carcinoma

*Xu F, Yu Y, Yang YH, Liu H, Wang J*

### REVIEW

1819 Treatment of gastroesophageal reflux disease by traditional Chinese medicine

*Guan HQ, Tan F, Li F, Fan QL*

1824 Role of covalently closed circular DNA in treatment of chronic hepatitis B

*Li BS, Sun DX*

1832 New immunotherapy strategies for antiviral treatment of chronic hepatitis B

*Zhou P, Zhong XZ, Liao HH*

1840 Recent progress in drug therapy of ulcerative colitis

*Chen F, Yan CK*

1846 Species and origin of microorganisms in breast milk and their effects on infants

*Li SQ, Ma SQ, Yu KF, Zhu WY*

### RAPID COMMUNICATION

1853 Expression of MRP3 and MRP4 in pyloric ligation induced hepatic injury in rats

*Wang H, Tong S, Hong M, Xu YH, Batudeligen, Han ZQ, Tula, Bagenna*

- 1860 Effect of vitamin D<sub>3</sub> derivative MART-10 on cell growth and expression of survivin mRNA, c-myc protein and P21 protein in BxPC-3 cells

*Yang S, Lin J*

## CLINICAL PRACTICE

- 1866 Comparison of efficacy of modified EOX and FOLFIRI regimens in treatment of metastatic gastric cancer

*Li JW, Huang CZ, Yuan JH, Chen QH*

- 1874 Factors influencing controlled attenuation parameter measured by Fibrotouch in healthy individuals

*Song YJ, Chang X, Li XY, Zhang P, Tian ZB*

- 1880 Prevalence of and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease in community residents in Urumqi city

*Song JM, Xian YJ, Mohedesi-Siyiti, Lin SL*

- 1885 Expression of regulatory T cells and natural killer cells in peripheral blood of patients in different stages of chronic hepatitis B virus infection

*Zhang XH, Lou JL, Duan ZP, Chen Y*

- 1891 Effect of perioperative blood transfusion on postoperative complications after liver transplantation

*Wang SY, Lei GL, Sun JY, Liu J, Liu ZG*

- 1898 Clinical efficacy of silybin combined with entecavir for treatment of patients with post-hepatitis cirrhosis

*Cai JG, Zhu TT, Liu FR, Huang ZG*

- 1903 Risk factors for spontaneous bacterial peritonitis in cirrhotic patients: A meta-analysis

*Shen HX, Lou XP, Chang XW, Zheng X, Du WT, Zhao BB, Wang WJ*

- 1910 Short-term efficacy of laparoscopic hepatectomy for treating hepatocellular carcinoma with cirrhosis

*Wang Q, Duan J, Lin J, Huang HF, Xu WG, Xia ZC, Zhang WX, Zeng Z*

- 1916 Therapeutic effects of flupentixol and melitracen combined with trimebutine in patients with irritable bowel syndrome accompanied with anxiety and depression

*Han J, Sun GB, Zhang BQ, Wang BQ, Li TT*

- 1921 Risk factors for gastrointestinal bleeding after emergency percutaneous coronary intervention

*Xu Y, Lou YF*

- 1926 Application of laparoscopic ultrasound in robot-assisted minimally invasive therapy for abdominal tumors

*Gao N, Mu PY, Bai YY, Zhou NX*

- 1931 Value of *MDR1* G2677T genetic polymorphism in predicting efficacy of acitaxel-based chemotherapy in refractory advanced gastrointestinal malignancies

*Wang TJ, Xie ZH, Zheng YX, Huang FF, Shen J*

## CASE REPORT

- 1938 One case of primary biliary cirrhosis with pulmonary interstitial lesions

*Long L, Wu YY*



## Contents

*World Chinese Journal of Digestology*  
Volume 24 Number 12 April 28, 2016

### APPENDIX

I – V Instructions to authors  
I Calendar of meetings and events in 2016

### ACKNOWLEDGMENT

I – II Acknowledgments to reviewers for the *World Chinese Journal of Digestology*

### COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Gang Ren, Chief Physician, Department of Radiology, Xinhua Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University Medical School, 1665 Kongjiang Road, Yangpu District, Shanghai 200092, China

### Indexed/Abstracted by

Chinese Journal Full-text Database, Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, and Abstract Journals.

### RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Xiang Li* Review Editor: *Jin-Li Yan, Zhen-Zhen Du* Electronic Editor: *Jin-Li Yan*  
English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Peng Guo* Proof Editor: *Peng Guo*  
Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

### Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993  
**Renamed** on January 25, 1998  
**Publication date** April 28, 2016

#### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

#### ISSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

#### EDITOR-IN-CHIEF

**Ying-Sheng Cheng, Professor**, Department of Radiology, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China

**Shuang-Suo Dang, Professor**, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

**Xue-Liang Jiang, Professor**, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

**Lian-Xin Liu, Professor**, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

**Zhan-Ju Liu, Professor**, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

**Bin Lv, Professor**, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China

**Da-Lie Ma, Professor**, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

**Jun-Ping Wang, Professor**, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

**Xiao-Zhong Wang, Professor**, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

**Deng-Fu Yao, Professor**, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

**Zong-Ming Zhang, Professor**, Department of General Surgery, Beijing Electric Power Hospital, Capital Medical University, Beijing 100073, China

#### EDITORIAL OFFICE

Peng Guo, Director  
*World Chinese Journal of Digestology*  
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China  
Telephone: +86-10-59080035 13901166126  
Fax: +86-10-85381893  
E-mail: [wjcd@wjgnet.com](mailto:wjcd@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>

#### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc  
8226 Regency Drive, Pleasanton, CA 94588, USA  
Fax: +1-925-223-8242  
Telephone: +1-925-223-8243  
E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>

#### PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China  
Telephone: +86-10-85381892  
Fax: +86-10-85381893

#### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 90.67 Yuan for each issue  
RMB 3264 Yuan for one year

#### COPYRIGHT

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this open access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

#### SPECIAL STATEMENT

All articles published in journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, but not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

#### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at [www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp](http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp). If you do not have web access, please contact the editorial office.

## 胃癌影像学的研究进展

蔡嵘, 任刚

蔡嵘, 上海交通大学医学院附属瑞金医院放疗科 上海市 200025

任刚, 上海交通大学医学院附属新华医院放射科 上海市 200092

任刚, 主任医师, 主要从事胃肿瘤及儿童腹部肿瘤影像学及相关基础研究。

上海交通大学医学院科研基金资助项目, No. 09XJ21013  
上海市卫生局科研基金资助项目, Nos. 2010029, 2010057  
上海市科学技术委员会科研基金资助项目, No. 124119a0300  
上海市教育委员会科研基金资助项目, No. 12YZ304

作者贡献分布: 本文综述由蔡嵘完成; 任刚审校。

通讯作者: 任刚, 主任医师, 200092, 上海市杨浦区控江路 1665号, 上海交通大学医学院附属新华医院放射科。  
[rengang527@163.com](mailto:rengang527@163.com)

收稿日期: 2015-12-14

修回日期: 2016-02-05

接受日期: 2016-02-22

在线出版日期: 2016-04-28

### Advances in imaging of gastric cancer

Rong Cai, Gang Ren

Rong Cai, Department of Radiotherapy, Ruijin Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University Medical School, Shanghai 200025, China

Gang Ren, Department of Radiology, Xinhua Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University Medical School, Shanghai 200092, China

Supported by: Scientific Research Fund of Shanghai Jiaotong University Medical School, No. 09XJ21013; Scientific Research Fund of Shanghai Health Bureau, Nos. 2010029 and 2010057; Scientific Research Fund of Shanghai Science and Technology Commission, No. 124119a0300; Scientific Research Fund of Shanghai Municipal Education Commission, No. 12YZ304

Correspondence to: Gang Ren, Chief Physician, Department of Radiology, Xinhua Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University Medical School, 1665 Kongjiang Road, Yangpu District, Shanghai 200092, China. [rengang527@163.com](mailto:rengang527@163.com)

Received: 2015-12-14

Revised: 2016-02-05

Accepted: 2016-02-22

Published online: 2016-04-28

### Abstract

Due to the advances in imaging technology, the diagnosis, staging, and efficacy evaluation of gastric cancer by imaging are continuously improving. This paper comprehensively analyzes different imaging methods in cancer research, focusing on new imaging techniques for the diagnosis and treatment of gastric cancer, their advantages and limitations in clinical application, and the opportunities and challenges. Radiologists can take the initiative to collaborate with relevant clinical departments through a multidisciplinary platform with an open mind in the face of various problems presented clinically, understand the requirements for standardized diagnosis and treatment of gastric cancer, and fully communicate with imaging equipment providers and engineering and technical personnel to explore more methods and indicators to improve the diagnosis of this malignancy.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Imaging; Advances

Cai R, Ren G. Advances in imaging of gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(12): 1783-1790

### 背景资料

随着影像技术的迅猛发展, 用于胃癌诊断、分期及疗效评价与随诊的影像检查手段日趋多样, 诊断水平不断提高, 除了传统的钡餐造影外, 还包括超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)、多层螺旋CT(multi-detector CT, MDCT)、磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)、正电子发射断层扫描(positron emission tomography, PET)-CT等。

### 同行评议者

吴晶涛, 主任医师, 江苏省苏北人民医院医学影像科, 扬州大学临床医学院

## ■ 研发前沿

得益于影像学软硬件技术的进步, 其在胃癌诊断中发挥着日渐重要的作用。虽然从术前分期到临床疗效评价, 影像学还面临着诸多无法回避的劣势, 但在面对挑战的同时, 也为胃癌影像学的发展提供了难得的机遇。

URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1783.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i12.1783>

## 摘要

得益于影像学软硬件技术的进步, 胃癌诊断、分期及疗效评价与随诊的影像检查水平不断提高。本文将针对当前胃癌研究热点, 综合分析不同影像检查方法, 侧重于影像学新技术在胃癌诊断与治疗中的研究现状, 对其在临床应用中的优势与局限性进行客观的评价, 并对其面临的机遇与挑战进行展望。影像科医师可通过多学科平台, 主动地与相关临床科室开展协作, 以开放的心态面对临床提出的各种问题, 深入了解胃癌规范化诊疗的需求, 并和影像设备提供商及工程技术人员充分沟通, 探索更多的手段和指标, 不断推动胃癌影像学向精细化和实用化方向发展。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃癌; 影像学; 进展

**核心提示:** 本文将总结分析不同影像检查方法, 侧重于影像学新技术在胃癌诊断与治疗中的研究现状, 对其在临床应用中的优势与局限性进行客观的评价, 并对其面临的机遇与挑战进行展望。

蔡嵘, 任刚. 胃癌影像学的研究进展. 世界华人消化杂志 2016; 24(12): 1783-1790 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1783.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i12.1783>

## 0 引言

随着影像技术的迅猛发展, 用于胃癌诊断、分期及疗效评价与随诊的影像检查手段日趋多样, 诊断水平不断提高。除了传统的钡餐造影外, 包括超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)、多层螺旋CT(multi-detector CT, MDCT)、磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)、正电子发射断层扫描(positron emission tomography, PET)-CT等。本文将总结分析不同影像检查方法, 侧重于影像学新技术在胃癌诊断与治疗中的研究现状, 对其在临床应用中的优势与局限性进行客观的评价, 并对其面临的机遇与挑战进行展望。

## 1 胃癌术前分期的影像学进展

胃癌的能谱曲线不同于正常的胃壁组织, 故

可利用能谱曲线分析癌肿在胃壁内的侵犯深度; 同时, 胃周脂肪组织碘浓度(能谱曲线)的变化规律可反映肿瘤在胃周脂肪间隙内的浸润范围, 有研究者<sup>[1]</sup>发现利用单能模式重建动脉期及门静脉期影像, 进行碘-脂肪物质分离定量分析, 测量胃癌周围和正常胃周脂肪间隙内的碘浓度值, 受浸润脂肪碘浓度高于无浸润脂肪, 从而明确手术切除范围。Pan等<sup>[2]</sup>采用70 keV影像获得的信噪比可将胃癌T分期的准确度从普通CT的74%提高到82%。1986年, Le Bihan等<sup>[3]</sup>首次提出了体素内不相干运动(intravoxel incoherent motion, IVIM)理论, 2年后, Le Bihan等<sup>[4]</sup>首次将IVIM-磁共振扩散加权成像(diffusion-weighted imaging, DWI)应用于临床。IVIM采用双指数模型来描述随着b值的增加, 组织信号的衰减变化过程, 这样可以避免传统DWI缺乏共识的b值及伪扩散对表现扩散系数(apparent diffusion coefficient, ADC)的影响, 其估算出的定量参数将能更准确的分别反应组织分子扩散及微循环灌注。其信号强度的衰减方程式:  $S_b/S_0 = (1-f)\exp(-bD) + f\exp[-b(D+D^*)]$ , 其中S = 体素内信号强度, b值为扩散敏感因子, D = 单纯扩散系数, D\* = 假性扩散系数, f = 灌注分数。IVIM-DWI参数D值、D\*值、f值对鉴别胃癌及其邻近正常胃壁有一定帮助。2014年有多篇核MRI, 尤其是利用DWI进行胃癌T分期的文献<sup>[5-8]</sup>发表, 且来自不同医学中心, 表明DWI成像正以其高肿瘤组织信号对比度的优势引起胃癌影像研究者的关注。但是, 正常组织在DWI图像上往往信号衰减明显, 成为判断肿瘤在胃壁内浸润深度的不利因素, 其对T分期的应用价值及相关评价标准尚待大样本研究证实。扩散敏感梯度的b值若取较高值, 这样测得的ADC值将更接近于组织的真实扩散值<sup>[9]</sup>。但当采用高b值成像时, 组织解剖结构显示不清晰, 信噪比和图像质量下降。张晓鹏等<sup>[10]</sup>对于多个b值DWI的研究结果表明, DWI选取b = 1000 s/mm<sup>2</sup>时, 既使得图像的对比值相对较高, 胃腔内容物的信号受到充分的抑制, 显著突出癌肿信号, 又使得癌肿的ADC值更为接近于其真实值。目前研究<sup>[11-13]</sup>多采用高b值(800-1000 s/mm<sup>2</sup>), 以尽量减少血管灌注的影响。

双能量CT的出现为N分期提供了新的评价手段, Lv等<sup>[14]</sup>通过对管状腺癌、印戒细胞癌的转移淋巴结和非转移淋巴结进行能谱分



## ■ 相关报道

2014年有多篇利用磁共振扩散加权成像(diffusion-weighted imaging, DWI)进行胃癌T分期的文献发表, 且来自不同医学中心, 表明DWI成像正以其高肿瘤组织信号对比度的优势引起胃癌影像研究者的关注。

析, 发现在动脉期两组转移淋巴结与非转移淋巴结之间的碘浓度、碘浓度比等有差异, 从而可以区分淋巴结的转移情况。Li等<sup>[15]</sup>利用宝石CT能谱最佳keV及信噪比准确地测量淋巴结的能谱数据, 使用K最邻近结点算法(K-nearest neighbor algorithm, KNN)将淋巴结分期的总体准确度提高到96.33%。Heye等<sup>[16]</sup>利用最佳keV和优化能量影像进行N分期, 将其总体精确度分别提高到82%和85%。尽管以CT为主的研究文章非常多, 但至今尚无为各方说认同的淋巴结转移的影像评价手段和标准出台。受到空间分辨率和软组织分辨率的双重限制, 目前无论超声、CT、MRI及PET均难以准确评价5 mm以下的小淋巴结转移情况, 而这部分淋巴结又占据了胃癌转移淋巴结相当多的部分。所以, 无论联合数目、形态和强化等多种指标, 或应用能谱CT、MRI扩散成像甚至PET-SUV等各种分子或功能影像学手段, 又或联合各种生物学行为指标建立人工智能模型进行评价, 均无法实际解决N分期水平不高的临床现实<sup>[17]</sup>。Meta分析<sup>[18]</sup>中, 影像学N分期准确率在50%-70%不等。目前情况下, 除了等待影像学分辨率的进一步改进, 或淋巴结MRI特异性造影剂的推广应用, 影像学N分期水平短期内较难有根本的改善。

一项临床大宗研究<sup>[19]</sup>数据表明, 在CT评价为M0的胃癌患者中, 诊断性腹腔镜探查仍能发现其中23%的患者有腹膜转移。主要原因在于CT对一些早期转移征象的定性困难。研究者应重视胃癌腹膜转移影像学征象的研究, 对照腹腔镜探查结果, 对一些早期征象进行挖掘和总结, 如污迹征、卷发征和小肠系膜皱褶征等。同时, 积极探索能谱CT及物质分离技术定量指标和MRI高分辨率成像等新手段的应用, 这可能成为提高胃癌腹膜转移影像学诊断水平的突破点。Yamada等<sup>[20]</sup>发现转移瘤与肝细胞肝癌能谱特征存在较大差异, 而与原发肿瘤能谱特征接近。Lv等<sup>[14]</sup>亦发现肝脏微小转移瘤与肝脏小囊肿具有不同的能谱曲线及能谱特征, 从而能有效地将两者鉴别开来。PET-CT也可检测到隐匿性转移病灶, 从而改变胃癌的分期与临床治疗方案, 但由于受到空间分辨率的限制, PET-CT对于腹膜转移的判定并不优于MDCT<sup>[21]</sup>。

## 2 胃癌原发病灶检测的影像学进展

随着能谱成像技术及后处理功能的不断完善,

根据物质在不同能量X线下衰减系数的不同来实现物质分离。研究<sup>[22,23]</sup>表明, 早期胃癌标准化碘浓度(normalized iodine concentration, NIC)高于正常胃壁, 且静脉期NIC要高于动脉期, 表明胃癌具有延迟强化的特点。早期胃癌及正常胃壁动脉期和静脉期能谱曲线均呈下降型, 早期胃癌能谱曲线位于正常胃壁上方, 对应的能谱曲线更为陡直。双源CT双能量扫描成像也有助于早期胃癌的定性及定量诊断。Mun等<sup>[24]</sup>最早将MRS应用于胃癌的诊断, 采用点分辨技术(point resolved spectroscopy, PRESS), 在1.5 T及9.4 T场强内, 获得了正常胃壁的MRS信号, 并且发现胃癌病灶内脂质峰的降低以及乳酸盐、胆碱峰的上升具有诊断意义。高分辨魔角自旋MRS(high-resolution magic angle spinning MRS, HR-MAS MRS)可以直接检测组织, 并获得高分辨力波谱<sup>[25-27]</sup>。Calabrese等<sup>[28]</sup>应用HR-MAS MRS技术对离体胃标本进行研究, 结果提示相关化合物浓度, 诸如三酰甘油、胆碱、甘氨酸及丙氨酸水平可以成为鉴别胃癌的重要生化指标。此外, 原发胃癌标准摄取值(standard uptake value, SUV)高低与肿瘤的大小及侵犯深度有关, 即随着肿瘤对胃壁浸润深度的加深, SUV值随之升高, 这对肿瘤的T分期有一定的参考价值。但是对于一些特殊类型的胃癌, 如黏液腺癌、印戒细胞癌等多为低摄取, 这可能与肿瘤细胞表面葡萄糖运转蛋白的数量即代谢功能变异, 导致<sup>18</sup>F-FDG摄取过低或排除过快有关。由于受到假阳性与假阴性的影响, PET-CT对于早期胃癌的检出率非常低。同时受到空间分辨率的影响, 其对进展期胃癌的诊断准确率也不及MDCT<sup>[29,30]</sup>。

## 3 胃癌转移淋巴结的影像进展

胃癌淋巴结阳性转移的正确评估存在许多争论和疑问亟待解决。既往多以淋巴结的大小(短径)、形态、分布、淋巴结门有无改变、有无融合、有无包膜外侵袭以及增强方式等指标作为参考标准, 淋巴结转移的敏感性和可靠性不高。

能谱CT(gemstone spectral CT, GSCT)是在继承原有MSCT优点的基础上, 将单参数成像变为多参数成像, 由原来的混合能量成像变为单能量成像的能谱成像。对同1例患者的胃壁原发病灶与区域淋巴结选取大小相同的适当

### ■ 创新盘点

Le Bihan等首次提出了体素内不相干运动(intravoxel incoherent motion, IVIM)理论并将IVIM-DWI应用于临床. IVIM采用双指数模型来描述随着b值的增加, 组织信号的衰减变化过程, 这样可以避免传统DWI缺乏共识的b值及伪扩散对ADC的影响.

的兴趣区(region of interest, ROI), 获得碘、水含量分布散点图, 并获得不同keV下的CT值及能谱衰减曲线. 动脉期获得胃壁原发病变与区域淋巴结的能谱衰减曲线, 若淋巴结曲线与胃壁病变曲线大致重叠, 即判定为淋巴结转移. 许琦等<sup>[31]</sup>报道GSCT组评估淋巴结转移的病理符合率高于双源CT组(dual source CT, DSCT). 庞丽芳等<sup>[32]</sup>发现转移性淋巴结与非转移性淋巴结的碘基值比率不同, 并且不同类型腺癌转移淋巴结亦存在差异. 最佳单能图像可以提高胃癌N分期的准确性, N分期符合率高达80%<sup>[2]</sup>. 万娅敏<sup>[33]</sup>研究显示: 120 keV图像胃癌患者N分期符合率为62.8%, 而70 keV图像可以将N分期符合率提高至74.4%. 可将淋巴结碘浓度平均值1 mg/mL及1.3 mg/mL作为判断少量淋巴结转移组及多量淋巴结转移组的阈值<sup>[34]</sup>.

MRI中的DWI序列对较小的转移性淋巴结的检出率很高. 在选择测量淋巴结径短时, DWI序列对转移淋巴结诊断的符合率甚至可以高100%<sup>[35,36]</sup>. 转移淋巴结的ADC值明显低于非转移性淋巴结, 这可能与生物组织中水分子的扩散与生物膜结构、大分子的吸附作用及体液的黏滞度有关. 2004年, 日本学者Takahara等<sup>[37]</sup>开发了一种新的检测肿瘤技术, 在DWI的基础上, 将其与EPI及短反转时间反转恢复(short time inversion recovery, STIR)脂肪抑制技术相结合, 产生了一种新的脉冲序列: 反转恢复回波平面弥散序列(STIR-DWI-EPI). 由于采用了全身大范围的扫描, 并加以3D后处理重建, 其成像效果和临床意义与PET有许多相似之处, 因此也被形象的称为MR“类PET”技术, 又称为磁共振背景抑制全身弥散成像(whole-body diffusion-weighted imaging with back-ground suppression, WB-DWI). WB-DWI可以进行一次性、大范围的全身扫描, 能对肿瘤是否转移及术前病灶可切除性进行评估. 徐艳琦等<sup>[38]</sup>研究结果表明WB-DWI对胃癌的全身筛查和早期诊断具有重要意义, 对胃癌的N分期亦有重要价值. 腹部DWIBS选择b值在500-1000 s/mm<sup>2</sup>较合适. DWIBS序列诊断转移淋巴结除图像信号外, 如能结合淋巴结直径及ADC值, 能够提高转移性淋巴结的检出率.

近年来随着分子影像学的发展, 一种新型的对比剂: 超微超顺磁性氧化铁颗粒(ultra small superparamagnetic iron oxide, USPIO)逐渐应用

于淋巴结转移的诊断与鉴别诊断. USPIO可以被正常淋巴结中的网状内皮细胞所摄取, 导致T2弛豫时间缩短, 使正常淋巴结在质子密度加权成像及T2加权像上呈低信号, 而转移性淋巴结由于网状内皮细胞被肿瘤细胞所破坏而失去摄取USPIO的能力, MRI上呈相对高信号, 从而有助于正常淋巴结与转移淋巴结的鉴别, 其准确性可高达90%以上. 对于微转移淋巴结, 有时也会产生假阴性, 降低敏感性; 纤维化、滤泡增生或炎性反应性淋巴结摄取USPIO的能力也会降低, 从而造成假阳性的结果, 降低特异性. USPIO的操作有其特殊的流程, 需要先行MRI平扫, 后将USPIO对比剂缓慢滴注8 h至患者体内, 24-36 h后再行扫描. 与常规对比剂相比, 繁琐的操作步骤极大地限制了其在临床的广泛应用, 目前尚处在科研阶段.

PET-CT对胃癌转移灶的检测有不可比拟的优势, 并且在胃的淋巴引流区域内, 对其造成干扰的因素较少, 通过采用延迟显像等技术的处理, PET-CT对诊断胃癌淋巴结的假阳性率很低. PET-CT对于淋巴结的判定具有较高的特异性与阳性预测值, 因此对于CT不能明确是否转移的肿大淋巴结, PET-CT可以凸显自身的优势. 有研究认为, 由于PET-CT空间分辨率所限, 对直径5 mm左右的淋巴结转移往往显示假阴性, 即使结合了CT, PET-CT对微小代谢增高的转移淋巴结的检出仍有限, 但特异性较高, 更具有临床治疗意义. 但总体来说, PET-CT对于胃癌淋巴结的检出率不及CT, 原因包括: 胃肠蠕动造成的生理性摄取掩盖小淋巴结的检出; 位于癌旁的转移淋巴结可能被原发病灶的放射性所掩盖而出现假阴性; 受空间分辨率的影响; 部分融合的转移淋巴结误认为是单个淋巴结; 对于存在微转移的正常大小淋巴结, <sup>18</sup>F-FDG摄取可以不增高而出现误判.

共聚焦激光显微内镜(confocal laser endomicroscopy, CLE)可以在活体观察黏膜表面以下深达250 μm的显微结构, 做出相当于病理组织学的即时诊断. CLE诊断转移淋巴结的敏感性和阳性预测值可以达到80%以上, 并能提供淋巴结转移的具体数目, 优于CT和EUS等技术. 但CLE诊断转移淋巴结的特异性仅为68%, 提示其对阴性转移淋巴结判断有一定限制. 因此CLE诊断转移淋巴结真正应用于临床实践还需要进一步的改进<sup>[39]</sup>. CLE无需对标本

进行切片、固定, 可对术中切除的腹腔淋巴结即刻进行检查, 并做出即时诊断, 与术中冰冻检查相比具有简单、快速的优点, 减少手术等待时间, 降低了临床病理医生的工作负担, 是一种潜在的取代术中组织学检查或者辅助组织学诊断的新技术。

超声双重造影(double contrast-enhanced ultrasonography, DCUS)检查对胃癌阳性淋巴结的判断不光看最短径, 同时兼顾局部血供情况, 即局部淋巴结出现肿瘤组织典型的动脉期“正性显影”和静脉期“负性显影”的特点, 不管淋巴结最短径大小均判断为阳性。俞耀军等<sup>[40]</sup>研究显示根据淋巴结个数进行N分期, DCUS和螺旋CT对阳性淋巴结判断总的符合率及N1、N2和N3的符合率, 两者比较无显著性差异。这至少说明DCUS检查对阳性淋巴结判断的准确性与螺旋CT相当, 其在胃癌术前淋巴分期中有一定的应用价值。

#### 4 胃癌前哨淋巴结影像学进展

前哨淋巴结(sentinel lymph node, SLN)是指首先接受肿瘤转移的一个或一组淋巴结。前哨淋巴结活检(sentinel lymph node biopsy, SLNB)是判断淋巴结转移的金标准。SLNB的关键在于准确定位SLN。将少量水溶性碘造影剂局部注射, 通过淋巴引流到达淋巴系统, 之后进行CT扫描, 这种方法称为间接CT淋巴结造影(indirect CT lymphography, CTILG)。目前一般采用胃镜胃癌旁黏膜下注射2 mL非离子型造影剂后, 分别于5、10、20 min行CT扫描并采集图像。24 h后于肘静脉推注非离子型造影剂后并分别行动脉期、门脉期、静脉期及延迟期扫描多期增强扫描。剖腹后可定位的胃癌, 用针头于选取3个不同点分别于浆膜下注射亚甲蓝各1 mL。收集被染色的SLN, 同时记录其所属的组别、站数。造影剂注射部位是在肿瘤及周围浆膜下, 其流动方向与肿瘤的淋巴引流方向一致, 能够有针对性的反映肿瘤的局部淋巴引流特征。间接CT淋巴造影能显示转移淋巴结的充盈缺损, 从而可分辨转移性淋巴结。染色法SLNB可以比较准确检出胃癌SLN, 可用于胃癌SLN的定位, 但仅限于早期胃癌的诊断。联合应用间接CT淋巴造影、多期增强扫描及术中蓝染色结合术后病理检查结果, 可进一步提高SLNB诊断胃癌周围淋巴结转移的准确

性, 降低假阴性率。

#### 5 胃癌新生血管形成的影像学评估

MDCT灌注成像技术是从血流动力学方面为胃癌诊断提供信息。1991年Miles等<sup>[41,42]</sup>首次提出了CT灌注成像(CT perfusion imaging, CTPI)的概念。CTPI是目前体外无创获得胃血流动力学数据的唯一方法, 经工作站处理得到CT灌注伪彩图, ROI, 并测得相应的血流量(blood flow, BF)、血容量(blood volume, BV)、对比剂平均通过时间(mean transmit time, MTT)和表面通透性(permeability surface, PS)4个灌注参数值。胃癌新生毛细血管内皮细胞间连接不紧密, 基膜发育不完善, 有较高的通透性, 使肿瘤组织较正常组织的灌注值明显升高。对应的BF、BV和PS伪彩图病灶区域红色为主、夹杂少许黄色, 直观地显示了肿瘤区域最有活性的部分, 而MTT图多表现为病灶区域蓝色为主、夹杂少许黄色, 提示肿瘤部位血流量大, 血管内流速快。

#### 6 胃癌分化程度及病理分型的影像学评估

MDCT灌注成像是一种功能成像方法, 可以提供肿瘤的血流动力学信息。CTPI的理论基础为核医学的放射性示踪剂稀释原理和中心容积定律。采用CT体部灌注扫描序列对靶层面以病灶最大层面为中心进行灌注扫描。灌注参数一般包括: BF、达峰时间(time to peak, TTP)、Patlak血容量(Patlak blood volume, PBV)、Patlak表面通透性(Patlak permeability surface, PPS)。后处理软件自动计算出肿瘤的相关灌注参数值。朱勇等<sup>[43]</sup>根据肿瘤细胞不同分化程度将44例胃癌患者分成高分化组和低分化组, 研究显示: 低分化胃癌组BF值与高分化胃癌组比较无统计学差异, 而TTP值、PBV值、PPS值低分化胃癌组与高分化胃癌组比较差异均有统计学意义。反映了两组病例在血流动力学和血管功能方面的差异性, 也反映了肿瘤生物学的相关特性。研究表明, 双能量CT通过碘基图、水基图可以定量测量出病灶水和碘的浓度值等, 而这些与肿瘤的组织分化程度有相关性, 从而在评价胃癌病理分型及分化程度方面展现出良好的临床应用前景。陈丽红等<sup>[44]</sup>研究发现胃非黏液腺癌组的碘浓度、碘浓度比均高于黏液腺癌组; 印戒细胞癌虽属于黏液腺

#### 应用要点

影像科医师可通过多学科平台, 以开放的心态面对临床提出的各种问题, 深入了解胃癌规范化诊疗需求, 并和影像设备提供商及工程技术人员充分沟通, 探索更多的手段和指标, 不断推动胃癌影像学向精细化和实用化方向发展。



### ■名词解释

扩散加权成像(DWI): 是通过采用梯度磁场自旋回波技术成像反映人体组织内水分子的随机布朗运动特点, 测量水分子扩散运动过程中局部受限的程度和方向, 进而间接反映感兴趣区组织内微观结构的变化及特点。

癌, 但增强后所测得的碘浓度却明显高于黏液腺癌。低分化型胃癌碘浓度值高于中高分化型, 且呈现出分化程度越低碘浓度越高的趋势。

## 7 胃癌术前新辅助化疗及术后辅助放化疗的影像学评估

根据2014年美国国立综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)胃癌临床实践指南, 对于局部进展期胃癌, 首选诊疗计划要求术前进行多学科评估, 以确定是否行新辅助治疗。根据RECIST标准, 肝、肺或淋巴结等类球形转移病灶可作为胃癌的可测量靶病灶。而对于胃癌原发灶, 因癌肿胃壁形态不固定, 厚度易受胃腔充盈度影响; 同时因溃疡形态多样, 不利于前后测量比较的一致性和可重复性, 故不建议作为可测量靶病灶。而排除胃癌原发灶后, 相当部分的胃癌放化疗患者, 尤其是新辅助放化疗者, 可能无合适的评估靶病灶。研究发现, 新辅助化疗后CT对于胃癌T分期的准确性仅为57%, 这主要是由于CT对于治疗后组织纤维化与肿瘤复发有时难以鉴别, 这点与EUS相似。面对挑战, 研究者尝试不依赖于胃癌形态的功能影像和分子影像学指标进行疗效评价。

DWI可以通过对胃癌在化疗前后的原发病灶形态学及ADC值改变来评价其早期疗效, 但目前尚缺乏大家广泛认可的判定标准。目前已有一项胃癌新辅助化疗和一项食管胃交界部癌新辅助放化疗的研究<sup>[45,46]</sup>, 均证实放化疗后肿瘤的ADC值升高率在不同病理退缩率分级间存在差异; ADC值升高明显者, 术后病理镜下肿瘤细胞残余比例小。

PET通过SUV值来衡量病灶对<sup>18</sup>F-FDG的摄取量, 目前多采用比较化疗后SUV值下降的程度来评价胃癌新辅助化疗的疗效<sup>[47-49]</sup>。研究<sup>[47]</sup>发现, 胃癌放化疗后早期代谢反应组(SUV值下降>30%)的患者3年生存率明显高于无反应组, 且早期代谢反应指标是能够预测R0术后复发的唯一因素。但是, PET的缺陷也是显而易见的, 大约有1/4-1/3的胃癌病例(包括黏液腺癌)在PET上无明显代谢增高, 无法进行有效的疗效评价; SUV测量值在不同条件下存在差异, 所以其稳定性有待提高。此外, 有研究<sup>[47,48]</sup>表明, 放化疗诱导的混杂效应(如炎症反应)能干扰<sup>18</sup>F-FDG的摄取, 导致疗效结果出现偏差。同

时, 受限于卫生经济学因素, 也不利于临床短期反复应用。

唐磊等<sup>[50]</sup>对24例局部进展期胃癌新辅助化疗预后和ADC的关系研究后表明: 胃癌新辅助化疗后ADC值变化率在不同预后组间的差异有统计学意义, ADC值升高明显者长期生存比例较高, 且数值差异明显(中位ADCentire: 23% vs 1%)。反映肿瘤整体特性的ADCentire值预测效能优于反映肿瘤高活性部分的ADCmin值。但进一步的ROC曲线分析表明, ADC值预测效能并不高, 明显低于以病理退缩率为分组标准的研究。在胃侵袭性评价中, 除临床和手术参数外, 病理性ADC值也是一个独立的预后因素<sup>[51]</sup>。

## 8 结论

得益于影像学软硬件技术的进步, 其在胃癌诊断中发挥着日渐重要的作用。虽然从术前分期到临床疗效评价, 影像学还面临着诸多无法回避的劣势, 但在面对挑战的同时, 也为胃癌影像学的发展提供了难得的机遇。影像科医师可通过多学科平台, 主动地与相关临床科室开展协作, 以开放的心态面对临床提出的各种问题, 深入了解胃癌规范化诊疗的需求, 并和影像设备提供商及工程技术人员充分沟通, 探索更多的手段和指标, 不断推动胃癌影像学向精细化和实用化方向发展。

## 9 参考文献

- 1 Bolus DN. Dual-energy computed tomographic scanners: principles, comparisons, and contrasts. *J Comput Assist Tomogr* 2013; 37: 944-947 [PMID: 24270117 DOI: 10.1097/RCT.000000000000028]
- 2 Pan Z, Pang L, Ding B, Yan C, Zhang H, Du L, Wang B, Song Q, Chen K, Yan F. Gastric cancer staging with dual energy spectral CT imaging. *PLoS One* 2013; 8: e53651 [PMID: 23424614 DOI: 10.1371/journal.pone.0053651]
- 3 Le Bihan D, Breton E, Lallemand D, Grenier P, Cabanis E, Laval-Jeantet M. MR imaging of intravoxel incoherent motions: application to diffusion and perfusion in neurologic disorders. *Radiology* 1986; 161: 401-407 [PMID: 3763909 DOI: 10.1148/radiology.161.2.3763909]
- 4 Le Bihan D, Breton E, Lallemand D, Aubin ML, Vignaud J, Laval-Jeantet M. Separation of diffusion and perfusion in intravoxel incoherent motion MR imaging. *Radiology* 1988; 168: 497-505 [PMID: 3393671 DOI: 10.1148/radiology.168.2.3393671]
- 5 Huo X, Yuan K, Shen Y, Li M, Wang Q, Xing L, Shi G. Clinical value of magnetic resonance imaging in preoperative T staging of gastric cancer and postoperative pathological diagnosis.

- Oncol Lett* 2014; 8: 275-280 [PMID: 24959260 DOI: 10.3892/ol.2014.2135]
- 6 Liu S, He J, Guan W, Li Q, Zhang X, Mao H, Yu H, Zhou Z. Preoperative T staging of gastric cancer: comparison of diffusion- and T2-weighted magnetic resonance imaging. *J Comput Assist Tomogr* 2014; 38: 544-550 [PMID: 24733002 DOI: 10.1097/RCT.000000000000090]
  - 7 Joo I, Lee JM, Kim JH, Shin CI, Han JK, Choi BI. Prospective comparison of 3T MRI with diffusion-weighted imaging and MDCT for the preoperative TNM staging of gastric cancer. *J Magn Reson Imaging* 2015; 41: 814-821 [PMID: 24677322 DOI: 10.1002/jmri.24586]
  - 8 Jang KM, Kim SH, Lee SJ, Lee MW, Choi D, Kim KM. Upper abdominal gadoxetic acid-enhanced and diffusion-weighted MRI for the detection of gastric cancer: Comparison with two-dimensional multidetector row CT. *Clin Radiol* 2014; 69: 827-835 [PMID: 24837701 DOI: 10.1016/j.crad.2014.03.017]
  - 9 Bammer R. Basic principles of diffusion-weighted imaging. *Eur J Radiol* 2003; 45: 169-184 [PMID: 12595101 DOI: 10.1016/S0720-048X(02)00303-0]
  - 10 张晓鹏, 唐磊, 孙应实, 李洁, 曹崑. 胃癌MR扩散加权成像扩散敏感因子的选择及其与常规序列的对照研究. *中华放射学杂志* 2007; 41: 1339-1343
  - 11 Shinya S, Sasaki T, Nakagawa Y, Guiquing Z, Yamamoto F, Yamashita Y. The usefulness of diffusion-weighted imaging (DWI) for the detection of gastric cancer. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 1378-1381 [PMID: 17708258]
  - 12 Zhang XP, Tang L, Sun YS, Li ZY, Ji JF, Li XT, Liu YQ, Wu Q. Sandwich sign of Borrmann type 4 gastric cancer on diffusion-weighted magnetic resonance imaging. *Eur J Radiol* 2012; 81: 2481-2486 [PMID: 22099950 DOI: 10.1016/j.ejrad.2011.10.021]
  - 13 Avcu S, Arslan H, Unal O, Kotan C, Izmirli M. The role of diffusion-weighted MR imaging and ADC values in the diagnosis of gastric tumors. *JBR-BTR* 2012; 95: 1-5 [PMID: 22489399 DOI: 10.5334/jbr-btr.62]
  - 14 Lv P, Lin XZ, Li J, Li W, Chen K. Differentiation of small hepatic hemangioma from small hepatocellular carcinoma: recently introduced spectral CT method. *Radiology* 2011; 259: 720-729 [PMID: 21357524 DOI: 10.1148/radiol.11101425]
  - 15 Li C, Zhang S, Zhang H, Pang L, Lam K, Hui C, Zhang S. Using the K-nearest neighbor algorithm for the classification of lymph node metastasis in gastric cancer. *Comput Math Methods Med* 2012; 2012: 876545 [PMID: 23150740 DOI: 10.1155/2012/876545]
  - 16 Heye T, Nelson RC, Ho LM, Marin D, Boll DT. Dual-energy CT applications in the abdomen. *AJR Am J Roentgenol* 2012; 199: S64-S70 [PMID: 23097169 DOI: 10.2214/AJR.12.9196]
  - 17 Giganti F, Orsenigo E, Arcidiacono PG, Nicoletti R, Albarello L, Ambrosi A, Salerno A, Esposito A, Petrone MC, Chiari D, Staudacher C, Del Maschio A, De Cobelli F. Preoperative locoregional staging of gastric cancer: is there a place for magnetic resonance imaging? Prospective comparison with EUS and multidetector computed tomography. *Gastric Cancer* 2016; 19: 216-225 [PMID: 25614468 DOI: 10.1007/s10120-015-0468-1]
  - 18 Seevaratnam R, Cardoso R, McGregor C, Lourenco L, Mahar A, Sutradhar R, Law C, Paszat L, Coburn N. How useful is preoperative imaging for tumor, node, metastasis (TNM) staging of gastric cancer? A meta-analysis. *Gastric Cancer* 2012; 15 Suppl 1: S3-S18 [PMID: 21837458 DOI: 10.1007/s10120-011-0069-6]
  - 19 Sarela AI, Lefkowitz R, Brennan MF, Karpeh MS. Selection of patients with gastric adenocarcinoma for laparoscopic staging. *Am J Surg* 2006; 191: 134-138 [PMID: 16399124 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2005.10.015]
  - 20 Yamada Y, Jinzaki M, Tanami Y, Abe T, Kuribayashi S. Virtual monochromatic spectral imaging for the evaluation of hypovascular hepatic metastases: the optimal monochromatic level with fast kilovoltage switching dual-energy computed tomography. *Invest Radiol* 2012; 47: 292-298 [PMID: 22472797 DOI: 10.1097/RLI.0b013e318240a874]
  - 21 Kwee RM, Kwee TC. Modern imaging techniques for preoperative detection of distant metastases in gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 10502-10509 [PMID: 26457011 DOI: 10.3748/wjg.v21.i37.10502]
  - 22 朱晓雷, 申玉兰, 林晓珠, 刘燕, 陈克敏. 宝石能谱CT在胃的癌前病变及早期胃癌诊断中的初步应用. *诊断学理论与实践* 2011; 10: 428-433
  - 23 王芳, 高剑波, 梁盼. CT能谱曲线及碘含量测定在早期胃癌诊断中的应用价值. *中华胃肠外科杂志* 2015; 18: 243-247
  - 24 Mun CW, Cho JY, Shin WJ, Choi KS, Eun CK, Cha SS, Lee J, Yang YI, Nam SH, Kim J, Lee SY. Ex vivo proton MR spectroscopy (1H-MRS) for evaluation of human gastric carcinoma. *Magn Reson Imaging* 2004; 22: 861-870 [PMID: 15234456 DOI: 10.1016/j.mri.2004.01.045]
  - 25 Tugnoli V, Schenetti L, Mucci A, Parenti F, Cagnoli R, Righi V, Trinchero A, Nocetti L, Toraci C, Mavilla L, Trentini G, Zunarelli E, Tosi MR. Ex vivo HR-MAS MRS of human meningiomas: a comparison with in vivo 1H MR spectra. *Int J Mol Med* 2006; 18: 859-869 [PMID: 17016616 DOI: 10.3892/ijmm.18.5.859]
  - 26 Celda B, Monleón D, Martínez-Bisbal MC, Esteve V, Martínez-Granados B, Piñero E, Ferrer R, Piquer J, Martí-Bonmatí L, Cervera J. MRS as endogenous molecular imaging for brain and prostate tumors: FP6 project "eTUMOR". *Adv Exp Med Biol* 2006; 587: 285-302 [PMID: 17163172 DOI: 10.1007/978-1-4020-5133-3\_22]
  - 27 Lyng H, Sitter B, Bathen TF, Jensen LR, Sundfør K, Kristensen GB, Gribbestad IS. Metabolic mapping by use of high-resolution magic angle spinning 1H MR spectroscopy for assessment of apoptosis in cervical carcinomas. *BMC Cancer* 2007; 7: 11 [PMID: 17233882 DOI: 10.1186/1471-2407-7-11]
  - 28 Calabrese C, Pisi A, Di Febo G, Liguori G, Filippini G, Cervellera M, Righi V, Lucchi P, Mucci A, Schenetti L, Tonini V, Tosi MR, Tugnoli V. Biochemical alterations from normal mucosa to gastric cancer by ex vivo magnetic resonance spectroscopy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008; 17: 1386-1395 [PMID: 18559553 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-07-2676]

# 同行评价

本文主要阐述了影像学新技术在胃癌诊断与治疗中的研究现状及展望,文章有一定的新意,对国内外研究进展把握度较好,文献新颖度适中,对读者有一定益处。

- 29 Kim EY, Lee WJ, Choi D, Lee SJ, Choi JY, Kim BT, Kim HS. The value of PET/CT for preoperative staging of advanced gastric cancer: comparison with contrast-enhanced CT. *Eur J Radiol* 2011; 79: 183-188 [PMID: 20226612 DOI: 10.1016/j.ejrad.2010.02.005]
- 30 Cayvarlı H, Bekiş R, Akman T, Altun D. The Role of 18F-FDG PET/CT in the Evaluation of Gastric Cancer Recurrence. *Mol Imaging Radionucl Ther* 2014; 23: 76-83 [PMID: 25541930 DOI: 10.4274/mirt.83803]
- 31 许琦, 张建军, 章文叙, 董云飞, 刘铁. 宝石能谱CT对胃癌区域淋巴结转移的诊断价值. *浙江医学* 2015; 34: 454-457
- 32 庞丽芳, 张欢, 宋立涛, 潘自来, 丁蓓, 宋琦, 杜联军, 林晓珠, 陈克敏. 宝石CT能谱成像在胃癌诊断中的初步应用研究. *外科理论与实践* 2011; 16: 244-247
- 33 万娅敏. 双能量CT对胃癌患者术前病理分级及分期的临床研究. 郑州: 郑州大学, 2014
- 34 嘉宝. 双源CT双能力成像评价胃癌淋巴结转移的应用. 沈阳: 中国医科大学, 2012
- 35 Hasbahceci M, Akcakaya A, Memmi N, Turkmen I, Cipe G, Yildiz P, Arici DS, Muslumanoglu M. Diffusion MRI on lymph node staging of gastric adenocarcinoma. *Quant Imaging Med Surg* 2015; 5: 392-400 [PMID: 26029642 DOI: 10.3978/j.issn.2223-4292.2015.03.06]
- 36 周竹萍, 何健, 刘松, 管文贤, 包善华, 俞海平. 磁共振弥散加权成像对胃癌淋巴结转移的诊断价值. *中华胃肠外科杂志* 2014; 17: 225-229
- 37 Takahara T, Imai Y, Yamashita T, Yasuda S, Nasu S, Van Cauteren M. Diffusion weighted whole body imaging with background body signal suppression (DWIBS): technical improvement using free breathing, STIR and high resolution 3D display. *Radiat Med* 2004; 22: 275-282 [PMID: 15468951]
- 38 徐艳琦, 徐芹艳, 孙西河, 董鹏, 王锡臻, 常光辉, 葛艳明. 全身磁共振背景抑制扩散成像对胃癌原发病灶筛查及N分期的价值. *临床放射学杂志* 2012; 31: 1741-1745
- 39 杨竞. 共聚焦激光显微内镜在胃癌腹腔淋巴结转移中的诊断价值研究. 北京: 解放军军医进修学院, 2013
- 40 俞耀军, 何慧疗, 盛维为, 卢明东, 孙维建, 李丕宏, 王飞海, 郑志强, 程建敏, 祁旦巳. 术前超声双重造影评价胃癌淋巴结转移. *中华普通外科杂志* 2013; 28: 86-89
- 41 Miles KA, Hayball M, Dixon AK. Colour perfusion imaging: a new application of computed tomography. *Lancet* 1991; 337: 643-645 [PMID: 1671994 DOI: 10.1016/0140-6736(91)92455-B]
- 42 Miles KA. Measurement of tissue perfusion by dynamic computed tomography. *Br J Radiol* 1991; 64: 409-412 [PMID: 2036562 DOI: 10.1259/0007-1285-64-761-409]
- 43 朱勇, 何光武, 傅燕飞, 王斌, 陆峻, 陈尚凡. 多层螺旋CT灌注成像对胃癌病理分化程度评估的研究. *实用放射学杂志* 2015; 31: 75-77
- 44 陈丽红, 段青, 薛蕴菁, 孙斌, 葛慧婷. CT能谱成像在术前评估胃癌患者病理类型的临床价值. *中华放射学杂志* 2013; 47: 634-637
- 45 Giganti F, De Cobelli F, Canevari C, Orsenigo E, Gallivanone F, Esposito A, Castiglioni I, Ambrosi A, Albarello L, Mazza E, Gianolli L, Staudacher C, Del Maschio A. Response to chemotherapy in gastric adenocarcinoma with diffusion-weighted MRI and (18) F-FDG-PET/CT: correlation of apparent diffusion coefficient and partial volume corrected standardized uptake value with histological tumor regression grade. *J Magn Reson Imaging* 2014; 40: 1147-1157 [PMID: 24214734 DOI: 10.1002/jmri.24464]
- 46 De Cobelli F, Giganti F, Orsenigo E, Cellina M, Esposito A, Agostini G, Albarello L, Mazza E, Ambrosi A, Socci C, Staudacher C, Del Maschio A. Apparent diffusion coefficient modifications in assessing gastro-oesophageal cancer response to neoadjuvant treatment: comparison with tumour regression grade at histology. *Eur Radiol* 2013; 23: 2165-2174 [PMID: 23588582 DOI: 10.1007/s00330-013-2807-0]
- 47 Ott K, Herrmann K, Lordick F, Wiedner H, Weber WA, Becker K, Buck AK, Dobritz M, Fink U, Ulm K, Schuster T, Schwaiger M, Siewert JR, Krause BJ. Early metabolic response evaluation by fluorine-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography allows in vivo testing of chemosensitivity in gastric cancer: long-term results of a prospective study. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 2012-2018 [PMID: 18381939 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-0934]
- 48 Kubota R, Yamada S, Kubota K, Ishiwata K, Tamahashi N, Ido T. Intratumoral distribution of fluorine-18-fluorodeoxyglucose in vivo: high accumulation in macrophages and granulation tissues studied by microautoradiography. *J Nucl Med* 1992; 33: 1972-1980 [PMID: 1432158]
- 49 Lee DH, Kim SH, Im SA, Oh DY, Kim TY, Han JK. Multiparametric fully-integrated 18-FDG PET/MRI of advanced gastric cancer for prediction of chemotherapy response: a preliminary study. *Eur Radiol* 2015 Nov 28. [Epub ahead of print] [PMID: 26615555]
- 50 唐磊, 孙应实, 李子禹, 张晓鹏, 曹崑, 李晓婷, 陕飞, 李子然, 季加孚. 磁共振扩散加权成像表观扩散系数值与局部进展期胃癌新辅助化疗预后的关系. *中华胃肠外科杂志* 2015; 18: 221-226
- 51 Giganti F, Orsenigo E, Esposito A, Chiari D, Salerno A, Ambrosi A, Albarello L, Mazza E, Staudacher C, Del Maschio A, De Cobelli F. Prognostic role of diffusion-weighted MR imaging for resectable gastric cancer. *Radiology* 2015; 276: 444-452 [PMID: 25816106 DOI: 10.1148/radiol.15141900]

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利





## 使用超细内镜直接经口胆道检查与治疗新进展

石定, 吴冬

石定, 吴冬, 宁波市第二医院消化科 浙江省宁波市 315012

石定, 主任医师, 硕士生导师, 主要从事消化疾病的内镜诊疗研究。

作者贡献分布: 石定负责课题设计与论文写作; 吴冬负责文献资料搜集、分析。

通讯作者: 石定, 主任医师, 硕士生导师, 315012, 浙江省宁波市西北街41号, 宁波市第二医院消化科。  
shidingyuhang@163.com  
电话: 0574-83871152

收稿日期: 2015-12-29  
修回日期: 2016-01-28  
接受日期: 2016-02-18  
在线出版日期: 2016-04-28

### Advances in direct peroral cholangioscopy using an ultrathin endoscope

Ding Shi, Dong Wu

Ding Shi, Dong Wu, Department of Gastroenterology, Ningbo No. 2 Hospital, Ningbo 315012, Zhejiang Province, China

Correspondence to: Ding Shi, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Ningbo No. 2 Hospital, 41 Xibei Street, Ningbo 315012, Zhejiang Province, China. shidingyuhang@163.com

Received: 2015-12-29  
Revised: 2016-01-28  
Accepted: 2016-02-18  
Published online: 2016-04-28

### Abstract

Some endoscopists have reported the usefulness of direct peroral cholangioscopy for the diagnosis and therapy of bile duct lesions. Advantages of direct peroral cholangioscopy

(POC) using an ultra-slim endoscope include use of conventional endoscopy equipment, operation by a single endoscopist, and superior image quality of the biliary tree with easy application of enhanced endoscopy and a large working channel. Although ultra-slim endoscopes are usually used for direct peroral cholangioscopy, direct scope insertion is considerably difficult. Moreover, this technique still has some severe complications and limitations. Continuous development of specialized endoscopes and accessories is expected to facilitate the diagnostic and therapeutic roles of direct POC.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Peroral cholangioscopy; Ultra-slim endoscope; Bile duct diseases

Shi D, Wu D. Advances in direct peroral cholangioscopy using an ultrathin endoscope. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(12): 1791-1796 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1791.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i12.1791>

### 摘要

一些内镜学者报道了使用超细内镜直接经口胆道检查和治疗胆道疾病。使用超细内镜直接经口胆道检查与治疗的优点在于使用常规的内镜、单人操作、高质量的胆道图像和较大的内镜钳道。但是直接经口胆道内镜的插入是困难的。而且该技术有一些严重的并发症和局限性。进一步开发专门用于直接胆道检查和治疗的内镜及配件是必要的。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

### 背景资料

直接经口胆道内镜检查是指使用非特异性内镜、通常是超细内镜直接进入胆总管的检查方法。早期流行的子母镜、近年出现的SpyGlass系统由于操作复杂、昂贵易损等原因未能得到广泛应用。直接经口胆道内镜无需购买专门胆道内镜系统, 成本低、图像清晰, 能允许一些内镜配件的使用而备受关注。

### 同行评议者

毛高平, 教授, 主任医师, 博士生导师, 中国人民解放军空军总医院消化内科, 全军小肠疾病内镜诊疗中心

## ■ 研发前沿

本文主要探讨目前国内外直接经口胆道内镜检查与治疗的研究现状, 包括使用设备、检查方法、技术成功率、诊断与治疗的应用、局限性等, 系统全面的分析直接经口胆道内镜的应用前景, 为临床直接经口胆道内镜的广泛开展提供有价值的参考。

**关键词:** 经口胆道镜; 超细内镜; 胆管疾病

**核心提示:** 超细胃镜作为经口胆道镜可以进入胆道检查和治疗胆道疾病, 有独特的优势, 但操作繁琐, 有一定的失败率, 还存在一些严重的并发症和局限性, 因此需要进一步开发专门用于直接胆道检查的内镜及配件。

石定, 吴冬. 使用超细内镜直接经口胆道检查与治疗新进展. 世界华人消化杂志 2016; 24(12): 1791-1796 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1791.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i12.1791>

## 0 引言

直接经口胆道内镜检查被描述于1977年, 是指使用非特异性内镜、通常是超细内镜(经鼻胃镜或小儿内镜)直接进入胆总管的检查方法<sup>[1]</sup>。20世纪80年代后期流行子母镜进行胆道检查。由于其操作复杂、昂贵易损, 也不能提供清晰的图像而逐渐淡出人们的视野<sup>[2-4]</sup>。近年出现的SpyGlass系统尽管较子母镜有了较大的改进, 但因其图像质量、价格昂贵等因素目前仍然很难推广<sup>[5]</sup>。直接经口胆道内镜无需购买专门胆道内镜系统, 不仅设备易得, 比子母镜和SpyGlass系统成本低、图像清晰, 而且能允许一些内镜配件的使用而备受关注。但目前将内镜直接插入胆管的方法尚不成熟, 成功率不能保证。本文主要探讨直接经口胆道内镜的方法和应用, 他对胆道疾病的诊断及治疗有显著的优势和应用前景。

## 1 设备和方法

**1.1 设备** 主要设备: 日本Fujinon ED-450XT5十二指肠镜; 日本Olympus TJF-240十二指肠镜; EG-530NW, GIF-XP260NS(Olympus Co., Tokyo, Japan)、GIF-XP160、GIF-XP180、GIF-N180(Olympus Corporation, Center Valley, PA United States)超细胃镜, 多使用外径为4.9-5.9 mm、长1100 mm、工作通道2 mm的超细内镜<sup>[6,7]</sup>, 目前尚没用商业专用的直接经口胆道内镜, 专用的直接经口胆道内镜只是作为一种原型而未被用于商业用途<sup>[8]</sup>。附属设备: 专用球囊导管4-5 Fr外径, 球囊直径11-15 mm(B5-2Q Olympus)或普通取石球囊; 0.035 in及0.021 in斑马导丝等。

**1.2 方法** 报道的直接经口胆道内镜检查方法有串联技术、徒手插入、外套管球囊协助插入

及圈套器辅助插入。

**1.2.1 串联技术:** 在经内镜逆行胰胆管造影(encoscopic retrograde cholangio-pancreatography, ERCP)下行乳头括约肌切开或柱状球囊扩张, 扩张至10-12 mm后退出十二指肠镜, 先将导丝引入胆总管, 撤出十二指肠镜保留导丝, 在X线引导下, 沿导丝插入超细内镜经十二指肠乳头进入胆总管。此种技术导丝移位比较常见<sup>[9-11]</sup>。

**1.2.2 徒手插入:** 见于大多数的研究。先进行乳头括约肌切开, 用球囊扩张至10 mm以上。(1)球囊导管直接引入: 用十二指肠镜插入一根导丝或一根5 Fr的可拆卸球囊导管至肝内胆管或狭窄上游, 将球囊充气使球囊锚定于肝内胆管或狭窄部位上方, 然后将球囊导管近端的手柄与导管分离后对导管进行适当的堵塞以防球囊漏气, 退出十二指肠镜及导丝, 然后将内镜按“J”字形沿球囊导管插入至胆管<sup>[7,9,12,13]</sup>介入时, 需要将球囊从工作通道中撤出, 这样会导致内镜在胆管内的位置不稳定。此外在一些病例中要在胆管内锚定球囊是困难的, 尤其是在内有胆管狭窄或胆总管明显扩张的病例;(2)球囊导管间接引入: 用3-0丝线将0.021 in斑马导丝软头前端绑定于普通取石球囊的导管上, 约于球囊后2-3 mm处, 制成引导超细胃镜进镜的球囊。导丝“引导装置”。切开乳头 $\geq 8$  mm并球囊扩张 $\geq 10$  mm, 用十二指肠镜将0.035 in斑马导丝超选插至合适的靶胆管, 沿此导丝将“引导装置”的取石球囊(连同连结在其前部的0.021 in导丝并行)经十二指肠镜工作通道送至靶胆管并充气锚定。球囊充气直径应略大于该处胆管, 充气直径由注入球囊气体量控制。轻拉球囊导管确认锚定牢固后, 退出0.035 in斑马导丝, 用血管钳钳夹阻断取石球囊近端操作部导管后剪断, 使操作部离断, 取一圆锥形探针(大头针)经球囊充气管断面开口插入进行封堵以防球囊漏气, 松开血管钳后顺利退出十二指肠镜, 超细胃镜工作通道沿“引导装置”的0.021 in导丝经口插入直至胆道内, 停止注气并吸干胆道内气体及胆汁等, 通过镜子工作通道或“引导装置”的取石球囊导丝通道注入生理盐水使胆道镜有清晰视野<sup>[14]</sup>;(3)Kautz法直接引入: 该方法被Kautz等描述用于不经过十二指肠镜工作通道植入胆管支架<sup>[15,16]</sup>。Beyna等<sup>[17]</sup>用该方法进行直接经口胆道内镜引入。使用的配件为Kautz导引装置。首先通过ERCP将

此导引装置植入肝内胆管, 将此装置前段弯曲成类似乳头切开刀拉开时的形状, 移除体外的手柄。退出十二指肠镜后, 沿该装置插入超细内镜经乳头进入胆管。上述三种方法的共同特点均是引入装置铆钉于肝内胆管或狭窄段上方, 降低了引入装置的移位率, 从而提高了将内镜进入胆管的成功率。

**1.2.3 外套管球囊协助插入:** 在距离外套管远端65-75 cm处开一个允许内镜通过的侧孔, 将内镜从侧孔插入外套管, 连同外套管一起插入至十二指肠球部, 给外套管球囊充气锚定后, 将胃镜撤出, 插入超细内镜, 直接进入括约肌切开或球囊扩张的十二指肠主乳头。但现在可使用的外套管相对于超细内镜很大, 通过外套管操作困难<sup>[18,19]</sup>。

**1.2.4 圈套器辅助插入:** ERCP下行乳头柱状球囊扩张, 扩张至10-12 mm后退出十二指肠镜, 助手应用圈套器套住超细胃镜弯曲部收紧, 超细胃镜带着收紧的圈套器进镜至扩张过的乳头开口处, 调节内镜大小旋钮弯曲内镜对准开口(多数情况下为向左并上抬内镜先端), 助手轻微牵引圈套器并适当逆时针旋转镜身即可顺利进入胆道, 必要时针对远端胆管迂曲的患者可经活检钳道插入导丝作为引导。通常超细胃镜可弯曲先端约6 cm可进入胆总管中上段<sup>[20]</sup>。

## 2 技术成功率

应用徒手插入技术时, 推荐使用德国韦泽尔生产的5 Fr直径15 mm的球囊导管。一个非随机的比较研究显示, 直接球囊导管引入与导丝引入的成功率分别为95.2%和45.5%<sup>[9,21]</sup>。另外一些文献报道了相似的成功率(81.0%-93.3%)<sup>[6,13,22]</sup>。国内球囊导管间接引入的成功率为100%(12/12)<sup>[14]</sup>。与球囊导管直接引入相比, 球囊导管间接引入似乎更为实用。外套管球囊协助出入技术成功率83.3%和100%<sup>[18,19]</sup>。在一个随机对照试验中直接经口胆道内镜检查与子母镜比较成功率相似<sup>[23]</sup>。圈套器辅助插入见于国内的报道<sup>[20]</sup>。尽管报道圈套器辅助插入的成功率为100%(8/8), 但毕竟例数太少, 可重复性需要进一步验证。

## 3 诊断和治疗应用

直接经口胆道内镜的诊断适应证及可能的介入如表1。目前直接经口胆道内镜最大的优势是使用非专用内镜、单人操作和经济实用等<sup>[5]</sup>。直接经口胆道内镜不仅能在内镜直视下使用

表 1 直接经口胆道内镜诊断适应证与可能的治疗

诊断适应证	可能的治疗
评估不能确定的胆管狭窄性质	内镜碎石
鉴别不能确定的胆管内充盈缺损	内镜下取出结石
评估胆道造影模棱两可的发现	内镜下胆管引流
诊断和确定胆占位性病变的范围	内镜下切除
明确胆道出血的原因、探查碎石	内镜下肿瘤烧灼治疗
后胆管内残留结石	

较大的活检钳进行胆道活检, 而且可以使用内镜下窄带成像技术显示黏膜的表面结构和微血管情况<sup>[24,25]</sup>。高分辨率的图像和事实上的胆道内镜检查可以根据不规则的血管和表面特征帮助区别肿瘤和非肿瘤性狭窄。但到目前为止, 胆道恶性肿瘤的视觉标准和相应的诊断领域还没有充分的建立。

2 mm工作通道的超细内镜进行直接胆道内镜检查允许一个宽组合的治疗介入以及多数胆总管结石的清除。小的胆管结石可以在内镜直视下使用5 Fr的网篮或其他配件取出<sup>[26]</sup>。大的结石可以使用激光或液电碎石<sup>[27,28]</sup>。内镜直视下液电碎石或激光碎石也是直接经口胆道内镜的优势之一, 具有很高的成功率<sup>[26,29]</sup>。胆管内肿瘤也可以在内镜直视下使用亚离子凝固技术治疗<sup>[30,31]</sup>。如果ERCP不能通过复杂的胆管狭窄, 内镜直视下可以鉴别胆道狭窄的位置、活检和直接引流<sup>[11]</sup>, 即可以在植入合适的导丝后放置5 Fr的塑料支架或鼻胆管引流<sup>[32]</sup>。也可在内镜直视下进行肝内胆管或胆囊管导丝超选植入<sup>[11,33,34]</sup>。

直接经口胆道内镜在中国也得到了一定发展, 开展胆总管内镜直视下检查治疗, 包括活检、液电激光碎石、残余碎石的清除、氩离子电凝等<sup>[35-38]</sup>。直接经口内镜对胆总管残余结石的诊疗中有着不错的效果, 但方法较为繁琐, 有着一定的失败率<sup>[37,39,40]</sup>。直接经口内镜在胆道梗阻, 胆管肿瘤的诊断鉴别中有独特的优势, 可以直接活检获得病理结果, 安全性及活检率较高<sup>[38,41-43]</sup>。

## 4 局限性

目前直接经口胆道内镜的劣势在于必须对乳头进行较大的切开或扩张; 直接经口胆道内镜仅能在胆管直径>8 mm的病例进行, 这样对于胆管弥漫性狭窄的患者进行直接经口胆道内

## ■ 相关报道

直接经口胆道内镜在国内得到了一定发展, 开展胆总管内镜直视下检查治疗, 包括活检、液电激光碎石、残余碎石的清除等。直接经口内镜对胆总管残余结石的诊疗有着不错的效果, 但方法较为繁琐, 有着一定的失败率。直接经口内镜在胆道梗阻, 胆管肿瘤的诊断鉴别中有独特的优势, 可以直接活检获得病理结果, 安全性及活检率较高。



## ■ 创新盘点

目前直接经口胆道内镜检查与治疗在国内开展并不广泛, 临床研究资料较少, 限制了这一技术在国内的广泛应用, 本文系统全面评估了直接经口胆道内镜检查与治疗的研究现状, 为临床医生提供了有价值的参考。

镜是困难的; 球囊锚定不是总能成功的, 尤其在无胆管狭窄的患者。此外, 球囊锚定后直接胆道内镜插入的操作相对复杂。需要设计容易插入有一定稳定性和胆管内定位的专用内镜。奥林巴斯公司设计了一种直接经口胆道内镜一代和二代原型正在进行临床评价<sup>[44,45]</sup>。

## 5 并发症

直接胆道内镜检查的安全性仍然是不确定的, 因为少见但严重的不良事件, 尤其是空气进入门静脉或肝静脉系统, 通过未闭的卵圆孔进入左侧循环时有发生<sup>[46-48]</sup>。该并发症可能与内镜阻塞乳头开口, 空气进入胆管导致胆管内压力增高有关。为了降低这种严重的并发症, 我们强烈推荐以下安全措施: (1)以最小量向胆管内送入空气, 或使用二氧化碳气或生理盐水盥洗<sup>[1,49,50]</sup>; (2)内镜插入胆管前尽量扩大十二指肠乳头开口, 可以进行大的乳头括约肌切开或进行球囊扩张至10 mm以上; (3)如果可行的话, 避免黏膜创伤, 所报道的空气栓塞主要出现在乳头括约肌切开的患者。锚定的球囊可能也涉及一个特殊的危险, 因为在动物研究中, 过度膨胀锚定球囊导致胆管穿孔<sup>[12]</sup>。这种球囊后来从市场上自动撤出。到目前为止, 在发表的最大病例数量的文献中, 术后胆管炎的发生率是10%-14%, 尽管手术前后已使用预防性抗生素<sup>[13,45]</sup>。在许多的病例中, 直接胆道内镜仅仅局限于胆总管检查, 因为内镜不能进入小的胆管<sup>[23]</sup>。中国直接胆道内镜检查开展的较少, 关于并发症的研究见于个别报道, 常见的并发症为发热、胆管炎、穿孔、胰腺炎、胆漏发生几率较少<sup>[14,35,39,41]</sup>。

## 6 结论

超细胃镜作为经口胆道镜可以进入胆道检查和治疗胆道疾病, 有独特的优势, 应用前景广阔, 但操作繁琐, 有一定的失败率, 该技术还存在一些严重的并发症和局限性, 因此需要进一步研究开发该技术, 目前适用于常规ERCP无法明确诊断和治疗困难的胆总管疾病。

## 7 参考文献

- 1 Tringali A, Lemmers A, Meves V, Terheggen G, Pohl J, Manfredi G, Häfner M, Costamagna G, Devière J, Neuhaus H, Caillol F, Giovannini M, Hassan C, Dumonceau JM. Intraductal biliopancreatic imaging: European Society of

- Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) technology review. *Endoscopy* 2015; 47: 739-753 [PMID: 26147492 DOI: 10.1055/s-0034-1392584]
- 2 Igarashi Y, Ukita T, Inoue H, Ishiguro J, Ogawa S, Satou M, Maetani I, Sakai Y. Clinical evaluation of the peroral cholangioscopy using a new videoscope. *Diagn Ther Endosc* 1999; 5: 231-237 [PMID: 18493506 DOI: 10.1155/DTE.5.231]
- 3 Manta R, Frazzoni M, Conigliaro R, Maccio L, Melotti G, Dabizzi E, Bertani H, Manno M, Castellani D, Villanacci V, Bassotti G. SpyGlass single-operator peroral cholangioscopy in the evaluation of indeterminate biliary lesions: a single-center, prospective, cohort study. *Surg Endosc* 2013; 27: 1569-1572 [PMID: 23233008 DOI: 10.1007/s00464-012-2628-2]
- 4 Monga A, Ramchandani M, Reddy DN. Per-oral cholangioscopy. *J Interv Gastroenterol* 2011; 1: 70-77 [PMID: 21776429]
- 5 Moon JH, Choi HJ. The role of direct peroral cholangioscopy using an ultraslim endoscope for biliary lesions: indications, limitations, and complications. *Clin Endosc* 2013; 46: 537-539 [PMID: 24143317 DOI: 10.5946/ce.2013.46.5.537]
- 6 Omuta S, Maetani I, Ukita T, Nambu T, Gon K, Shigoka H, Saigusa Y, Saito M. Direct peroral cholangioscopy using an ultraslim upper endoscope for biliary lesions. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2014; 13: 60-64 [PMID: 24463081]
- 7 Parsi MA, Stevens T, Vargo JJ. Diagnostic and therapeutic direct peroral cholangioscopy using an intraductal anchoring balloon. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 3992-3996 [PMID: 22912549 DOI: 10.3748/wjg.v18.i30.3992]
- 8 Parsi MA. Direct peroral cholangioscopy. *World J Gastrointest Endosc* 2014; 6: 1-5 [PMID: 24527174 DOI: 10.4253/wjge.v6.i1.1]
- 9 Moon JH, Ko BM, Choi HJ, Hong SJ, Cheon YK, Cho YD, Lee JS, Lee MS, Shim CS. Intraductal balloon-guided direct peroral cholangioscopy with an ultraslim upper endoscope (with videos). *Gastrointest Endosc* 2009; 70: 297-302 [PMID: 19394010 DOI: 10.1016/j.gie.2008.11.019]
- 10 Larghi A, Waxman I. Endoscopic direct cholangioscopy by using an ultra-slim upper endoscope: a feasibility study. *Gastrointest Endosc* 2006; 63: 853-857 [PMID: 16650553]
- 11 Waxman I, Chennat J, Konda V. Peroral direct cholangioscopy-guided selective intrahepatic duct stent placement with an ultraslim endoscope. *Gastrointest Endosc* 2010; 71: 875-878 [PMID: 19922912 DOI: 10.1016/j.gie.2009.09.017]
- 12 Waxman I, Dillon T, Chmura K, Wardrip C, Chennat J, Konda V. Feasibility of a novel system for intraductal balloon-anchored direct peroral cholangioscopy and endotherapy with an ultraslim endoscope (with videos). *Gastrointest Endosc* 2010; 72: 1052-1056 [PMID: 20855066 DOI: 10.1016/j.gie.2010.06.048]
- 13 Meves V, Ell C, Pohl J. Efficacy and safety of direct transnasal cholangioscopy with standard ultraslim endoscopes: results of a large cohort study. *Gastrointest Endosc* 2014; 79: 88-94 [PMID: 23849816 DOI: 10.1016/j.gie.2013.05.032]
- 14 李健, 郭绍举, 张竞超, 徐成山, 邹小英, 王雪芳. 经口直接胆道镜治疗十二指肠镜取石困难患者的疗效观

- 察(含视频). 中华消化内镜杂志 2015; 32: 24-28
- 15 Kautz G. Transpapillary bile duct drainage with a large-caliber endoprosthesis. *Endoscopy* 1983; 15: 312-315 [PMID: 6628340]
  - 16 Kautz G, Reers B, Sprakel B, Keferstein RD, Sulkowski U, Fiedler C. [More successful and cost effective--the non-transendoscopic method of TPCD]. *Z Gastroenterol* 1993; 31 Suppl 2: 149-153 [PMID: 7483703]
  - 17 Beyna T, Lenze F, Hengst K, Ullerich H. A new anchoring technique for accessing the bile duct during direct peroral cholangioscopy using the guide probe of Kautz. *Endoscopy* 2012; 44 Suppl 2 UCTN: E372-E373 [PMID: 23012028]
  - 18 Choi HJ, Moon JH, Ko BM, Hong SJ, Koo HC, Cheon YK, Cho YD, Lee JS, Lee MS, Shim CS. Overtube-balloon-assisted direct peroral cholangioscopy by using an ultra-slim upper endoscope (with videos). *Gastrointest Endosc* 2009; 69: 935-940 [PMID: 19327480 DOI: 10.1016/j.gie.2008.08.043]
  - 19 Tsou YK, Lin CH, Tang JH, Liu NJ, Cheng CL. Direct peroral cholangioscopy using an ultraslim endoscope and overtube balloon-assisted technique: a case series. *Endoscopy* 2010; 42: 681-684 [PMID: 20669079 DOI: 10.1055/s-0030-1255616]
  - 20 黄永辉, 常虹, 姚炜, 黄雪彪, 张耀朋, 王晔. 圈套器辅助超细胃镜实施经口直接胆道镜技术的初步应用. 中华消化内镜杂志 2015; 32: 86-88
  - 21 Mori A, Ohashi N, Nozaki M, Yoshida A. Feasibility of duodenal balloon-assisted direct cholangioscopy with an ultrathin upper endoscope. *Endoscopy* 2012; 44: 1037-1044 [PMID: 23108772 DOI: 10.1055/s-0032-1309467]
  - 22 Albert JG, Friedrich-Rust M, Elhendawy M, Trojan J, Zeuzem S, Sarrazin C. Peroral cholangioscopy for diagnosis and therapy of biliary tract disease using an ultra-slim gastroscope. *Endoscopy* 2011; 43: 1004-1009 [PMID: 21823068 DOI: 10.1055/s-0030-1256623]
  - 23 Pohl J, Meves VC, Mayer G, Behrens A, Frimberger E, Ell C. Prospective randomized comparison of short-access mother-baby cholangioscopy versus direct cholangioscopy with ultraslim gastroscopes. *Gastrointest Endosc* 2013; 78: 609-616 [PMID: 23680176 DOI: 10.1016/j.gie.2013.04.177]
  - 24 Itoi T, Sofuni A, Itokawa F, Tsuchiya T, Kurihara T, Ishii K, Tsuji S, Moriyasu F, Gotoda T. Peroral cholangioscopic diagnosis of biliary-tract diseases by using narrow-band imaging (with videos). *Gastrointest Endosc* 2007; 66: 730-736 [PMID: 17905015]
  - 25 Kim HK, Moon JH, Choi HJ, Kim HK, Min SK, Park JK, Cho YD, Park SH, Lee MS. Early bile duct cancer detected by direct peroral cholangioscopy with narrow-band imaging after bile duct stone removal. *Gut Liver* 2011; 5: 377-379 [PMID: 21927669 DOI: 10.5009/gnl.2011.5.3.377]
  - 26 Moon JH, Ko BM, Choi HJ, Koo HC, Hong SJ, Cheon YK, Cho YD, Lee MS, Shim CS. Direct peroral cholangioscopy using an ultra-slim upper endoscope for the treatment of retained bile duct stones. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 2729-2733 [PMID: 19623165 DOI: 10.1038/ajg.2009.435]
  - 27 Pohl J, Ell C. Direct cholangioscopy: new horizons for complex intraductal treatments under direct high-resolution visualization. *Gastroenterology* 2013; 144: 270-271 [PMID: 23219960 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.10.052]
  - 28 Nakaji S, Hirata N, Shiratori T, Kobayashi M, Inase M. Endoscopic lithotripsy with peroral direct cholangioscopy using a conventional endoscope. *World J Gastrointest Endosc* 2013; 5: 132-134 [PMID: 23515588 DOI: 10.4253/wjge.v5.i3.132]
  - 29 Kim HI, Moon JH, Choi HJ, Lee JC, Ahn HS, Song AR, Lee TH, Cho YD, Park SH, Kim SJ. Holmium laser lithotripsy under direct peroral cholangioscopy by using an ultra-slim upper endoscope for patients with retained bile duct stones (with video). *Gastrointest Endosc* 2011; 74: 1127-1132 [PMID: 21963070 DOI: 10.1016/j.gie.2011.07.027]
  - 30 Brauer BC, Fukami N, Chen YK. Direct cholangioscopy with narrow-band imaging, chromoendoscopy, and argon plasma coagulation of intraductal papillary mucinous neoplasm of the bile duct (with videos). *Gastrointest Endosc* 2008; 67: 574-576 [PMID: 18207145 DOI: 10.1016/j.gie.2007.07.031]
  - 31 Park do H, Park BW, Lee HS, Park SH, Park JH, Lee SH, Kim HS, Kim SJ. Peroral direct cholangioscopic argon plasma coagulation by using an ultraslim upper endoscope for recurrent hepatoma with intraductal nodular tumor growth (with videos). *Gastrointest Endosc* 2007; 66: 201-203 [PMID: 17531236]
  - 32 Lee YN, Moon JH, Choi HJ, Kim DC, Chung JH, Lee TH, Cha SW, Cho YD, Park SH, Kim SJ. Direct biliary drainage using transnasal endoscopy for patients with severe-to-moderate acute cholangitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2013; 28: 739-743 [PMID: 23278442 DOI: 10.1111/jgh.12105]
  - 33 Lee YN, Moon JH, Choi HJ, Min SK, Kim HI, Lee TH, Cho YD, Park SH, Kim SJ. Direct peroral cholangioscopy using an ultraslim upper endoscope for management of residual stones after mechanical lithotripsy for retained common bile duct stones. *Endoscopy* 2012; 44: 819-824 [PMID: 22791587 DOI: 10.1055/s-0032-1309880]
  - 34 Shin JU, Lee JK, Kim KM, Lee KH, Lee KT. Endoscopic naso-gallbladder drainage by using cholangioscopy for acute cholecystitis combined with cholangitis or choledocholithiasis (with video). *Gastrointest Endosc* 2012; 76: 1052-1055 [PMID: 23078929 DOI: 10.1016/j.gie.2012.06.034]
  - 35 苏军凯, 陈玲, 闵培, 张鸣青, 刘将, 李仙丽, 唐庆林, 吕新芝. 超细胃镜作为经口胆道镜应用的临床初步研究. 中华临床医师杂志(电子版) 2014; 8: 78-81
  - 36 苏军凯, 闵培, 陈玲, 张鸣青, 唐庆林, 刘将, 李仙丽, 吕新芝. 超细胃镜作为经口胆道镜在胆总管活检中的应用1例. 中国医药导报 2013; 10: 117-119
  - 37 李健, 郭绍举, 张竞超, 徐成山, 邹小英, 王雪芳. 经口直接胆道进镜对ERCP残留结石的诊疗价值. 中华消化内镜杂志 2014; 31: 447-450
  - 38 刘雄昌, 杨俊杰, 张其勇, 李柏均, 吴德明, 吴琴, 杜疆玲. 经口直接胆道内镜直视下活检对胆管恶性肿瘤的诊断价值初探. 中国医学创新 2013; 10: 71-72
  - 39 高道键, 胡冰. 徒手直接经口胆道镜在胆道疾病中的初步应用. 中华消化内镜杂志 2013; 30: 503-507
  - 40 刘雄昌, 吴德明, 郭宙平, 张其勇, 杨俊杰, 李柏钧, 张月荣, 杜疆玲, 吴琴. 直接胆道内镜在胆管结石诊疗中的应用. 中华消化内镜杂志 2011; 28: 639-640

## 应用要点

直接经口胆道内镜检查与治疗无需购买专门胆道内镜系统, 成本低、图像清晰, 能允许一些内镜配件的使用, 对胆道疾病的诊断及治疗有显著的优势和应用前景。

# ■ 同行评价

本文较为全面复习目前直接经口胆道内镜技术诊断治疗胆道疾病临床应用现状的主要文献, 重点介绍了内镜插入的方法, 评价其诊断治疗适应证, 对该项技术存在的难点、局限性以及并发症也提出了作者的看法。

- 41 刘雄昌, 李柏均, 杨俊杰, 张其勇, 杜疆玲, 吴琴. 直接胆道内镜对胆道梗阻定性诊断的临床应用. 中华临床医师杂志(电子版) 2013; 7: 8061-8063
- 42 张其勇, 刘雄昌, 王冰, 李东海, 杨俊杰, 李柏均, 吴琴, 杜疆玲. 直接胆道内镜对胆管良、恶性狭窄诊断的临床评价. 中外健康文摘 2013; 10: 103-105
- 43 刘雄昌, 卡世全, 吴德明, 张其勇, 杨俊杰, 李柏均, 杜疆玲, 吴琴. 直接胆道内镜在胆道梗阻诊疗中的应用. 中华消化内镜杂志 2013; 30: 284-285
- 44 Itoi T, Sofuni A, Itokawa F, Kurihara T, Tsuchiya T, Ishii K, Tsuji S, Ikeuchi N, Tanaka R, Umeda J, Moriaysu F. Free-hand direct insertion ability into a simulated ex vivo model using a prototype multibending peroral direct cholangioscope (with videos). *Gastrointest Endosc* 2012; 76: 454-457 [PMID: 22078105 DOI: 10.1016/j.gie.2011.07.068]
- 45 Sethi A, Chen YK, Austin GL, Brown WR, Brauer BC, Fukami NN, Khan AH, Shah RJ. ERCP with cholangiopancreatography may be associated with higher rates of complications than ERCP alone: a single-center experience. *Gastrointest Endosc* 2011; 73: 251-256 [PMID: 21106195 DOI: 10.1016/j.gie.2010.08.058]
- 46 Demaerel P, Gevers AM, De Bruecker Y, Sunaert S, Wilms G. Stroke caused by cerebral air embolism during endoscopy. *Gastrointest Endosc* 2003; 57: 134-135 [PMID: 12518155]
- 47 Efthymiou M, Raftopoulos S, Antonio Chirinos J, May GR. Air embolism complicated by left hemiparesis after direct cholangioscopy with an intraductal balloon anchoring system. *Gastrointest Endosc* 2012; 75: 221-223 [PMID: 21470606 DOI: 10.1016/j.gie.2011.01.038]
- 48 Finsterer J, Stöllerberger C, Bastovansky A. Cardiac and cerebral air embolism from endoscopic retrograde cholangio-pancreatography. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2010; 22: 1157-1162 [PMID: 20555267 DOI: 10.1097/MEG.0b013e32833c5459]
- 49 Ueki T, Mizuno M, Ota S, Ogawa T, Matsushita H, Uchida D, Numata N, Ueda A, Morimoto Y, Kominami Y, Nanba S, Kurome M, Ohe H, Nakagawa M, Araki Y. Carbon dioxide insufflation is useful for obtaining clear images of the bile duct during peroral cholangioscopy (with video). *Gastrointest Endosc* 2010; 71: 1046-1051 [PMID: 20438891 DOI: 10.1016/j.gie.2010.01.015]
- 50 Doi S, Yasuda I, Nakashima M, Iwashita T, Toda K, Mukai T, Iwata K, Itoi T, Moriwaki H. Carbon dioxide insufflation vs. conventional saline irrigation for peroral video cholangioscopy. *Endoscopy* 2011; 43: 1070-1075 [PMID: 21971925 DOI: 10.1055/s-0030-1256764]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利





## 肝再生磷酸酶3对SGC7901细胞迁移侵袭及RhoC表达的影响

覃宗帅, 何守搞

覃宗帅, 何守搞, 右江民族医学院附属医院消化内科 广西壮族自治区百色市 533000

覃宗帅, 在读硕士, 主要从事胃癌的病因、发病机制、诊断及治疗的研究。

广西教育厅科研基金资助项目, No. 200810LX374

作者贡献分布: 本课题设计、研究过程由何守搞指导; 实验过程、数据分析及论文写作由覃宗帅与何守搞完成。

通讯作者: 何守搞, 主任医师, 硕士生导师, 533000, 广西壮族自治区百色市中山二路18号, 右江民族医学院附属医院消化内科. [hsgao@163.com](mailto:hsgao@163.com)  
电话: 0776-2823005

收稿日期: 2016-03-09

修回日期: 2016-03-28

接受日期: 2016-04-06

在线出版日期: 2016-04-28

### Influence of phosphatase of regenerating liver 3 on cell migration, invasion and expression of RhoC in SGC7901 cells

Zong-Shuai Qin, Shou-Gao He

Zong-Shuai Qin, Shou-Gao He, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: Scientific Research Fund of Guangxi Education Department, No. 200810LX374

Correspondence to: Shou-Gao He, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, 18 Zhongshan No. 2 Road, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. [hsgao@163.com](mailto:hsgao@163.com)

Received: 2016-03-09

Revised: 2016-03-28

Accepted: 2016-04-06

Published online: 2016-04-28

### Abstract

**AIM:** To explore whether phosphatase of regenerating liver 3 (PRL-3) and RhoC belong to the same signal pathway in the mechanism of SGC7901 cell migration and invasion by observing the influence of PRL-3 on cell migration, invasion and the expression of RhoC in SGC7901 cells.

**METHODS:** Human gastric cancer SGC7901 cells were cultured *in vitro* and treated with different concentrations of PRL-3Ab (1:600, 1:400 and 1:200), then the migration distance of SGC7901 cells was assessed at different time points (0, 12, 24, 48 h) by wound healing assay, and the migration and invasion of SGC7901 cells were examined by Transwell assay at 48 h. The expression of RhoC mRNA and protein was detected by real-time PCR and ELISA.

**RESULTS:** Compared with the control group, the migration distance of SGC7901 cells at 12, 24 and 48 h decreased with the increase in PRL-3Ab concentration. At 48 h, the migration and invasion of SGC7901 cells and the expression of RhoC mRNA and protein in SGC7901 cells treated with different concentrations of PRL-3Ab (1:600, 1:400 and 1:200) were significantly lower than those in the control group (migration:  $365.0 \pm 5.0$ ,  $165.3 \pm 5.0$ ,  $90.3 \pm 5.5$

### 背景资料

胃癌是全世界癌症死亡的第三大原因, 仅次于肺癌和肝癌, 肝再生磷酸酶3(phosphatase of regenerating liver 3, PRL-3)和RhoC在胃癌的发生、发展中均起到重要作用, 深入探究二者之间的关系将为进一步揭示PRL-3促进胃癌迁移侵袭的具体作用机制提供理论依据。

### 同行评议者

赵春玲, 副教授, 潍坊医学院细胞生物学教研室

## ■ 相关报道

Fiordalisi等研究结果提示PRL-3可能通过调控RhoC活性促进结肠癌SW480细胞的迁移侵袭, Ming等研究发现, 在肺癌中PRL-3通过激活RhoC活性促进肺癌细胞的远处转移。

vs  $512.3 \pm 4.9$ ; invasion:  $321.3 \pm 6.1$ ,  $179.0 \pm 6.1$ ,  $75.7 \pm 4.0$  vs  $545.3 \pm 5.0$ ; expression of RhoC mRNA:  $0.910 \pm 0.022$ ,  $0.742 \pm 0.018$ ,  $0.539 \pm 0.015$  vs  $1.000 \pm 0.000$ ; expression of RhoC protein:  $1130.77 \text{ g/mL} \pm 15.32 \text{ g/mL}$ ,  $981.52 \text{ g/mL} \pm 14.44 \text{ g/mL}$ ,  $893.03 \text{ g/mL} \pm 11.10 \text{ g/mL}$  vs  $1212.42 \text{ g/mL} \pm 18.37 \text{ g/mL}$ ;  $P < 0.01$  for all).

**CONCLUSION:** PRL-3 can promote SGC7901 cell migration and invasion and raise the expression of RhoC, which suggests that PRL-3 and RhoC may belong to the same signal pathway in the mechanism of SGC7901 cell migration and invasion.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** SGC7901 cells; Phosphatase of regenerating liver 3; RhoC

Qin ZS, He SG. Influence of phosphatase of regenerating liver 3 on cell migration, invasion and expression of RhoC in SGC7901 cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(12): 1797-1805 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1797.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i12.1797>

## 摘要

**目的:** 通过观察肝再生磷酸酶3(phosphatase of regenerating liver 3, PRL-3)对胃癌SGC7901细胞迁移侵袭及RhoC表达的影响, 探讨胃癌SGC7901细胞迁移侵袭的机制中PRL-3和RhoC是否位于同一信号通路。

**方法:** 体外培养人胃癌SGC7901细胞, 经不同浓度PRL-3抗体(1:600, 1:400, 1:200)作用后, 采用细胞划痕实验观察不同时间段(0、12、24、48 h)SGC7901细胞的迁移距离; 通过Transwell迁移侵袭实验检测不同浓度PRL-3抗体(1:600, 1:400, 1:200)作用48 h后SGC7901细胞迁移侵袭的穿膜细胞数, 并采用Real-time PCR和ELISA检测SGC7901细胞中RhoC mRNA及蛋白表达量的变化, 比较不同浓度PRL-3抗体处理后SGC7901细胞迁移侵袭的细胞数和RhoC mRNA及蛋白的表达量。

**结果:** 与对照组比较, 随着PRL-3抗体浓度的升高和作用时间的延长, SGC7901细胞的迁移距离逐渐减小, 在48 h, 经不同浓度PRL-3抗体(1:600, 1:400, 1:200)处理SGC7901细胞后, 其迁移和侵袭的细胞数, RhoC

mRNA相对表达量和蛋白表达水平与对照组相比均明显降低(迁移SGC7901细胞数:  $365.0 \pm 5.0$ ,  $165.3 \pm 5.0$ ,  $90.3 \pm 5.5$  vs  $512.3 \pm 4.9$ ; 侵袭SGC7901细胞数:  $321.3 \pm 6.1$ ,  $179.0 \pm 6.1$ ,  $75.7 \pm 4.0$  vs  $545.3 \pm 5.0$ ; RhoC mRNA的相对表达量:  $0.910 \pm 0.022$ ,  $0.742 \pm 0.018$ ,  $0.539 \pm 0.015$  vs  $1.000 \pm 0.000$ ; RhoC蛋白表达量:  $1130.77 \text{ g/mL} \pm 15.32 \text{ g/mL}$ ,  $981.52 \text{ g/mL} \pm 14.44 \text{ g/mL}$ ,  $893.03 \text{ g/mL} \pm 11.10 \text{ g/mL}$  vs  $1212.42 \text{ g/mL} \pm 18.37 \text{ g/mL}$ )(均 $P < 0.01$ ), 不同PRL-3抗体浓度组两两比较均有统计学意义(均 $P < 0.01$ )。

**结论:** PRL-3在体外能显著促进SGC7901细胞的迁移侵袭, 并能增强RhoC基因和蛋白的表达, 提示在SGC7901细胞迁移侵袭的机制中PRL-3和RhoC可能位于同一信号通路。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** SGC7901; 肝再生磷酸酶3; RhoC

**核心提示:** 肝再生磷酸酶3(phosphatase of regenerating liver 3, PRL-3)不仅能促进SGC7901细胞迁移侵袭, 也具有降低其细胞内RhoC基因和蛋白的作用, 但以上两种作用并非具有直接的因果关系, PRL-3可能通过某种信号通路影响RhoC基因和蛋白的表达, 间接说明PRL-3和RhoC可能位于同一条信号通路。

覃宗帅, 何守搞. 肝再生磷酸酶3对SGC7901细胞迁移侵袭及RhoC表达的影响. *世界华人消化杂志* 2016; 24(12): 1797-1805 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1797.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i12.1797>

## 0 引言

胃癌是全世界癌症死亡的第三大原因, 仅次于肺癌和肝癌<sup>[1]</sup>, 其发病率随着年龄的增加而显著升高, 并且已逐年呈现年轻化趋势, 目前对胃癌迁移侵袭的作用机制尚不完全清楚, 因此需要对此进行深入研究. 近年研究<sup>[2,3]</sup>发现, 肝再生磷酸酶3(phosphatase of regenerating liver 3, PRL-3)和RhoC在胃癌细胞迁移侵袭的部位高表达, 而且均能促进胃癌细胞的迁移侵袭. 在PRL-3促进胃癌细胞迁移侵袭的作用机制中PRL-3和RhoC是否位于同一信号通路, 目前鲜有报道, 本研究采用不同浓度的PRL-3抗体作用于人胃癌细胞株

SGC-7901, 通过细胞划痕实验和Transwell观察PRL-3抗体对肿瘤细胞迁移侵袭的抑制作用, 并检测其对RhoC基因和蛋白的影响, 为进一步揭示PRL-3促进胃癌细胞迁移侵袭的作用机制提供理论依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** SGC7901细胞购自中国科学院上海细胞库; 改良型RPMI 1640培养基购自武汉博士德生物工程有限公司; 标准胎牛血清为海克隆生物化学制品(北京)有限公司产品; 鼠抗人PRL-3多克隆抗体为上海生工生物工程有限公司产品; RNAiso Plus、反转录试剂盒、PCR试剂盒均为TaKaRa产品; ELISA试剂盒为武汉华美生物工程有限公司产品。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养:** 将SGC7901培养于含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液, 37℃、50 mL/L CO<sub>2</sub>饱和湿度细胞培养箱内培养。

**1.2.2 细胞划痕实验:** 在6孔板背面用Marker通过孔的直径画标记线, 将生长状态良好的SGC7901细胞接种于6孔板, 待细胞贴壁率达100%时, 用10 μL Tip头垂直于标记线划痕, PBS液冲洗3次; 第1孔加入含1:600抗人PRL-3抗体的2%血清培养液, 第2孔加入含1:400抗人PRL-3抗体的2%血清培养液, 第3孔加入含1:200抗人PRL-3抗体的2%血清培养液, 第4孔加入不含抗体的2%血清培养液作对照。分别于0、12、24、48 h照相。

**1.2.3 细胞迁移和侵袭能力检测:** Transwell小室细胞迁移检测, 上室中分别加入200 μL含1:200、1:400、1:600抗人PRL-3抗体的无血清RPMI 1640培养基和不含抗体的无血清RPMI 1640培养基, 分别接种细胞, 细胞数为 $2.5 \times 10^5$ 个, 下室加入750 μL含20%胎牛血清RPMI 1640培养基, 37℃、50 mL/L CO<sub>2</sub>孵箱中培养48 h后吸尽培养基, PBS清洗后, 甲醇室温固定15 min, 用棉签轻擦掉微孔膜上表面的细胞, 结晶紫染色30 min, 干燥, 取下微孔膜, 置载玻片上, 镜下观察。细胞侵袭能力的测定用预冷的无血清培养基以1:8稀释Matrigel加入上室100 μL, 在室温下放置2 h。使用前用培养基重新水化并吸净, 其他与迁移实验相同, 培养48 h后观察结果。

**1.2.4 Real-time PCR检测RhoC mRNA的表**

达: 将生长状态良好的SGC7901细胞接种于6孔板中, 加入不同浓度(同前)人PRL-3抗体的无血清RPMI 1640培养基和不含抗体的无血清RPMI 1640培养基, 培养48 h后用RNAiso Plus提取总RNA, 使用RT-PCR试剂盒逆录得到cDNA, 随后使用SYBR Premix Ex Taq II(Tli RNaseH Plus)(2×)试剂盒扩增RhoC和GAPDH基因, 定量分析RhoC表达水平。RhoC引物如下: 上游引物5'-CTGCAGCCTGGGAAGTTCA-3', 下游引物5'-GTCCGCAATATAGTTCTCAAAGACA-3'。GAPDH引物如下: 上游引物5'-GCACCGTCAAGGCTGAGAAC-3', 下游引物5'-TGGTGAA GACGCCAGTGGA-3'。反应条件: 95℃ 30 s预变性后, 95℃ 5 s, 59℃ 34 s, 40个循环, 最后55℃ 30 s, 81个循环; 结果分析处理采用相对定量法, mRNA的相对表达量 =  $2^{-\Delta\Delta Ct} [\Delta\Delta Ct = \Delta Ct(\text{检测样品}) - \Delta Ct(\text{对照样品})]$ 。

**1.2.5 ELISA检测RhoC蛋白的表达:** 加入不同浓度(同前)人PRL-3抗体的无血清RPMI 1640培养基和不含抗体的无血清RPMI 1640培养基进行培养, 将细胞反复冻融破坏细胞膜, 稀释浓度为 $10^6$ /mL, 离心取上清液, 准备试剂, 加入准备好的样品和标准品, 37℃反应30 min, 洗涤5次, 加入酶标试剂, 37℃反应30 min, 洗板5次, 加入显色液A、B, 37℃显色10 min, 加入终止液, 15 min之内用酶标仪在450 nm波长测量各孔的光密度(A)值, 使用Curve Expert 1.4软件绘制标准曲线, 将样本的A值代入方程式, 计算出样本浓度。

**统计学处理** 实验数据的收集、整理按照完全随机对照设计的原则, 所有数据均以mean ± SD表示, 同一处理因素多组间的比较采用单因素方差分析, 采用SPSS16.0软件进行处理,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 划痕试验检测细胞迁移能力** 结果显示在各个时间点, 随着PRL-3抗体浓度逐渐增加, 伤口愈合速度逐渐降低, 提示细胞的迁移能力逐渐降低(图1)。

**2.2 Transwell胃癌细胞体外迁移侵袭实验** 迁移实验阴性对照组, 浓度为1:600、1:400、1:200的PRL-3抗体穿膜细胞数的具体数目见图2I, J。单因素方差分析结果提示, 细胞迁移

### ■ 创新点

PRL-3促进胃癌细胞迁移侵袭的作用机制中PRL-3和RhoC是否位于同一信号通路, 目前鲜有报道, 本研究为进一步揭示PRL-3促进胃癌细胞迁移侵袭的作用机制提供理论依据。



## ■应用要点

本研究显示在胃癌细胞中PRL-3具有调控RhoC表达的作用, 为研制抗胃癌辅助药物提供分子机制的支持.

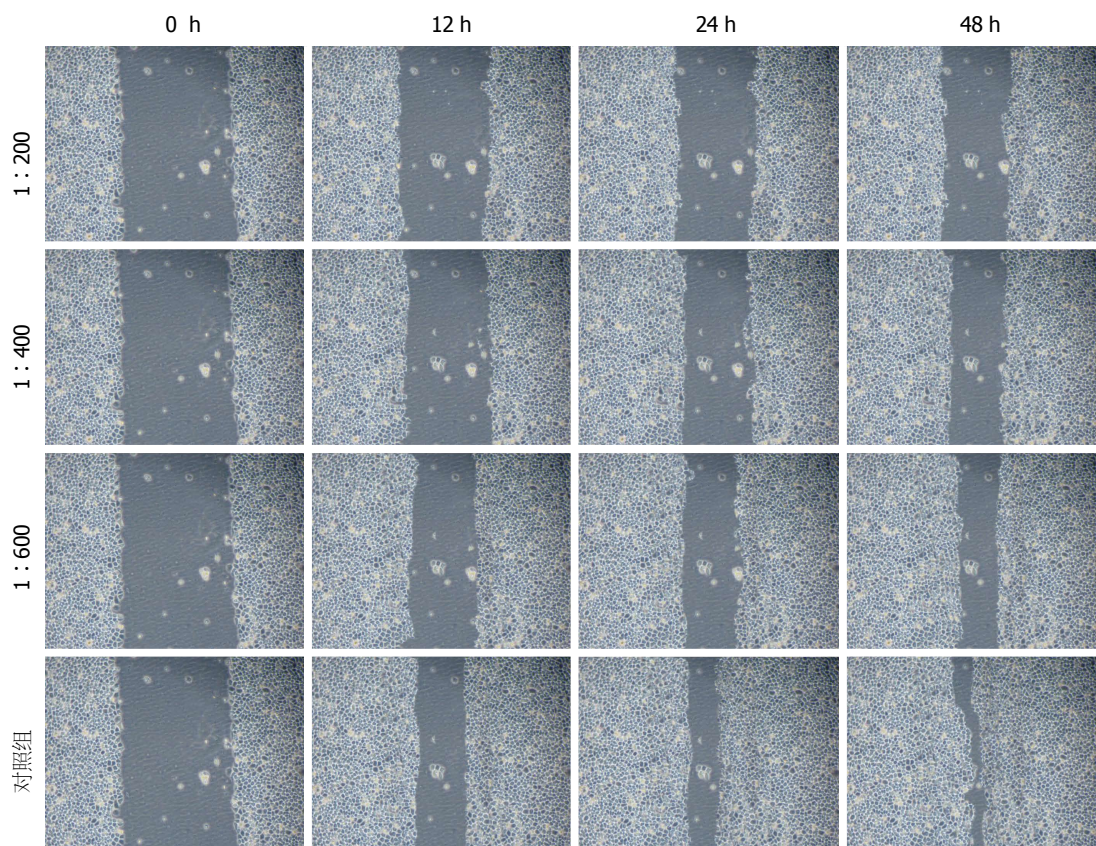


图1 不同浓度肝再生磷酸酶3抗体对SGC7901细胞迁移的影响( $\times 200$ ).

实验中不同浓度PRL-3抗体组与阴性对照组比较, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$ ), 不同浓度PRL-3抗体组的穿膜细胞数差异有统计学意义( $F = 4201.273$ ,  $P < 0.001$ ); 细胞侵袭实验中不同浓度PRL-3抗体组与阴性对照组比较, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$ ), 不同浓度PRL-3抗体组之间穿膜细胞数差异有统计学意义( $F = 4278.031$ ,  $P < 0.001$ )(图2).

**2.3 Real-time PCR结果** RhoC mRNA的相对表达量随着PRL-3抗体浓度的升高而逐渐降低, 单因素方差分析提示, 不同PRL-3抗体浓度组与阴性对照组相比, 差异均具有统计学意义(均 $P < 0.01$ ), 不同抗体浓度组之间RhoC mRNA的相对表达量差异有统计学意义( $F = 295.589$ ,  $P < 0.001$ )(图3).

**2.4 ELISA检测蛋白结果** RhoC的蛋白表达量随着PRL-3抗体浓度的升高而逐渐降低, 单因素方差分析提示, 不同浓度PRL-3抗体组与阴性对照组相比, 差异均具有统计学意义(均 $P < 0.01$ ), 不同抗体浓度组之间RhoC蛋白表达量的差异有统计学意义( $F = 275.075$ ,  $P < 0.001$ )(图4).

### 3 讨论

PRL-3属于蛋白酪氨酸磷酸酶(protein tyrosine phosphatases, PTPs)家族, 该家族可以通过酪氨酸的去磷酸化和磷酸化调节细胞的生长、分化、细胞周期、细胞间信息传递和其他活动<sup>[4]</sup>. PRL-3由173个氨基酸组成, 以单体形式存在, 结构复杂<sup>[5]</sup>, 其活性中心由Cys104、Arg110和他们之间的几个疏水性氨基酸组成的P-环构成. 72位的Asp所在的嘧啶环结构独立于蛋白的其他结构域, 在PRL-3和底物结合时可以发生空间结构变化, 对于PRL-3磷酸酶活性的发挥具有重要作用<sup>[6]</sup>.

自从Saha等<sup>[7]</sup>第一次发现PRL-3与结肠癌的迁移侵袭具有相关性以后, Miskad等<sup>[8]</sup>用免疫组织化学法研究发现, 胃癌组织中有68%表达PRL-3, 其中有转移的胃癌组织PRL-3的表达为81.5%, 明显高于未转移的胃癌组织. 在转移的淋巴结中表达阳性率为92.6%. 有腹膜转移的在原发灶和转移灶阳性率分别为68.7%和92.1%, 统计学分析显示, PRL-3的表达与肿瘤是否有淋巴管浸润、淋巴结转移及肿瘤分期有关, 而与组织学类型、肿瘤



## ■名词解释

**IQGAP1:** 是一种Ras鸟苷三磷酸酶活化蛋白, 因其含有类似于Ras GAPs催化域的广泛序列和位于N端的4个可与钙调蛋白相互作用的IQ模体而被命名。研究表明, IQGAP1通过多种转导通路在肝癌、胃癌、结肠癌等多种肿瘤的发生及转移中发挥了显著的促进作用, 被认为是一种致癌基因。

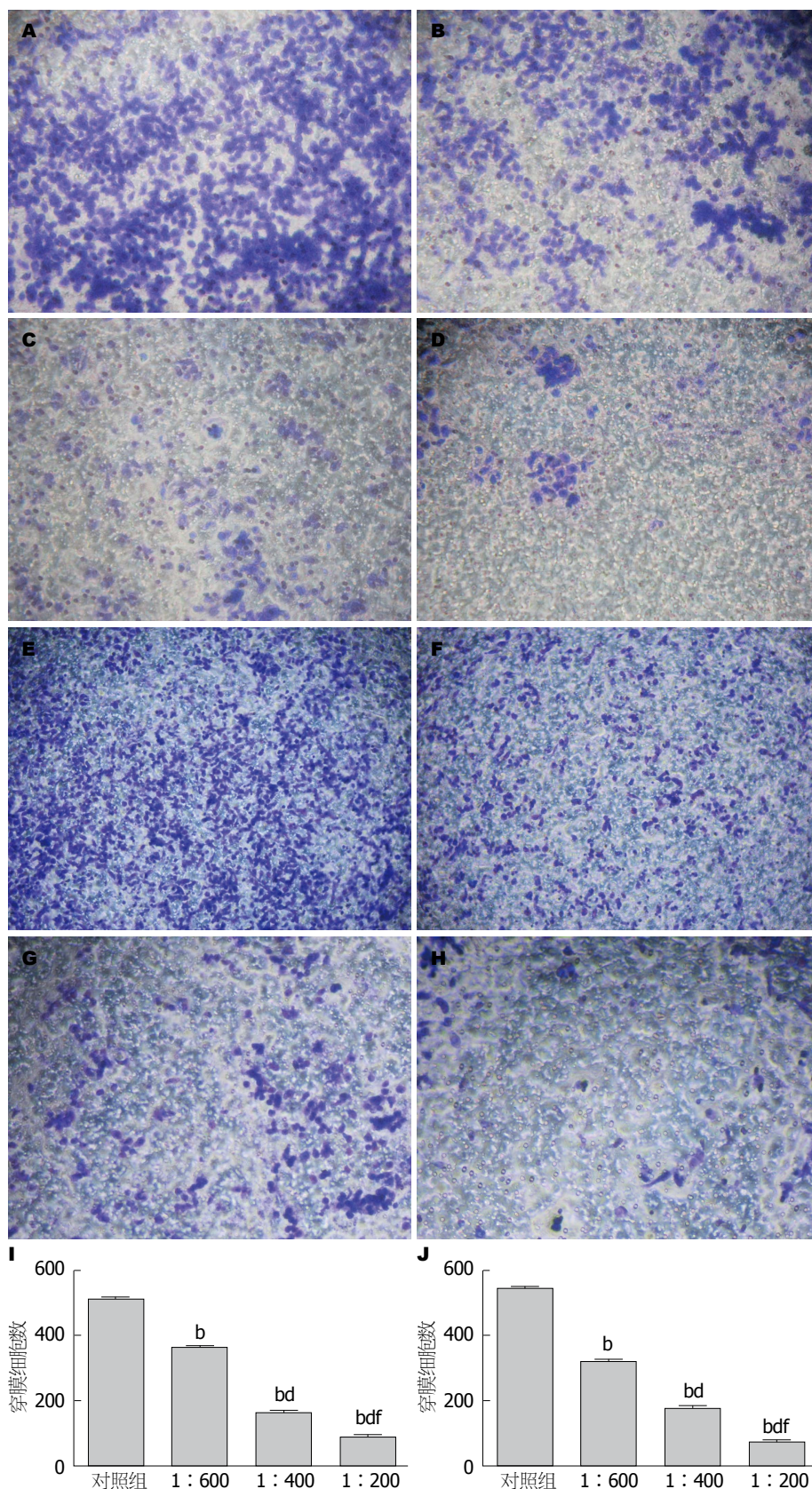


图 2 不同浓度肝再生磷酸酶3抗体对SGC7901细胞迁移能力及侵袭能力的影响. A-D: 细胞迁移能力( $\times 200$ ); E-H: 细胞侵袭能力( $\times 200$ ); A, E: 对照组; B, F: 1:600; C, G: 1:400; D, H: 1:200; I: 各组迁移穿膜细胞数统计图; J: 各组侵袭穿膜细胞数统计图. <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 对照组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 1:600; <sup>f</sup> $P < 0.01$  vs 1:400.

大小、浸润程度无关. 以上研究说明胃癌中 PRL-3呈现高表达, 在有转移的胃癌中呈现

■ 同行评价

本文选题较新颖, 研究结果对后续的深入研究有重要指导意义.

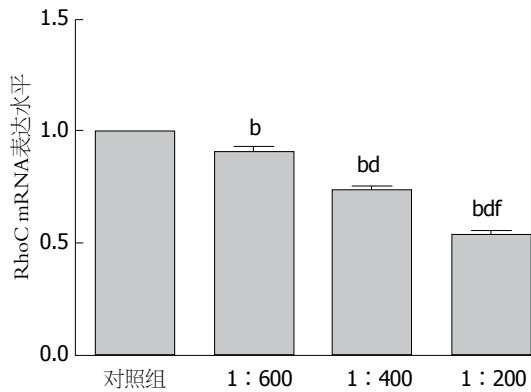


图3 不同浓度肝再生磷酸酶3抗体处理SGC7901细胞后RhoC mRNA相对表达量的比较. <sup>b</sup> $P<0.01$  vs 对照组; <sup>d</sup> $P<0.01$  vs 1:600; <sup>f</sup> $P<0.01$  vs 1:400.

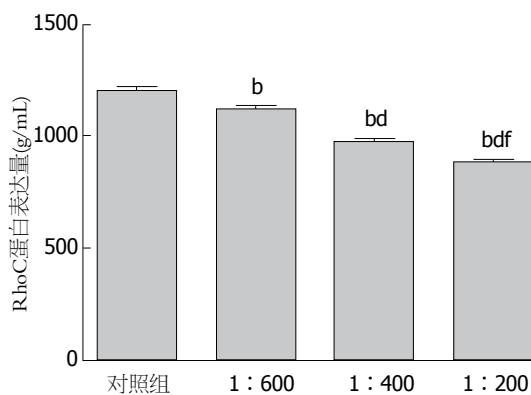


图4 不同浓度肝再生磷酸酶3抗体处理SGC7901细胞后RhoC蛋白表达量的比较. <sup>b</sup> $P<0.01$  vs 对照组; <sup>d</sup> $P<0.01$  vs 1:600; <sup>f</sup> $P<0.01$  vs 1:400.

更高表达, 在转移的淋巴结、腹膜和远端转移灶中表达最高. Cai等<sup>[9]</sup>在SGC7901胃癌细胞的研究中发现, PRL-3能促进SGC7901细胞增殖、迁移和侵袭, 推测PRL-3在胃癌的发生发展中起到关键作用. 随后宋倩等<sup>[10]</sup>发现PRL-3表达增高, 能上调ABCB1和ABCG2的表达, 并促进胃癌细胞BGC823的增殖. Li等<sup>[11]</sup>通过甲基化沉默miR-425后, 胃癌细胞的迁移侵袭能力明显增强, miR-425已被证实能抑制PRL-3的表达, 采用Real-PCR和Western blot检测, 发现PRL-3 mRNA和蛋白表达水平也明显升高, 说明PRL-3可以促进胃癌细胞的迁移侵袭. Matsukawa等<sup>[12]</sup>发现通过特异性siRNA干扰PRL-3的表达后, 稳定转染13株胃癌细胞系, 选取PRL-3 mRNA表达最高的胃癌SH101-P4细胞, 发现其迁移侵袭的能力明显下降, 并将胃癌SH101-P4细胞种植到体外的脾脏中, 发现其肝脏转移以及脾脏原位肿

瘤的体积明显下降, 这些研究说明PRL-3在胃癌的发生发展和转移侵袭中有重要意义, 研究陆续发现PRL-3的表达与卵巢癌<sup>[13]</sup>、乳腺癌<sup>[14]</sup>和黑素瘤<sup>[15]</sup>等恶性肿瘤的发生发展具有相关性.

蒋蒙蒙等<sup>[16]</sup>通过构建miR495和miR551a的真核表达载体, 稳定转染胃癌SGC7901细胞后, 发现PRL-3 mRNA和蛋白表达明显降低, 随后许牧等<sup>[17]</sup>通过建立胃癌裸鼠模型, 接种稳定转染miR495和miR551a的SGC7901细胞, 结果提示胃癌细胞体内迁移侵袭能力明显下降. Guo等<sup>[18]</sup>通过建立动物模型, 发现表达PRL-3的卵巢癌细胞的迁移侵袭能被PRL-3特异性抗体抑制, 张平等<sup>[19]</sup>研究提示肺癌A549细胞中PRL-3的功能能被特异性PRL-3抗体阻断, 进而减弱PRL-3促进肺癌细胞迁移侵袭的能力. 本实验从PRL-3的蛋白水平研究, 通过PRL-3抗体阻断PRL-3的功能后, SGC7901细胞的迁移侵袭能力随着PRL-3抗体浓度增加而逐渐降低, 提示PRL-3具有促进胃癌细胞迁移侵袭的能力, 这与前人研究基本一致.

同时, 相关研究提示PRL-3在细胞中所在位置与异戊二烯化有关, 当酶的C-末端被异戊二烯化时, 他位于胞质膜, 反之则处于核内. 同时, PRL-3在大多数正常细胞中定位于细胞核内, 但在癌细胞中, PRL-3则迁移至细胞质内或细胞膜上异戊二烯化, 从而激活下游信号通路造成细胞突出、皱缩乃至出现沫空泡样的延伸, 最终促进细胞的迁移和侵袭<sup>[20]</sup>.

因此, 为揭示PRL-3促进癌细胞迁移侵袭的信号通路及作用机制, 前人做了大量的研究, 目前的研究表明PRL-3促进细胞迁移侵袭主要有5条途径: (1)通过调控Rho GTPase家族的重要成员RhoA和RhoC的活性促进细胞的迁移侵袭<sup>[21]</sup>; (2)通过下调Csk促进Src活化促进细胞的侵袭<sup>[22]</sup>; (3)通过PTEN-PI3K通路促进细胞的迁移侵袭<sup>[23,24]</sup>; (4)通过负调节肿瘤抑制基因p53<sup>[25]</sup>促进细胞的迁移侵袭; (5)通过上调pERK的表达和活性促进肿瘤细胞的迁移侵袭<sup>[26]</sup>.

Pryczynicz等<sup>[27]</sup>研究发现表明PRL-3和E-cadherin与胃癌细胞的迁移侵袭具有相关性, 间接表明PRL-3有可能通过PTEN-PI3K通路促进胃癌细胞的迁移侵袭. Fiordalisi等<sup>[28]</sup>研



究结果提示PRL-3可能通过调控RhoC活性促进人结肠癌SW480细胞的迁移侵袭, 然后建立PRL-3、Src和RhoC信号通路模型, 发现PRL-3需要Src家族的激活才能促进SW480细胞的迁移侵袭以及调控RhoC的活性. Ming等<sup>[29]</sup>研究发现, 在肺癌中PRL-3通过激活RhoC活性促进肺癌细胞的远处转移.

RhoC是Rho基因家族的重要成员, 是Ras的同源类似物. 研究表明Rho GTPase的活性增强促进肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭<sup>[30]</sup>, RhoC的最重要的功能是通过调节与细胞骨架生成相关蛋白的磷酸化, 使肌动蛋白丝和肌球蛋白相互作用, 引发收缩性, 最终促进肿瘤细胞的运动和迁移<sup>[31]</sup>.

近几年关于RhoC促进胃癌迁移侵袭作用机制的研究相继增多. Zhou等<sup>[32]</sup>在体内、体外实验通过miR-493抑制胃癌细胞的迁移侵袭能力, 同时使用qRT-PCR和Western blot方法检测RhoC mRNA和蛋白, 发现RhoC的表达随着胃癌细胞的迁移侵袭能力降低而降低, 说明RhoC具有促进胃癌细胞迁移侵袭的能力. Wu等<sup>[33]</sup>通过病毒性特异性质粒和DNA编码干扰胃癌细胞RhoC和IQGAP1的表达, MTT法和溴-脱氧尿嘧啶掺入法分析RhoC表达和IQGAP1结构改变对胃癌细胞增殖的影响, 使用Western blot法检测IQGAP1和RhoC蛋白, 免疫荧光和免疫共沉检测RhoC和IQGAP1之间的关系和在细胞中的定位. 结果表明, RhoC、IQGAP1、IQGAP1的C-末端能明显促进胃癌细胞的迁移侵袭, 并增强细胞周期蛋白E和细胞周期蛋白D1的表达, 相比之下, 被病毒性特异性质粒和DNA编码干扰IQGAP1或RhoC表达的胃癌细胞, 其增殖能力明显下降, IQGAP1表达降低阻断了RhoC的表达, 而沉默RhoC的表达, IQGAP1表达和胃癌细胞增殖无明显变化. 免疫荧光和免疫共沉分析提示RhoC和IQGAP1可能处于同一信号通路.

以上研究表明, PRL-3和RhoC均参与胃癌细胞的迁移侵袭, 但二者在胃癌细胞迁移侵袭的过程中是否具有关联性, 本研究通过不同浓度的PRL-3抗体作用于胃癌SGC7901细胞后, 发现RhoC mRNA和蛋白表达量随着PRL-3抗体浓度的增加呈逐渐下降趋势, 说明

PRL-3和RhoC在胃癌SGC7901细胞中可能具有相关性.

总之, PRL-3不仅能促进SGC7901细胞迁移侵袭, 也具有降低其细胞内RhoC基因和蛋白的作用, 但以上两种作用并非具有直接的因果关系, PRL-3可能通过某种信号通路影响RhoC基因和蛋白的表达, 间接说明PRL-3和RhoC可能位于同一条信号通路, 而且PRL-3与RhoC都具有促进胃癌细胞迁移侵袭的能力, 但PRL-3是否通过调控RhoC活性促进胃癌细胞迁移侵袭还有待研究. 目前对PRL-3促进胃癌迁移侵袭的作用机制及其对RhoC的影响途径尚不十分清楚, 但可以预测, 随着研究的不断深入, PRL-3与RhoC在胃癌细胞迁移侵袭中的相互关系及作用机制将逐步被证实, 并为研制抗胃癌辅助药物提供分子机制的支持.

#### 4 参考文献

- 1 Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer* 2015; 136: E359-E386 [PMID: 25220842 DOI: 10.1002/ijc.29210]
- 2 Xing X, Lian S, Hu Y, Li Z, Zhang L, Wen X, Du H, Jia Y, Zheng Z, Meng L, Shou C, Ji J. Phosphatase of regenerating liver-3 (PRL-3) is associated with metastasis and poor prognosis in gastric carcinoma. *J Transl Med* 2013; 11: 309 [PMID: 24330843 DOI: 10.1186/1479-5876-11-309]
- 3 Liu N, Zhang G, Bi F, Pan Y, Xue Y, Shi Y, Yao L, Zhao L, Zheng Y, Fan D. RhoC is essential for the metastasis of gastric cancer. *J Mol Med (Berl)* 2007; 85: 1149-1156 [PMID: 17549441]
- 4 Zhang ZY, Dodd GT, Tiganis T. Protein Tyrosine Phosphatases in Hypothalamic Insulin and Leptin Signaling. *Trends Pharmacol Sci* 2015; 36: 661-674 [PMID: 26435211 DOI: 10.1016/j.tips.2015.07.003]
- 5 Guzińska-Ustymowicz K, Pryczynicz A. PRL-3, an emerging marker of carcinogenesis, is strongly associated with poor prognosis. *Anticancer Agents Med Chem* 2011; 11: 99-108 [PMID: 21291404]
- 6 Jeong KW, Kang DI, Lee E, Shin A, Jin B, Park YG, Lee CK, Kim EH, Jeon YH, Kim EE, Kim Y. Structure and backbone dynamics of vanadate-bound PRL-3: comparison of 15N nuclear magnetic resonance relaxation profiles of free and vanadate-bound PRL-3. *Biochemistry* 2014; 53: 4814-4825 [PMID: 24983822 DOI: 10.1021/bi5003844]
- 7 Saha S, Bardelli A, Buckhaults P, Velculescu VE, Rago C, St Croix B, Romans KE, Choti MA, Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B. A phosphatase associated with metastasis of

- colorectal cancer. *Science* 2001; 294: 1343-1346 [PMID: 11598267]
- 8 Miskad UA, Semba S, Kato H, Yokozaki H. Expression of PRL-3 phosphatase in human gastric carcinomas: close correlation with invasion and metastasis. *Pathobiology* 2004; 71: 176-184 [PMID: 15263806]
- 9 Cai SR, Wang Z, Chen CQ, Wu WH, He YL, Zhan WH, Zhang CH, Cui J, Wu H. Role of silencing phosphatase of regeneration liver-3 expression by microRNA interference in the growth of gastric cancer. *Chin Med J (Engl)* 2008; 121: 2534-2538 [PMID: 19187591]
- 10 宋倩, 孟麟, 曲立科, 廉沈沂, 寿成超. 酪氨酸磷酸酶 PRL-3增加人胃癌细胞BGC823的SP细胞比例并提高其对化疗药物的耐受性. *中国生物化学与分子生物学报* 2013; 29: 257-263
- 11 Li Z, Zhang G, Li D, Jie Z, Chen H, Xiong J, Liu Y, Cao Y, Jiang M, Le Z, Tan S. Methylation-associated silencing of miR-495 inhibit the migration and invasion of human gastric cancer cells by directly targeting PRL-3. *Biochem Biophys Res Commun* 2015; 456: 344-350 [PMID: 25475733 DOI: 10.1016/j.bbrc.2014.11.083]
- 12 Matsukawa Y, Semba S, Kato H, Koma Y, Yanagihara K, Yokozaki H. Constitutive suppression of PRL-3 inhibits invasion and proliferation of gastric cancer cell in vitro and in vivo. *Pathobiology* 2010; 77: 155-162 [PMID: 20516731 DOI: 10.1159/000292649]
- 13 Liu H, Al-aidaroos AQ, Wang H, Guo K, Li J, Zhang HF, Zeng Q. PRL-3 suppresses c-Fos and integrin  $\alpha 2$  expression in ovarian cancer cells. *BMC Cancer* 2013; 13: 80 [PMID: 23418787 DOI: 10.1186/1471-2407-13-80]
- 14 Lv J, Liu C, Huang H, Meng L, Jiang B, Cao Y, Zhou Z, She T, Qu L, Wei Song S, Shou C. Suppression of breast tumor growth by DNA vaccination against phosphatase of regenerating liver 3. *Gene Ther* 2013; 20: 834-845 [PMID: 23364316 DOI: 10.1038/gt.2013.5]
- 15 Fang XY, Song R, Chen W, Yang YY, Gu YH, Shu YQ, Wu XD, Wu XF, Sun Y, Shen Y, Xu Q. PRL-3 Promotes the Malignant Progression of Melanoma via Triggering Dephosphorylation and Cytoplasmic Localization of NHERF1. *J Invest Dermatol* 2015; 135: 2273-2282 [PMID: 25897829 DOI: 10.1038/jid.2015.154]
- 16 蒋蒙蒙, 曹毅, 李正荣, 揭志刚. miR495、miR551a 靶向干扰SGC7901细胞PRL-3基因的表达. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 3361-3365
- 17 许牧, 曹毅, 蒋蒙蒙, 李正荣, 揭志刚. miR495、miR551a靶向干扰PRL-3表达抑制胃癌腹膜转移. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 1693-1700
- 18 Guo K, Tang JP, Tan CP, Wang H, Zeng Q. Monoclonal antibodies target intracellular PRL phosphatases to inhibit cancer metastases in mice. *Cancer Biol Ther* 2008; 7: 750-757 [PMID: 18364570]
- 19 张平, 张志培, 李香敏, 雷杰, 苏凯, 李小飞, 王小平. PRL-3和RhoC在A549细胞中的表达及意义. *中国肺癌杂志* 2010; 13: 1160-1163
- 20 Al-Aidaroos AQ, Zeng Q. PRL-3 phosphatase and cancer metastasis. *J Cell Biochem* 2010; 111: 1087-1098 [PMID: 21053359 DOI: 10.1002/jcb.22913]
- 21 Fiordalisi JJ, Keller PJ, Cox AD. PRL tyrosine phosphatases regulate rho family GTPases to promote invasion and motility. *Cancer Res* 2006; 66: 3153-3161 [PMID: 16540666]
- 22 Liang F, Liang J, Wang WQ, Sun JP, Udho E, Zhang ZY. PRL3 promotes cell invasion and proliferation by down-regulation of Csk leading to Src activation. *J Biol Chem* 2007; 282: 5413-5419 [PMID: 17192274]
- 23 Wang H, Quah SY, Dong JM, Manser E, Tang JP, Zeng Q. PRL-3 down-regulates PTEN expression and signals through PI3K to promote epithelial-mesenchymal transition. *Cancer Res* 2007; 67: 2922-2926 [PMID: 17409395]
- 24 张建龙, 张紫斐, 张育超, 毛凯, 陈双. PRL-3调节 PI3K信号通路在促进结肠癌细胞增殖侵袭中的作用. *中山大学学报* 2013; 34: 16-21
- 25 Min SH, Kim DM, Heo YS, Kim HM, Kim IC, Yoo OJ. Downregulation of p53 by phosphatase of regenerating liver 3 is mediated by MDM2 and PIRH2. *Life Sci* 2010; 86: 66-72 [PMID: 19945467 DOI: 10.1016/j.lfs.2009.11.010]
- 26 Ming J, Jiang Y, Jiang G, Zheng H. Phosphatase of regenerating liver-3 induces angiogenesis by increasing extracellular signal-regulated kinase phosphorylation in endometrial adenocarcinoma. *Pathobiology* 2014; 81: 1-7 [PMID: 23989302 DOI: 10.1159/000350310]
- 27 Pryczynicz A, Guzińska-Ustymowicz K, Niewiarowska K, Cepowicz D, Kemona A. PRL-3 and E-cadherin show mutual interactions and participate in lymph node metastasis formation in gastric cancer. *Tumour Biol* 2014; 35: 6587-6592 [PMID: 24696260 DOI: 10.1007/s13277-014-1855-7]
- 28 Fiordalisi JJ, Dewar BJ, Graves LM, Madigan JP, Cox AD. Src-mediated phosphorylation of the tyrosine phosphatase PRL-3 is required for PRL-3 promotion of Rho activation, motility and invasion. *PLoS One* 2013; 8: e64309 [PMID: 23691193 DOI: 10.1371/journal.pone.0064309]
- 29 Ming J, Liu N, Gu Y, Qiu X, Wang EH. PRL-3 facilitates angiogenesis and metastasis by increasing ERK phosphorylation and up-regulating the levels and activities of Rho-A/C in lung cancer. *Pathology* 2009; 41: 118-126 [PMID: 19152186 DOI: 10.1080/00313020802579268]
- 30 Tumor Z, Katebzadeh S, Guerra C, Bhushan L, Alkam T, Henson BS. RhoC mediates epidermal growth factor-stimulated migration and invasion in head and neck squamous cell carcinoma. *Neoplasia* 2015; 17: 141-151 [PMID: 25622907 DOI: 10.1016/j.neo.2014.12.002]
- 31 Kawata H, Kamiakito T, Omoto Y, Miyazaki C, Hozumi Y, Tanaka A. RhoC upregulation is correlated with reduced E-cadherin in human breast cancer specimens after chemotherapy and in human breast cancer MCF-7 cells. *Horm Cancer* 2014; 5: 414-423 [PMID: 25123151 DOI: 10.1007/s12672-014-0199-5]
- 32 Zhou W, Zhang C, Jiang H, Zhang Z, Xie L, He X. MiR-493 suppresses the proliferation and invasion of gastric cancer cells by targeting RhoC. *Iran J Basic Med Sci* 2015; 18: 1027-1033 [PMID: 25897829 DOI: 10.1038/jid.2015.154]

26730339]  
33 Wu Y, Tao Y, Chen Y, Xu W. RhoC regulates  
the proliferation of gastric cancer cells through

interaction with IQGAP1. *PLoS One* 2012; 7: e48917  
[PMID: 23145020 DOI: 10.1371/annotation/  
84311f47-96d2-4b61-b36b-e1e8e3d8dc44]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2016年版权归百世登出版  
集团有限公司所有

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

**本刊讯** 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569, *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology*], 是一本由来自国内31个省、市、自治区、特别行政区和美国的1040位胃肠病学和肝病学专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病学领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

除了公开存取之外, 《世界华人消化杂志》的另一大特色是对普通读者的充分照顾, 即每篇论文都会附带有一组供非专业人士阅读的通俗易懂的介绍大纲, 包括背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点、名词解释、同行评价。

《世界华人消化杂志》报道的内容包括食管、胃、肠、肝、胰肿瘤, 食管疾病、胃肠及十二指肠疾病、肝胆疾病、肝脏疾病、胰腺疾病、感染、内镜检查法、流行病学、遗传学、免疫学、微生物学, 以及胃肠道运动对神经的影响、传送、生长因素和受体、营养肥胖、成像及高科技技术。

《世界华人消化杂志》的目标是出版高质量的胃肠病学和肝病学领域的专家评论及临床实践和基础研究相结合具有实践意义的文章, 为内科学、外科学、感染病学、中医医学、肿瘤学、中西医结合学、影像学、内镜学、介入治疗学、病理学、基础研究等医生和研究人员提供转换平台, 更新知识, 为患者康复服务。



# TNF- $\alpha$ 激活大鼠胆管上皮细胞Jagged-1的表达并诱导其上皮-间质转化

李潼, 郭兵, 高杨, 于奇宏, 李锦锦, 鲜文静, 蒋帅, 郑启昌, 张勇

## ■背景资料

既往研究表明, 肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor alpha, TNF- $\alpha$ ) 可能促进细胞发生间质-上皮化; 亦有研究表明激活Notch通路可能促进细胞发生上皮-间质转化; 最新研究认为, TNF- $\alpha$ 可能激活Notch通路。TNF- $\alpha$ 能否通过激活Notch通路促进细胞发生间质-上皮转化有待进一步研究。

李潼, 郭兵, 高杨, 于奇宏, 李锦锦, 蒋帅, 郑启昌, 张勇, 华中科技大学同济医学院附属协和医院肝胆外科 湖北省武汉市 430030

鲜文静, 华中科技大学同济医学院附属协和医院麻醉科 湖北省武汉市 430030

李潼, 在读博士, 主要从事消化系统疾病的研究。

国家自然科学基金面上项目, No. 81570566  
2015年度湖北省留学人员科技活动项目择优资助经费

作者贡献分布: 李潼与郭兵对此文所作贡献均等; 此课题由张勇设计; 研究过程由李潼、郭兵、高杨、于奇宏、李锦锦、鲜文静、蒋帅、郑启昌及张勇共同完成; 论文写作由李潼、郭兵及张勇共同完成。

通讯作者: 张勇, 副教授, 副主任医师, 430030, 湖北省武汉市硚口区解放大道1277号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院肝胆外科。zhangyongtjmc@126.com  
电话: 027-85351623

收稿日期: 2016-02-15  
修回日期: 2016-03-15  
接受日期: 2016-03-23  
在线出版日期: 2016-04-28

## Tumor necrosis factor- $\alpha$ up-regulates expression of Jagged-1 and induces epithelial-mesenchymal transition in rat cholangiocytes *in vitro*

Tong Li, Bing Guo, Yang Gao, Qi-Hong Yu, Jin-Jin Li, Wen-Jing Xian, Shuai Jiang, Qi-Chang Zheng, Yong Zhang

Tong Li, Bing Guo, Yang Gao, Qi-Hong Yu, Jin-Jin Li, Shuai Jiang, Qi-Chang Zheng, Yong Zhang, Department of Hepatobiliary Surgery, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Wen-Jing Xian, Department of Anesthesiology, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81570566; Fund for Excellent Overseas Scholar Science and Technology Activities of Hubei Province

Correspondence to: Yong Zhang, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1277 Jiefang Avenue, Qiaokou District, Wuhan 430030, Hubei Province, China. zhangyongtjmc@126.com

Received: 2016-02-15  
Revised: 2016-03-15  
Accepted: 2016-03-23  
Published online: 2016-04-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the role of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in the epithelial-mesenchymal transition (EMT) process in rat cholangiocytes *in vitro*.

**METHODS:** Primary rat cholangiocytes were treated with TNF- $\alpha$  (10 ng/mL) alone, TNF- $\alpha$  plus nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B) inhibitor PDTC (50  $\mu$ mol/L), or PDTC alone for 72 h. The expression of Jagged-1, mesenchymal markers [fibroblast-specific protein-1 (FSP-1), Vimentin and  $\alpha$ -SMA] as well as epithelial marker CK19 was detected by Western blot. NF- $\kappa$ B binding activity was measured by EMSA. Migration ability and morphological changes of cholangiocytes were also examined.

**RESULTS:** In the TNF- $\alpha$  alone group, the protein levels of Jagged-1, FSP-1, Vimentin

■同行评议者  
王晓鹏, 副主任  
医师, 甘肃省人  
民医院普外科

and  $\alpha$ -SMA were up-regulated compared to control cells, whereas the expression of CK19 was down-regulated. The migration ability of cholangiocytes was increased and their shape changed from stone-like to fiber-like. For the TNF- $\alpha$  plus PTCD group and the PTCD alone group, no significant changes in EMT markers as well as migration ability were observed compared to control cells.

**CONCLUSION:** TNF- $\alpha$  is able to increase the expression of Jagged-1 and induce EMT in rat cholangiocytes *in vitro* possibly through activation of NF- $\kappa$ B signaling.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Tumor necrosis factor- $\alpha$ ; Cholangiocyte; Epithelial-mesenchymal transition

Li T, Guo B, Gao Y, Yu QH, Li JJ, Xian WJ, Jiang S, Zheng QC, Zhang Y. Tumor necrosis factor-alpha up-regulates expression of Jagged-1 and induces epithelial-mesenchymal transition in rat cholangiocytes *in vitro*. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(12): 1806-1811 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1806.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i12.1806>

## 摘要

**目的:** 检测肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor alpha, TNF- $\alpha$ )对体外培养的原代大鼠肝内胆管上皮细胞Jagged-1表达的影响以及诱导其上皮-间质转化的作用。

**方法:** 原代胆管上皮细胞分为对照组, TNF- $\alpha$ 处理组(10 ng/mL), TNF- $\alpha$ 加核转录因子- $\kappa$ B(nuclear factor kappa B, NF- $\kappa$ B)抑制剂PDTC(pyrrolidine dithiocarbamate)(50  $\mu$ mol/L)处理组及PDTC单独处理组, 72 h后Western blot法检测各组细胞Jagged-1蛋白、间质细胞标记成纤维细胞特异性蛋白-1(fibroblast specific protein 1, FSP-1)、波形蛋白(Vimentin)、 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$  smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA)和胆管细胞特异性标记角蛋白19片段(cytokeratin 19, CK19)的蛋白的表达, 凝胶迁移或电泳迁移率实验(EMSA)检测NF- $\kappa$ B蛋白结合活性。倒置显微镜观察各组胆管细胞的形态变化, Transwell小室法检测细胞的迁移能力。

**结果:** TNF- $\alpha$ 处理组胆管上皮细胞NF- $\kappa$ B的活性增强, Jagged-1、FSP-1、Vimentin和 $\alpha$ -SMA蛋白的表达水平上调, CK19的表达

下调, 细胞迁移能力增强, 细胞形态由鹅卵石样向梭形样转化。TNF- $\alpha$ +PDTC与TNF- $\alpha$ 组相比其NF- $\kappa$ B活性明显减弱, Jagged-1, FSP-1, Vimentin和 $\alpha$ -SMA蛋白水平降低, CK19表达升高, 细胞迁移能力减弱, 细胞形态向鹅卵石样转化。

**结论:** TNF- $\alpha$ 可通过激活NF- $\kappa$ B信号上调Jagged-1蛋白表达的同时诱导大鼠胆管上皮细胞向间质细胞转化。

© 2016版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 肿瘤坏死因子- $\alpha$ ; 胆管上皮细胞; 上皮-间质转化

**核心提示:** 本文检测肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor alpha, TNF- $\alpha$ )对体外培养的原代大鼠肝内胆管上皮细胞Jagged-1表达及诱导其上皮-间质转化作用的影响, 结果证实, TNF- $\alpha$ 可能通过激活Notch通路而促进胆管上皮细胞发生上皮-间质转化。

李潼, 郭兵, 高杨, 于奇宏, 李锦锦, 鲜文静, 蒋帅, 郑启昌, 张勇. TNF- $\alpha$ 激活大鼠胆管上皮细胞Jagged-1的表达并诱导其上皮-间质转化. *世界华人消化杂志* 2016; 24(12): 1806-1811 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1806.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i12.1806>

## 0 引言

上皮-间质转变(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是指上皮细胞在特定情况下逐渐获得间质细胞生物学特点的现象<sup>[1,2]</sup>, 目前认为Notch通路是调控EMT的关键信号分子之一<sup>[3-5]</sup>. 我们前期实验发现高表达Notch信号通路配体Jagged-1能诱导大鼠胆管上皮细胞发生EMT, 并参与了大鼠肝移植术后的胆管损伤过程<sup>[6]</sup>. 有研究证实肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor alpha, TNF- $\alpha$ )能诱导肿瘤细胞发生EMT<sup>[7-9]</sup>, 最新研究<sup>[10-12]</sup>发现, TNF- $\alpha$ 可能通过上调Notch信号通路发挥其促炎作用, TNF- $\alpha$ 是否可以通过上调Notch通路而促进细胞发生EMT还有待进一步探讨. 本实验的目的是研究TNF- $\alpha$ 对大鼠胆管上皮细胞Jagged-1表达的影响, 观察TNF- $\alpha$ 能否诱导胆管上皮细胞发生EMT并探讨其机制。

## 1 材料和方法

1.1 材料 重组大鼠TNF- $\alpha$ 购自美国R&D公司,

## ■ 研究前沿

TNF- $\alpha$ 促进细胞发生上皮-间质转化已有大量报道, 但其机制仍未完全阐明. 本研究发现, TNF- $\alpha$ 可通过激活Notch通路促进细胞发生上皮-间质转化。

## ■ 相关报道

有研究报道TNF- $\alpha$ 可能促进细胞发生上皮-间质转化, 作者的前期研究发现上调Notch通路相关蛋白可促进细胞发生上皮-间质转化。

PDTC购自美Sigma公司, 抗大鼠Jagged-1、FSP-1、Vimentin、CK19和 $\alpha$ -SMA一抗购自美国Abcam公司. 辣根过氧化物酶-生物素标记的二抗购自德国Merck公司. Transwell小室购自美国Corning Costar公司. DAB显色试剂盒购自武汉博士德生物技术有限公司. ECL发光试剂盒购自碧云天生物科技有限公司。

## 1.2 方法

1.2.1 原代大鼠胆管上皮细胞的分离培养及分组: 原代大鼠胆管上皮细胞采用Espinoza等<sup>[5]</sup>报道的胶原酶-胰蛋白酶两步分离法并加以改进. 将分离的肝内胆管上皮细胞接种于细胞培养皿中, 并以含15%胎牛血清的 $\alpha$ -MEM培养液进行传代培养, 第3-10代细胞用于实验. 细胞实验随机分为空白对照组、TNF- $\alpha$ (10 ng/mL)处理组、TNF- $\alpha$ (10 ng/mL)+PDTC(50  $\mu$ mol/L)处理组、PDTC(50  $\mu$ mol/L)处理组<sup>[13]</sup>。

1.2.2 免疫细胞化学SABC法检测CK19表达: 将原代大鼠胆管上皮细胞接种于盖玻片上, 4%多聚甲醛固定后以0.3%Tritonx-100对细胞膜打孔15 min, 30% $H_2O_2$ 与甲醇混合浸泡60 min以灭活内源性过氧化物酶, 洗涤后以5%牛血清白蛋白封闭60 min, 加入CK19一抗(1:500), 以IgG作为对照, 4 $^{\circ}$ C湿盒内孵育过夜, 再滴加生物素化二抗室温孵育20 min后加入SABC反应液室温孵育20 min, 洗涤后加入DAB显色及苏木素复染, 脱水, 透明, 封片。

1.2.3 凝胶迁移率实验(EMSA)检测NF- $\kappa$ B蛋白结合活性: 将各组细胞培养皿中加入核蛋白提取液A 200  $\mu$ L, 用组织匀浆器碾磨, 冰浴振荡30 min; 加入10% NP-40 12.5  $\mu$ L, 轻度振摇30 s, 4 $^{\circ}$ C条件下2000 g离心10 min; 弃上清, 取沉淀, 加入核蛋白提取液B 100  $\mu$ L, 混匀后冰浴振荡60 min; 4 $^{\circ}$ C下1200 g离心10 min; 取上清液, 测定核蛋白浓度. 采用 $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ 标记下列DNA寡核苷酸5'-AGTTGAGGGGACTTTCCAGGC-3', 3'-TCAACTCCCCTGAAAGGGTCCG-5'(碧云天生物科技有限公司合成), 即为NF- $\kappa$ B测定探针. 将细胞核提取物(10  $\mu$ g)与同位素标记的探针1  $\mu$ L在10  $\mu$ L缓冲液体系中充分结合后行7%非变性SDS-PAGE电泳. 取凝胶60 $^{\circ}$ C烘干后放入X线片暗盒中, -80 $^{\circ}$ C条件下曝光, 洗片后进行灰度测定, 以蛋白区带灰度值表示NF- $\kappa$ B活性的值。

1.2.4 Western blot检测: 细胞按上述分组经孵育72 h后, 洗涤加入蛋白裂解液提取总蛋白. 煮

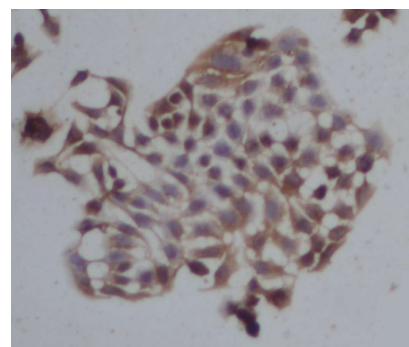


图1 细胞化学SABC法检测培养细胞CK19的表达( $\times 400$ ). 细胞胞质呈棕黄色样深染, 胞核完整, 胞浆/胞核比例小, 证实为胆管上皮细胞。

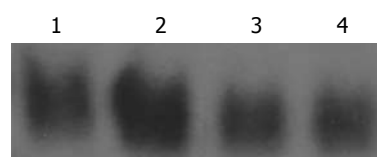


图2 EMSA检测各组细胞NF- $\kappa$ B蛋白结合活性. 1: 对照组; 2: TNF- $\alpha$ 组; 3: TNF- $\alpha$ +PDTC组; 4: PDTC组. TNF- $\alpha$ : 肿瘤坏死因子- $\alpha$ ; NF- $\kappa$ B: 核转录因子- $\kappa$ B.

沸变性后按30  $\mu$ g/孔上样, 经10%SDS-PAGE凝胶电泳后转移至PVDF膜, 以5%脱脂奶粉封闭60 min, 分别加入Jagged-1、FSP-1、CK19、Vimentin、 $\alpha$ -SMA及GAPDH一抗4 $^{\circ}$ C孵育过夜, 二抗室温孵育1 h后, ECL曝光显影。

1.2.5 细胞迁移分析: 采用Transwell小室法, 按上述分组上室内接种 $5 \times 10^4$ 个细胞, 下室分别加入600  $\mu$ L上述分组处理液孵育72 h后, 苏木素复染, 显微镜下计数穿膜细胞。

**统计学处理** 应用SPSS11.0统计软件行方差分析, 数据以mean $\pm$ SD表示,  $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 原代大鼠胆管上皮细胞的分离培养 经上述方法分离所得细胞经免疫细胞化学SABC法检测CK19发现, 肝内胆管细胞呈鹅卵石样, 大小不一、胞浆较少, 胞核颜色明显加深. 细胞聚集呈群落生长. CK19检测细胞呈棕黄色样深染, 证实为胆管上皮细胞(图1)。

2.2 凝胶迁移率实验(EMSA)检测各组细胞NF- $\kappa$ B的活化 TNF- $\alpha$ 处理组较对照组胆管上皮细胞NF- $\kappa$ B活性显著增高( $P < 0.05$ ). TNF- $\alpha$ +PDTC组较TNF- $\alpha$ 组NF- $\kappa$ B活性显著降低, 与对照组及PDTC组相比无明显改变(图2)。



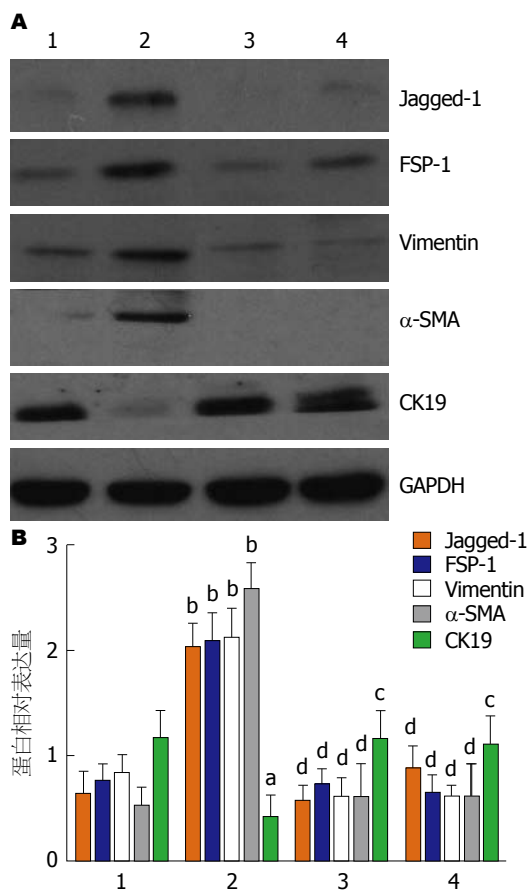


图3 TNF- $\alpha$ 及PDTC对Jagged-1、间质标记蛋白及上皮标记蛋白表达的影响. A: Western blot结果; B: 相应蛋白三次重复试验的定量分析. 1: 对照组; 2: TNF- $\alpha$ 处理组; 3: TNF- $\alpha$ +PDTC处理组; 4: PDTC处理组. <sup>a</sup> $P$ <0.05, <sup>b</sup> $P$ <0.01 vs 对照组; <sup>c</sup> $P$ <0.05, <sup>d</sup> $P$ <0.01 vs TNF- $\alpha$ 处理组. TNF- $\alpha$ : 肿瘤坏死因子- $\alpha$ ; FSP-1: 纤维细胞特异性蛋白-1;  $\alpha$ -SMA:  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白.

**2.3 Western-blot法检测4组细胞的FSP-1、Vimentin、 $\alpha$ -SMA及CK19** TNF- $\alpha$ 处理组胆管上皮细胞FSP-1蛋白、Vimentin蛋白和 $\alpha$ -SMA蛋白均显著增加( $P$ <0.001), 而CK19蛋白则显著下降( $P$ <0.05). TNF- $\alpha$ +PDTC处理组与TNF- $\alpha$ 组相比上述蛋白的表达均无显著改变. 此外, TNF- $\alpha$ 处理组Jagged-1蛋白表达明显增加, TNF- $\alpha$ +PDTC组Jagged-1表达较TNF- $\alpha$ 组明显降低, 提示TNF- $\alpha$ 可能通过激活NF- $\kappa$ B信号通路上调Jagged-1的表达(图3).

**2.4 TNF- $\alpha$ 对胆管上皮细胞迁移能力的影响** 采用Transwell小室对4组细胞的检测发现, 与空白对照组( $1899.26 \pm 609$ )、TNF- $\alpha$ +PDTC组( $1725.70 \pm 529$ )及PDTC处理组( $1646.44 \pm 319$ )比较, TNF- $\alpha$ 处理组( $18365.68 \pm 744$ )的肝内胆管上皮细胞其迁移运动性明显增强( $P$ <0.01), 而前3组的组间差异无显著统计学意义.

**2.5 倒置显微镜观察培养细胞的形态变化** 原代大鼠胆管上皮细胞均呈现细胞形态呈圆形或椭圆形的“鹅卵石”形态, TNF- $\alpha$ 处理组细胞则变为长条的梭形, 加入PDTC能逆转TNF- $\alpha$ 诱导的上皮细胞形态向间质细胞形态转化(图4).

### 3 讨论

Notch通路对细胞的分化、增殖和细胞命运决定具有重要的作用, Notch信号的激活能够扩大并固化相邻细胞之间的分子差异, 最终决定细胞的命运<sup>[14-17]</sup>. Notch通路的配体Jagged-1不但是胚胎肝细胞向胚胎胆道细胞分化和胆管形成的关键因素, 还参与了Alagille综合征、原发性胆汁性肝硬化和原发性硬化性胆管炎等疾病的胆管病变过程<sup>[18-21]</sup>. 我们的前期研究发现, Jagged-1介导的Notch信号通路的激活与小鼠肝移植术后胆管细胞表达间质细胞标记增高密切相关, 而且转染Jagged-1能诱导体外培养的胆管细胞发生EMT. 但对调节Jagged-1表达的相关因素尚不清楚.

目前认为许多生长因子或炎症因子均可诱导EMT的发生. TNF- $\alpha$ 是单核-巨噬细胞分泌的重要炎症因子, TNF- $\alpha$ 在多种肝脏损伤性疾病中处于中心地位<sup>[22-24]</sup>. 研究<sup>[25,26]</sup>已证实TNF- $\alpha$ 能导致多种肿瘤细胞发生上皮间质转化. 本实验发现TNF- $\alpha$ 能显著上调Jagged-1在胆管上皮细胞中的表达, 同时TNF- $\alpha$ 处理组细胞间质标记蛋白FSP-1、Vimentin和 $\alpha$ -SMA的表达被大量激活, 而胆管细胞的上皮标记蛋白CK19则被显著抑制, 胆管细胞由圆形或椭圆转变为长条的梭形, 并获得了很强的迁移能力. 以上结果显示TNF- $\alpha$ 能够在体外诱导胆管上皮细胞向间质细胞转化, 其机制可能是通过激活Jagged-1的表达.

NF- $\kappa$ B是炎症反应中重要的转录因子, 可被TNF- $\alpha$ 等细胞因子激活, 将炎症信号转录到细胞核, 刺激下游蛋白表达增强<sup>[27-29]</sup>. 研究<sup>[30]</sup>证实NF- $\kappa$ B可诱导B淋巴细胞Jagged-1的表达. 本实验结果发现TNF- $\alpha$ 处理组NF- $\kappa$ B的转录活性显著增强. NF- $\kappa$ B活化抑制剂PDTC不但抑制了TNF- $\alpha$ 对胆管上皮细胞NF- $\kappa$ B的激活作用, 还抑制了其Jagged-1及EMT相关蛋白的影响. 此外PDTC也阻止了TNF- $\alpha$ 诱导的胆管细胞形态及侵袭能力的改变. 本结果提示NF- $\kappa$ B/Jagged-1通路在TNF- $\alpha$ 诱导胆管细胞EMT

### 创新点

本次研究将TNF- $\alpha$ 与Notch通路结合起来, 证明了TNF- $\alpha$ 可能通过激活Notch通路促进细胞发生上皮-间质转化.

# 应用要点

通过阐明TNF- $\alpha$ 促进胆管上皮细胞发生上皮-间质转化的机制, 为胆管损伤相关疾病提供治疗的突破口及理论依据.

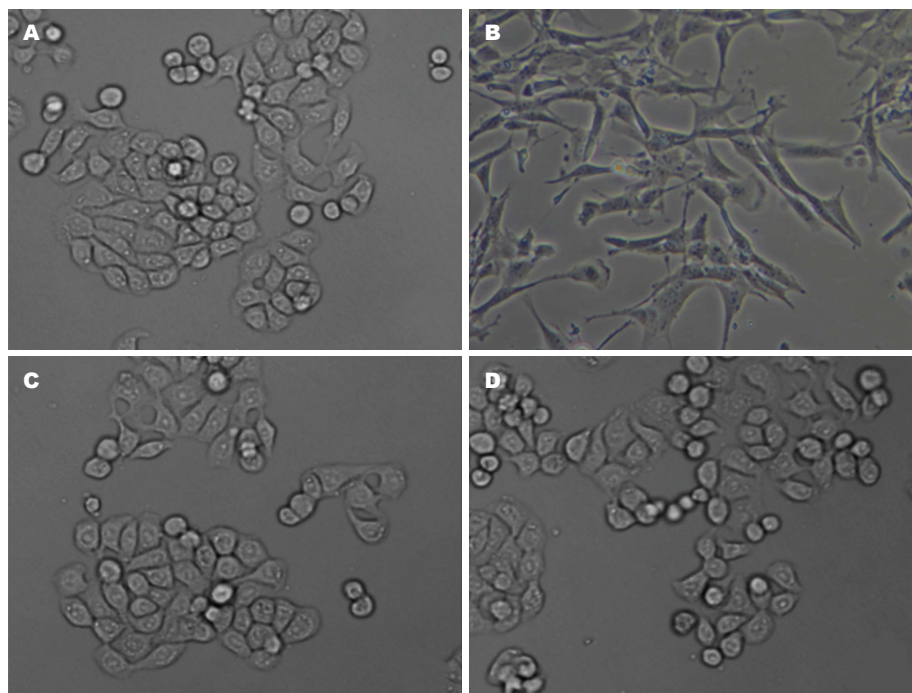


图 4 透射电镜观察TNF- $\alpha$ 及PDTC对胆管细胞形态的影响( $\times 200$ ). A: 对照组; B: TNF- $\alpha$ 处理组; C: TNF- $\alpha$ +PDTC处理组; D: PDTC处理组. TNF- $\alpha$ : 肿瘤坏死因子- $\alpha$ .

发生的过程中可能发挥了重要的作用.

EMT在胚胎发育、恶性肿瘤的侵袭和转移及慢性纤维化疾病中的作用被越来越多的研究者所重视. 本研究发现TNF- $\alpha$ 可在体外通过激活NF- $\kappa$ B上调胆管上皮细胞Jagged-1的表达并诱导EMT的发生. 对胆管上皮细胞间质转化的深入研究不但有利于进一步了解以胆管细胞损伤为靶点的疾病如先天性胆道闭锁、胆汁积以及肝移植小胆管消失等的发病机制, 还可以为治疗提供新的思路.

## 参考文献

- 1 Thiery JP, Acloque H, Huang RY, Nieto MA. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell* 2009; 139: 871-890 [PMID: 19945376 DOI: 10.1016/j.cell.2009.11.007]
- 2 Kiesslich T, Pichler M, Neureiter D. Epigenetic control of epithelial-mesenchymal-transition in human cancer. *Mol Clin Oncol* 2013; 1: 3-11 [PMID: 24649114 DOI: 10.3892/mco.2012.28]
- 3 Wang Z, Li Y, Kong D, Sarkar FH. The role of Notch signaling pathway in epithelial-mesenchymal transition (EMT) during development and tumor aggressiveness. *Curr Drug Targets* 2010; 11: 745-751 [PMID: 20041844]
- 4 Espinoza I, Miele L. Deadly crosstalk: Notch signaling at the intersection of EMT and cancer stem cells. *Cancer Lett* 2013; 341: 41-45 [PMID: 23973264 DOI: 10.1016/j.canlet.2013.08.027]
- 5 Espinoza I, Pochampally R, Xing F, Watabe K, Miele L. Notch signaling: targeting cancer stem cells and epithelial-to-mesenchymal transition. *Onco Targets Ther* 2013; 6: 1249-1259 [PMID: 24043949 DOI: 10.2147/OTT.S36162]
- 6 刘小卫, 郑启昌, 李俊, 熊俊, 李民, 张勇. 大鼠肝移植后Jagged1基因在胆管中的表达变化及意义. *华中科技大学学报(医学版)* 2011; 40: 521-524
- 7 Techasen A, Namwat N, Loilome W, Bungkanjana P, Khuntikeo N, Puapairoj A, Jearanaikoon P, Saya H, Yongvanit P. Tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) stimulates the epithelial-mesenchymal transition regulator Snail in cholangiocarcinoma. *Med Oncol* 2012; 29: 3083-3091 [PMID: 22903530 DOI: 10.1007/s12032-012-0305-x]
- 8 Wang H, Wang HS, Zhou BH, Li CL, Zhang F, Wang XF, Zhang G, Bu XZ, Cai SH, Du J. Epithelial-mesenchymal transition (EMT) induced by TNF- $\alpha$  requires AKT/GSK-3 $\beta$ -mediated stabilization of snail in colorectal cancer. *PLoS One* 2013; 8: e56664 [PMID: 23431386 DOI: 10.1371/journal.pone.0056664]
- 9 Asiedu MK, Ingle JN, Behrens MD, Radisky DC, Knutson KL. TGF $\beta$  and TNF(alpha)-mediated epithelial-mesenchymal transition generates breast cancer stem cells with a claudin-low phenotype. *Cancer Res* 2011; 71: 4707-4719 [PMID: 21555371 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-4554]
- 10 Wang H, Tian Y, Wang J, Phillips KL, Binch AL, Dunn S, Cross A, Chiverton N, Zheng Z, Shapiro IM, Le Maitre CL, Risbud MV. Inflammatory cytokines induce NOTCH signaling in nucleus pulposus cells: implications in intervertebral disc degeneration. *J Biol Chem* 2013; 288: 16761-16774 [PMID: 23589286 DOI: 10.1074/jbc.M112.446633]
- 11 Fernandez L, Rodriguez S, Huang H, Chora A, Fernandes J, Mumaw C, Cruz E, Pollok K, Cristina F, Price JE, Ferkowicz MJ, Scadden DT, Clauss M, Cardoso AA, Carlesso N. Tumor necrosis factor-alpha and endothelial cells

- modulate Notch signaling in the bone marrow microenvironment during inflammation. *Exp Hematol* 2008; 36: 545-558 [PMID: 18439488 DOI: 10.1016/j.exphem.2007.12.012]
- 12 Yoshida R, Nagata M, Nakayama H, Niimori-Kita K, Hassan W, Tanaka T, Shinohara M, Ito T. The pathological significance of Notch1 in oral squamous cell carcinoma. *Lab Invest* 2013; 93: 1068-1081 [PMID: 23938602 DOI: 10.1038/labinvest.2013.95]
  - 13 Hattori Y, Kasai K, Gross SS. NO suppresses while peroxynitrite sustains NF-kappaB: a paradigm to rationalize cytoprotective and cytotoxic actions attributed to NO. *Cardiovasc Res* 2004; 63: 31-40 [PMID: 15194459 DOI: 10.1016/j.cardiores.2004.03.014]
  - 14 Bigas A, Espinosa L. Hematopoietic stem cells: to be or Notch to be. *Blood* 2012; 119: 3226-3235 [PMID: 22308291 DOI: 10.1182/blood-2011-10-355826]
  - 15 Liu J, Sato C, Cerletti M, Wagers A. Notch signaling in the regulation of stem cell self-renewal and differentiation. *Curr Top Dev Biol* 2010; 92: 367-409 [PMID: 20816402 DOI: 10.1016/S0070-2153(10)92012-7]
  - 16 Xie J, Wang W, Si JW, Miao XY, Li JC, Wang YC, Wang ZR, Ma J, Zhao XC, Li Z, Yi H, Han H. Notch signaling regulates CXCR4 expression and the migration of mesenchymal stem cells. *Cell Immunol* 2013; 281: 68-75 [PMID: 23474530 DOI: 10.1016/j.cellimm.2013.02.001]
  - 17 Ben-Shushan E, Feldman E, Reubinoff BE. Notch signaling regulates motor neuron differentiation of human embryonic stem cells. *Stem Cells* 2015; 33: 403-415 [PMID: 25335858 DOI: 10.1002/stem.1873]
  - 18 Boulter L, Govaere O, Bird TG, Radulescu S, Ramachandran P, Pellicoro A, Ridgway RA, Seo SS, Spee B, Van Rooijen N, Sansom OJ, Iredale JP, Lowell S, Roskams T, Forbes SJ. Macrophage-derived Wnt opposes Notch signaling to specify hepatic progenitor cell fate in chronic liver disease. *Nat Med* 2012; 18: 572-579 [PMID: 22388089 DOI: 10.1038/nm.2667]
  - 19 Kamath BM, Spinner NB, Rosenblum ND. Renal involvement and the role of Notch signalling in Alagille syndrome. *Nat Rev Nephrol* 2013; 9: 409-418 [PMID: 23752887 DOI: 10.1038/nrneph.2013.102]
  - 20 Morell CM, Strazzabosco M. Notch signaling and new therapeutic options in liver disease. *J Hepatol* 2014; 60: 885-890 [PMID: 24308992 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.11.028]
  - 21 Mazur PK, Riener MO, Jochum W, Kristiansen G, Weber A, Schmid RM, Siveke JT. Expression and clinicopathological significance of notch signaling and cell-fate genes in biliary tract cancer. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 126-135 [PMID: 21931375 DOI: 10.1038/ajg.2011.305]
  - 22 Schwabe RF, Brenner DA. Mechanisms of Liver Injury. I. TNF-alpha-induced liver injury: role of IKK, JNK, and ROS pathways. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 290: G583-G589 [PMID: 16537970 DOI: 10.1152/ajpgi.00422.2005]
  - 23 Yang Y, Qiu XQ, Yu HP, Zeng XY, Bei CH. TNF- $\alpha$ -863 polymorphisms and the risk of hepatocellular carcinoma. *Exp Ther Med* 2012; 3: 513-518 [PMID: 22969921 DOI: 10.3892/etm.2011.418]
  - 24 Spencer NY, Zhou W, Li Q, Zhang Y, Luo M, Yan Z, Lynch TJ, Abbott D, Banfi B, Engelhardt JF. Hepatocytes produce TNF- $\alpha$  following hypoxia-reoxygenation and liver ischemia-reperfusion in a NADPH oxidase- and c-Src-dependent manner. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2013; 305: G84-G94 [PMID: 23639811 DOI: 10.1152/ajpgi.00430.2012]
  - 25 Ho MY, Tang SJ, Chuang MJ, Cha TL, Li JY, Sun GH, Sun KH. TNF- $\alpha$  induces epithelial-mesenchymal transition of renal cell carcinoma cells via a GSK3 $\beta$ -dependent mechanism. *Mol Cancer Res* 2012; 10: 1109-1119 [PMID: 22707636 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-12-0160]
  - 26 Shiozaki A, Bai XH, Shen-Tu G, Moodley S, Takeshita H, Fung SY, Wang Y, Keshavjee S, Liu M. Claudin 1 mediates TNF $\alpha$ -induced gene expression and cell migration in human lung carcinoma cells. *PLoS One* 2012; 7: e38049 [PMID: 22675434 DOI: 10.1371/journal.pone.0038049]
  - 27 Hayden MS, Ghosh S. NF- $\kappa$ B, the first quarter-century: remarkable progress and outstanding questions. *Genes Dev* 2012; 26: 203-234 [PMID: 22302935 DOI: 10.1101/gad.183434.111]
  - 28 Hoesel B, Schmid JA. The complexity of NF- $\kappa$ B signaling in inflammation and cancer. *Mol Cancer* 2013; 12: 86 [PMID: 23915189 DOI: 10.1186/1476-4598-12-86]
  - 29 Ben-Neriah Y, Karin M. Inflammation meets cancer, with NF- $\kappa$ B as the matchmaker. *Nat Immunol* 2011; 12: 715-723 [PMID: 21772280 DOI: 10.1038/ni.2060]
  - 30 Bash J, Zong WX, Banga S, Rivera A, Ballard DW, Ron Y, Gélinas C. Rel/NF-kappaB can trigger the Notch signaling pathway by inducing the expression of Jagged1, a ligand for Notch receptors. *EMBO J* 1999; 18: 2803-2811 [PMID: 10329626 DOI: 10.1093/emboj/18.10.2803]

# 同行评价

本研究通过检查TNF- $\alpha$ 对原代大鼠肝内胆管上皮细胞Jagged-1表达的影响及其对间质-上皮转化相关蛋白的影响,观察到TNF- $\alpha$ 可以激活原代大鼠肝内胆管上皮细胞Jagged-1的表达并诱导其间质-上皮转化。为TNF- $\alpha$ 对大鼠肝内胆管上皮细胞向间质细胞转化的作用及其机制研究提供了有意义的实验依据。

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利





## IL-28B在乙型肝炎相关性肝癌中的表达及其临床意义

徐峰, 于莹, 杨永红, 刘华, 王娟

### ■背景资料

白介素-28B (interleukin-28B, IL-28B) 是III型干扰素家族(interferon lambda, IFN- $\lambda$ s) 成员之一, 通过与受体结合, 发挥免疫调节、抗病毒、抗细胞增殖等功能, 研究表明, IL-28B 基因单核苷酸多态性与感染性疾病、免疫性疾病、肿瘤的发生、发展都存在着关联, 特别是对乙型肝炎和丙型肝炎的干扰素治疗的应答反应及预后有关, 但 IL-28B与乙型肝炎相关性肝癌的相关性研究罕见报道。

徐峰, 于莹, 杨永红, 王娟, 天津市第三中心医院分院消化科 天津市 300250

刘华, 天津市第三中心医院肝内科 天津市 300170

徐峰, 主治医师, 主要从事肝脏疾病的基础及临床研究。

**作者贡献分布:** 此文章由徐峰与王娟共同设计; 由徐峰与刘华收集病例资料; 于莹与杨永红进行ELISA及免疫组织化学检测; 徐峰完成数据分析及论文撰写; 本论文撰写由王娟指导。

**通讯作者:** 王娟, 主任医师, 300250, 天津市河北区江都路24号, 天津市第三中心医院分院消化科。690507899@qq.com  
电话: 022-24584017

收稿日期: 2016-03-08  
修回日期: 2016-03-19  
接受日期: 2016-03-28  
在线出版日期: 2016-04-28

### Clinical significance of IL-28B expression in HBV related hepatocellular carcinoma

Feng Xu, Ying Yu, Yong-Hong Yang, Hua Liu, Juan Wang

Feng Xu, Ying Yu, Yong-Hong Yang, Juan Wang, Department of Gastroenterology, Branch of Tianjin Third Central Hospital, Tianjin 300250, China

Hua Liu, Department of Hepatobiliary Medicine, Tianjin Third Central Hospital, Tianjin 300170, China

**Correspondence to:** Juan Wang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Branch of Tianjin Third Central Hospital, 24 Jiangdu Road, Hebei District, Tianjin 300250, China. 690507899@qq.com

Received: 2016-03-08  
Revised: 2016-03-19  
Accepted: 2016-03-28  
Published online: 2016-04-28

### Abstract

**AIM:** To detect the expression of interleukin-28B

(IL-28B) gene in human HBV related hepatocellular carcinoma, and analyze the relationship between IL-28B expression and clinicopathologic features of HBV related hepatocellular carcinoma.

**METHODS:** Serum samples were collected from 96 patients with HBV related hepatocellular carcinoma and 84 patients with HBV related benign hepatic nodules. Serum levels of IL-28B were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The expression of IL-28B in HBV related hepatocellular carcinoma tissues was detected by immunohistochemistry.

**RESULTS:** The mean level of serum IL-28B was significantly higher in the HBV related hepatocellular carcinoma group than in the HBV related benign hepatic nodules group. Immunohistochemistry showed that the positive expression rate of IL-28B was significantly higher in HBV related hepatocellular carcinoma tissues than in HBV related hepatic benign nodule tissues (83.33% vs 66.66%,  $P < 0.05$ ). IL-28B expression was not correlated with age, gender, HBV DNA, or tumor differentiation, but it was significantly related to AFP, tumor maximum diameter and clinical TNM stage ( $\chi^2 = 6.653, 6.732, \text{ and } 8.642, P < 0.05$  for all).

**CONCLUSION:** The level of IL-28B has certain value in the diagnosis of HBV related hepatocellular carcinoma. The expression of IL-28B in HBV related hepatocellular carcinoma tissues significantly increases, which correlates with AFP, tumor maximum diameter and clinical TNM stage. The dysregulated expression of IL-28B might participate in the genesis and development of HBV related hepatocellular carcinoma.

### ■同行评议者

顾生旺, 主任医师, 江苏省淮安市解放军第八二医院感染内科

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Interleukin-28B; Hepatitis B; Hepatocellular carcinoma

Xu F, Yu Y, Yang YH, Liu H, Wang J. Clinical significance of IL-28B expression in HBV related hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(12): 1812-1818 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1812.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i12.1812>

## 摘要

**目的:** 探讨白介素28B(interleukin-28B, IL-28B)在天津汉族人群乙型肝炎相关性肝癌组织中的表达情况, 并分析IL-28B的表达与乙型肝炎相关性肝癌临床病理因素之间的关系, 探讨其在乙型肝炎相关性肝癌发生发展中的作用及其临床意义。

**方法:** 收集96例乙型肝炎相关性肝癌患者与84例乙型肝炎伴发肝脏良性肿瘤患者的血清, 采用酶联免疫吸附法检测IL-28B水平、免疫组织化学法检测IL-28B在肝癌组织及肝脏良性肿瘤组织中的表达情况。

**结果:** 在乙型肝炎相关性肝癌患者血清中IL-28B的水平明显高于乙型肝炎伴发肝脏良性肿瘤组, 免疫组织化学显示IL-28B在乙型肝炎相关性肝癌中的表达阳性率为83.33%, 在乙型肝炎伴发肝脏良性肿瘤组织中的表达阳性率为66.66%, 两者间的差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。IL-28B在乙型肝炎相关性肝癌组织中的表达与年龄、性别、HBV DNA、肿瘤分化程度均无相关性( $P > 0.05$ ), 但与甲胎蛋白( $\alpha$ -fetoprotein, AFP)、肿瘤最大径、TNM分期相关( $\chi^2 = 6.653, 6.732, 8.642, P < 0.05$ )。

**结论:** 血清IL-28B的水平对于乙型肝炎相关性肝癌的诊断有一定价值, 其在乙型肝炎相关性肝癌组织中的表达显著升高与肝癌患者的AFP、肿瘤最大径、TNM分期相关, 提示IL-28B的表达失调可能参与了乙型肝炎相关性肝癌的发生、发展。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 白介素-28B; 乙型肝炎; 肝癌

**核心提示:** 本文研究发现, 白介素-28B不仅与HBV、HCV抗病毒治疗的免疫应答及预后有

关, 而且对于乙型肝炎相关性肝癌的早期诊断及治疗有一定价值, 其表达失调可能参与乙型肝炎相关性肝癌的发生、发展。

徐峰, 于莹, 杨永红, 刘华, 王娟. IL-28B在乙型肝炎相关性肝癌中的表达及其临床意义. *世界华人消化杂志* 2016; 24(12): 1812-1818 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1812.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i12.1812>

## 0 引言

原发性肝癌(primary hepatocellular carcinoma, PHC)是临床最常见的恶性肿瘤之一, 2015年在我国其发生率和死亡率位居肿瘤相关死亡的第3位, 60岁以下男性人群肿瘤相关死亡的首位<sup>[1]</sup>, 乙型肝炎病毒感染是引起肝癌的最主要原因<sup>[2,3]</sup>, 乙型肝炎相关性肝癌发病的隐匿性强, 亚临床期没有特异性表现, 影像学异常或出现相应临床症状通过肝穿刺明确诊断大多已到晚期<sup>[4]</sup>. 因此, 对于乙型肝炎相关性肝癌的发生、发展及早期诊断的研究具有重要意义。

白介素28B(interleukin-28B, IL-28B)是近年来新发现的Ⅲ型干扰素家族(interferon lambda, IFN- $\lambda$ s)成员之一, 其编码基因位于人的第19号染色体(19q13.13)的AC011445.6基因群上, 长度1.34 kb, 包含6个外显子和5个内含子, 其蛋白由22个氨基酸的信号肽和174个氨基酸的成熟肽组成, 含有3个二硫键, 分子质量约22 ku<sup>[5,6]</sup>. IL-28B通过其与受体结合, 发挥免疫调节、抗病毒、抗细胞增殖等功能<sup>[7,8]</sup>. 目前对IL-28B的研究大多局限在其单核苷酸多态性与丙型肝炎IFN抗病毒治疗及预后方面<sup>[9]</sup>, 也有少量有关IL-28B多态性与乙型肝炎IFN应答及病毒清除方面的研究<sup>[10]</sup>, 而对IL-28B与肝炎后肝癌相关性的研究罕见报道. 本研究通过检测IL-28B在乙型肝炎相关性肝癌血液及组织中表达情况, 以揭示IL-28B在乙型肝炎相关性肝癌发生、发展过程中的作用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 观察组和对照组共180例均为天津市第三中心医院及分院2014-01/2016-01住院治疗的乙型肝炎患者, 所有患者诊断均符合中华医学会肝病学分会和中华医学会感染病学分会于2015年发布的《慢性乙型肝炎诊断标准(2015年版)》<sup>[11]</sup>及卫生部于2011年发布的《原发性肝癌诊疗规范(2011年版)》中的“原发

## ■ 研究前沿

IL-28B在乙型肝炎相关性肝癌及肝脏良性结节血清及组织中的表达是否存在差异, 目前研究较少. 本研究通过ELISA和免疫组织化学的方法研究IL-28B在乙型肝炎相关性肝癌中的表达及其与临床病理特征的关系, 为进一步明确IL-28B在乙型肝炎相关性肝癌发生、发展中的意义提供依据。

## ■ 相关报道

多项研究报告IL-28B多态性的基因型与乙型肝炎或丙型肝炎的干扰素治疗反应及预后密切相关, 且定位rs12979860位点的T/C多态性增加了肝炎相关性肝硬化和HCC的发病风险, 被认定为遗传危险因素, 在白种人中尤其明显。

性肝癌的临床诊断标准”<sup>[12]</sup>, 并排除丙型肝炎、酒精性肝病、自身免疫性肝病及药物性肝损害。患者年龄为38-72岁, 平均年龄为54.67岁±13.71岁, 乙型肝炎相关性肝癌患者96例(男54例, 女42例)为观察组, 乙型肝炎伴发肝脏良性肿瘤患者84例(男48例, 女36例)为对照组(肝血管瘤56例, 肝腺瘤9例, 肝脏炎性假瘤11例, 肝局灶性结节性增生8例), 均经临床化验、B超、CT及手术病理及肝穿刺活检确诊, 临床资料完整, 标本采集前患者均未有放化疗、长期口服避孕药、雌激素及抗肿瘤药物使用记录, 两组性别、年龄等资料均匹配。两组人群均系天津市汉族人群, 个体之间均无血缘关系。调查和取样均征得受试者本人知情同意, 并签署知情同意书, 本课题由天津市第三中心医院分院伦理委员会通过。IL-28B的酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒购自上海生物工程技术有限公司, 美国Thermo Multiskan Ascent酶标仪, IL-28B兔抗人多克隆抗体购于美国ALEXIS公司, 通用型SP免疫组织化学试剂盒购自上海研卉生物科技有限公司, DAB显色剂购于德国罗氏诊断公司。

## 1.2 方法

1.2.1 标本收集: 患者于术前抽取清晨空腹全血标本5 mL, 室温自然凝固15 min, 在4℃以3000 r/min离心20 min, 收集血清, 置于-80℃冰箱冻存, 保存过程中如有沉淀形成, 应再次离心。肝癌组织及肝脏良性肿瘤组织取自术后肿瘤及肝穿组织, 避开坏死组织, 标本液氮中保存, 再置于-80℃冰箱冻存, 部分标本经过40 g/L甲醛固定, 石蜡包埋, 4 μm厚度连续切片, 待免疫组织化学染色。标本使用均经患者授权同意, 并通过医院伦理委员会审核批准。

1.2.2 ELISA检测: 取-80℃保存的血清自然解冻, 采用双抗体夹心ELISA法检测所有研究对象中血清IL-28B的水平, 检测步骤严格按照是试剂盒说明书进行操作。

1.2.3 免疫组织化学: 取组织标本4 μm连续切片3张, 2张行免疫组织化学染色, 1张备用。采用免疫组织化学SP法检测两组IL-28B, 具体操作为烤片、脱蜡、水化、阻断、灭活内源性过氧化物酶、抗原修复、滴加抗体、PBS冲洗、显色、冲洗、复染、脱水、透明、封片。设置PBS代替一抗做阴性对照, 已知阳性标本做阳性对照。

1.2.4 结果判定: IL-28B染色阳性为细胞质和细胞核见棕黄色颗粒, 均衡分布。计数方法为低倍镜下选择细胞密集的3个视野, 在高倍镜下进行细胞计数, 取其平均值。IL-28B的判定标准: (1)阳性细胞数百分比按四舍五入精确到个位数, ≤5%为0分; 6%-25%为1分; 26%-50%为2分; 51%-75%为3分; >75%为4分; (2)阳性强度: 无特异性染色为0分, 淡黄色为1分, 棕黄色为2分, 棕褐色为3分。将(1)、(2)两者积分相乘为最后结果: 0分为阴性(-), 1-4分为弱阳性(+), 5-8分为阳性(++), 9-12分为强阳性(+++), 若两位病理专家结果相差3分以上则重新判定。应用计算机图像分析技术对免疫组织化学结果进行定量分析。

**统计学处理** 应用SPSS19.0软件进行统计分析, 正态分布的计量资料采用mean±SD的方式表示, 比较采用方差分析; 计数资料以率表示, 比较采用 $\chi^2$ 检验,  $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 肝癌患者外周血清中IL-28B的水平 乙型肝炎相关性肝癌患者血清中IL-28B明显高于乙型肝炎伴发良性肿瘤患者(18.21 pg/mL±0.37 pg/mL vs 3.82 pg/mL±0.12 pg/mL), 两组的差异有统计学意义( $P<0.05$ ), 因此IL-28B对鉴别乙型肝炎相关性肝癌和乙型肝炎伴发良性肿瘤有重要意义。

2.2 IL-28B蛋白在肝癌组织中的表达 免疫组织化学染色显示, 乙型肝炎相关性肝癌组织中IL-28表达的阳性率为83.33%, 而在乙型肝炎伴发肝脏良性结节组织中IL-28表达的阳性率为66.66%, 表明IL-28B在乙型肝炎相关性肝癌组织中的表达率明显高于在乙型肝炎伴发肝脏良性结节中的表达(图1), 二者之间相比具有显著差异性, 表明IL-28B在乙型肝炎相关性肝癌组织和乙型肝炎伴发肝脏良性结节组织之间阳性率差异有统计学意义( $\chi^2=6.738$ ,  $P=0.009$ )(表1)。

2.3 IL-28B在肝癌组织中的表达与临床病理特征的关系 在乙型肝炎相关性肝癌的临床病理因素中, 观察组IL-28B的阳性表达在年龄、性别、HBV DNA、肿瘤分化程度上均无明显相关性(均 $P>0.05$ )。但与其血清甲胎蛋白( $\alpha$ -fetoprotein, AFP)、肿瘤最大径及



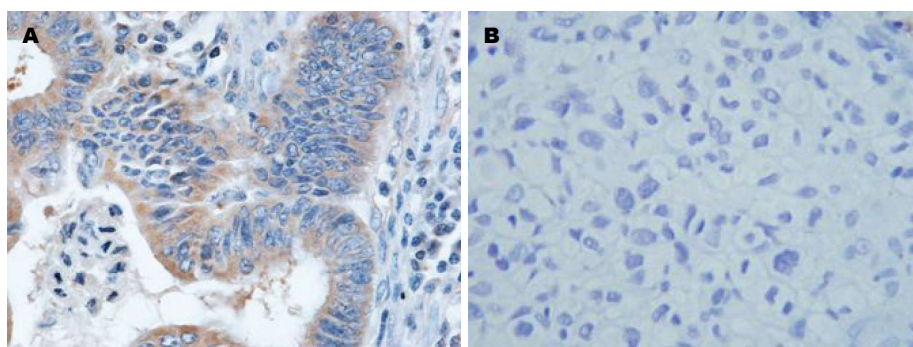


图 1 IL-28B在肝癌和肝脏良性结节中的表达( $\times 400$ )。A: 肝癌组织中IL-28B呈阳性表达; B: 肝脏良性结节中IL-28B呈阴性表达。IL-28B: 白介素-28B。

#### 创新盘点

本文以IL-28B在血清及组织中的表达为研究对象,检测其在乙型肝炎相关性肝癌及肝脏良性结节中的表达差异,并结合临床病理特征分析,有助于进一步明确IL-28B在乙型肝炎相关性肝癌发生、发展中的作用,相关报道较少。

表 1 IL-28B在肝癌组织和肝脏良性结节组织中的表达情况

分组	<i>n</i>	IL-28B表达				阳性表达率 (%)
		-	+	++	+++	
观察组	96	16	9	23	48	83.33
对照组	84	28	13	15	28	66.66

IL-28B: 白介素-28B。

临床TMM分期相关, 差异有统计学意义(均 $P<0.05$ )(表2)。观察组IL-28B表达与血清AFP高水平(AFP $>400\ \mu\text{g/L}$ )有关, 且血清AFP水平与肝癌组织中IL-28B阳性程度呈正相关。IL-28B在肿瘤最大径 $\leq 3\ \text{cm}$ 组的表达阳性率为69.7%(23/33), 低于肿瘤最大径 $>5\ \text{cm}$ 组90.5%(57/63)。在TNM分期III、IV期组病例中, IL-28B表达阳性率为91.8%(56/61), 显著高于I、II组68.6%(24/35), 差异有统计学意义。

### 3 讨论

肝癌是严重危害人类健康的消化系统疾病, 每年造成超过70万例患者死亡, 最新研究证明, 肝癌在中国60岁以下男性人群肿瘤相关死亡中占据首位, 由于其恶性度高, 起病隐匿, 早期诊断率低, 确诊时往往已到中晚期, 失去了手术切除病变组织的机会, 且术后复发的几率也很高, 故预后极差。因此, 加强肝癌的生物学特性的研究, 深入探讨乙型肝炎相关性肝癌的发生、发展机制并寻求有效的早期诊断指标和治疗方法, 对于改善乙型肝炎相关性的疗效和预后具有重要意义。

在众多诱发肝癌的因素中, 乙型肝炎病毒感染占据很大的比例, 而其确切的致癌机制尚不明确。IL-28B基因最早由Zymo Genetics公司于2003年发现, 位于染色体19q13.13的

ACO11445.6基因群上, 属于III型IFN家族, 编码IFN- $\lambda 3$ <sup>[5]</sup>。这类细胞因子由病毒或双链RNA诱导外周血单个核细胞中的树突状细胞、巨噬细胞、上皮细胞和内皮细胞等多种细胞产生, 通过诱导受体异二聚体化, 激活JAK-STATS和MAPK的信号通路, 进而发挥抗病毒、调节免疫及抗肿瘤等生物学作用, 所不同的是IFN- $\lambda s$ 是通过诱导其独特的II型细胞因子受体IFN- $\lambda R1$ 与IL-10R $\beta$ 异源二聚体化从而发挥信号转导作用的<sup>[13,14]</sup>。其中IFN- $\lambda R1$ 是III型IFN所专有的受体亚单位, 在正常人类肝组织及人类肝癌来源的细胞系中均有IFN- $\lambda R1$  mRNA的表达<sup>[15]</sup>, 而IFN- $\lambda s$ 的应答有组织依赖性, 与其受体的表达一致<sup>[16]</sup>。最新研究<sup>[17]</sup>发现, IFN- $\lambda s$ 包括I型IFN、III型IFN及IFN $\lambda 1$ (IL-29)均具有有效的抗病毒活性, 在HCV感染患者中, 病毒清除与IFN $\lambda 3$ (IL-28B)基因附近的遗传变异有关。目前在人体的临床研究多致力于IL-28B基因多态性与乙型肝炎或丙型肝炎IFN治疗应答之间的相关性分析<sup>[18,19]</sup>, 特别集中于rs12979860和rs8099917等几个位点, 其基因多态性与病毒感染性疾病<sup>[20]</sup>、免疫性疾病<sup>[21]</sup>、肿瘤<sup>[22]</sup>的发生发展都存在着关联, 在与HBV、HCV感染及相关肝病的研究者, 研究结果有较大差异, 而且缺乏对HBV感染及感染后导致的慢性乙型肝炎、肝纤维化、

应用要点

本文研究IL-28B在乙型肝炎相关性肝癌患者血清及组织中的表达情况及其与临床病理特征的关系, 有助于进一步明确IL-28B在乙型肝炎相关性肝癌发生、发展中的作用, 为乙型肝炎相关性肝癌的早期诊断及治疗提供一定理论依据.

表 2 IL-28B表达与肝癌临床病理特征的关系 *n*(%)

临床病理特征	<i>n</i>	IL-28B		$\chi^2$ 值	<i>P</i> 值
		阳性	阴性		
年龄(岁)				0.078	0.780
≤50	39	32(82.1)	7(17.9)		
>50	57	48(84.2)	9(15.8)		
性别				0.305	0.581
男	54	46(85.2)	8(14.8)		
女	42	34(81.0)	8(19.0)		
HBV DNA				0.534	0.465
阳性	46	37(80.4)	9(19.6)		
阴性	50	43(86.0)	7(14.0)		
AFP(ng/mL)				6.563	0.023
≤400	11	6(54.5)	5(45.5)		
>400	85	73(85.9)	12(14.1)		
肿瘤最大径(cm)				6.732	0.009
≤3	33	23(69.7)	10(30.3)		
>3	63	57(90.5)	6(9.5)		
分化程度				1.191	0.551
高分化	32	26(81.3)	6(18.8)		
中分化	47	41(87.2)	6(12.8)		
低分化	17	13(76.5)	4(23.5)		
TNM分期				8.642	0.003
I / II	35	24(68.6)	11(31.4)		
III/IV	61	56(91.8)	5(8.2)		

IL-28B: 白介素-28B; AFP: 甲胎蛋白.

肝硬化、肝癌的系统性研究, 事实上, 这四种疾病发生发展是逐步推进的, 甚至在部分条件下是互相重叠和交错发生的. 而对于血清或组织中IL-28B表达与肝癌的相关性研究则更是罕见报道.

石晓东<sup>[23]</sup>、刘元妮<sup>[24]</sup>、Li等<sup>[25]</sup>学者研究发现, 慢性乙型肝炎组患者血清IL-28B水平低于健康对照组, 提示在乙型肝炎患者体内, 受乙型肝炎病毒或双链RNA(dsRNA)刺激外周血单核细胞和树突状细胞等产生由22个氨基酸的信号肽和174个氨基酸的成熟肽组成的IL-28B, 引起胞内反应, 在抗病毒过程中起到免疫防御作用, P21活化蛋白激酶4(PAK4)位于IL-28B基因上游64 kb处, 属于P21活化蛋白激酶家族, Rac和Cdc42的效应蛋白. 他是肌动蛋白细胞支架、神经轴突生长、细胞存活、激素信号系统和基因转录的重要调节器, PAK4特定作用于三磷酸鸟苷(GTP), 形成GTP结合蛋白Cdc42Hs, 并且微弱作用于MAP激酶的c-Jun氨基末端激酶家族, 参与丝状伪足形成的调节,

在肌动蛋白细胞骨架重组中起着一定作用. He等<sup>[26]</sup>通过Meta分析发现IL-28B多态性可以增加HCC的发病风险, 在白种人群尤其明显. Suo等<sup>[27]</sup>研究也证实IL-28B多态性为肝炎病毒相关肝硬化和肝癌的因此易感因素. 全基因组关联研究在美国、日本和澳大利亚分别证实IL-28B附近的基因突变与肝炎病毒感染后转归和治疗应答有关.

本研究结果显示, 在乙型肝炎相关性肝癌患者及乙型肝炎伴发良性肿瘤患者血清中均可以通过酶联免疫吸附实验检测到一定水平的IL-28B的表达, 在肝癌组中IL-28B的表达水平显著偏高, 这与Suo等<sup>[27]</sup>、李星逾等<sup>[28]</sup>学者的研究结果一致, 提示IL-28B的血清学的检测对于乙型肝炎相关性肝癌的诊断有一定的参考价值, 另外, 通过免疫组织化学, IL-28B在乙型肝炎相关肝癌组的表达也明显高于对照组. 本研究发现IL-28B在乙型肝炎相关性肝癌组织中的表达与年龄、性别、HBV DNA、肿瘤分化程度均无相关性, 但与AFP、肿瘤最大

径、TNM分期相关。原发性肝癌患者血清IL-28B的表达与肿瘤最大径及TNM分期之间有一定的关联,提示IL-28B可能对乙型肝炎相关性肝癌的预后提示意义,结合AFP检测,或许在一定程度上弥补AFP检测的敏感性差、存在30%假阴性的缺陷,进一步提高对乙型肝炎相关性肝癌的早期诊断价值,值得进一步深入探索及研究。本研究中AFP阴性肝癌比例偏低,考虑与受试对象样本数量有关,且受乙型肝炎相关性肝癌患者的遗传异质性及来源地域限制,以后需要进一步加大样本量,并进行不同地域不同层面的多中心研究。

乙型肝炎相关性肝癌作为乙型肝炎病毒诱发的多基因变异疾病,分析DNA甲基化、microRNA<sup>[29]</sup>、lncRNA<sup>[30]</sup>及免疫应答等多方面基因表达与乙型肝炎相关性癌的关系,从而确立乙型肝炎相关性肝癌高危人群的基因水平筛选指标,这是进一步研究需要证实的问题,同时需要检测肝功能、cccDNA、HBeAg转换等风险因素对乙型肝炎相关性肝癌的发生率的影响。因此,乙型肝炎相关性肝癌发病的多基因,多位点,多方面的危险因素还有待于进一步研究,以利于更全面的阐述人群乙型肝炎相关性肝癌的发病机制。

#### 4 参考文献

- 1 Chen W, Zheng R, Baade PD, Zhang S, Zeng H, Bray F, Jemal A, Yu XQ, He J. Cancer statistics in China, 2015. *CA Cancer J Clin* 2016; 66: 115-132 [PMID: 26808342 DOI: 10.3322/caac.21338]
- 2 Rivière L, Ducroux A, Buendia MA. The oncogenic role of hepatitis B virus. *Recent Results Cancer Res* 2014; 193: 59-74 [PMID: 24008293 DOI: 10.1007/978-3-642-38965-8\_4]
- 3 Cooke GS, Lemoine M, Thursz M, Gore C, Swan T, Kamarulzaman A, DuCros P, Ford N. Viral hepatitis and the Global Burden of Disease: a need to regroup. *J Viral Hepat* 2013; 20: 600-601 [PMID: 23910643 DOI: 10.1111/jvh.1212]
- 4 Bruix J, Reig M, Sherman M. Evidence-based diagnosis, staging, and treatment of patients with hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2016; 150: 835-853 [PMID: 26795574 DOI: 10.1053/j.gastro.2015.12.041]
- 5 Sheppard P, Kindsvogel W, Xu W, Henderson K, Schlutsmeyer S, Whitmore TE, Kuestner R, Garrigues U, Birks C, Roraback J, Ostrander C, Dong D, Shin J, Presnell S, Fox B, Haldeman B, Cooper E, Taft D, Gilbert T, Grant FJ, Tackett M, Krivan W, McKnight G, Clegg C, Foster D, Klucher KM. IL-28, IL-29 and their class II cytokine receptor IL-28R. *Nat Immunol* 2003; 4: 63-68 [PMID: 12469119 DOI: 10.1038/ni873]
- 6 Cooper S, Erickson AL, Adams EJ, Kansopon J, Weiner AJ, Chien DY, Houghton M, Parham P, Walker CM. Analysis of a successful immune response against hepatitis C virus. *Immunity* 1999; 10: 439-449 [PMID: 10229187 DOI: 10.1016/S1074-7613(00)80044-8]
- 7 Dumoutier L, Tounsi A, Michiels T, Sommereyns C, Kotenko SV, Renauld JC. Role of the interleukin (IL)-28 receptor tyrosine residues for antiviral and antiproliferative activity of IL-29/interferon-lambda 1: similarities with type I interferon signaling. *J Biol Chem* 2004; 279: 32269-32274 [PMID: 15166220 DOI: 10.1074/jbc.M404789200]
- 8 Meager A, Visvalingam K, Dilger P, Bryan D, Wadhwa M. Biological activity of interleukins-28 and -29: comparison with type I interferons. *Cytokine* 2005; 31: 109-118 [PMID: 15899585 DOI: 10.1016/j.cyt.2005.04.003]
- 9 Nadia K, Hicham E, Reda TM, Nadia T, Elarbi B, Saâd E, Mimoun Z, Saâd M. The complete title: The effect of interleukin-28B rs12979860 polymorphism on the therapeutic response of Moroccan patients with chronic hepatitis C. *Gene* 2015; 568: 31-34 [PMID: 25958342 DOI: 10.1016/j.gene.2015.05.010]
- 10 Domagalski K, Pawłowska M, Zaleśna A, Tyczyno M, Skorupa-Klaput M, Tretyn A, Halota W. The relationship between IL-28B polymorphisms and the response to peginterferon alfa-2a monotherapy in anti-HBe-positive patients with chronic HBV infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014; 33: 2025-2033 [PMID: 24924923 DOI: 10.1007/s10096-014-2172-1]
- 11 中华医学会肝病学会, 中华医学会感染病学分会. 《慢性乙型肝炎诊断标准(2015年版)》. 中西医结合肝病杂志 2015; 25: 384-386
- 12 中华人民共和国卫生部. 原发性肝癌诊疗规范(2011年版). 临床肿瘤学杂志 2011; 16: 929-946
- 13 Maher SG, Sheikh F, Scarzello AJ, Romero-Weaver AL, Baker DP, Donnelly RP, Gamero AM. IFNalpha and IFNlambda differ in their antiproliferative effects and duration of JAK/STAT signaling activity. *Cancer Biol Ther* 2008; 7: 1109-1115 [PMID: 18698163 DOI: 10.4161/cbt.7.7.6192]
- 14 Alase AA, El-Sherbiny YM, Vital EM, Tobin DJ, Turner NA, Wittmann M. IFNλ Stimulates MxA Production in Human Dermal Fibroblasts via a MAPK-Dependent STAT1-Independent Mechanism. *J Invest Dermatol* 2015; 135: 2935-2943 [PMID: 26288353 DOI: 10.1038/jid.2015.317]
- 15 Brand S, Zitzmann K, Dambacher J, Beigel F, Olszak T, Vlotides G, Eichhorst ST, Göke B, Diepolder H, Auernhammer CJ. SOCS-1 inhibits expression of the antiviral proteins 2',5'-OAS and MxA induced by the novel interferon-lambda IL-28A and IL-29. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 331: 543-548 [PMID: 15850793 DOI: 10.1016/j.bbrc.2005.04.004]
- 16 Sommereyns C, Paul S, Staeheli P, Michiels T. IFN-lambda (IFN-lambda) is expressed in a tissue-dependent fashion and primarily acts on epithelial cells in vivo. *PLoS Pathog* 2008; 4: e1000017 [PMID: 18369468 DOI: 10.1371/journal.ppat.1000017]
- 17 de Groen RA, Mcphee F, Friborg J, Janssen HL,

#### ■名词解释

白介素28B(IL-28B): 一类属于IFN-λ家族的新型白介素,编码基因位于19号染色体上,宿主基因型与抗HCV治疗应答显著相关,目前证实其基因型可预测HBV、HCV感染者抗病毒治疗的疗效及预后。



## ■ 同行评价

本文设计的研究国内相关报道较少, 设计合理, 创新性较强, 具有一定的临床意义, 建议进一步细化及深入研究。

- Boonstra A. Endogenous IFN $\lambda$  in viral hepatitis patients. *J Interferon Cytokine Res* 2014; 34: 552-556 [PMID: 24433037 DOI: 10.1089/jir.2013.0068]
- 18 Jiao XL, Gao YT, Jing L, Liu T, Shi WX, Guo H, Yang B, DU Z. [Studies on the relationship between polymorphism of IL-28B rs8099917 and the outcome of HBV infection]. *Zhonghua Liuxing Bingxue Zazhi* 2011; 32: 1143-1147 [PMID: 22336553 DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2011.11.020]
- 19 Khubaib B, Saleem S, Idrees M, Afzal S, Wasim M. The genotype CC of IL-28B SNP rs12979860 is significantly associated with a sustained virological response in chronic HCV-infected Pakistani patients. *J Dig Dis* 2015; 16: 293-298 [PMID: 25708904 DOI: 10.1111/1751-2980.12238]
- 20 Grzegorzewska AE, Jodłowska E, Mostowska A, Jagodziński P. Effect of interferon  $\lambda$ 3 gene polymorphisms, rs8099917 and rs12979860, on response to hepatitis B virus vaccination and hepatitis B or C virus infections among hemodialysis patients. *Pol Arch Med Wewn* 2015; 125: 894-902 [PMID: 26658164]
- 21 Akay E, Patel M, Conibear T, Chaggar T, Haque T. Interleukin 28B gene polymorphisms and Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative diseases. *Intervirology* 2014; 57: 112-115 [PMID: 24480970 DOI: 10.1159/00357326]
- 22 Asahina Y, Tsuchiya K, Nishimura T, Muraoka M, Suzuki Y, Tamaki N, Yasui Y, Hosokawa T, Ueda K, Nakanishi H, Itakura J, Takahashi Y, Kurosaki M, Enomoto N, Nakagawa M, Kakinuma S, Watanabe M, Izumi N. Genetic variation near interleukin 28B and the risk of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol* 2014; 49: 1152-1162 [PMID: 23860735 DOI: 10.1007/s00535-013-0858-2]
- 23 石晓东. IL-28B基因多态性及其表达与HCV、HBV感染转归的相关性研究. 长春: 吉林大学, 2011
- 24 刘元妮. 慢性乙型肝炎患者IL-28B与抗病毒治疗的相关研究. 大连: 大连医科大学, 2014
- 25 Li W, Jiang Y, Jin Q, Shi X, Jin J, Gao Y, Pan Y, Zhang H, Jiang J, Niu J. Expression and gene polymorphisms of interleukin 28B and hepatitis B virus infection in a Chinese Han population. *Liver Int* 2011; 31: 1118-1126 [PMID: 21745278 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2011.02507.x]
- 26 He J, Yu G, Li Z, Liang H. Influence of interleukin-28B polymorphism on progression to hepatitis virus-induced hepatocellular carcinoma. *Tumour Biol* 2014; 35: 8757-8763 [PMID: 24874053 DOI: 10.1007/s13277-014-2142-3]
- 27 Suo GJ, Zhao ZX. Association of the interleukin-28B gene polymorphism with development of hepatitis virus-related hepatocellular carcinoma and liver cirrhosis: a meta-analysis. *Genet Mol Res* 2013; 12: 3708-3717 [PMID: 24085431 DOI: 10.4238/2013.September.19.1]
- 28 李星逾, 王天朝, 孙志为, 余旭亚, 董虹, 董坤, 冯幸子, 罗瑛, 王军. 乙型肝炎病毒相关肝癌患者血清白介素28B的表达研究. *中华医院感染学杂志* 2014; 24: 2880-2884
- 29 Hayes CN, Chayama K. MicroRNAs as Biomarkers for Liver Disease and Hepatocellular Carcinoma. *Int J Mol Sci* 2016; 17: pii E280 [PMID: 26927063 DOI: 10.3390/ijms17030280]
- 30 Dickson I. Hepatocellular carcinoma: A role for lncRNA in liver cancer. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2016; 13: 122-123 [PMID: 26860270 DOI: 10.1038/nrgastro.2016.21]

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利



## 胃食管反流病中医治疗经验小结

管华全, 谭峰, 李飞, 樊巧玲

管华全, 谭峰, 李飞, 樊巧玲, 南京中医药大学基础医学院  
江苏省南京市 210023

管华全, 讲师, 主要从事中医治法与方剂配伍应用研究。

作者贡献分布: 管华全与谭峰负责课题的设计、实施、论文  
写作; 李飞与樊巧玲负责课题、论文的指导和修改。

通讯作者: 管华全, 讲师, 210023, 江苏省南京市仙林大道138  
号, 南京中医药大学基础医学院. ghq3000@163.com

收稿日期: 2015-12-23

修回日期: 2016-03-21

接受日期: 2016-03-28

在线出版日期: 2016-04-28

### Treatment of gastroesophageal reflux disease by traditional Chinese medicine

Hua-Quan Guan, Feng Tan, Fei Li, Qiao-Ling Fan

Hua-Quan Guan, Feng Tan, Fei Li, Qiao-Ling Fan,  
Basic Medical College of Nanjing University of TCM, 138  
Xianlin Road, Nanjing 210023, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Hua-Quan Guan, Lecturer, Basic  
Medical College of Nanjing University of TCM, 138  
Xianlin Road, Nanjing 210023, Jiangsu Province,  
China. ghq3000@163.com

Received: 2015-12-23

Revised: 2016-03-21

Accepted: 2016-03-28

Published online: 2016-04-28

### Abstract

This article summarizes the etiology, pathogenesis and treatment of gastroesophageal reflux disease (GERD) based on the traditional Chinese medicine theory. Deficiency-excess mixing and internal stasis of heat and coldness are the

basic mechanisms for the pathogenesis of GERD. Therefore, regulating coldness and heat and strengthening body resistance to dispel pathogenic factors should be the basic treatment for GERD. Specifically, for patients mainly with internal stasis of heat, Xiexin decoction with Daige powder or Herba patriniae should be chosen for clearing heat-fire and detoxification. At the same time, drugs for lowering adverse Qi and regulating stomach, nourishing Yin and stomach, inhibiting acid and relieving pain, and relieving sore throat and cough can be used according to the condition of patients. For patients mainly with internal stasis of coldness, dried ginger combined with Sijunzi decoction can be used for warmly invigorating spleen yang. In addition, drugs for invigorating spleen for eliminating dampness, reinforcing spleen and promoting digestion, and promoting circulation of Qi and blood can help obtain good effects.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gastroesophageal reflux disease; Treatment; Experience

Guan HQ, Tan F, Li F, Fan QL. Treatment of gastroesophageal reflux disease by traditional Chinese medicine. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(12): 1819-1823 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1819.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i12.1819>

### 摘要

本文总结了胃食管反流病中医理论与临床治法。认为虚实夹杂, 寒热互结为其基本病机, 提出调理寒热, 扶正祛邪为其基本治法,

### 背景资料

为了解决传统中医辨证治疗胃食管反流病较为复杂, 疗效亦不理想的情况, 根据长期的临床观察和总结, 提出了胃食管反流病的基本病机和新的辨证治疗方法, 为临床提供参考。

### 同行评议者

袁红霞, 研究员, 天津中医药大学; 张艳丽, 副主任医师, 中日友好医院消化内科

## ■ 研发前沿

有关胃食管反流病的研究较多, 已成为当前研究的热点, 包括中医病机和治法的研究, 但存在的问题主要有: (1) 疗效不理想; (2) 部分药物的不良反应较明显; (3) 中医辨证较复杂, 临床不易掌握等。

具体以偏寒或偏热为纲, 以热为主者, 酌情选择三泻心汤配伍黛蛤散、败酱草等清热泻火解毒之品, 同时根据病情配伍降逆和胃、滋阴养胃、制酸止痛、止咳利咽等药物; 以寒为主者, 以干姜配伍四君子汤等温补脾胃, 同时根据病情配伍健脾化湿、健脾消导、行气活血等药物, 可获良效。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 胃食管反流病; 治疗; 经验

**核心提示:** 本文认为虚实夹杂, 寒热互结为胃食管反流病的基本病机, 提出调理寒热, 扶正祛邪为其基本治法, 以热为主者, 选择三泻心汤加减; 以寒为主者, 以干姜配伍四君子汤加减, 可获良效。

管华全, 谭峰, 李飞, 樊巧玲. 胃食管反流病中医治疗经验小结. 世界华人消化杂志 2016; 24(12): 1819-1823 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1819.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i12.1819>

## 0 引言

胃食管反流病是临床常见的消化系统疾病, 以反酸、烧灼感、胸痛等为主要症状, 部分患者还伴有食管以外的表现, 如咽部不适、声音嘶哑、慢性咳嗽等。该病西医治疗虽有一定疗效, 但易反复发作, 同时其不良反应也不容忽视。而我们在临床应用中医药对该病的治疗中, 总结出一套新的治疗方法和理论, 简单易于掌握, 且疗效较好, 多数无明显不良反应, 具有临床推广价值, 现报道如下。

## 1 理论基础

祖国医学对本病尚无统一的名称。《金匱要略·咳嗽上气篇》谓: “火气上逆, 咽喉不利, 上逆下气, 麦门冬汤主之”。开辨证治疗胃食管反流病之先河<sup>[1]</sup>。以后根据其主要表现, 在古代文献“吞酸”、“反胃”、“胸痹”、“呃逆”、“噎膈”、“梅核气”、“胃脘痛”、“痞满”等范畴中都可找到相关内容的描述<sup>[2]</sup>, 却不能直接等同对应。多数医家认为, 本病多因外感六淫、饮食不节、情志失调、脾胃虚弱等导致胃失和降, 胃中气火上逆, 从而出现反酸、嗳气、烧心、呕吐等一系列临床表现<sup>[3-6]</sup>。《素问·至真要大论》中指出: “诸呕吐酸……皆属于火”。而归纳其病机, 也有不同的观点, 如潘

霜等<sup>[7]</sup>认为气滞、气逆、气虚是本病主要发病机制。程学莲等<sup>[8]</sup>提出肝胃气机失调、胃失和降为基本病机。其他医家虽也有不同观点, 但多数认为本病病位在胃、食管, 与肝脾等脏腑功能失调密切相关<sup>[9-12]</sup>。正如叶天士所述“肝为起病之源, 胃为受病之所”。

我们经过大量的临床观察和总结, 提出胃食管反流病以虚实夹杂、寒热互结为其基本病机的理论。胃食管反流病患者常有消化不良、神疲乏力等脾气虚的症状, 因其反复发作, 病久必虚, 而现代医学认为下食管括约肌(lower esophageal sphincter, LES)松弛是其发病的最重要因素, 这亦属中医虚证范围; 患者常有泛酸、嗳气、腹胀、烧心等气逆、气滞及热邪客胃之象, 其乃实邪所致, 故其病机当为虚实夹杂。除了烧心等热邪客胃症状外, 患者胃镜检查多见胃黏膜充血红肿, 此当属中医热证之象; 但患者亦常有大便溏薄、四肢不温及进食寒凉食物而诱发的情况, 此乃脾阳虚而生内寒之候, 故其病机又当有寒热互结。

## 2 治疗方法

根据以上病机, 我们提出胃食管反流病的基本治法是以调理寒热, 扶正祛邪为主。具体治疗当根据偏热或偏寒之不同, 方法分别如下。

**2.1 以热为主者** 此类患者, 泛酸、烧心、舌质红等热象较为明显。治疗方法以清热泻火为主, 酌情选择仲景三泻心汤配伍黛蛤散、败酱草、蒲公英等清热泻火解毒之品为基本治法。同时根据伴随症状的不同, 适当配伍对应治疗药物, 此证在临床较为多见<sup>[13]</sup>。

**2.1.1 基本治法:** 对于以热为主者, 以仲景三泻心汤调理寒热、散结消痞。仲景三泻心汤, 即半夏泻心汤、生姜泻心汤、甘草泻心汤, 三方均可调理寒热, 辛开苦降, 补泻兼施。但三泻心汤因组成有别, 功效亦略有不同, 其中半夏泻心汤, 方中半夏消痞散结, 降逆止呕; 方中黄连黄芩清热泻火; 人参、甘草、大枣健脾益气, 扶正以助祛邪。但由于三方组成有别, 功用主治亦相应有所不同, 其中半夏泻心汤调理寒热, 消痞散结, 长于治疗寒热互结之痞; 生姜泻心汤即半夏泻心汤加入生姜, 功用兼可化气利水而长于治疗水热互结之痞; 甘草泻心汤为半夏泻心汤加大甘草之量而补益较强, 故长于治疗胃虚气结之痞。临床根据病情不同酌情选择以调理寒热, 散结消痞。由于方中有人参、甘

## ■ 相关报道

中华中医药学会脾胃病分会于2009年通过了《胃食管反流病中医诊疗共识意见》, 是目前中医临床治疗胃食管反流病的重要参考。该意见将胃食管反流病分为5种证型, 并分别列出治疗方药, 较为权威。



草、大枣,可实现祛邪而不伤正之目的.临床以半夏泻心汤使用频率较高<sup>[14-18]</sup>.

青黛与海蛤粉合而成方,即黛蛤散.该方见于《中药成方配本》,为清《医匱六书》卷22“粉黛散”之异名.方中青黛为蓼科植物蓼蓝、十字花科植物菘蓝与爵床科植物马蓝茎叶中的干燥色素制靛时的加工副产品.于夏、秋二季采摘上述植物的茎叶,置缸中,加水浸至叶腐烂,茎脱皮时,将茎枝捞去,加入适量石灰,充分搅拌,至浸液由乌绿色转为深紫红色为度,采集液面泡沫,于阳光下晒干即成.青黛性味咸寒,能凉血解毒.常用于时病热毒发斑、吐血、衄血、咯血以及小儿疳积发热等症.外敷有吸湿作用,又常用于湿疮、湿疹、口舌咽喉溃疡.而应用青黛粉治疗胃食管反流病引起的胸背痛,灼烧感,确实有效<sup>[19]</sup>.海蛤壳(帘蛤科动物青蛤或文蛤的贝壳)性味咸寒,功能清火化痰,软坚散结,制酸止痛.煅过碎成粉剂,即海蛤粉,对胸部灼热疼痛、泛酸等症状的治疗亦很适宜.

部分患者胃脘部烧灼感明显,胃热较甚者还应适当配伍清热药败酱草、蒲公英、白花蛇舌草等以加强清热解毒功效.

2.1.2 加减变化:胃气上逆较甚者,配伍左金丸.左金丸出自《丹溪心法·火六》,由黄连与吴茱萸两味药组成.左金丸原本治疗肝火犯胃所致的恶心、呕吐、泛酸、嘈杂等症状,而胃食管反流病多有此症状.重用苦寒之黄连,通过泻心火而泻肝火,即“实则泻其子”之意;并可直折胃火上炎之势,反佐以辛热疏利之吴茱萸,引热下行,开郁化滞,使火泄而无凉遏之弊,两药相配,辛开苦降,寒热并用,降逆和胃,共奏清肝泻火,降逆止呕之效.据现代药理研究,左金丸具有抑制胃酸分泌和抑制胃及十二指肠内容物反流的作用.药味虽少,但配伍精专,以此方作为治疗胃食管反流病有较好效果.如吴忠珍<sup>[20]</sup>以左金丸加味治疗反流性食管炎62例,治愈率64.5%,有效率95.2%.其他医家以此方治疗本病也取得了不错的疗效<sup>[21-23]</sup>.我们认为,左金丸原方中黄连与吴茱萸的用量之比为6:1,其主治病证为肝火犯胃证,但临床上胃食管反流病的病机常为寒热错杂,故可以通过调整黄连与吴茱萸的用量之比而达到调理寒热的作用,如见便溏或苔腻等脾胃虚寒之象者,常减少黄连的用量,或同时增加吴茱萸的用量实现

调理脾胃寒热错杂.

胃阴虚较甚者,配伍麦门冬汤.部分胃食管反流病患者有胃脘灼痛,舌红少苔等胃阴虚之象,此时当重用麦冬凉血滋阴为主,同时配伍半夏既可降逆和胃,还可防止麦冬过于滋腻,助其开胃行津;再配伍人参(常以党参代替)、甘草、大枣、粳米等补脾益气,使脾胃生化有源,阴液可生,则胃阴虚可除.

泛酸较甚者,配伍制酸药物.部分患者如出现泛酸、嘈杂等胃酸过多或胃食管反流之症较甚者,当配伍炙乌贼骨、煅瓦楞子之类制酸药.此类药物性味咸涩,能收敛止血,制酸止痛.与西药的制酸药比较,药化和药理虽不同,但有异曲同工之妙.另外,白及一药,苦甘而涩,能收敛止血,消肿生肌,保护胃肠黏膜,对慢性胃肠病之糜烂、出血、溃疡,有较好的治疗效果.

咳嗽、咳痰、咽部不适者,配伍止咳化痰利咽药.部分患者因胃食管反流刺激咽部,而出现上述症状者,可配伍桔梗、甘草、贝母等以止咳化痰利咽,或采用肃降肺气的方法以治疗<sup>[24]</sup>.

2.2 以寒为主者 此类患者,常有饮食减少、四肢不温,或见便溏等症状,病机为脾阳不足,虚寒内生,或脾虚生湿所致,故基本治疗方法当以温阳健脾为主,方药选择以干姜配伍四君子汤以温补脾阳、补气健脾为基本治法.同时根据伴随症状的不同,酌情配伍其他药物对应治疗.

2.2.1 基本治法:胃食管反流病患者常反复发作,缠绵难愈,这是由于患者正气不足,不能驱邪外出所致.从临床症状来看,患者可见神疲乏力,饮食减少,四肢不温,或有便溏,舌苔腻等脾阳虚或脾虚生湿之象.正如《内经》所说“正气存内,邪不可干”、“邪之所凑,其气必虚”.干姜长于温补脾阳,四君子汤则具有补气健脾化湿之功<sup>[25]</sup>,方中人参(常以党参代替)甘温益气,健脾养胃,为君药.白术苦温,健脾燥湿,加强益气助运化之力,为臣药.茯苓甘淡,健脾渗湿,为佐药;苓、术合用,健脾祛湿之功更显著.炙甘草甘温,益气和中,调和诸药,为使药.四药配伍,共奏益气健脾化湿之效.现代药理实验也发现,四君子汤可提高患者胃肠道平滑肌的收缩力,可能对LES松弛有一定的治疗作用,这为本方治疗胃食管反流病提供了科学依据.

#### ■创新盘点

本文提出调理寒热,扶正祛邪为治疗胃食管反流病的基本方法,以寒热辨证为纲,方法简单易行,易于临床掌握;临床观察发现以本方法治疗胃食管反流病,疗效较好,且未见明显不良反应.

### 应用要点

本文在临床中的价值在于简便易行,疗效较好.将来应该在大样本调查的基础上,规范本方法的辨证分型和对应的治疗方药.

2.2.2 加减变化:便溏较甚者,配伍利水渗湿药<sup>[26]</sup>.大便溏薄乃脾虚生湿所致,故在四君子汤健脾化湿的基础上,配伍泽泻、炒车前子等利水渗湿之品,起“利小便所以实大便”之功.

食欲不振者,配伍健胃消导药.部分患者因脾虚而见胃纳不振,饮食难消,或食后作胀者,应配健胃消导之品,如焦楂曲、谷麦芽、炙鸡金、炒莱菔子之类,以增加脾胃运化动力,消积导滞.

脘腹胀满疼痛者,配伍行气活血止痛药.部分患者胃脘部胀满不适,当配伍枳壳、枳实、木香等行气药以消痞除满,促进胃肠道蠕动;如患者出现胃脘部疼痛不适者,可适当配伍延胡索、赤白芍等以活血止痛,柔肝缓急.

### 3 验案举例

曲某,女,44岁,2012-09-19就诊,有胃食管反流病史3年,常反复发作,刻下:自觉胃脘胀满不适,胸背灼热痛,火热上气,泛酸,嗝气,饮食减少,进食生冷食物后上述症状常加重,伴咽喉不适,但无明显疼痛,同时还有小便黄,大便正常,舌红苔白腻,脉弦细.此为胃中寒热错杂,热重寒轻,并有脾虚生湿.治当健脾化湿,调理寒热.处方:法半夏10 g,潞党参15 g,炙甘草5 g,炒黄芩10 g,炒黄连6 g,吴茱萸3 g,黛蛤散12 g,生白术15 g,茯苓15 g,广陈皮10 g,白及15 g,炙乌贼骨30 g,煅瓦楞子30 g,广木香15 g,制厚朴10 g,泽泻12 g.14剂后病情好转,再服4 wk后病情缓解.

分析:从症状来看,患者有胃脘胀满及泛酸、嗝气,此为气滞、气逆所致;胸背灼热痛,火热上气及小便黄、舌红均说明热邪较甚,而进食生冷后易复发及苔腻,则又提示有脾阳不足,脾虚生湿之象;证候提示其为虚实夹杂,寒热互结,以热为主.故以半夏泻心汤调理寒热,因本患者以热为主,故去干姜而改为以清热泻火为主;黛蛤散清热凉血,制酸止痛;左金丸清泻胃火,降逆止呕;因患者有脾阳不足之象,故减少左金丸中黄连用量,以防损伤脾阳,同时配伍白术、茯苓等组成四君子汤以补气健脾化湿,扶正以助祛邪,考虑患者总体为热重寒轻,黄连用量仍应大于吴茱萸;因其咽部不适,加黄芩以清咽;白及与乌贼骨、瓦楞子均为加强制酸止痛;陈皮、木香、厚朴均为行气降气,苔腻为有湿之象,加泽泻以助四君子祛湿.

全方合用以调理寒热,扶正祛邪,最终达到预期治疗效果.

### 4 结论

现代研究发现,胃食管反流病的发病机制与其抗反流防御机制降低有关,具体包括LES功能失调、食管清除功能下降、食管黏膜屏障功能的损害、食管内脏高敏感性、胃排空延迟等.另外还与胃酸分泌过多、胆汁反流、幽门螺杆菌感染、遗传、体位及饮食等因素有关<sup>[27-30]</sup>.

在中医辨证论治方面,至今尚无统一的、规范的、普遍的辨证分型模式,亦无统一的治疗用药方案<sup>[31]</sup>.如中华中医药学会脾胃病分会于2009年通过了《胃食管反流病中医诊疗共识意见》,提出胃食管反流病的基本病机是肝胆失于疏泄,胃失和降,胃气上逆,将本病分为5种证型,分别是肝胃郁热证、胆热犯胃证、中虚气逆证、气郁痰阻证、瘀血阻滞证,并提出对应的治疗方法.其他医家如牛晓玲等<sup>[32]</sup>与秦永菊等<sup>[33]</sup>提出本病的基本病机为气机失调,火(热)邪上逆,治疗方面分为初期和后期,初期多为实证,以肝胃不和、肝胃郁热、痰热中阻3型为主,后期久病则虚实夹杂,以胃火阴虚、脾胃虚寒、瘀血阻络3型多见.其他如江家赞<sup>[34]</sup>、蔡燕峰<sup>[35]</sup>及相关研究<sup>[36-39]</sup>均提出了自己对本病病机和治法不同观点,还有研究<sup>[40-43]</sup>还提出了本病中医药疗效评价的新观点,对中医临床治疗均有参考价值,也体现了中医药在治疗本病方面的明显优势<sup>[44-50]</sup>.

综合当前众多医家对本病病机和治法的观点,虽都有其合理之处,但较为繁琐,临床不易掌握和应用.而我们在临床过程中,依据胃食管反流病的主要症状,并结合病史和现代研究,提出该病的基本病机为虚实夹杂、寒热互结,基本治法是以调理寒热,扶正祛邪为主的理论.具体治法以寒热为纲,在清热或祛寒的同时,兼顾扶正,并根据兼证不同加减治疗.本治法简单易行,且我们经过大量的临床观察,认为符合临床实践,疗效较好,还据此总结出治疗胃食管反流病新药“胃反颗粒”(目前还处于研究阶段).希望本理论对临床有一定的参考价值,也希望能得到各位同行的批评指正.

### 5 参考文献

- 徐婷婷,沈洪.《金匱要略》方治疗胃食管反流病研究进展.江苏中医药 2015; 47: 86-88

- 2 李黎. 胃食管反流病中医古代文献溯源. 环球中医药 2011; 4: 15
- 3 徐景藩. 关于诊治胃食管反流病的几点管见. 江苏中医药 2010; 42: 1-2
- 4 陆为民, 徐丹华, 周晓波. 国医大师徐景藩教授诊治胃食管反流病的经验. 中华中医药杂志 2013; 28: 703-705
- 5 王少华, 董湘玉. 董湘玉教授治疗胃食管反流病经验. 内蒙古中医药 2013; 32: 18-19
- 6 盖学明, 迟莉丽. 胃食管反流病中医辨治思路与方法. 现代中医药 2016; 36: 53-55
- 7 潘霜, 游雪梅. 胃食管反流病从气机论治探析. 时珍国医国药 2006; 17: 102-104
- 8 程学莲, 杨炳初. 杨炳初运用和胃方治疗胃食管反流病经验. 湖南中医杂志 2015; 31: 21-22
- 9 宋佳, 刘文. 刘文汶治疗胃食管反流病经验. 北京中医药 2009; 28: 505-506
- 10 梅雨玫, 陆为民. 陆为民主任医师治疗胃食管反流病经验. 长春中医药大学学报 2012; 28: 65-66
- 11 李运峰, 怀秀雄, 徐进康. 中医药治疗胃食管反流病研究进展. 河南中医 2015; 35: 3215-3216
- 12 李敏, 张红, 冯培民. 中西医结合治疗胃食管反流病简况. 实用中医内科杂志 2016; 30: 120-122
- 13 沈晨, 张声生, 赵鲁卿, 张琛, 陶琳. 228例胃食管反流病患者中医证候及症状分布特点. 中国中西医结合消化杂志 2015; 23: 622-625
- 14 李红萍. 半夏泻心汤加减治疗胃食管反流病的疗效观察. 医学理论与实践 2015; 28: 2636-2637
- 15 王国庆. 半夏泻心汤加味治疗反流性食管炎的疗效探讨. 中外医疗 2016; (1): 150-151
- 16 郭凤翔. 半夏泻心汤加味治疗肝胃郁热型反流性食管炎的疗效观察. 中国医药指南 2014; 12: 276-277
- 17 李勇. 半夏泻心汤联合腹针治疗胃食管反流病的临床疗效观察. 当代医学 2016; 22: 150-151
- 18 寿惠菁. 半夏泻心汤在胃食管反流病治疗中的效果. 中医临床研究 2015; 7: 102-103
- 19 李飞. 仲景治痞(心下痞)证方评述. 南京中医药大学学报 2012; 28: 101-104
- 20 吴忠珍. 左金丸加味治疗反流性食管炎. 河南中医 2005; 25: 76
- 21 吴燕华. 左金丸合化肝煎治疗反流性食管炎肝胃郁热证的疗效观察. 内蒙古中医药 2014; 33: 4
- 22 曹玉梅, 林秀华, 欧宛新, 马晓薇. 左金丸治疗胃食管反流随机平行对照研究. 实用中医内科杂志 2015; 29: 45-47
- 23 詹甜, 董筠, 詹媛. 董筠教授辨治胃食管反流病经验. 辽宁中医药大学学报 2015; 17: 195-197
- 24 范兴良, 李殿滨, 黄屏娟, 祝峻峰. 从肺论治胃食管反流病探析. 辽宁中医杂志 2016; 43: 269-270
- 25 梁丽凤, 李金辉. 四君子汤合四逆散联合埃索美拉唑治疗反流性食管炎的疗效观察. 世界最新医学信息文摘 2015; 15: 92-93
- 26 赵婧玮. 健脾渗湿汤治疗胃食管反流病60例. 中国中医药现代远程教育 2016; 14: 77-78
- 27 刘荣泉, 那吉, 陶家丽, 李凤霞, 乔敏, 张志杨, 朱海杭. 贲门松弛与胃食管反流病患者的食管下段DIS改变. 胃肠病学和肝病学杂志 2016; 25: 62-65
- 28 张鹏, 宋玉成, 袁远, 张广坛, 宋笑飞, 韩明阳, 张学东. 胃食管反流病的再认识. 中国临床研究 2014; 27: 1424-1426
- 29 张岩, 赵松, 任爽, 李向楠, 朱登彦, 赵佳, 黄琪, 吴彬, 卢家奇, 吴恺. 胃食管反流病的诊疗. 中国老年学杂志 2015; 35: 261-263
- 30 王微, 李玉涛, 韩鹏. 胃食管反流病的研究进展. 中国实用医药 2015; 10: 283-284
- 31 楚振荣, 李春婷. 浅谈胃食管反流病之中医辨证治疗. 中国临床研究 2015; 28: 817-819
- 32 牛晓玲, 孙志广. 孙志广治疗胃食管反流病经验. 中医杂志 2009; 50: 979-980
- 33 秦永菊, 孙志广. 胃食管反流病的中西医病机及治疗研究进展. 中国中西医结合消化杂志 2015; 3: 149
- 34 江家赞. 辨证治疗胃食管反流病50例疗效观察. 现代医药卫生 2006; 22: 2453-2454
- 35 蔡燕峰. 金小晶温通和胃法治疗胃食管反流病经验举隅. 山西中医 2011; 27: 10-11
- 36 杜听, 相聪坤, 徐伟, 张燕, 许文忠, 连永欣. 袁红霞教授反流性食管炎病因病机述要. 医学理论与实践 2015; 28: 3337-3338
- 37 戴书陈, 潘军, 曹正龙, 张贵荣, 程继明, 项梅, 张明勇, 陆玲玲, 陈明九, 何镜. 何镜治疗胃食管反流病临床经验. 中医药临床杂志 2015; 27: 1530-1533
- 38 陈雪萍, 吴耀南. 反流性食管炎的中医研究进展. 中医药通报 2015; 14: 69-72
- 39 王晓鸽, 王凤云, 唐旭东. 胃食管反流病常见症状的审症求因. 中华中医药杂志 2015; 30: 3840-3843
- 40 李军祥, 王允亮. 胃食管反流病的中医药疗效评价. 中医杂志 2016; 57: 212-215
- 41 孙成宏, 陈迪, 王斌. 通降和胃法治疗胃食管反流病临床效果的Meta分析. 解放军医药杂志 2014; 26: 51-57
- 42 张慧波. 和胃通降汤治疗胃食管反流病的疗效分析. 中国卫生标准管理 2016; 6: 139-140
- 43 崔允蓉. 胃食管反流病的中医中药治疗临床疗效分析. 世界最新医学信息文摘 2015; 15: 98-99
- 44 钟民. 葛文津从脾胃肝治疗胃食管反流病经验总结. 环球中医药 2015; 8: 1225-1226
- 45 杨靖, 杨艳, 何李君, 孔文霞, 李培, 张晓云. 李培教授治疗非糜烂性胃食管反流病经验. 中医药信息 2016; 33: 53-56
- 46 刘记, 叶松. 叶松辨治胃食管反流病的经验撷菁. 湖北中医杂志 2015; 37: 27-28
- 47 冯晴, 马继征, 燕东, 姚乃礼教授治疗难治性胃食管反流病经验. 现代中西医结合杂志 2016; 25: 656-658
- 48 陈思, 李享, 邓晋妹, 汪红兵. 从气机升降失常论治胃食管反流病. 时珍国医国药 2015; 26: 2460-2463
- 49 刘建, 丁文娟. 从肝论治胃食管反流病. 实用中医内科杂志 2016; 30: 57-58
- 50 葛圆圆, 刘绍能. 胃食管反流病中医诊治进展. 辽宁中医药大学学报 2013; 15: 216-218

## 同行评价

本文从中医角度探讨胃食管反流病的发病机制和治法, 为胃食管反流病的中医诊治提供方案选择, 具有一定的新意. 本文提出胃食管反流病以虚实夹杂、寒热互结为其基本病机的理论, 基本治法是以调理寒热, 扶正祛邪为主. 该分型和治法临床上简单易行.

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利





## 乙型肝炎病毒共价闭合环状DNA在慢性乙型肝炎治疗中的分子生物学研究进展

李保胜, 孙殿兴

### ■背景资料

共价闭合环状DNA(covalently closed circular DNA, cccDNA)是乙型肝炎病毒(hepatitis B viral, HBV)前基因组RNA复制的模板, 虽然其含量较少, 每个肝细胞内只有约5-50个拷贝, 但对HBV的复制以及感染状态的建立具有十分重要的意义, 只有清除了细胞核内的cccDNA, 才能彻底消除乙型肝炎患者病毒携带状态, 是抗病毒治疗的目标。

李保胜, 孙殿兴, 中国人民解放军医学院 北京市 100853

孙殿兴, 中国人民解放军白求恩国际和平医院全军肝病中心 河北省石家庄市 050082

李保胜, 主治医师, 在读博士, 主要从事病毒性肝炎等传染性疾病的临床研究。

作者贡献分布: 此文章选题由孙殿兴设计并审阅; 文献收集资料查询及撰写由李保胜完成。

通讯作者: 孙殿兴, 教授, 主任医师, 博士生导师, 050082, 河北省石家庄市桥西区中山西路398号, 中国人民解放军白求恩国际和平医院全军肝病中心. [sundianxing@hotmail.com](mailto:sundianxing@hotmail.com)  
电话: 0311-87978434

收稿日期: 2016-02-19  
修回日期: 2016-03-16  
接受日期: 2016-03-29  
在线出版日期: 2016-04-28

### Role of covalently closed circular DNA in treatment of chronic hepatitis B

Bao-Sheng Li, Dian-Xing Sun

Bao-Sheng Li, Dian-Xing Sun, Chinese PLA Medical School, Beijing 100853, China

Dian-Xing Sun, Liver Disease Diagnosis and Treatment Center of PLA, Bethune International Peace Hospital of Chinese PLA, Shijiazhuang 050082, Hebei Province, China

Correspondence to: Dian-Xing Sun, Professor, Liver Disease Diagnosis and Treatment Center of PLA, Bethune International Peace Hospital of Chinese PLA, 398 Zhongshan West Road, Qiaoxi District, Shijiazhuang 050082, Hebei Province, China. [sundianxing@hotmail.com](mailto:sundianxing@hotmail.com)

### ■同行评议者

何清, 主任医师, 深圳市第三人民医院肝病II科

Received: 2016-02-19  
Revised: 2016-03-16  
Accepted: 2016-03-29  
Published online: 2016-04-28

### Abstract

During hepatitis B virus (HBV) infection, covalently closed circular DNA (cccDNA) acts as the template for the synthesis of viral RNA and new virions. Current therapies rarely achieve an elimination of cccDNA. Biosynthesis of relaxed circular (RC) DNA by reverse transcription of the viral pregenomic RNA is now understood quite well, yet conversion of RC-DNA to cccDNA is still obscure. Conceptual and recent experimental data link cccDNA formation to cellular DNA repair, which is increasingly appreciated as a critical interface between cells and viruses. This review aims to summarize current knowledge on cccDNA molecular biology, to highlight the experimental restrictions that have hitherto hampered faster progress and to discuss cccDNA as a target for potentially curative therapies for chronic hepatitis B.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Chronic hepatitis B; Covalently closed circular DNA; Molecular biology; Therapeutic target

Li BS, Sun DX. Role of covalently closed circular DNA in treatment of chronic hepatitis B. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(12): 1824-1831 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1824.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i12.1824>

### 摘要

在乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染过程中, 共价闭合环状DNA(covalently closed circular DNA, cccDNA)是病毒复制

产生的所有RNA和新病毒颗粒合成的模板, 而当前的治疗方法很难彻底清除cccDNA. 在cccDNA的产生过程中, 由病毒前基因组RNA反转录合成松弛环状(relaxed circular, rc)DNA的细节目前已经比较明确, 而对rcDNA转变为cccDNA的过程人们还知之甚少. 最近的研究把cccDNA的形成和细胞DNA修复联系起来, 并表明此过程是病毒与细胞相互作用的关键环节. 本文将综述cccDNA的分子生物学研究进展, 分析当前研究中遇到的障碍, 并讨论把cccDNA作为治疗慢性乙型肝炎的靶点的前景.

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 慢性乙型肝炎; 共价闭合环状DNA; 分子生物学; 治疗靶点

**核心提示:** 如何彻底清除乙型肝炎病毒(hepatitis B virus)的关键性复制中间体共价闭合环状DNA(covalently closed circular DNA, cccDNA)是当前慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)治疗中的一个难点. 本文将综述细胞DNA修复机制在cccDNA形成中的作用等分子生物学研究进展, 讨论把cccDNA作为治疗CHB靶点的前景.

李保胜, 孙殿兴. 乙型肝炎病毒共价闭合环状DNA在慢性乙型肝炎治疗中的分子生物学研究进展. 世界华人消化杂志 2016; 24(12): 1824-1831 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1824.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i12.1824>

## 0 引言

全世界至少有2.5亿人是HBV的慢性感染者<sup>[1]</sup>, 每年导致65万人死亡. 目前慢性乙型肝炎的治疗手段只有1型干扰素(interferons, IFN)和核苷(酸)类似物[nucleos(t)ide analogues, NAs], 由于严重的不良反应, 只有一部分患者可以接受干扰素治疗; NAs更容易耐受, 但能够清除HbsAg的病例非常少见(0%-5%)<sup>[2]</sup>, 而且, 治疗结束后病毒常常复燃<sup>[3]</sup>. 在免疫抑制情况下, 一些急性感染HBV并痊愈的患者可以发生HBV再次活动, 提示HBV未被完全清除. 目前认为HBV持续感染的关键因素是未能彻底清除共价闭合环状DNA(covalently closed circular DNA, cccDNA), 然而, 由于缺乏合适的实验模型, 至今对cccDNA的产生和分解仍了解不多. 最近的发现有助于改变这一现状, 尤其是钠离

子/牛磺胆酸共转运多肽(sodium taurocholate cotransporting polypeptide, NTCP)被鉴定为HBV和HDV进入细胞的受体, 他与HBV的表面蛋白相互作用使病毒进入细胞<sup>[4,5]</sup>. 在这里我们将综述cccDNA的分子生物学研究进展, 并讨论以cccDNA作为治疗靶点的应用前景.

## 1 cccDNA在HBV复制中的关键角色

HBV的基因组位于核衣壳之中, 为部分双链的松弛环状(relaxed circular, rc)DNA, 其负链的5'端与P蛋白共价结合. HBV通过其表面蛋白的暴露部分与敏感细胞表面的葡糖氨基聚糖相互作用从而聚集在靶细胞表面<sup>[6,7]</sup>, 大蛋白的PreS1区与NTCP结合, 在其他的类似宿主因子共同作用下<sup>[8]</sup>, 触发病毒颗粒被摄取的过程. 当HBV进入细胞后, 核衣壳在核膜的微孔处分解<sup>[9]</sup>, rcDNA被释放到核浆中. 在胞核中, rcDNA转变为关键性的复制中间体cccDNA, 然后, 以cccDNA为模板转录产生一组包括前基因组(pregenomic, pg)RNA在内的转录本, pgRNA是HBV逆转录的模板, 参与HBV DNA的复制过程, 其他RNA则在胞浆翻译产生表面蛋白、X蛋白及C蛋白前体等.

接下来在子代核衣壳中产生结构独特的rcDNA. 首先P蛋白与pgRNA 5'端的ε茎环结构共价结合, 二者共同被包装到新的核衣壳中, 然后P蛋白催化逆转录合成负链DNA. 在催化反应中, P蛋白末端独特结构域的一个酪氨酸残基作为受体接受负链DNA第一个核苷酸, 结果形成一个酪氨酰-5'-DNA-磷酸二酯键, 并维持到rcDNA的最终形成. 负链DNA最初的3-4个核苷酸以ε茎环结构内的凸起区为模板, 随后转移到位于3'端同向重复序列1(direct repeat 1, DR1)内一个相匹配的受体基序, 从此处向pgRNA模板5'端的延长, 产生一条与pgDNA互补的负链DNA. 随着DNA的合成, 大多数pgRNA被P蛋白的RNase H活性(一个潜在的治疗新靶点<sup>[10]</sup>)降解, 未被降解的pgRNA 5'残基随后作为合成正链DNA的引物. 最终形成rcDNA, 其负链稍长, 5'端共价结合着P蛋白, 不完全的正链的5'端由RNA引物构成, 这些结构特点是理解rcRNA向cccDNA转化的关键点. 当表面蛋白包装容纳着成熟rcRNA的核壳体后, 一个完整的HBV感染周期完成; 当表面蛋白不足时, 新产生的rcDNA会重新进入胞核,

## ■ 研究前沿

目前对HBV cccDNA的认识尚有很多不足. 在检测技术上有许多问题需要解决, 比如, 如何提高灵敏度, 如何简化操作步骤等. 由于缺乏经济和便于使用的小型动物实验模型, 对cccDNA作为临床评价指标的意义也有待进一步研究, 比如, 抗病毒新药对cccDNA的作用; HBV感染基础上发生的肝衰竭, 其病情和预后能否通过cccDNA水平获取一定信息; 肝外组织感染的问题也可以通过检测组织细胞中是否存在cccDNA得到解释; 以cccDNA为靶标的基因治疗或免疫治疗; cccDNA与肝细胞基因组整合对肝细胞癌变等的意义.

## ■ 相关报道

Guo等在2015年的文章中总结了在cccDNA在肝细胞内代谢和免疫及病理生理调节的研究; Kennedy等在2015年的文章中探讨将CRISPR/Cas9基因编辑系统用于破坏细胞核内cccDNA的可能; Zhang等在2015年的文章总结了免疫调节剂对控制CHB和清除cccDNA的临床前研究。

从而放大cccDNA的数量。因为缺乏合适的实验模型, 当前对上述过程的了解来源于对鸭HBV模型的研究。

停用核苷类似物药物或接受免疫抑制治疗后出现常常发生病毒再次复制, 这表明cccDNA可以在人体持续存在数十年, 但是很难精确衡量体内cccDNA数量的动态变化。在对WHV慢性感染的土拨鼠和DHBV感染的鸭的研究中发现cccDNA半寿期约为33-57 d, 在黑猩猩急性感染的病毒清除期, cccDNA的半寿期不超过3 d, 但有微量的cccDNA可以持续存在数年。综合这些数据证明在慢性感染中cccDNA池的长期存在, 该池的稳态受许多因素影响, cccDNA分子不断产生和失去, 我们尚不能确定某个cccDNA分子的寿命, 尽管这对于直接以cccDNA为靶点的治疗是非常重要的问题。

## 2 宿主DNA修复机制参与rcDNA向cccDNA转化过程

在大多数情况下, cccDNA直接由HBV病毒颗粒的rcDNA转变而来, 在此过程中, 要完成对rcDNA一些独特结构的修饰, 这些结构包括: 在5'端的P蛋白和RNA引物、正链部分缺失、负链末端冗余结构。其中某些修饰步骤可能是由P蛋白来执行的。然而, 在感染模型中, 用NAs抑制P蛋白对cccDNA的产生完全没有影响或仅有部分程度的影响, 这表明对NAs不敏感的宿主DNA多聚酶可以完成这些修饰步骤。

**2.1 DNA修复机制参与rcDNA向cccDNA转化的理论依据** 由于P蛋白具有酪氨酰-DNA-磷酸二酯酶活性, 能以自催化方式断开其与rcDNA共价结合的酪氨酰-DNA-磷酸二酯键, 从而自rcDNA上脱落, 这与拓扑异构酶(topoisomerases, TOP)的作用方式类似。TOP通过在单链(TOP1)或双链(TOP2)上刻痕来调节DNA超螺旋化, 以减少复制或转录过程中的扭转压力<sup>[11]</sup>, 切断DNA骨架释放的能量贮存在新形成的酪氨酸-DNA-磷酸二酯键中, 这种转酯反应是可逆的, 能让DNA链重新闭合及让酶脱落, 但这种原路返回式的反应需要DNA链的两个断端在空间上成直线, 已发现某些药物影响可以使TOP-DNA加合物显著增加, 以至于分裂复合体中的DNA被扭曲<sup>[11,12]</sup>。从rcDNA上去除P蛋白以及负链环化, 需要正确地去除负链

上3'端的冗余序列, 此活动很难归因于P蛋白的作用; 同样, P蛋白不能完成从正链上去除RNA引物以及封闭单链或两条链上的开口的修饰, 因此, 大多数由rcDNA到cccDNA的转变是由宿主细胞执行的, 实际上, 这些活动都属于是DNA修复的范围。

基因组的完整性对于有机体保持活性至关重要, 然而又不断受到破坏。不但DNA双链断裂有害, 而且各种其他形式的DNA修改可以影响复制和转录, 可能诱导致命的突变, 这些因素包括单链断开、复制错误、交联、碱基修饰、DNA加合物。一个哺乳动物细胞每天可能遭受 $>10^4$ 次有害事件<sup>[13]</sup>, 因此所有的细胞都具备复杂的DNA修复机制, 有250个以上的组分用来探测DNA损伤、发信号停止细胞循环以及修复损伤, 在后生动物, 修复失败通常会诱导凋亡或癌变。越来越受重视的是, 在病毒复制的核内阶段, 病毒不得不应付这些监视系统, 或者通过直接占用, 或者将其视为细胞防御机制而克服<sup>[14-16]</sup>。乳头瘤病毒可以利用DNA修复和细胞周期的联系, 控制宿主细胞进入一个有利于病毒复制的阶段, 并阻断凋亡<sup>[17]</sup>; 腺病毒的线性双链DNA基因组被宿主细胞识别为双链断裂, 被修复成多联体, 以至于太大而不能包装, 利用其早期蛋白, 腺病毒通过钝化DNA修复机制中的关键组件来抵抗这种细胞应答<sup>[16]</sup>, 包括探测双链断裂的MRN复合体<sup>[18,19]</sup>。类似的, 嗜肝病毒rcDNA的许多特征也能够触发DNA损伤修复机制, 然而, 对这一过程的研究才刚刚开始。

**2.2 DNA修复机制参与rcDNA向cccDNA转化的实验证据** 嗜肝病毒rcDNA在结构上最显著的特征是负链的5'端与P蛋白以磷酸二酯键共价结合, 其连接方式与TOP裂解复合体的磷酸酪氨酰键非常类似。宿主细胞可以利用酪氨酸-DNA-磷酸二酯酶(tyrosyl-DNA-phosphodiesterases, TDPs)<sup>[12]</sup>对DNA加合物进行修复处理。TDP1主要作用于3'端连接的TOP1加合物, 然而, 有的研究<sup>[20-22]</sup>显示他也有5'活性, 可能与特定物种有关; TDP2则优先处理5'底物。因此, 这两种酶都有从rcDNA释放5'端的以酪氨酸-磷酸二酯键结合的P蛋白潜在能力。

有研究者利用重组TDP酶(人和鸡的TDP2)可以高效切开一种合成的具有5'磷酸酪



氨酸结构的底物<sup>[23]</sup>。在DHBV的P蛋白也观察到类似的情况, 其短DNA寡核苷酸与外部结合, 发生蛋白引物反应<sup>[24,25]</sup>, 还在细胞培养产生的核壳体观察到真正的DHBV和HBV rcDNA。这些证据证实: 在病毒复制过程中, TDP2作为一个宿主细胞的DNA修复因子, 具有切除rcDNA 5'末端P蛋白的活性。

由于去除P蛋白是rcDNA转变为cccDNA的必需步骤, 阻断这个环节可能会导致cccDNA生成障碍。因此, 有研究者制备了一种HepG2细胞, 可以稳定表达TDP2特异的shRNA, 能够持久的抑制TDP2表达的。然后这些TDP2敲除细胞和天然的HepG2细胞分别转染携带包膜缺失DHBV的基因组的载体, 并开始病毒复制, 用Southern blot比较rcDNA和cccDNA的产量。发现降低TDP2水平显著延缓rcDNA向cccDNA转化速度, 然而, 最终两组细胞内rcDNA和cccDNA的数量水平和比例无差别, 表明cccDNA的产生可以被延迟但不能被阻断。对此直观的解释是残余的少量TDP2仍然可以让rcDNA进入转化通路, 只是cccDNA形成的速度明显降低。然而, 这些数据还用一些更复杂的理论来解释, 那就是广泛存在的DNA修复的冗余机制可以发挥替代作用<sup>[26]</sup>, 对于TOP裂解复合体修复途径, 数个核溶解通路可以替代完成TDP介导的修复<sup>[11,27]</sup>。因此, 在TDP2敲除细胞, rcDNA可经旁路途径将P蛋白去除, 进而转变为cccDNA, 只是转变过程变慢了。

### 3 以cccDNA为靶点的抗HBV治疗策略

cccDNA池的存在是HBV持续感染的根源, 目前的治疗方法均很难清除HBV, 直接以cccDNA为靶点的疗法是一种新的策略, 从阻断其产生、直接消除以及沉默其复制中间体的作用等几个方面研究者们做了很多的努力, 取得了一些进展。

**3.1 控制从rcDNA向cccDNA的转变** 现有资料提示TDP2以及类似的其他参与rcDNA向cccDNA转变的宿主因素有可能成为治疗靶点, 抑制这个过程应该可以阻止cccDNA池的形成。不过需要先明确几个问题, 首要的是cccDNA持久存在的原因, 或者是个别分子长寿, 或者是cccDNA在不断更新, 这需要在技术上能够监视单个cccDNA分子的命运, 现在看来这将

是一个非比寻常的难题。不考虑cccDNA更新, 抑制rcDNA转变成cccDNA只是对初始感染起作用, 也就是预防。有趣的是, 在预先感染了低剂量HBV的人肝嵌合小鼠, 用阻断HBV被摄取的药物Myrcludex B治疗后, 不仅阻止了病毒感染其他细胞, 还可能抑制已感染细胞内rcDNA向转变cccDNA, 导致cccDNA的数量无明显增多<sup>[28]</sup>, 虽然暗示cccDNA的从头合成可以发生, 这些结果还需要在临床中证实。

第二个关键问题是以某个DNA修复因子为治疗靶点可能影响宿主细胞的DNA损伤修复, 这时修复系统的冗余具有两面性, 一方面, 在rcDNA向cccDNA转变的过程中, P蛋白可能以不同的机制被释放, 阻断其中的一个通路并不能影响cccDNA形成; 相反, 冗余机制也许是有益的, 可能某一个靶点对病毒至关重要, 但宿主细胞还有其他备用机制, 从而不受影响。这需要综合考虑涉及的宿主因素, 设计高效的筛选方案, 例如, 通过RNA干扰或先进的基因敲除技术, 筛选小化合物抑制剂, 例如, 一个新近的研究表明小分子可以干扰cccDNA的形成, 尽管其机制未明<sup>[29]</sup>。

另外一个防止形成cccDNA池的策略是阻止rcDNA到达细胞核。由于核转运依靠核衣壳, 也许正在研发<sup>[30]</sup>的靶向衣壳的药物能够阻断cccDNA的产生<sup>[31]</sup>, 或者用诱导组装空衣壳或不规则聚合物的方式, 或者通过破坏现存的核衣壳<sup>[32,33]</sup>, 若核衣壳被破坏, 被释放到胞浆中的rcDNA将不能进入细胞核, 并且可能被胞浆中DNA感应器如循环GMP-AMP合酶检测到, 进而激活干扰素基因*STING*并诱导产生1型干扰素<sup>[34,35]</sup>, 为了屏蔽这个防御系统可能是HBV的逆转录发生在核衣壳内部的原因之一, 并且rcDNA需要被完整的核衣壳转运到细胞核<sup>[9]</sup>。然而, 现有的cccDNA池仅仅受cccDNA更新与否的影响。

**3.2 清除肝脏的cccDNA** 稳定的cccDNA水平取决于其产生与丢失的对比, 如果不能防止产生新的cccDNA, 那么尽量消除现有cccDNA可能是最直接的方法, 当前有两个主要的策略, 一是模拟HBV急性感染的免疫介导的清除, 可以清除绝大部分cccDNA, 第二是利用人工核酸内切酶。

清除肝细胞中cccDNA有两种方式, 其一是T细胞破坏几乎所有带cccDNA的细胞, 然

### ■创新盘点

本文总结近5年的最新文献, 结合近年cccDNA在分子生物学方面的研究, 总结了当前以清除cccDNA为目标的治疗研究进展。

### 应用要点

本文或可帮助临床医生理解cccDNA在HBV感染中的作用, 并对当前以彻底清除cccDNA为目的治疗研究现状有较全面的了解。

后用非感染细胞取代, 另一是不破坏细胞而清除cccDNA, 在疾病中这两个机制同时存在, 但相对贡献度不易区分, 这是由于参与的因素多且很难去评估, 这些因素包括: 在细胞分裂过程中cccDNA是否以及如何再次进入新产生的细胞核; 载有cccDNA细胞和不载有cccDNA细胞的更新周期, 以及cccDNA转录活性的影响; 不易感细胞和抵抗免疫清除细胞的起源、分组及增殖特点。除上述问题之外, 干扰素等细胞因子可能扮演了重要的角色, 尽管确切的机制还不明确。一个新近的研究<sup>[36]</sup>显示: 高剂量的IFN- $\alpha$ 或强烈激活淋巴毒素- $\beta$ 受体, 可以上调APOBEC3A(apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide-like 3A)的表达, 作用于DNA负链使之去氨基, 直接破坏cccDNA的完整性, 从而被修复途径降解。另一个研究中, 在慢性感染的黑猩猩, TLR-7激动剂GS-9620诱导清除HBV感染的细胞<sup>[37]</sup>, 这凸显了激活天然免疫应答的价值。通过免疫机制降低cccDNA的研究中, 引人注意的是在一些情况下cccDNA池降低到一定程度就不再减少<sup>[36]</sup>, 这可能是由于cccDNA的避难所细胞, 或者, cccDNA自身的一些不同的形式, 例如甲基化、染色质修饰或一些其他的性质。或许, 某些诱导cccDNA降解的非自然手段可能会对顽固的cccDNA池有作用。

人工核酸内切酶的应用已经推进了cccDNA相关的研究<sup>[38-41]</sup>。然而, 大量的问题还没有解决, 首先是核酸酶作用于cccDNA的途径, 除非携带cccDNA的细胞能被特异锁定, 核酸酶必需被递送到所有的肝细胞, 包括线性DNA整合在内的脱靶效应可能对肝细胞功能起到相反的影响, 尤其是在需要效应酶长期存在的情况时。还有, 非同源的黏合系统(non-homologous end-joining, NHEJ)介导修复双链DNA断裂容易出错<sup>[42]</sup>, 部分修复会导致未受损cccDNA发生重构。也很重要, 目前还不清楚在同一个细胞内rcDNA过剩会如何影响cccDNA的定位效率。清除cccDNA还需要进行更多的研究, 还有很大的空间来发展其他的策略, 包括治疗性疫苗、反义RNA、RNA干扰衍生的手段<sup>[30]</sup>。

3.3 沉默cccDNA的转录活性 越来越多的证据表明cccDNA的转录活性受表观遗传控制, 因此利用细胞的表观遗传学机制<sup>[43]</sup>有可能对

cccDNA进行功能灭活, 尽管不能清除cccDNA。模型研究显示IFN- $\alpha$ 治疗是一种可能的选择<sup>[44,45]</sup>。另外, HBx可能是一个抗病毒的直接药物靶点, 因为在HBV进入细胞的环节, 他似乎是表观遗传学控制cccDNA的转录所必需的<sup>[46]</sup>, 但其中机制十分复杂, 因为与HBx相互作用的因子数量众多<sup>[47]</sup>, 他们在感染中的相关性不确定, 而且使用的测试系统本身也不能除外HBx的影响<sup>[48]</sup>。DNA损伤结合蛋白(DNA damage-binding protein, DDB)1<sup>[49]</sup>是一种有希望的蛋白, DDB1与HBx结合对病毒的感染能力有明显的影响, DDB1与他的配体DDB2识别紫外线诱导的DNA变性, 并形成一个E3泛素连接酶复合体用于介导降解多种底物<sup>[50]</sup>。值得注意的是, 在cccDNA存在时, 就需要持续阻止HBx与其细胞配体的相互作用。此外, 当细胞内存在无转录活性cccDNA时, 细胞对免疫介导的cccDNA清除机制显得更不敏感<sup>[51]</sup>, 因此需要对这个思路进行更多的研究评估。

## 4 结论

cccDNA在HBV持续感染中的重要性已得到证实, 所以, 治愈慢性乙型肝炎的疗法应以清除cccDNA为目标, 目前在阻止cccDNA的形成、促进cccDNA的清除以及沉默其转录活性等方面进行了许多尝试, 取得了一定的进展, 但人们对cccDNA的形成和降解仍认识不足, 目前已经培育成功了感染细胞系, 小动物感染模型的建立也有进展, 这将显著改变目前的困境。有关cccDNA的生物化学的新知识, 对急性HBV感染时机体免疫系统如何处理cccDNA的分子机制, 以及对DNA进行操作的新技术, 这些进展将有助于最终实现彻底地清除cccDNA, 将使慢性乙型肝炎的治疗研究取得像慢性丙型肝炎那样的成功<sup>[52]</sup>。

## 5 参考文献

- Ott JJ, Stevens GA, Groeger J, Wiersma ST. Global epidemiology of hepatitis B virus infection: new estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity. *Vaccine* 2012; 30: 2212-2219 [PMID: 22273662 DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.12.116]
- Trépo C, Chan HL, Lok A. Hepatitis B virus infection. *Lancet* 2014; 384: 2053-2063 [PMID: 24954675 DOI: 10.1016/S0140-6736(14)60220-8]
- Chevaliez S, Hézode C, Bahrami S, Grare M, Pawlotsky JM. Long-term hepatitis B surface antigen (HBsAg) kinetics during nucleoside/nucleotide analogue therapy: finite treatment

- duration unlikely. *J Hepatol* 2013; 58: 676-683 [PMID: 23219442 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.11.039]
- 4 Yan H, Zhong G, Xu G, He W, Jing Z, Gao Z, Huang Y, Qi Y, Peng B, Wang H, Fu L, Song M, Chen P, Gao W, Ren B, Sun Y, Cai T, Feng X, Sui J, Li W. Sodium taurocholate cotransporting polypeptide is a functional receptor for human hepatitis B and D virus. *Elife* 2012; 1: e00049 [PMID: 23150796 DOI: 10.7554/eLife.00049]
  - 5 Ni Y, Lempp FA, Mehrle S, Nkongolo S, Kaufman C, Fälth M, Stindt J, Königer C, Nassal M, Kubitz R, Sültmann H, Urban S. Hepatitis B and D viruses exploit sodium taurocholate cotransporting polypeptide for species-specific entry into hepatocytes. *Gastroenterology* 2014; 146: 1070-1083 [PMID: 24361467 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.12.024]
  - 6 Lamas Longarela O, Schmidt TT, Schöneweis K, Romeo R, Wedemeyer H, Urban S, Schulze A. Proteoglycans act as cellular hepatitis delta virus attachment receptors. *PLoS One* 2013; 8: e58340 [PMID: 23505490 DOI: 10.1371/journal.pone.0058340]
  - 7 Sureau C, Salisse J. A conformational heparan sulfate binding site essential to infectivity overlaps with the conserved hepatitis B virus a-determinant. *Hepatology* 2013; 57: 985-994 [PMID: 23161433 DOI: 10.1002/hep.26125]
  - 8 Baumert TF, Meredith L, Ni Y, Felmler DJ, McKeating JA, Urban S. Entry of hepatitis B and C viruses - recent progress and future impact. *Curr Opin Virol* 2014; 4: 58-65 [PMID: 24418809 DOI: 10.1016/j.coviro.2013.12.002]
  - 9 Schmitz A, Schwarz A, Foss M, Zhou L, Rabe B, Hoellenriegel J, Stoeber M, Panté N, Kann M. Nucleoporin 153 arrests the nuclear import of hepatitis B virus capsids in the nuclear basket. *PLoS Pathog* 2010; 6: e1000741 [PMID: 20126445 DOI: 10.1371/journal.ppat.1000741]
  - 10 Cai CW, Lomonosova E, Moran EA, Cheng X, Patel KB, Bailly F, Cotelle P, Meyers MJ, Tavis JE. Hepatitis B virus replication is blocked by a 2-hydroxyisoquinoline-1,3(2H,4H)-dione (HID) inhibitor of the viral ribonuclease H activity. *Antiviral Res* 2014; 108: 48-55 [PMID: 24858512 DOI: 10.1016/j.antiviral.2014.05.007]
  - 11 Ashour ME, Attaya R, El-Khamisy SF. Topoisomerase-mediated chromosomal break repair: an emerging player in many games. *Nat Rev Cancer* 2015; 15: 137-151 [PMID: 25693836 DOI: 10.1038/nrc3892]
  - 12 Pommier Y, Huang SY, Gao R, Das BB, Murai J, Marchand C. Tyrosyl-DNA-phosphodiesterases (TDP1 and TDP2). *DNA Repair (Amst)* 2014; 19: 114-129 [PMID: 24856239 DOI: 10.1016/j.dnarep.2014.03.020]
  - 13 Hoeijmakers JH. DNA damage, aging, and cancer. *N Engl J Med* 2009; 361: 1475-1485 [PMID: 19812404 DOI: 10.1056/NEJMra0804615]
  - 14 Turnell AS, Grand RJ. DNA viruses and the cellular DNA-damage response. *J Gen Virol* 2012; 93: 2076-2097 [PMID: 22855786 DOI: 10.1099/vir.0.044412-0]
  - 15 Weitzman MD, Weitzman JB. What's the damage? The impact of pathogens on pathways that maintain host genome integrity. *Cell Host Microbe* 2014; 15: 283-294 [PMID: 24629335 DOI: 10.1016/j.chom.2014.02.010]
  - 16 Weitzman MD, Lilley CE, Chaurushiya MS. Genomes in conflict: maintaining genome integrity during virus infection. *Annu Rev Microbiol* 2010; 64: 61-81 [PMID: 20690823 DOI: 10.1146/annurev.micro.112408.134016]
  - 17 Wallace NA, Galloway DA. Manipulation of cellular DNA damage repair machinery facilitates propagation of human papillomaviruses. *Semin Cancer Biol* 2014; 26: 30-42 [PMID: 24412279 DOI: 10.1016/j.semcancer.2013.12.003]
  - 18 Paull TT. Mechanisms of ATM Activation. *Annu Rev Biochem* 2015; 84: 711-738 [PMID: 25580527 DOI: 10.1146/annurev-biochem-060614-034335]
  - 19 Williams RS, Williams JS, Tainer JA. Mre11-Rad50-Nbs1 is a keystone complex connecting DNA repair machinery, double-strand break signaling, and the chromatin template. *Biochem Cell Biol* 2007; 85: 509-520 [PMID: 17713585 DOI: 10.1139/O07-069]
  - 20 Nitiss JL, Nitiss KC. Tdp2: a means to fixing the ends. *PLoS Genet* 2013; 9: e1003370 [PMID: 23505391 DOI: 10.1371/journal.pgen.1003370]
  - 21 Cortes Ledesma F, El Khamisy SF, Zuma MC, Osborn K, Caldecott KW. A human 5'-tyrosyl DNA phosphodiesterase that repairs topoisomerase-mediated DNA damage. *Nature* 2009; 461: 674-678 [PMID: 19794497 DOI: 10.1038/nature08444]
  - 22 Gómez-Herreros F, Romero-Granados R, Zeng Z, Alvarez-Quilón A, Quintero C, Ju L, Umans L, Vermeire L, Huylebroeck D, Caldecott KW, Cortés-Ledesma F. TDP2-dependent non-homologous end-joining protects against topoisomerase II-induced DNA breaks and genome instability in cells and in vivo. *PLoS Genet* 2013; 9: e1003226 [PMID: 23505375 DOI: 10.1371/journal.pgen.1003226]
  - 23 Königer C, Wingert I, Marsmann M, Rösler C, Beck J, Nassal M. Involvement of the host DNA-repair enzyme TDP2 in formation of the covalently closed circular DNA persistence reservoir of hepatitis B viruses. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111: E4244-E4253 [PMID: 25201958 DOI: 10.1073/pnas.1409986111]
  - 24 Stahl M, Beck J, Nassal M. Chaperones activate hepadnavirus reverse transcriptase by transiently exposing a C-proximal region in the terminal protein domain that contributes to epsilon RNA binding. *J Virol* 2007; 81: 13354-13364 [PMID: 17913810 DOI: 10.1128/JVI.01196-07]
  - 25 Stahl M, Retzlaff M, Nassal M, Beck J. Chaperone activation of the hepadnaviral reverse transcriptase for template RNA binding is established by the Hsp70 and stimulated by the Hsp90 system. *Nucleic Acids Res* 2007; 35: 6124-6136 [PMID: 17804463 DOI: 10.1093/nar/gkm628]
  - 26 Thompson LH. Recognition, signaling, and repair of DNA double-strand breaks produced by ionizing radiation in mammalian cells: the molecular choreography. *Mutat Res* 2016; 751: 158-246 [PMID: 22743550 DOI: 10.1016/j.mrrev.2012.06.002]
  - 27 Maede Y, Shimizu H, Fukushima T, Kogame T, Nakamura T, Miki T, Takeda S, Pommier Y, Murai J. Differential and common DNA repair pathways for topoisomerase I- and II-targeted drugs in a genetic DT40 repair cell screen panel. *Mol Cancer*

# 名词解释

钠离子牛磺胆酸共转运多肽 (NTCP): 一种具有胆酸转运功能的多肽类物质, 通常在人肝细胞表面表达, 2012年被我国科学家鉴定为乙型肝炎和丁型肝炎病毒的功能性受体。



# 同行评价

HBV cccDNA是近年来肝病领域的研究热点, 本文的综述具备一定的学术科研价值, 文中引用研究内容大部分较前沿, 为临床及科研人员提供了很好的理论依据。

- 28 Volz T, Allweiss L, Ben MBarek M, Warlich M, Lohse AW, Pollok JM, Alexandrov A, Urban S, Petersen J, Lütgehetmann M, Dandri M. The entry inhibitor Myrcludex-B efficiently blocks intrahepatic virus spreading in humanized mice previously infected with hepatitis B virus. *J Hepatol* 2013; 58: 861-867 [PMID: 23246506 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.12.008]
- 29 Cai D, Mills C, Yu W, Yan R, Aldrich CE, Saputelli JR, Mason WS, Xu X, Guo JT, Block TM, Cuconati A, Guo H. Identification of disubstituted sulfonamide compounds as specific inhibitors of hepatitis B virus covalently closed circular DNA formation. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56: 4277-4288 [PMID: 22644022 DOI: 10.1128/AAC.00473-12]
- 30 Zeisel MB, Lucifora J, Mason WS, Sureau C, Beck J, Levrero M, Kann M, Knolle PA, Benkirane M, Durantel D, Michel ML, Autran B, Cosset FL, Strick-Marchand H, Trépo C, Kao JH, Carrat F, Lacombe K, Schinazi RF, Barré-Sinoussi F, Delfraissy JF, Zoulim F. Towards an HBV cure: state-of-the-art and unresolved questions--report of the ANRS workshop on HBV cure. *Gut* 2015; 64: 1314-1326 [PMID: 25670809 DOI: 10.1136/gutjnl-2014-308943]
- 31 Katen SP, Tan Z, Chirapu SR, Finn MG, Zlotnick A. Assembly-directed antivirals differentially bind quasiaequivalent pockets to modify hepatitis B virus capsid tertiary and quaternary structure. *Structure* 2013; 21: 1406-1416 [PMID: 23871485 DOI: 10.1016/j.str.2013.06.013]
- 32 Zlotnick A, Mukhopadhyay S. Virus assembly, allostery and antivirals. *Trends Microbiol* 2011; 19: 14-23 [PMID: 21163649 DOI: 10.1016/j.tim.2010.11.003]
- 33 Bourne CR, Finn MG, Zlotnick A. Global structural changes in hepatitis B virus capsids induced by the assembly effector HAP1. *J Virol* 2006; 80: 11055-11061 [PMID: 16943288 DOI: 10.1128/JVI.00933-06]
- 34 Cai X, Chiu YH, Chen ZJ. The cGAS-cGAMP-STING pathway of cytosolic DNA sensing and signaling. *Mol Cell* 2014; 54: 289-296 [PMID: 24766893 DOI: 10.1016/j.molcel.2014.03.040]
- 35 Hornung V, Hartmann R, Ablasser A, Hopfner KP. OAS proteins and cGAS: unifying concepts in sensing and responding to cytosolic nucleic acids. *Nat Rev Immunol* 2014; 14: 521-528 [PMID: 25033909 DOI: 10.1038/nri3719]
- 36 Lucifora J, Xia Y, Reisinger F, Zhang K, Stadler D, Cheng X, Sprinzl MF, Koppensteiner H, Makowska Z, Volz T, Remouchamps C, Chou WM, Thasler WE, Hüser N, Durantel D, Liang TJ, Münk C, Heim MH, Browning JL, Dejardin E, Dandri M, Schindler M, Heikenwalder M, Protzer U. Specific and nonhepatotoxic degradation of nuclear hepatitis B virus cccDNA. *Science* 2014; 343: 1221-1228 [PMID: 24557838 DOI: 10.1126/science.1243462]
- 37 Lanford RE, Guerra B, Chavez D, Giavedoni L, Hodara VL, Brasky KM, Fosdick A, Frey CR, Zheng J, Wolfgang G, Halcomb RL, Tumas DB. GS-9620, an oral agonist of Toll-like receptor-7, induces prolonged suppression of hepatitis B virus in chronically infected chimpanzees. *Gastroenterology* 2013; 144: 1508-1517. 1517.e1-e10 [PMID: 23415804 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.02.003]
- 38 Weber ND, Stone D, Sedlak RH, De Silva Feelixge HS, Roychoudhury P, Schiffer JT, Aubert M, Jerome KR. AAV-mediated delivery of zinc finger nucleases targeting hepatitis B virus inhibits active replication. *PLoS One* 2014; 9: e97579 [PMID: 24827459 DOI: 10.1371/journal.pone.0097579]
- 39 Seeger C, Sohn JA. Targeting Hepatitis B Virus With CRISPR/Cas9. *Mol Ther Nucleic Acids* 2014; 3: e216 [PMID: 25514649 DOI: 10.1038/mtna.2014.68]
- 40 Cradick TJ, Keck K, Bradshaw S, Jamieson AC, McCaffrey AP. Zinc-finger nucleases as a novel therapeutic strategy for targeting hepatitis B virus DNAs. *Mol Ther* 2010; 18: 947-954 [PMID: 20160705 DOI: 10.1038/mt.2010.20]
- 41 Bloom K, Ely A, Mussolino C, Cathomen T, Arbutnot P. Inactivation of hepatitis B virus replication in cultured cells and in vivo with engineered transcription activator-like effector nucleases. *Mol Ther* 2013; 21: 1889-1897 [PMID: 23883864 DOI: 10.1038/mt.2013.170]
- 42 Lieber MR. The mechanism of double-strand DNA break repair by the nonhomologous DNA end-joining pathway. *Annu Rev Biochem* 2010; 79: 181-211 [PMID: 20192759 DOI: 10.1146/annurev.biochem.052308.093131]
- 43 Murr R. Interplay between different epigenetic modifications and mechanisms. *Adv Genet* 2010; 70: 101-141 [PMID: 20920747 DOI: 10.1016/B978-0-12-380866-0.60005-8]
- 44 Belloni L, Pollicino T, De Nicola F, Guerrieri F, Raffa G, Fanciulli M, Raimondo G, Levrero M. Nuclear HBx binds the HBV minichromosome and modifies the epigenetic regulation of cccDNA function. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106: 19975-19979 [PMID: 19906987 DOI: 10.1073/pnas.0908365106]
- 45 Liu F, Campagna M, Qi Y, Zhao X, Guo F, Xu C, Li S, Li W, Block TM, Chang J, Guo JT. Alpha-interferon suppresses hepadnavirus transcription by altering epigenetic modification of cccDNA minichromosomes. *PLoS Pathog* 2013; 9: e1003613 [PMID: 24068929 DOI: 10.1371/journal.ppat.1003613]
- 46 Lucifora J, Arzberger S, Durantel D, Belloni L, Strubin M, Levrero M, Zoulim F, Hantz O, Protzer U. Hepatitis B virus X protein is essential to initiate and maintain virus replication after infection. *J Hepatol* 2011; 55: 996-1003 [PMID: 21376091 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.02.015]
- 47 Zhang T, Xie N, He W, Liu R, Lei Y, Chen Y, Tang H, Liu B, Huang C, Wei Y. An integrated proteomics and bioinformatics analyses of hepatitis B virus X interacting proteins and identification of a novel interactor apoA-I. *J Proteomics* 2013; 84: 92-105 [PMID: 23568022 DOI: 10.1016/j.jprot.2013.03.028]
- 48 Slagle BL, Andrisani OM, Bouchard MJ, Lee CG, Ou JH, Siddiqui A. Technical standards for hepatitis B virus X protein (HBx) research. *Hepatology* 2015; 61: 1416-1424 [PMID: 25099228 DOI: 10.1002/hep.27360]
- 49 Li T, Robert EI, van Breugel PC, Strubin M, Zheng N. A promiscuous alpha-helical motif anchors viral hijackers and substrate receptors to the

- CUL4-DDB1 ubiquitin ligase machinery. *Nat Struct Mol Biol* 2010; 17: 105-111 [PMID: 19966799 DOI: 10.1038/nsm.1719]
- 50 Marteiin JA, Lans H, Vermeulen W, Hoeijmakers JH. Understanding nucleotide excision repair and its roles in cancer and ageing. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014; 15: 465-481 [PMID: 24954209 DOI: 10.1038/nrm3822]
- 51 Reaiche GY, Le Mire MF, Mason WS, Jilbert AR. The persistence in the liver of residual duck hepatitis B virus covalently closed circular DNA is not dependent upon new viral DNA synthesis. *Virology* 2010; 406: 286-292 [PMID: 20705309 DOI: 10.1016/j.virol.2010.07.013]
- 52 Pawlotsky JM. New hepatitis C therapies: the toolbox, strategies, and challenges. *Gastroenterology* 2014; 146: 1176-1192 [PMID: 24631495 DOI: 10.1053/j.gastro.2014.03.003]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》外文字符标准

**本刊讯** 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60=Bq, pH不能写PH或P<sup>H</sup>, *H pylori*不能写成HP, T1/2不能写成tl/2或T<sub>1/2</sub>, Vmax不能Vmax, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H.pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn.var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数K; 一些统计学符号(如样本数n, 均数mean, 标准差SD, F检验, t检验和概率P, 相关系数r); 化学学中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如N, O, P, S, d, l)如n-(normal, 正), N-(nitrogen, 氮), o-(ortho, 邻), O-(oxygen, 氧, 习惯不译), d-(dextro, 右旋), p-(para, 对), 例如n-butyl acetate(醋酸正丁酯), N-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), o-cresol(邻甲酚), 3-O-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), d-amphetamine(右旋苯丙胺), l-dopa(左旋多巴), p-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写in vitro, in vivo, in situ; Ibid, et al, po, vs; 用外文字母代表的物理量, 如m(质量), V(体积), F(力), p(压力), W(功), v(速度), Q(热量), E(电场强度), S(面积), t(时间), z(酶活性, kat), t(摄氏温度, °C), D(吸收剂量, Gy), A(放射性活度, Bq), ρ(密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L), φ(体积分数, mL/L), w(质量分数, mg/g), b(质量摩尔浓度, mol/g), l(长度), b(宽度), h(高度), d(厚度), R(半径), D(直径), T<sub>max</sub>, C<sub>max</sub>, Vd, T<sub>1/2</sub> CI等. 基因符号通常用小写斜体, 如ras, c-myc; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.

## 慢性乙型肝炎抗病毒免疫治疗的新策略

周佩, 钟晓祝, 廖慧华

### ■背景资料

慢性乙型病毒性肝炎, 不仅严重危害人类健康, 同时也造成了严重的经济负担。目前已有的常规治疗方法存在一定的局限性, 因此亟需能持续有效治疗慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)的方法。

周佩, 钟晓祝, 廖慧华, 南方医科大学珠江医院感染科 广东省广州市 510280

作者贡献分布: 本文综述由周佩完成; 钟晓祝与廖慧华审校。

通讯作者: 钟晓祝, 教授, 主任医师, 510280, 广东省广州市工业大道中253号, 南方医科大学珠江医院感染科。  
569418126@qq.com  
电话: 020-61643599

收稿日期: 2016-03-06  
修回日期: 2016-03-20  
接受日期: 2016-03-29  
在线出版日期: 2016-04-28

### New immunotherapy strategies for antiviral treatment of chronic hepatitis B

Pei Zhou, Xiao-Zhu Zhong, Hui-Hua Liao

Pei Zhou, Xiao-Zhu Zhong, Hui-Hua Liao, Department of Infectious Diseases, Zhujiang Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510280, Guangdong Province, China

Correspondence to: Xiao-Zhu Zhong, Professor, Chief Physician, Department of Infectious Diseases, Zhujiang Hospital of Southern Medical University, 253 Gongye Road, Guangzhou 510280, Guangdong Province, China. 569418126@qq.com

Received: 2016-03-06  
Revised: 2016-03-20  
Accepted: 2016-03-29  
Published online: 2016-04-28

### Abstract

At present, chronic hepatitis B (CHB) is treated with nucleoside analogues and interferon- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ), which can achieve good clinical effects, but cannot completely cure CHB. Main

reasons are the immune tolerance or immune failure in the body's immune system, and the persistence of covalently closed circular DNA (cccDNA) in HBV infected hepatocytes. Therefore, the development of antiviral drugs which can completely eliminate cccDNA and of immunotherapy strategies to break the immune tolerance and reactivate the immune system is of clinical significance for curing CHB. This review focuses on recent progress in research of immune therapeutic strategies for CHB, such as lymphotoxin  $\beta$  receptor (LT- $\beta$ R) agonists, therapeutic vaccines, Toll-like receptor (TLR) agonists, programmed death 1 (PD-1) blockade, genetically engineered T cells, interleukin (IL)-12 and so on.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Chronic hepatitis B; Covalently closed circular DNA; Immunotherapy

Zhou P, Zhong XZ, Liao HH. New immunotherapy strategies for antiviral treatment of chronic hepatitis B. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(12): 1832-1839  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1832.aspx>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i12.1832>

### 摘要

目前治疗慢性乙型肝炎的主要方法为核苷(酸)类似物和干扰素 $\alpha$ (interferon- $\alpha$ , IFN- $\alpha$ ), 虽已获得良好的临床疗效, 却仍不能完全治愈慢性乙型肝炎, 主要原因在于: (1)机体的免疫系统发生免疫失能或者免疫耐受; (2)被感染肝细胞内稳定存在乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)共价闭合环状DNA(covalently closed circular DNA,

■同行评议者  
伦永志, 副教授,  
大连大学医学院



cccDNA)。因此研制出可彻底清除机体内cccDNA的药物, 以及通过免疫治疗策略的研究, 突破机体免疫耐受, 重新激活免疫系统, 对于控制HBV感染都具有非常重要的意义。本文将就目前最为热门的免疫治疗策略: 包括淋巴毒素 $\beta$ 受体(lymphotoxin  $\beta$  receptor, LT- $\beta$ R)激动剂、治疗性疫苗、Toll样受体(Toll-like receptors, TLR)激动剂、程序性死亡受体1(programmed death 1, PD-1)阻断剂、重定向T细胞以及白介素(interleukin, IL)-12等免疫治疗方法作一综述。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 慢性乙型肝炎; 共价闭合环状DNA; 免疫治疗

**核心提示:** 随着对慢性乙型肝炎感染免疫机制逐步深入, 通过免疫刺激和免疫调节策略, 可以促进或恢复因机体免疫应答缺陷, 打破免疫耐受, 重建机体免疫, 有望最终达到有效控制慢性乙型肝炎的目的。

周佩, 钟晓祝, 廖慧华. 慢性乙型肝炎抗病毒免疫治疗新策略. 世界华人消化杂志 2016; 24(12): 1832-1839 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1832.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i12.1832>

## 0 引言

乙型病毒性肝炎(hepatitis B)是由乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)引起的严重危害人类健康的传染性疾病之一。世界范围内约有接近1/3的国家暴露于HBV<sup>[1]</sup>, 其中90%-95%的HBV急性感染患者能够自愈, 仅5%-10%的患者进展为慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)。根据世界卫生组织(World Health Organization, WHO)最新的数据表明, 全球约有2.4亿CHB患者, 其中15%-25%的患者由于未能得到治疗而发展成肝硬化和肝癌, 每年约有78万患者因为乙型肝炎相关性疾病而死亡<sup>[2,3]</sup>。目前针对CHB的治疗方法主要包括两种: 核苷(酸)类似物和干扰素 $\alpha$ (interferon- $\alpha$ , IFN- $\alpha$ )。核苷(酸)类似物能有效恢复肝功能和降低HBV复制, 但长期使用却存在耐药的风险。IFN- $\alpha$ 由于不良反应多, 且常受患者年龄和HBV DNA载量等多种因素限制而临床使用受限。由于尚未研制出能彻底阻断共价闭合环状DNA(covalently closed circular DNA, cccDNA)复制转录的方法, 不

能彻底将HBV从机体清除, 不能达到真正治愈CHB的目标<sup>[4]</sup>。因此亟需能够持续有效治疗CHB的方法。由于CHB患者体内免疫耐受以及免疫系统失能, 都与HBV持续感染关联密切, 近年来, 聚焦于CHB的免疫治疗策略也日益增多, 尽管多数仍处于临床前期研究和/或临床试验阶段, 但都将有望提高CHB的临床疗效并彻底治愈CHB。

## 1 CHB患者免疫状况

随着针对CHB发病机制和免疫机制研究的逐步深入, 研究者发现被感染肝细胞内稳定存在的cccDNA, 是CHB的形成的必备因素。当HBV的松弛环状双链DNA(relaxed circular DNA, rcDNA)分子进入宿主细胞核时, 在DNA聚合酶的作用下, 形成超螺旋的cccDNA<sup>[5,6]</sup>。尽管cccDNA含量较少, 但由于其存在于宿主细胞核内, 能保护病毒避免受到机体固有免疫的攻击, 有利促进了HBV复制以及感染形成。因此清除cccDNA或者抑制其转录复制, 对治疗HBV感染非常重要。

虽然CHB形成的免疫机制尚未完全阐明, 但研究者已经发现HBV诱导的特异性T细胞免疫应答能够显著抑制CHB患者体内cccDNA转录<sup>[7,8]</sup>。在HBV急性感染初期阶段, 正是机体T细胞免疫应答产生的多种细胞因子抑制cccDNA转录复制, 促使绝大多数患者清除HBV而自愈。随后有研究者<sup>[9]</sup>发现, 在T细胞免疫应答过程中以细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic lymphocyte, CTL)起主要病毒清除作用, CTL不仅能直接诱导被感染肝细胞凋亡, 也可分泌IFN- $\gamma$ 抑制细胞内HBV基因表达和转录<sup>[8]</sup>。但在CHB患者体内, 在持续HBsAg刺激下, 机体对HBV发生免疫耐受, 导致HBV特异性T细胞免疫应答减弱, 主要表现为抗原呈递细胞数量减少和呈递功能下降, 特异性T细胞增殖分化减少、功能缺如, 甚至凋亡增加, 进而免疫细胞分泌细胞因子功能下降, 这都直接导致机体对cccDNA的抑制能力下降<sup>[8-10]</sup>。

## 2 CHB免疫治疗的主要机制

随着对HBV慢性感染免疫机制逐步深入, 有研究者<sup>[7]</sup>认为, 通过免疫刺激和免疫调节策略, 或许可以促进或恢复因HBV慢性感染引起的免疫失能, 打破免疫耐受, 重建机体免疫,

## ■ 研究前沿

CHB的常规治疗方法, 临床疗效不尽人意。本文聚焦于最新的免疫治疗策略, 不仅总结各种新的免疫治疗手段, 同时也可以从免疫治疗的角度寻找突破口, 希望提高CHB临床疗效并将其彻底治愈。

## ■ 相关报道

有研究者已提出CHB免疫机制以及相关免疫治疗方法, 主要包括过继性免疫治疗和细胞免疫治疗, 但目前的免疫治疗策略热点, 如淋巴毒素 $\beta$ 受体(lymphotoxin  $\beta$  receptor, LT- $\beta$ R)激动剂、Toll样受体(Toll-like receptors, TLR)激动剂、程序性死亡受体1(programmed death 1, PD-1)阻断剂以及重定向T细胞等尚未进行系统综述。

以期望达到有效控制cccDNA复制转录的目的; 而在运用免疫治疗策略前, 先降低病毒水平, 或许也会提高免疫治疗的疗效。而目前的免疫策略热点主要有以下三个机制: (1)直接抑制cccDNA, 降低其水平, 达到控制CHB的治疗效果, 例如淋巴毒素 $\beta$ 受体(lymphotoxin  $\beta$  receptor, LT- $\beta$ R)激动剂; (2)促进机体的固有免疫应答, 或减弱固有免疫与适应性免疫之间的抑制性信号联系, 避免适应性免疫应答失能以起到抗病毒效应, 主要包括Toll样受体(Toll-like receptors, TLR)-7/8激动剂、自然杀伤(nature killer, NK)T细胞等; (3)提高CHB患者的适应性免疫应答, 促进体液免疫和细胞免疫, 抑制HBV复制<sup>[8,11]</sup>, 主要有治疗性疫苗、重定向T细胞、程序性死亡受体1(programmed death 1, PD-1)阻断剂、白介素(interleukin, IL)-12等。

### 3 CHB免疫治疗新策略

**3.1 LT- $\beta$ R激动剂** LT- $\beta$ R是肿瘤坏死因子受体超家族(tumour necrosis factor receptor, TNFR)的成员之一, 其研究现多见于肿瘤的免疫治疗。在CHB患者体内LT- $\beta$ R及其配体LT- $\beta$ 往往表达上调<sup>[12]</sup>。有研究<sup>[13]</sup>发现, IFN- $\alpha$ 的使用可以促进LT- $\beta$ R的激活, 进而促进特定蛋白质APOBEC3(又称为CEM15蛋白)表达上调, 从而调节并直接抑制cccDNA转录。APOBEC3蛋白是一种胞嘧啶脱氨酶, 广泛存在于被感染肝细胞内, 能在DNA复制过程中将胞嘧啶脱氨基变成尿嘧啶, 阻断cccDNA转录复制, 从而显示出强大的抗病毒效应。随着LT- $\beta$ R激动剂, 即抗LT- $\beta$ R单克隆抗体的研制, 有研究者将LT- $\beta$ R激动剂注射入HBV感染小鼠模型后发现, 小鼠肝细胞内cccDNA、转录RNA以及血清HBV DNA水平显著降低, 且不良反应小<sup>[13]</sup>。可见LT- $\beta$ R激动剂具有良好清除cccDNA的作用, 有望成为彻底治愈CHB的免疫治疗新方法, 但由于目前尚未进行人体试验, 在人体是否具有相同效果有待进一步研究。

**3.2 NK T细胞** NK T细胞, 作为一种极其重要的固有免疫细胞, 其免疫活性较T细胞小, 但却具有极强的杀伤能力。多种研究已证实NK T细胞主要通过溶解细胞、分泌细胞因子等途径抑制肝内HBV复制<sup>[14,15]</sup>。在抗病毒的同时, NK T细胞也会通过分泌细胞因子, 如IL-4诱导体

液免疫应答, 以及IFN- $\gamma$ 和IL-12促进细胞免疫应答。同HBV特异性T细胞一样, 在CHB患者体内也存在NK T细胞免疫功能下降的情况<sup>[16]</sup>, 其分泌细胞因子能力降低, 同时抑制性分子Tim-3的表达上调, 都将导致T细胞免疫功能抑制<sup>[17,18]</sup>。经研究<sup>[19,20]</sup>发现, IL-10以及转化生长因子 $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )能明显促进NK T细胞分泌细胞因子, 而NK T细胞抑制性分子表达上调则可以通过抑制性受体NKG2A来降低, 通过这些途径, 都能明显改善NK T细胞的免疫效应, 同时也提供了清除HBV的新免疫策略思路。

但新近的研究也提示, NK T细胞同HBV特异性T细胞信号联系时, NK T细胞通过肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体受体2(tumor necrosis factor related apoptosis ligand-receptor 2, TRAIL-R2)途径, 明显抑制了CD8<sup>+</sup>T细胞的活性<sup>[21]</sup>。同时在另一项通过慢性淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒(lymphocytic choriomeningitis virus, LCMV)感染的小鼠模型研究试验中, 也有类似的结论, 即当小鼠体内NK T细胞数量较低时, 其体内CD8<sup>+</sup>细胞数量则会显著增加, 同时血清病毒水平也会相应降低<sup>[22]</sup>。因此选择性地阻断NK T细胞同T细胞两者之间的抑制性信号联系, 或许可改善T细胞耗竭的状态。但由于具体机制尚未阐明, 同时缺乏可靠的人体试验来证实这种方法是有效的, 因此还暂不能应用于临床治疗。

**3.3 TLR-7/8激动剂** TLR是一类主要参与固有免疫的重要蛋白质分子, 同时也是连接固有免疫与适应性免疫的桥梁。主要通过识别不同的病原相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMP)来活化机体的免疫应答。TLR被激活后, 主要通过细胞内途径产生IFN等细胞因子以达到抗病毒的目的<sup>[23,24]</sup>。因此人工提取或制备TLR激动剂可能成为有效治疗CHB的免疫策略<sup>[25]</sup>。

目前研究较为成熟的TLR激动剂主要有TLR-7/8激动剂。在一项HBV持续感染小鼠模型试验中, 研究者将由TLR激动剂ssRNA和Hbx表达抑制的shRNA组成的试剂注射入HBV感染小鼠模型, 发现能够显著改善被感染肝细胞对HBV的免疫耐受, 并清除病毒<sup>[26]</sup>。另一类口服的TLR激动剂为小分子的GS-9620, 为一种蛋白质, 目前已有研究将其用于以土

拨鼠和黑猩猩为模型的动物试验, 观察其抗病毒疗效. 在以黑猩猩为模型的研究试验中, 研究者发现GS-9620不同口服剂量导致血清中IFN- $\alpha$ 增加含量不同, 但都可表现为血清以及肝内HBV DNA水平不同程度降低, 血清中HBsAg和HBeAg数量相应减少<sup>[27]</sup>. 在以被感染土拨鼠肝炎病毒(woodchuck hepatitis virus, WHV)的土拨鼠动物模型试验中, 研究者也观察到慢性WHV感染动物口服GS-9620后, 其体内CD8<sup>+</sup> T细胞、B细胞和NK细胞数量都增多, WHV DNA和WHsAg显著降低, 并产生WHs抗体<sup>[28]</sup>. 在IB期临床试验中已经证实GS-9620具有安全、有效的抗病毒疗效<sup>[29]</sup>.

其他TLR激动剂, 例如TLR-8配体ssRNA40<sup>[30]</sup>和TLR-3激动剂PolyI:C<sup>[31]</sup>, 不论在体内和体外试验中都能发挥抗病毒效应; 而TLR-4和TLR-9激动剂能够作为免疫佐剂并用于志愿者提高其免疫力<sup>[32]</sup>. 可见多种TLR激动剂都可用于CHB治疗. 但目前最大的困难在于CHB患者固有免疫应答的损伤, 导致TLR减少和TLR信号分子途径减弱, 从而限制了TLR的临床应用前景. 因此还需要更进一步研究来解决这些问题.

**3.4 治疗性疫苗** 治疗性乙型肝炎疫苗主要包括DNA疫苗、蛋白疫苗、多肽疫苗以及树突状细胞(dendritic cells, DCs)疫苗. 其机制为治疗性乙型肝炎疫苗能有效促进适应性免疫应答功能, 通过突破机体免疫耐受并重建机体免疫应答, 促使CHB患者体内产生中和抗体并改善HBV特异性T细胞免疫应答. 治疗性乙型肝炎疫苗虽尚在研究之中, 还不能投入临床使用, 但通过长期大量的研究和临床试验观察, 有望成为治疗CHB的免疫治疗主力军.

**3.4.1 DNA疫苗:** DNA疫苗是基因治疗的一种, 又可称为基因疫苗. 主要通过克隆HBV相关基因, 重组制成疫苗, 可表达特定的HBV蛋白, 诱导促进机体免疫应答. 现阶段已研制出能够表达HBc抗体的DNA疫苗, 通过诱导促进CD8<sup>+</sup> T细胞免疫应答, 发挥抗病毒效应. 在以土拨鼠为模型的试验中, 研究者将能表达WHV核心抗体的疫苗联合抗病毒药物治疗WHV慢性感染土拨鼠, 发现能有效控制病毒复制, 但不足以治愈慢性感染者. 同时, 也有研究者制备出融合Pre-S1/Pre-S2/S基因的动物源性DNA疫苗, 其表达的HBsAg体现出高免疫原性<sup>[33]</sup>. 与

传统的重组酵母乙型肝炎疫苗相比较, 这种疫苗能够避开T细胞凋亡的免疫途径, 并消除机体对普通HBsAg的免疫耐受, 在注射小剂量的这类疫苗后, 能高效促进机体产生HBsAb. 通过对越南一项DNA疫苗治疗CHB患者的临床试验数据分析研究, 提示此类DNA疫苗除了具有预防HBV感染的作用, 更有可能应用于治疗CHB. 该项研究对CHB患者隔月重复注射此类DNA疫苗, 并联合拉米夫定抗病毒治疗, 在结束疗程后, 可发现患者体内不仅HBV水平显著降低, 而且约有50%的患者同时出现HBsAg血清学转换<sup>[33]</sup>. 尽管DNA疫苗的临床前景极其可观, 但由于尚未进入临床应用, 仍需要大量实验研究和临床试验来证实其有效性.

**3.4.2 蛋白疫苗:** 蛋白类疫苗是指将HBV相关蛋白制成治疗性疫苗, 并提高其免疫原性. 目前包括重组HBsAg疫苗, HBeAg与HBsAg联合疫苗等. 最初有研究者将现有的预防性HBsAg疫苗直接注射于患者体内, 发现可引发特异但短暂的抗病毒免疫效应<sup>[34]</sup>. 此外尚有将HBsAg和HBeAg联合制备的疫苗(NASVAC), 经临床前小鼠试验表明, 能显著提高小鼠体内HBsAb和HBcAb含量, 并能诱导HBV特异性CTL的活化<sup>[35]</sup>. 目前较为成熟的疫苗是HBsAg-HBsAb联合制成的疫苗(YIC), 除了能够促进T细胞免疫应答, 通过细胞因子的分泌增加, 使血清HBsAg水平降低<sup>[36]</sup>; 同时还能促进DCs表面HLA-II、CD80、CD86以及CD40等表达上调, 并促进DCs对T细胞的激活<sup>[37]</sup>. 在其II B期临床试验中, 分别设置了30  $\mu$ g YIC治疗组、60  $\mu$ g YIC治疗组以及安慰剂组, 共给予6次相对应剂型的YIC和安慰剂, 治疗24 wk后, 发现YIC可促使HBeAg阳性患者的HBeAg转阴, 并且有部分患者产生HBsAb, HBV DNA水平也有显著下降, 其中以60  $\mu$ g YIC效果为优<sup>[38]</sup>. 在III期临床试验中, 治疗组共有HBeAg阳性患者335例, 共接受60  $\mu$ g YIC治疗12次, 对照组则为115例患者, 接受铝佐剂肌肉注射. 与II B期临床试验相比较, III期临床试验治疗24 wk结束疗程后, 统计得出治疗组的HBeAg血清学转换率为14%(II B期临床试验治疗组为21.8%), 对照组为21.9%(II B期临床试验对照组为9%)<sup>[39]</sup>. 研究者通过对II B和III期临床试验分析后, 认为过度注射YIC会降低其疗效, 而铝佐剂因其激活炎症反应和固有免疫反应, 具有促进免疫

#### 创新盘点

本文从CHB免疫现状以及免疫治疗机制出发, 从不同角度解说最新的免疫治疗策略热点, 并对其逐一进行简述, 以此引发大家对CHB免疫治疗策略的思考.



### 应用要点

本文较详细解说了目前针对CHB的免疫治疗策略热点, 希望能促进大家对免疫治疗的认识, 从免疫治疗的角度来寻求突破口, 为彻底治愈CHB积累经验。

应答的效果。

**3.4.3 多肽疫苗:** 多肽疫苗, 是指通过化学合成技术, 以病原体抗原基因中某段已知或预测的抗原表位的氨基酸序列为基础制备的疫苗。T细胞表位肽疫苗则是根据上述原理, 将破伤风类毒素Th表位(TT830-843)、HBV特异性CTL表位(HBcI8-27)以及N端2棕榈酸分子共价结合而研制成的一种肽类疫苗, 虽免疫原性不强, 却能根据特定表位诱导出特异性CTL。通过临床试验数据分析可发现, T细胞表位肽疫苗虽然能促使74%健康受试者产生特异性CTL, 却只能促使45%的CHB患者产生特异性CTL<sup>[34]</sup>。原因在于T细胞表位具有高度多态性, 难以制备具有较强针对性的疫苗。因此多肽疫苗是否具有抗HBV疗效还需要更进一步考究。

**3.4.4 DCs疫苗:** 在CHB患者体内往往都存在DCs抗原呈递功能减弱, 而正是这种原因极易导致患者转变为HBV慢性携带状态。因此利用DCs强大的免疫功能进行主动免疫治疗很可能成为治疗CHB的免疫治疗手段之一。随着体外培养扩增技术的成熟, 在体外将DCs与HBsAg共孵育致敏, 负载HBV相关抗原, 回输患者体内后, 可显著提高患者体内免疫应答, 但较适合年轻和感染时间较短的患者<sup>[40]</sup>。此外有研究证实, 将融合HBV HBcAg的病毒载体(LV-Ub-HBcAg)转导入DCs制备成DCs疫苗, 注射入转基因乙型肝炎小鼠后, 可促进小鼠体内细胞因子IL-2和IFN- $\gamma$ 产生, 促进抗HBV抗体的产生, 最显著的是促进特异性CTL免疫应答<sup>[41]</sup>。国内吴文治等<sup>[42]</sup>也通过基因重组技术, 将负载pcDNA3.1-S-ecdCD40L的质粒转染小鼠, 经转染成功后, 发现能显著刺激小鼠体内DCs共刺激分子CD80和CD86、MHC II的表达, 其抗原呈递功能也明显增强, 诱导特异性T细胞增殖, 提高免疫应答。这些研究都为DCs疫苗的临床应用提供了科学依据。

**3.5 重定向T细胞** 重定向T细胞, 是指经HLA-A2限制性表位特异性T细胞抗原受体(T cell receptor, TCR)成功转导的T细胞, 在接受肽类表位信号刺激后, 能分泌多种细胞因子, 包括IFN- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 以及IL-12<sup>[43]</sup>。有研究者根据此原理, 将编码抗HBV TCR的基因成功嵌入原代T细胞基因组, 制备抗HBV重定向T细胞, 该类T细胞能持续24 h表达目的TCR, 并促进细胞因子的分泌<sup>[43]</sup>, 目前这些技术多见于对肿瘤免疫

治疗的研究。在一项CHB患者自体回输T细胞的试验中, 研究者在体外将能编码HBsAg特异性TCR基因片段嵌入原代T细胞, 充分扩增培育后, 回输致患者体内, 发现患者外周血T细胞趋化因子Rantes和IL-8含量增加, 均可调节T细胞的增殖分化, 促进其免疫应答, 并显著降低HBsAg水平<sup>[44]</sup>。此外, 一些人工嵌合的TCR, 例如具有胞外HBsAg结合活性的TCR(S-CAR), 能促进T细胞识别HBsAg阳性肝细胞, 通过分泌IFN- $\gamma$ 和IL-2, 溶解胞内HBV复制的肝细胞, 也可溶解胞内cccDNA阳性的肝细胞<sup>[45]</sup>。重定向T细胞免疫治疗虽极具前景, 但仍需进一步研究以探究其疗效。

**3.6 PD-1阻断剂** 在CHB患者体内, 单核细胞表面的PD-1常表达上调, 通过PD-1/PD-L1抑制性途径, 不仅抑制HBV特异性CD8<sup>+</sup> T细胞免疫功能, 甚至促使其凋亡<sup>[46]</sup>。通过对HBV慢性感染免疫机制的深入研究发现, HBV特异性CD8<sup>+</sup> T细胞的免疫功能缺失与HBV慢性感染密切相关。因此选择性阻断PD-1/PD-L1途径, 或许能恢复机体的免疫失能。目前研制的PD-1阻断剂为PD-1单克隆抗体, 对CHB的治疗尚处于动物实验阶段。通过将PD-1阻断剂注射入HBV感染小鼠模型阻断PD-1/PD-L1途径, 可发现小鼠肝脏内T细胞数量显著增加, 同时外周HBV水平显著下降<sup>[47]</sup>。有研究团队将PD-1阻断剂联合恩替卡韦以及治疗性疫苗(DNA疫苗, 表达WHcAg和WHsAg)共同治疗经WHV感染的土拨鼠, 在治疗24 wk后也得出类似结论, 即受试动物体内特异性T细胞的数目显著增加, 病毒水平降低, 同时WHs抗体产生, 部分受试动物甚至可以彻底清除病毒<sup>[48]</sup>。这都提示了PD-1阻断剂与其他免疫治疗方法联用或许能取得更好的临床疗效, 但尚未进行临床试验。

**3.7 IL-12** 抗原呈递细胞分泌的细胞因子IL-12, 是目前研究较成熟的具有治疗CHB前景的一种细胞因子。在CHB患者体内, IL-12不但能促进T细胞活化, 促进其分泌IFN- $\alpha$ 和IFN- $\gamma$ , 还能下调PD-1表达, 具有良好的抗病毒效果<sup>[49]</sup>。在一个小规模临床试验中, 将IL-12与拉米夫定联用治疗HBeAg阳性患者, 研究者<sup>[50]</sup>发现IL-12不仅能促进HBV特异性T细胞免疫应答, 同时迅速降低患者HBV DNA水平。但单独运用IL-12治疗CHB患者时疗效并不佳, 不能有效降低病毒水平。此外, 有研究者将IL-12联合HBsAg疫

苗联合治疗HBV感染小鼠模型,发现不仅能促使小鼠消除对HBsAg的免疫耐受,还能促进HBs抗体的产生,其机制可能为IL-12促进CD4<sup>+</sup>T细胞免疫应答,而HBsAg疫苗却只能促进CD8<sup>+</sup>T细胞免疫应答,两者联合则可改变T细胞应答方向并增强免疫效应<sup>[51]</sup>。

#### 4 结论

随着我们对CHB发病机制和免疫耐受机制的深入认识,已有的和正在研究的临床抗病毒治疗策略也逐渐增多,其中CHB免疫治疗策略也得到急剧发展。但由于CHB的发生机制以及免疫机制极为复杂,尚未完全透彻,目前的临床疗效也不尽人意。正是因为如此,需要继续对CHB进行免疫基础和临床疗效进行双重研究,从免疫治疗的角度寻找突破口,发展更合适临床使用的CHB抗病毒免疫治疗新策略,以期最终能够彻底治愈CHB。

#### 5 参考文献

- Ott JJ, Stevens GA, Groeger J, Wiersma ST. Global epidemiology of hepatitis B virus infection: new estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity. *Vaccine* 2012; 30: 2212-2219 [PMID: 22273662 DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.12.116]
- Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V, Abraham J, Adair T, Aggarwal R, Ahn SY, Alvarado M, Anderson HR, Anderson LM, Andrews KG, Atkinson C, Baddour LM, Barker-Collo S, Bartels DH, Bell ML, Benjamin EJ, Bennett D, Bhalla K, Bikbov B, Bin Abdulhak A, Birbeck G, Blyth F, Bolliger I, Boufous S, Bucello C, Burch M, Burney P, Carapetis J, Chen H, Chou D, Chugh SS, Coffeng LE, Colan SD, Colquhoun S, Colson KE, Condon J, Connor MD, Cooper LT, Corriere M, Cortinovis M, de Vaccaro KC, Couser W, Cowie BC, Cripps MH, Cross M, Dabhadkar KC, Dahodwala N, De Leo D, Degenhardt L, Delossantos A, Denenberg J, Des Jarlais DC, Dharmaratne SD, Dorsey ER, Driscoll T, Duber H, Ebel B, Erwin PJ, Espindola P, Ezzati M, Feigin V, Flaxman AD, Forouzanfar MH, Fowkes FG, Franklin R, Fransen M, Freeman MK, Gabriel SE, Gakidou E, Gaspari F, Gillum RF, Gonzalez-Medina D, Halasa YA, Haring D, Harrison JE, Havmoeller R, Hay RJ, Hoen B, Hotez PJ, Hoy D, Jacobsen KH, James SL, Jasrasaria R, Jayaraman S, Johns N, Karthikeyan G, Kassebaum N, Keren A, Khoo JP, Knowlton LM, Kobusingye O, Koranteng A, Krishnamurthi R, Lipnick M, Lipshultz SE, Ohno SL, Mabweijano J, MacIntyre MF, Mallinger L, March L, Marks GB, Marks R, Matsumori A, Matzopoulos R, Mayosi BM, McAnulty JH, McDermott MM, McGrath J, Mensah GA, Merriman TR, Michaud C, Miller M, Miller TR, Mock C, Mocumbi AO, Mokdad AA, Moran A, Mulholland K, Nair MN, Naldi L, Narayan KM, Nasseri K, Norman P, O'Donnell M, Omer

- SB, Ortblad K, Osborne R, Ozgediz D, Pahari B, Pandian JD, Rivero AP, Padilla RP, Perez-Ruiz F, Perico N, Phillips D, Pierce K, Pope CA, Porrini E, Pourmalek F, Raju M, Ranganathan D, Rehm JT, Rein DB, Remuzzi G, Rivara FP, Roberts T, De León FR, Rosenfeld LC, Rushton L, Sacco RL, Salomon JA, Sampson U, Sanman E, Schwebel DC, Segui-Gomez M, Shepard DS, Singh D, Singleton J, Sliwa K, Smith E, Steer A, Taylor JA, Thomas B, Tleyjeh IM, Towbin JA, Truelsen T, Undurraga EA, Venketasubramanian N, Vijayakumar L, Vos T, Wagner GR, Wang M, Wang W, Watt K, Weinstock MA, Weintraub R, Wilkinson JD, Woolf AD, Wulf S, Yeh PH, Yip P, Zabetian A, Zheng ZJ, Lopez AD, Murray CJ, AlMazroa MA, Memish ZA. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 2012; 380: 2095-2128 [PMID: 23245604 DOI: 10.1016/S0140-6736(12)61728-0]
- World Health Organization. Hepatitis B. Updated July 2015. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/>
- Bloom K, Ely A, Arbuthnot P. Recent advances in use of gene therapy to treat hepatitis B virus infection. *Adv Exp Med Biol* 2015; 848: 31-49 [PMID: 25757614 DOI: 10.1007/978-1-4939-2432-5\_2]
- Locarnini S, Zoulim F. Molecular genetics of HBV infection. *Antivir Ther* 2010; 15 Suppl 3: 3-14 [PMID: 21041899 DOI: 10.3851/IMP1619]
- Levrero M, Pollicino T, Petersen J, Belloni L, Raimondo G, Dandri M. Control of cccDNA function in hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2009; 51: 581-592 [PMID: 19616338 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.05.022]
- Zhang E, Kosinska A, Lu M, Yan H, Roggendorf M. Current status of immunomodulatory therapy in chronic hepatitis B, fifty years after discovery of the virus: Search for the "magic bullet" to kill cccDNA. *Antiviral Res* 2015; 123: 193-203 [PMID: 26476376 DOI: 10.1016/j.antiviral.2015.10.009]
- Bertoletti A, Ferrari C. Innate and adaptive immune responses in chronic hepatitis B virus infections: towards restoration of immune control of viral infection. *Postgrad Med J* 2013; 89: 294-304 [PMID: 23596257 DOI: 10.1136/postgradmedj-2011-301073rep]
- Isogawa M, Tanaka Y. Immunobiology of hepatitis B virus infection. *Hepatol Res* 2015; 45: 179-189 [PMID: 25331910 DOI: 10.1111/hepr.12439]
- Guo JT, Guo H. Metabolism and function of hepatitis B virus cccDNA: Implications for the development of cccDNA-targeting antiviral therapeutics. *Antiviral Res* 2015; 122: 91-100 [PMID: 26272257 DOI: 10.1016/j.antiviral.2015.08.005]
- Franzese O, Kennedy PT, Gehring AJ, Gotto J, Williams R, Maini MK, Bertoletti A. Modulation of the CD8<sup>+</sup>-T-cell response by CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> regulatory T cells in patients with hepatitis B virus infection. *J Virol* 2005; 79: 3322-3328 [PMID: 15731226]
- Haybaeck J, Zeller N, Wolf MJ, Weber A, Wagner U, Kurrer MO, Bremer J, Iezzi G, Graf R, Clavien PA, Thimme R, Blum H, Nedospasov SA, Zatloukal K, Ramzan M, Ciesek S, Pietschmann T, Marche PN, Karin M, Kopf M, Browning JL, Aguzzi A, Heikenwalder M. A lymphotoxin-driven

#### 同行评价

本文对治疗HBV感染的免疫治疗策略:如LT-βR激动剂、治疗性疫苗、TLR激动剂、PD-1阻断剂以及重定向T细胞等多方面进行综述和讨论。较为全面的总结了近几年相关领域的研究进展,对HBV感染的免疫治疗有一定的参考意义。

- pathway to hepatocellular carcinoma. *Cancer Cell* 2009; 16: 295-308 [PMID: 19800575 DOI: 10.1016/j.ccr.2009.08.021]
- 13 Lucifora J, Xia Y, Reisinger F, Zhang K, Stadler D, Cheng X, Sprinzl MF, Koppensteiner H, Makowska Z, Volz T, Remouchamps C, Chou WM, Thasler WE, Hüser N, Durantel D, Liang TJ, Münk C, Heim MH, Browning JL, Dejardin E, Dandri M, Schindler M, Heikenwalder M, Protzer U. Specific and nonhepatotoxic degradation of nuclear hepatitis B virus cccDNA. *Science* 2014; 343: 1221-1228 [PMID: 24557838 DOI: 10.1126/science.1243462]
  - 14 Wu SF, Wang WJ, Gao YQ. Natural killer cells in hepatitis B virus infection. *Braz J Infect Dis* 2015; 19: 417-425 [PMID: 26119852 DOI: 10.1016/j.bjid.2015.05.006]
  - 15 Rehmann B. Pathogenesis of chronic viral hepatitis: differential roles of T cells and NK cells. *Nat Med* 2013; 19: 859-868 [PMID: 23836236 DOI: 10.1038/nm.3251]
  - 16 Sun C, Sun H, Zhang C, Tian Z. NK cell receptor imbalance and NK cell dysfunction in HBV infection and hepatocellular carcinoma. *Cell Mol Immunol* 2015; 12: 292-302 [PMID: 25308752 DOI: 10.1038/cmi.2014.91]
  - 17 Li Y, Wang JJ, Gao S, Liu Q, Bai J, Zhao XQ, Hao YH, Ding HH, Zhu F, Yang DL, Zhao XP. Decreased peripheral natural killer cells activity in the immune activated stage of chronic hepatitis B. *PLoS One* 2014; 9: e86927 [PMID: 24520324 DOI: 10.1371/journal.pone.0086927]
  - 18 Ju Y, Hou N, Meng J, Wang X, Zhang X, Zhao D, Liu Y, Zhu F, Zhang L, Sun W, Liang X, Gao L, Ma C. T cell immunoglobulin- and mucin-domain-containing molecule-3 (Tim-3) mediates natural killer cell suppression in chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2010; 52: 322-329 [PMID: 20133006 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.12.005]
  - 19 Peppas D, Micco L, Javaid A, Kennedy PT, Schurich A, Dunn C, Pallant C, Ellis G, Khanna P, Dusheiko G, Gilson RJ, Maini MK. Blockade of immunosuppressive cytokines restores NK cell antiviral function in chronic hepatitis B virus infection. *PLoS Pathog* 2010; 6: e1001227 [PMID: 21187913 DOI: 10.1371/journal.ppat.1001227]
  - 20 Li F, Wei H, Wei H, Gao Y, Xu L, Yin W, Sun R, Tian Z. Blocking the natural killer cell inhibitory receptor NKG2A increases activity of human natural killer cells and clears hepatitis B virus infection in mice. *Gastroenterology* 2013; 144: 392-401 [PMID: 23103614 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.10.039]
  - 21 Peppas D, Gill US, Reynolds G, Easom NJ, Pallett LJ, Schurich A, Micco L, Nebbia G, Singh HD, Adams DH, Kennedy PT, Maini MK. Up-regulation of a death receptor renders antiviral T cells susceptible to NK cell-mediated deletion. *J Exp Med* 2013; 210: 99-114 [PMID: 23254287 DOI: 10.1084/jem.20121172]
  - 22 Cook KD, Whitmire JK. The depletion of NK cells prevents T cell exhaustion to efficiently control disseminating virus infection. *J Immunol* 2013; 190: 641-649 [PMID: 23241878 DOI: 10.4049/jimmunol.1202448]
  - 23 Seki E, Brenner DA. Toll-like receptors and adaptor molecules in liver disease: update. *Hepatology* 2008; 48: 322-335 [PMID: 18506843 DOI: 10.1002/hep.22306]
  - 24 Schwabe RF, Seki E, Brenner DA. Toll-like receptor signaling in the liver. *Gastroenterology* 2006; 130: 1886-1900 [PMID: 16697751]
  - 25 Ma Z, Zhang E, Yang D, Lu M. Contribution of Toll-like receptors to the control of hepatitis B virus infection by initiating antiviral innate responses and promoting specific adaptive immune responses. *Cell Mol Immunol* 2015; 12: 273-282 [PMID: 25418467 DOI: 10.1038/cmi.2014.112]
  - 26 Lan P, Zhang C, Han Q, Zhang J, Tian Z. Therapeutic recovery of hepatitis B virus (HBV)-induced hepatocyte-intrinsic immune defect reverses systemic adaptive immune tolerance. *Hepatology* 2013; 58: 73-85 [PMID: 23447417 DOI: 10.1002/hep.26339]
  - 27 Lanford RE, Guerra B, Chavez D, Giavedoni L, Hodara VL, Brasky KM, Fosdick A, Frey CR, Zheng J, Wolfgang G, Halcomb RL, Tumas DB. GS-9620, an oral agonist of Toll-like receptor-7, induces prolonged suppression of hepatitis B virus in chronically infected chimpanzees. *Gastroenterology* 2013; 144: 1508-1517, 1517.e1-e10 [PMID: 23415804 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.02.003]
  - 28 Menne S, Tumas DB, Liu KH, Thampi L, AlDeghaither D, Baldwin BH, Bellezza CA, Cote PJ, Zheng J, Halcomb R, Fosdick A, Fletcher SP, Daffis S, Li L, Yue P, Wolfgang GH, Tennant BC. Sustained efficacy and seroconversion with the Toll-like receptor 7 agonist GS-9620 in the Woodchuck model of chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2015; 62: 1237-1245 [PMID: 25559326 DOI: 10.1016/j.jhep.2014.12.026]
  - 29 Gane EJ, Lim YS, Gordon SC, Visvanathan K, Sicard E, Fedorak RN, Roberts S, Massetto B, Ye Z, Pflanz S, Garrison KL, Gaggar A, Mani Subramanian G, McHutchison JG, Kottlil S, Freilich B, Coffin CS, Cheng W, Kim YJ. The oral toll-like receptor-7 agonist GS-9620 in patients with chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2015; 63: 320-328 [PMID: 25733157 DOI: 10.1016/j.jhep.2015.02.037]
  - 30 Jo J, Tan AT, Ussher JE, Sandalova E, Tang XZ, Tan-Garcia A, To N, Hong M, Chia A, Gill US, Kennedy PT, Tan KC, Lee KH, De Libero G, Gehring AJ, Willberg CB, Klenerman P, Bertoletti A. Toll-like receptor 8 agonist and bacteria trigger potent activation of innate immune cells in human liver. *PLoS Pathog* 2014; 10: e1004210 [PMID: 24967632 DOI: 10.1371/journal.ppat.1004210]
  - 31 Wu J, Huang S, Zhao X, Chen M, Lin Y, Xia Y, Sun C, Yang X, Wang J, Guo Y, Song J, Zhang E, Wang B, Zheng X, Schlaak JF, Lu M, Yang D. Poly(I: C) treatment leads to interferon-dependent clearance of hepatitis B virus in a hydrodynamic injection mouse model. *J Virol* 2014; 88: 10421-10431 [PMID: 24920792 DOI: 10.1128/JVI.00996-14]
  - 32 Cooper C, Mackie D. Hepatitis B surface antigen-1018 ISS adjuvant-containing vaccine: a review of HEPLISAV™ safety and efficacy. *Expert Rev Vaccines* 2011; 10: 417-427 [PMID: 21506639 DOI: 10.1586/erv.10.162]
  - 33 Shouval D, Roggendorf H, Roggendorf M. Enhanced immune response to hepatitis B



- vaccination through immunization with a Pre-S1/Pre-S2/S vaccine. *Med Microbiol Immunol* 2015; 204: 57-68 [PMID: 25557605 DOI: 10.1007/s00430-014-0374-x]
- 34 Inchauspé G, Michel ML. Vaccines and immunotherapies against hepatitis B and hepatitis C viruses. *J Viral Hepat* 2007; 14 Suppl 1: 97-103 [PMID: 17958650]
  - 35 Aguilar JC, Lobaina Y, Muzio V, García D, Pentón E, Iglesias E, Pichardo D, Urquiza D, Rodríguez D, Silva D, Petrovsky N, Guillén G. Development of a nasal vaccine for chronic hepatitis B infection that uses the ability of hepatitis B core antigen to stimulate a strong Th1 response against hepatitis B surface antigen. *Immunol Cell Biol* 2004; 82: 539-546 [PMID: 15479440]
  - 36 Zheng BJ, Ng MH, He LF, Yao X, Chan KW, Yuen KY, Wen YM. Therapeutic efficacy of hepatitis B surface antigen-antibodies-recombinant DNA composite in HBsAg transgenic mice. *Vaccine* 2001; 19: 4219-4225 [PMID: 11457548]
  - 37 Zheng BJ, Zhou J, Qu D, Siu KL, Lam TW, Lo HY, Lee SS, Wen YM. Selective functional deficit in dendritic cell-T cell interaction is a crucial mechanism in chronic hepatitis B virus infection. *J Viral Hepat* 2004; 11: 217-224 [PMID: 15117323]
  - 38 Xu DZ, Zhao K, Guo LM, Li LJ, Xie Q, Ren H, Zhang JM, Xu M, Wang HF, Huang WX, Bai XF, Niu JQ, Liu P, Chen XY, Shen XL, Yuan ZH, Wang XY, Wen YM. A randomized controlled phase IIb trial of antigen-antibody immunogenic complex therapeutic vaccine in chronic hepatitis B patients. *PLoS One* 2008; 3: e2565 [PMID: 18596958 DOI: 10.1371/journal.pone.0002565]
  - 39 Xu DZ, Wang XY, Shen XL, Gong GZ, Ren H, Guo LM, Sun AM, Xu M, Li LJ, Guo XH, Zhen Z, Wang HF, Gong HY, Xu C, Jiang N, Pan C, Gong ZJ, Zhang JM, Shang J, Xu J, Xie Q, Wu TF, Huang WX, Li YG, Xu J, Yuan ZH, Wang B, Zhao K, Wen YM. Results of a phase III clinical trial with an HBsAg-HBIG immunogenic complex therapeutic vaccine for chronic hepatitis B patients: experiences and findings. *J Hepatol* 2013; 59: 450-456 [PMID: 23669281 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.05.003]
  - 40 Carotenuto P, Artsen A, Niesters HG, Osterhaus AD, Pontesilli O. In vitro use of autologous dendritic cells improves detection of T cell responses to hepatitis B virus (HBV) antigens. *J Med Virol* 2009; 81: 332-339 [PMID: 19107973 DOI: 10.1002/jmv.21333]
  - 41 Dai S, Zhuo M, Song L, Chen X, Yu Y, Tang Z, Zang G. Dendritic cell-based vaccination with lentiviral vectors encoding ubiquitinated hepatitis B core antigen enhances hepatitis B virus-specific immune responses in vivo. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2015; 47: 870-879 [PMID: 26373843 DOI: 10.1093/abbs/gmv093]
  - 42 吴文治, 徐英, 吴金明, 张欢. HBV S-ecdCD40L治疗性疫苗对乙肝转基因小鼠肝脏中树突状细胞表型和功能的影响. *温州医科大学学报* 2014; 44: 248-251
  - 43 Gehring AJ, Xue SA, Ho ZZ, Teoh D, Ruedl C, Chia A, Koh S, Lim SG, Maini MK, Stauss H, Bertoletti A. Engineering virus-specific T cells that target HBV infected hepatocytes and hepatocellular carcinoma cell lines. *J Hepatol* 2011; 55: 103-110 [PMID: 21145860 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.10.025]
  - 44 Qasim W, Brunetto M, Gehring AJ, Xue SA, Schurich A, Khakpoor A, Zhan H, Ciccorossi P, Gilmour K, Cavallone D, Moriconi F, Farzhenah F, Mazzoni A, Chan L, Morris E, Thrasher A, Maini MK, Bonino F, Stauss H, Bertoletti A. Immunotherapy of HCC metastases with autologous T cell receptor redirected T cells, targeting HBsAg in a liver transplant patient. *J Hepatol* 2015; 62: 486-491 [PMID: 25308176 DOI: 10.1016/j.jhep.2014.10.001]
  - 45 Bohne F, Chmielewski M, Ebert G, Wiegmann K, Kürschner T, Schulze A, Urban S, Krönke M, Abken H, Protzer U. T cells redirected against hepatitis B virus surface proteins eliminate infected hepatocytes. *Gastroenterology* 2008; 134: 239-247 [PMID: 18166356 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.11.002]
  - 46 Zhang WJ, Peng CH, Zheng SS. Programmed death 1 and programmed death ligand 1 expressions in patients with chronic hepatitis B. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2013; 12: 394-399 [PMID: 23924497]
  - 47 Tzeng HT, Tsai HF, Liao HJ, Lin YJ, Chen L, Chen PJ, Hsu PN. PD-1 blockade reverses immune dysfunction and hepatitis B viral persistence in a mouse animal model. *PLoS One* 2012; 7: e39179 [PMID: 22761734 DOI: 10.1371/journal.pone.0039179]
  - 48 Liu J, Zhang E, Ma Z, Wu W, Kosinska A, Zhang X, Möller I, Seiz P, Glebe D, Wang B, Yang D, Lu M, Roggendorf M. Enhancing virus-specific immunity in vivo by combining therapeutic vaccination and PD-L1 blockade in chronic hepadnaviral infection. *PLoS Pathog* 2014; 10: e1003856 [PMID: 24391505 DOI: 10.1371/journal.ppat.1003856]
  - 49 Xiong SQ, Lin BL, Gao X, Tang H, Wu CY. IL-12 promotes HBV-specific central memory CD8+ T cell responses by PBMCs from chronic hepatitis B virus carriers. *Int Immunopharmacol* 2007; 7: 578-587 [PMID: 17386405]
  - 50 Rigopoulou EI, Suri D, Chokshi S, Mullerova I, Rice S, Tedder RS, Williams R, Naoumov NV. Lamivudine plus interleukin-12 combination therapy in chronic hepatitis B: antiviral and immunological activity. *Hepatology* 2005; 42: 1028-1036 [PMID: 16250037]
  - 51 Loirat D, Mancini-Bourguine M, Abastado JP, Michel ML. HBsAg/HLA-A2 transgenic mice: a model for T cell tolerance to hepatitis B surface antigen in chronic hepatitis B virus infection. *Int Immunol* 2003; 15: 1125-1136 [PMID: 13679383]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



## 治疗溃疡性结肠炎药物的最新进展

陈 锋, 严常开

### ■背景资料

随着溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)作为严重影响人们生活质量的疑难病症, 其患者需要长期应用药物, 但目前尚未有特效药上市, 因而治疗UC的药物一直是研究的热点之一。如若能开发一种疗效确切, 长期应用不良反应少且价格便宜的药物, 将会有重要的社会学、经济学意义。

陈锋, 严常开, 湖北中医药大学药学院 湖北省武汉市 430065

严常开, 马应龙药业集团股份有限公司产品开发中心 湖北省武汉市 430064

陈锋, 主要从事溃疡性结肠炎药物的研究。

作者贡献分布: 本文综述由陈锋完成; 严常开审核。

通讯作者: 严常开, 主任药师, 高级工程师, 430064, 湖北省武汉市武昌区南湖周家湾100号, 马应龙药业集团股份有限公司产品开发中心. [yanchangkai@sohu.com](mailto:yanchangkai@sohu.com)

收稿日期: 2015-12-13

修回日期: 2016-01-21

接受日期: 2016-02-02

在线出版日期: 2016-04-28

### Recent progress in drug therapy of ulcerative colitis

Feng Chen, Chang-Kai Yan

Feng Chen, Chang-Kai Yan, College of Pharmacy, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, Hubei Province, China

Chang-Kai Yan, Product Development Center, Mayinglong Pharmaceutical Group Co., Ltd., Wuhan 430064, Hubei Province, China

Correspondence to: Chang-Kai Yan, Chief Pharmacist, Senior Engineer, Product Development Center, Mayinglong Pharmaceutical Group Co., Ltd., 100 Nanhu Zhoujiawan, Wuchang District, Wuhan 430064, Hubei Province, China. [yanchangkai@sohu.com](mailto:yanchangkai@sohu.com)

Received: 2015-12-13

Revised: 2016-01-21

Accepted: 2016-02-02

Published online: 2016-04-28

### Abstract

Ulcerative colitis (UC) is a chronic inflammatory bowel disease of unknown etiology. Current

common medical treatments for UC are mainly composed of anti-inflammatory and immune-regulatory medications, such as aminosalicylic acid and glucocorticoids. New biological agents as well as probiotics have also emerged as recommended drugs for clinical treatment of UC. The advances in research and the rapid development of pharmaceutical technology have resulted in new progress in treatments for UC. This article will review recent progress in drug therapy of ulcerative colitis.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Ulcerative colitis; Drugs; Review

Chen F, Yan CK. Recent progress in drug therapy of ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(12): 1840-1845 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1840.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i12.1840>

### 摘要

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种发病原因及致病机制至今尚未明确的慢性炎症性疾病, 目前治疗UC的药物主要以抗炎、调节免疫为主, 其中氨基水杨酸类(5-aminosalicylic acid, 5-ASA)、糖皮质激素类(glucocorticoid hormones, GCS)等为治疗UC的常用药物, 新型生物制剂以及微生态制剂等也逐渐成为治疗UC的重要药物。随着UC相关研究的逐步深入及制药技术的快速发展, 治疗UC的药物有了新的进展, 本文对治疗UC药物的最新进展作一综述。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

### ■同行评议者

柏愚, 副教授, 副主任医师, 硕士生导师, 中国人民解放军第二军医大学长海医院消化内科; 杜群, 研究员, 广州中医药大学脾胃研究所

**关键词:** 溃疡性结肠炎; 药物; 综述

**核心提示:** 随着溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)相关研究的逐步深入及制药技术的快速发展, 无论是从传统的治疗UC药物基础上发展而来的新一代Mesalamine-MMX、Budesonide-MMX, 还是以Vedolizumab、Etrolizumab、Tofacitinib为代表的新型生物制剂, 在疗效、安全性等方面的成果值得肯定。但此类新型制剂价格昂贵, 临床应用受限。因此生产成本的控制, 将会是其在保证安全与疗效后的研究努力方向。

陈锋, 严常开. 治疗溃疡性结肠炎药物的最新进展. 世界华人消化杂志 2016; 24(12): 1840–1845 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1840.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i12.1840>

## 0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种病变部位主要限于结肠黏膜和黏膜下层的炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD), 临床症状主要为腹痛、腹泻、便血、里急后重等<sup>[1]</sup>。据有关资料显示<sup>[2-4]</sup>: 欧洲、北美地区UC的人群患病率为(19.2-24.3)/10万, 亚洲、中东地区患病率为6.3/10万, 男女均等, 且在最近的几十年里, UC的发病率及患病率都呈明显增高趋势, 尤其是在发展中国家。UC具有易复发、难愈、易癌变等特点, 现已被世界卫生组织列为现代疑难病症之一<sup>[5,6]</sup>。近年来UC的治疗药物研究有较大进展, 如新型的生物制剂<sup>[1,7]</sup>戈利木单抗SIMPONI、维多珠单抗Entyvio(Vedolizumab)、托法替尼(Tofacitinib)等已用于治疗中重度活动期UC, 疗效已获得肯定。同时随着一些新技术的应用, 新药物、新剂型也在不断开发, 下文就治疗UC药物的最新进展综述如下。

## 1 氨基水杨酸类

目前以奥沙拉嗪(Olsalazine)、巴柳氮(Basalazine)、美沙拉嗪(Mesalamine)为代表的氨基水杨酸类(5-aminosalicylic acid, 5-ASA)依然为国内外治疗UC的一线用药<sup>[8]</sup>。此类制剂主要分为口服(胶囊、片剂、颗粒剂)、局部给药(灌肠、泡沫或栓剂)。随着新型制剂技术的广泛应用, 一系列在结肠或回肠定位释放的Mesalamine新型制剂也得到了快速发展。在国

内外, 用于治疗UC的美沙拉嗪缓控释制剂主要包括缓释型如美沙拉嗪肠溶制剂安萨科(Asacol)、时间依赖型如美沙拉嗪肠控释微小微囊皮德斯安(Pentasa)、pH依赖性缓释型如美沙拉嗪肠溶片剂莎尔福(Salofa)等, 其具有疗效更佳, 不良反应更小的优点<sup>[5,9]</sup>。此外2008-11一种1次/d用高浓度美沙拉嗪缓释胶囊(SPD476; Lialda/Mezavant)<sup>[10-12]</sup>已获得美国食品与药品管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准用于UC的治疗, 该制剂运用多基质系统(MMX)技术使活性药物在整个结肠释放, 1次/d给药大大地提高了用药的依从性, 类似药物还有Mesasal和Lpocol等。然此类新型制剂价格相对昂贵, 在国内应用相对较少, 若能适当降低售价, 不失为一种治疗UC的新的一线药物。

## 2 糖皮质激素类

糖皮质激素类(glucocorticoid hormones, GCS)至今仍为治疗UC的经典用药, 控制发作效果尤为显著, 尤其是中、重度和活动期UC病历。传统GCS药物有口服、静脉滴注、灌肠3种给药途径<sup>[13]</sup>。以强的松、地塞米松、甲强龙和氢化可的松等为代表的传统GCS, 不良反应较多且无维持治疗效果, 不宜长期使用因而临床应用受限<sup>[14]</sup>。当前, 一些局部浓度高而全身反应小的新型GCS制剂已成为国外研发的热点。其中, 布地奈德(Budesonide, Uceris)作为一种目前应用最广泛的局部性作用的新型GCS制剂, 其在国外主要还有2种pH敏感型肠溶制剂上市<sup>[15,16]</sup>: Entocort™(AstroZeneca, Wilmington, DE, USA)和Budenofalk(FalkPharma, Germany), Entocort™是用乙基纤维素和EudragitRL100-55包衣的微丸, 当pH>5.5时药物开始释放; Budenofalk则是用EudragitRL包衣制成直径为1 mm的微丸, 药物在pH>6.4时释放, 有利于发挥在回肠、结肠的抗炎作用, 降低全身不良反应。然而, 此类GCS制剂的局部给药虽然解决了激素全身不良反应的问题, 但只适用于脾区以下的远端结肠和直肠病变, 对近侧结肠和小肠病变仍需要全身用药。针对这一问题而研制出的新型口服皮质激素控释制剂(Uceris)使治疗UC的GCS取得了突破性进展。该制剂采用最新的MMX多矩阵系统技术将布地奈德在整个结肠内释放, 具有用量少, 全身不良反应少的优点, 现已获FDA批准上市

## ■ 研发前沿

目前, 以炎症性肠病免疫和炎症反应过程的不同环节为作用靶点研制出的新型生物制剂仍是治疗UC药物的研发热点。其中, 生物技术、新型制药技术的应用研究, 对UC药物发展起到决定性的作用。相对新型的西药需解决的安全性、经济性等方面的问题来说, 中药疗效不够确切的问题有待进一步的研究。

## ■ 相关报道

近期研究表明Vedolizumab治疗UC的疗效与抗肿瘤坏死因子-α制剂相似, 且其是唯一一个严重不良反应发生率低于安慰剂的生物制剂。因此Vedolizumab在疗效与安全上具有明显的优势, 如果能进一步解决生产成本问题, 将会使其成为新一代的UC患者的维持治疗药物成为可能。



## ■ 创新盘点

本文通过查阅大量国内外治疗UC药物相关文献, 把握当前研发前沿, 重点分析在生物技术、新型制剂技术应用下的各种新型制剂的特点, 全面论述治疗UC药物的最新进展。

用于诱导缓解轻-中度活动期UC患者<sup>[15,17]</sup>。

### 3 免疫抑制剂

早期应用于UC治疗的免疫抑制剂硫唑嘌呤(azathioprine, AZA)和6-巯嘌呤(6-mercaptopurine, 6-MP)能减小UC患者对激素类药物依赖性, 但其起效慢, 不良反应大, 故临床中很少作为一线药物<sup>[18,19]</sup>。近年来, 环孢素A(cyclosporine A, CsA)开始应用于临床并证实对于传统药物治疗无效的重症UC缓解或爆发型UC患者有明显疗效, 且CsA起效较AZA和6-MP快, 但其具有明显的肾毒性、肝脏毒性、机会感染和癌变等不良反应, 因此只作为UC治疗的二线药物<sup>[20,21]</sup>。目前新型免疫抑制剂主要有霉酚酸酯与他克莫司(Tacrolimus), 新型的免疫抑制剂表现出与CsA相近的药理作用且不良反应少的优点<sup>[22]</sup>, 但此类制剂在疗效方面缺乏令人信服的证据, 加上安全性方面的担忧, 因此运用于UC的治疗受限<sup>[23]</sup>。

### 4 新型生物制剂

生物制剂是以炎症性肠病免疫和炎症反应过程中不同环节为作用靶点研制的新型药物, 目前国外应用于UC治疗的生物制剂主要分为肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )单抗、选择性黏附分子抑制剂、激酶抑制剂等<sup>[5,24,25]</sup>。

**4.1 TNF- $\alpha$ 单抗** TNF- $\alpha$ 是一种能促进炎症细胞增殖分化的前炎症因子, 其在多种自身免疫疾病中的表达均增高, TNF- $\alpha$ 单抗则以此为药物治疗靶点, 降低机体炎症反应<sup>[26]</sup>。目前已有多种此类生物制剂用于UC的治疗, 诱导及维持缓解作用亦得到肯定。

**4.1.1 英夫利昔:** 英夫利昔作为第一种用于UC治疗的TNF- $\alpha$ 单抗制剂, 因其存在鼠源性成分而具有一定的种属免疫原性, 易导致各种不良反应的产生, 现已在美国和欧洲批准上市。主要用于对传统治疗药物无效或不耐受的UC患者, 且被选用为重度UC拯救治疗的措施<sup>[27]</sup>。

**4.1.2 阿达木单抗:** 阿达木单抗(Adalimumab, Humira)是一个完全人重组化的免疫球蛋白G(immunoglobulin G, IgG)1抗TNF- $\alpha$ 单抗, 与TNF- $\alpha$ 特异性结合后可阻断其与细胞表面受体的结合, 克服了英夫利昔单抗的种属免疫源性, Humira于2002年首次通过FDA批准, 成为第二个抗TNF- $\alpha$ 制剂, 目前FDA、欧盟已批准Humira(雅培公司)用于成人中度至重度UC的

治疗, Humira为皮下注射针剂, 不良反应是注射部位反应和皮疹, 其次是一定的感染风险, 临床需谨慎使用<sup>[28]</sup>。

**4.1.3 戈利木单抗:** 戈利木单抗是一种新型的TNF- $\alpha$ 抑制剂, 已于2013-05、2013-09分别获FDA、欧盟委员会批准, 用于中度至重度UC病情的维持治疗, 主要不良反应为上呼吸道感染及注射部位发红等。最近的临床试验结果显示<sup>[29,30]</sup>: 对于中度至重度UC病情, 本品能明显减轻症状, 并可以维持较长的临床缓解率与黏膜恢复率。

**4.2 选择性黏附分子抑制剂** 大量淋巴细胞聚集并迁移至肠道黏膜是UC发病的必要条件, 而黏附分子(cell adhesion molecule, CAM)能促进大量淋巴细胞聚集并迁移至肠道黏膜, 导致肠道炎症反应加重。CAM抑制剂以此为治疗靶点, 通过抑制循环免疫细胞上的黏附分子(整合素 $\alpha 4\beta 1$ 、 $\alpha 4\beta 7$ 、 $\alpha E\beta 7$ 及ICAM-1等), 阻断其与血管内皮细胞受体结合, 从而改善肠道炎症<sup>[31,32]</sup>。

**4.2.1 那他利珠单抗:** 那他利珠单抗(natalizumab, ISIS2302)是一种基因重组生产的IgG4人-鼠嵌合性的抗整合素 $\alpha 4$ 单克隆抗体<sup>[33]</sup>, 目前已获得美国FDA批准应用于顽固性中重度的克罗恩病。III期临床实验证明那他利珠单抗可显著缓解UC患者疾病活动, 不良反应主要有过敏反应、头痛、发热、关节痛等。因为该制剂可能存在的并发症, 临床应用受限。

**4.2.2 维多珠单抗:** 维多珠单抗(Vedolizumab, LDP-02)为一种新型的人-鼠嵌合性单克隆抗体人-鼠嵌合性单克隆抗体, 其可以选择性作用于整合素 $\alpha 4\beta 7$ , 减少了并发症的发生<sup>[26]</sup>。近期研究<sup>[34,35]</sup>表明Vedolizumab治疗UC的疗效与抗TNF- $\alpha$ 制剂相似, 且其是唯一一个严重不良反应发生率低于安慰剂的生物制剂, 因此Vedolizumab也可能被推荐用于UC患者对TNF- $\alpha$ 单抗制剂使用无效时的药物。2014-05, 武田制药Entyvio(Vedolizumab)获FDA批准, 作为中度至重度活动性UC患者的维持治疗。

**4.2.3 Etrolizumab:** Etrolizumab是一种新型的人源化单克隆抗体, 通过多种途径避免了 $\alpha 4\beta 7$ 整合素与配体结合从而发挥治疗UC作用, 有效地解决了广谱免疫抑制问题。Vermeire等<sup>[36]</sup>等近期的一项随机、双盲、多中心的II期临床研究表明Etrolizumab可以诱导中至重度活动性

UC病历的临床缓解, 因此阻断 $\alpha 4\beta 7$ 和 $\alpha E\beta 7$ 的制剂有望成为治疗UC新的途径。

**4.3 激酶抑制剂** 炎症性肠病的产生与各种炎症细胞因子表达密切相关, 而此种信号通路的转导大多需酪氨酸蛋白激酶的参与, 以此作为理想靶点开发出来的激酶抑制剂已成为治疗UC的新途径<sup>[37,38]</sup>。其中, 托法替尼(Tofacitinib, CP-690550)作为首个体外对激酶1和激酶13有特异性作用的新型口服Janus激酶抑制剂, 能有效阻断 $\gamma$ 链细胞因子和多种白介素信号通路转导, 从而有效抑制肠道炎症。此外, Sandborn等<sup>[39]</sup>等二期、随机、双盲对照研究显示: Tofacitinib对于中至重度急性UC患者有一定疗效, 并且15 mg的Tofacitinib出现的临床反应与缓解率更高。

## 5 微生态制剂

近年来, 研究显示肠腔黏膜表面共生菌与炎症的调节密切相关。因此, 调节肠道菌群的措施便成为了治疗UC的一种新策略<sup>[40,41]</sup>。目前, 以益生菌为主的微生态制剂已用于UC的治疗, 其作用与美沙拉秦相似<sup>[42]</sup>。Mitrovic等<sup>[43]</sup>研究表明VSI#3(一种冻干细菌合剂)对轻至中度UC患者效果明显, 且不良反应少。此外, 多项研究<sup>[44-48]</sup>结果表明青春双歧杆菌BF0624、酸乳杆菌LT0637(阿泰宁)、大肠埃希菌Nissle 1917(EcN)、地衣芽孢杆菌胶囊(整肠生胶囊, Enteroocor-dinatibiogen)等益生菌制剂对UC有治疗作用。目前, 虽然使用益生菌治疗或辅助治疗IBD在临床工作中越来越常见, 但其作用机制、临床长期疗效及安全性有待进一步证实。

## 6 中药

在中医上, UC属于“痢疾”、“脏毒”、“泄泻”等范畴, 中药除多种单味药、有效部位或成分, 例如: 芦荟精华素、姜黄素、穿心莲提取物等在治疗UC显示不错疗效外, 以此为基础开发出的各种中药复方制剂也为UC患者提供一种有效途径<sup>[49,50]</sup>。中药制剂主要分为口服给药和局部给药, 而口服定位释放制剂的研究已成为一大热点。

**6.1 中药口服制剂** 传统中药口服治疗UC以汤剂为主, 常用方剂有白头翁汤、葛根芩连汤、三黄汤等内服, 此外锡类散、加味香连丸、健脾灵片、复方苦参结肠溶胶囊等多种剂型的中药口服制剂亦应用于UC临床治疗<sup>[49,50]</sup>。此类

制剂对UC治疗均有其一定的优势和针对性, 但是, 其临床研究方面尚处于起步阶段, 其应用的安全性和有效性数据很少, 仍需要大量的研究来验证<sup>[51]</sup>。

**6.2 局部给药制剂** 目前国内常用的局部用于UC治疗的中药制剂多为液体灌肠剂及栓剂, 剂型的选择依赖于疾病的程度。其中液体灌肠液大多为医院制剂, 临用配制。然而在药物的提取方法、合理配伍、药液的黏度等对疗效的影响缺乏必要的药剂学研究, 更缺乏严格统一的质量控制标准, 有待进一步研究<sup>[51]</sup>。中药栓剂作为局部使用的固体制剂用于UC的治疗, 多以清热解毒为治疗的基本原则, 疗效较好, 如清肠栓、锡类散栓、雷公藤多苷栓等, 但其相关研究尚有不足, 仍需深入研究。

## 7 结论

近年来治疗UC的药物一直是研究的热点之一, 其中以炎症性肠病免疫和炎症反应过程的不同环节为作用靶点的新型生物制剂已成为当前研发重点。生物制剂常作为中至重度UC患者的挽救治疗, 疗效值得肯定, 但其价格相对昂贵, 临床应用受限。而以奥沙拉嗪(Olsalazine)、巴柳氮(Basalazine)、美沙拉嗪(Mesalamine)为代表的5-ASA以其确切的疗效、相对便宜的价格等特点, 仍然为治疗UC的一线药物。此外, 传统的糖皮质激素类、免疫抑制剂亦为治疗UC的重要药物, 而新兴的微生态制剂也为轻度UC患者提供了一种新的治疗策略。总的来说, 西药对UC的治疗作用值得肯定, 但长期应用基本都存在一定的不良反应, 其安全性、经济性等方面还有待进一步研究。中药用于UC的治疗, 具有不良反应较小、方法多样等优势, 但长期应用的临床疗效不确切, 更缺乏相关的临床试验研究。近年来, 中西药结合治疗UC疗效显著, 临床应用广泛, 值得进一步推行与研究。总之, 治疗UC的药物各有优劣, 因此, 如何根据患者疾病的严重程度、把握用药指征, 分析药物的利弊来确定个体化治疗方案, 将有利于改善或缓解UC患者的症状及肠道病变, 使UC的治疗更加合理有效。

## 8 参考文献

- 1 Park SC, Jeon YT. Current and emerging biologics for ulcerative colitis. *Gut Liver* 2015; 9: 18-27 [PMID: 25547087 DOI: 10.5009/gnl14226]
- 2 da Silva BC, Lyra AC, Rocha R, Santana GO.

### ■应用要点

西药对UC的治疗作用值得肯定, 但长期应用基本都存在一定的不良反应, 其安全性、经济性等方面还有待进一步研究。中药用于UC的治疗, 具有不良反应较小、方法多样等优势, 但长期应用的临床疗效不确切, 更缺乏相关的临床试验研究。近年来, 中西药结合治疗UC疗效显著, 临床应用广泛, 值得进一步推行与研究。

## ■名词解释

MMX技术: 是延缓控制药物有效成分释放, 使其直达病变部位, 从而发挥药效的一种技术;

肿瘤坏死因子- $\alpha$ : 主要由单核-巨噬细胞分泌的一种小分子蛋白, 是一种涉及到系统性炎症的细胞因子, 同时也是属于引起急性反应的众多细胞因子中的一员;

免疫抑制剂: 对机体的免疫反应具有抑制作用的药物, 能抑制与免疫反应有关细胞(T细胞和B细胞等巨噬细胞)的增殖和功能, 能降低抗体免疫反应。

- 3 Molodecky NA, Soon IS, Rabi DM, Ghali WA, Ferris M, Chernoff G, Benchimol EI, Panaccione R, Ghosh S, Barkema HW, Kaplan GG. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology* 2012; 142: 46-54. e42; quiz e30 [PMID: 22001864 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.10.001]
- 4 Scarpa M, Castagliuolo I, Castoro C, Pozza A, Scarpa M, Kotsafti A, Angriman I. Inflammatory colonic carcinogenesis: a review on pathogenesis and immunosurveillance mechanisms in ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 6774-6785 [PMID: 24944468 DOI: 10.3748/wjg.v20.i22.6774]
- 5 Furfaro F, Bezzio C, Ardizzone S, Massari A, de Franchis R, Maconi G. Overview of biological therapy in ulcerative colitis: current and future directions. *J Gastrointest Liver Dis* 2015; 24: 203-213 [PMID: 26114181 DOI: 10.15403/jgld.2014.1121.242.bezz]
- 6 张瑶, 颜宏利, 周海明, 宋立华. 化学法建立溃疡性结肠炎动物模型的研究进展. *世界华人消化杂志* 2015; 23: 4384-4392
- 7 Akiho H, Yokoyama A, Abe S, Nakazono Y, Murakami M, Otsuka Y, Fukawa K, Esaki M, Niina Y, Ogino H. Promising biological therapies for ulcerative colitis: A review of the literature. *World J Gastrointest Pathophysiol* 2015; 6: 219-227 [PMID: 26600980 DOI: 10.4291/wjgp.v6.i4.219]
- 8 Sales-Campos H, Basso PJ, Alves VB, Fonseca MT, Bonfá G, Nardini V, Cardoso CR. Classical and recent advances in the treatment of inflammatory bowel diseases. *Braz J Med Biol Res* 2015; 48: 96-107 [PMID: 25466162 DOI: 10.1590/1414-431X20143774]
- 9 Ye B, van Langenberg DR. Mesalazine preparations for the treatment of ulcerative colitis: Are all created equal? *World J Gastrointest Pharmacol Ther* 2015; 6: 137-144 [PMID: 26558148 DOI: 10.4292/wjgpt.v6.i4.137]
- 10 Lichtenstein GR, Kamm MA, Boddu P, Gubergits N, Lyne A, Butler T, Lees K, Joseph RE, Sandborn WJ. Effect of once- or twice-daily MMX mesalamine (SPD476) for the induction of remission of mild to moderately active ulcerative colitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 95-102 [PMID: 17234558]
- 11 Kamm MA, Lichtenstein GR, Sandborn WJ, Schreiber S, Lees K, Barrett K, Joseph R. Randomised trial of once- or twice-daily MMX mesalazine for maintenance of remission in ulcerative colitis. *Gut* 2008; 57: 893-902 [PMID: 18272546 DOI: 10.1136/gut.2007.138248]
- 12 Nanda K, Moss AC. Update on the management of ulcerative colitis: treatment and maintenance approaches focused on MMX® mesalamine. *Clin Pharmacol* 2012; 4: 41-50 [PMID: 22888278 DOI: 10.2147/CPAA.S26556]
- 13 纪桂贤, 郑岳. 溃疡性结肠炎治疗进展. *误诊学杂志* 2011; 1: 3048-3050
- 14 Engel MA, Neurath MF. New pathophysiological insights and modern treatment of IBD. *J Gastroenterol* 2010; 45: 571-583 [PMID: 20213337 DOI: 10.1007/s00535-010-0219-3]
- 15 Danese S, Siegel CA, Peyrin-Biroulet L. Review article: integrating budesonide-MMX into treatment algorithms for mild-to-moderate ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2014; 39: 1095-1103 [PMID: 24641622 DOI: 10.1111/apt.12712]
- 16 白文元, 刘娜. 布地奈德治疗炎症性肠病的机制与疗效. *临床药物治疗杂志* 2011; 9: 37-40
- 17 Hoy SM. Budesonide MMX®: a review of its use in patients with mild to moderate ulcerative colitis. *Drugs* 2015; 75: 879-886 [PMID: 25920500 DOI: 10.1007/s40265-015-0396-8]
- 18 Talley NJ, Abreu MT, Achkar JP, Bernstein CN, Dubinsky MC, Hanauer SB, Kane SV, Sandborn WJ, Ullman TA, Moayyedi P. An evidence-based systematic review on medical therapies for inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2011; 106 Suppl 1: S2-S25; quiz S26 [PMID: 21472012 DOI: 10.1038/ajg.2011.58]
- 19 高树娟, 施瑞华. 炎症性肠病治疗的新进展. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 3742-3747
- 20 朱家新. 溃疡性结肠炎的药物治疗概况. *临床医学* 2011; 1: 34-35
- 21 Cheifetz AS, Stern J, Garud S, Goldstein E, Malter L, Moss AC, Present DH. Cyclosporine is safe and effective in patients with severe ulcerative colitis. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45: 107-112 [PMID: 20679905 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181e883dd]
- 22 Ogata H, Matsui T, Nakamura M, Iida M, Takazoe M, Suzuki Y, Hibi T. A randomised dose finding study of oral tacrolimus (FK506) therapy in refractory ulcerative colitis. *Gut* 2006; 55: 1255-1262 [PMID: 16484504]
- 23 谭启文. 溃疡性结肠炎的药物治疗. *内科* 2009; 4: 610-612
- 24 Iskandar HN, Dhere T, Farraye FA. Ulcerative Colitis: Update on Medical Management. *Curr Gastroenterol Rep* 2015; 17: 44 [PMID: 26386686 DOI: 10.1007/s11894-015-0466-9]
- 25 Taba Taba Vakili S, Taher M, Ebrahimi Daryani N. Update on the management of ulcerative colitis. *Acta Med Iran* 2012; 50: 363-372 [PMID: 22837114]
- 26 袁耀宗, 顾于蓓. 生物制剂在炎症性肠病中的临床应用. *内科理论与实践* 2013; 8: 1-3
- 27 Triantafyllidis JK, Merikas E, Georgopoulos F. Current and emerging drugs for the treatment of inflammatory bowel disease. *Drug Des Devel Ther* 2011; 5: 185-210 [PMID: 21552489 DOI: 10.2147/DDDT.S11290]
- 28 Freeman HJ. Developments in the treatment of moderate to severe ulcerative colitis: focus on adalimumab. *Ther Clin Risk Manag* 2013; 9: 451-456 [PMID: 24235838 DOI: 10.2147/TCRM.S38852]
- 29 Sandborn WJ, Feagan BG, Marano C, Zhang H, Strauss R, Johannis J, Adedokun OJ, Guzzo C, Colombel JF, Reinisch W, Gibson PR, Collins J, Järnerot G, Hibi T, Rutgeerts P. Subcutaneous golimumab induces clinical response and remission in patients with moderate-to-severe ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2014; 146: 85-95; quiz e14-e15 [PMID: 23735746 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.05.048]
- 30 Sandborn WJ, Feagan BG, Marano C, Zhang H, Strauss R, Johannis J, Adedokun OJ, Guzzo C, Colombel JF, Reinisch W, Gibson PR, Collins



- J, Järnerot G, Rutgeerts P. Subcutaneous golimumab maintains clinical response in patients with moderate-to-severe ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2014; 146: 96-109.e1 [PMID: 23770005 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.06.010]
- 31 Ghosh S, Panaccione R. Anti-adhesion molecule therapy for inflammatory bowel disease. *Therap Adv Gastroenterol* 2010; 3: 239-258 [PMID: 21180606 DOI: 10.1177/1756283X10373176]
- 32 Lobatón T, Vermeire S, Van Assche G, Rutgeerts P. Review article: anti-adhesion therapies for inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2014; 39: 579-594 [PMID: 24479980 DOI: 10.1111/apt.12639]
- 33 Lanzarotto F, Carpani M, Chaudhary R, Ghosh S. Novel treatment options for inflammatory bowel disease: targeting alpha 4 integrin. *Drugs* 2006; 66: 1179-1189 [PMID: 16827596]
- 34 Feagan BG, Rutgeerts P, Sands BE, Hanauer S, Colombel JF, Sandborn WJ, Van Assche G, Axler J, Kim HJ, Danese S, Fox I, Milch C, Sankoh S, Wyant T, Xu J, Parikh A. Vedolizumab as induction and maintenance therapy for ulcerative colitis. *N Engl J Med* 2013; 369: 699-710 [PMID: 23964932 DOI: 10.1056/NEJMoa1215734]
- 35 Danese S, Fiorino G, Peyrin-Biroulet L, Lucentiforte E, Virgili G, Moja L, Bonovas S. Biological agents for moderately to severely active ulcerative colitis: a systematic review and network meta-analysis. *Ann Intern Med* 2014; 160: 704-711 [PMID: 24842416 DOI: 10.7326/M13-2403]
- 36 Vermeire S, O'Byrne S, Keir M, Williams M, Lu TT, Mansfield JC, Lamb CA, Feagan BG, Panes J, Salas A, Baumgart DC, Schreiber S, Dotan I, Sandborn WJ, Tew GW, Luca D, Tang MT, Diehl L, Eastham-Anderson J, De Hertogh G, Perrier C, Egen JG, Kirby JA, van Assche G, Rutgeerts P. Etrolizumab as induction therapy for ulcerative colitis: a randomised, controlled, phase 2 trial. *Lancet* 2014; 384: 309-318 [PMID: 24814090 DOI: 10.1016/S0140-6736(14)60661-9]
- 37 Kontzias A, Kotlyar A, Laurence A, Changelian P, O'Shea JJ. Jakinibs: a new class of kinase inhibitors in cancer and autoimmune disease. *Curr Opin Pharmacol* 2012; 12: 464-470 [PMID: 22819198 DOI: 10.1016/j.coph.2012.06.008]
- 38 Danese S, Grisham M, Hodge J, Telliez JB. JAK inhibition using tofacitinib for inflammatory bowel disease treatment: a hub for multiple inflammatory cytokines. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2016; 310: G155-G162 [PMID: 26608188 DOI: 10.1152/ajpgi.00311.2015]
- 39 Sandborn WJ, Ghosh S, Panes J, Vranic I, Su C, Rousell S, Niezychowski W. Tofacitinib, an oral Janus kinase inhibitor, in active ulcerative colitis. *N Engl J Med* 2012; 367: 616-624 [PMID: 22894574 DOI: 10.1056/NEJMoa1112168]
- 40 Orel R, Kamhi Trop T. Intestinal microbiota, probiotics and prebiotics in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 11505-11524 [PMID: 25206258 DOI: 10.3748/wjg.v20.i33.11505]
- 41 Landman C, Quévrain E. [Gut microbiota: Description, role and pathophysiological implications]. *Rev Med Interne* 2015 Dec 31. [Epub ahead of print] [PMID: 26749318 DOI: 10.1016/j.revmed.2015.12.012]
- 42 麻继臣, 欧阳文, 王敏. 益生菌对溃疡性结肠炎维持缓解的作用. *中华消化杂志* 2009; 29: 341-342
- 43 Mitrovic DR, Riera H. Synovial, articular cartilage and bone changes in rapidly destructive arthropathy (osteoarthritis) of the hip. *Rheumatol Int* 1992; 12: 17-22 [PMID: 1598497 DOI: 810.1111/j.1572-0241.2005.41794.x]
- 44 练光辉, 卢放根, 陈宏辉, 游宇, 谭鲜, 邱力. 嗜酸乳杆菌和青春双歧杆菌治疗实验性结肠炎小鼠的作用及其机制. *中华消化杂志* 2008; 28: 480-484
- 45 Wehkamp J, Stange EF. Paneth's disease. *J Crohns Colitis* 2010; 4: 523-531 [PMID: 21122555 DOI: 10.1016/j.crohns.2010.05.010]
- 46 Losurdo G, Iannone A, Contaldo A, Ierardi E, Di Leo A, Principi M. Escherichia coli Nissle 1917 in Ulcerative Colitis Treatment: Systematic Review and Meta-analysis. *J Gastrointest Liver Dis* 2015; 24: 499-505 [PMID: 26697577 DOI: 10.15403/jgld.2014.1121.244.ecn]
- 47 朱伟清. 整肠生联合美沙拉嗪治疗溃疡性结肠炎临床疗效观察. *中国乡村医药* 2013; 20: 24-25
- 48 Triantafyllidi A, Xanthos T, Papalois A, Triantafyllidis JK. Herbal and plant therapy in patients with inflammatory bowel disease. *Ann Gastroenterol* 2015; 28: 210-220 [PMID: 25830661]
- 49 Wan P, Chen H, Guo Y, Bai AP. Advances in treatment of ulcerative colitis with herbs: from bench to bedside. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 14099-14104 [PMID: 25339799 DOI: 10.3748/wjg.v20.i39.14099]
- 50 施翠英, 王旭. 中药用于治疗溃疡性结肠炎的研究进展. *中药与临床* 2012; 3: 52-63
- 51 柳钢. 治疗溃疡性结肠炎的药物治疗综述. *中国医药指南* 2009; 7: 87-89

# 同行评价

本文综述比较全面系统, 对治疗进展把握较好, 对临床医生和科研人员有一定的帮助。

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利



## 母乳微生物种类和来源及其对新生子代作用的研究进展

李思奇, 马守庆, 余凯凡, 朱伟云

### ■背景资料

母乳中有着多种生物活性成分, 微生物就是重要组成部分之一。而母乳中的细菌作为第一批进入到新生子代胃肠道的微生物, 对新生子代肠道、免疫系统 etc 影响深刻且长久。因此研究母乳中的微生物对新生子代的影响有着重要意义。

李思奇, 马守庆, 余凯凡, 朱伟云, 江苏省消化道营养与动物健康重点实验室 南京农业大学消化道微生物实验室 江苏省南京市 210095

李思奇, 主要从事消化系微生物与营养代谢方面的研究。

国家重点基础研究发展计划(973)基金资助项目, No. 2013CB127300  
江苏省自然科学基金资助项目, No. BK20130058  
教育部博士点基金资助项目, No. 20130097130005

作者贡献分布: 本文综述由李思奇与马守庆写作完成; 余凯凡参与修改; 朱伟云提出框架、修改及最后完成和审校。

通讯作者: 朱伟云, 教授, 210095, 江苏省南京市卫岗1号, 南京农业大学动物科技学院. [zhuweiyun@njau.edu.cn](mailto:zhuweiyun@njau.edu.cn)

收稿日期: 2016-03-09  
修回日期: 2016-03-23  
接受日期: 2016-03-28  
在线出版日期: 2016-04-28

### Species and origin of microorganisms in breast milk and their effects on infants

Si-Qi Li, Shou-Qing Ma, Kai-Fan Yu, Wei-Yun Zhu

Si-Qi Li, Shou-Qing Ma, Kai-Fan Yu, Wei-Yun Zhu, Jiangsu Provincial Key Laboratory of Gastrointestinal Nutrition and Animal Health; College of Animal Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, Jiangsu Province, China

Supported by: National Key Basic Research Program of China, No. 2013CB127300; Jiangsu Province Natural Science Foundation, No. BK20130058; Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education of China, No. 20130097130005

Correspondence to: Wei-Yun Zhu, Professor, College of Animal Science and Technology, Nanjing Agricultural University, 1 Weigang, Nanjing 210095, Jiangsu Province, China. [zhuweiyun@njau.edu.cn](mailto:zhuweiyun@njau.edu.cn)

Received: 2016-03-09

Revised: 2016-03-23  
Accepted: 2016-03-28  
Published online: 2016-04-28

### Abstract

Human milk has long been considered to be sterile, but recent studies have shown that breast milk represents a continuous supply of probiotic bacteria, including *Lactobacilli* and *Bifidobacteria*, which can colonize in the gut of infants. The probiotic bacteria from breast milk protect babies against infections and promote maturation of the immune system. This review summarizes the origin, species and special functions of microorganisms in breast milk, with an aim to provide further guidance for investigating and utilizing the microorganisms in human breast milk.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Breast milk; Microorganisms; Infant gut

Li SQ, Ma SQ, Yu KF, Zhu WY. Species and origin of microorganisms in breast milk and their effects on infants. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(12): 1846-1852 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1846.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i12.1846>

### 摘要

母乳历来被认为是无菌的, 但是最新的研究表明, 母乳可为婴儿持续提供能够定植于婴儿肠道的益生菌如乳酸乳球菌和发酵乳杆菌, 这些细菌可以促使婴儿肠道发育及免疫系统的成熟, 以提高自身对病原菌的抵抗能

### ■同行评议者

曲芬, 教授, 主任医师, 中国人民解放军302医院临床检验医学中心; 王秀伶, 教授, 河北农业大学生命科学学院制药工程系; 崔梅花, 主任医师, 航天中心医院消化科, 北京大学航天临床医学院

力. 本文就母乳中细菌的种类、来源及其对新生儿代肠道菌群及免疫作用进行了综述, 以为母乳微生物的研究和利用提供参考.

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 母乳; 母乳微生物; 婴儿肠道

**核心提示:** 母乳中的微生物正受到越来越多的关注, 已经成为一个新的研究热点, 本文就母乳中细菌的种类、来源及其对新生儿代肠道菌群及免疫作用进行了综述.

李思奇, 马守庆, 余凯凡, 朱伟云. 母乳微生物种类和来源及其对新生儿代作用的研究进展. 世界华人消化杂志 2016; 24(12): 1846-1852 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1846.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i12.1846>

## 0 引言

母乳被认为是婴儿最健康的食物, 除了营养支持, 母乳还可以直接或间接地增强婴儿肠道黏膜屏障功能和免疫功能, 提高婴儿对疾病的抵抗能力<sup>[1,2]</sup>. 经母乳喂养的婴儿其呼吸道和胃肠道抗感染的能力较强, 哮喘和过敏性疾病的发病率较低, 疾病持续时间较短<sup>[3,4]</sup>. 一般认为, 母乳功能来源于其含有的多种生物活性成分如抗体、细胞因子、免疫活性细胞、多胺、低聚糖、乳铁蛋白和溶菌酶等. 微生物也是乳汁的重要组成成分, 他可能也是母乳功能来源因素之一. 传统认为只有受到了污染的乳汁中才含有一定数量的微生物<sup>[5]</sup>, 但最近分子生物学的研究表明, 乳腺在生产的前几周就已经开始分泌乳汁, 并且其中包含与生产后的乳汁中所含有的类似的细菌种类, 如链球菌(*Streptococcus*)、乳酸杆菌(*Lactobacillus*)和双歧杆菌(*Bifidobacterium*)<sup>[6]</sup>. 同时有研究<sup>[7]</sup>表明, 母乳中微生物与人体其他组织微生物的组成是不同的, 他不是简单的通过皮肤接触所获得的污染物. 母乳中的微生物正受到越来越多的关注, 已经成为一个新的研究热点, 本文就对母乳中微生物的种类、来源以及母乳微生物的作用进行介绍.

## 1 母乳中微生物的种类及影响因素

研究者通过传统方法即培养基筛选法把母乳内的微生物通过一定的选择性培养基筛选出来, 对菌株进行分离鉴定, 发现母乳含有的

微生物主要为葡萄球菌属(*Staphylococcus*)、链球菌属(*Streptococcus*)、肠球菌属(*Enterococcus*)、乳杆菌属(*Lactobacillus*)、双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)和明串珠菌属(*Leuconostococcus*)等<sup>[8-10]</sup>. 而现代分子生物学方法可直接对母乳微生物DNA进行多样性分析, 得出其种类与构成, 如利用PCR-DGGE/TGGE, qPCR和高通量测序等方法确定母乳内存在的复杂微生物区系. Albesharat等<sup>[11]</sup>分析了15份母乳样品, 其中含有的主要细菌为溶血葡萄球菌(*Staph. haemolyticus*)、解链食子酸链球菌(*Streptococcus gallolyticus*)、前庭链球菌(*Str. vestibularis*)、耐久肠球菌(*Enterococcus durans*)、海氏肠球菌(*E. hirae*)、蒙氏肠球菌(*E. mundtii*)、短乳杆菌(*Lactobacillus brevis*)、口乳杆菌(*L. oris*)、动物乳杆菌(*L. animalis*)等. Collado等<sup>[12]</sup>用qRT-PCR方法分析发现, 50份母乳都能检出葡萄球菌、链球菌、乳酸杆菌和双歧杆菌, 96%的母乳内能检出梭状芽胞杆菌XIVa-XIVb, 76%的母乳能检出肠球菌. 本实验室首次利用高通量测序方法对72份奶牛原乳分析表明, 奶牛原乳中优势细菌主要属于4个门, 放线菌门相对丰度比例为29.66%-30.85%, 厚壁菌门22.06%-25.77%, 变形菌门23.20%-29.42%, 拟杆菌门占16.24%-19.35%, 其他门的丰度都低于1%. 但是在属的水平上, 优势菌属为: *Chryseobacterium*(10.02%-13.79%), *Corynebacterium*(11.23%-11.86%), *Enterococcus*(5.21%-7.65%), *Microbacterium*(5.69%-6.21%) 和 *Streptococcus*(2.69%-6.38%)<sup>[13]</sup>.

母乳中细菌构成会受到产妇的健康状况、生产方式以及泌乳时间等因素的影响. Cabrera-Rubio等<sup>[7]</sup>通过对18例产妇乳汁中16S RNA进行测序的结果表明, 共有七百多种细菌存在于母乳中. 初乳中最常见细菌属为魏斯氏菌(*Weissella*), 明串珠菌(*Leuconostococcus*), 葡萄球菌(*Staphylococcus*)和乳球菌属(*Lactococcus*), 初乳中细菌种类要比婴儿1 mo和6 mo时乳汁样中的种类多. 同时研究发现, 孕妇的不同体质量指数值和不同的生产方式都对乳汁中微生物组成造成了影响<sup>[7]</sup>.

## 2 母乳中微生物的来源

传统理论认为只有母乳受到了污染才具有微生物, 但是近来许多研究表明母乳可能是对子代的一个益生菌传递系统. 在对母乳进行平板

## ■ 研究前沿

近年来, 运用宏基因组学、生物信息学分析等分子生物学技术体系全面分析胃肠道及乳汁各类微生物(细菌、厌氧真菌、原虫等)菌种多样性, 实现对微生物的数量定量、功能基因分析等研究目的.



### ■ 相关报道

Collado等用qRT-PCR方法分析发现, 50份母乳都能检出葡萄球菌、链球菌、乳酸杆菌和双歧杆菌, 96%的母乳内能检出梭状芽胞杆菌XIVa-XIVb, 76%的母乳能检出肠球菌。Cabrera-Rubio等通过对18例产妇产乳、皮肤以及阴道分泌物中16S RNA进行测序后发现, 乳汁中的微生物除了与皮肤以及阴道分泌物中微生物有相似, 还有部分来源没有解释。所以本文作者推测的确存在一个肠乳途径, 将肠道中的微生物转移到乳腺之中。

培养后发现, 乳汁中的微生物主要是链球菌属和葡萄球菌属, 其与肠道早期定植的微生物区系中的微生物分型比较一致, 同时厌氧菌双歧杆菌属和乳杆菌属出现的频率也很高<sup>[14-16]</sup>。但是, 母乳中的微生物来源一直是一个备受争议的问题。

**2.1 外源途径** 首先, 母亲乳头附近皮肤上的微生物是母乳微生物的一个来源<sup>[17-19]</sup>, 除此之外婴儿口腔也可能是母乳中微生物来源的重要部位。Ramsay等<sup>[20]</sup>通过红外摄影发现在婴儿吮吸乳汁时会发生一定程度的乳汁逆行回流至乳腺导管的现象, 提示了乳汁的回流是母乳微生物的一个重要来源。在比较了四个通过阴道分娩和六个剖腹产生产的婴儿口腔肠道以及产妇阴道和肠道等部位的细菌种类后, Dominguez-Bello等<sup>[5]</sup>发现通过阴道分娩的婴儿在生产过程中其口鼻接触到产妇阴道部位的细菌。另外Cabrera-Rubio等<sup>[7]</sup>通过比对母乳中微生物与母亲身体其他部分微生物的结果显示, 某些普遍存在于口腔中的特征菌种可在产后1 mo和6 mo的母乳中检测到, 并且其数量较初乳中的高, 如: 韦荣球菌属、纤毛杆菌属以及普氏菌属。该研究提示, 产道内的微生物寄生于婴儿口鼻之中, 然后与口腔中的特有微生物在婴儿吮吸乳汁时回流至乳管并寄生其中, 这是母乳微生物的一个重要外源途径。

**2.2 内生途径** 近年来在乳汁中检测到的一些严格厌氧细菌例如双歧杆菌的来源无法通过外源途径解释, 有试验将乳杆菌作为治疗乳腺炎的药物给产妇服用过后对产妇乳汁进行了检测, 结果发现在乳汁中检测到了产妇服用的相同种类的乳杆菌, 推测乳汁中的部分微生物是通过某种内生途径进入到乳汁当中的<sup>[21,22]</sup>。为了证明内生途径的存在, Perez等<sup>[23]</sup>对哺乳期母亲和干乳期未怀孕母亲的乳汁和外周血进行比较, 表明哺乳期母亲的乳汁和外周血中肠道微生物生物多样性更大。孕妇粪便、血液与乳汁还有婴儿粪便中的微生物区系含有一些相同菌群, 相同最多的就是长双歧杆菌。由此可以证明, 孕妇体内存在一定的细菌移位。

正常情况下大量的细菌移位会给身体带来很多疾病例如败血症等, 而孕妇体内的细菌移位不会对孕妇造成影响, 所以孕妇体内可能存在一条“肠乳途径”, 该途径在不影响孕妇健康前提下将孕妇肠道内微生物转运至乳腺<sup>[24]</sup>。

树突细胞广泛分布在肠道的黏膜固有层上, 他可以打开上皮细胞间的紧密连接, 把树突伸向细胞外抓取细菌。而且, 因为树突状细胞可以表达紧密连接蛋白, 如闭合蛋白, 紧密连接蛋白1和连接黏附分子, 并且可以与邻近上皮细胞建立紧密连接状结构, 所以在树突细胞获取肠道微生物的同时还能保持上皮屏障的完整性。树突细胞不仅可以穿透肠上皮获取肠腔细菌, 将细菌转运至体循环, 甚至可以在肠系膜淋巴结保留活菌数天<sup>[25,26]</sup>。树突细胞将细菌转运至淋巴或者血液循环后, 细菌通过体循环到达乳腺, 而在哺乳期间来自免疫系统的细胞在乳腺的定植是一个受到促乳素影响的选择过程, 这一过程也决定了母乳中丰富的微生物种类的存在<sup>[27,28]</sup>。所以在孕妇体内是树突细胞抓取肠道中的微生物并转运至体循环最后到达乳腺当中, 这是母乳微生物一条重要的内生途径。

### 3 母乳中微生物对新生子代的作用

母乳是影响新生儿肠道发育和免疫系统成熟的关键因素, 其中微生物起到了至关重要的作用。母乳中的微生物具有抑制其他有害病原菌的生长, 调节免疫系统, 帮助消化, 保护肠道健康等多种有益作用。

**3.1 促进有益菌定植和抑制病原微生物** 从母乳中分离出的一些细菌的益生作用也已明确, 他们可以为一些被建议使用人源益生菌的人群长期利用。其中, 从母乳中分离的细菌, 如加氏乳杆菌、唾液乳杆菌、罗伊氏乳杆菌、发酵乳杆菌和双歧杆菌等都是由欧洲食品安全局认定的安全的人源益生菌。母乳中益生菌会在新生子代肠道内产生竞争性排斥反应来抑制其他微生物的定植<sup>[29]</sup>。其次母乳中益生菌会在新生子代肠道内产生多种益生菌素如有机酸和有效抗菌物质等, 不仅可以促进有益菌的定植, 还可以抑制有害菌的生长和定植, 使肠道内环境得到改善<sup>[30-32]</sup>。母乳中的微生物会增加黏蛋白的分泌, 降低肠黏膜的通透性<sup>[29]</sup>。这些都有助于在婴儿肠道创造一个特定的健康的微生物群<sup>[33,34]</sup>。

从母乳中分离的一些菌株, 不论在体外和体内, 都表现出抗感染、抗炎症等作用<sup>[35-37]</sup>。乳腺炎是哺乳期间常见的疾病, 在哺乳母亲中具有高达33%的发生率, 而金黄色葡萄球

菌被认为是急性乳腺炎的主要病原<sup>[38]</sup>。Díaz-Ropero等<sup>[39]</sup>以在胃肠道运输过程中具有高存活率并且能与树突细胞有特异性相互作用为条件, 从母乳中分离筛选得到的唾液乳杆菌 CECT 5713和加氏乳杆菌CECT 5714, 对金黄色葡萄球菌乳腺炎进行治疗。30 d之后, 益生菌显著减少乳汁培养物中的葡萄球菌数。Vankerckhoven等<sup>[40]</sup>将352例患有哺乳期乳腺炎的产妇随机分成了3组, 分别口服从乳汁中分离出的发酵乳杆菌CECT5716、唾液乳杆菌CECT5713和抗生素治疗乳腺炎, 结果表明口服益生菌组的细菌计数显著低于抗生素组, 同时在口服益生菌组的产妇乳汁中均检测出了相应的益生菌。Jara等<sup>[41]</sup>研究来自母乳的乳杆菌对12种胃肠道病原体(4株大肠杆菌、4株志贺氏菌、3株肠炎沙门氏菌和1株假单胞菌)的抑制作用发现, 有4株乳杆菌对部分病原菌有抑制作用, 2株乳杆菌能抑制这12种致病菌。这说明母乳内的乳杆菌具有较宽的抑菌谱。另外, 从母乳中分离出的唾液乳VM5, 加氏乳杆菌VM22, 乳酸乳球菌VM17和唾液链球菌VM18在体外可以显著抑制HIV-1感染<sup>[42]</sup>。因此, 在抗生素滥用和耐药性问题日益突出的情况下, 发掘母乳中有益微生物可在一定程度上减少抗生素使用。

**3.2 参与调节新生儿代的免疫系统** 母乳微生物对于新生儿免疫系统的调节具有极其重要的意义, 因为与其他细菌相比, 乳汁中的微生物是在出生后第一时间定植到婴儿肠道中并与之互动的。在婴儿出生第一个月期间纯母乳喂养可以降低其儿童阶段哮喘和过敏性皮炎的发病率。同时纯母乳喂养也是预防过敏性湿疹的一个可能手段。

人类乳汁中的益生菌已经被发现参与多种遗传性过敏症和特应性疾病的预防。母乳中的加氏乳酸杆菌CECT5714可以降低动物模型对于牛奶中的致敏蛋白产生过敏反应的发生率和减轻过敏反应的严重性<sup>[43,44]</sup>。肠道细菌被认为是最早最重要的刺激肠道淋巴组织发展的因素, 他们可以促进抗过敏过程。例如唾液乳杆菌CECT5713和发酵乳杆菌CECT5716在没有炎症刺激的情况下会增强巨噬细胞产生细胞因子Th1, 如白介素(interleukin, IL)-2和IL-12和炎性介质肿瘤坏死因子- $\alpha$ 。但是当有脂多糖存在时这两种菌会降低细胞因子Th1的产

生<sup>[45-47]</sup>。因此, 健康妇女的乳汁是保护母亲和婴儿对抗各种特异性炎性和传染性疾病的重要因素之一。

**3.3 保护新生儿代肠道健康** 母乳细菌对婴儿的代谢作用也有着显著的影响。从母乳中分离出的一些乳酸杆菌和双歧杆菌除了有助于在婴儿肠道创造一个特定的健康的微生物群, 抑制有害菌的定植。由于新生儿代的消化道比成人短, 同时其胃内的pH要高于成人, 母乳中的微生物在婴儿肠道代谢活跃, 会产生更多的有益代谢物, 如丁酸。丁酸是结肠上皮细胞最好的氧化底物, 可以直接为肠上皮细胞提供能量, 是肠上皮细胞的快速能量源, 占结肠细胞氧耗量的80%, 且极易从肠腔内吸收<sup>[48]</sup>。这些有益菌改善婴儿的肠道代谢, 增加粪便的水分含量<sup>[49,50]</sup>。所以母乳微生物不仅可以抑制病原微生物, 帮助新生儿免疫系统的正常成熟, 同时也可以保护其肠道消化健康。

## 4 结论

母乳中的大部分微生物是通过母体传递到乳汁中的, 并不完全是因为乳汁受到污染而来, 但是从母体传递到乳汁中的细菌具体有哪些种类还不确定, 这些细菌在体内的转移机制还不清楚。母乳微生物很多都具有一定的益生作用, 但其益生作用途径及其对新生儿代免疫系统建立的影响机制有待进一步研究。因此, 研究母乳微生物的种类、来源及作用, 对新生儿代肠道健康和抗生素替代的研究都有着重要的意义。

## 5 参考文献

- Walker A. Breast milk as the gold standard for protective nutrients. *J Pediatr* 2010; 156: S3-S7 [PMID: 20105662 DOI: 10.1016/j.jpeds.2009.11.021]
- Petherick A. Development: Mother's milk: A rich opportunity. *Nature* 2010; 468: S5-S7 [PMID: 21179083 DOI: 10.1038/468S5a]
- Loss G, Apprich S, Waser M, Kneifel W, Genuneit J, Büchele G, Weber J, Sozanska B, Danielewicz H, Horak E, van Neerven RJ, Heederik D, Lorenzen PC, von Mutius E, Braun-Fahrlander C. The protective effect of farm milk consumption on childhood asthma and atopy: the GABRIELA study. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 128: 766-773. e4 [PMID: 21875744 DOI: 10.1016/j.jaci.2011.07.048]
- Duijts L, Jaddoe VW, Hofman A, Moll HA. Prolonged and exclusive breastfeeding reduces the risk of infectious diseases in infancy. *Pediatrics* 2010; 126: e18-e25 [PMID: 20566605 DOI: 10.1542/peds.2008-3256]
- Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras

## ■ 创新盘点

此前有报道对母乳中的其他营养物质做过对应的研究和综述, 但是对母乳中微生物相关内容并没有多做介绍。本文着重介绍的母乳微生物来源和作用, 是近几年的热门话题, 值得研究。

## ■应用要点

母乳中的大部分微生物是通过母体传递到乳汁中的, 并不完全是因为乳汁受到污染而来, 但是从母体传递到乳汁中的细菌具体有哪些种类还不确定, 这些细菌在体内的转移机制还不清楚。母乳微生物很多都具有有一定的益生作用, 但其益生作用途径及其对新生儿代免疫系统建立的影响机制有待进一步研究。因此, 研究母乳微生物的种类、来源及作用, 对新生儿代肠道健康和抗生素替代的研究都有着重要的意义。

- 6 Rocío Martínez, Susana Langa, Carlota Reviriego, Esther Jiménez, María L Marina, Mónica Olivaresb, Julio Bozab, Jesús Jiménez, Leonides Fernández, Jordi Xausb, Juan M Rodríguez. The commensal microflora of human milk: new perspectives for food bacteriotherapy and probiotics. *Trends in Food Science & Technology* 2004; 15(s3-4): 121-127 [DOI: 10.1016/j.tifs.2003.09.010]
- 7 Cabrera-Rubio R, Collado MC, Laitinen K, Salminen S, Isolauri E, Mira A. The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. *Am J Clin Nutr* 2012; 96: 544-551 [PMID: 22836031 DOI: 10.3945/ajcn.112.037382]
- 8 Jiménez E, Delgado S, Fernández L, García N, Albújar M, Gómez A, Rodríguez JM. Assessment of the bacterial diversity of human colostrum and screening of staphylococcal and enterococcal populations for potential virulence factors. *Res Microbiol* 2008; 159: 595-601 [PMID: 18845249 DOI: 10.1016/j.resmic.2008.09.001]
- 9 Martín R, Langa S, Reviriego C, Jiménez E, Marín ML, Xaus J, Fernández L, Rodríguez JM. Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. *J Pediatr* 2003; 143: 754-758 [PMID: 14657823 DOI: 10.1016/j.jpeds.2003.09.028]
- 10 Martín V, Maldonado-Barragán A, Moles L, Rodríguez-Baños M, Campo RD, Fernández L, Rodríguez JM, Jiménez E. Sharing of bacterial strains between breast milk and infant feces. *J Hum Lact* 2012; 28: 36-44 [PMID: 22267318 DOI: 10.1177/0890334411424729]
- 11 Albesharat R, Ehrmann MA, Korakli M, Yazaji S, Vogel RF. Phenotypic and genotypic analyses of lactic acid bacteria in local fermented food, breast milk and faeces of mothers and their babies. *Syst Appl Microbiol* 2011; 34: 148-155 [PMID: 21300508 DOI: 10.1016/j.syapm.2010.12.001]
- 12 Collado MC, Delgado S, Maldonado A, Rodríguez JM. Assessment of the bacterial diversity of breast milk of healthy women by quantitative real-time PCR. *Lett Appl Microbiol* 2009; 48: 523-528 [PMID: 19228290 DOI: 10.1111/j.1472-765X.2009.02567.x]
- 13 Zhang R, Huo W, Zhu W, Mao S. Characterization of bacterial community of raw milk from dairy cows during subacute ruminal acidosis challenge by high-throughput sequencing. *J Sci Food Agric* 2015; 95: 1072-1079 [PMID: 24961605 DOI: 10.1002/jsfa.6800]
- 14 Fernández L, Langa S, Martín V, Maldonado A, Jiménez E, Martín R, Rodríguez JM. The human milk microbiota: origin and potential roles in health and disease. *Pharmacol Res* 2013; 69: 1-10 [PMID: 22974824 DOI: 10.1016/j.phrs.2012.09.001]
- 15 Klatt NR, Funderburg NT, Brenchley JM. Microbial translocation, immune activation, and HIV disease. *Trends Microbiol* 2013; 21: 6-13 [PMID: 23062765 DOI: 10.1016/j.tim.2012.09.001]
- 16 Sahl JW, Matalka MN, Rasko DA. Phylomark, a tool to identify conserved phylogenetic markers from whole-genome alignments. *Appl Environ Microbiol* 2012; 78: 4884-4892 [PMID: 22582056 DOI: 10.1128/AEM.00929-12]
- 17 Grice EA, Kong HH, Conlan S, Deming CB, Davis J, Young AC, Bouffard GG, Blakesley RW, Murray PR, Green ED, Turner ML, Segre JA. Topographical and temporal diversity of the human skin microbiome. *Science* 2009; 324: 1190-1192 [PMID: 19478181 DOI: 10.1126/science.1171700]
- 18 Hunt KM, Foster JA, Forney LJ, Schütte UM, Beck DL, Abdo Z, Fox LK, Williams JE, McGuire MK, McGuire MA. Characterization of the diversity and temporal stability of bacterial communities in human milk. *PLoS One* 2011; 6: e21313 [PMID: 21695057 DOI: 10.1371/journal.pone.0021313]
- 19 Gao Z, Tseng CH, Pei Z, Blaser MJ. Molecular analysis of human forearm superficial skin bacterial biota. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 2927-2932 [PMID: 17293459 DOI: 10.1073/pnas.0607077104]
- 20 Ramsay DT, Kent JC, Owens RA, Hartmann PE. Ultrasound imaging of milk ejection in the breast of lactating women. *Pediatrics* 2004; 113: 361-367 [PMID: 14754950 DOI: 10.1542/peds.113.2.361]
- 21 Jiménez E, Fernández L, Maldonado A, Martín R, Olivares M, Xaus J, Rodríguez JM. Oral administration of Lactobacillus strains isolated from breast milk as an alternative for the treatment of infectious mastitis during lactation. *Appl Environ Microbiol* 2008; 74: 4650-4655 [PMID: 18539795 DOI: 10.1128/AEM.02599-07]
- 22 Arroyo R, Martín V, Maldonado A, Jiménez E, Fernández L, Rodríguez JM. Treatment of infectious mastitis during lactation: antibiotics versus oral administration of Lactobacilli isolated from breast milk. *Clin Infect Dis* 2010; 50: 1551-1558 [PMID: 20455694 DOI: 10.1086/652763]
- 23 Perez PF, Doré J, Leclerc M, Levenez F, Benyacoub J, Serrant P, Segura-Roggero I, Schiffrin EJ, Donnet-Hughes A. Bacterial imprinting of the neonatal immune system: lessons from maternal cells? *Pediatrics* 2007; 119: e724-e732 [PMID: 17332189 DOI: 10.1542/peds.2006-1649]
- 24 Jost T, Lacroix C, Braegger CP, Rochat F, Chassard C. Vertical mother-neonate transfer of maternal gut bacteria via breastfeeding. *Environ Microbiol* 2014; 16: 2891-2904 [PMID: 24033881 DOI: 10.1111/1462-2920.12238]
- 25 Macpherson AJ, Uhr T. Compartmentalization of the mucosal immune responses to commensal intestinal bacteria. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1029: 36-43 [PMID: 15681741 DOI: 10.1196/annals.1309.005]
- 26 Qutaishat SS, Stemper ME, Spencer SK, Borchardt MA, Opitz JC, Monson TA, Anderson JL, Ellingson JL. Transmission of Salmonella enterica serotype typhimurium DT104 to infants through mother's breast milk. *Pediatrics* 2003; 111: 1442-1446 [PMID: 12777569 DOI: 10.1542/peds.111.6.1442]
- 27 Bertotto A, Gerli R, Castellucci G, Scalise F, Vaccaro R. Human milk lymphocytes bearing



- the gamma/delta T-cell receptor are mostly delta TCS1-positive cells. *Immunology* 1991; 74: 360-361 [PMID: 1836202]
- 28 Burton DR. Roitt's Essential Immunology (12th Edition). *Medicine & Science in Sports & Exercise* 2012; 44: 1408
  - 29 Olivares M, Díaz-Ropero MP, Martín R, Rodríguez JM, Xaus J. Antimicrobial potential of four Lactobacillus strains isolated from breast milk. *J Appl Microbiol* 2006; 101: 72-79 [PMID: 16834593 DOI: 10.1111/j.1365-2672.2006.02981.x]
  - 30 Beasley SS, Saris PE. Nisin-producing Lactococcus lactis strains isolated from human milk. *Appl Environ Microbiol* 2004; 70: 5051-5053 [PMID: 15294850 DOI: 10.1128/AEM.70.8.5051-5053.2004]
  - 31 Martín R, Jiménez E, Olivares M, Marín ML, Fernández L, Xaus J, Rodríguez JM. Lactobacillus salivarius CECT 5713, a potential probiotic strain isolated from infant feces and breast milk of a mother-child pair. *Int J Food Microbiol* 2006; 112: 35-43 [PMID: 16843562 DOI: 10.1016/j.ijfoodmicr.2006.06.011]
  - 32 Martín R, Olivares M, Marín ML, Fernández L, Xaus J, Rodríguez JM. Probiotic potential of 3 Lactobacilli strains isolated from breast milk. *J Hum Lact* 2005; 21: 8-17; quiz 18-21, 41 [PMID: 15681631]
  - 33 Decker E, Hornef M, Stockinger S. Cesarean delivery is associated with celiac disease but not inflammatory bowel disease in children. *Gut Microbes* 2011; 2: 91-98 [PMID: 21637025 DOI: 10.4161/gmic.2.2.15414]
  - 34 Thavagnanam S, Fleming J, Bromley A, Shields MD, Cardwell CR. A meta-analysis of the association between Caesarean section and childhood asthma. *Clin Exp Allergy* 2008; 38: 629-633 [PMID: 18352976 DOI: 10.1111/j.1365-2222.2007.02780.x]
  - 35 Maldonado J, Cañabate F, Sempere L, Vela F, Sánchez AR, Narbona E, López-Huertas E, Geerlings A, Valero AD, Olivares M, Lara-Villoslada F. Human milk probiotic Lactobacillus fermentum CECT5716 reduces the incidence of gastrointestinal and upper respiratory tract infections in infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012; 54: 55-61 [PMID: 21873895 DOI: 10.1097/MPG.0b013e3182333f18]
  - 36 Iwase T, Uehara Y, Shinji H, Tajima A, Seo H, Takada K, Agata T, Mizunoe Y. Staphylococcus epidermidis Esp inhibits Staphylococcus aureus biofilm formation and nasal colonization. *Nature* 2010; 465: 346-349 [PMID: 20485435 DOI: 10.1038/nature09074]
  - 37 Uehara Y, Kikuchi K, Nakamura T, Nakama H, Agematsu K, Kawakami Y, Maruchi N, Totsuka K. H(2)O(2) produced by viridans group streptococci may contribute to inhibition of methicillin-resistant Staphylococcus aureus colonization of oral cavities in newborns. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 1408-1413 [PMID: 11317240 DOI: 10.1086/320179]
  - 38 Foxman B, D'Arcy H, Gillespie B, Bobo JK, Schwartz K. Lactation mastitis: occurrence and medical management among 946 breastfeeding women in the United States. *Am J Epidemiol* 2002; 155: 103-114 [PMID: 11790672 DOI: 10.1093/aje/155.2.103]
  - 39 Díaz-Ropero MP, Martín R, Sierra S, Lara-Villoslada F, Rodríguez JM, Xaus J, Olivares M. Two Lactobacillus strains, isolated from breast milk, differently modulate the immune response. *J Appl Microbiol* 2007; 102: 337-343 [PMID: 17241338 DOI: 10.1111/j.1365-2672.2006.03102.x]
  - 40 Vankerckhoven VV, Autgaerden TV, Huys G, Vancanneyt M, Swings J, Goossens H. Establishment of the PROSAFE collection of probiotic and human lactic acid bacteria. *Microbial Ecology in Health & Disease* 2009; 16: 131-136 [DOI: 10.1080/08910600410032349]
  - 41 Jara S, Sánchez M, Vera R, Cofré J, Castro E. The inhibitory activity of Lactobacillus spp. isolated from breast milk on gastrointestinal pathogenic bacteria of nosocomial origin. *Anaerobe* 2011; 17: 474-477 [PMID: 21846506 DOI: 10.1016/j.janaerobe.2011.07.008]
  - 42 Martín V, Maldonado A, Fernández L, Rodríguez JM, Connor RI. Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 by lactic acid bacteria from human breastmilk. *Breastfeed Med* 2010; 5: 153-158 [PMID: 20491589 DOI: 10.1089/bfm.2010.0001]
  - 43 Kalliomäki M, Salminen S, Poussa T, Arvilommi H, Isolauri E. Probiotics and prevention of atopic disease: 4-year follow-up of a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2003; 361: 1869-1871 [PMID: 12788576 DOI: 10.1016/S0140-6736(03)13490-3]
  - 44 Osborn DA, Sinn J. Formulas containing hydrolysed protein for prevention of allergy and food intolerance in infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2006; (4): CD003664 [PMID: 17054180 DOI: 10.1002/14651858.cd003664.pub2]
  - 45 Olivares M, Díaz-Ropero MP, Gómez N, Lara-Villoslada F, Sierra S, Maldonado JA, Martín R, Rodríguez JM, Xaus J. The consumption of two new probiotic strains, Lactobacillus gasseri CECT 5714 and Lactobacillus coryniformis CECT 5711, boosts the immune system of healthy humans. *Int Microbiol* 2006; 9: 47-52 [PMID: 16636989]
  - 46 Olivares M, Díaz-Ropero MP, Sierra S, Lara-Villoslada F, Fonollá J, Navas M, Rodríguez JM, Xaus J. Oral intake of Lactobacillus fermentum CECT5716 enhances the effects of influenza vaccination. *Nutrition* 2007; 23: 254-260 [PMID: 17352961]
  - 47 Pérez-Cano FJ, Dong H, Yaqoob P. In vitro immunomodulatory activity of Lactobacillus fermentum CECT5716 and Lactobacillus salivarius CECT5713: two probiotic strains isolated from human breast milk. *Immunobiology* 2010; 215: 996-1004 [PMID: 20219262 DOI: 10.1016/j.imbio.2010.01.004]
  - 48 Maldonado J, Lara-Villoslada F, Sierra S, Sempere L, Gómez M, Rodríguez JM, Boza J, Xaus J, Olivares M. Safety and tolerance of the human milk probiotic strain Lactobacillus salivarius CECT5713 in 6-month-old children. *Nutrition* 2010; 26: 1082-1087 [PMID: 20018483 DOI: 10.1016/j.nut.2009.08.023]
  - 49 Gil-Campos M, López MÁ, Rodríguez-Benítez MV, Romero J, Roncero I, Linares MD,

# ■名词解释

菌群: 指生存在特定环境中的微生物群落集合, 如肠道菌群, 动物肠道中尤其是结肠部位数目巨大、多样性丰富的微生物集体。

#### ■同行评价

本文通过查阅文献,就母乳中细菌的种类、来源及其对新生子代肠道菌群及免疫作用进行了综述,为母乳微生物的研究和利用提供部分研究参考,综述内容体现了现今的研究热点问题,具有一定的创新性及学术价值.

Maldonado J, López-Huertas E, Berwind R, Ritzenthaler KL, Navas V, Sierra C, Sempere L, Geerlings A, Maldonado-Lobón JA, Valero AD, Lara-Villoslada F, Olivares M. Lactobacillus fermentum CECT 5716 is safe and well tolerated in infants of 1-6 months of age: a randomized

50

controlled trial. *Pharmacol Res* 2012; 65: 231-238 [PMID: 22155106 DOI: 10.1016/j.phrs.2011.11.016] Morrow AL, Rangel JM. Human milk protection against infectious diarrhea: implications for prevention and clinical care. *Semin Pediatr Infect Dis* 2004; 15: 221-228 [PMID: 15494945]

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有

#### • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》修回稿须知

**本刊讯** 为了保证作者来稿及时发表,同时保护作者与《世界华人消化杂志》的合法权益,本刊对修回稿要求如下.

#### 1 修回稿信件

来稿包括所有作者签名的作者投稿函. 内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均阅读过该文并同意发表,所有作者均符合作者条件,所有作者均同意该文代表其真实研究成果,保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系,修改并最终审核核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信,保证无泄密,如果是几个单位合作的论文,则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版版权转让给本刊编辑部.

#### 2 稿件修改

来稿经同行专家审查后,认为内容需要修改、补充或删除时,本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改,而作者必须于15天内将单位介绍信、作者复核要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部,同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统;逾期发回的,作重新投稿处理.

#### 3 版权

本论文发表后作者享有非专有权,文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流,但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年;卷(期);起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动,须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意,其编辑版权属本刊所有. 编辑部可将文章在《中国学术期刊光盘版》等媒体上长期发布;作者允许该文章被美国《化学文摘》、《荷兰医学文摘库/医学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》等国外相关文摘与检索系统收录.

## 肝细胞膜蛋白MRP3、MRP4在大鼠幽门结扎性肝损伤中的表达变化

王欢, 佟山, 红梅, 徐艳华, 巴图德力根, 韩志强, 图拉, 巴根那

王欢, 红梅, 图拉, 巴根那, 内蒙古民族大学蒙医药学院 内蒙古自治区通辽市 028000

佟山, 内蒙古民族大学附属医院蒙医外科 内蒙古自治区通辽市 028000

徐艳华, 巴图德力根, 韩志强, 内蒙古民族大学附属医院蒙药临床研究所 内蒙古自治区通辽市 028000

王欢, 副教授, 主要从事蒙药药理与毒理方向的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81441105

**作者贡献分布:** 王欢与佟山对本文贡献相同; 此课题由王欢与佟山设计、数据分析并完成写作; 徐艳华、巴图德力根及韩志强完成了实验操作指导; 动物模型的制造、各项指标的测定以及病理切片和实时定量PCR检测的测定由王欢、红梅及图拉完成; 巴根那做了蒙医传统理论和现代研究结合点的指导。

**通讯作者:** 巴根那, 教授, 028000, 内蒙古自治区通辽市西拉木伦大街西996号, 内蒙古民族大学蒙医药学院。  
[bagenna@126.com](mailto:bagenna@126.com)

收稿日期: 2016-02-21

修回日期: 2016-03-24

接受日期: 2016-03-28

在线出版日期: 2016-04-28

### Expression of MRP3 and MRP4 in pyloric ligation induced hepatic injury in rats

Huan Wang, Shan Tong, Mei Hong, Yan-Hua Xu, Batudeligen, Zhi-Qiang Han, Tula, Bagenna

Huan Wang, Mei Hong, Tula, Bagenna, College of Mongolian Medicine, Inner Mongolia University for the Nationalities, Tongliao 028000, Inner Mongolia Autonomous Region, China

Shan Tong, Department of Mongolian Medicine Surgery, the Affiliated Hospital of Inner Mongolia University for the Nationalities, Tongliao 028000, Inner Mongolia

Autonomous Region, China

Yan-Hua Xu, Batudeligen, Zhi-Qiang Han, Mongolian Clinical Research Institute, Mongolian Medicine College of Inner Mongolia University for the Nationalities, Tongliao 028000, Inner Mongolia Autonomous Region, China

**Supported by:** National Natural Science Foundation of China, No. 81441105

**Correspondence to:** Bagenna, Professor, College of Mongolian Medicine, Inner Mongolia University for the Nationalities, 996 Xilamulun West Street, Tongliao 028000, Inner Mongolia Autonomous Region, China. [bagenna@126.com](mailto:bagenna@126.com)

Received: 2016-02-21

Revised: 2016-03-24

Accepted: 2016-03-28

Published online: 2016-04-28

### Abstract

**AIM:** To detect the expression of drug-resistant related protein (MRP) 3 and MRP4 genes in pyloric ligation induced hepatic injury in rats.

**METHODS:** A rat model of pyloric ligation induced liver injury was first developed. Serum indexes were determined, and HE staining was used to observe pathological changes. Real-time quantitative PCR (qRT-PCR) was used to detect the expression of MRP3 and MRP4 in pyloric ligation induced liver injury.

**RESULTS:** Serum alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST), alkaline phosphatase (ALP), BILD2, and SBIL3 were significantly increased in model rats compared with normal rats ( $P < 0.01$  or  $P < 0.05$ ). Macroscopically, model rats showed liver congestion and peritoneal effusion. Microscopically, obvious hepatocyte

### 背景资料

蒙医理论是以“整体观”为指导下诊断和治疗疾病。此观点为依据, 本文建立了幽门结扎肝损伤, 初步探讨蒙医学胃和肝脏的相关性。

### 同行评议者

麻勇, 副研究员, 哈尔滨医科大学附属第一医院肝胆外科; 王蒙, 副教授, 中国人民解放军第二军医大学附属东方肝胆外科医院肝外综合治疗一科



## ■ 研究前沿

蒙医药学“整体观”指导思想与现代生物学基因组学和蛋白组学的相关性。从生物学角度进一步分析胃和肝脏的相关性问题。

fatty change, edema, liver cell necrosis, and liver cell apoptosis were noted in model rats. The expression of MRP3 was 3.5 times higher in the model group than in the normal group, while the expression of MRP4 was 0.05 times lower in the model group than in the normal group.

**CONCLUSION:** Pyloric ligation induces liver injury *via* mechanisms possibly associated with regulating MRP3 and MRP4 expression.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Pyloric ligation induced liver injury; Pathological form; Expression

Wang H, Tong S, Hong M, Xu YH, Batudeligen, Han ZQ, Tula, Bagenna. Expression of MRP3 and MRP4 in pyloric ligation induced hepatic injury in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(12): 1853-1859 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1853.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i12.1853>

## 摘要

**目的:** 通过实时定量PCR检测(real-time quantitative PCR, qRT-PCR)的方法研究多耐药相关蛋白-3(multidrug resistance-associated protein3, *MRP3*)、*MRP4*基因在大鼠幽门结扎性肝损伤中的表达变化。

**方法:** 采用幽门结扎法建立大鼠肝损伤模型, 测定血清指标、HE染色法在镜下观察病理形态变化、qRT-PCR方法研究MRP3、MRP4在幽门结扎性肝损伤大鼠和正常大鼠肝脏组织中的表达变化。

**结果:** 模型组与正常组比较血清谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、BILD2、SBIL3等均明显增高( $P<0.01$ 或 $P<0.05$ ); 肉眼观察模型组大鼠肝脏淤血、腹腔积水; 形态学观察肝细胞有明显的脂肪变、水肿、边膜外肝细胞大量坏死、有部分肝细胞凋亡; 肝细胞膜蛋白MRP3表达上调至正常组的3.5倍、MRP4表达下调至正常组的0.05倍。

**结论:** 幽门结扎引起肝损伤模型的形成, 与肝细胞膜蛋白MRP3、MRP4的调节有关。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 大鼠幽门结扎性肝损伤; 病理形态; 蛋白

## 表达

**核心提示:** 通过研究, 从基因和蛋白水平上解释了幽门结扎性肝损伤对肝脏分泌胆汁功能的影响, 此结果对蒙医学其他病症研究提供了研究思路, 同时对临床类似与该疾病的治疗靶点提供参考。

王欢, 佟山, 红梅, 徐艳华, 巴图德力根, 韩志强, 图拉, 巴根那. 肝细胞膜蛋白MRP3、MRP4在大鼠幽门结扎性肝损伤中的表达变化. *世界华人消化杂志* 2016; 24(12): 1853-1859 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1853.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i12.1853>

## 0 引言

大鼠幽门结扎性肝损伤是一种新型的肝损伤模型, 是基于蒙医“下结包如”病理论基础上建立的。“下结包如”病是蒙医“包如”病的一种, 在蒙医临床上病因不但复杂, 症状亦多变的重症疾病之一。主要由于饮食失节, 如过食不易消化或进食不合胃腑之食物, 滞留于胃, 蕴积不化, 致使胃中黏液增多、瘀积, 导致胃内“调火赫依(五种赫依之一)”和“消化希拉(五种希拉之一)”功能衰退, 不能分解精华和糟粕。侵入肝脏的部分又不能转化成正精, 反而恶血充斥, 影响肝脏功能(蒙医理论上, 肝脏具有造血和分泌胆汁功能<sup>[1]</sup>), 肝脏肿大, 血不循经而外溢, 又侵入胃腑、小肠和大肠, 则胃肠之消化功能因之减弱, 致使“巴达干”激增。从而引起“下结包如”病, 也叫“寒性包如病”<sup>[1]</sup>。“下结包如”病, 病因复杂尤其是与血混合则是主要原因, 所涉及到的脏器是以肝脏、胃和小肠为主。因此, 蒙医“下结包如”病是由于“肝脏、胃和小肠”代谢功能紊乱而引起的疾病。

肝细胞膜多耐药相关蛋白-3(multidrug resistance-associated protein3, *MRP3*)、*MRP4*是多耐超家族成员, 是ATP依赖的有机阴离子转运蛋白。正常生理状态下, 他作为胆汁酸排泄系统对维持胆汁酸平衡是极为重要的。*MRP3*表达于人类和啮齿类动物的许多组织中, 如肝脏、肾脏、肠道等。*MRP3*、*MRP4*定位于细胞的基底侧膜, 主要介导甘氨酸、硫酸化和牛磺酸结合的胆汁酸、胆红素葡萄糖苷酸以及许多药物的转运<sup>[2-4]</sup>。在正常生理状态下, *MRP3*、*MRP4*在肝脏中低或不表达, 但在

肝损伤性胆汁淤积模型中表达增高<sup>[5,6]</sup>。本研究中以大鼠为研究对象, 幽门结扎而引起胃溃疡, 进一步诱导肝损伤, 观察MRP3、MRP4在肝脏中的表达变化, 分析此模型对肝脏胆汁分泌的影响, 为该方法引起肝损伤的病理机制研究提供实验数据。

## 1 材料和方法

1.1 材料 SD ♂ 大鼠, SDF级, 体质量约200 g, 由辽宁本溪实验动物中心提供, 实验动物合格证号: SCXK(辽)2014-0029。动物组织总RNA提取试剂盒[天根生化(北京)科技有限公司, 批号: DP121221]; cDNA第一链合成试剂盒[天根生化(北京)科技有限公司, 批号: KR140818]; miRcute miRNA荧光定量试剂盒[天根生化(北京)科技有限公司, 批号: Lot#N3028]; 水合氯醛; 甲醛; MRP3、MRP4等基因特异性引物[由生工生物工程(上海)股份有限公司合成]; 谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)试剂盒(德国罗氏疾病诊断有限公司提供, 批号: 20140618); 谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)(德国罗氏疾病诊断有限公司提供, 批号: 20130206); BILD2(德国罗氏疾病诊断有限公司提供, 批号: 20140618); BILD2(德国罗氏疾病诊断有限公司提供, 批号: 20130206); 碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)(德国罗氏疾病诊断有限公司提供, 批号: 20130708); 谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)(南京建成生物工程中心提供, 批号: 20140903); 总蛋白测试试剂盒(南京建成生物工程中心提供, 批号: 20141128); 实时定量PCR(real-time quantitative PCR, qRT-PCR)检测仪(型号: AB Applied Biosystems, Stepone); 凝胶成像系统(型号: WD-9413B, 北京市六一仪器厂提供); 超速冷冻离心机(型号: TGL-18R Refrigerated Centrifuge); 二级生物安全净化工作台(型号: BH-C-1300II B2, 江苏安泰空气技术有限公司提供); TGear微型离心机(型号: 0SE-MC8, 天根生化科技有限公司提供); 移液枪1000、100、10  $\mu$ L(型号: eppendorf Research plus); 罗氏全自动生化分析仪(型号: cobas c 311); 酶标液(型号: SUNRISE); 紫外分光光度计(型号: T6新世纪); 电泳仪(型号: DYY-6D型, 北京市六一仪器厂提供); 微波炉(型号: G80W23YSL-V9, 佛山市顺德区格兰仕

微波炉电器有限公司提供); 小型电动匀浆器(天根生化科技有限公司提供); 梯度PCR(型号: Multigene Gradient)。

## 1.2 方法

1.2.1 部分试剂液的配制: 10%甲醛: 取10 mL甲醛溶液加36 mL蒸馏水; 10%水合氯醛: 10 g水合氯醛固体加至蒸馏水100 mL; DNase I工作液: 取10  $\mu$ L DNase I储存液放入新的RNase-Free离心管中, 加入70  $\mu$ L缓冲液RDD, 轻柔混合。

1.2.2 幽门结扎性肝损伤模型的建立: 取20只 ♂ 大鼠, 在实验室环境中适应1 wk, 按体质量随机分成2组, 即正常组和模型组。实验开始后禁食不禁水24 h, 用10%水合氯醛麻醉(给药剂量3 mg/kg), 指定位置消毒, 在无菌情况下开腹结扎幽门, 缝合腹腔。术后单笼饲养, 禁食禁水16-18 h, 用10%水合氯醛麻醉, 开腹, 腹主动脉采血, 取肝脏。分离血清(在37  $^{\circ}$ C水浴锅放置30 min, 3000 r/min, 离心10 min, 取上清液)备用。肝脏用生理盐水清洗后, 称质量, 迅速分装, 液氮冻置, -80  $^{\circ}$ C保存备用。一部分固定在10%甲醛24 h, HE染色, 在镜下观察病理形态变化。

1.2.3 检测指标: (1)测定血清生化指标: ALT、AST、ALP、BILD2、SBIL3、GSH-Px等指标的测定均按照试剂盒说明书要求操作; (2)组织病理检查: 取大鼠相同部位的肝组织, 大小5 mm $\times$ 5 mm, 置于10%甲醛中, 固定24 h。样品用梯度乙醇脱水和二甲苯透明后, 同石蜡包埋, 制备5  $\mu$ m连续切片, 用HE法染色, 并镜下观察形态变化; (3)qRT-PCR: 总RNA的提取、逆转录、荧光定量扩增液的配制均按照试剂盒步骤操作。PCR扩增反应的条件为95  $^{\circ}$ C 15 min、95  $^{\circ}$ C 10 s、60  $^{\circ}$ C 32 s、60  $^{\circ}$ C 1 min、95  $^{\circ}$ C 15 min。以磷酸甘油醛脱氢酶基因(*GAPDH*)作为扩增实验的内参对照, 按 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算目标基因相对水平。各基因引物序列如表1。提取总RNA纯度检测时 $A_{260/280}$ 均为1.8-2.1(图1)。

**统计学处理** 血清指标应用SPSS17.0统计软件, 数据以mean $\pm$ SD表示,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 大鼠幽门结扎性肝损伤动物模型对血清指标的影响 与正常组比较, 模型组AST、ALT、BILD2、SBIL3明显高于正常组, 差异具有统

## ■创新盘点

以蒙医理论为指导下建立的幽门结扎性肝损伤模型, 且从基因水平上初步探讨了它的发病机制。该模型与其他肝损伤模型比较操作简单, 重现性好, 成功率高, 经济实惠, 安全可靠。

应用要点

为蒙医肝脏与胃的相关性提供基因水平的分析打好基础,也为临床类似消化系统疾病的诊断和治疗靶点提供实验依据。

表 1 RT-PCR寡核苷酸引物序列

基因	上游5'-3'	下游5'-3'
<i>GAPDH</i>	GATTGTTGCCATCAACGACC	GTGCAGGATGCATTGCTGAC
<i>MRP3</i>	TTCCGATTCAACCACTTTCTACA	GGCAAGGATTTGTGTCAAGATT
<i>MRP4</i>	GAAGGAAAATGAGGAAGCAGAG	GGATGACTGTTGCCAAATC

表 2 大鼠幽门结扎性肝损伤动物模型对各项指标的影响 (n = 10, mean ± SD)

指标	正常组	模型组
AST(U/L)	149.58 ± 28.52	861.63 ± 195.63 <sup>b</sup>
ALT(U/L)	30.43 ± 4.72	198.25 ± 60.05 <sup>b</sup>
ALP(U/L)	121.92 ± 22.01	143.67 ± 26.53 <sup>a</sup>
肝指数	2.67 ± 0.17	2.88 ± 0.15 <sup>a</sup>
BILD2(U/L)	0.58 ± 0.16	0.84 ± 0.16 <sup>b</sup>
SBIL3(U/L)	0.33 ± 0.27	0.89 ± 0.33 <sup>b</sup>
GSH-Px(U/L)	259.12 ± 55.22	210.76 ± 45.55 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>P<0.05, <sup>b</sup>P<0.01 vs 正常组. ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶; ALP: 碱性磷酸酶; GSH-Px: 谷胱甘肽过氧化物酶。

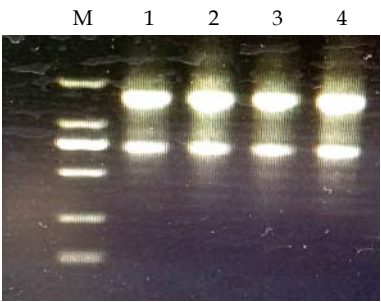


图 1 提取总RNA纯度检测. M: maker; 1, 2: 正常组; 3, 4: 模型组。

计学意义(P<0.01), 模型组ALP、肝指数明显高于正常组, 差异具有统计学意义(P<0.05). 模型组GSH-Px明显降低(P<0.05)(表2).

2.2 大鼠幽门结扎性肝损伤动物模型对肝脏组织的影响 镜下观察结果表明, 模型组大鼠肝脏具有明显的脂肪变、水肿、边膜外肝细胞大量坏死、有部分肝细胞凋亡等形态改变(图2A, B). 大鼠腹腔内变黄疸, 肝脏淤血及腹水(图2C, D).

2.3 大鼠幽门结扎性肝损伤动物模型对肝细胞膜蛋白MRP3、MRP4的影响 采用qRT-PCR检测幽门结扎引起大鼠肝损伤, 观察肝细胞膜蛋白MRP3、MRP4表达的影响, 与正常组比较模

型组对肝细胞膜蛋白MRP3表达与正常组上调至3.5倍, 对肝细胞膜蛋白MRP4的表达与正常组下调至0.05倍(表3, 图3).

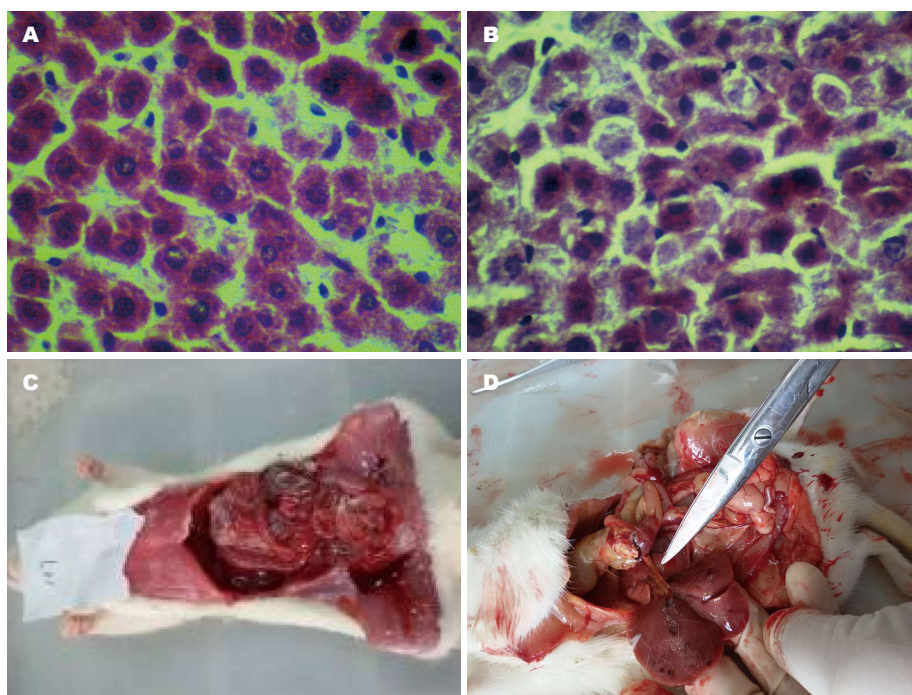
3 讨论

蒙医对胃的认识: 胃位于膈下上腹部, 上接食道, 下通小肠, “希拉”之总位, 也是“病变巴达干”窜行之道. 另外“消化三能”, 即磨碎巴达干、消化希拉和调火赫依共存于胃内, 在正常情况下“消化三能”处于动态平衡中, 顺利完成代谢功能, 也就是说, 胃内食物经磨碎巴达干(五种巴达干, 即主靠巴达干、腐熟巴达干、司味巴达干、能足巴达干、能合巴达干等<sup>[1]</sup>之一)所腐熟成甘味泡沫状乳糜; 其次被消化希拉所溶解转化为酸味; 最后被调火赫依分解成苦味的精华和糟粕<sup>[1]</sup>, 经过初步消化分成的精华经脉道被送至肝脏。

蒙医对肝脏的认识: 肝脏位于右侧上腹, 横膈之下, “希拉”之总位, 五元(即木、火、土、铁、水等五元素)中之火元素精华所藏之处, 也是“变色希拉(五种希拉之一)”之所舍, 也是“病变希拉”窜行之道. 肝脏生理功能是通过“分热能”和“变色希拉”之作用, 使水谷之精华生化血液, 即食物借“司命赫依(五种赫依之一)”之作用被咽进胃内所分成的精华经脉道被送至肝脏的部分在肝脏内通过“变色希拉”之作用变成血液, 同时把肝内生成的血液之糟粕一胆汁液则留于消化系内, 辅助滋养胃之腐熟巴达干<sup>[1]</sup>.

蒙医对肝脏与胃关系的认识: 胃内分成的精华经脉道被送至肝脏. 如果饮食、起居、气候、其他等四种致病条件变化而导致胃内“消化三能”动态平衡被破坏的话就能引起相应的疾病, 从而影响到下一个脏器, 即肝脏. 乌云其木格<sup>[7]</sup>“胃《宝日》病的治疗体会”; 大格巴雅尔等<sup>[8]</sup>“胃(包如)溃疡临床治验”; 齐淑芬<sup>[9]</sup>“胃、十二直肠溃疡治验”; 布仁特古斯<sup>[10]</sup>“治疗肝《宝日》病(肝硬化)2例”; 陈





### 名词解释

三根: 指的是人体赖以进行生命活动的三种能量和基本物质(即赫依、希拉、巴达干);

七素: 指的是构成人体和维持生命活动之七种基本物质(即食物精华、血、肉、脂、骨、骨髓、精液)。

图2 大鼠幽门结扎性肝损伤动物模型对组织形态学的影响. A, C: 正常组(A×400); B, D: 模型组(B×400).

表3 地格达-4味汤对幽门结扎性肝损伤大鼠肝细胞膜蛋白MRP3和MRP4的影响 ( $n=10$ , mean  $\pm$  SD)

蛋白	正常组	模型组
MRP3( $\Delta$ Ct)	$-5.8544 \pm 1.2353$	$-7.6438 \pm 4.6084$
$-\Delta\Delta$ Ct	—	1.7894
$2^{-\Delta\Delta}$ Ct	—	3.4568
MRP4( $\Delta$ Ct)	$2.5222 \pm 1.2515$	$6.7146 \pm 3.9845$
$-\Delta\Delta$ Ct	—	-4.1924
$2^{-\Delta\Delta}$ Ct	—	0.0547

会议联合修订的《病毒性肝炎(淤胆性)防治方案》制定标准中提示,血清胆红素升高,一直接胆红素为主,碱性磷酸酶也升高. GSH-Px是细胞内抗脂质过氧化作用的酶性保护系统的主要成分,可催化过氧化脂(lipid peroxide, LPO)分解生成相应的醇,防止LPO均裂和引发脂质过氧化作用的链式支链反应,减少LPO的生成以保护机体免受损害. 研究<sup>[16-18]</sup>发现梗阻性黄疸时肝脏脂质过氧化作用活跃,自由基清除系统下降.

肝细胞膜蛋白MRP3、MRP4是多耐超家族成员,是ATP依赖的有机阴离子转运蛋白. 正常生理状态下,他作为胆汁酸排泄系统对维持胆汁酸平衡是极为重要的. MRP3表达于人类和啮齿类动物的许多组织中,如肝脏、肾脏、肠道等. 在胆汁淤积状态下,当肝内和系统内胆汁酸水平增加,复杂的适应性反映被激活,进而抵抗胆汁淤积性肝损伤. 其中基底外侧膜MRP3和MRP4是肝细胞预防系统的重要的转运蛋白,他们主要介导胆汁酸、硫酸盐以及某些抗癌药物的转运<sup>[3,4]</sup>.

总之,幽门结扎引起胃溃疡,进一步诱发肝损伤,结果导致肝脏功能紊乱胆汁酸分泌障碍,初步证实了蒙医理论的胃和肝脏的相关性,此造模方法正好吻合蒙医学“整体观”理论. 其他相关研究正在进行中.

海洁<sup>[11]</sup>“胃溃疡治验”;都格尔扎布<sup>[12]</sup>“治疗《宝日》症的体会”;锁链经验天山整理的“胃溃疡的治疗经验”<sup>[13]</sup>;胡宝力高<sup>[14]</sup>“酒精中毒引起肝病的治疗”;白万福等<sup>[15]</sup>的“蒙医治疗《肝硬化》23例”等文献均能证明蒙医临床上肝脏和胃疾病的情况及之间相互的联系性. 蒙医理论是以“整体观”为指导下诊断和治疗疾病,因此外界环境和个体是统一体,外界环境和个人习惯直接影响到人体的“三根”和“七素”,进而影响到胃内“消化三能”的动态平衡,进一步影响到肝脏.

实验结果得知,血清中通常被用做肝损伤最敏感性指标的AST、ALT明显升高;ALP、肝脏指数、BILD2、SBIL3也明显升高;肝脏组织中GSH-Px明显降低. 参照2000-09中华医学会传染病与寄生虫病分会,肝病学会西安

同行评价

本文建立了新型的肝损伤模型,即大鼠幽门结扎性肝损伤,此模型操作简单,重现性好,成功率高,经济实惠,安全可靠,为蒙医学病症研究提供思路,也为临床类似消化系统疾病的诊断和治疗靶点提供实验依据。

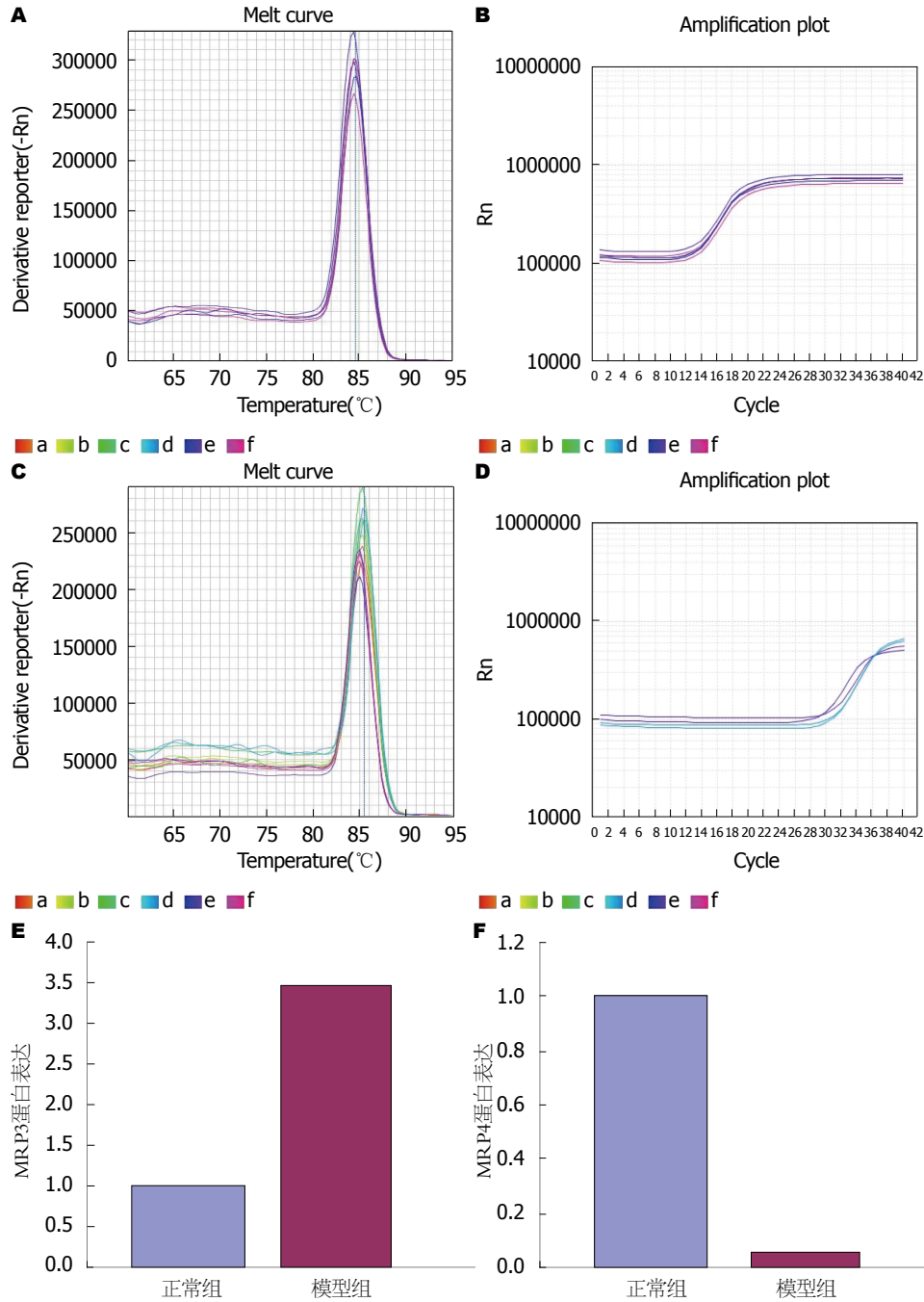


图 3 MRP3、MRP4扩增图、溶解曲线及蛋白表达。A: MRP3扩增图; B: MRP3溶解曲线; C: MRP4扩增图; D: MRP4溶解曲线; E: MRP3的蛋白表达; F: MRP4的蛋白表达。

4 参考文献

- 1 百清云. 中国医药百科全书·蒙医学(第1版). 上海: 上海科技出版社, 1992
- 2 Anakk S, Watanabe M, Ochsner SA, McKenna NJ, Finegold MJ, Moore DD. Combined deletion of Fxr and Shp in mice induces Cyp17a1 and results in juvenile onset cholestasis. *J Clin Invest* 2011; 121: 86-95 [PMID: 21123943 DOI: 10.1172/JCI42846]
- 3 Scheffer GL, Kool M, de Haas M, de Vree JM, Pijnenborg AC, Bosman DK, Elferink RP, van der Valk P, Borst P, Scheper RJ. Tissue distribution and induction of human multidrug resistant protein 3. *Lab Invest* 2002; 82: 193-201 [PMID: 11850532 DOI: 10.1038/labinvest.3780411]
- 4 Hirohashi T, Suzuki H, Takikawa H, Sugiyama Y. ATP-dependent transport of bile salts by rat multidrug resistance-associated protein 3 (Mrp3). *J Biol Chem* 2000; 275: 2905-2910 [PMID: 10644759 DOI: 10.1074/jbc.275.4.2905]
- 5 Denk GU, Soroka CJ, Takeyama Y, Chen WS, Schuetz JD, Boyer JL. Multidrug resistance-associated protein 4 is up-regulated in liver but down-regulated in kidney in obstructive cholestasis in the rat. *J Hepatol* 2004; 40: 585-591 [PMID: 15030973 DOI: 10.1016/j.jhep.2003.12.001]
- 6 Donner MG, Keppler D. Up-regulation of

- basolateral multidrug resistance protein 3 (Mrp3) in cholestatic rat liver. *Hepatology* 2001; 34: 351-359 [PMID: 11481620 DOI: 10.1053/jhep.2001.26213]
- 7 乌云其木格. 胃《宝日》病的治疗体会. 蒙医药 1993; (3): 19-25
- 8 大格巴雅尔, 敖特根其木格. 胃(包如)溃疡临床治验. 蒙医药 1993; (3): 28
- 9 齐淑芬. 胃、十二指肠溃疡治验. 蒙医药 1991; (3): 20-21
- 10 布仁特古斯. 治疗肝《宝日》病(肝硬化)2例. 蒙医药 1991; (2): 12-13
- 11 陈海洁. 胃溃疡治验. 蒙医药 1991; (1): 24-26
- 12 都格尔扎布. 治疗《宝日》症的体会. 蒙医药 1990; (2): 12-14
- 13 锁链经验天山整理. 胃溃疡的治疗经验. 蒙医药 1990; (1): 14-15
- 14 胡宝力高. 酒精中毒引起肝病的治疗. 蒙医药 1999; (2): 23
- 15 白万福, 斯琴格日乐. 蒙医治疗《肝硬化》23例. 蒙医药 1996; (2): 30-32
- 16 Ito H, Asahi H, Horiuchi S. [Role of oxygen radicals in the pathogenesis of acute gastric mucosal lesion under obstructive jaundice]. *Nihon Geka Gakkai Zasshi* 1993; 94: 225-233 [PMID: 8316198]
- 17 Ohshio G, Miyachi Y, Kudo H, Niwa Y, Manabe T, Tobe T. Effects of sera from patients with obstructive jaundice on the generation of oxygen intermediates by normal polymorphonuclear leukocytes. *Liver* 1988; 8: 366-371 [PMID: 2851082 DOI: 10.1111/j.1600-0676.1988.tb01018.x]
- 18 Singh S, Shackleton G, Ah-Sing E, Chakraborty J, Bailey ME. Antioxidant defenses in the bile duct-ligated rat. *Gastroenterology* 1992; 103: 1625-1629 [PMID: 1426883]

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》参考文献要求

**本刊讯** 本刊采用“顺序编码制”的著录方法,即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序.提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映,并在文内引用处右上角加方括号注明角码.文中如列作者姓名,则需在“Pang等”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注角码号.如马连生<sup>[1]</sup>报告……,研究<sup>[2-5]</sup>认为……;PCR方法敏感性高<sup>[6,7]</sup>.文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8].所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献,包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和 *World Journal of Gastroenterology* (<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>).期刊: 序号, 作者(列出全体作者).文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.



# 维生素D<sub>3</sub>衍生物MART-10对人胰腺癌BxPC-3细胞的生长及survivin mRNA、c-myc蛋白、P21蛋白表达的影响

杨晟, 林军

## ■背景资料

胰腺癌的病因尚未明确, 临床表现多变, 没有特异性, 发现时多为中晚期, 已失去手术机会, 化疗药物不良反应大。维生素D及其衍生物有望成为临床上治疗胰腺癌的一种辅助药物治疗方法, 对于降低患者病死率, 提高患者生存率, 改善患者的生活质量有一定作用。

杨晟, 林军, 武汉大学中南医院消化内科 湖北省武汉市 430071

杨晟, 主要从事消化系统肿瘤防治的研究。

湖北省自然科学基金资助项目, No. 2014CFB747

**作者贡献分布:** 本课题由杨晟与林军共同设计; 研究所用试剂和设备由杨晟提供; 杨晟主要负责实验完成及数据结果的分析及文章的撰写; 林军主要负责文章的审核、修改、校对及实验辅导。

**通讯作者:** 林军, 教授, 硕士生导师, 430071, 湖北省武汉市武昌区东湖路169号, 武汉大学中南医院消化内科。  
 linjun64@126.com

收稿日期: 2016-01-08  
 修回日期: 2016-03-02  
 接受日期: 2016-03-08  
 在线出版日期: 2016-04-28

Accepted: 2016-03-08

Published online: 2016-04-28

## Abstract

**AIM:** To analyze the effect of MART-10, a new kind of vitamin D<sub>3</sub> derivative, on cell growth and proliferation and the expression of *survivin* mRNA, c-myc protein and P21 protein in BxPC-3 cells.

**METHODS:** After BxPC-3 cells were treated with MART-10, the growth of BxPC-3 cells was assessed by MTT assay, cell cycle was analyzed by flow cytometry, *survivin* mRNA level was detected by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR), and c-myc and P21 protein expression was detected by Western blot.

**RESULTS:** Treatment with MART-10 significantly inhibited the growth of BxPC-3 cells, and the IC<sub>50</sub> concentration was 10<sup>-7</sup> mmol/L. Flow cytometry results suggested that the proportion of S phase cells was decreased and the proportion of cells in G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> phase was increased after treatment with MART-10. RT-PCR results showed that MART-10 significantly downregulated the mRNA level of *survivin* gene. Western blot results indicated that MART-10 significantly increased the protein levels of P21 but decreased the protein expression of c-myc.

**CONCLUSION:** Our results suggest that MART-10 can effectively inhibit the growth and proliferation of BxPC-3 cells, and the mechanism may be related with its influence on the expression of *survivin*, c-myc and P21.

## Effect of vitamin D<sub>3</sub> derivative MART-10 on cell growth and expression of *survivin* mRNA, c-myc protein and P21 protein in BxPC-3 cells

Sheng Yang, Jun Lin

Sheng Yang, Jun Lin, Department of Gastroenterology, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, Hubei Province, China

Supported by: Hubei Provincial Natural Science Foundation, No. 2014CFB747

Correspondence to: Jun Lin, Professor, Department of Gastroenterology, Zhongnan Hospital of Wuhan University, 169 Donghu Road, Wuchang District, Wuhan 430071, Hubei Province, China. linjun64@126.com

Received: 2016-01-08  
 Revised: 2016-03-02

## ■同行评议者

韩双印, 主任医师, 郑州大学人民医院消化内科

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Vitamin D<sub>3</sub> derivative; BxPC-3 cells; *survivin* gene; c-myc protein; P21

Yang S, Lin J. Effect of vitamin D<sub>3</sub> derivative MART-10 on cell growth and expression of survivin mRNA, c-myc protein and P21 protein in BxPC-3 cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(12): 1860-1865 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1860.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i12.1860>

## 摘要

**目的:** 研究维生素D<sub>3</sub>衍生物MART-10对人胰腺癌BxPC-3细胞的生长及survivin mRNA、c-myc蛋白、P21蛋白表达的影响,以期探讨其抑癌机制。

**方法:** 四甲基谷氮咪盐(methyl-thiazolyl-tetrazolium, MTT)比色法检测MART-10对BxPC-3细胞生长的影响;流式细胞术检测细胞周期,观察细胞的生长情况;逆转录-聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)法检测BxPC-3细胞中survivin mRNA的表达;Western blot法检测BxPC-3细胞中c-myc蛋白和P21蛋白的表达。

**结果:** MTT结果显示, MART-10可显著抑制人胰腺癌BxPC-3细胞的生长,其抑制50%细胞生长的给药浓度(IC<sub>50</sub>)为10<sup>-7</sup> mmol/L;流式细胞术结果显示,癌细胞在MART-10的作用下, G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期的细胞比例上升而S期的细胞比例则下降;RT-PCR及Western blot结果表明,随着MART-10作用时间的延长及给药浓度的增加,胰腺癌BxPC-3细胞中survivin mRNA和c-myc蛋白的表达量逐渐减低,而P21蛋白的表达量则逐渐增强。

**结论:** 维生素D<sub>3</sub>衍生物MART-10对人胰腺癌BxPC-3细胞的生长具有显著抑制作用,其作用的机制可能与其调节survivin、c-myc及P21的表达有关。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 维生素D<sub>3</sub>衍生物; BxPC-3细胞; *survivin* 基因; c-myc蛋白; P21蛋白

**核心提示:** 本研究使用四甲基谷氮咪盐检测生长抑制率,流式细胞术分析细胞周期,逆转录-聚合酶链反应与Western blot法检测survivin

mRNA、c-myc蛋白和P21蛋白的表达,探讨了MART-10对人胰腺癌BxPC-3细胞的抗肿瘤机制,认为MART-10有望成为临床上治疗胰腺癌的一种新型靶向基因治疗药物。

杨晟, 林军. 维生素D<sub>3</sub>衍生物MART-10对人胰腺癌BxPC-3细胞的生长及survivin mRNA、c-myc蛋白、P21蛋白表达的影响. *世界华人消化杂志* 2016; 24(12): 1860-1865 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1860.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i12.1860>

## 0 引言

Norman等于1991年首次合成了一种名为EB1089的维生素D衍生物<sup>[1]</sup>,自此,多种维生素D的衍生物相继被合成出来。MART-10是一种新型的维生素D<sub>3</sub>衍生物,其具有显著抑制肿瘤细胞的生长、增殖,促进肿瘤细胞的分化等作用<sup>[2]</sup>,除此之外,有研究<sup>[3]</sup>报道, MART-10可显著提高患者的血钙水平,具有诸多抗癌及防癌的药学活性,国内外医师已将其初步运用于部分恶性肿瘤(如乳腺癌、肝癌、前列腺癌、结肠癌)的临床预防及治疗等方面,但其对人体胰腺癌的临床应用效果还未报道<sup>[4]</sup>。本研究通过采用不同浓度的MART-10对体外培养的人胰腺癌BxPC-3细胞进行干预,分析其对BxPC-3细胞的生长、增殖等方面的影响,研究其抗胰腺癌的可能机制,为人类胰腺癌的防治提供新思路。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 人胰腺癌BxPC-3细胞系购自美国菌种保藏中心(American Tissue Type Culture Collection, ATCC)。MART-10(购自Christina Mk Hansen, M. Sc.药业公司),于-20℃冰箱内避光保存,使用时采用RPMI 1640培养基和二甲亚砜(DMSO)进行稀释。将细胞置于37℃、50 mL/L CO<sub>2</sub>的细胞培养箱内,使用含10%胎牛血清、2 g NaHCO<sub>3</sub>及80000 U/L庆大霉素的RPMI 1640培养基(购自Gibico, UK)进行培养、传代,取处于对数生长期的细胞进行实验,以2×10<sup>5</sup>个细胞/mL的密度接种到96孔细胞培养板上,50 μL/孔,其中实验组按照MART-10给药浓度的不同分为5组,且每组均设5个复孔。分别向每孔中加入50 μL MART-10,使其终浓度分别为10<sup>-11</sup> mmol/L、10<sup>-10</sup> mmol/L、10<sup>-9</sup> mmol/L、10<sup>-8</sup> mmol/L和10<sup>-7</sup> mmol/L,而对照组中则加入等量的RPMI 1640

## ■ 研究前沿

MART-10在多种恶性肿瘤中表现出强大的抗肿瘤作用,且可提高患者的血钙水平,具有诸多抗癌及防癌的药学活性,国内外医师已将其初步运用于临床预防及治疗等方面,但其对人体胰腺癌的临床应用效果还未报道。

## ■ 相关报道

维生素D及其衍生物对多种恶性肿瘤有抗肿瘤作用。已有研究报道,其与细胞内的高亲和受体结合,调节有关基因和蛋白的表达,使细胞周期发生阻滞,促进细胞凋亡,抑制肿瘤细胞生长,在乳腺癌、肝癌、前列腺癌、结肠癌、基底细胞癌等肿瘤中发挥抑癌作用,随着认识的深入,将会发现其对更多的肿瘤有抑癌作用。

■ 创新盘点

MART-10可抑制人胰腺癌BxPC-3细胞的生长, 通过调节survivin、c-myc及P21的表达使其发生细胞周期阻滞, 促进其凋亡, 对其涉及的可能机制进行了深入分析.

表 1 MART-10给药浓度对胰腺癌细胞的生长抑制率的分析 (mean ± SD)

指标	空白对照	阴性对照	给药浓度(mmol/L)				
			10 <sup>-11</sup>	10 <sup>-10</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-7</sup>
吸光度值	0.04 ± 0.01	1.40 ± 0.01	1.27 ± 0.03	1.17 ± 0.03	1.13 ± 0.01	1.02 ± 0.02	0.74 ± 0.02
生长抑制率(%)			9.75 ± 2.81	17.32 ± 0.27	20.10 ± 0.80	28.82 ± 1.26	55.75 ± 2.05
P值			<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

培养基和DMSO(<0.1% V/V), 以上所有操作均需在避光、无菌环境下进行.

1.2 方法

1.2.1 四甲基谷氮咪盐(methyl-thiazolyl-tetrazolium, MTT)实验检测生长抑制率: 将细胞置于37℃、50 mL/L CO<sub>2</sub>细胞培养箱中培养72 h后, 吸取上清, 每孔按照1:10的比例加入100 μL 5 g/L的MTT(购自华美生物公司)孵育4 h后, 加入DMSO以终止反应, 震荡30 min后采用酶标仪(型号为: SLP SPECTRA-1)于575 nm波长处测定其吸光度(A)值, 并计算各浓度MART-10对胰腺癌细胞生长的抑制率, 其中抑制率的计算公式为: 抑制率 = (阴性对照组的A值-空白对照组的A值-观察组的A值)/(阴性对照组的A值-空白对照组的A值).

1.2.2 流式细胞法分析细胞周期: 使用1×10<sup>-7</sup> mmol/L的MART-10处理人胰腺癌BxPC-3细胞72 h后, 0.25%的胰蛋白酶对其进行消化并收集细胞, 经PBS洗涤后采用70%冷乙醇固定24 h, 后经PBS洗涤并制备单细胞悬液, 采用50 μg/mL的RNA酶在37℃条件下反应30 min, 50 μg/mL的PI于4℃条件下进行避光染色1 h, 将细胞的浓度调节为10<sup>6</sup>个/mL后上流式细胞仪检测, 根据其DNA的含量对细胞周期的变化进行分析.

1.2.3 逆转录-聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)检测survivin基因的表达: TRIzol法提取细胞总RNA, 逆转录合成cDNA, RT-PCR法检测survivin mRNA的表达. cDNA扩增survivin基因的引物序列为: 5'-GGACCTCCGCACCTCTACAT-3'(上游)和5'-GCACTTTCTTCGCAGTTTCC-3'(下游); 内参为: β-肌动蛋白(β-action), 其引物序列为: 5'-CGCTGCGCTGGTCGTCGACA-3'和5'-GTCACGCACGATTTCCCGCT-3'. PCR反应体系如下: 1 μL的cDNA, 2 μL 2.5 mmol/L的dNTP, 0.5 μL 20 pmol/L的上下游引物, 0.25 μL 1.25 U的Pfu DNA聚合酶, 2.5 μL 5×Pfu

DNA聚合酶缓冲液, 反应的条件为: 94℃, 40 s; 60℃, 1 min; 72℃, 1 min; 共计32个循环. 以β-actin为内参对其转录效率进行检测. PCR的产物采用2%的琼脂糖凝胶进行电泳分析, 采用溴化乙锭(EB)对其进行显色并拍照.

1.2.4 Western blot法检测c-myc蛋白和P21蛋白的表达: 收集各组细胞, 提取蛋白, 酚试剂法检测蛋白含量, 取50 μg蛋白上样进行SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE), 后将蛋白转印至硝酸纤维素膜(NC)上, 小牛血清封闭后分别采用一抗(1:2000的稀释比)和辣根过氧化物酶标记的二抗(1:1000的稀释比)进行孵育, 并采用化学发光试剂进行增强反应, 采用X光片进行压片曝光, 凝胶成像仪对其结果进行分析.

统计学处理 采用统计学软件SPSS17.0进行统计分析, 其中计量资料采用mean±SD表示, 而计数资料采用百分率(%)表示, 组间比较采用方差分析, 采用Q检验进行显著性检验, 将P<0.05定义为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 人胰腺癌BxPC-3细胞生长抑制率分析 本研究中, 对照组胰腺癌细胞生长状态良好, 而实验组BxPC-3细胞的生长抑制率随MART-10药物的浓度上升而逐渐提高, 其中最大抑制率可达54.7%(表1), 各药物浓度组的组间F值为12.38, 经统计分析, 具有显著性差异(P<0.05).

2.2 细胞周期变化分析 流式细胞术结果提示, 对照组癌细胞的周期分布比例为: G<sub>1</sub>期: 47%, S期: 18%, G<sub>2</sub>/M期: 14%; 实验组(1×10<sup>-7</sup> mmol/L)的细胞周期分布比例: G<sub>1</sub>期: 72%, S期: 7%, G<sub>2</sub>/M期: 11%(图1). 给药后其G<sub>1</sub>期的细胞比例上升, DNA合成较活跃的S期其细胞比例则下降, 产生了G<sub>1</sub>期细胞的阻滞效应.

2.3 BxPC-3细胞中survivin基因的表达分析 RT-PCR结果表明, MART-10可显著抑制人胰腺癌BxPC-3细胞中survivin基因的表达, 且其表达量均随给药浓度的增加及作用时间的延长而



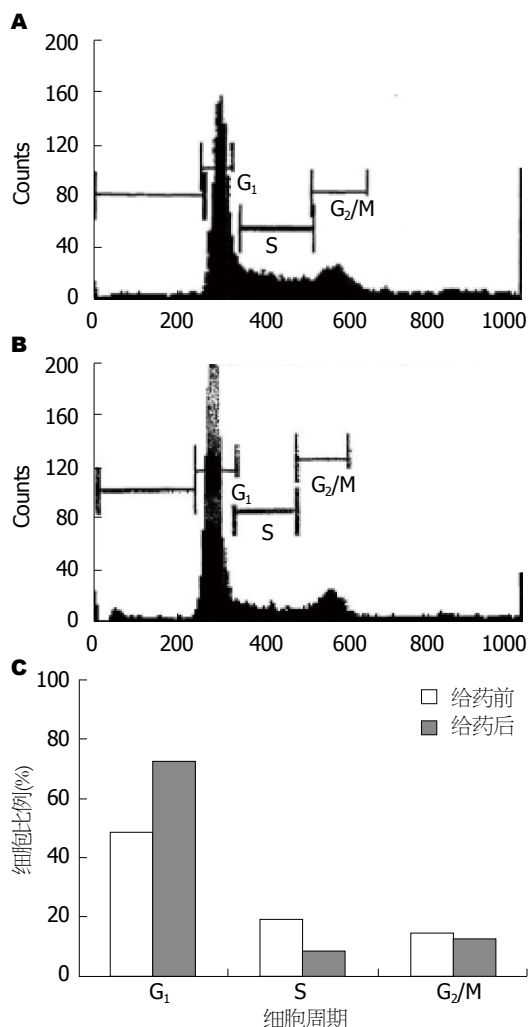


图1 流式细胞法检测细胞周期. A: 给药前; B: 给药后; C: 给药前后胰腺癌细胞周期变化比较.

逐渐下降(图2)

**2.4 c-myc蛋白和P21蛋白的表达分析** Western blot结果提示, MART-10可抑制人胰腺癌BxPC-3细胞中c-myc蛋白的表达, 促进P21蛋白的表达, 其中随着作用时间的延长及药物浓度的增加, c-myc蛋白的表达量逐渐下降(图3A, B), 而P21蛋白的表达量则逐渐上升(图3C, D).

### 3 讨论

维生素D<sub>3</sub>及其衍生物已在多种恶性疾病中得到应用<sup>[5]</sup>. 肿瘤发生的根本原因在于基因组不稳定, 使本来应停止增殖或生理性凋亡的细胞不停地进入细胞周期, 因而造成恶性增生. 研究<sup>[6]</sup>表明, 维生素D具有抗肿瘤的药理活性, 体外实验发现其抗肿瘤的效应主要是与其细胞内的高亲和力受体, 即维生素D受体(vitamin D receptor, VDR)发生结合. 该受体属于类固醇

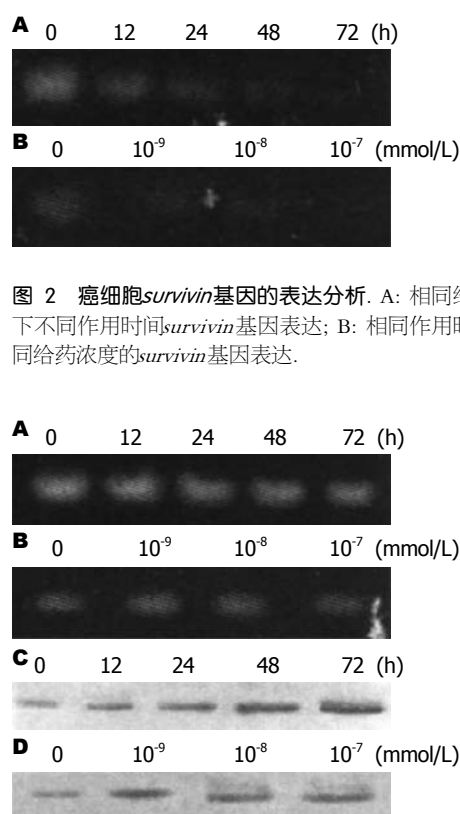


图2 癌细胞survivin基因的表达分析. A: 相同给药浓度下不同作用时间survivin基因表达; B: 相同作用时间下不同给药浓度的survivin基因表达.

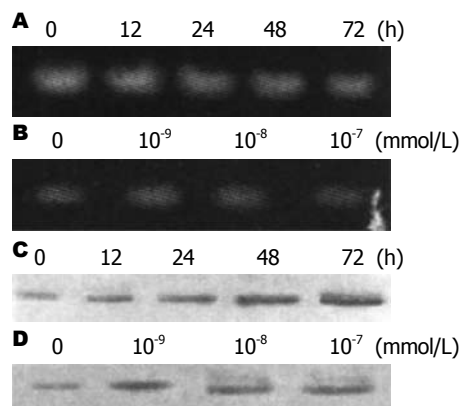


图3 c-myc和P21蛋白的表达分析. A: 相同给药浓度下不同作用时间的c-myc蛋白表达; B: 相同作用时间下不同给药浓度的c-myc蛋白的表达; C: 相同给药浓度下不同作用时间的P21蛋白表达; D: 相同作用时间下不同给药浓度的P21蛋白的表达.

受体超家族成员, 这种配体-受体复合物可作为一种影响DNA特定序列转录的反应元件(vitamin D response element, VDRE), 在特定基因转录及翻译过程中起作用, 使其基因的转录过程被激活或受到抑制<sup>[7,8]</sup>. 人体内约有50多种基因对维生素D具有敏感性, 其中很大一部分为VDRE. 国内外研究表明, 维生素D对胆囊、结肠、垂体、甲状腺、前列腺、乳腺癌或白血病等均具有不同程度地抑制细胞生长、促进细胞分化等作用. 但维生素D的提高血钙水平的不良反应使其在抗肿瘤的临床应用受到了限制<sup>[9]</sup>. 本次研究中采用的药物MART-10是合成维生素D<sub>3</sub>的衍生物之一, 其能显著抑制肿瘤细胞的生长、促进其分化, 还可提高患者的血钙水平, 其对肿瘤细胞周期的调节作用是1,25(OH)<sub>2</sub>维生素D<sub>3</sub>的200倍之多, 而对血钙含量的影响仅是1,25(OH)<sub>2</sub>维生素D<sub>3</sub>的50%左右<sup>[10]</sup>. 通过采用MTT法检测发现, 给药72 h后, 胰腺癌细胞的生长抑制率达55%, 可见胰腺癌细胞对MART-10具有一定程度的敏感

**应用要点**  
维生素D导致的高钙血症不良反应使其在抗肿瘤的临床应用中受到了限制. MART-10是合成维生素D<sub>3</sub>的衍生物之一, 其能显著抑制肿瘤细胞的生长、促进其分化, 还可提高患者的血钙水平, 其有望产生更强大的抗肿瘤作用和更小的不良反应.

# ■名词解释

维生素D受体(VDR): 即维生素D受体, 是一种核转录因子, 通过与配体特异结合, 调控多种基因的表达, 从而调节多种生命活动的进行。

性, MART-10对胰腺癌细胞具有明显的生长抑制效应, 且这一效应具有剂量依赖性。

细胞凋亡对于多细胞生物体的发育和稳态的维持是至关重要的, 细胞凋亡异常在许多人体恶性肿瘤的发病学上占有十分重要的地位<sup>[11,12]</sup>。凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis protein, IAP)家族是抑制细胞凋亡的重要成分, 其作用远远大于B淋巴瘤细胞瘤-2家族。survivin是IAP家族的新成员, 作用于凋亡途径的终末效应蛋白酶Caspase3和Caspase7活性, 具有强大的抑制凋亡功能<sup>[13]</sup>。survivin基因在胰腺癌组织中表达上调, 提示survivin基因可能通过抑制胰腺癌细胞凋亡, 对胰腺癌的发生发展起重要作用, c-myc基因具有促进细胞增殖和凋亡的双重作用, c-myc蛋白可能通过促进survivin基因表达来抑制胰腺癌细胞的凋亡<sup>[14]</sup>。

本次研究通过采用流式细胞法对MART-10作用于各期细胞的比例进行观察, 发现G<sub>1</sub>期细胞显著增多而S期细胞则显著减少, 细胞周期在G<sub>1</sub>期发生阻滞。细胞周期的变化与细胞的生长、分化、衰老或癌变均具有密切的关系<sup>[15]</sup>。本次研究也表明, MART-10可使人体胰腺癌细胞的细胞周期发生阻滞, 而细胞在非DNA合成期发生阻滞时, 可使其错误过程暂停, 待损伤修复后即可恢复至正常细胞周期, 这可能是MART-10的抗肿瘤机制<sup>[16]</sup>。

P21是cyclin-CDK中的一种普遍的抑制因子, P21能抑制细胞周期蛋白A或E与CDK2的结合, 从而使细胞周期停滞于G<sub>1</sub>期<sup>[17]</sup>。Chiang等<sup>[18]</sup>报道MART-10可抑制头颈部鳞状细胞癌的生长, 使头颈部鳞状细胞癌细胞系SCC-25发生G<sub>1</sub>期细胞周期阻滞, 并伴随着P21蛋白表达的上调。本次研究发现MART-10可使BxPC-3细胞的P21蛋白的表达增强, 由此可见MART-10诱导人体胰腺癌细胞周期的阻滞与P21的表达上调相关。

总之, 在本次实验应用MART-10后, survivin基因在胰腺癌细胞系中的表达受到明显抑制, 提示MART-10可能通过作用于VDRE后, 抑制survivin基因和c-myc基因的激活, 同时上调P21蛋白的表达, 促进胰腺癌细胞系的凋亡, 因此, MART-10有望成为临床上治疗胰腺癌的一种新型靶向基因治疗药物。

## 4 参考文献

1 Chiang KC, Yeh CN, Hsu JT, Yeh TS, Jan YY,

- Wu CT, Chen HY, Jwo SC, Takano M, Kittaka A, Juang HH, Chen TC. Evaluation of the potential therapeutic role of a new generation of vitamin D analog, MART-10, in human pancreatic cancer cells in vitro and in vivo. *Cell Cycle* 2013; 12: 1316-1325 [PMID: 23549173 DOI: 10.4161/cc.24445]
- 2 陈文浩, 杨明, 张艳桥. 维生素D及其受体在胰腺癌中的研究进展. *中国肿瘤* 2015; 24: 307-313
- 3 郑敏, 刘强. 维生素D及维生素D受体的研究进展. *医学综述* 2013; 19: 3965-3967
- 4 Sherman MH, Yu RT, Engle DD, Ding N, Atkins AR, Tiriach H, Collisson EA, Connor F, Van Dyke T, Kozlov S, Martin P, Tseng TW, Dawson DW, Donahue TR, Masamune A, Shimosegawa T, Apte MV, Wilson JS, Ng B, Lau SL, Gunton JE, Wahl GM, Hunter T, Drebin JA, O'Dwyer PJ, Liddle C, Tuveson DA, Downes M, Evans RM. Vitamin D receptor-mediated stromal reprogramming suppresses pancreatitis and enhances pancreatic cancer therapy. *Cell* 2014; 159: 80-93 [PMID: 25259922 DOI: 10.1016/j.cell.2014.08.007]
- 5 Kennel KA, Drake MT. Vitamin D in the cancer patient. *Curr Opin Support Palliat Care* 2013; 7: 272-277 [PMID: 23912386 DOI: 10.1097/SPC.0b013e3283640f74]
- 6 崔健, 陈虹, 黄秉仁. 维生素D受体最新研究进展. *生理科学进展* 2011; 42: 95-99
- 7 Weinstein SJ, Stolzenberg-Solomon RZ, Kopp W, Rager H, Virtamo J, Albanes D. Impact of circulating vitamin D binding protein levels on the association between 25-hydroxyvitamin D and pancreatic cancer risk: a nested case-control study. *Cancer Res* 2012; 72: 1190-1198 [PMID: 22232734 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-2950]
- 8 彭昌能, 谷苗, 李国庆. 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>用于抗肿瘤的研究进展. *中国现代医药杂志* 2010; 12: 127-130
- 9 Feldman D, Krishnan AV, Swami S, Giovannucci E, Feldman BJ. The role of vitamin D in reducing cancer risk and progression. *Nat Rev Cancer* 2014; 14: 342-357 [PMID: 24705652 DOI: 10.1038/nrc3691]
- 10 Chiang KC, Yeh CN, Hsu JT, Jan YY, Chen LW, Kuo SF, Takano M, Kittaka A, Chen TC, Chen WT, Pang JH, Yeh TS, Juang HH. The vitamin D analog, MART-10, represses metastasis potential via downregulation of epithelial-mesenchymal transition in pancreatic cancer cells. *Cancer Lett* 2014; 354: 235-244 [PMID: 25149065 DOI: 10.1016/j.canlet.2014.08.019]
- 11 Zhu X, Yi F, Chen P, Chen L, Zhang X, Cao C, Tan W. 5-Aza-2'-Deoxycytidine and CDDP Synergistically Induce Apoptosis in Renal Carcinoma Cells via Enhancing the APAF-1 Activity. *Clin Lab* 2015; 61: 1821-1830 [PMID: 26882803]
- 12 Chen TC, Chien CC, Wu MS, Chen YC. Evodiamine from *Evodia rutaecarpa* induces apoptosis via activation of JNK and PERK in human ovarian cancer cells. *Phytomedicine* 2016; 23: 68-78 [PMID: 26902409 DOI: 10.1016/j.phymed.2015.12.003]
- 13 Sam MR, Ahangar P, Nejati V, Habibian R. Treatment of LS174T colorectal cancer stem-like cells with n-3 PUFAs induces growth suppression through inhibition of survivin expression and induction of caspase-3 activation. *Cell Oncol (Dordr)* 2016; 39: 69-77 [PMID: 26671842 DOI: 10.1007/s13402-015-0254-4]

- 14 Wang YW, Wu X, Zhou Y, Jiang H, Pan S, Sun B. Piperlongumine suppresses growth and sensitizes pancreatic tumors to gemcitabine in a xenograft mouse model by modulating the NF-kappaB pathway. *Cancer Prev Res (Phila)* 2015 Dec 14. [Epub ahead of print] [PMID: 26667450]
- 15 高燕, 林莉萍, 丁健. 细胞周期调控的研究进展. *生命科学* 2005; 17: 318-322
- 16 Chiang KC, Kuo SF, Chen CH, Ng S, Lin SF, Yeh CN, Chen LW, Takano M, Chen TC, Juang HH, Kittaka A, Lin JD, Pang JH. MART-10, the vitamin D analog, is a potent drug to inhibit anaplastic thyroid cancer cell metastatic potential. *Cancer Lett* 2015; 369: 76-85 [PMID: 26282787 DOI: 10.1016/j.canlet.2015.07.024]
- 17 郑丽华, 赵亚恒, 刘运江. p21和p27在肿瘤发生机制中的作用与耐药性. *国际外科学杂志* 2014; 41: 494-498
- 18 Chiang KC, Yeh CN, Hsu JT, Chen LW, Kuo SF, Sun CC, Huang CC, Pang JH, Flanagan JN, Takano M, Kittaka A, Juang HH, Yang SW, Chen TC. MART-10, a novel vitamin D analog, inhibits head and neck squamous carcinoma cells growth through cell cycle arrest at G0/G1 with upregulation of p21 and p27 and downregulation of telomerase. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2013; 138: 427-434 [PMID: 24044969 DOI: 10.1016/j.jsbmb.2013.09.002]

#### ■同行评价

本文通过研究维生素D<sub>3</sub>衍生物MART-10对人胰腺癌BxPC-3细胞系的生长抑制作用及可能的分子机制。选题有一定的新颖性, 研究方法采用正确, 结论基本可靠, 对探索胰腺癌的治疗有一定参考意义。

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有

#### • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费。审稿周期及发表周期不变。(《世界华人消化杂志》编辑部)



## EOX与FOLFIRI方案一线治疗晚期胃癌的疗效比较

李建旺, 黄春珍, 元建华, 陈琼慧

### ■背景资料

2012年全球胃癌新发病例近1百万, 在全世界恶性肿瘤发病率位居第5位, 在癌症死亡原因中位居第3位, 胃癌近一半发生在东亚, 主要在我国, 且大多确诊时已处于中晚期, 常已失去手术机会, 同时早期胃癌患者术后2年内有一半以上出现转移, 5年生存率不足20%, 是严重威胁我国人民身体健康的主要癌症之一, 化疗是治疗晚期胃癌的重要手段之一。

李建旺, 黄春珍, 元建华, 陈琼慧, 海口市人民医院(中南大学湘雅医学院附属海口医院)肿瘤科 海南省海口市 570208

李建旺, 副主任医师, 主要从事消化系统肿瘤的临床研究。

作者贡献分布: 课题设计与论文写作由李建旺完成; 黄春珍负责数据分析; 研究过程由元建华完成; 数据收集由陈琼慧完成。

通讯作者: 李建旺, 副主任医师, 570208, 海南省海口市美兰区人民大道43号, 海口市人民医院(中南大学湘雅医学院附属海口医院)肿瘤科, [ljw7505@163.com](mailto:ljw7505@163.com)  
 电话: 0898-66189907

收稿日期: 2016-03-09  
 修回日期: 2016-03-24  
 接受日期: 2016-03-29  
 在线出版日期: 2016-04-28

### Comparison of efficacy of modified EOX and FOLFIRI regimens in treatment of metastatic gastric cancer

Jian-Wang Li, Chun-Zhen Huang, Jian-Hua Yuan, Qiong-Hui Chen

Jian-Wang Li, Chun-Zhen Huang, Jian-Hua Yuan, Qiong-Hui Chen, Department of Oncology, People's Hospital of Haikou (Xiangya Haikou Hospital of Central-South University), Haikou 570208, Hainan Province, China

Correspondence to: Jian-Wang Li, Associate Chief Physician, Department of Oncology, People's Hospital of Haikou (Xiangya Haikou Hospital of Central-South University), 43 Renmin Avenue, Meilan District, Haikou 570208, Hainan Province, China. [ljw7505@163.com](mailto:ljw7505@163.com)

Received: 2016-03-09  
 Revised: 2016-03-24  
 Accepted: 2016-03-29  
 Published online: 2016-04-28

### ■同行评议者

郭强, 主任医师, 云南省第一人民医院

### Abstract

**AIM:** To compare the efficacy and toxicity of

modified epirubicin, oxaliplatin, and capecitabine (EOX) and irinotecan, 5-fluorouracil, and leucovorin (FOLFIRI) regimens in metastatic gastric cancer patients.

**METHODS:** A total of 105 patients with advanced gastric carcinoma were randomly divided into either an EOX group ( $n = 55$ ) or a FOLFIRI group ( $n = 50$ ). The EOX group was given epirubicin 50 mg/m<sup>2</sup> iv on day one, oxaliplatin 85 mg/m<sup>2</sup> iv on day 1 and capecitabine at a twice-daily dose of 625 mg/m<sup>2</sup> po for 2 wk, which was repeated every 3 wk. Efficacy was analyzed at least every 2 cycles along with adverse reactions. Patients in the FOLFIRI group received irinotecan 180 mg/m<sup>2</sup> on day 1, leucovorin 400 mg/m<sup>2</sup> as two-hour infusion and 5-fluorouracil 400 mg/m<sup>2</sup> as a bolus, on day 1 and day 2 followed by 1200 mg/(m<sup>2</sup>·d) as 22 h continuous infusion regimen every 2 wk. Efficacy was analyzed at least every 4 cycles along with adverse reactions.

**RESULTS:** The objective response rates (ORR) in the modified EOX group and FOLFIRI group were similar (40.0% vs 48.0%,  $P = 0.409$ ). The progression-free survival (PFS) rates in the first-line modified EOX group and FOLFIRI group were 7.3 mo and 8.4 mo ( $P = 0.07$ ), respectively. The PFS rates in the second-line modified EOX group and FOLFIRI group were 2.4 mo and 3.4 mo ( $P = 0.098$ ), respectively. The overall survival (OS) in the modified EOX group and FOLFIRI group was 13.5 mo and 14.3 mo ( $P = 0.40$ ), respectively. The risk ratio (HR) of the modified EOX group to the FOLFIRI group was 0.810 (95% CI: 0.501-1.163) and less than 1.25, which suggests that non-inferiority was established. The

incidence rates of grades III-IV neutropenia, thrombocytopenia, anemia and stomatitis in the modified EOX group were significantly lower than those in the FOLFIRI group ( $P < 0.05$ ). The rates of dose reduction and dose delay in the modified EOX group were significantly lower than those in the FOLFIRI group ( $P < 0.001$ ).

**CONCLUSION:** The modified EOX regimen is safe and feasible, and has the potential to become a standard regimen against advanced gastric cancer.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Gastric cancer; Metastatic; FOLFIRI; EOX; First-line; Palliative

Li JW, Huang CZ, Yuan JH, Chen QH. Comparison of efficacy of modified EOX and FOLFIRI regimens in treatment of metastatic gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(12): 1866-1873 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1866.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i12.1866>

## 摘要

**目的:** 比较表柔比星、奥沙利铂和卡培他滨(mEOX)与伊立替康、5-氟尿嘧啶和亚叶酸钙(FOLFIRI)在晚期胃癌一线治疗中的疗效及不良反应。

**方法:** 将105例病理学诊断的进展期胃癌患者随机分为mEOX组及FOLFIRI组, mEOX组( $n = 55$ )给予表柔比星 $50 \text{ mg/m}^2$ 静推, d1; 奥沙利铂 $130 \text{ mg/m}^2$ 静脉滴注, d1; 卡培他滨 $625 \text{ mg/m}^2$ , 2次/d, d1-14, 21 d为1周期, 至少完成2个周期。FOLFIRI组( $n = 50$ )给予伊立替康 $180 \text{ mg/m}^2$ , 静脉滴注, d1; 亚叶酸钙 $400 \text{ mg/m}^2$ 静脉滴入2 h, d1; 5-氟尿嘧啶注射液 $400 \text{ mg/m}^2$ 静推, d1; 5-氟尿嘧啶 $1200 \text{ mg/m}^2$ , 持续22 h静脉滴注或泵入, d1-2, 每14 d为1个周期, 至少用4个周期。进展后行二线单药化疗。观察两组的疗效和不良反应。

**结果:** mEOX组及FOLFIRI组客观有效率(objective response rate, ORR)分别为40.0%和48.0%, 差异无统计学意义( $P = 0.409$ ); mEOX组及FOLFIRI组一线化疗后的无进展生存期(progression-free survival, PFS)分别为7.3 mo和8.4 mo( $P = 0.07$ ), 进展后二线单药化疗中位PFS分别为2.4 mo和3.4 mo( $P = 0.098$ ), 总生存期(overall survival, OS)分

别为13.5 mo和14.3 mo( $P = 0.40$ ), 无统计学差异。风险比(risk ratio, HR)为0.810(95%CI: 0.501-1.163), 均小于1.25界值, 非劣效性检验成立。mEOX组III-IV度粒细胞减少、血小板减少、贫血及腹泻发生率均明显低于FOLFIRI组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), mEOX组因不良反应至化疗药物减量或延期使用的发生率也明显低于FOLFIRI组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

**结论:** mEOX方案方便易用安全有效, 可以成为局部晚期胃癌的标准方案, 值得进一步研究。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 胃癌; 转移; FOLFIRI; EOX; 一线; 姑息治疗

**核心提示:** 本研究中采用表柔比星、奥沙利铂和卡培他滨(mEOX)与伊立替康、5-氟尿嘧啶和亚叶酸钙(FOLFIRI)一线治疗晚期胃癌的疗效, 其中mEOX的客观有效率、无进展生存期及生存期少于FOLFIRI组, 但两组间比较无统计学差异。在不良反应方面, mEOX组较FOLFIRI组出现更少的粒细胞减少、血小板减少、贫血及腹泻等, 且FOLFIRI组较mEOX组因不良反应至化疗药物减量或延期使用的患者更多, 证明mEOX组同FOLFIRI组一线化疗晚期胃癌患者疗效相当, 但FOLFIRI组伴随更高的血液毒性。

李健旺, 黄春珍, 元建华, 陈琼慧. EOX与FOLFIRI方案一线治疗晚期胃癌的疗效比较. *世界华人消化杂志* 2016; 24(12): 1866-1873 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1866.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i12.1866>

## 0 引言

胃癌在全世界恶性肿瘤致死原因中位居第3位, 近十年来, 尽管胃癌死亡率每年均有下降趋势, 但超过一半以上患者确诊时已处于中晚期<sup>[1]</sup>, 手术是早期胃癌患者的主要治疗方式, 而晚期进展期胃癌患者往往选择系统化疗和姑息治疗<sup>[2]</sup>。一些随机试验显示, 姑息化疗较最佳支持治疗更能提高晚期进展期胃癌患者的生存期<sup>[3,4]</sup>, 但目前可供临床选择的方案仍十分有限。一项Meta分析的结果显示, 姑息化疗(尤其是3药联合)能使晚期胃癌患者有效的延长生存期<sup>[5]</sup>。一项随机试验显示, 表阿霉素、顺铂联

## ■ 研究前沿

多年来, 晚期胃癌的治疗似乎进入“瓶颈”阶段, 目前化疗仍然是晚期胃癌的主要治疗手段, 但尚无标准方案。与最佳支持治疗相比, 化疗可延长患者中位生存期, 提高其生存质量。近年来, 随着各种新型抗癌药物的出现, 化疗方案不断演进, 晚期胃癌的治疗有效率和生存期得到进一步提高, 如何选择高效低毒的化疗药物联合治疗是当前临床研究的热点。同时, 随着胃癌分子生物学研究的不断深入, 针对人表皮生长因子受体-2、表皮生长因子受体、血管内皮生长因子的分子靶向治疗也成为胃癌综合治疗的热点。

■ 相关报道

有文献报道,在联合化疗方案中,卡培他滨较氟尿嘧啶、奥沙利铂较顺铂具有更好的疗效。荟萃分析显示,与氟尿嘧啶相比,联合卡培他滨的化疗方案将延长患者生存期,并提高客观反应率及生存率。

合氟尿嘧啶(ECF)组较5-氟尿嘧啶、阿霉素和甲氨蝶呤一线治疗晚期食管胃连接部癌具有更好的无进展生存期(progression-free survival, PFS)和总生存期(overall survival, OS)<sup>[6]</sup>。REAL-2研究显示,表阿霉素、奥沙利铂联合卡培他滨(EOX)对比ECF组治疗初治晚期食管胃连接部腺癌患者,取得生存期更长。表明卡培他滨替代氟尿嘧啶及奥沙利铂替代顺铂将疗效更好<sup>[7]</sup>。法国的一项随机的III期临床研究<sup>[8]</sup>显示,氟尿嘧啶、亚叶酸钙、伊立替康联用(FOLFIRI)对比ECF耐受性好,毒性较低,美国国立综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)小组认为FOLFIRI是一线治疗晚期胃癌患者可接受的选择。另外,一项随机对照III期临床试验对既往均接受含氟尿嘧啶类及铂类化疗失败后的晚期胃癌患者,进行最佳支持治疗与挽救性化疗(多西他赛每3 wk 1次或伊立替康每2 wk 1次)对照研究,结果显示,二线化疗患者能取得更好的OS<sup>[9]</sup>。目前临床仍缺乏标准的一线化疗方案。因此,本研究主要目的在于比较一线mEOX和FOLFIRI方案对晚期胃癌患者的临床疗效。

1 材料和方法

1.1 材料 105例患者均为2009-01/2014-06在海口市人民医院肿瘤科住院患者,且均经病理明确诊断为胃腺癌,具有临床可评价病灶,所有患者中男69例,女36例,年龄32-70岁,中位年龄为52岁,17例患者接受过胃癌手术,其中7例行姑息性全胃切除,88例未行手术治疗。105例患者中,弥漫型腺癌30例,肠型腺癌39例,其他型腺癌36例。所有患者有明确的观察指标,可经CT或MRI检测病灶大小结果;既往未接受过化疗或辅助治疗,如曾使用过化疗方案中同类药物者停用化疗>6 mo;肝肾功能、白细胞和血小板均正常,无化疗禁忌证;ECOG评分≤2分;没有第二原发肿瘤。病变侵及一个脏器或部位者59例,侵及两个及以上脏器或部位者46例,其中肝转移36例,肺转移16例,腹膜后淋巴结转移41例,锁骨上淋巴结19例,盆腔转移13例。105例患者随机分为A、B两组,所有患者均签署化疗知情同意书,其中A组为mEOX, B组为FOLFIRI组。两组在年龄、性别、ECOG评分、原发肿瘤部位、病理特征等方面均具有可比性(表1)。注射用盐酸表柔比星,辉瑞

表 1 105例晚期胃癌患者一线化疗前基线临床病理特征

临床特点	mEOX (n = 55)	FOLFIRI (n = 50)	P值
年龄(岁)			0.20
<50	24(43.6)	18(36.0)	
≥50	31(56.4)	32(64.0)	
性别			0.74
男	35(63.6)	34(68.0)	
女	20(36.4)	16(32.0)	
ZPS评分			0.68
0	4(7.3)	5(10.0)	
1	47(94.0)	38(76.0)	
2	4(7.3)	7(14.0)	
既往胃手术史			0.27
无	45(81.8)	43(86.0)	
有	10(18.2)	7(14.0)	
CEA基线水平(ng/mL)			<0.01
<50	41(74.5)	12(24.0)	
≥50	14(25.5)	38(76.0)	
CA19-9基线水平(ng/mL)			0.57
<50	24(43.6)	23(46.0)	
≥50	31(56.4)	27(54.0)	
既往放疗史			0.27
无	46(83.6)	42(84.0)	
放化疗	9(16.4)	7(14.0)	
姑息放疗	0(0.0)	1(2.0)	
肿瘤初始部位			0.04
胃食管连接部	6(10.9)	5(10.0)	
胃	49(89.1)	45(90.0)	
原发肿瘤病理特征			0.20
弥漫型腺癌	12(21.8)	18(36.0)	
肠型腺癌	22(40.0)	17(34.0)	
其他类型腺癌	21(38.2)	15(30.0)	
转移部位数			0.92
1	32(58.2)	27(54.0)	
>2	23(41.8)	23(46.0)	
既往化疗史			0.11
无	47(85.5)	43(86.0)	
氟尿嘧啶类	4(7.3)	4(8.0)	
顺铂为基础	4(7.3)	3(6.0)	

制药有限公司生产,规格10 mg/支,产品批号: 20100320;奥沙利铂,杭州赛诺菲生产,规格: 50 mg/支,批号: 0906087;卡培他滨,上海罗氏制药有限公司生产,片剂,规格为0.15 g,生产批号: SH0216;伊立替康,齐鲁制药有限公司生产,规格: 每支(瓶)0.1 g,批号: B2E0903001;亚叶酸钙,山东罗欣药业股份有限公司生产,规格: 每支(瓶)0.1 g,批号: 0903209-2;5-氟尿嘧啶注射液,天津金耀氨基酸有限公司生产,



规格: 每支(瓶)0.25 g, 批号: 0902221; 多西他赛, 赛诺菲安万特生产, 规格: 20 mg/支, 批号: 100666-200401; 紫杉醇, 哈药集团生物工程有限公司生产, 规格: 5 mL:30 mg, 产品批号: 20100913.

## 1.2 方法

1.2.1 治疗: A组(EOX组)采用注射用盐酸表柔比星50 mg/m<sup>2</sup>静推, d1; 奥沙利铂130 mg/m<sup>2</sup>静脉滴注, d1; 卡培他滨625 mg/m<sup>2</sup>, 2次/d, d1-14, 餐后服用, 21 d为1周期. B组(FOLFIRI组)采用伊立替康180 mg/m<sup>2</sup>, 静脉滴注, d1; 亚叶酸钙400 mg/m<sup>2</sup>静脉滴入2 h, d1; 5-氟尿嘧啶注射液400 mg/m<sup>2</sup>静推, d1; 5-氟尿嘧啶1200 mg/m<sup>2</sup>, 持续22 h静脉滴注或泵入, d1-2, 每14 d为1个周期. 两组化疗前后常规予以止吐处理; 因腹泻为伊立替康的剂量限制性毒性, 一旦出现腹泻, 采用易蒙停每2 h口服对症处理腹泻症状. 全部患者均接受2周期以上的全身静脉化疗, 两组均治疗到疾病进展或出现无法耐受的不良反应. A组2个化疗周期结束后7 d临床评价疗效, B组3周期化疗结束后12 d评价疗效. 复查影像学评价疗效, 治疗后每周行血常规、肝肾功能检查. 化疗后复查经RECIST标准评价进展后, 体能状况好的患者继续进行单药二线化疗, 均为与一线治疗无交叉耐药的化疗药物. 分别为: 多西他赛75 mg/m<sup>2</sup>, 持续静脉滴入1 h, d1; 21 d为1个周期. 两组化疗前1 d开始常规使用地塞米松7.5 mg, 口服, 2次/d, 连服3 d, 预防多西他赛引起的水钠储留. 伊立替康350 mg/m<sup>2</sup>, 静脉滴注, d1; 21 d为1个周期. 紫杉醇175 mg/m<sup>2</sup>, 静脉滴注, d1; 21 d为1个周期, 化疗后每2周期评价疗效.

1.2.2 评价标准: (1)治疗和疗效评估: 按照RECIST1.1实体瘤客观疗效评定标准进行评价, 分为完全缓解(complete remission, CR), 部分缓解(partial remission, PR)和稳定(stable disease, SD), 疾病进展(progressive disease, PD). 客观缓解率(objective response rate, ORR)为CR+PR, 疾病控制率(disease control rate, DCR) = CR+PR+SD. 体能状态(performance status scale, PS)评价按照美国东部肿瘤协作组(Eastern Cooperative Oncology Group, ECOG)一般状况评分标准, 分为0-5分. PFS定义为从治疗开始至肿瘤客观进展或任何原因的死亡的时间. OS是指从治疗开始至死亡或末次随访的时间. 本

研究中, PFS-1定义为从一线化疗开始至肿瘤客观进展或任何原因的死亡的时间, PFS-2定义为从二线治疗开始至肿瘤客观进展或任何原因的死亡的时间. 随访采取来院复查或电话询问方式, 随访直至患者死亡或2015-09-30; (2)不良反应评价: 根据NCICTC 3.0标准评价不良反应, 分为0-4级; 而神经系统毒性参照奥沙利铂专用Levi神经病变分级标准进行评价, 分为0-4级: 0级, 无反应; 1级, 感觉异常或感觉迟钝(遇冷引起), 7 d内完全消退; 2级, 感觉异常或感觉迟钝, 21 d内能完全消退; 3级, 感觉异常或感觉迟钝, 21 d内不能完全消退; 4级, 感觉异常或感觉迟钝, 伴有功能障碍.

统计学处理 意向性分析数据集(intention to treat, ITT)分析所有随机患者. 符合方案数据集(per-protocol population, PP)分析指将明显违犯方案(major protocol violations)的患者排除分析之外. 接受过化疗者都归入安全性分析. 非劣效性检验采用单侧可信区间法. 主要研究终点是PP分析, 以证明mEOX与FOLFIRI比较, 肿瘤疗效ORR的非劣效性. ORR非劣效性指mEOX与FOLFIRI治疗组之间的ORR差异的单侧95%可信区间的上限低于15%. 在 $\alpha = 0.05$ 的显著性水平下, 单侧 I 型错误为5%, 设定非劣效界值 $\delta$ 为0.15, 确保80%效能验证mEOX与FOLFIRI的ORR非劣效性. 并行ITT分析研究结果. 采用COX回归分析PFS、OS; 双侧90%CI上限低于非劣效性所需界值(1.25)被证明非劣效性. 应用SPSS13.0软件进行数据分析处理, 计数资料比较采用 $\chi^2$ 检验, 等级资料比较采用秩和检验. PFS采用Kaplan-Meier法, 生存时间比较采用Log-rank检验. 以mEOX与FOLFIRI对比的HR值95%CI<1.25为有统计学意义, 单侧检验. 其余均为双侧检验, 检验水准 $\alpha = 0.05$ , 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 两组分组情况及均衡性比较 本研究中位年龄52岁(32-70岁), 其中mEOX组51岁(30-71岁), FOLFIRI组52岁(31-72岁), 两组间无显著差异( $P = 0.43$ ). 共15例患者在辅助化疗±放疗后出现转移, 90例患者确诊胃癌时已处于进展期或远处转移. 两组患者中初始行放疗或辅助化疗治疗史比例无显著差异, 初始行手术切除史患者比例亦相似.

## ■ 创新点

一项来自法国的临床3期研究对416例晚期胃癌和胃食管连接部癌患者给予FOLFIRI和ECF一线化疗, 结果显示, FOLFIRI组比较ECF组疗效相似, 但不良反应更低, 耐受性更好. 而本研究使用卡培他滨替代氟尿嘧啶、奥沙利铂替代顺铂的改良EOX方案, 相反却显示出较FOLFIRI疗效相当, 不良反应更轻, 患者耐受性更好.

应用要点

本文推测, 3药联合mECX方案和FOLFIRI方案一线治疗晚期胃癌患者具有相似的较好疗效, 较单药及两药联合均可能略有生存优势, 且不良反应均能耐受. mEOX较FOLFIRI不良反应更低, 患者耐受性更好. 两组方案均值得临床进一步推广应用. 因本研究病例数相对较少, 且为单中心研究, 还有待进一步多中心大样本研究.

表 2 105例晚期胃癌患者一化疗近期疗效比较

近期疗效	mEOX (n = 55)	FOLFIRI (n = 50)	P值
一线化疗疗效			
CR	0(0.0)	0(0.0)	
PR	22(40.0)	24(48.0)	
SD	16(29.0)	12(24.0)	
PD	17(31.0)	14(28.0)	
ORR	22(40.0)	24(48.0)	0.409
DCR	38(69.0)	36(72.0)	0.744
二线化疗疗效			
CR	0(0.0)	0(0.0)	
PR	12(21.8)	9(18.0)	
SD	10(18.2)	15(30.0)	
PD	33(60.0)	26(52.0)	
ORR	12(21.8)	9(18.0)	0.81
DCR	22(40.0)	24(48.0)	

CR: 完全缓解; PR: 部分缓解; SD: 稳定; ORR: 客观缓解率; DCR: 疾病控制率.

2.2 治疗和疗效评价 105例晚期胃癌患者经mEOX或FOLFIRI一线化疗, 其中mEOX组患者先期共完成中位5周期(3-7周期)mDCF方案化疗, 而FOLFIRI组共完成中位6周期(2-8周期)mDCF方案化疗. 在mEOX和FOLFIRI组中分别各完成一线化疗5.2周期(3-9周期)和4.7周期(2-8周期)( $P = 0.48$ ). PP分析的mEOX ORR不劣于FOLFIRI, mEOX为40.0%和FOLFIRI为48.0%( $P = 0.409$ ), 组间差异为8.0%; 单侧95%CI的上限为14.6%, 低于非劣效性所需的上限阈值(15%). ITT分析的mEOX的ORR不劣于FOLFIRI; mEOX为48%和FOLFIRI为53%; 组间差异为5.0%; 单侧95%CI的上限为14.8%, 低于非劣效性所需的上限值(15%). 近期疗效情况如表2. mEOX和FOLFIRI两组间一线化疗后中位PFS分别为7.3 mo和8.4 mo, 两组间无统计学差异( $P = 0.07$ )(图1A). 进展后行二线单药化疗中位PFS分别为2.4 mo和3.4 mo, FOLFIRI组略高于mEOX组( $P = 0.098$ )(图1B). 两组间患者中位OS分别为13.5 mo和14.3 mo, 组间无统计学差异( $P = 0.40$ )(图1C). 将分组作为协变量进行Cox回归分析, mEOX组相对FOLFIRI组  $HR = 0.810(95\%CI: 0.501-1.163)$ , 95%CI上限 $<1.25$ , 提示mEOX组疗效相对FOLFIRI组非劣效性成立.

2.3 不良反应 两组间最常见的血液不良反应均

表 3 105例晚期胃癌患者一线治疗不良反应比较

不良反应	mEOX (n = 55)	FOLFIRI (n = 50)	P值
血液不良反应			
中性粒细胞减少			$<0.001$
I – IV	11(20.0)	49(98.0)	
III – IV	3(5.5)	13(26.0)	
粒细胞减少性发热			1.0
I – IV	3(5.5)	3(6.0)	
III – IV	2(3.6)	3(6.0)	
贫血			0.02
I – IV	24(43.6)	34(68.0)	
III – IV	1(1.8)	1(2.0)	
血小板			$<0.001$
I – IV	3(5.5)	46(92.0)	
III – IV	0(0.0)	1(2.0)	
非血液学不良反应			
恶心/呕吐			0.82
I – IV	12(21.8)	10(20.0)	
III – IV	0(0.0)	0(0.0)	
腹泻			0.003
I – IV	1(1.8)	11(22.0)	
III – IV	0(0.0)	1(2.0)	
口腔炎			1.0
I – IV	3(5.5)	2(4.0)	
III – IV	0(0.0)	0(0.0)	
手足综合征			0.88
I – IV	4(7.2)	5(10.0)	
III – IV	1(0.0)	2(4.0)	
外周神经毒性			0.01
I – IV	13(23.6)	2(4.0)	
III – IV	1(1.8)	1(2.0)	

为中性粒减少和贫血, mEOX组较FOLFIRI组出现更少的中性粒减少、血小板减少和贫血等不良反应. FOLFIRI组较mEOX组转氨酶明显增高( $P = 0.001$ ), 腹泻明显增多( $P = 0.003$ ). 两组间血清肌酐变化水平无明显差异( $P = 0.43$ ), mEOX组与FOLFIRI组因不良反应致化疗药物减量使用患者分别为4例(7.3%)和36例(72.0%)( $P<0.001$ ). 而因不良反应致化疗时间耽搁的两组间患者分别为8例(14.5%)和26例(52.0%)( $P<0.001$ )(表3).

3 讨论

胃癌大多确诊时已处于中晚期, 常已失去手术机会, 5年生存率不足20%, 是严重威胁我国人民身体健康的主要癌症之一, 化疗是治疗晚期进展期胃癌的重要手段之一<sup>[1]</sup>. 胃癌是化疗相

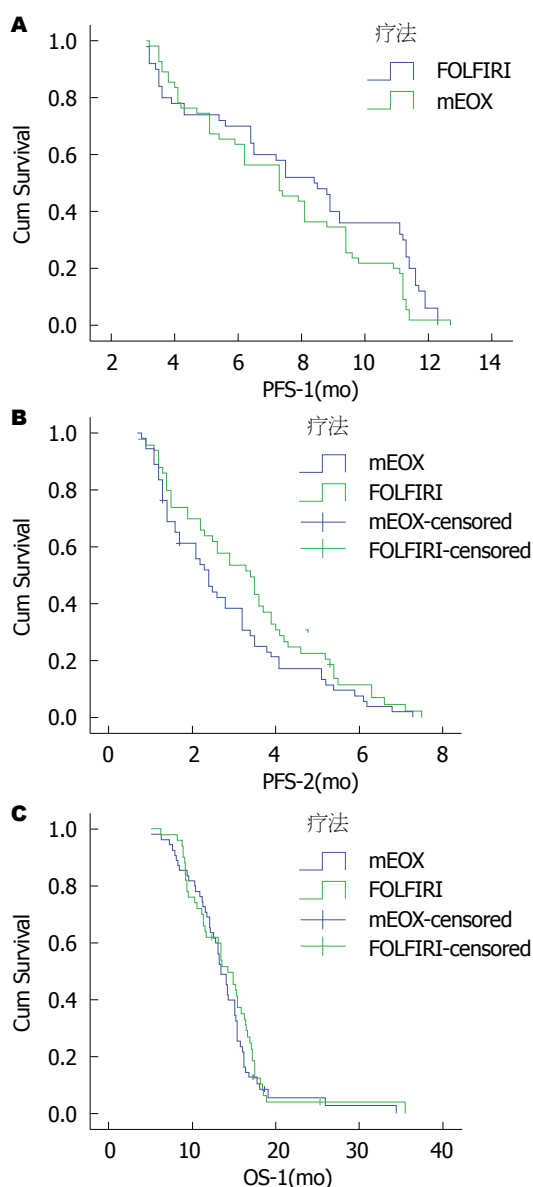


图 1 105例晚期胃癌患者一、二线化疗后PFS及OS生存曲线图. A: 105例晚期胃癌患者一线化疗后疾病进展时间; B: 105例晚期胃癌患者二线化疗后疾病进展时间; C: 105例晚期胃癌患者一线化疗后生存时间. PFS: 无进展生存期; OS: 总生存期.

对敏感的肿瘤, 研究<sup>[3]</sup>显示, 姑息化疗较最佳支持治疗更能提高晚期进展期胃癌患者的生存期. 随着近年来很多新药显示出对胃癌的良好抗癌活性, 包括奥沙利铂、紫杉醇、卡培他滨、替吉奥胶囊、伊立替康等这些药物一线治疗胃癌有效率为17%-30%, 可使生存期有所延长, 同时与传统药物联合使用可更好的提高疗效<sup>[10]</sup>. ECF、DCF和FOLFIRI 3药联合方案被欧洲肿瘤内科学会(European Society for Medical Oncology, ESMO)及NCCN指南作为晚期胃癌患者化疗获得1类证据推荐<sup>[11,12]</sup>. 但ECF

方案引起的肾毒性、较严重的骨髓抑制及氟尿嘧啶的21 d持续静脉滴注使很多患者不能耐受, 依从性也较差. 奥沙利铂作为第三代铂类抗癌药物, 较顺铂细胞毒性更强而肾脏毒性大大降低, 且消化系反应轻微, 其对胃癌有良好治疗价值. 希罗达其抗肿瘤作用不亚于5-氟尿嘧啶, 患者的依从性则较使用5-氟尿嘧啶明显提高<sup>[13]</sup>. 本研究将奥沙利铂替代顺铂, 以希罗达替代5-氟尿嘧啶, 组成EOX方案, 一方面基于药物的协同作用, 另一方面考虑药物的高效低毒的原则. 由此, 本研究主要目的在于比较改良EOX和FOLFIRI方案对晚期胃癌患者一线治疗的临床疗效, 并于进展后体能状况好的患者继续给予二线单药化疗, 评估PFS及OS. 本实验可望为临床选择晚期胃癌一线化疗方案提供有效的临床参考依据.

本研究中mEOX和FOLFIRI组一线化疗后ORR分别为40.0%和48.0%, 中位PFS分别为7.3 mo和8.4 mo, OS分别为13.5 mo和14.3 mo, 两组间均无统计学差异( $P>0.05$ ). REAL-2研究<sup>[7]</sup>中, EOX化疗组ORR为47.9%, 中位PFS为7.0 mo及OS为11.2 mo. 与本研究结果基本相似, 而本研究中mEOX组OS较REAL-2研究稍延长, 可能与本研究中患者均接受二线化疗有关. 而近来Guimbaud等<sup>[8]</sup>完成的随机III期临床研究, 对比FOLFIRI与ECF作为一线治疗晚期胃癌或胃食管交界腺癌. 在此研究中, 416例患者(65%的患者胃腺癌, 33%有胃食管交界腺癌)随机接受FOLFIRI或ECF方案化疗. 平均随访31 mo, FOLFIRI对比ECX中位至治疗失败时间(time to treatment failure, TTF)大大延长, 分别为5.1 mo和4.2 mo,  $P = 0.008$ , PFS为5.3 mo和5.8 mo,  $P = 0.96$ , OS为9.5 mo和9.7 mo,  $P = 0.95$ , ORR为39.2%和37.8%, 均无显著差异. FOLFIRI对比ECF耐受性好, 毒性较低. 本研究中FOLFIRI组PFS及OS均较该研究稍延长, 可能与该研究入组中近1/3患者为胃食管交接处腺癌具有相对更差预后相关. 本研究中mEOX组较FOLFIRI组出现更少的粒细胞减少、血小板减少、贫血及腹泻等不良反应. 而FOLFIRI组较mEOX组因不良反应至化疗药物减量或延期使用的患者更多( $P<0.001$ ). 这可能与本研究中使用卡培他滨替代氟尿嘧啶、奥沙利铂替代顺铂具有更低的不良反应有关. 本研究中与REAL-2研究<sup>[7]</sup>及Guimbaud等<sup>[8]</sup>的

#### 同行评价

本文的实验设计是非劣效性研究, 实验假设的基础是改良的EOX方案从PFS及OS均不劣于指南中I类化疗方案FOLFIRI, 而且改良的EOX方案的毒性更小, 耐受性更好, 有一定的临床指导意义.



研究结果相似。

本研究中进展后行二线单药化疗mPFS分别为2.4 mo和3.4 mo, 两组间无统计学差异( $P=0.098$ )。在近期发表的TCOG GI-0801 III期临床研究中, 伊立替康单药二线化疗既往一线使用S-1为基础化疗失败的晚期胃癌, 其中位PFS为2.8 mo<sup>[14]</sup>。与本研究结果相似。

HER-2过表达常预示肿瘤侵袭性强、病理分级高及预后差<sup>[15]</sup>。一项III期试验ToGA研究证实, HER-2阳性的晚期胃癌患者联合赫赛丁治疗能获得PFS和OS提高。但因本研究中多数患者HER-2未检测, 其在两组患者中分布情况未知, 由此, 在HER-2阳性的晚期胃癌患者一线化疗有效性无法评估。此为本研究一项不足。

我们推测, mECX方案和FOLFIRI方案均可作为晚期胃癌患者的一线治疗方案, 两者具有相似的疗效, 但不良反应存在差异, mECX方案较FOLFIRI不良反应更少, 耐受性更好, 值得临床进一步推广使用。

#### 4 参考文献

- 1 Siegel R, Ma J, Zou Z, Jemal A. Cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin* 2014; 64: 9-29 [PMID: 24399786 DOI: 10.3322/caac.21208]
- 2 Thuss-Patience PC, Kretzschmar A, Bichev D, Deist T, Hinke A, Breithaupt K, Dogan Y, Gebauer B, Schumacher G, Reichardt P. Survival advantage for irinotecan versus best supportive care as second-line chemotherapy in gastric cancer--a randomised phase III study of the Arbeitsgemeinschaft Internistische Onkologie (AIO). *Eur J Cancer* 2011; 47: 2306-2314 [PMID: 21742485 DOI: 10.1016/j.ejca.2011.06.002]
- 3 Van Cutsem E, Moiseyenko VM, Tjulandin S, Majlis A, Constenla M, Boni C, Rodrigues A, Fodor M, Chao Y, Voznyi E, Risse ML, Ajani JA. Phase III study of docetaxel and cisplatin plus fluorouracil compared with cisplatin and fluorouracil as first-line therapy for advanced gastric cancer: a report of the V325 Study Group. *J Clin Oncol* 2006; 24: 4991-4997 [PMID: 17075117 DOI: 10.1200/JCO.2006.06.8429]
- 4 Koizumi W, Narahara H, Hara T, Takagane A, Akiya T, Takagi M, Miyashita K, Nishizaki T, Kobayashi O, Takiyama W, Toh Y, Nagaie T, Takagi S, Yamamura Y, Yanaoka K, Orita H, Takeuchi M. S-1 plus cisplatin versus S-1 alone for first-line treatment of advanced gastric cancer (SPIRITS trial): a phase III trial. *Lancet Oncol* 2008; 9: 215-221 [PMID: 18282805 DOI: 10.1016/s1470-2045(08)70035-4]
- 5 Wagner AD, Grothe W, Haerting J, Kleber G, Grothey A, Fleig WE. Chemotherapy in advanced gastric cancer: a systematic review and meta-analysis based on aggregate data. *J Clin Oncol* 2006; 24: 2903-2909 [PMID: 16782930 DOI: 10.1200/JCO.2005.05.0245]
- 6 Webb A, Cunningham D, Scarffe JH, Harper P, Norman A, Joffe JK, Hughes M, Mansi J, Findlay M, Hill A, Oates J, Nicolson M, Hickish T, O'Brien M, Iveson T, Watson M, Underhill C, Wardley A, Meehan M. Randomized trial comparing epirubicin, cisplatin, and fluorouracil versus fluorouracil, doxorubicin, and methotrexate in advanced esophagogastric cancer. *J Clin Oncol* 1997; 15: 261-267 [PMID: 8996151]
- 7 Cunningham D, Starling N, Rao S, Iveson T, Nicolson M, Coxon F, Middleton G, Daniel F, Oates J, Norman AR. Capecitabine and oxaliplatin for advanced esophagogastric cancer. *N Engl J Med* 2008; 358: 36-46 [PMID: 18172173 DOI: 10.1056/nejmoa073149]
- 8 Guimbaud R, Louvet C, Ries P, Ychou M, Maillard E, André T, Gornet JM, Aparicio T, Nguyen S, Azzedine A, Etienne PL, Boucher E, Rebischung C, Hammel P, Rougier P, Bedenne L, Bouché O. Prospective, randomized, multicenter, phase III study of fluorouracil, leucovorin, and irinotecan versus epirubicin, cisplatin, and capecitabine in advanced gastric adenocarcinoma: a French intergroup (Fédération Francophone de Cancérologie Digestive, Fédération Nationale des Centres de Lutte Contre le Cancer, and Groupe Coopérateur Multidisciplinaire en Oncologie) study. *J Clin Oncol* 2014; 32: 3520-3526 [PMID: 25287828]
- 9 Kang JH, Lee SI, Lim do H, Park KW, Oh SY, Kwon HC, Hwang IG, Lee SC, Nam E, Shin DB, Lee J, Park JO, Park YS, Lim HY, Kang WK, Park SH. Salvage chemotherapy for pretreated gastric cancer: a randomized phase III trial comparing chemotherapy plus best supportive care with best supportive care alone. *J Clin Oncol* 2012; 30: 1513-1518 [PMID: 22412140 DOI: 10.1200/jco.2011.39.4585]
- 10 Pozzo C, Barone C. Is there an optimal chemotherapy regimen for the treatment of advanced gastric cancer that will provide a platform for the introduction of new biological agents? *Oncologist* 2008; 13: 794-806 [PMID: 18614586 DOI: 10.1634/theoncologist.2008-0082]
- 11 Waddell T, Verheij M, Allum W, Cunningham D, Cervantes A, Arnold D. Gastric cancer: ESMO-ESSO-ESTRO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Eur J Surg Oncol* 2014; 40: 584-591 [PMID: 24685156 DOI: 10.1016/j.ejso.2013.09.020]
- 12 Ajani JA, Bentrem DJ, Besh S, D'Amico TA, Das P, Denlinger C, Fakih MG, Fuchs CS, Gerdes H, Glasgow RE, Hayman JA, Hofstetter WL, Ilson DH, Keswani RN, Kleinberg LR, Korn WM, Lockhart AC, Meredith K, Mulcahy MF, Orringer MB, Posey JA, Sasson AR, Scott WJ, Strong VE, Varghese TK, Warren G, Washington MK, Willett C, Wright CD, McMillian NR, Sundar H. Gastric cancer, version 2.2013: featured updates to the NCCN Guidelines. *J Natl Compr Canc Netw* 2013; 11: 531-546 [PMID: 23667204]
- 13 Wu Y, Wei ZW, He YL, Schwarz RE, Smith DD, Xia GK, Zhang CH. Efficacy of adjuvant XELOX and FOLFOX6 chemotherapy after D2 dissection for gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 3309-3315 [PMID: 23745033 DOI: 10.3748/wjg.v19.i21.3309]

- 14 许进军, 甘宁. L-OHP联合三种氟尿嘧啶制剂治疗进展期胃癌180例. 世界华人消化杂志 2014; 22: 853-857
- 15 Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, Chung HC, Shen L, Sawaki A, Lordick F, Ohtsu A, Omuro Y, Satoh T, Aprile G, Kulikov E, Hill J, Lehle M, Rüschoff J, Kang YK. Trastuzumab

in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2010; 376: 687-697 [PMID: 20728210 DOI: 10.1016/s0140-6736(10)61121-x]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

## 《世界华人消化杂志》栏目设置

**本刊讯** 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告, 会议纪要. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确.

## 健康体检人群Fibrotouch受控衰减参数的相关影响因素

宋玉君, 常晓, 李晓宇, 张鹏, 田字彬

### ■背景资料

脂肪性肝病(fatty liver disease, FLD)的发病率近年来不断上升, 已取代病毒性肝炎成为全球第一大肝病, 因此寻找一种简便易行、廉价无创的脂肪肝筛查、监测手段意义重大。瞬时弹性记录仪(Fibrotouch)测量的受控衰减参数(controlled attenuation parameter, CAP)能够早期、快速、无创、定量评估肝脏脂肪变, 成为当下FLD无创诊断的热点。

宋玉君, 常晓, 李晓宇, 张鹏, 田字彬, 青岛大学附属医院消化内科 山东省青岛市 266003

宋玉君, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 宋玉君与田字彬对此文所作贡献均等; 此课题由田字彬与宋玉君设计; 研究过程由宋玉君、常晓及李晓宇操作完成; 研究所用仪器及分析工具由田字彬提供; 数据分析由宋玉君、常晓及张鹏完成; 本论文写作由宋玉君与田字彬完成。

通讯作者: 田字彬, 教授, 主任医师, 266003, 山东省青岛市江苏路16号, 青岛大学附属医院消化内科。  
tianzb@qdumh.qd.sd.cn  
电话: 0532-82911302

收稿日期: 2016-02-15  
修回日期: 2016-03-25  
接受日期: 2016-03-29  
在线出版日期: 2016-04-28

### Factors influencing controlled attenuation parameter measured by Fibrotouch in healthy individuals

Yu-Jun Song, Xiao Chang, Xiao-Yu Li, Peng Zhang, Zi-Bin Tian

Yu-Jun Song, Xiao Chang, Xiao-Yu Li, Peng Zhang, Zi-Bin Tian, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China

Correspondence to: Zi-Bin Tian, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Qingdao University, 16 Jiangsu Road, Qingdao 266003, Shandong Province, China. tianzb@qdumh.qd.sd.cn

Received: 2016-02-15  
Revised: 2016-03-25  
Accepted: 2016-03-29  
Published online: 2016-04-28

### Abstract

**AIM:** To explore the factors influencing controlled attenuation parameter (CAP) obtained by FibroTouch in the general population.

**METHODS:** This study recruited 664 healthy individuals, and CAP measurement was conducted by Fibrotouch examination. Blood lipids, blood biochemical indexes, the classification results of fatty liver by ultrasound, gender, age and body mass index (BMI) were assessed. Multiple linear regression analysis was used for statistical analysis.

**RESULTS:** Multiple liner regression analysis showed that CAP value was significantly correlated with the classification results of fatty liver by ultrasound, BMI and alanine transaminase (ALT) ( $F = 228.89, P < 0.0001$ ; standard regression coefficient of the classification results of fatty liver by ultrasound,  $\beta = 0.55, P < 0.0001$ ; of BMI,  $\beta = 0.31, P < 0.0001$ ; of ALT,  $\beta = 0.08, P = 0.0279$ ), and the regression equation established after multiple linear regression analysis was  $CAP = 118.0044 + 17.2832 \times \text{the classification results of fatty liver by ultrasound} + 3.3909 \times \text{BMI} + 0.1919 \times \text{ALT}$ .

**CONCLUSION:** CAP value might be affected by BMI, the classification results of fatty liver by ultrasound and serum ALT levels in the general population.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Liver steatosis; Fibrotouch; Controlled attenuation parameter; Regression equation

### ■同行评议者

张福奎, 主任医师, 首都医科大学附属北京友谊医院肝病中心; 陈茂伟, 教授, 广西医科大学第一附属医院质量管理办公室



Song YJ, Chang X, Li XY, Zhang P, Tian ZB. Factors influencing controlled attenuation parameter measured by Fibrotouch in healthy individuals. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(12): 1874-1879 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1874.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i12.1874>

## 摘要

**目的:** 探讨影响健康体检人群肝脏受控衰减参数变化的相关因素。

**方法:** 对2014-05/2015-07于青岛大学附属医院查体中心进行健康查体的664例体检者进行Fibrotouch检测并记录肝脏受控衰减参数(controlled attenuation parameters, CAP), 并获取体检者人体学[年龄、性别、体质量指数(body mass index, BMI)]、血清学(肝功、血糖、血脂等)指标及超声诊断脂肪肝分级结果, 进行多元线性回归分析, 建立回归方程。

**结果:** 多元线性回归分析显示, CAP值与超声诊断脂肪肝分级结果、BMI及丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)呈显著性相关( $F = 228.89, P < 0.0001$ ), 其标准回归系数分别为: 超声诊断脂肪肝分级结果,  $\beta = 0.55, P < 0.0001$ ; BMI:  $\beta = 0.31, P < 0.0001$ ; ALT:  $\beta = 0.08, P = 0.0279$ 。通过多元回归分析建立的模型为  $CAP = 118.0044 + 17.2832 \times \text{超声诊断脂肪肝分级结果} + 3.3909 \times \text{BMI} + 0.1919 \times \text{ALT}$ , 该回归模型决定系数为  $R^2 = 0.6669$ , 校正决定系数为  $R^2_{\text{Adj}} = 0.6640$ 。

**结论:** 健康体检人群肝脏CAP值受肝脏超声诊断脂肪肝分级结果、BMI值及ALT值的影响。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 肝脏脂肪变; 瞬时弹性记录仪; 受控衰减参数; 回归方程

**核心提示:** 本文应用Fibrotouch对健康体检人群进行受控衰减参数(controlled attenuation parameters, CAP)值检测, 通过对CAP值的多元回归分析, 探讨了CAP值与相关的临床常见指标的关系, 将超声诊断脂肪肝分级结果、体质量指数(body mass index)及谷丙转氨酶(alanine transaminase)纳入回归方程并建立数学模型, 为临床上应用CAP值定量评估、筛查脂肪肝作参考。

宋玉君, 常晓, 李晓宇, 张鹏, 田宇彬. 健康体检人群Fibrotouch受

控衰减参数的相关影响因素. *世界华人消化杂志* 2016; 24(12): 1874-1879 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1874.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i12.1874>

## 0 引言

近年来, 随着脂肪性肝病(fatty liver disease, FLD)的发病率逐年上升, 寻找一种简便易行、廉价无创的脂肪肝普查、监测手段意义重大。目前, 瞬时弹性成像技术已广泛应用于各种肝病的无创诊断, 瞬时弹性记录仪(Fibrotouch)采用超声和弹性波原理加上专利算法, 测量受控衰减参数(controlled attenuation parameter, CAP), 以此来定量评估肝脏脂肪变程度。国内外已有文献报道, CAP值在初期临床试验中展现了对肝脂肪变良好的诊断价值, 初步认定其可测量并区分10%以上的脂肪变, 其结果与病理结果具有较高的相似性<sup>[1-3]</sup>。但目前关于应用CAP值测定普通人群肝脏脂肪变程度的报道较少, 故本研究采用多元线性回归分析, 探讨了健康体检人群CAP值与相关的临床常见检查指标的关系, 为临床上应用CAP值定量评估、筛查肝脏脂肪变作参考。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择2014-05/2015-07于青岛大学附属医院查体中心进行健康查体的体检者664例, 男306例, 女358例, 平均年龄43.12岁±12.12岁, 检查当日受试者需空腹禁食, 登记姓名、性别、年龄、身高、体质量, 并计算受试者体质量指数(body mass index, BMI)[体质量(kg)/身高(m)<sup>2</sup>], 所有体检者均进行常规生化检测(包括肝功、血糖、血脂)及肝脏超声检查, 并在同一天进行Fibrotouch检测, 检查前签署知情同意书, 排除资料不完整、Fibrotouch检测失败及有明确肝病史的体检者。

### 1.2 方法

**1.2.1 血清学指标检测:** 晨空腹抽取新鲜血标本, 分离血清, 应用日立7600全自动生化分析仪测定γ-谷氨酰基转移酶(gamma-glutamyl transpeptidase, γ-GT)、丙氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、血清白蛋白(albumine, ALB)、甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白(high-density lipoprotein,

## ■ 研究前沿

目前关于应用CAP值测定普通人群肝脏脂肪变程度的报道较少, 影响CAP值测量结果的相关因素仍需大样本临床研究进一步探讨。

## ■ 相关报道

Chon的研究发现, 在单因素分析中, CAP值与体质量指数(body mass index, BMI)、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、空腹血糖(fast plasma glucose, FPG)、甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、肝纤维化程度、肝脂肪变程度、肝组织炎症活动度都相关, 在多元回归分析中, CAP值与BMI、肝脏脂肪变程度独立相关。

■ 创新盘点

本文将超声诊断脂肪肝分级结果纳入回归分析, 由此建立的数学模型能够为无Fibrotouch设备的社区或基层医生提供量化的肝脏脂肪含量数据, 一定程度上提高对轻微脂肪肝的诊断敏感度。

HDL)、低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)、和空腹血糖(fast plasma glucose, FPG)等, 并应用全自动血细胞分析仪测定血小板(platelets, PLT), 并计算AST/PLT比值指数(APRI)值及FIB4值。

1.2.2 影像学指标检测: 腹部肝脏超声检查使用Acuson 128XP/10型彩色多普勒超声诊断仪。规定具备以下3项腹部超声表现中的2项者为弥漫性脂肪肝: (1)肝脏进场回声弥漫性增强(“明亮肝”), 回声强于肾脏; (2)肝内管道结构显示不清; (3)肝内远场回声逐渐衰减<sup>[4]</sup>。

1.2.3 Fibrotouch检测: 使用Fibrotouch瞬时弹性记录仪(中国无锡海斯凯尔公司)进行肝脂肪变程度的定量检测, 结果以CAP值表示, 单位为dB/m, 同时获得肝脏硬度值(KPA值)。检测方法参照Fibrotouch使用手册, 操作者为经过专门培训并获得Fibrotouch操作者证书的医师, 所有受试者Fibrotouch检测由同一名医师完成。患者体位: 测量时患者取仰卧位, 右手放在头后, 暴露胸部并最大限度扩展肋间隙。检测区域选择: 右侧腋前线至腋中线第7、8、9肋间。操作标准: 首先使用二维成像, 避开肝内囊肿、结节、大血管等组织, 后使用标配动态宽频探头, 保持探头与肋间隙皮肤表面垂直, 压力指示器显示为绿色, 显示屏上M波形强度一致且分布均匀、A波形呈线性时开始检测。要求每例对象成功检测10次, 以所有有效测量值的中位数为最终结果。要求所有测量值的四分位间距(IQR)与中位数的比值(IQR/med)<30%, 并且成功率(成功检测次数/总检测次数)≥60%, 方为有效测量。

**统计学处理** 本研究采用SAS9.4统计软件对数据进行分析。先进行描述性分析, 再进行统计推断。对计数资料给出频数及构成比, 对计量资料采用mean±SD表示。对资料进行多重线性回归分析, 以年龄、性别、KPA、BMI、TG、TC、GLU、PLT、ALB、ALT、APRI、AST、FIB4、GGT、HDL、LDL为自变量, CAP为因变量, 采用逐步筛选法构建回归模型, 纳入标准设置为 $P = 0.05$ , 排除标准为 $P = 0.10$ 。对入选变量进行共线性诊断, 诊断依据是条件指数。当条件指数 $k \geq 30$ 时并且自变量的变异比例较大( $>0.5$ )时, 考虑为变量间存在中等强度多重共线性, 将导致估计结果不稳定。若存在多重共线性, 将采用岭回归分析方法解决多重共线性为题。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 664例体检者一般资料 (mean ± SD)

指标	数值
年龄(岁)	43.12 ± 12.12
CAP(dB/m)	233.97 ± 36.74
KPA(kPa)	5.16 ± 1.48
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	24.01 ± 3.35
TG(mmol/L)	1.48 ± 1.46
TC(mmol/L)	5.13 ± 1.00
GLU(mmol/L)	5.15 ± 0.93
PLT(10 <sup>9</sup> /L)	239.49 ± 51.56
ALB(g/L)	44.67 ± 2.42
ALT(IU/L)	24.42 ± 17.20
APRI	0.20 ± 0.09
AST(IU/L)	18.23 ± 6.29
FIB4	0.74 ± 0.36
GGT(IU/L)	23.22 ± 26.26
HDL(mmol/L)	1.54 ± 0.33
LDL(mmol/L)	3.04 ± 0.73

CAP: 受控衰减参数; KPA: 肝脏硬度; BMI: 体质量指数; TG: 甘油三酯; TC: 总胆固醇; GLU: 葡萄糖; PLT: 血小板; ALB: 血清白蛋白; ALT: 丙氨酸氨基转移酶; APRI: AST/PLT比值指数; AST: 天门冬氨酸氨基转移酶; GGT:  $\gamma$ -谷氨酰基转移酶; HDL: 高密度脂蛋白; LDL: 低密度脂蛋白。

2 结果

2.1 体检者一般资料 共664例健康体检者进行相关检查, 其中男性306例, 46.08%, 女性358例, 53.92%, 将肝脏超声结果分为正常、轻度、轻-中度、中度、中-重度、重度共6个等级, 对计量资料统计描述分析(表1), 并进行正态性检验, 结果均符合正态分布。

2.2 多元线性回归分析 通过逐步筛选法并结合Cp值, 最后进入模型的自变量为超声诊断脂肪肝分级结果、BMI和ALT(表2)。筛选出超声诊断脂肪肝分级结果、BMI和ALT的模型决定系数最高, Cp值最小, 说明通过该3个变量建立的模型拟合结果最好。

2.3 回归方程 根据逐步筛选法筛选出的变量建立回归方程为:  $CAP = 118.0044 + 17.2832 \times \text{超声诊断脂肪肝分级结果} + 3.3909 \times \text{BMI} + 0.1919 \times \text{ALT}$ 。对模型进行方差分析:  $F = 228.89$ ,  $P < 0.0001$ , 回归模型总体上有统计学意义。该回归模型决定系数为 $R^2 = 0.6669$ , 校正决定系数为 $R^2_{\text{Adj}} = 0.6640$ 。在对多元线性回归分析结果进行共线性诊断时, 条件指数 $k$ 均未超过30, 因此可以判断变量间不存在多重共

表 2 以逐步筛选法进行自变量筛选的结果

筛选步骤	选入的变量	删除的变量	模型 $R^2$	Cp值	P值
1	超声诊断脂肪 肝分级结果	—	0.5913	77.5524	<0.0001
2	BMI	—	0.6621	6.6663	<0.0001
3	ALT	—	0.6669	3.7923	0.0279

BMI: 体质质量指数; ALT: 丙氨酸氨基转移酶。

表 3 多元线性回归分析结果

变量	参数估计值	t值	P值	标准回归系数
截距	118.00	13.22	<0.0001	0.00
超声诊断脂肪 肝分级结果	17.28	13.06	<0.0001	0.55
BMI	3.39	8.46	<0.0001	0.31
ALT	0.19	2.21	0.0279	0.08

BMI: 体质质量指数; ALT: 丙氨酸氨基转移酶。

线性, 模型估计结果稳定可靠(表3)。

### 3 讨论

在肝脂肪变的早期阶段及时进行干预, 通常脂肪变是可逆的<sup>[5]</sup>, 因此, 早期准确的诊断和确切可重复的疗效观察是FLD控制疾病发展、改善预后的关键所在。目前, 肝活检虽然是肝脂肪变诊断及分级的金标准, 但因其有创性及风险性, 难以作为筛查和动态随访手段在临床广泛应用。Fibrotouch是我国自行研发的第三代瞬时弹性记录仪, CAP值是在Fibrotouch基础上利用超声衰减原理重新定义的新参数, 可用于定量检测人体内肝脏脂肪变程度, CAP测量的肝脏体积是肝活检条的约100倍, 具有无创、定量的优点, 在初期临床试验中展现了对肝细胞脂肪变的良好诊断价值<sup>[6]</sup>。Sasso等<sup>[7]</sup>研究提示, 不同程度肝脂肪变的CAP值有显著差异, 而且CAP值与肝脂肪变程度显著相关。

目前, 肝脏的影像学诊断手段主要包括超声、CT和核磁共振成像(nuclear magnetic resonance imaging, MRI), 其中CT和MRI对于肝脏脂肪变性的诊断效果优于腹部超声, 但由于其价格昂贵且具有电离辐射, 难以广泛应用于临床。腹部超声因其廉价、便捷的优点, 是目前FLD临床筛检诊断的首选方法, 在脂肪肝患病率的调查中, 多采用肝脏超声进行检测<sup>[8,9]</sup>。有研究显示, 超声检查对肝脂肪变性的敏感度

为60%-94%, 准确度为66%-95%<sup>[10]</sup>, 但B超对于肝脏轻微脂肪变的诊断敏感性较差, 多数学者认为, 当肝脏脂肪变程度超过30%时才能被超声检测出<sup>[11,12]</sup>, 且不能区分轻微肝纤维化。肝脏超声只能提供定性结果, 无法对肝脂肪变程度进行量化评估, 并依赖于操作医师的主观判断。最近, 李海等<sup>[13]</sup>在对602例健康轻体力劳动者的研究中将CAP值与超声结果进行对比发现, 对于轻中度脂肪肝组, 很多被检者不能被肝脏超声检测到, 而对于重度脂肪肝组, 超声对肝脂肪变检出率明显提高, 但肝脏超声往往诊断为轻中度脂肪肝。本文将超声诊断脂肪肝分级结果纳入回归分析, 多元线性回归分析显示CAP值与超声诊断脂肪肝分级结果显著相关, 由此建立的数学模型能够为无Fibrotouch设备的社区或基层医生提供量化的肝脏脂肪含量数据, 一定程度上提高对轻微脂肪肝的诊断敏感度。

国内外已有研究报道, CAP值主要与BMI显著相关<sup>[14-20]</sup>。沈峰等<sup>[14]</sup>在对169例非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)患者和59例对照人群的研究中发现, 随着BMI值和腰围的增加, CAP值有增加的趋势。印度Kumar等<sup>[15]</sup>在对慢性肝病和NAFLD患者的研究中发现CAP值与BMI相关。韩国Chon等<sup>[16]</sup>对135例慢性肝脏疾病患者的CAP值进行单因素分析, 结果显示CAP值与BMI、ALT、

### 应用要点

本文应用CAP值探讨通过人体学指标、血清学指标及影像学指标建立的数学模型, 为指导社区或基层医院定量检测脂肪肝提供了依据, 为脂肪肝的防治、随访提供了有效的参考评价指标。



## ■名词解释

受控衰减参数(CAP): 是利用超声波在不同组织中衰减程度不同这一原理, 运用专利算法重新定义的新参数。超声信号在脂肪组织中衰减, 通过测量超声信号的衰减程度来定量评估肝脏脂肪变。

碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、FPG、TG、TC、肝纤维化程度、肝脂肪变程度、肝组织炎症活动度都相关, 而在多元线性回归分析中, 发现BMI值和肝脏脂肪变程度与CAP值独立相关。既往研究显示, NAFLD与肥胖, 特别是腹型肥胖密切相关, NAFLD人群的BMI值较非NAFLD人群为高( $P<0.0005$ )<sup>[21]</sup>, 肥胖人群的NAFLD发生率远远高于正常人群。因此, CAP与BMI呈显著正相关, 这与NAFLD肥胖发生率高的研究结果相一致。本研究中, 通过对16类自变量进行多元回归分析, 结果显示CAP值受超声诊断脂肪肝分级结果、BMI值及KPA值的显著影响, 其中超声诊断脂肪肝分级结果标准回归系数最高, 这与超声诊断脂肪肝分级结果为相似定性检查结果有关, 上文已单独讨论。BMI值标准回归系数仅次于超声诊断脂肪肝分级结果, 说明BMI值在计量资料中与其他自变量相比, 对CAP值的影响最大, 这与相关文献报道结果一致。

在本研究中, 最后进入回归方程的自变量还有ALT, 即CAP值与ALT相关。这与王文睿等<sup>[19]</sup>的报道相一致, 其对51例NAFLD患者的研究中, 发现CAP值不仅与BMI值具有显著相关性, 同时也与ALT值显著正相关。但相关文献鲜有类似报道, 目前尚无证据表明CAP值与ALT相关。ALT是机体内参与转氨基反应的一种催化酶, 他主要存在于肝细胞内, 当各种原因导致肝细胞损伤时, ALT释放入血, 即导致血清ALT升高, 因而被认为是一个能够较好反应肝细胞受损和相关炎症的敏感而可靠的血清学指标<sup>[22,23]</sup>, 目前研究认为NAFLD是不明原因ALT升高最常见的原因<sup>[24]</sup>, 施军平等<sup>[25]</sup>研究显示ALT的增高与肝脂肪变和肝纤维化程度并无相关, 可能仅仅提示肝脏存在炎症, 即是脂肪性肝炎的预测指标之一, 但准确性并不高。上述研究可以一定程度上解释CAP与ALT的相关性, 这可能与研究人群的偏倚有关。有研究显示, ALT水平不同时, 诊断肝纤维化的KAP值也不同<sup>[26]</sup>, Fraquelli等<sup>[27]</sup>对200例慢性肝病患者的KPA值进行检测, 发现瞬时弹性记录仪在评估肝纤维化方面同样具有很高的重复性和一致性, 但其重复性和一致性受到肝脂肪变和BMI的明显影响。卢加发等<sup>[28]</sup>对207例健康体检者的研究发现, KAP与CAP间呈显著性正相关。由于KAP与CAP值是同时检测获得, CAP

与ALT的是否相关, 尚需单独分析ALT水平、KAP值及肝组织炎性坏死与CAP的关系。

本研究将超声诊断脂肪肝分级结果纳入了多元回归分析, 但肝脏超声是与Fibrotouch类似的肝脏脂肪变检测方法, 这将导致可由自变量解释的因变量信息有限, 限制了其他自变量进入回归方程, 因此其他自变量对CAP值是否存在影响尚不能定论, 仍需更多的临床研究及数理分析进一步探讨。由此建立的回归方程在临床的实际应用还需有肝穿刺活检为金标准的多中心大样本临床研究来进一步验证。

总之, Fibrotouch作为一项无创、快速的肝纤维化和肝脂肪变检测技术, 临床应用前景广阔, 在FLD的筛查、监测中具有独特的优越性。利用检测到的CAP值探讨通过人体学指标、血清学指标及影像学指标建立的数学模型, 以此来定量反映肝脏脂肪含量, 从而指导社区或基层医院定量检测肝脏脂肪变、定期监测脂肪含量动态变化, 最终为脂肪肝的防治、随访提供有效的评价指标而应用于临床。

## 4 参考文献

- Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology* 1999; 116: 1413-1419 [PMID: 10348825]
- Wanless IR, Lentz JS. Fatty liver hepatitis (steatohepatitis) and obesity: an autopsy study with analysis of risk factors. *Hepatology* 1990; 12: 1106-1110 [PMID: 2227807]
- Sasso M, Beaugrand M, de Ledinghen V, Douvin C, Marcellin P, Poupon R, Sandrin L, Miette V. Controlled attenuation parameter (CAP): a novel VCTE™ guided ultrasonic attenuation measurement for the evaluation of hepatic steatosis: preliminary study and validation in a cohort of patients with chronic liver disease from various causes. *Ultrasound Med Biol* 2010; 36: 1825-1835 [PMID: 20870345 DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2010.07.005]
- Farrell GC, Chitturi S, Lau GK, Sollano JD. Guidelines for the assessment and management of non-alcoholic fatty liver disease in the Asia-Pacific region: executive summary. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 775-777 [PMID: 17565629]
- 陈绮霞. 体检人群中脂肪肝的患病率及针对性护理. *吉林医学* 2012; 33: 2860-2861
- Fan JG, Farrell GC. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease in China. *J Hepatol* 2009; 50: 204-210 [PMID: 19014878 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.10.010]
- Sasso M, Tengher-Barna I, Ziol M, Miette V, Fournier C, Sandrin L, Poupon R, Cardoso AC, Marcellin P, Douvin C, de Ledinghen V, Trinchet JC, Beaugrand M. Novel controlled attenuation

- parameter for noninvasive assessment of steatosis using Fibroscan®: validation in chronic hepatitis C. *J Viral Hepat* 2012; 19: 244-253 [PMID: 22404722 DOI: 10.1111/j.1365-2893.2011.01534.x]
- 8 范建高, 朱军, 李新建, 李锐, 戴菲, 宋晓敏, 陈兰, 李锋, 陈世耀. 上海市成人脂肪肝患病率及其危险因素流行病学调查. *中华肝脏病杂志* 2005; 13: 83-88
  - 9 乔丽娜, 戴光荣, 张锦, 申妮. 延安地区成人脂肪肝患病率及其危险因素的探讨. *临床肝胆病杂志* 2015; 31: 82-87
  - 10 Schwenzer NF, Springer F, Schraml C, Stefan N, Machann J, Schick F. Non-invasive assessment and quantification of liver steatosis by ultrasound, computed tomography and magnetic resonance. *J Hepatol* 2009; 51: 433-445 [PMID: 19604596 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.05.023]
  - 11 黄耀彬, 李焕敏, 李春光. 胆囊切除与非酒精性脂肪肝关系的初步探讨. *临床肝胆病杂志* 2014; 30: 644-646
  - 12 Loomba R, Wolfson T, Ang B, Hooker J, Behling C, Peterson M, Valasek M, Lin G, Brenner D, Gamst A, Ehman R, Sirlin C. Magnetic resonance elastography predicts advanced fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease: a prospective study. *Hepatology* 2014; 60: 1920-1928 [PMID: 25103310 DOI: 10.1002/hep.27362]
  - 13 李海, 刘纯城, 王毓麟, 侯锐, 高洪军, 牛海艳, 夏时海, 朱理珉. 应用受控衰减参数方法对天津市轻体力劳动者脂肪肝流行状况的调查研究. *临床肝胆病杂志* 2015; 31: 1073-1077
  - 14 沈峰, 徐正婕, 潘勤, 陈光榆, 曹毅, 黄家懿, 范建高. FibroScan R实施受控衰减参数评价脂肪肝的影响因素及重复性分析. *实用肝脏病杂志* 2013; 16: 59-62
  - 15 Kumar M, Rastogi A, Singh T, Behari C, Gupta E, Garg H, Kumar R, Bhatia V, Sarin SK. Controlled attenuation parameter for non-invasive assessment of hepatic steatosis: does etiology affect performance? *J Gastroenterol Hepatol* 2013; 28: 1194-1201 [PMID: 23425053 DOI: 10.1111/jgh.12134]
  - 16 Chon YE, Jung KS, Kim SU, Park JY, Park YN, Kim do Y, Ahn SH, Chon CY, Lee HW, Park Y, Han KH. Controlled attenuation parameter (CAP) for detection of hepatic steatosis in patients with chronic liver diseases: a prospective study of a native Korean population. *Liver Int* 2014; 34: 102-109 [PMID: 24028214 DOI: 10.1111/liv.12282]
  - 17 Shen F, Zheng RD, Mi YQ, Wang XY, Pan Q, Chen GY, Cao HX, Chen ML, Xu L, Chen JN, Cao Y, Zhang RN, Xu LM, Fan JG. Controlled attenuation parameter for non-invasive assessment of hepatic steatosis in Chinese patients. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 4702-4711 [PMID: 24782622 DOI: 10.3748/wjg.v20.i16.4702]
  - 18 卢加发, 潘勤, 陈光榆, 沈峰, 章瑞南, 朱婵艳, 陈一铭, 张舒宜, 吴佳瑜, 范建高. 普通人群肝脏受控衰减参数的多元回归分析. *实用肝脏病杂志* 2014; 17: 291-294
  - 19 王文睿, 杨岚岚, 贾胜男, 金珍婧. FibroTouch受控衰减参数评价非酒精性脂肪性肝病相关因素分析. *实用肝脏病杂志* 2015; 18: 367-370
  - 20 Chan WK, Nik Mustapha NR, Mahadeva S. Controlled attenuation parameter for the detection and quantification of hepatic steatosis in nonalcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2014; 29: 1470-1476 [PMID: 24548002 DOI: 10.1111/jgh.12557]
  - 21 Williams CD, Stengel J, Asike MI, Torres DM, Shaw J, Contreras M, Landt CL, Harrison SA. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing ultrasound and liver biopsy: a prospective study. *Gastroenterology* 2011; 140: 124-131 [PMID: 20858492 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.09.038]
  - 22 Suzuki A, Lymp J, Sauver JS, Angulo P, Lindor K. Values and limitations of serum aminotransferases in clinical trials of nonalcoholic steatohepatitis. *Liver Int* 2006; 26: 1209-1216 [PMID: 17105586]
  - 23 Kim WR, Flamm SL, Di Bisceglie AM, Bodenheimer HC. Serum activity of alanine aminotransferase (ALT) as an indicator of health and disease. *Hepatology* 2008; 47: 1363-1370 [PMID: 18366115 DOI: 10.1002/hep.22109]
  - 24 Daniel S, Ben-Menachem T, Vasudevan G, Ma CK, Blumenkehl M. Prospective evaluation of unexplained chronic liver transaminase abnormalities in asymptomatic and symptomatic patients. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 3010-3014 [PMID: 10520861]
  - 25 施军平, 荀运浩, 胡晨波, 张莉, 刘红, 姜国强, 范建高. 非酒精性脂肪性肝病的临床及病理学特征. *中华肝脏病杂志* 2009; 17: 812-816
  - 26 Wong GL. Transient elastography: Kill two birds with one stone? *World J Hepatol* 2013; 5: 264-274 [PMID: 23717737 DOI: 10.4254/wjh.v5.i5.264]
  - 27 Fraquelli M, Rigamonti C, Casazza G, Conte D, Donato MF, Ronchi G, Colombo M. Reproducibility of transient elastography in the evaluation of liver fibrosis in patients with chronic liver disease. *Gut* 2007; 56: 968-973 [PMID: 17255218]
  - 28 卢加发, 刘文斌, 潘勤, 陈光榆, 沈峰, 章瑞南, 朱婵艳, 陈一铭, 张舒宜, 吴佳瑜, 范建高. 健康体检成人FibroScan检测肝脏硬度值与受控衰减参数的相关分析. *实用肝脏病杂志* 2014; 17: 484-488

# 同行评价

FLD已经成为我国第一大肝病, 诊断和疾病评估具有重要的临床意义, 该项研究数据可靠, 研究结果具有一定的临床参考价值。

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



## 乌鲁木齐市社区居民非酒精性脂肪肝流行现状调查

宋江美, 咸亚静, 莫合德斯·斯依提, 林素兰

### 背景资料

近年来我国城市人群中的非酒精性脂肪肝发病率明显上升, 严重危害人类健康, 该病已成为肝病领域中的热点之一。不同地区和不同人群及民族中非酒精性脂肪肝的发病率有明显差别, 分析影响因素对今后的防治有非常重要的临床意义。

宋江美, 新疆医科大学第一附属医院感染病中心 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000

咸亚静, 莫合德斯·斯依提, 林素兰, 新疆医科大学护理学院 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000

宋江美, 副主任护师, 主要从事肝病及感染病护理方面的研究。

乌鲁木齐市科技厅课题基金资助项目, No. Y141310051

作者贡献分布: 所有作者贡献相同; 林素兰给予课题设计和指导及参与数据分析; 宋江美、咸亚静及莫合德斯·斯依提负责调查、收集数据、分析及写作。

通讯作者: 林素兰, 副教授, 主任护师, 830000, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市新医路397号, 新疆医科大学护理学院。  
[linsulan@163.com](mailto:linsulan@163.com)

收稿日期: 2016-02-19  
修回日期: 2016-03-20  
接受日期: 2016-03-28  
在线出版日期: 2016-04-28

### Prevalence of and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease in community residents in Urumqi city

Jiang-Mei Song, Ya-Jing Xian, Mohedesi·Siyiti, Su-Lan Lin

Jiang-Mei Song, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Ya-Jing Xian, Mohedesi·Siyiti, Su-Lan Lin, School of Nursing, Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Supported by: Fund of Urumqi Science and Technology Department, No. Y141310051

Correspondence to: Su-Lan Lin, Associate Professor, Chief Nurse, School of Nursing, Xinjiang Medical University, 397 Xinyi Road, Urumqi 830000, Xinjiang

Uygur Autonomous Region, China. [linsulan@163.com](mailto:linsulan@163.com)

Received: 2016-02-19

Revised: 2016-03-20

Accepted: 2016-03-28

Published online: 2016-04-28

### Abstract

**AIM:** To investigate the prevalence of and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) among community residents in Urumqi in order to provide evidence for the prevention and treatment of this disease in the future.

**METHODS:** Cluster sampling method was adopted in this study. Questionnaire survey, physical measurement, blood biochemistry (including liver function, fasting blood sugar) examination as well as liver B ultrasound were used to investigate the situation of NAFLD.

**RESULTS:** A total of 844 people met the inclusion criteria for community residents, including 291 men and 553 women, with an average age of  $51.66 \pm 7.10$  years, of whom 558 were Han Chinese, 272 were Uygur, and 13 were Hui. The overall prevalence rate of NAFLD was 54%. The prevalence rate of NAFLD among ethnic minority residents was higher than that of Han nationality. Body mass index, systolic blood pressure, diastolic blood pressure, waist circumference, hip circumference, neck circumference, subcutaneous fat thickness, fasting blood glucose, uric acid, alanine aminotransferase, and aspartate aminotransferase levels were significantly higher in NAFLD than in the normal group.

### 同行评议者

田银娣, 主管护师, 护士长, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科



**CONCLUSION:** The prevalence rate of NAFLD in community residents aged 40-65 years is higher in Urumqi. BMI, waist circumference, subcutaneous fat, fasting blood glucose, and alanine aminotransferase are risk factors for NAFLD.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Nonalcoholic fatty liver disease; Prevalence; Risk factors; Epidemiological survey; Urumqi community

Song JM, Xian YJ, Mohedesi•Siyiti, Lin SL. Prevalence of and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease in community residents in Urumqi city. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(12): 1880-1884 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1880.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i12.1880>

## 摘要

**目的:** 本调查旨在了解乌鲁木齐市社区居民非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)患病情况及其主要相关危险因素, 从而为今后开展该病的防治提供依据。

**方法:** 以街道社区为单位, 采取整群抽样的方法, 通过问卷调查、体格测量、血液生化(包括肝功能、空腹血糖)检查以及肝脏B超检查, 调查NAFLD患病情况。

**结果:** 对乌鲁木齐市2个社区调查1000例, 最终符合纳入标准的社区居民共有844例, 其中男性291例, 女性553例, 平均年龄51.66岁 $\pm$ 7.10岁, 汉族558例, 维吾尔族272例, 回族13例。检出NAFLD患者456例, 患病率为54.0%。对各项临床指标分析显示少数民族居民NAFLD患病率高于汉族居民。NAFLD组人群的体质指数、收缩压、舒张压、腰围、臀围、颈围、皮下脂肪厚度、空腹血糖、尿酸、谷丙转氨酶、谷草转氨酶水平均高于正常人群组。

**结论:** 乌鲁木齐市40-65岁社区居民NAFLD患病率较高, 少数民族人群NAFLD高于汉族人群, 其中体质指数、收缩压、腰围、皮下脂肪、空腹血糖、尿酸、丙氨酸氨基转移酶均是NAFLD的危险因素。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 非酒精性脂肪肝; 患病率; 危险因素; 流行病学调查; 乌鲁木齐社区

**核心提示:** 本文对乌鲁木齐市2个社区的中年人群进行流行病学调查, 从身体指数至生化指标进行分析, 发现维吾尔族的非酒精性脂肪肝发病率明显高于汉族人群。非酒精性脂肪肝的各项临床指标高于正常人群, 并且进一步分析影响因素, 为今后在当地防治非酒精性脂肪肝提供科学依据。

宋江美, 咸亚静, 莫合德斯•斯依提, 林素兰. 乌鲁木齐市社区居民非酒精性脂肪肝流行现状调查. *世界华人消化杂志* 2016; 24(12): 1880-1884 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1880.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i12.1880>

## 0 引言

非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是指除外酒精和其他明确的损肝因素所致的, 以弥漫性肝细胞大泡性脂肪变为主要特征的临床病理综合征<sup>[1]</sup>。近年来, 随着人们饮食结构和生活方式的改变, NAFLD的患病率持续上升, 已经成为发达国家和经济富裕地区慢性肝病的最常见病因, 是隐源性肝硬化的重要原因。因此, 充分认识NAFLD的高危因素, 重视筛查高危人群, 是目前社区开展健康教育的首要目的。本文通过对乌鲁木齐市40-65岁社区人群NAFLD患病情况以及主要相关因素进行调查, 从而为本地区今后开展该疾病的防治提供依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 通过整群抽样方法选取乌鲁木齐市沙依巴克区及水磨沟区社区居民进行调查。样本量计算: 按公式 $n = t_{\alpha}^2 \times PQ/d^2$ , 设定 $\alpha = 0.05$ ,  $t$ 值约为2,  $P$ 为年龄在40-65岁社区居民NAFLD现患率为40.0%, 容许误差 $d = 0.1P$ , 估算样本量 $n = 400 \times (1-P)/P = 600$ , 因选取整群抽样方法, 最终样本量确定为1000例, 符合纳入标准的社区居民共有844例。

### 1.2 方法

**1.2.1 调查问卷:** 所有研究对象均由专门培训人员询问病史, 并填写统一设计的调查问卷, 内容包括一般情况、家族史、慢病史、饮食运动等生活习惯。

**1.2.2 体检项目:** 包括测量身高、体质指数(body mass index, BMI)、血压、腰围、臀围、颈围、皮下脂肪厚度和肝脏B超检查, 并采集

## ■ 相关报道

有报道称维吾尔族人群PNPLA3-rs738409GG基因型与自身腹型肥胖密切相关。而Patatin样磷脂酶3基因(PNPLA3)本身可编码一种非分泌性蛋白叫脂肪滋养蛋白, 具有脂肪酰甘油转移酶活性, 可促进脂肪细胞内三酰甘油的合成。

同行评价

本文结构合理, 论据充分, 对现实生活有很好的指导意义.

表 1 非酒精性脂肪肝患病情况比较  $n(\%)$

相关因素	<i>n</i>	患病率	$\chi^2$ 值	<i>P</i> 值
性别			71.85	<0.05
男	291	99(34.0)		
女	553	357(64.6)		
年龄(岁)			2.00	>0.05
40-49	359	199(55.4)		
50-59	340	174(51.2)		
60-65	145	83(58.0)		
民族			19.05	<0.05
汉族	559	272(48.7)		
维吾尔族	272	176(64.7)		
回族	13	8(61.5)		

外周静脉血5 mL送检, 用全自动生化分析仪检测空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)、尿酸、肝功能[谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)和谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)], 体检之前要求禁食10-12 h. 诊断标准: 严格按照2010年中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病组制定的《非酒精性脂肪肝诊疗指南》<sup>[2]</sup>.

**统计学处理** 采用Epidata3.0软件建立数据库, 双人录入数据, 利用SPSS16.0统计软件进行分析, 率之间的比较用 $\chi^2$ 检验, 计量资料以mean±SD表示, 资料均进行正态性、方差齐性检验, 若资料满足正态性及方差齐性则进行*t*检验; 若资料只满足正态性, 不满足方差齐性则进行*t'*检验; 若两者都不满足, 则采用Mann-Whitney Test检验.  $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

**2.1 基本情况及NAFLD患病率** 本次调查计划共1000例完成检查, 符合纳入标准的社区居民有844例, 年龄51.66岁±7.10岁, 身高1.60 m±0.08 m, 体质量67.62 kg±12.24 kg; 男性34.5%, 女性65.5%; 汉族66.2%, 维吾尔族32.3%, 回族1.5%. 共检出NAFLD患者456例, 患病率为54.0%(表1).

**2.2 NAFLD与正常人群的临床各项指标的比较** 本次研究共检出456例非酒精性脂肪肝患者, 将其临床观察指标与正常人群进行比较, 发现NAFLD患者BMI、收缩压、舒张压、腰围、臀围、颈围、尿酸、FPG、ALT、AST水平均与正常人群有差异, 存在统计学意义(表2).

**2.3 NAFLD的相关因素的Logistic回归分析** 非酒精性脂肪肝相关因素的Logistic回归分析, 可以看出BMI、腰围、颈围、皮下脂肪厚度、尿酸、FPG、ALT、AST与NAFLD相关性均具有统计学意义(表3).

3 讨论

NAFLD是临床上常见的慢性肝脏疾病, 在全球分布广泛, 流行趋势严重. 全球报道的NAFLD的患病率介于10%-78%, 差异较大, 主要是因为研究对象与诊断方法不同所致<sup>[3]</sup>. 而国内多项研究报告NAFLD患病率在7.4%-36.5%, 且存在性别、年龄、地区等差异<sup>[4,5]</sup>. 我们对乌鲁木齐市40-65岁居民的调查结果显示, NAFLD患病率为54.0%, 不同性别、不同族别人群NAFLD患病率均具有差异性. 其原因可能与本研究的调查对象以中年为主, 或可能与乌鲁木齐市不同民族遗传特征有关. 本研究的对象年龄在40-65岁之间, 以女性为多(男女比为1:2). 乌鲁木齐市部分少数民族女性由于受传统观念影响, 婚后主要负责照顾家庭, 体力劳动较少, 以及高脂、高蛋白饮食习惯, 尤其是在40-65岁年龄段容易发生腹型肥胖. 加之, 妇女绝经后, 体内雌二醇水平明显下降, 从而可能造成女性NAFLD患病率升高. 此外, 研究<sup>[6,7]</sup>发现, 维吾尔族人群PNPLA3-rs738409GG基因型与自身腹型肥胖密切相关. 而Patatin样磷脂酶3基因(PNPLA3)本身可编码一种非分泌性蛋白叫脂肪滋养蛋白, 具有脂肪酰甘油转移酶活性, 可促进脂肪细胞内三酰甘油的合成<sup>[8]</sup>. 尿酸水平在汉族和维吾尔族NAFLD患者中也有显著差别<sup>[9]</sup>.

本研究显示NAFLD组与正常人群组临床指标结果相比, NAFLD组的BMI、收缩压、舒张压、腰围、臀围、颈围、皮下脂肪厚度、FPG、尿酸、ALT、AST水平均高于正常人群组( $P<0.05$ ). 分析原因如下: (1)现代研究认为NAFLD是代谢综合征(metabolic syndrome, MS)的组成成分, MS是一组由遗传、环境因素、社会因素共同决定的临床综合征和临床症候群, 他以胰岛素抵抗为中心, 是中心性肥胖、高血糖、高血脂、高血压等多种代谢异常的集合<sup>[10]</sup>. 而肝脏是MS作用的靶器官之一, 也是糖、脂代谢调节的重要器官, 长期血压、血糖的异常超出肝脏代偿能力, 对肝脏造成一

表 2 非酒精性脂肪肝人群与正常人群临床各指标结果比较

指标	NAFLD组 (n = 456)	正常人群组 (n = 388)	统计量	P值
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	28.05 ± 4.06	24.00 ± 3.23	-15.71	<0.05
收缩压(mmHg)	135 ± 19	129 ± 17	-4.51	<0.05
舒张压(mmHg)	86 ± 11	83 ± 12	-3.29	<0.05
腰围(cm)	95.03 ± 10.60	85.77 ± 9.61	-12.74	<0.05
臀围(cm)	103.33 ± 8.48	96.64 ± 7.37	-11.29	<0.05
颈围(cm)	35.79 ± 3.40	34.59 ± 3.50	-4.88	<0.05
尿酸(μmol/L)	318.06 ± 81.09	299.96 ± 81.67	-3.12	<0.05
FPG(mmol/L)	5.86 ± 2.13	5.40 ± 1.68	-4.78	<0.05
ALT(U/L)	41.91 ± 57.41	28.22 ± 15.56	-7.25	<0.05
AST(U/L)	28.38 ± 15.85	24.35 ± 7.90	-3.35	<0.05
皮下脂肪(mm)	32.23 ± 8.00	25.20 ± 8.95	-10.45	<0.05

BMI: 体质量指数; FPG: 空腹血糖; ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶.

表 3 非酒精性脂肪肝相关因素的Logistic回归分析

因素	B	SE	Wald	Sig	Exp(B)	95%CI
BMI	0.277	0.046	36.410	0	1.320	1.206-1.444
收缩压	0.006	0.008	0.508	0.476	1.006	0.990-1.022
舒张压	-0.002	0.013	0.021	0.884	0.998	0.974-1.023
腰围	0.033	0.016	4.390	0.036	1.033	1.002-1.066
臀围	-0.017	0.019	0.835	0.361	0.983	0.946-1.020
颈围	-0.218	0.036	37.379	0.000	0.804	0.749-0.862
皮下脂肪	0.045	0.012	14.938	0.000	1.046	1.022-1.070
FPG	0.137	0.048	8.168	0.004	1.147	1.044-1.260
尿酸	0.001	0.001	1.014	0.314	1.001	0.999-1.003
ALT	0.024	0.007	11.585	0.001	1.024	1.010-1.039
AST	-0.035	0.014	6.467	0.011	0.966	0.941-0.992

BMI: 体质量指数; FPG: 空腹血糖; ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶.

定的负担. 同时, 肝脏又是产生血清ALT和AST的主要脏器, 有研究<sup>[11]</sup>显示ALT升高是糖尿病与高血压的危险因素, 但是以上因素至今没有一个明确的因果关系, 需更进一步深入研究; (2)近年来, 有研究<sup>[12]</sup>提出测量颈围能有效预测NAFLD的发生风险, 尤其是女性人群. 颈围是指颈部皮下脂肪或呼吸道周围脂肪的沉积, 也是反映肥胖程度的重要临床指标之一. 随着颈围的增大, NAFLD患病率有明显上升趋势, 更进一步说明肥胖是非酒精性脂肪肝的独立危险因素. 而BMI是衡量整体肥胖的指标, 预防NAFLD时, 需更加注意控制BMI, 使其保持在18.5-23.9 kg/m<sup>2</sup>之间<sup>[13]</sup>, 同时也需要控制腰围、皮下脂肪、FPG、ALT、AST水平.

总之, 乌鲁木齐市40-65岁社区人群非酒精性脂肪肝患病率较高, 该疾病的防治应从以下几个方面入手: 加强运动、控制体质量、减少腰围; 改变不良生活方式与饮食结构如高脂、高糖、高热量饮食, 戒烟酒等; 定期体检, 监测体质量、腰围、血压、肝功能、血脂、血糖等, 及时控制血脂、血糖水平, 坚持非药物治疗与药物治疗并重, 能够实现早发现, 早治疗, 从而更好地预防疾病发生<sup>[14,15]</sup>.

#### 4 参考文献

1 Mehta K, Van Thiel DH, Shah N, Mobarhan S. Nonalcoholic fatty liver disease: pathogenesis and the role of antioxidants. *Nutr Rev* 2002; 60: 289-293 [PMID: 12296456 DOI: 10.1301/002966402320387224]



- 2 中华医学会肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南(2010年修订版). 中华肝脏病杂志 2010; 18: 163-166
- 3 Ekstedt M, Franzén LE, Mathiesen UL, Thorelius L, Holmqvist M, Bodemar G, Kechagias S. Long-term follow-up of patients with NAFLD and elevated liver enzymes. *Hepatology* 2006; 44: 865-873 [PMID: 17006923 DOI: 10.1002/hep.21327]
- 4 高先春, 杨玲. 非肥胖人群非酒精性脂肪性肝病流行现状及相关危险因素. 临床内科杂志 2015; 32: 297-299
- 5 崔喜闻, 李莉, 赵效果, 江艳, 王淑霞. 乌鲁木齐市部分健康体检人群脂肪肝患病状况分析. 新疆医科大学学报 2012; 35: 671-674
- 6 蔡雯, 宋江美, 王淑霞, 邹媛, 米合日古丽·热西提, 姚华. 维吾尔族人群血尿酸水平与非酒精性脂肪性肝病的关系研究. 中国全科医学 2013; 16: 2323-2326
- 7 Zhang Y, Cai W, Song J, Miao L, Zhang B, Xu Q, Zhang L, Yao H. Association between the PNPLA3 I148M polymorphism and non-alcoholic fatty liver disease in the Uygur and Han ethnic groups of northwestern China. *PLoS One* 2014; 9: e108381 [PMID: 25290313 DOI: 10.1371/journal.pone.0108381]
- 8 吴鹏波, 舒泳翔, 郭芳, 罗如生, 张国, 谭诗云. Patatin样磷脂酶结构域蛋白3基因rs738409位点多态性与非酒精性脂肪肝易感性关系的Meta分析. 中华流行病学志 2015; 36: 78-82
- 9 Cai W, Song JM, Zhang B, Sun YP, Yao H, Zhang YX. The prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and relationship with serum uric acid level in Uyghur population. *ScientificWorldJournal* 2014; 2014: 393628 [PMID: 24516367 DOI: 10.1155/2014/393628]
- 10 赵辉, 胡滨, 于书君, 刘颖, 冷松, 孙广慧. 代谢综合征各组分与非酒精性脂肪肝发病风险的关系. 大连医科大学学报 2012; 34: 586-589
- 11 岳冬梅, 王凌燕, 姚能才, 窦存芳, 罗晓茵, 石来新, 卢英民. ALT升高、非酒精性脂肪肝与高血压病发病的关系及可能机制探讨. 中国实用医药 2011; 06: 56-57
- 12 朱明范, 陈慧, 王研, 吴丽萍, 许仰, 曾讯, 朱惠莲. 体检人群颈围与中心性肥胖的关联研究. 中国慢性病预防与控制 2011; 19: 445-447
- 13 中国肥胖工作组. 中国成人超重和肥胖症预防控制指南. 营养学报 2004; 26: 1-4
- 14 林素兰, 宋江美, 夏慧玲, 蔡雯, 热比古丽·热合曼, 张向阳. 乌鲁木齐地区非酒精性脂肪肝及其相关因素的logistic回归分析. 中华肝脏病杂志 2014; 22: 953-954
- 15 林素兰, 宋江美, 夏慧玲, 张向阳. 腰臀围及体重指数与非酒精性脂肪肝的关系探讨. 中国实用护理杂志 2014; 30: 48-50

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利



## 不同病程的慢性乙型肝炎病毒感染者外周血中调节性T细胞和自然杀伤细胞的表达及相关性

张晓慧, 姜金丽, 段钟平, 陈煜

张晓慧, 段钟平, 陈煜, 首都医科大学附属北京佑安医院人工肝中心 北京市 100069

姜金丽, 首都医科大学附属北京佑安医院临检中心 北京市 100069

张晓慧, 副研究员, 主要从事肝纤维化的机制及免疫调节方面的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81500472  
北京市医院管理局临床医学发展专项基金资助项目, No. XM201308  
北京市医院管理局“登峰”人才培养计划基金资助项目, No. DFL20151601  
国家临床重点专科建设资助项目, No. WJWYA-2014-002  
首都医科大学基础-临床合作基金资助项目, Nos. 14JL73, 14JL72

作者贡献分布: 此课题由张晓慧与段钟平设计; 流式细胞分析由姜金丽完成; 数据分析由张晓慧完成; 本文写作由张晓慧完成; 陈煜修改。

通讯作者: 陈煜, 教授, 主任医师, 100069, 北京市丰台区右安门外西头条8号, 首都医科大学附属北京佑安医院人工肝中心。  
chybeyond@163.com  
电话: 010-83997157

收稿日期: 2016-02-25  
修回日期: 2016-03-16  
接受日期: 2016-03-23  
在线出版日期: 2016-04-28

### Expression of regulatory T cells and natural killer cells in peripheral blood of patients in different stages of chronic hepatitis B virus infection

Xiao-Hui Zhang, Jin-Li Lou, Zhong-Ping Duan, Yu Chen

Xiao-Hui Zhang, Zhong-Ping Duan, Yu Chen, Artificial Liver Center, Beijing Youan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Jin-Li Lou, Clinical Laboratory Center, Beijing Youan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81500472; Clinical Medicine Development Special Fund of Beijing Municipal Administration of Hospitals, No. XM201308; “Dengfeng” Talent Training Plan, No. DFL20151601; The National Key Clinical Specialist Construction Project, No. WJWYA-2014-002; Basic-Clinical Cooperation Project of Capital Medical University, Nos. 14JL73 and 14JL72

Correspondence to: Yu Chen, Professor, Chief Physician, Artificial Liver Center, Beijing Youan Hospital, Capital Medical University, 8 Xitoutiao, Youanmen Outside, Fengtai District, Beijing 100069, China. chybeyond@163.com

Received: 2016-02-25  
Revised: 2016-03-16  
Accepted: 2016-03-23  
Published online: 2016-04-28

### Abstract

**AIM:** To investigate the expression of regulatory T cells (Tregs) and natural killer (NK) cells in the peripheral blood of patients with chronic hepatitis B virus (HBV) infection.

**METHODS:** A total of 96 chronic HBV infected patients were enrolled, including 42 chronic hepatitis B patients, 30 cirrhosis patients, and 24 hepatitis B carriers. There were 21 healthy persons as controls. Peripheral blood was collected from subjects to detect the expression of Tregs and NK cells, by means of flow cytometry.

**RESULTS:** The expression of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Tregs in peripheral blood was the highest in

### 背景资料

乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 慢性感染后, 人体外周血的Tregs和NK细胞表达都会发生变化。人体和动物的体外研究均发现Tregs对NK细胞的表达有抑制作用。而这一现象在HBV慢性感染患者体内是否存在, 是否与病程相关, 目前未见相关报道。

### 同行评议者

程书权, 教授, 主任医师, 研究生导师, 桂林医学院第三附属医院(桂林市传染病医院, 桂林市第三人民医院)肝病科; 杨江华, 副教授, 皖南医学院弋矶山医院感染科

## ■ 研究前沿

Tregs是一类具有免疫抑制性的T淋巴细胞, 在肿瘤的免疫逃逸方面发挥重要作用, 研究较为深入. NK细胞是固有免疫的重要组成部分, 在宿主抗病毒和抗肿瘤方面发挥关键作用. 近些年, 随着研究的深入, 发现两者在慢性肝病中都扮演重要角色.

the hepatitis B cirrhosis group, followed by chronic hepatitis B patients, HBV carriers and healthy controls. In contrast, the percentage of NK cells in the cirrhosis group was the lowest, followed by chronic hepatitis B patients and HBV carriers, but all of them had lower percentage of NK cells than healthy controls. Further analysis showed that the expression of Tregs was negatively correlated with NK cells ( $r = -0.3280, P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** The expression of Tregs and NK cells in the peripheral blood of chronic HBV infected patients is different with the disease course, and they are negatively correlated.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Regulatory T cells; Natural killer cells; Chronic hepatitis B virus infection

Zhang XH, Lou JL, Duan ZP, Chen Y. Expression of regulatory T cells and natural killer cells in peripheral blood of patients in different stages of chronic hepatitis B virus infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(12): 1885-1890 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1885.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i12.1885>

## 摘要

**目的:** 观察乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)慢性感染者外周血中调节性T细胞(regulatory T cells, Tregs)和自然杀伤(natural killer, NK)细胞的表达及相关性.

**方法:** 选取HBV慢性感染患者共96例, 其中慢性乙型肝炎患者42例, 乙型肝炎肝硬化患者30例, HBV携带者24例, 抽取外周血用流式细胞分析技术检测其Tregs和NK细胞的表达情况. 同时选取健康者21例作为对照组.

**结果:** HBV慢性感染者外周血CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Tregs占CD4<sup>+</sup> T细胞的比例整体高于健康对照组, 其中乙型肝炎肝硬化患者外周血CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Tregs占CD4<sup>+</sup> T细胞的比例最高, 其次为慢性乙型肝炎患者, 最后为HBV携带者和健康对照组. 相反, NK细胞占淋巴细胞的比例在HBV慢性感染者外周血中整体较健康对照组低, 其中乙型肝炎肝硬化组表达最低, 其次为慢性乙型肝炎组, 最后为HBV携带者, 但都低于健康对照组. 进一步分析显示NK细胞的表达与Tregs呈负相关性( $r = -0.3280, P < 0.05$ ).

**结论:** 不同阶段的HBV慢性感染患者外周血中Tregs和NK细胞表达不同, 且两者呈明显的负相关性.

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 调节性T细胞; 自然杀伤细胞; 乙型肝炎病毒慢性感染

**核心提示:** 本文首次发现在乙型肝炎病毒(hepatitis B virus)慢性感染患者外周血NK细胞的表达与Tregs存在着此消彼长的现象, 进一步发现两者存在负相关性.

张晓慧, 娄金丽, 段钟平, 陈煜. 不同病程的慢性乙型肝炎病毒感染者外周血中调节性T细胞和自然杀伤细胞的表达及相关性. *世界华人消化杂志* 2016; 24(12): 1885-1890 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1885.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i12.1885>

## 0 引言

慢性乙型肝炎是由乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)引起的全世界范围内流行的感染性疾病, 可发展为肝硬化、肝癌. 我国是HBV感染的高发区, 约有9300万慢性HBV感染者. HBV对肝脏的损伤主要是通过机体免疫系统与病毒的相互作用而诱发的免疫损伤导致<sup>[1]</sup>. 自然杀伤细胞(natural killer, NK)和调节性T细胞(regulatory T cells, Tregs)是肝脏免疫系统中起重要作用的两类细胞<sup>[2]</sup>. NK细胞表型为CD56<sup>+</sup>CD3<sup>-</sup>, 作为机体抵抗病毒感染的一个重要的成员, 主要通过直接杀伤被感染的靶细胞, 或者通过分泌大量的炎性细胞因子[如干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )]介导抗病毒效应. 临床研究表明感染HBV或丙型肝炎病毒后, NK细胞的活性和分泌的IFN- $\gamma$ 明显降低<sup>[3-5]</sup>. 而Tregs是一类具有免疫抑制性作用的淋巴细胞, 主要标志为叉头分子Foxp3. 临床研究<sup>[6]</sup>发现慢性乙型肝炎患者的Tregs水平明显高于健康人. 体外实验证实Tregs可以抑制NK细胞的活性<sup>[2,7]</sup>, 那么HBV感染患者体内Tregs和NK表达是否也有这样的趋势, 目前未见报道. 本研究通过对慢性HBV感染患者外周血的检测, 观察Tregs和NK的表达及两者相关性.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取从2014-09/2015-06在北京佑安医院人工肝中心治疗的HBV感染患者96例, 其



表 1 入组对象的一般资料

一般情况	正常对照	慢性乙型肝炎	乙型肝炎肝硬化	HBV携带
性别(男/女)	12/9	25/17	20/10	17/7
年龄(岁)	31.1 ± 5.0	36.8 ± 2.1	48.7 ± 2.8	28.3 ± 1.7
ALT(U/L)	19.2 ± 11.4	83.6 ± 12.8	54.3 ± 12.7	23.3 ± 5.1
HBV DNA logs(IU/mL)	—	5.2 ± 0.5	3.1 ± 0.6	7.6 ± 0.2

ALT: 谷丙转氨酶; HBV: 乙型肝炎病毒。

表 2 HBV慢性感染患者外周血Tregs和NK的表达 (mean ± SD, %)

分组	Tregs(CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> Foxp3 <sup>+</sup> /CD4 <sup>+</sup> )	NK(CD3 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup> /CD45 <sup>+</sup> )
慢性乙型肝炎	6.7 ± 0.4 <sup>c</sup>	11.4 ± 0.9 <sup>bc</sup>
乙型肝炎肝硬化	9.2 ± 1.4 <sup>b</sup>	8.2 ± 0.9 <sup>b</sup>
HBV携带	4.7 ± 1.0 <sup>d</sup>	15.2 ± 1.7 <sup>af</sup>
健康对照	4.6 ± 0.5	20.96 ± 3.9

<sup>b</sup>*P*<0.01 vs 健康对照; <sup>c</sup>*P*<0.05; <sup>d</sup>*P*<0.01 vs 乙型肝炎肝硬化; <sup>f</sup>*P*<0.01 vs 慢性乙型肝炎。Tregs: 调节性T细胞; NK: 自然杀伤细胞; HBV: 乙型肝炎病毒。

中包括慢性乙型肝炎患者42例, 乙型肝炎肝硬化患者30例, HBV携带者24例。诊断标准符合2010年版《慢性乙型肝炎防治指南》<sup>[8]</sup>。排除标准: (1)肝癌和其他免疫系统疾病和病毒性疾病; (2)合并其他病因(包括自身免疫性、酒精性或药物性)导致的慢性肝病; (3)除肝脏损伤外伴有其他严重的活动性身心疾病, 包括未被控制的原发性肾脏、心脏、肺脏、血管性、神经性、消化性、代谢性疾病; (4)入组最近6 mo内曾接受抗病毒药物或免疫治疗; (5)妊娠和哺乳期妇女; (6)各种原因引起的肝衰竭。正常对照组21例, 为健康献血者, 肝功能均在正常范围。所有入组人员均签署知情同意书。入组人员基本情况如表1。

## 1.2 方法

1.2.1 分组: 符合入组要求的患者按照疾病分类进行分组, 主要检测和观察项目为Tregs和NK细胞的流式细胞分析检测。同时收集记录患者抽血当时1 wk内的肝功能(包括转氨酶、总胆红素、白蛋白)、血常规、甲胎蛋白和B超结果。

1.2.2 血标本采集: 所有入组患者均早晨抽取外周血5.0 mL, 其中EDTA抗凝血2.0 mL, 随即进行血浆提取, 准备进行流式细胞分析检测; 其余血静置半小时后离心提取血清, -80 °C保存。

1.2.3 Tregs和NK细胞的检测: Tregs和NK细胞均

由流式细胞分析仪检测(由医院临床检验中心完成)。其中Tregs的标志为CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>T细胞, 所用抗体及试剂来自Beckman公司。NK细胞的标志为CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>细胞, 所用抗体均来自BD公司。

**统计学处理** 所有数据采用GraphPad Prism 5.0软件进行处理。计数资料的比较采用 $\chi^2$ 检验; 计量资料数据用mean ± SD表示, 组间比较采用One-way ANOVA分析。相关性采用Pearson直线相关性分析, *P*<0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 外周血Tregs细胞的表达 HBV慢性感染者外周血CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Tregs(以下简称为Tregs)占CD4<sup>+</sup>T细胞的百分比为7.6% ± 0.6%, 整体高于健康对照者(5.0% ± 0.5%)(*P*<0.05)。其中乙型肝炎肝硬化组外周血Tregs表达最高, 明显高于慢性乙型肝炎组和HBV携带组, 差异有统计学意义(*P*<0.01)(表2, 图1A); 慢性乙型肝炎组略高于HBV携带组和健康对照组; 而HBV携带组与健康对照组相比无明显差别(表2, 图1A)。

2.2 外周血NK细胞的表达 HBV慢性感染者外周血NK细胞即CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup>细胞占淋巴细胞的比例为11.9% ± 0.7%, 明显低于健康对

## ■ 相关报道

Tregs是一群有免疫抑制性的T淋巴细胞, 最新研究报道通过HBV转基因小鼠的实验, 证明了Tregs通过细胞与细胞接触的方式抑制NK细胞的活性。

■ 创新亮点

通过对从未抗病毒治疗或半年内未抗病毒治疗HBV慢性感染患者外周血的检测,首次发现Tregs和NK细胞的表达存在负相关性,排除了药物干扰,结果更接近真实的机体免疫情况。

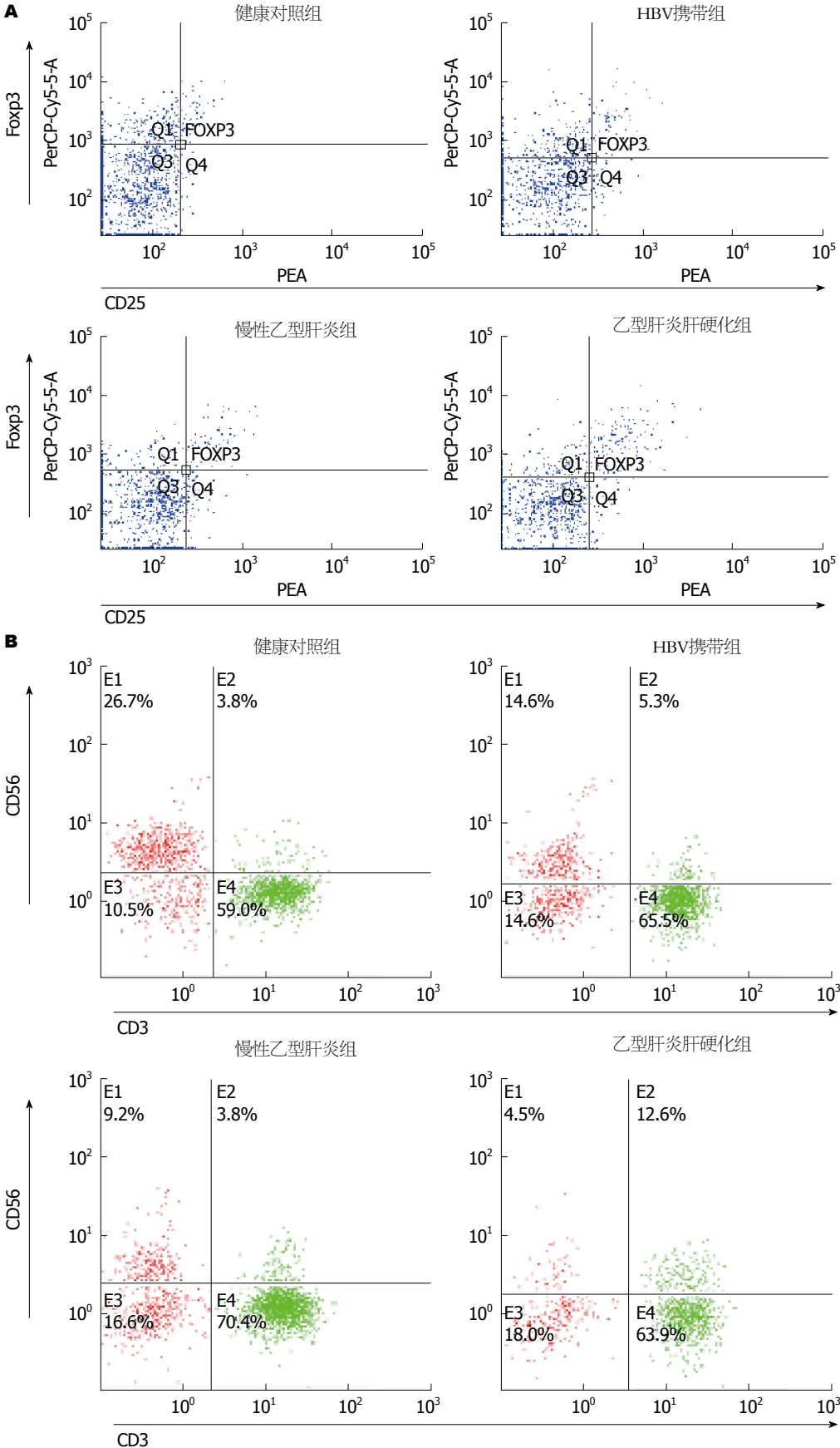


图 1 HBV慢性感染者外周血Tregs与NK细胞的流式表达图. A: 不同组的调节性T细胞(CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>T细胞)的表达; B: 不同组的NK细胞(CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>)的表达. Tregs: 调节性T细胞; NK: 自然杀伤细胞.

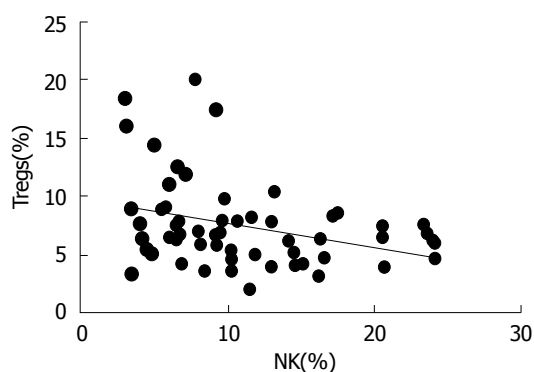


图2 Tregs和NK细胞表达的相关性. Tregs: 调节性T细胞; NK: 自然杀伤细胞.

照组( $20.96\% \pm 3.9\%$ )( $P < 0.01$ ). 其中乙型肝炎肝硬化组外周血Tregs表达最低, 明显低于慢性乙型肝炎组和HBV携带组, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ )(表2, 图1B); 慢性乙型肝炎组又低于HBV携带组, 差异具有统计学意义( $P < 0.01$ )(表2, 图1B); HBV携带组与健康对照组相比无明显差异(表2, 图1B).

**2.3 HBV感染患者外周血中Tregs和NK细胞表达的相关性** 在HBV慢性感染者中, 我们发现不同分组的外周血Tregs和NK细胞的表达频数呈相反的变化, 进一步用Pearson直线相关性分析结果显示, NK细胞和Tregs的表达频数成负相关性( $r = -0.3280$ ,  $P = 0.0105$ )(图2).

### 3 讨论

Tregs是一群具有免疫抑制作用的淋巴细胞, 其数量和功能的紊乱可导致多种免疫介导的肝脏疾病发生<sup>[9]</sup>. 一些研究表明慢性HBV感染可致体内Tregs水平高于正常健康人<sup>[10]</sup>, 肝癌发生时Tregs水平也显著升高<sup>[11]</sup>. 国内学者进一步发现Tregs介导的免疫耐受与HBV感染后的病程密切相关, 表现为慢性乙型肝炎组外周血CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Tregs的表达率明显低于慢性重型乙型肝炎组<sup>[12]</sup>. 我们的研究也发现, 乙型肝炎肝硬化和慢性乙型肝炎患者外周血Treg水平平均高于正常对照组, 但更重要的是乙型肝炎肝硬化组患者的Tregs水平明显高于慢性乙型肝炎组, 且有统计学意义, 更进一步表明Tregs的表达与不同程度的HBV感染密切相关. 结合我们前期的动物实验结果, 急性肝损伤中小鼠肝脏内Tregs水平明显低于慢性肝损伤(肝硬化)<sup>[13]</sup>, 且高水平的Tregs对肝纤维化的维持起重要作用<sup>[14]</sup>; 提示Tregs可以作为

判断HBV感染后疾病的进展及预后的潜在免疫指标.

NK细胞是免疫系统中最主要的细胞组成之一, 在宿主抗病毒和抗肿瘤方面发挥关键作用. 研究发现HBV慢性感染患者的NK细胞绝对数与健康人相比减少<sup>[4]</sup>, 且不同程度肝损伤的NK细胞表达也不同<sup>[5]</sup>. 我们的研究发现乙型肝炎肝硬化组外周血的NK细胞比例最少, 慢性乙型肝炎患者的NK细胞比例居中, HBV携带者最多. 在肝纤维化小鼠的外周血和肝脏中也发现NK细胞比例低于正常对照小鼠<sup>[15]</sup>, 表明NK细胞的活动参与肝脏病变的不同阶段.

本研究虽然发现不同阶段HBV感染, 患者外周血Tregs和NK细胞的表达不同, 但最重要的贡献是首次发现在HBV慢性感染患者外周血NK细胞的表达与Tregs存在着此消彼长的现象, 进一步发现两者存在负相关性. 已有研究<sup>[7]</sup>证明Tregs与NK细胞之间存在相互作用: Tregs可抑制NK细胞的活性已得到证实; Chen等<sup>[16]</sup>首次用HBV转基因小鼠证明了Tregs通过细胞与细胞接触的方式抑制NK细胞的活性. 我们以前的动物实验中也发现肝纤维化小鼠的Tregs较正常小鼠高, 而NK细胞却低于正常小鼠<sup>[15]</sup>, 当下调纤维化小鼠体内Tregs后, 肝内NK细胞表达上升, 进一步证明了Tregs对NK细胞的抑制作用<sup>[17]</sup>. 因此我们推测, 在HBV慢性感染病程中, Tregs对NK细胞的调节可能参与疾病慢性化的过程, 同时参与肝硬化发展的过程; 特别在疾病发展的后期(肝硬化), 大量的Tregs形成免疫抑制微环境, 同时具有免疫监控和杀伤能力的NK细胞又减少, 有利于癌细胞的生长, 这也可能是肝硬化容易发展为肝癌的原因之一. 当然, 慢性乙型肝炎患者外周血NK细胞的变化受很多因素影响, Tregs只是众多调节因素之一, 我们的发现为深入了解HBV慢性感染的发病和进展机制提供一定的实验依据.

### 应用要点

本研究在HBV慢性感染的不同病程中, 发现了Tregs与NK细胞表达的相反性, 为深入了解HBV慢性感染的发病和进展机制提供一定的实验依据.

### 4 参考文献

- 1 Jung MC, Pape GR. Immunology of hepatitis B infection. *Lancet Infect Dis* 2002; 2: 43-50 [PMID: 11892495 DOI: 10.1016/S1473-3099(01)00172-4]
- 2 Pedroza-Pacheco I, Madrigal A, Saudemont A. Interaction between natural killer cells and regulatory T cells: perspectives for immunotherapy. *Cell Mol Immunol* 2013; 10: 222-229 [PMID: 23524654 DOI: 10.1038/cmi.2013.2]
- 3 Cheent K, Khakoo SI. Natural killer cells and hepatitis C: action and reaction. *Gut* 2011; 60: 268-278 [PMID: 20876777 DOI: 10.1136/gut.2010.212555]



# ■ 同行评价

本研究探讨不同病程的慢性HBV感染者外周血中调节性T细胞和自然杀伤细胞的表达及相关性, 有一定创新性和意义。

- 4 Tjwa ET, van Oord GW, Hegmans JP, Janssen HL, Woltman AM. Viral load reduction improves activation and function of natural killer cells in patients with chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2011; 54: 209-218 [PMID: 21095036 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.07.009]
- 5 Zhang Z, Zhang S, Zou Z, Shi J, Zhao J, Fan R, Qin E, Li B, Li Z, Xu X, Fu J, Zhang J, Gao B, Tian Z, Wang FS. Hypercytolytic activity of hepatic natural killer cells correlates with liver injury in chronic hepatitis B patients. *Hepatology* 2011; 53: 73-85 [PMID: 21254163 DOI: 10.1002/hep.23977]
- 6 El-Badawy O, Sayed D, Badary MS, Abd-Alrahman ME, El-Feky MA, Thabit AG. Relations of regulatory T cells with hepatitis markers in chronic hepatitis B virus infection. *Hum Immunol* 2012; 73: 335-341 [PMID: 22342871 DOI: 10.1016/j.humimm.2012.01.014]
- 7 Ghiringhelli F, Ménard C, Terme M, Flament C, Taieb J, Chaput N, Puig PE, Novault S, Escudier B, Vivier E, Lécésne A, Robert C, Blay JY, Bernard J, Caillat-Zucman S, Freitas A, Tursz T, Wagner-Ballon O, Capron C, Vainchencker W, Martin F, Zitvogel L. CD4+CD25+ regulatory T cells inhibit natural killer cell functions in a transforming growth factor-beta-dependent manner. *J Exp Med* 2005; 202: 1075-1085 [PMID: 16230475 DOI: 10.1084/jem.20051511]
- 8 中华医学会肝病学会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010年版). 中华肝脏病学杂志 2011; 19: 13-24
- 9 张宏伟, 姚冬梅. FOXP3与慢性肝病的研究进展. 中华肝脏病杂志 2013; 21: 792-795
- 10 Feng H, Yin J, Han YP, Zhou XY, Chen S, Yang L, Yan JR, Zhang GX. Regulatory T cells and IL-17(+) T helper cells enhanced in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Int J Clin Exp Med* 2015; 8: 8674-8685 [PMID: 26309519]
- 11 Fu J, Xu D, Liu Z, Shi M, Zhao P, Fu B, Zhang Z, Yang H, Zhang H, Zhou C, Yao J, Jin L, Wang H, Yang Y, Fu YX, Wang FS. Increased regulatory T cells correlate with CD8 T-cell impairment and poor survival in hepatocellular carcinoma patients. *Gastroenterology* 2007; 132: 2328-2339 [PMID: 17570208 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.03.102]
- 12 周立平, 陈昕, 巴静, 赵连爽, 李异玲. HBV感染后外周血CD4+CD25+Foxp3+调节性T细胞与疾病进展的相关性. 世界华人消化杂志 2007; 15: 2366-2369
- 13 张晓慧, 刘新, 白丽, 陈煜, 段钟平. 肝脏CD4+CD25+Foxp3+调节性T细胞在小鼠急、慢性肝损伤中的表达差异及意义. 首都医科大学学报 2014; 35: 483-487
- 14 Zhang X, Feng M, Liu X, Bai L, Kong M, Chen Y, Zheng S, Liu S, Wan YJ, Duan Z, Han YP. Persistence of cirrhosis is maintained by intrahepatic regulatory T cells that inhibit fibrosis resolution by regulating the balance of tissue inhibitors of metalloproteinases and matrix metalloproteinases. *Transl Res* 2016; 169: 67-79.e2 [PMID: 26613891 DOI: 10.1016/j.trsl.2015.10.008]
- 15 刘新, 姜金丽, 白丽, 张晓慧, 丁美, 段钟平. 流式细胞术分析小鼠肝纤维化时机体免疫细胞的变化. 首都医科大学学报 2013; 34: 540-544
- 16 Chen Y, Sun R, Wu X, Cheng M, Wei H, Tian Z. CD4+CD25+ Regulatory T Cells Inhibit Natural Killer Cell Hepatocytotoxicity of Hepatitis B Virus Transgenic Mice via Membrane-Bound TGF-β and OX40. *J Innate Immun* 2016; 8: 30-42 [PMID: 26067079 DOI: 10.1159/000431150]
- 17 张晓慧, 白丽, 刘新, 严艳, 陈煜, 段钟平. 调节性T细胞对肝纤维化小鼠肝脏免疫细胞的影响. 北京医学 2015; 37: 1167-1170

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



## 肝移植围术期输血对术后并发症发生的影响

王淑英, 雷光林, 孙佳轶, 刘佳, 刘志国

王淑英, 刘佳, 刘志国, 中国人民解放军第302医院输血科  
北京市 100039

雷光林, 孙佳轶, 中国人民解放军第302医院肝胆外科 北京  
北京市 100039

王淑英, 输血技师, 主要从事肝病患者临床输血的研究。

**作者贡献分布:** 此研究由王淑英与刘志国设计; 数据调查过程  
由王淑英、雷光林及孙佳轶完成; 数据统计及文章写作由王  
淑英完成; 刘佳与刘志国校正。

**通讯作者:** 刘志国, 副主任技师, 100039, 北京市西四环中路  
100号, 中国人民解放军第302医院输血科. [lzg-0404@163.com](mailto:lzg-0404@163.com)

收稿日期: 2016-01-27

修回日期: 2016-03-24

接受日期: 2016-03-28

在线出版日期: 2016-04-28

### Effect of perioperative blood transfusion on postoperative complications after liver transplantation

Shu-Ying Wang, Guang-Lin Lei, Jia-Yi Sun, Jia Liu,  
Zhi-Guo Liu

Shu-Ying Wang, Jia Liu, Zhi-Guo Liu, Department  
of Blood Transfusion, 302 Military Hospital of China,  
Beijing 100039, China

Guang-Lin Lei, Jia-Yi Sun, Department of Hepatobiliary  
Surgery, 302 Military Hospital of China, Beijing 100039,  
China

**Correspondence to:** Zhi-Guo Liu, Associate Chief  
Technician, Department of Blood Transfusion, 302  
Military Hospital of China, 100 Xisihuan Middle Road,  
Beijing 100039, China. [lzg-0404@163.com](mailto:lzg-0404@163.com)

Received: 2016-01-27

Revised: 2016-03-24

Accepted: 2016-03-28

Published online: 2016-04-28

### Abstract

**AIM:** To investigate the effect of perioperative blood transfusion on complications after liver transplantation.

**METHODS:** In order to analyze the relationship between blood transfusion and complications after liver transplantation, the clinical data for 418 patients who underwent liver transplantation from January 1, 2005 to December 31, 2012 at our hospital were analyzed retrospectively.

**RESULTS:** Of 386 liver transplantation patients, 235 (60.88%) developed postoperative complications and 151 (39.12%) did not occur. The main early complications were lung infection, electrolyte disturbance and reperfusion injury. As the frequency and amount of blood transfused increased, the incidence of complications increased.

**CONCLUSION:** The higher the frequency and amount of perioperative blood transfusion after liver transplantation, the higher the incidence of complications including infection, electrolyte imbalance, reperfusion injury and so on. Therefore, perioperative blood transfusion should be minimized.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Liver transplantation; Postoperative complications; Transfusion

Wang SY, Lei GL, Sun JY, Liu J, Liu ZG. Effect of perioperative blood transfusion on postoperative complications after liver transplantation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(12): 1891-1897 URL: <http://www.wjgnet.com>

### 背景资料

输血在肝移植手术围术期不可避免, 许多研究表明围术期输注血液能降低患者的生存率, 增加感染的发生, 本文重点研究输血对肝移植术后并发症是否有影响。

### 同行评议者

朱世凯, 副主任医师, 电子科技大学附属医院四川省人民医院器官移植中心; 王志明, 教授, 主任医师, 中南大学湘雅医院普通外科

## ■ 研究前沿

目前围术期输血对肝移植术后并发症发生的影响研究多局限于感染, 并且血液成分的研究主要局限于红细胞成分的输注。

www.wjgnet.com/1009-3079/24/1891.asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i12.1891>

## 摘要

**目的:** 探讨围术期输血对肝移植患者术后并发症发生的影响。

**方法:** 回顾性研究分析2005-01/2012-12中国人民解放军第302医院收治的418例肝移植患者病例的一般资料和输血资料, 分析输血对肝移植患者术后并发症发生的影响。

**结果:** 386例肝移植患者中, 术后并发症发生着为235例(60.88%), 未发生者151例(39.12%)。早期并发症以肺部感染、电解质紊乱和再灌注损伤为主。随着围术期输血次数和剂量的增多, 并发症的发生机会显著增多。

**结论:** 肝移植围术期输血次数及剂量越多, 越容易并发感染、水电紊乱、再灌注损伤等并发症, 应尽量减少输血。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 肝移植; 术后并发症; 输血

**核心提示:** 围术期输注血液能降低患者的生存率, 甚至与术后并发症的发生有关。目前没有关于肝移植输血对术后并发症发生影响的研究, 本文研究表明随着输血次数和输血剂量的增多, 肝移植术后发生并发症的机会增加。

王淑英, 雷光林, 孙佳轶, 刘佳, 刘志国. 肝移植围术期输血对术后并发症发生的影响. 世界华人消化杂志 2016; 24(12): 1891-1897 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1891.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i12.1891>

## 0 引言

肝移植是指通过手术植入一个健康的肝脏到患者体内, 使终末期肝病患者肝功能得到良好恢复的一种外科治疗手段<sup>[1]</sup>。接受肝移植手术的患者一般情况较差, 常伴有严重的凝血机制障碍、出血倾向、贫血、门脉高压、侧支循环、腹水、低蛋白血症, 手术易发生出血或渗血; 术中病肝分离有可能导致大量出血, 无肝期易出现纤溶亢进; 术后因移植肝静脉回流不同程度受阻致肝淤血, 供肝功能恢复不良, 凝血机制未能及时启动而导致胃肠道淤血, 腹腔渗血。这就要求在整个肝移植前后不同阶段补

充大量不同的血液制品<sup>[2]</sup>。然而, 输血是一把双刃剑, 会引起各种不良反应<sup>[3]</sup>, 国内外研究<sup>[4]</sup>表明, 除了血液传染病, 还包括输血相关急性肺损伤等严重致命的输血不良反应。许多研究<sup>[5]</sup>还表明围术期输注血液能降低患者的生存率, 甚至与术后并发症的发生有关。目前已有关于输血对胰腺癌和胃癌术后并发症的研究, 却无肝移植输血对术后并发症发生的影响研究。本研究通过对解放军302医院2005-01/2012-12符合要求的肝移植手术病例的回顾性分析, 探讨患者围术期的输血次数及输血量与肝移植术后并发症发生的关系。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 研究对象选择标准: 选取302医院2005-01/2012-12行肝移植手术; 患者术前48 h内生化学检验、血液一般检验、凝血检验资料齐全; 年龄要求18-65岁。

**1.2 方法** 2名中级以上工作人员独立收集资料录入在事先设计好的Excel表格中, 当两者冲突时, 找副主任技师进行鉴别。患者的基本信息从病历记录中获取, 如出现疑问或者病历写的不详细, 请教主治医师以上医师进行确认; 患者的基本信息包括: 科室、姓名、性别、年龄; 患者输血信息从输血科发血系统和病历系统根据时间进行收集, 包括: 术前住院后及术中的输血时间、输入血液制品的类型和剂量; 患者的检验信息从检验科系统中提取, 包括: 患者移植前的凝血功能、血常规、生化指标; 患者的病历信息: 基础疾病、术前是否并发门脉高压、是否并发腹水、是否并发消化道出血、是否合并上腹部手术史、手术时间、术后并发症发生的类型与时间。

最终指标: 肝移植患者并发症发生的一般情况; 输血次数对术后并发症发生的影响; 红细胞输注剂量对术后并发症发生的影响; 血浆输注量对并发症发生的影响; 血小板输注剂量对并发症的影响; 输血总量对并发症发生的影响。

**统计学处理** 统计分析应用SPSS18.0软件进行, 实验中定性资料用%表示, 用卡方检验进行统计, 如果理论数 $T < 5$ 但 $T \geq 1$ , 并且 $n \geq 40$ , 用连续性校正的卡方进行检验, 如果有理论数 $T < 1$ 或 $n < 40$ , 则用Fisher's检验; 定量资料用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 用对于符合正态分布且具有方差齐性的数据用 $t$ 检验进行统计, 对于不符合



表 1 肝移植患者术后并发症的一般情况

并发症	n	比例(%)
尿道感染	4	1.04
上呼吸道感染	12	3.11
胆道感染	10	2.59
腹膜炎	14	3.63
胸膜炎	17	4.40
肺部感染	74	19.17
菌血症, 败血症, SIRS	16	4.14
胆道并发症	33	8.55
肾损伤	30	7.77
肠道感染	11	2.85
电解质紊乱	54	13.99
酸碱失衡	21	5.44
MODS	10	2.59
排异反应	14	3.63
血栓	5	1.30
腹腔内出血	31	8.03
再灌注损伤	61	15.80
精神并发症	24	6.22

SIRS: 全身炎症反应综合征; MODS: 多脏器功能不全综合征.

正态分布的用 $t$ 检验或秩和检验,  $P<0.05$ 为差异具有统计学意义.

## 2 结果

2.1 一般资料 418例肝移植患者中符合要求的共386例, 不符合要求的32例, 不合格病例的原因: 年龄超过65岁8例、术后病例不详细2例、检验信息不详细20例、输血信息记录不详细2例. 其中男性316例(81.87%), 女性70例(18.13%), 年龄18-65岁, 术后发生并发症者235例(60.88%), 术后未发生并发症者151例(39.12%). 早期并发症以肺部感染、再灌注损伤、电解质紊乱为主, 分别占19.17%、15.80%和13.99%(表1).

2.2 输血组与未输血组基线比较 输血组与未输血组分别为371例和15例, 年龄分别为48.17岁 $\pm$ 9.10岁和47.40岁 $\pm$ 9.33岁, 两者之间无统计学差异, 并且两组之间原发病因构成性别构成、术前合并症、肝功能均没有统计学差异( $P>0.05$ )(表2).

2.3 输血次数及红细胞、血浆、血小板剂量、输血总量对并发症发生的影响 由于分组后感染的亚组指标数量太少, 无法进行统计, 故分析输血次数及输注剂量的对并发症发生的影响时, 将并发症发生组进行了合并; 红细胞输注

剂量和血浆的分界点参照了已经发表的研究<sup>[5]</sup>, 未输血的人太少, 为了避免影响统计结果, 因此将其和少量输血的人进行了合并. 血小板根据中国人民解放军第302医院围术期肝移植输血的实际情况进行分组的, 因为多数为4 U, 4 U以内分了两组, 4 U以上的比较少, 为了便于统计分析将其分为1组. 输血总量的分组同血浆. 结果显示随着输血次数和输血剂量的增多, 术后感染、水电紊乱、再灌注损伤、肾损伤及精神并发症发生的机会增加(表3-7).

## 3 讨论

本文回顾性分析显示8年间肝移植术后并发症最常见的是肺部感染、再灌注损伤和电解质紊乱, 这与肝脏的解毒、代谢及免疫防御功能有关, 另外腹腔内出血、胆道并发症也是比较常见的并发症. 胃癌围手术期输血即使是少量的也会使术后并发症增多, 肿瘤复发率增加, 生存率降低<sup>[6,7]</sup>; 胰腺癌围术期输血术后感染机会增加<sup>[8]</sup>; 也有研究<sup>[9,10]</sup>表明, 红细胞输注与心脏手术患者术后肺部并发症的发生相关, 但是肝移植的输血量一般比这些手术用血量大, 关于肝移植围术期输血对术后并发症除对感染外的影响并未见相关报道, 本文对肝移植围术期输血对术后多种并发症发生的影响进行研究和探讨.

本文显示肝移植手术围术期输血次数越多, 术后早期再灌注损伤、腹腔出血、感染、肾损伤、水电紊乱及多脏器功能不全综合征的发生几率越大, 尤其输血10次以上, 与10次以下有统计学差异. 与其他手术围术期输血得出的结论一致<sup>[7]</sup>. 临床研究表明, 异体输血会刺激受血者中性粒细胞脱颗粒产生过度、强烈的细胞因子反应进而导致受血者组织损伤及免疫功能受损. 另外, 异体血液输注可降低患者的免疫应答水平, 主要与自然杀伤细胞的功能下降、抗原呈递缺陷、Th与Ts淋巴细胞的比例下调及细胞免疫降低等密切相关<sup>[11]</sup>, 对于接受肝脏手术打击的患者, 输入血制品后可能更容易诱发输血相关性急性肺损伤及多器官衰竭的危险<sup>[12,13]</sup>. 有研究表明输血次数越多, 产生不规则抗体的阳性率及不规则抗体的种类越多, 而反复输血易发的较高不完全抗体阳性率可促使患者因血液红细胞的免疫性结合使其功能受损, 进而出现溶血性输血反应<sup>[14]</sup>, 无

### ■ 创新盘点

输血对肝移植术后各种并发症发生的影响, 从输血剂量、输血次数、输血成分进行了分别研究, 比较全面地反应输血对肝移植术后并发症的影响.

■名词解释

胆道并发症: 胆道并发症主要包括胆道狭窄、胆漏、胆道结石、胆泥、管型、胆汁瘤、胆道出血及壶腹部功能障碍等, 其中胆道狭窄和胆漏最为常见, 约占70%, 主要发生在肝移植术后早期; 再灌注损伤: 遭受一定时间缺血的组织细胞恢复血流(再灌注)后, 组织损伤程度迅速增剧的情况, 缺血-再灌注损伤是肝脏大手术(包括肝切除及肝移植)后不可避免的过程, 是导致器官移植后脏器失活的重要原因之一, 其危害性仅次于免疫排斥。

表 2 输血组和未输血组各项指标的比较

指标	输血组	未输血组	$\chi^2$ 值/ <i>t</i> 值	<i>P</i> 值
<i>n</i>	371	15		
性别[男, <i>n</i> (%)]	296(79.78)	13(86.67)	$\chi^2 = 0.1052$	0.7456
腹水[ <i>n</i> (%)]	14(93.33)	367(98.92)	$\chi^2 = 0.5070$	0.4764
肝性脑病[ <i>n</i> (%)]	10(66.67)	248(66.85)	$\chi^2 = 0.0703$	0.7908
上腹部手术史[ <i>n</i> (%)]	4(26.67)	134(36.12)	$\chi^2 = 0.2247$	0.4540
门脉高压[ <i>n</i> (%)]	9(60.00)	241(64.96)	$\chi^2 = 0.1554$	0.6934
原发病[ <i>n</i> (%)]			$\chi^2 = 0.5511$	0.9683
乙型肝炎感染	245(66.04)	9(60.00)		
丙型肝炎感染	19(5.12)	1(6.67)		
酒精性肝病	18(4.85)	1(6.67)		
重叠感染 <sup>1</sup>	56(5.09)	3(20.00)		
其他	33(8.89)	1(6.67)		
TBIL(μmol/L)	121.07 ± 59.31	105.01 ± 38.03	<i>t</i> = 1.563	0.1190
ALB(g/L)	33.53 ± 4.91	34.73 ± 7.02	<i>t</i> = 0.912	0.3620
CRE(μmol/L)	87.37 ± 46.78	80.20 ± 11.37	<i>t</i> = 0.592	0.5540
CHE(U/L)	2797.38 ± 1625.51	3342.53 ± 866.01	<i>t</i> = 1.290	0.2000
PT(s)	18.03 ± 5.76	15.41 ± 2.59	<i>t</i> = 1.746	0.0820
PTA(%)	55.93 ± 20.38	59.14 ± 12.08	<i>t</i> = 0.607	0.5440

<sup>1</sup>重叠感染包括丙型肝炎乙型肝炎重叠感染, 酒精性肝病合并乙型肝炎感染, 酒精性肝病合并丙型肝炎感染, 因为未输血组过少而进行合并。TBIL: 总胆红素; ALB: 白蛋白; CRE: 肌酐; CHE: 胆碱酯酶; PT: 凝血酶原时间; PTA: 凝血酶原活动度。

表 3 输血次数对输血并发症发生的影响 *n*(%)

并发症	0次	1-5次	6-10次	≥11次	$\chi^2$ 值	<i>P</i> 值
<i>n</i>	15	314	44	15		
感染	2(13.3)	95(30.3)	34(77.3) <sup>ac</sup>	12(80.0) <sup>ac</sup>	52.328	0.000
水电紊乱	1(6.7)	57(18.2)	10(22.7)	7(46.7) <sup>ac</sup>	9.336	0.025
再灌注损伤	0(0.0)	52(16.6) <sup>a</sup>	15(34.1) <sup>ac</sup>	8(53.3) <sup>ac</sup>	22.409	0.000
胆道并发症	1(6.7)	23(7.3)	7(15.9)	2(13.3)	4.176	0.243
肾损伤	1(6.7)	23(7.3)	2(4.5)	4(26.7)	8.261	0.041
MODS	0(0.0)	6(1.9)	1(2.3)	3(20.0)	19.100	0.000
血栓	0(0.0)	4(1.3)	1(2.3)	0(0.0)	0.727	0.867
腹腔内出血	1(6.7)	21(6.7)	7(15.9)	2(13.3)	5.096	0.165
精神并发症	0(0.0)	14(4.5) <sup>a</sup>	7(15.9) <sup>a</sup>	3(20.0) <sup>a</sup>	14.705	0.002

<sup>a</sup>*P*<0.05 vs 0次, <sup>c</sup>*P*<0.05 vs 1-5次。MODS: 多脏器功能不全综合征。

效输血也会增加<sup>[15]</sup>, 被破坏的红细胞、血小板增多, 其破坏产物在血液内代谢的过程也是对肾脏损伤的过程, 一旦肾脏损伤就会诱发肝肾综合征, 继而诱发水电解质紊乱, 因此输血诱发的术后各并发症之间具有互相促进的作用, 因此应根据患者的具体情况尽量减少血液输注的次数。

输血是创伤术后感染性并发症发生的独立危险因素, 而与疾病的严重程度无关<sup>[16]</sup>。本回

顾性分析还发现随着红细胞、血浆、血小板及输血总量的增加, 各种并发症的发生风险也会增加, 其中红细胞超过10 U、血浆超过20 U、血小板超过2 U, 用血总量>20000 mL后并发症的发生比少量输血者大大增加。尤其是红细胞和血浆, 会导致几乎全部的并发症发生率升高, 这与其他研究关于其他手术的研究<sup>[5,17,18]</sup>结果相似。红细胞在储存过程中伴随着损伤的发生, 大量的动物研究<sup>[9]</sup>已证实这种储存损伤引起了

表 4 红细胞输注剂量对并发症发生的影响  $n(\%)$ 

并发症	0-5 U	6-10 U	11-20 U	$\geq 21$ U	$\chi^2$ 值	P值
<i>n</i>	140	122	95	29		
感染	38(27.1)	36(29.5)	43(45.3) <sup>ac</sup>	27(93.1) <sup>ace</sup>	50.530	0.000
水电紊乱	21(15.0)	15(12.3)	28(29.5) <sup>ac</sup>	11(37.9) <sup>ac</sup>	18.185	0.000
再灌注损伤	17(12.1)	15(12.3)	25(26.3) <sup>ac</sup>	8(27.6) <sup>ac</sup>	12.488	0.001
胆道并发症	9(6.4)	8(6.6)	10(10.5)	6(20.7) <sup>ac</sup>	7.366	0.016
肾损伤	7(5.0)	9(7.4)	8(8.4)	6(20.7) <sup>ac</sup>	8.334	0.012
MODS	1(0.7)	0(0.0)	8(8.4) <sup>ac</sup>	1(3.4)	14.822	0.004
血栓	1(0.7)	1(0.8)	3(3.2)	0(0.0)	2.618	0.262
腹腔内出血	5(3.6)	9(7.4)	12(12.6)	5(17.2) <sup>ac</sup>	9.893	0.001
精神并发症	5(3.6)	6(4.9)	9(9.5)	4(13.8) <sup>a</sup>	6.616	0.010

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 0-5 U; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 6-10 U; <sup>e</sup> $P < 0.05$  vs 11-20 U. MODS: 多脏器功能不全综合征.

表 5 血浆输注剂量对并发症发生的影响  $n(\%)$ 

并发症	0-5.0 U	5.1-10.0 U	10.1-20.0 U	$>20.0$ U	$\chi^2$ 值	P值
<i>n</i>	21	53	167	145		
感染	4(19.0)	10(18.9)	43(25.7)	87(60.0) <sup>ace</sup>	52.164	0.000
代谢紊乱	1(4.8)	7(13.2)	27(16.2)	40(27.6) <sup>ace</sup>	11.494	0.001
再灌注损伤	0(0.0)	3(5.7)	26(15.6) <sup>ac</sup>	46(31.7) <sup>ace</sup>	27.073	0.000
胆道并发症	1(4.8)	3(5.7)	11(6.6)	8(5.5)	0.230	0.558
肾损伤	1(4.8)	2(3.8)	10(6.0)	17(11.7)	5.349	0.022
MODS	0(0.0)	0(0.0)	2(1.2)	8(5.5)	5.945	0.004
血栓	0(0.0)	0(0.0)	1(0.6)	4(2.8)	2.732	0.050
腹腔内出血	1(4.8)	3(5.7)	7(4.2)	20(13.8) <sup>e</sup>	10.558	0.007
精神并发症	0(0.0)	3(5.7)	5(3.0)	16(11.0) <sup>e</sup>	8.908	0.006

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 0-5.0 U; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 5.1-10.0 U; <sup>e</sup> $P < 0.05$  vs 10.1-20.0 U. MODS: 多脏器功能不全综合征.

表 6 血小板输注剂量对并发症发生的影响  $n(\%)$ 

并发症	0 U	0.1-2.0 U	2.1-4.0 U	$>4.0$ U	$\chi^2$ 值	P值
<i>n</i>	196	172	13	5		
感染	48(24.5)	84(48.8) <sup>a</sup>	7(53.8) <sup>a</sup>	4(80.0) <sup>a</sup>	29.134	0.000
代谢紊乱	28(14.3)	42(24.4) <sup>a</sup>	2(15.4)	3(60.0) <sup>a</sup>	10.619	0.004
再灌注损伤	20(10.2)	47(27.3) <sup>a</sup>	6(46.2) <sup>a</sup>	2(40.0)	25.275	0.000
胆道并发症	8(4.1)	21(12.2) <sup>a</sup>	2(15.4)	2(40.0) <sup>a</sup>	14.490	0.000
肾损伤	10(5.1)	5(2.9)	4(30.8)	1(20.0)	14.410	0.056
MODS	3(1.5)	7(4.1)	0(0.0)	0(0.0)	2.843	0.293
血栓	2(1.0)	3(1.7)	0(0.0)	0(0.0)	1.870	0.547
腹腔内出血	17(8.7)	12(7.0)	2(15.4)	0(0.0)	1.750	0.438
精神并发症	8(4.1)	15(8.7)	0(0.0)	1(20.0)	6.561	0.030

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 0 U. MODS: 多脏器功能不全综合征.

#### 同行评价

本文通过回顾性研究分析418例肝移植患者病例资料,探讨输血对肝移植患者术后并发症发生的影响,具有一定的临床运用价值.

许多输血不良反应,也与患者预后如多器官衰竭、死亡率等有关,大量输注必然会增加并发症的发生风险.血浆中含有丰富的血浆蛋白抗

原及白细胞产物,是输血不良反应产生最多的血液制品,其输注剂量及次数的增加会促进抗体的产生及并发症的发生.因此,中国人民解



表 7 输血总量对并发症发生的影响 *n*(%)

并发症	0-5000 mL	5001-10000 mL	10001-20000 mL	$\chi^2$ 值	<i>P</i> 值
<i>n</i>	268	89	29		
感染	69(25.75)	35(39.33)	19(65.52) <sup>ac</sup>	22.030	0.000
代谢紊乱	29(10.82)	20(22.47)	10(34.48) <sup>a</sup>	15.929	0.000
再灌注损伤	30(11.19)	21(23.60) <sup>a</sup>	10(34.48) <sup>a</sup>	15.945	0.000
胆道并发症	15(5.60)	9(10.11)	9(31.03) <sup>a</sup>	22.019	0.000
肾损伤	16(5.97)	8(8.99)	6(20.69)	8.149	0.017
MODS	3(1.12)	3(3.37)	2(6.90)	5.264	0.072
血栓	2(0.75)	3(3.37)	1(3.45)	3.742	0.154
腹腔内出血	14(5.22)	11(12.36)	6(20.69)	11.408	0.003
精神并发症	8(2.99)	8(8.99)	8(27.59) <sup>a</sup>	28.684	0.000

<sup>a</sup>*P*<0.05 vs 0-5000 mL; <sup>c</sup>*P*<0.05 vs 5001-10000 mL.

放军第302医院对于肝移植手术时, 都提供滤白的血液制品, 可以减少白细胞及其产物对机体的刺激. 数据分析显示血小板超过2 U后并不会导致全部的并发症发生增加, 这应该与血小板每个剂量较少有关, 2 U毕竟也才400 mL. 研究表明围术期限制性输血不仅能降低并发症的发生, 而且对预后也是有益的, 因此不能盲目地追求患者的血红蛋白提升至正常范围、凝血功能纠正至正常, 而是根据患者的具体情况, 尽量减少输血的剂量和次数.

本文属于回顾性分析, 虽然制定了严格的筛选标准, 这种标准只能建立在查阅病例的基础上完成, 难免有所偏差, 另外, 本研究为单中心研究, 例数有限, 因此希望能够进行多中心大样本的研究证实肝移植围术期输血次数和输血量对并发症发生的影响大小. 还可以针对这个问题进行前瞻性多因素分析.

总之, 肝移植围术期输血次数和输血量越多会增加术后并发症发生的机会.

4 参考文献

1 邵明, 吕先萍, 王静. 肝移植术中输血量的预测因素分析. 中国输血杂志 2012; 25: 1291-1294

2 Clevenger B, Mallett SV. Transfusion and coagulation management in liver transplantation. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 6146-6158 [PMID: 24876736 DOI: 10.3748/wjg.v20.i20.6146]

3 Sahu S, Hemlata A. Adverse events related to blood transfusion. *Indian J Anaesth* 2014; 58: 543-551 [PMID: 25535415 DOI: 10.4103/0019-5049.144650]

4 Álvarez P, Carrasco R, Romero-Dapuerto C, Castillo RL. Transfusion-Related Acute Lung Injured (TRALI): Current Concepts. *Open Respir Med J* 2015; 9: 92-96 [PMID: 26312100 DOI: 10.2174/1874306401509010092]

5 庄远, 张冬青, 王淑英, 周武, 潘纪春, 汪德清. 围术期输血对患者术后感染的影响. 中国实验血液学杂志 2013; 21: 214-217

6 Liu L, Wang Z, Jiang S, Shao B, Liu J, Zhang S, Zhou Y, Zhou Y, Zhang Y. Perioperative allogeneic blood transfusion is associated with worse clinical outcomes for hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *PLoS One* 2013; 8: e64261 [PMID: 23741309 DOI: 10.1371/journal.pone.0064261]

7 Li L, Zhu D, Chen X, Huang Y, Ouyang M, Zhang W. Perioperative Allogeneic Blood Transfusion is Associated With Worse Clinical Outcome for Patients Undergoing Gastric Carcinoma Surgery: A Meta-Analysis. *Medicine (Baltimore)* 2015; 94: e1574 [PMID: 26426632 DOI: 10.1097/MD.0000000000001574]

8 Sun RC, Button AM, Smith BJ, Leblond RF, Howe JR, Mezhir JJ. A comprehensive assessment of transfusion in elective pancreatotomy: risk factors and complications. *J Gastrointest Surg* 2013; 17: 627-635 [PMID: 23423430 DOI: 10.1007/s11605-013-2169-6]

9 Cholette JM, Pietropaoli AP, Henrichs KF, Alfieri GM, Powers KS, Phipps R, Spinelli SL, Swartz M, Gensini F, Daugherty LE, Nazarian E, Rubenstein JS, Sweeney D, Eaton M, Blumberg N. Longer RBC storage duration is associated with increased postoperative infections in pediatric cardiac surgery. *Pediatr Crit Care Med* 2015; 16: 227-235 [PMID: 25607740 DOI: 10.1097/PCC.0000000000000320]

10 Vlaar AP, Cornet AD, Hofstra JJ, Porcelijn L, Beishuizen A, Kulik W, Vroom MB, Schultz MJ, Groeneveld AB, Juffermans NP. The effect of blood transfusion on pulmonary permeability in cardiac surgery patients: a prospective multicenter cohort study. *Transfusion* 2012; 52: 82-90 [PMID: 21745211 DOI: 10.1111/j.1537-2995.2011.03231.x]

11 Koch C, Li L, Figueroa P, Mihaljevic T, Svensson L, Blackstone EH. Transfusion and pulmonary morbidity after cardiac surgery. *Ann Thorac Surg* 2009; 88: 1410-1418 [PMID: 19853083 DOI: 10.1016/j.athoracsur.2009.07.020]

12 Fragkou PC, Torrance HD, Pearse RM, Ackland GL, Prowle JR, Owen HC, Hinds CJ, O'Dwyer MJ. Perioperative blood transfusion is associated

- with a gene transcription profile characteristic of immunosuppression: a prospective cohort study. *Crit Care* 2014; 18: 541 [PMID: 25270110 DOI: 10.1186/s13054-014-0541-x]
- 13 Shu H, Liu K, He Q, Zhong F, Yang L, Li Q, Liu W, Ye F, Huang W. Ulinastatin, a protease inhibitor, may inhibit allogeneic blood transfusion-associated pro-inflammatory cytokines and systemic inflammatory response syndrome and improve postoperative recovery. *Blood Transfus* 2014; 12 Suppl 1: s109-s118 [PMID: 23736923 DOI: 10.2450/2013.0224-12]
  - 14 王洪远, 陈萍, 林新梅, 石德清, 黄学平, 张洪为, 刘红. 116例输血不良反应的调查分析. *中国医学创新* 2014; 11: 63-65
  - 15 饶美英, 叶水文, 张楠. 多次输血患者血小板抗体检测及输注效果分析. *中国输血杂志* 2013; 26: 891-892
  - 16 赵祎莉, 江山平, 王大强, 黄广南. 术中输血量与肝癌术后肺部并发症的关系. *岭南现代临床外科* 2007; 7: 41-43
  - 17 Carson JL, Sieber F, Cook DR, Hoover DR, Noveck H, Chaitman BR, Fleisher L, Beaupre L, Macaulay W, Rhoads GG, Paris B, Zagorin A, Sanders DW, Zakriya KJ, Magaziner J. Liberal versus restrictive blood transfusion strategy: 3-year survival and cause of death results from the FOCUS randomised controlled trial. *Lancet* 2015; 385: 1183-1189 [PMID: 25499165 DOI: 10.1016/S0140-6736(14)62286-8]
  - 18 Perel P, Clayton T, Altman DG, Croft P, Douglas I, Hemingway H, Hingorani A, Morley KI, Riley R, Timmis A, Van der Windt D, Roberts I. Red blood cell transfusion and mortality in trauma patients: risk-stratified analysis of an observational study. *PLoS Med* 2014; 11: e1001664 [PMID: 24937305 DOI: 10.1371/journal.pmed.1001664]

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利



## 水飞蓟宾联合恩替卡韦治疗乙型肝炎肝硬化的临床疗效

蔡建刚, 朱婷婷, 刘芙蓉, 黄志刚

### ■背景资料

乙型肝炎而引起的肝硬化是肝硬化发生的重要原因之一, 严重影响了乙型肝炎患者的生活质量。目前临床医师的主要目标为阻止或者延缓乙型肝炎向肝硬化的发展。临床上多采用恩替卡韦来治疗失代偿期乙型肝炎肝硬化, 恩替卡韦能够使患者的血清HBV DNA快速降低至检测线之下, 且耐药率较低。

蔡建刚, 朱婷婷, 刘芙蓉, 黄志刚, 武警浙江省总队医院嘉兴分院传染科 浙江省嘉兴市 314000

蔡建刚, 主治医师, 主要从事传染病的研究。

作者贡献分布: 此课题由黄志刚设计; 研究过程及数据分析由蔡建刚、刘芙蓉及朱婷婷共同实施完成; 本论文写作由蔡建刚完成。

通讯作者: 蔡建刚, 主治医师, 314000, 浙江省嘉兴市南湖路16号, 武警浙江省总队医院嘉兴分院传染科。  
3056127164@qq.com  
电话: 0573-82852851-34550

收稿日期: 2016-02-25  
修回日期: 2016-03-15  
接受日期: 2016-03-23  
在线出版日期: 2016-04-28

### Clinical efficacy of silybin combined with entecavir for treatment of patients with post-hepatitis cirrhosis

Jian-Gang Cai, Ting-Ting Zhu, Fu-Rong Liu, Zhi-Gang Huang

Jian-Gang Cai, Ting-Ting Zhu, Fu-Rong Liu, Zhi-Gang Huang, Department of Infectious Diseases, Zhengjiang Armed Police Hospital Jiaying Branch, Jiaying 314000, Zhejiang Province, China

Correspondence to: Jian-Gang Cai, Attending Physician, Department of Infectious Diseases, Zhengjiang Armed Police Hospital Jiaying Branch, 16 Nanhui Road, Jiaying 314000, Zhejiang Province, China. 3056127164@qq.com

Received: 2016-02-25  
Revised: 2016-03-15  
Accepted: 2016-03-23  
Published online: 2016-04-28

### Abstract

**AIM:** To evaluate the efficacy of silybin combined

with entecavir in the treatment of patients with post-hepatitis cirrhosis.

**METHODS:** One hundred patients with post-hepatitis cirrhosis treated from January 2014 to December 2015 at Zhengjiang Armed Police Hospital Jiaying Branch were selected and randomly divided into an experimental group and a control group, with 50 cases in each group. The experimental group was given silybin with entecavir, while the control group was given entecavir alone.

**RESULTS:** Before treatment, there was no difference in the indicators of liver function between the two groups ( $P > 0.05$ ). After treatment, liver function of both groups was significantly improved ( $P < 0.05$ ), and the improvement was significantly better in the experimental group than in the control group ( $P < 0.05$ ). Before treatment, there was no difference in indicators of hepatic fibrosis between the two groups ( $P > 0.05$ ). After treatment, hepatic fibrosis of both groups was improved significantly ( $P < 0.05$ ) and the improvement was significantly better in the experimental group than in the control group ( $P < 0.05$ ). Two patients in the experiment group had bitter taste, dizziness, fatigue, abdominal discomfort and other symptoms, while one patient in the control group had bitter taste and abdominal discomfort symptoms. No serious adverse reactions including allergy occurred in either group.

**CONCLUSION:** Silybin with entecavir can significantly improve liver function and liver fibrosis in patients with post-hepatitis cirrhosis.

### ■同行评议者

刘正稳, 教授, 西安交通大学医学院第一附属医院



© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Silybin; Entecavir; Post-hepatitis cirrhosis; Liver histology

Cai JG, Zhu TT, Liu FR, Huang ZG. Clinical efficacy of silybin combined with entecavir for treatment of patients with post-hepatitis cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(12): 1898-1902 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1898.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i12.1898>

## 摘要

**目的:** 探讨水飞蓟宾联合恩替卡韦治疗乙型肝炎肝硬化的临床疗效。

**方法:** 选取2014-01/2015-12武警浙江省总队医院嘉兴分院接受治疗的乙型肝炎肝硬化患者100例, 采用随机数表法将100例患者分为实验组和对照组, 各50例。给予实验组患者恩替卡韦联合水飞蓟宾治疗, 给予对照组患者恩替卡韦治疗。

**结果:** 治疗前两组患者的肝功能指标无差异( $P>0.05$ ), 治疗后两组患者的肝功能指标较治疗前均显著改善( $P<0.05$ )。实验组患者的肝功能情况显示优于对照组患者的肝功能情况( $P<0.05$ )。治疗前两组患者的肝纤维化指标无差异( $P>0.05$ ), 治疗后两组患者的肝纤维化指标较治疗前均显著改善( $P<0.05$ )。实验组患者的肝纤维化指标情况显示优于对照组患者的肝纤维化指标情况( $P<0.05$ )。实验组患者有2例出现口苦、头晕、疲乏、腹部不适等症状, 对照组患者有1例出现口苦、腹部不适的症状。两组患者均没有出现过敏等不良反应。

**结论:** 恩替卡韦联合水飞蓟宾治疗乙型肝炎肝硬化能够显著改善患者的肝功能、改善患者肝纤维化指标的情况, 可以在临床上进一步推广和使用。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 水飞蓟宾; 恩替卡韦; 乙型肝炎肝硬化; 肝组织学

**核心提示:** 本文探讨水飞蓟宾联合恩替卡韦治疗乙型肝炎肝硬化的疗效, 结果显示恩替卡韦联合水飞蓟宾治疗能够显著改善患者的肝功能、肝纤维化指标的情况, 在临床上有一定的应用价值。

蔡建刚, 朱婷婷, 刘芙蓉, 黄志刚. 水飞蓟宾联合恩替卡韦治疗乙型肝炎肝硬化的临床疗效. *世界华人消化杂志* 2016; 24(12): 1898-1902 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1898.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i12.1898>

## 0 引言

由乙型肝炎而引起的肝硬化是肝硬化发生的重要原因之一, 严重影响了乙型肝炎患者的生活质量<sup>[1]</sup>。目前临床医师的主要目标为阻止或者延缓乙型肝炎向肝硬化的发展。临床上多采用恩替卡韦来治疗失代偿期乙型肝炎肝硬化, 恩替卡韦能够使患者的血清乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)DNA快速降低至检测线之下, 且耐药率较低<sup>[2]</sup>。有研究<sup>[3,4]</sup>指出使用恩替卡韦联合水飞蓟宾能够显著提高临床疗效, 改善患者的肝功能。因而本文选取2014-01/2015-12武警浙江省总队医院嘉兴分院接受治疗的乙型肝炎肝硬化患者100例为研究对象, 对恩替卡韦联合水飞蓟宾对乙型肝炎肝硬化患者肝组织学的影响进行了探究。现报告如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2014-01/2015-12武警浙江省总队医院嘉兴分院接受治疗的乙型肝炎肝硬化患者100例。其中男62例, 女38例。年龄为34-65岁, 平均年龄为45.2岁±11.6岁。采用随机数表法将100例患者分为实验组和对照组, 各50例。实验组中男30例, 女20例。年龄为33-64岁, 平均年龄为49.6岁±12.7岁。对照组中31例, 女19例。年龄为32-65岁, 平均年龄为48.9岁±11.8岁。比较两组患者的年龄、性别等差异不具有统计学意义( $P>0.05$ )。具有可比性。纳入标准: (1)经临床诊断为乙型肝炎肝硬化患者; (2)HBV DNA $\geq 1 \times 10^4$  copies/mL者; (3)已签署知情书并自愿参加本研究。排除标准: (1)不符合上述纳入标准者; (2)合并多种急慢性疾病或免疫系统疾病者; (3)严重精神疾病患者。恩替卡韦, 商品名: 博路定, 中美上海施贵宝制药有限公司, 批准文号: 国药H20052237; 水飞蓟宾胶囊, 商品名: 水林佳, 天津天士力制药股份有限公司, 批准文号: H20040299。

### 1.2 方法

**1.2.1 治疗:** 给予实验组患者恩替卡韦联合水飞蓟宾治疗, 对照组患者恩替卡韦治疗, 共48 wk。

## ■ 研发前沿

该研究对恩替卡韦联合水飞蓟宾对乙型肝炎肝硬化患者肝组织学的影响进行了探讨, 并准确的了解患者的需求, 快速抑制乙型肝炎病毒的复制过程, 进而改善干细胞炎症, 达到抑制肝纤维化的目的。预防细胞癌变和抗肝纤维化。因而达到较好的临床疗效, 并且能够达到保肝的目的, 提高患者的肝功能。

## ■ 相关报道

水飞蓟宾联合恩替卡韦治疗乙型肝炎肝硬化的临床疗效已经虽有报道, 但不系统全面。且本次研究对水飞蓟宾联合恩替卡韦引入并进行重点阐述。

■ 创新点

本次研究对水飞蓟宾联合恩替卡韦引入进行深入的分析, 并且从不同的角度和客观指标进行阐述水飞蓟宾联合恩替卡韦治疗乙型肝炎肝硬化的优越性, 尤其对提高患者的肝功能, 文章的观点鲜明, 创新性也相对比较强。

表 1 治疗前后两组患者的肝功能指标比较 (n = 50)

分组	时间	ALB(g/L)	PT(s)	ALT(U/L)	TBIL(μmol/L)
实验组	治疗前	23.2 ± 4.9	14.8 ± 2.5	112.4 ± 10.2	38.3 ± 7.7
	治疗后	36.4 ± 5.1 <sup>a</sup>	11.6 ± 3.7 <sup>a</sup>	49.3 ± 6.2 <sup>b</sup>	24.6 ± 4.7 <sup>a</sup>
对照组	治疗前	32.1 ± 5.4	14.7 ± 2.4	110.2 ± 10.5	36.5 ± 5.4
	治疗后	35.3 ± 5.7	12.1 ± 2.9	61.3 ± 8.3	27.3 ± 5.7

<sup>a</sup>P<0.05, <sup>b</sup>P<0.01 vs 对照组. ALB: 白蛋白; PT: 凝血酶原时间; ALT: 谷丙转氨酶; TBIL: 总胆红素.

表 2 治疗前后两组患者的肝纤维化指标比较 (n = 50, mean ± SD, μg/L)

分组	时间	LN	HA	PCIII	C-IV
实验组	治疗前	179.2 ± 14.9	276.5 ± 26.2	169.2 ± 13.2	119.9 ± 17.3
	治疗后	97.4 ± 15.1 <sup>a</sup>	105.3 ± 28.3 <sup>b</sup>	95.6 ± 11.3 <sup>b</sup>	69.8 ± 19.6 <sup>a</sup>
对照组	治疗前	176.1 ± 15.4	273.4 ± 29.2	167.6 ± 18.8	119.6 ± 16.3
	治疗后	105.3 ± 15.7	152.4 ± 24.7	123.7 ± 15.3	77.5 ± 13.2

<sup>a</sup>P<0.05, <sup>b</sup>P<0.01 vs 对照组. LN: 层黏连蛋白; HA: 血清透明质酸; PCIII: III型前胶原; C-IV: IV型胶原.

(1)实验组: 恩替卡韦每日口服1次, 0.5 mg/次. 水飞蓟宾胶囊每日口服3次, 105 mg/次; (2)对照组: 每日口服恩替卡韦1次, 0.5 mg/次; (3)两组患者的疗程均为48 wk. 均予常规保肝、支持治疗.

1.2.2 观察指标: 认真观察两组患者的血常规、血糖、肝功能和肾功能等情况. 每2 mo对患者的HBV DNA和乙型肝炎标志物(HBV-M)进行一次检测, 其中HBV DNA定量<1.0×10<sup>3</sup> copies/mL为阴性, 乙型肝炎e抗体(anti-hepatitis B virus e antibody, HBeAb)≤1.0 S/CO为阴性, 乙型肝炎e抗原(hepatitis B e antigen, HBeAg)<280 PEIU/L为阴性. 并检测患者的白蛋白(albumin, ALB)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)以及凝血酶原时间(prothrombin time, PT), 对血清透明质酸(hyaluronic acid, HA)、III型前胶原(pre collagen III, PCIII)、IV型胶原(collagen IV, C-IV)、层黏连蛋白(laminin protein, LN)进行检测, 采用B超观察患者的门静脉变化和肝脾大小. 并对患者的不良反应进行观察.

统计学处理 应用SPSS19.0软件对数据结果进行统计学分析, 计数资料以频数表示, 比较采用χ<sup>2</sup>检验. 计量结果用mean±SD表示, 采用独立样本t检验, 以P<0.05差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 治疗前后两组患者的肝功能指标比较 研究结果显示, 治疗前两组患者的肝功能指标差异不具有统计学意义(P>0.05), 治疗后两组患者的肝功能指标较治疗前均显著改善, 比较差异具有统计学意义(P<0.05). 治疗后, 实验组患者的肝功能情况显示优于对照组患者的肝功能情况, 比较差异具有统计学意义(P<0.05)(表1).

2.2 治疗前后两组患者的肝纤维化指标比较 研究结果显示, 治疗前两组患者的肝纤维化指标差异不具有统计学意义(P>0.05), 治疗后两组患者的肝纤维化指标较治疗前均显著改善, 比较差异具有统计学意义(P<0.05). 治疗后, 实验组患者的肝纤维化指标情况显示优于对照组患者的肝纤维化指标情况, 比较差异具有统计学意义(P<0.05)(表2).

2.3 不良反应 研究结果显示, 实验组患者有2例出现口苦、头晕、疲乏、腹部不适等症状, 对照组患者有1例出现口苦、腹部不适的症状. 两组患者均没有出现过敏等不良反应.

3 讨论

乙型肝炎肝硬化是慢性乙型肝炎发展而来的, 其病理学定义为弥漫性纤维化伴有假小叶形成<sup>[5,6]</sup>. 造成肝硬化的远远为乙型肝炎病毒在干细胞中不断被复制, 进而使干细胞遭受损伤.

因此临床上常将肝硬化定义为不可逆的肝病终末期, 但是近几年有研究指出, 早期肝纤维化是可逆的, 治疗的关键为抗病毒, 虽然抗病毒不能将肝脏的病理改变进行完全逆转, 但是能够抑制病毒的复制, 进而阻断或延缓疾病的发展速度, 减少并发症的发生率<sup>[7]</sup>. 临床上多采用水飞蓟素制剂、甘草酸制剂、双环醇和多不饱和卵磷脂制剂等来进行抗病毒, 并对肝脏的生活指标进行改善<sup>[8,9]</sup>. 恩替卡韦能够使患者的血清HBV DNA快速降低至检测线之下, 且耐药率较低, 临床上多采用恩替卡韦来治疗失代偿期乙型肝炎肝硬化<sup>[10]</sup>. 为了能够更好的改善患者的肝功能, 改善临床疗效, 本文进行了探究.

水飞蓟宾是含有高纯度水飞蓟宾的纯天然高品质药物, 能够保肝、降酶, 对肝细胞膜进行稳定和修复, 调节肝脂肪代谢, 进而减轻乙型肝炎等其他有毒物质引起的脂质过氧化反应, 防止肝内谷胱甘肽被耗竭而造成细胞膜磷脂构成发生改变<sup>[11,12]</sup>. 同时水飞蓟宾还能够清除自由基, 提高肝脏的解毒功能, 达到较好的保肝和治肝的功效<sup>[13]</sup>. 同时对于慢性肝硬化患者, 水飞蓟宾还能够抑制腹水的形成, 提高血浆白蛋白<sup>[14]</sup>. 因此近年来临床将恩替卡韦联合水飞蓟宾应用于对乙型肝炎肝硬化患者的治疗中. 本文研究结果显示, 治疗前两组患者的肝功能指标和肝纤维化指标差异不具有统计学意义( $P>0.05$ ), 治疗后两组患者的肝功能指标和肝纤维化指标较治疗前均显著改善( $P<0.05$ ). 治疗后, 实验组患者的肝功能和肝纤维化指标情况显示优于对照组患者的肝功能情况( $P<0.05$ ). 这说明了使用恩替卡韦联合水飞蓟宾较单纯使用恩替卡韦治疗乙型肝炎肝硬化患者具有较好的临床疗效<sup>[15]</sup>. 这可能是由于恩替卡韦能够快速抑制乙型肝炎病毒的复制过程, 进而改善干细胞炎症, 达到抑制肝纤维化的目的<sup>[16,17]</sup>. 其次水飞蓟宾能够预防细胞癌变和抗肝纤维化. 因而恩替卡韦联合水飞蓟宾治疗乙型肝炎肝硬化能够达到较好的临床疗效, 并且能够达到保肝的目的, 提高患者的肝功能<sup>[18]</sup>. 同时治疗期间患者未发生严重不良反应, 这说明恩替卡韦和水飞蓟宾在治疗乙型肝炎肝硬化方面具有一定的协同作用<sup>[19]</sup>.

总之, 恩替卡韦联合水飞蓟宾治疗乙型肝炎

肝硬化能够显著改善患者的肝功能、改善患者肝纤维化指标的情况, 可以在临床上进一步推广和使用<sup>[20]</sup>.

#### 4 参考文献

- 1 Rauscher I, Eiber M, Ganter C, Martirosian P, Safi W, Umgelter A, Rummeny EJ, Holzapfel K. Evaluation of T1ρ as a potential MR biomarker for liver cirrhosis: comparison of healthy control subjects and patients with liver cirrhosis. *Eur J Radiol* 2014; 83: 900-904 [PMID: 24661616 DOI: 10.1016/j.ejrad.2014.02.017]
- 2 朱刚剑, 苏传真, 王健, 范瑞琴, 王显耀, 孙娜. 恩替卡韦治疗代偿期乙型肝炎肝硬化患者过程中血清甲状腺激素的变化. *实用医学杂志* 2013; 29: 461-463
- 3 李惠珍, 周小平, 李玉珍, 陈蕊丽. 恩替卡韦治疗失代偿期乙型肝炎肝硬化2年疗效观察. *实用肝脏病杂志* 2010; 13: 384-385
- 4 Buadu A, Meyer MA. Small liver nodule detection with a high-frequency transducer in patients with chronic liver disease: report of 3 cases. *J Ultrasound Med* 2013; 32: 355-359 [PMID: 23341394]
- 5 赵蔚, 张英. HBeAg阴性和阳性乙型肝炎肝硬化患者血常规、肝功能、HBV DNA、Child-Pugh分级对比分析. *山西医科大学学报* 2014; 45: 736-739
- 6 朱倩, 乔国梁, 晏建军, 吴孟超, 严以群. 乙型肝炎肝硬化相关早期肝癌切除术后预后. *中华肝胆外科杂志* 2014; 20: 258-264
- 7 王燕. 恩替卡韦治疗慢性乙型肝炎和乙型肝炎肝硬化高胆红素血症60例. *陕西医学杂志* 2012; 41: 1060-1062
- 8 管小涛, 兰小青, 乔龙. 水飞蓟宾胶囊治疗慢性丙肝的临床观察. *中国民间疗法* 2013; 21: 46-47
- 9 张立真. 水飞蓟宾治疗慢性乙型肝炎合并脂肪肝病疗效观察. *实用医技杂志* 2014; 21: 538-539
- 10 常晋芳, 王霞. 水飞蓟宾-磷脂酰胆碱复合物联合干扰素治疗慢性乙型肝炎合并非酒精性脂肪性肝病临床研究. *山西医药杂志(下半月版)* 2013; 42: 801-803
- 11 寇玉坤. 恩替卡韦治疗乙肝后肝硬化失代偿期42例近期疗效观察. *中国临床实用医学* 2010; 4: 178-180
- 12 杨晓玲, 李嘉, 周莉, 王婧涵, 刘均娟, 高敏. 恩替卡韦初治代偿期和失代偿期乙型肝炎肝硬化患者96周疗效比较. *天津医科大学学报* 2014; 20: 204-208
- 13 郝瑞军. 水飞蓟宾对乙型肝炎肝硬化患者纤维化指标及FibroScan值的影响. *临床合理用药杂志* 2011; 4: 23-24
- 14 赵彩霞. 恩替卡韦联合水飞蓟宾对慢性乙型肝炎患者外周血树突状细胞及淋巴细胞亚群的影响. *医药前沿* 2014; 4: 147-148
- 15 尤红, 吴晓宁, 王倩怡, 吴鹏, 从瑞, 杨爱婷, 欧晓娟, 马红, 张福奎, 王宝恩, 贾继东. 恩替卡韦对慢性乙型肝炎、肝硬化代偿期和失代偿期的2年抗病毒疗效比较. *首都医科大学学报* 2010; 31: 563-565
- 16 姚翀, 郑慧, 王迪, 李晓金, 李朝密, 万颖. 组织声学结构定量技术评价恩替卡韦治疗早期肝硬化的研究. *安徽医科大学学报* 2015; 50: 1507-1509
- 17 苏毅, 杨方万, 李传腾, 侯丽, 刘丽娟, 刘霞. 恩替卡韦治疗骨髓干细胞移植乙型肝炎肝硬化患者HBV血清检测的水平变化. *现代中西医结合杂志* 2013; 22: 2286-2288
- 18 吴抗源, 周秀琳. 恩替卡韦治疗失代偿期乙型肝炎肝硬化2a疗效观察. *现代中西医结合杂志* 2013; 22: 842-843

#### ■应用要点

该研究在实际的临床工作中具有较好的指导意义, 尤其是恩替卡韦联合水飞蓟宾治疗乙型肝炎肝硬化能够显著改善患者的肝功能、改善患者肝纤维化指标的情况.



#### 同行评价

本研究观点鲜明、可读性比较强, 文章的摘要明确, 全文概述也比较完整, 且重点也相对突出. 文章条理清晰, 文字简明扼要, 应用价值高, 对同行具较好的指导意义.

19 苟卫, 王燕玲, 徐筱玮, 徐文伟. 恩替卡韦治疗乙型肝炎肝硬化合并肝源性糖尿病的临床观察. 临床肝胆病杂志 2013; 29: 456-458

20 周培, 陈辉, 王鲁文, 龚作炯. 恩替卡韦治疗慢性乙型肝炎肝硬化失代偿期患者的近期疗效及安全性. 中西医结合肝病杂志 2014; 24: 27-30

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有

#### • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》正文要求

**本刊讯** 本刊正文标题层次为 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空 1 格写标题; 2 级标题后空 1 格接正文. 以下逐条陈述: (1) 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系. (2) 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可. (3) 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论. (4) 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾. 图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图 1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ... 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: <sup>a</sup> $P<0.05$ , <sup>b</sup> $P<0.01$ ( $P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套  $P$  值, 则<sup>c</sup> $P<0.05$ , <sup>d</sup> $P<0.01$ ; 第 3 套为<sup>e</sup> $P<0.05$ , <sup>f</sup> $P<0.01$ .  $P$  值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、- 应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用  $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$  表达. 黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小  $7.5\text{ cm} \times 4.5\text{ cm}$ , 必须使用双面胶条黏贴在正文内, 不能使用浆糊黏贴. (5) 志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

# 肝硬化患者自发性细菌性腹膜炎危险因素的Meta分析

申红霞, 娄小平, 苒新伟, 郑晓, 杜文婷, 赵贝贝, 王文娟

申红霞, 娄小平, 郑晓, 杜文婷, 赵贝贝, 王文娟, 郑州大学第一附属医院护理部 河南省郑州市 450052

苒新伟, 郑州大学第一附属医院肝胆胰外科 河南省郑州市 450052

申红霞, 在读硕士, 主要从事慢性病管理的研究。

**作者贡献分布:** 娄小平与申红霞对此文所作贡献均等; 此课题由娄小平与申红霞设计; 文献筛选由苒新伟、杜文婷及郑晓完成; 数据分析由赵贝贝与王文娟完成; 本论文写作由娄小平与申红霞完成。

**通讯作者:** 娄小平, 主任护师, 硕士生导师, 450052, 河南省郑州市建设东路1号, 郑州大学第一附属医院护理部。  
 m13592631704@163.com  
 电话: 0371-66913269

收稿日期: 2016-03-06  
 修回日期: 2016-03-24  
 接受日期: 2016-03-29  
 在线出版日期: 2016-04-28

## Risk factors for spontaneous bacterial peritonitis in cirrhotic patients: A meta-analysis

Hong-Xia Shen, Xiao-Ping Lou, Xin-Wei Chang, Xiao Zheng, Wen-Ting Du, Bei-Bei Zhao, Wen-Juan Wang

Hong-Xia Shen, Xiao-Ping Lou, Xiao Zheng, Wen-Ting Du, Bei-Bei Zhao, Wen-Juan Wang, Department of Nursing, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, He'nan Province, China

Xin-Wei Chang, Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, He'nan Province, China

**Correspondence to:** Xiao-Ping Lou, Chief Nurse, Department of Nursing, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe Road, Zhengzhou 450052, He'nan Province, China. m13592631704@163.com

Received: 2016-03-06

Revised: 2016-03-24  
 Accepted: 2016-03-29  
 Published online: 2016-04-28

## Abstract

**AIM:** To systematically identify the risk factors for spontaneous bacterial peritonitis (SBP) in cirrhotic patients.

**METHODS:** PubMed, Web of Science, OVID, China National Knowledge Infrastructure (CNKI), Chinese BioMedical Literature Database (CBM) and Wanfang databases were searched to retrieve studies evaluating the risk factors for SBP in cirrhotic patients. The quality of the included papers was evaluated according to the Newcastle-Ottawa Scale (NOS) score. Meta-analysis was performed using RevMan 5.3 software.

**RESULTS:** A total of 31 studies were included, involving 2125 cases in the case group and 5755 cases in the control group. The results showed that SBP history (OR = 6.70, 4.68-9.59), gastrointestinal hemorrhage (OR = 3.39, 2.38-4.84), constipation (OR = 3.97, 2.58-6.11), Child-Pugh classification C (OR = 3.51, 2.56-4.81), low level of serum albumin (WMD = -3.47, -4.76--2.17), high level of serum total bilirubin (WMD = 19.06, 12.56-25.56), low level of total ascites protein ( $\leq 10$  g/L) (OR = 6.63, 5.62-7.63) and prolonged prothrombin time (PT) (WMD = 2.01, 1.22-2.8) were risk factors for SBP in cirrhotic patients. Child-Pugh classification A (OR = 0.21, 0.11-0.41) and high level of total ascites protein ( $> 10$  g/L) (OR = 0.15, 0.12-0.19) were protective factors for SBP in cirrhotic patients. Age, gender, posthepatic

## 背景资料

自发性细菌性腹膜炎(spontaneous bacterial peritonitis, SBP)是肝硬化患者常见并发症之一, 预后较差、病死率较高。如何减少SBP的发生, 从而降低肝硬化患者的病死率至关重要。目前国内外关于肝硬化患者SBP的危险因素仍有不同的报道。

## 同行评议者

智绪亭, 教授, 山东大学齐鲁医院普外科; 张进祥, 副教授, 华中科技大学同济医学院附属协和医院

## ■研究前沿

近年来, 国内外学者对肝硬化患者SBP发生的具体危险因素研究较多, 多项研究认为既往SBP史、肝功能Child-Pugh分级、腹水蛋白、消化道出血与肝硬化并发SBP密切相关, 但研究结果仍存在争议。

cirrhosis, hepatic encephalopathy, Child-Pugh classification B and diabetes had no significant association with SBP in cirrhotic patients.

**CONCLUSION:** SBP in cirrhotic patients is closely associated with multiple risk factors, and attention should be paid to these factors and corresponding preventive measures should be taken to reduce the incidence of SBP and prolong the survival of cirrhotic patients.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Cirrhosis; Spontaneous bacterial peritonitis; Risk factors; Meta-analysis

Shen HX, Lou XP, Chang XW, Zheng X, Du WT, Zhao BB, Wang WJ. Risk factors for spontaneous bacterial peritonitis in cirrhotic patients: A meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(12): 1903-1909 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1903.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i12.1903>

## 摘要

**目的:** 综合分析肝硬化患者自发性细菌性腹膜炎(spontaneous bacterial peritonitis, SBP)的危险因素, 为临床制定有效的预防控制措施提供科学依据。

**方法:** 计算机检索数据库PubMed、Web of Science、OVID, 中国学术期刊全文数据库(China National Knowledge Infrastructure, CNKI)、中国生物医学文献数据库(Chinese BioMedical Literature Database, CBM)、万方数据库中发表的有关国内外肝硬化患者SBP相关危险因素的研究, 筛选出符合纳入排除标准的文献, 参照纽卡斯尔-渥太华量表(The Newcastle-Ottawa Scale, NOS)对纳入文献进行质量评价, 应用RevMan 5.3软件进行Meta分析。

**结果:** 共纳入31篇文献, 累计样本量病例组2125例, 对照组5755例。结果显示既往SBP史( $OR = 6.70, 4.68-9.59$ )、消化道出血( $OR = 3.39, 2.38-4.84$ )、便秘( $OR = 3.97, 2.58-6.11$ )、Child-Pugh分级C级( $OR = 3.51, 2.56-4.81$ )、低血清白蛋白( $WMD = -3.47, -4.76--2.17$ )、高血清总胆红素( $WMD = 19.06, 12.56-25.56$ )、腹水蛋白 $\leq 10$  g/L( $OR = 6.63, 5.62-7.63$ )、凝血酶原时间延长( $WMD = 2.01, 1.22-2.8$ )为肝硬化患者SBP的危险因素; Child-Pugh分级A级( $OR = 0.21, 0.11-0.41$ )和腹水蛋白 $> 10$  g/L( $OR = 0.15,$

$0.12-0.19$ )为肝硬化患者SBP的保护因素; 年龄、性别、肝炎后肝硬化、肝性脑病、Child-Pugh分级B级和合并糖尿病与肝硬化患者SBP关系不显著。

**结论:** 肝硬化患者SBP的发生与多种因素密切相关, 临床中应注重以上指标, 采取相应的防治措施, 降低SBP发生率, 提高肝硬化患者的生存率。

© 2016版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 肝硬化; 自发性细菌性腹膜炎; 危险因素; Meta分析

**核心提示:** 自发性细菌性腹膜炎(spontaneous bacterial peritonitis, SBP)是肝硬化患者常见而严重的并发症。本研究运用Meta分析方法对国内外相关文献进行统计分析, 旨在总结和探讨肝硬化SBP的危险因素, 为临床预防控制措施提供科学依据。

申红霞, 娄小平, 蒋新伟, 郑晓, 杜文婷, 赵贝贝, 王文娟. 肝硬化患者自发性细菌性腹膜炎危险因素的Meta分析. *世界华人消化杂志* 2016; 24(12): 1903-1909 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1903.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i12.1903>

## 0 引言

自发性细菌性腹膜炎(spontaneous bacterial peritonitis, SBP)是由致病菌经肠道、血液或者淋巴系统引起的腹腔感染, 可由失代偿期肝硬化门脉高压导致肠道菌群紊乱, 致病菌经肠道或循环系统进入腹腔, 引发感染<sup>[1]</sup>。SBP是肝硬化患者常见而严重的并发症, 在肝硬化患者中的发生率为8%-30%<sup>[2]</sup>, 死亡率可达65%-93%<sup>[3]</sup>。如何减少SBP的发生, 从而降低肝硬化患者的病死率非常重要。目前国内外关于肝硬化患者SBP的危险因素仍有不同的报道。因此, 本文采用Meta分析方法对国内外相关研究文献进行统计分析, 旨在总结和探讨肝硬化SBP的危险因素, 为临床制定最佳预防控制决策, 实行有效的干预措施提供理论依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 通过计算机检索数据库PubMed、Web of Science、OVID, 中国学术期刊全文数据库(China National Knowledge Infrastructure, CNKI)、中国生物医学文献数据库(Chinese



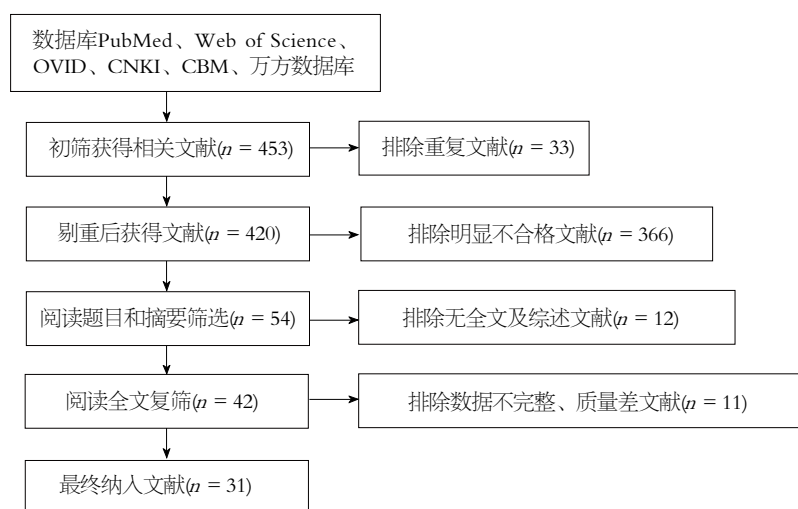


图1 文献筛选流程

BioMedical Literature Database, CBM)、万方数据库, 检索截止日期为2016-01-10. 检索词为“cirrhosis, spontaneous bacterial peritonitis, risk factors, influence factors”和“肝硬化、自发性细菌性腹膜炎、危险因素、影响因素”。

## 1.2 方法

1.2.1 文献纳入标准: 纳入标准包括: (1)研究内容为肝硬化患者SBP危险因素的一次文献; (2)研究类型为病例对照研究或可分为病例组和对照组比较的研究; (3)研究中可获得详细的数据; (4)文献限定为中英文。SBP诊断标准: (1)存在腹痛、腹胀以及发热症状; (2)腹部有压痛和反跳痛, 且腹部张力增大; (3)腹水增多加快, 利尿治疗效果不佳; (4)腹水检查: 白细胞总数 $>0.5 \times 10^9/L$ 或多形核细胞数 $\geq 250$ 个/ $mm^3$ 或腹水细菌培养为阳性。肝功能分级按Child-Pugh分级标准分为A、B、C 3级。

1.2.2 文献排除标准: 排除标准包括: (1)动物实验; (2)文献质量差、基本数据不全及失访过多的研究; (3)个案报道或综述; (4)重复发表的研究选择最新的报道。

1.2.3 文献筛选与资料提取: 由两位研究者独立根据纳入与排除标准进行文献筛选和数据提取, 并交叉核对纳入研究的结果, 如果遇分歧由第三研究者决定是否纳入。资料提取的内容包括纳入研究的基本特征、纳入研究的方法学质量评分。

1.2.4 文献质量评价: 纳入研究的方法学质量评价由两位研究者参照纽卡斯尔-渥太华量表(The Newcastle-Ottawa Scale, NOS)<sup>[4]</sup>, 通过纳入文献的研究人群选择、组间可比性、暴露

因素的测量3个方面进行质量评价。

**统计学处理** 采用Revman5.3软件进行统计分析。分类变量采用比值比(odds ratio, OR)和95%CI为指标分析效应量, 连续变量采用加权均数差(weighted mean difference, WMD)及其95%CI为指标分析效应量。进行异质性检验, 若异质性检验结果 $P>0.1$ , 则表示研究结果间无统计学异质性, 采用固定效应模型; 若异质性检验结果 $P<0.1$ , 则表示研究结果间有统计学异质性, 采用随机效应模型。通过改变数据分析模型进行敏感性分析, 说明结果的稳定性及准确性。

## 2 结果

2.1 文献检索结果 初检出相关文献453篇, 剔除后获得文献420篇, 初筛去除366篇, 进一步阅读全文, 严格依照纳入、排除标准筛选后排除了23篇, 最后纳入31篇文献<sup>[5-35]</sup>, 文献筛选流程如图1, 包括30篇中文文献, 1篇英文文献, 其中SBP组2125例, 无SBP组5755例。对纳入研究中提及的肝硬化患者SBP危险因素进行统计, 分别为: 年龄、性别、既往SBP史、肝炎后肝硬化、合并糖尿病、肝性脑病、消化道出血、便秘、Child-Pugh分级、血清白蛋白、血清总胆红素、腹水蛋白、凝血酶原时间。各文献的基本情况如表1。

### 2.2 Meta分析结果

2.2.1 异质性检验结果: 对纳入文献的研究结果进行异质性检验, 结果显示性别、肝炎后肝硬化、肝性脑病和便秘的相关文献异质性检验结果 $P>0.1$ , 采用固定效应模型合并效应

### ■ 相关报道

李进等在研究中指出肝硬化并发SBP与患者的上消化道出血、腹泻、低血清白蛋白、高血清总胆红素密切相关, 临床上应积极治疗患者原发病, 控制病情, 定期检查相关指标, 积极预防SBP发生。

■ 创新盘点

本文应用Meta分析的方法,对有关肝硬化患者SBP危险因素的文献进行了综合分析,并运用统计学方法对各危险因素分析得出了SBP可能的保护因素和危险因素,为临床的早期预防,早期诊断提供科学依据。

表 1 纳入研究的基本特征

第一作者	发表年份	研究地区	样本例数		质量评价
			研究组	对照组	
倪传斌等 <sup>[6]</sup>	2013	海南	80	60	7
桂若虎 <sup>[6]</sup>	2006	湖南	26	30	6
何伟锋等 <sup>[7]</sup>	2013	惠州	206	1123	6
楼凯平 <sup>[8]</sup>	2011	浙江	44	41	6
冯世兵等 <sup>[9]</sup>	2009	北京	21	29	6
占国清等 <sup>[10]</sup>	2011	湖北	135	263	7
费琰等 <sup>[11]</sup>	2014	南通	40	28	7
李蔼炎 <sup>[12]</sup>	2012	广西	80	134	6
刘需祥 <sup>[13]</sup>	2011	贵州	38	102	6
刘模荣等 <sup>[14]</sup>	2002	遵义	44	41	5
袁霞等 <sup>[15]</sup>	2007	广西	48	45	5
郑越超等 <sup>[16]</sup>	2010	浙江	45	133	6
孙波 <sup>[17]</sup>	2013	浙江	100	432	6
朱林 <sup>[18]</sup>	2003	徐州	44	41	5
焦建明等 <sup>[19]</sup>	2006	大理	30	26	5
陈潮文等 <sup>[20]</sup>	2008	广东	42	130	6
刘跃进等 <sup>[21]</sup>	2008	济南	45	148	6
黄初军 <sup>[22]</sup>	2015	云南	41	205	7
冯梦蝶 <sup>[23]</sup>	2012	广西	27	53	7
刘胜昔等 <sup>[24]</sup>	2011	海南	48	48	6
赵艳等 <sup>[25]</sup>	2014	河北	30	320	6
林希等 <sup>[26]</sup>	2007	浙江	40	218	6
王毓麟 <sup>[27]</sup>	2012	天津	64	46	8
赵宁等 <sup>[28]</sup>	2012	沈阳	78	147	7
李进等 <sup>[29]</sup>	2014	广西	88	695	7
金颖等 <sup>[30]</sup>	2009	浙江	52	207	7
李易等 <sup>[31]</sup>	2009	四川	81	295	6
夏亮等 <sup>[32]</sup>	2013	浙江	46	95	8
周晓琳等 <sup>[33]</sup>	2008	湖北	48	54	7
张锦前等 <sup>[34]</sup>	2007	北京	246	159	6
Schwabl等 <sup>[35]</sup>	2015	澳大利亚	168	407	8

量. 其他因素相关文献异质性检验结果 $P<0.1$ ,提示这些因素各研究结果间均存在异质性,进一步分析异质性原因并进行相应的统计学处理: (1)既往SBP史: 按照逐一排除法,在剔除李蔼炎<sup>[12]</sup>文献后既往SBP史相关文献的异质性消失. 原因可能是无SBP组中既往有SBP史的患者比例小,存在选择偏移有关,采用固定效应模型处理; (2)腹水蛋白: 刘需祥<sup>[13]</sup>文献中无SBP组腹水蛋白 $\leq 10$  g/L患者比例小(3.3%),远远小于其他研究中腹水蛋白 $\leq 10$  g/L患者占无SBP组的比例(15%-35%). 剔除刘需祥<sup>[13]</sup>文献后,腹水蛋白 $\leq 10$  g/L和腹水蛋白 $>10$  g/L相关文献均同质,采用固定效应模型处理; (3)合并糖尿病: 剔除占国清等<sup>[10]</sup>和金颖等<sup>[30]</sup>文献后合

并糖尿病相关文献的异质性消失,可能原因是占国清等<sup>[10]</sup>和金颖等<sup>[30]</sup>文献中无SBP组合并糖尿病的比例大,分别为34%和43%,远远大于其他研究中合并糖尿病患者占无SBP组的比例(3.7%-14.0%),采用固定效应模型处理; (4)年龄、消化道出血、Child-Pugh分级、血清白蛋白、血清总胆红素和凝血酶原时间的相关文献质量较高,文献的分组方法等因素均不会导致文献异质性,故采用随机效应模型处理. 异质性检验结果如表2.

2.2.2 各因素与肝硬化患者SBP关系的Meta分析结果: 既往SBP史、消化道出血、便秘、Child-Pugh分级C级、低血清白蛋白、高血清总胆红素、腹水蛋白 $\leq 10$  g/L、凝血酶原时间延长为

表 2 各危险因素的Meta分析结果

因素	篇数	Meta分析模型	异质性检验结果			Meta分析结果		
			$\chi^2$ 值	$I^2$ (%)	P值	OR/WMD	95%CI	P值
年龄	16	随机效应模型	45.01	67	<0.01	WMD = 0.25	-0.55-1.61	0.54
性别	26	固定效应模型	15.68	0	0.92	OR = 1.04	0.91-1.17	0.59
既往SBP史	7	固定效应模型	1.40	0	0.97	OR = 6.7	4.68-9.59	<0.05
肝炎后肝硬化	14	固定效应模型	17.96	28	0.16	OR = 0.95	0.73-1.22	0.68
合并糖尿病	8	固定效应模型	10.34	32	0.17	OR = 1.11	0.81-1.53	0.51
肝性脑病	12	固定效应模型	12.54	12	0.32	OR = 1.3	0.95-1.78	0.10
消化道出血	20	随机效应模型	78.10	76	<0.01	OR = 3.39	2.38-4.84	<0.05
便秘	5	固定效应模型	0.93	0	0.92	OR = 3.97	2.58-6.11	<0.05
Child-Pugh分级A	10	随机效应模型	57.71	84	<0.01	OR = 0.21	0.11-0.41	<0.05
Child-Pugh分级B	11	随机效应模型	37.28	73	<0.01	OR = 0.80	0.56-1.14	0.22
Child-Pugh分级C	17	随机效应模型	67.20	76	<0.01	OR = 3.51	2.56-4.81	<0.05
血清白蛋白	8	随机效应模型	66.63	89	<0.01	WMD = -3.47	-4.76--2.17	<0.05
血清总胆红素	6	随机效应模型	40.31	88	<0.01	WMD = 19.06	12.56-25.56	<0.05
腹水蛋白 $\leq 10$ g/L	10	固定效应模型	5.70	0	0.77	OR = 6.63	5.62-7.63	<0.05
腹水蛋白 $> 10$ g/L	10	固定效应模型	5.70	0	0.77	OR = 0.15	0.12-0.19	<0.05
凝血酶原时间	5	随机效应模型	15.99	75	<0.01	WMD = 2.01	1.22-2.80	<0.05

SBP: 自发性细菌性腹膜炎.

## 应用要点

本研究结果表明,既往SBP史、消化道出血、便秘、Child-Pugh分级C级、低血清白蛋白、高血清总胆红素、腹水蛋白 $\leq 10$  g/L、凝血酶原时间延长为肝硬化患者SBP的危险因素.临床中应注重以上指标,采取相应的防治措施,降低SBP发生率,提高肝硬化患者的生存率.

表 3 敏感性分析结果

因素	固定效应模型	随机效应模型
年龄	0.27(-0.12-0.66)	0.25(-0.55-1.06)
性别	1.04(0.91-1.17)	1.03(0.91-1.17)
既往SBP史	6.70(4.68-9.59)	6.77(4.74-9.67)
肝炎后肝硬化	0.95(0.73-1.22)	0.92(0.67-1.27)
合并糖尿病	1.11(0.81-1.53)	1.17(0.77-1.78)
肝性脑病	1.30(0.95-1.78)	1.41(0.99-2.01)
消化道出血	2.96(2.53-3.47)	3.39(2.38-4.84)
便秘	3.97(2.58-6.11)	3.99(2.60-6.13)
Child-Pugh分级A	0.18(0.14-0.23)	0.21(0.11-0.41)
Child-Pugh分级B	0.94(0.79-1.11)	0.80(0.56-1.14)
Child-Pugh分级C	3.27(2.85-3.74)	3.51(2.56-4.81)
血清白蛋白	-3.10(-3.48--2.71)	-3.47(-4.76--2.17)
血清总胆红素	16.44(14.47-18.41)	19.06(12.56-25.56)
腹水蛋白 $\leq 10$ g/L	6.63(5.62-7.63)	6.55(5.08-8.44)
腹水蛋白 $> 10$ g/L	0.15(0.12-0.19)	0.15(0.12-0.20)
凝血酶原时间	1.79(1.44-2.14)	2.01(1.22-2.8)

SBP: 自发性细菌性腹膜炎.

肝硬化患者SBP的危险因素; Child-Pugh分级A级和腹水蛋白 $> 10$  g/L为肝硬化患者SBP的保护因素; 年龄、性别、肝炎后肝硬化、肝性脑病、Child-Pugh分级B级和合并糖尿病与肝硬化患者SBP关系不显著. Meta分析结果如表2.

2.3 敏感性分析结果 本研究通过改变分析模型

进行敏感性分析. 通过固定效应模型和随机效应模型分别计算, 结果显示合并结果基本可靠(表3).

## 3 讨论

SBP是在无任何邻近组织炎症的情况下发生的



## ■名词解释

自发性细菌性腹膜炎(SBP): 是在无任何邻近组织炎症的情况下发生的腹膜和/或腹水的细菌性感染, 自发的改变区别于外科手术引起的腹膜炎。

腹膜和/或腹水的细菌性感染, 是肝硬化患者常见并发症之一, 病情复杂、预后较差、病死率较高<sup>[36]</sup>。可能与肝硬化患者身体状况较差、免疫和防御功能降低有关, 加上肠道功能障碍及肠道菌群紊乱, 肠黏膜通透性增加、屏障功能受损, 进而导致细菌移位, 发生SBP<sup>[37]</sup>。目前, 国内外对肝硬化患者SBP发生的具体危险因素研究较多, 但研究结果仍存在争议。因此本研究运用循证Meta分析方法对31篇文献进行统计, 结果显示: 既往SBP史、消化道出血、便秘、Child-Pugh分级C级、低血清白蛋白、高血清总胆红素、腹水蛋白 $\leq 10$  g/L、凝血酶原时间延长为肝硬化患者SBP的危险因素; Child-Pugh分级A级和腹水蛋白 $>10$  g/L为肝硬化患者SBP的保护因素; 年龄、性别、肝炎后肝硬化、肝性脑病、Child-Pugh分级B级和合并糖尿病与肝硬化患者SBP关系不显著。

SBP病情复杂, 病死率高, 且复发率高, 国外有研究显示有SBP史者1年内复发SBP的概率为40%-70%<sup>[38]</sup>, 肝硬化患者由于长期慢性肝病, 营养不良, 机体抵抗力下降, 且以往的SBP加重肝功能损害, 使肝脏单核吞噬细胞功能减弱, 肝脏合成的补体和纤维蛋白黏连素减少, 进一步降低了机体抵抗力, 为SBP的复发提供了条件, 所以既往有SBP病史的患者更易发生SBP, 这与倪传斌等<sup>[5]</sup>和冯梦蝶<sup>[23]</sup>的研究结果一致。研究表明, SBP的发生可能与腹水清除致病菌的能力即腹水的调理素活性有关, 而其主要取决于腹水的蛋白含量和补体水平。有文献报道<sup>[31]</sup>, 腹水蛋白 $<10$  g/L患者的SBP发生率是腹水蛋白 $>10$  g/L患者的10倍。腹水蛋白的降低使腹水中致病菌的清除更困难, 容易导致SBP的发生。此外, 本研究发现, 便秘和消化道出血与SBP的发生关系密切, 这可能与便秘时肠道细菌会过度繁殖, 肠道内容物停留时间较长, 增加细菌进入腹腔的机会有关。消化道出血促使SBP发生的原因可能是肠道积血使肠腔内细菌生长活跃, 同时也削弱了肠道黏膜的屏障功能, 促使细菌的迁移; 此外肠道失血也可以造成白蛋白降低, 腹水量增加, 从而使腹水调理素的活性降低, 易发生SBP。

肝功能Child-Pugh分级、血清总胆红素、血清白蛋白、凝血酶原时间是反映肝脏损害程度与储备功能的常用指标。由于Child-Pugh分级C级患者肝功能严重损害, 免疫力差,

Kupffer细胞数量少, 门体分流及肠道淤血现象更为严重, 易位的细菌更易侵入血液或腹腔, 导致感染。同时, Meta分析结果显示低血清白蛋白、高血清总胆红素含量与SBP发生密切相关, 与李进等<sup>[29]</sup>和金颖等<sup>[30]</sup>研究结果一致。分析原因可能是高胆红素增加了毛细胆管通透性, 腹水蛋白减少, 从而降低了腹水调理素的活性, 血清白蛋白降低, 腹水不易消退, 为SBP发生提供了条件。

此外, 本研究仍具有局限性: (1)本研究纳入的文献异质性较高, 虽然根据组间异质性的存在采用随机效应模型分析, 但对于可能的混杂因素如种族、地区等没有进行匹配, 可能会影响结果; (2)检索文献不够全面, 纳入的研究均为发表的文献, 未获取相关灰色文献; (3)纳入研究中亚洲人群较多, 国外文献只纳入了一篇, 因此今后需要有更多前瞻性研究进行补充和完善。

总之, SBP是肝硬化患者常见并发症之一, 病情复杂、预后较差、危险因素多。临床中应注重以上指标, 采取相应的防治措施, 降低SBP发生率, 提高肝硬化患者的生存率。

## 4 参考文献

- Marescaux J, Dallemagne B, Perretta S, Wattiez A, Mutter D, Coumaros D. Surgery without scars: report of transluminal cholecystectomy in a human being. *Arch Surg* 2007; 142: 823-826; discussion 826-827 [PMID: 17875836]
- Strauss E, Caly WR. Spontaneous bacterial peritonitis: a therapeutic update. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2006; 4: 249-260 [PMID: 16597206]
- 张兴光, 冯志杰. 肝硬化自发性细菌性腹膜炎的诊断及治疗进展. *世界华人消化杂志* 2015; 23: 388-395
- Stang A. Critical evaluation of the Newcastle-Ottawa scale for the assessment of the quality of nonrandomized studies in meta-analyses. *Eur J Epidemiol* 2010; 25: 603-605 [PMID: 20652370 DOI: 10.1007/s10654-010-9491-z]
- 倪传斌, 陈武军. 80例肝硬化腹水并发自发性细菌性腹膜炎高危因素分析. *中国热带医学* 2013; 13: 1514-1516
- 桂若虎. 肝硬化并发自发性细菌性腹膜炎102例分析. *中国医学工程* 2006; 14: 178-183
- 何伟锋, 李斌, 黄文峰, 余中贵, 林占洲, 许岸高. 肝硬化并发自发性细菌性腹膜炎发病危险因素分析. *现代诊断与治疗* 2013; 24: 1212-1214
- 楼凯平. 肝硬化并发自发性细菌性腹膜炎高危因素探讨. *中国基层医药* 2011; 18: 2265-2266
- 冯世兵, 王宇, 刘青. 肝硬化并发自发性细菌性腹膜炎患者21例临床分析. *山东医药* 2009; 49: 94
- 占国清, 谭华炳, 李芳, 李儒贵, 李金科. 肝硬化发生自发性细菌性腹膜炎的危险因素分析. *实用肝脏病杂志* 2011; 14: 349-353
- 费琰, 倪晓蓉, 邹美银. 肝硬化腹水并发自发性细菌

- 性腹膜炎的危险因素分析. 中华实验和临床感染病杂志(电子版) 2014; 8: 605-608
- 12 李嵩炎. 肝硬化腹水并发自发性细菌性腹膜炎的危险因素探讨. 中国现代药物应用 2012; 6: 18-19
  - 13 刘需祥. 肝硬化腹水并发自发性细菌性腹膜炎的相关因素分析. 中国现代医学杂志 2011; 21: 529-533
  - 14 刘模荣, 谢海燕. 肝硬化腹水并发自发性细菌性腹膜炎高危因素初探. 临床荟萃 2002; 17: 334-335
  - 15 袁霞, 汤桂芳. 肝硬化腹水并发自发性细菌性腹膜炎危险因素的探讨. 医学临床研究 2007; 24: 1048-1049
  - 16 郑越超, 吴梓苗, 张爱军, 冯杰, 盛吉芳, 相代荣. 肝硬化腹水并发自发性细菌性腹膜炎危险因素分析. 浙江实用医学 2010; 15: 351-365
  - 17 孙波. 肝硬化腹水并发自发性细菌性腹膜炎相关因素分析. 中国乡村医药 2013; 20: 25-26
  - 18 朱林. 肝硬化腹水并发自发性细菌性腹膜炎44例分析. 华北国防医药 2003; 15: 429-430
  - 19 焦建明, 顾伟. 肝硬化腹水并发自发性细菌性腹膜炎危险因素分析. 热带医学杂志 2006; 6: 85-86
  - 20 陈潮文, 刘序友, 汤绍辉, 杨冬华, 劳学军. 肝硬化腹水患者并发自发性细菌性腹膜炎的危险因素分析. 中国现代医学杂志 2008; 18: 1604-1609
  - 21 刘跃进, 王桂玲, 王伟. 肝硬化腹水患者并发自发性细菌性腹膜炎的危险因素分析. 山东大学学报(医学版) 2008; 46: 1166-1168
  - 22 黄初军. 肝硬化腹水患者并发自发性细菌性腹膜炎的危险因素分析. 中外医疗 2015; 7: 51-53
  - 23 冯梦蝶. 肝硬化合并自发性细菌性腹膜炎27例高危因素分析. 海南医学 2012; 23: 72-74
  - 24 刘胜昔, 杨才勇. 肝硬化合并自发性细菌性腹膜炎48例临床分析. 海南医学院学报 2011; 17: 1187-1191
  - 25 赵艳, 张伯鹏, 张国顺. 肝硬化合并自发性细菌性腹膜炎临床特征观察. 现代中西医结合杂志 2014; 23: 949-950
  - 26 林希, 赵海红, 冯江, 陈华忠. 肝硬化合并自发性细菌性腹膜炎危险因素分析. 现代中西医结合杂志 2007; 16: 4821-4822
  - 27 王毓麟. 肝硬化合并自发性细菌性腹膜炎相关因素分析及治疗对策. 中华医院感染学杂志 2012; 22: 3990-3992
  - 28 赵宁, 李智伟. 肝硬化患者并发自发性细菌性腹膜炎危险因素分析. 中国医师杂志 2012; 14: 1225-1227
  - 29 李进, 胡振斌, 李月翠. 肝硬化患者自发性细菌性腹膜炎腹水感染的相关因素分析. 中华医院感染学杂志 2014; 24: 5347-5349
  - 30 金颖, 吴金明, 江宏峰, 刘扬, 吴利敏. 肝硬化失代偿期并发自发性细菌性腹膜炎的临床分析. 实用医学杂志 2009; 25: 3984-3986
  - 31 李易, 韩盛玺, 齐建康. 肝硬化自发性细菌性腹膜炎的影响因素分析. 西部医学 2009; 21: 590-593
  - 32 夏亮, 谢齐贵, 罗灵和, 陈军贤. 老年肝硬化腹腔积液并发自发性腹膜炎临床分析. 中华医院感染学杂志 2013; 23: 2575-2577
  - 33 周晓琳, 覃慧敏, 谢迎春, 陈一东, 冯芳, 叶丰, 谭宏祐. 失代偿期肝硬化并发自发性细菌性腹膜炎患者临床分析. 实用肝脏病杂志 2008; 11: 194-195
  - 34 张锦前, 范小玲, 凌伟, 董小冬, 徐寒, 潘馨. 糖尿病对肝硬化患者并发自发性细菌性腹膜炎的影响. 中国医师进修杂志 2007; 30: 24-26
  - 35 Schwabl P, Bucsics T, Soucek K, Mandorfer M, Bota S, Blacky A, Hirschl AM, Ferlitsch A, Trauner M, Peck-Radosavljevic M, Reiberger T. Risk factors for development of spontaneous bacterial peritonitis and subsequent mortality in cirrhotic patients with ascites. *Liver Int* 2015; 35: 2121-2128 [PMID: 25644943 DOI: 10.1111/liv.12795]
  - 36 韩亚芳, 陈佐云, 赵涛, 刘华. 肝硬化合并自发性细菌性腹膜炎的病原菌耐药性调查. 中华医院感染学杂志 2011; 21: 3292-3293
  - 37 刘新民, 吴扬, 刘桂霞. 肝硬化合并自发性细菌性腹膜炎的病因分析. 吉林医学 2000; 21: 203-204
  - 38 Miura N, Kitamura H, Kameko M. Evaluation of the reference range of retinol-binding protein (RBP) levels by the latex turbidimetric immunoassay. *Rinsho Byori* 2009; 57: 195-199 [PMID: 19363988]

# 同符评价

本文运用Meta分析方法探讨肝硬化患者SBP危险因素, 并通过分析得出了SBP可能的保护因素和危险因素, 文章结构条理分明, 分析论证正确, 科学结论明确, 具有一定的科学性、创新性和可读性。

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



## 腹腔镜肝切除治疗肝癌合并肝硬化的短期疗效

王琦, 段键, 林杰, 黄汉飞, 徐王刚, 夏志超, 张伟鑫, 曾仲

### ■背景资料

腹腔镜肝切除 (laparoscopic hepatectomy, LH) 问世至今已二十余年, 由最初的用于治疗肝脏良性肿瘤, 发展为今天的肝癌根治术, 已被证实短期疗效与开腹肝切除无明显差异, 同时, 具有创伤小、出血少、术后恢复快、住院时间短、费用略低等优势而广泛用于临床。

王琦, 段键, 林杰, 黄汉飞, 徐王刚, 夏志超, 张伟鑫, 曾仲, 昆明医科大学第一附属医院器官移植中心 云南省昆明市 650032

王琦, 硕士, 主要从事肝胆外科疾病的治疗及肝移植的研究。

云南省卫生科技计划基金资助项目, No. 2014NS155

作者贡献分布: 王琦与段键对此文做出主要贡献; 本课题由曾仲设计; 徐王刚、林杰及夏志超收集并整理数据; 曾仲、黄汉飞、张伟鑫及王琦统计分析数据; 本论文写作由段键与王琦完成。

通讯作者: 曾仲, 教授, 博士生导师, 650032, 云南省昆明市西昌路295号, 昆明医科大学第一附属医院器官移植中心。  
zzong@medmail.com.cn  
电话: 0871-65359202

收稿日期: 2016-02-24  
修回日期: 2016-03-24  
接受日期: 2016-03-28  
在线出版日期: 2016-04-28

Received: 2016-02-24

Revised: 2016-03-24

Accepted: 2016-03-28

Published online: 2016-04-28

### Abstract

**AIM:** To compare the short-term efficacy of laparoscopic hepatectomy (LH) vs open hepatectomy (OH) for hepatocellular carcinoma with cirrhosis.

**METHODS:** A retrospective analysis was performed of 56 patients with hepatocellular carcinoma and cirrhosis who were treated from September 2011 to December 2014 at our hospital. They were randomly divided into either an LH group (24 cases) or an OH group (32 cases) based on the mode of surgery. Intraoperative variables, postoperative recovery and short-term postoperative recurrence were analyzed and compared between the two groups.

**RESULTS:** There were comparable demographic data ( $P > 0.05$ ) between the two groups. Operative time was  $355.42 \text{ min} \pm 22.36 \text{ min}$  for the LH group and  $200.87 \text{ min} \pm 18.59 \text{ min}$  for the OH group. Blood loss volume was  $117.26 \text{ mL} \pm 57.17 \text{ mL}$  for the LH group and  $353.52 \text{ mL} \pm 80.63 \text{ mL}$  for the OH group. The incidence rates of postoperative infection, bile leakage and ascites were significantly lower in the LH group than in the OH group. Levels of liver function (ALT, AST) within three days after operation, hospitalization, and short-term tumor recurrence rate were significantly lower in the LH group than in the OH group.

**CONCLUSION:** In the treatment of cirrhosis with liver cancer, LH is better than OH in

### Short-term efficacy of laparoscopic hepatectomy for treating hepatocellular carcinoma with cirrhosis

Qi Wang, Jian Duan, Jie Lin, Han-Fei Huang, Wang-Gang Xu, Zhi-Chao Xia, Wei-Xin Zhang, Zhong Zeng

Qi Wang, Jian Duan, Jie Lin, Han-Fei Huang, Wang-Gang Xu, Zhi-Chao Xia, Wei-Xin Zhang, Zhong Zeng, Organ Transplantation Center, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Supported by: Science and Technology Foundation of Yunnan Provincial Health Department, No. 2014NS155

Correspondence to: Zhong Zeng, Professor, Organ Transplantation Center, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, 295 Xichang Road, Kunming 650032, Yunnan Province, China. zzong@medmail.com.cn

### ■同行评议者

房学东, 教授, 吉林大学中日联谊医院普通外科; 吕小平, 教授, 广西医科大学第一附属医院消化内科



terms of operative time, intraoperative blood loss, postoperative recovery and short-term recurrence.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Hepatic cellular cancer; Liver cirrhosis; Liver resection; Laparoscopic

Wang Q, Duan J, Lin J, Huang HF, Xu WG, Xia ZC, Zhang WX, Zeng Z. Short-term efficacy of laparoscopic hepatectomy for treating hepatocellular carcinoma with cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(12): 1910-1915 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1910.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i12.1910>

## 摘要

**目的:** 探讨腹腔镜肝切除(laparoscopic hepatectomy, LH)与开腹肝切除(open hepatectomy, OH)治疗肝癌合并肝硬化患者短期疗效的差别。

**方法:** 回顾性分析2011-09/2014-12昆明医科大学第一附属医院器官移植中心收治的肝癌合并肝硬化患者病历资料56例, 随机分为2组, 其中LH组24例, OH组32例。对两组患者术中情况、术后恢复及术后短期复发情况进行对比分析。计量资料采用成组 $t$ 检验和配对 $t$ 检验, 计数资料采用 $\chi^2$ 检验。

**结果:** 两组患者基本情况相似, 组间无明显统计学差异(均 $P>0.05$ ); LH组和OH组手术时间分别为 $355.42 \text{ min} \pm 22.36 \text{ min}$ 和 $200.87 \text{ min} \pm 18.59 \text{ min}$ , 术中出血量分别为 $117.26 \text{ mL} \pm 57.17 \text{ mL}$ 和 $353.52 \text{ mL} \pm 80.63 \text{ mL}$ , 术后切口感染、胆漏、腹水等并发症LH组均显著低于OH组, 术后前3 d肝功能水平(谷丙转氨酶、谷草转氨酶), 住院时间和肿瘤短期复发LH组均显著低于OH组。

**结论:** 在肝癌合并肝硬化治疗方面, LH无论从术中情况、术后恢复及短期复发情况等均优于OH, 具有较高临床意义。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 肝癌; 肝硬化; 肝切除术; 腹腔镜

**核心提示:** 本文通过随机对照腹腔镜肝切除(laparoscopic hepatectomy, LH)及开腹肝切除治疗肝癌合并肝硬化患者的术中及术后情况之间

的差异, 结果显示LH治疗肝癌合并肝硬化是安全有效的, 术中对肝脏侧支循环、淋巴回流的破坏及间质损伤较少, 术后肝功恢复较快, 腹水、水电解质紊乱、低蛋白血症等并发症较少, 明显缩短住院时间及降低治疗费用。

王琦, 段健, 林杰, 黄汉飞, 徐王刚, 夏志超, 张伟鑫, 曾仲. 腹腔镜肝切除治疗肝癌合并肝硬化的短期疗效. *世界华人消化杂志* 2016; 24(12): 1910-1915 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1910.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i12.1910>

## 0 引言

在“谈癌色变”的今天, 肝细胞癌作为世界第五大常见癌症<sup>[1]</sup>, 在癌症死亡率中排名第三<sup>[2]</sup>, 困扰着诸多普外科医生。大多数肝细胞癌都由慢性肝炎逐渐发展为肝硬化演变而成, 目前肝细胞癌的主要治疗方法有: 手术切除、经肝动脉化疗栓塞、局部射频消融及肝移植, 而手术切除和肝移植则是众多专家一致认为的最有效的治愈方法。供体缺乏、手术费用高等导致许多肝癌患者无法进行移植手术<sup>[3]</sup>; 合并肝硬化的肝癌患者, 凝血功能较差, 常伴门脉高压等<sup>[4]</sup>, 开腹手术治疗术中出血率较高, 术后肝功恢复慢, 腹水、水电解质紊乱、低蛋白血症等并发症较多, 严重者甚至导致肝功能衰竭。腹腔镜肝切除(laparoscopic hepatectomy, LH)最大限度上减少了对肝脏侧支循环、淋巴回流的破坏及间质损伤<sup>[5,6]</sup>, 国内LH治疗肝癌合并肝硬化的报道并不多见。本文旨在探讨LH治疗肝癌合并肝硬化的短期临床疗效, 我们回顾性分析2011-09/2014-12昆明医科大学第一附属医院器官移植中心收治的肝癌合并肝硬化患者病历资料56例, 对比其术中及术后情况, 现报告如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 回顾性分析昆明医科大学第一附属医院器官移植中心2011-09/2014-12收治的肝癌合并肝硬化患者病历资料56例, LH组24例, 其中男11例, 女13例, 年龄29-82岁, 平均 $49.32 \text{ 岁} \pm 16.12 \text{ 岁}$ ; 开腹肝切除(open hepatectomy, OH)组32例, 其中男18例, 女14例, 年龄32-79岁, 平均 $45.53 \text{ 岁} \pm 19.26 \text{ 岁}$ 。纳入标准: (1)影像学诊断为原发性肝癌合并肝硬化; (2)肝功能Child-Pugh分级B级或以上; (3)凝血酶原时间

## ■ 研究前沿

LH治疗肝癌合并肝硬化是当前研究的一大热点, 国外越来越多的实验研究表明, 他是安全、有效的, 特别对于危重患者, 能降低治疗风险, 符合快速康复外科原则。

■ 相关报道

Kanazawa等研究  
发现LH对肝脏侧  
支循环、淋巴回  
流的破坏及间质  
损伤较少, 对机  
体免疫系统打击  
较小, 患者术后  
黏连、并发症较  
少, 恢复较快。

表 1 两组患者一般资料对比

项目	LH组	OH组	t值	$\chi^2$ 值	P值
性别			—	0.596	0.440
男	11	18			
女	13	14			
年龄(岁)	49.32 ± 16.12	45.53 ± 19.26	0.875	—	0.392
肝功能水平					
TBil(μmol/L)	15.47 ± 4.32	14.60 ± 4.18	1.942	—	0.087
ALT(U/L)	27.8 ± 18.4	28.2 ± 17.6	1.813	—	0.092
AST(U/L)	26.1 ± 15.2	25.6 ± 16.4	1.968	—	0.083
凝血酶原时间(s)	16.1 ± 1.5	16.4 ± 1.2	1.709	—	0.096
白蛋白(g/L)	37.3 ± 7.2	38.8 ± 6.8	1.994	—	0.078
食管胃底静脉曲张			—	0.068	0.794
轻度	18	23			
中度	6	9			
合并肝炎情况			—	0.015	0.904
乙型肝炎	15	20			
丙型肝炎	2	3			
肿瘤大小(cm)	7.1 ± 2.3	8.3 ± 1.8	1.013	—	0.263

TBil: 总胆红素; ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶. LH: 腹腔镜肝切除; OH: 开腹肝切除.

(prothrombin time, PT)低于18 s; (4)肿瘤为单发, 直径<10 cm; (5)肿瘤局限于一叶或三段内; (6)无门静脉系统侵犯或远处转移; (7)无明显心、肺、肾等重要脏器功能障碍, 无相对或绝对手术禁忌证; (8)吲哚氰绿排泄试验评估肝脏储备功能在正常范围之内; (9)无上腹部手术史。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 由昆明医科大学第一附属医院器官移植中心人员组成较固定的团队完成手术, 术中遵循无瘤原则. LH组: 常规消毒铺巾, 静吸复合麻醉、气管插管, 仰卧位, 脐上做10 mm观察孔, 气腹压维持在12 mmHg(1 mmHg = 0.133 kPa), Trocar布控原则: 根据病灶位置的不同而变化, 病灶在左肝, 左肋缘下锁骨中线、左上腹置入手术器械. 探查肝脏周围有无病变, 游离肝脏, 离断肝周韧带, 根据探查结果确定预切线. 解剖第一肝门, 不规则切除尽量寻找出主供血管以血管夹夹闭后切断; 规则性肝切除应解剖相应肝蒂予以阻断. 联合应用超声刀、直线切割闭合器、电刀等器械逐步切断肝脏, 其中较大的管道以生物夹夹闭, 能有效防止空气栓塞等并发症的发生. 肝断面电灼止血, 对显露出的脉管用4-0 proline线缝扎, 创面喷洒止血粉封闭. 标本装入一次性取物袋, 经扩大的穿刺孔取出, 切开标本检查肿瘤是否完整切除, 切除范围是否达到根治标准, 必要时术中冰冻检

查进一步证实. 冲洗腹腔, 在操作部位及文氏孔放置引流管. OH组: 常规消毒铺巾, 静吸复合麻醉、气管插管, 仰卧位, 上腹部剑突至右肋缘下斜切口. 超声刀离断肝周韧带, 视肿瘤的部位, 预置第一肝门阻断带, 解剖第一肝门, 结扎左肝动脉, 结扎门静脉左支, 间断阻断第一肝门数次. 肝断面电凝止血, 出血点较大则用缝线缝扎, 常规放置引流管。

1.2.2 观察指标: 手术时间、术中失血量、术中肝门阻断时间、术后前3 d肝功能水平[谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)]、术后并发症发生率、进食时间及住院时间。

1.2.3 术后随访: 6-12 mo不等, 比较2组患者术后肿瘤复发情况。

**统计学处理** 采用SPSS17.0统计软件包进行统计学分析. 正态计量资料用mean±SD表示, 分别采用两独立样本t检验和两独立样本4格表卡方检验.  $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料 两组患者在性别组成、年龄、肝功能水平、食管静脉曲张程度、凝血功能等一般资料方面差异无统计学意义, 具有可比性(均 $P>0.05$ )(表1). LH组患者全部在腔镜下完成手术, 无1例中转开腹. 在手术时间、术中肝门

表 2 两组患者术中情况对比

项目	LH组	OH组	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
肝段切除	8	12	—	—
联合肝段切除	12	14	—	—
非解剖性肝段切除	4	6	—	—
手术时间(min)	355.42 ± 22.36	200.87 ± 18.59	2.343	0.028
肝门阻断时间(min)	21.4 ± 12.7	35.1 ± 17.4	2.385	0.021
术中出血量(mL)	117.26 ± 57.17	353.52 ± 80.63	2.136	0.038
切缘与肿瘤距离(cm)				
>2	20	26	1.037	0.286
1-2	4	6	0.828	0.524
中转开腹	0	—	—	—

LH: 腹腔镜肝切除; OH: 开腹肝切除.

表 3 两组患者术后并发症及恢复情况

项目	LH组	OH组	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
术后死亡	0	0	—	—
切口感染	2	5	—	—
肺部感染	3	7	—	—
电解质紊乱	1	4	—	—
胆漏	0	2	—	—
腹水	0	4	—	—
术后前3 d肝功能(U/L)				
ALT	80.5 ± 23.8	147.3 ± 38.5	2.437	0.016
AST	88.7 ± 25.4	151.2 ± 44.1	2.518	0.015
腹腔引流时间(d)	5.65 ± 0.93	7.78 ± 0.81	2.304	0.021
肛门排气时间(h)	18.84 ± 5.31	32.62 ± 8.48	2.336	0.019
进食时间(h)	22.71 ± 6.52	40.29 ± 9.37	2.586	0.013
住院时间(d)	8.65 ± 1.53	11.28 ± 5.68	2.163	0.028
肿瘤复发情况	1	4	—	—

ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶. LH: 腹腔镜肝切除; OH: 开腹肝切除.

阻断时间、术中出血等发面, LH组均优于OH组, 差异具有统计学意义(均 $P<0.05$ )(表2).

2.2 术后并发症及肿瘤复发情况 在术后切口感染、胆漏、腹水等并发症方面, LH组均优于OH组, 在术后前3 d肝功能水平、住院时间及肿瘤短期复发情况方面, LH组均优于OH组, 差异具有统计学意义(均 $P<0.05$ )(表3). 由于随访时间较短, 在随访期间, 2组患者中无1例死亡.

### 3 讨论

世界上第1例腹腔镜肝肿瘤切除术于1993年报道<sup>[7]</sup>, 最初用于治疗肝脏良性肿瘤. 目前LH发展相对缓慢归结于几个原因: (1)OH中经常使用的技术动作难以应用于腹腔镜下, 如器官动

员、血流控制等, 特别是在对出血控制的程度上, 腹腔镜技术难以处理来自下腔静脉及深部肝实质的出血; (2)气腹导致的气体栓塞可引起严重并发症, 当大量气体快速进入血液循环时, 可引发心律失常、肺动脉栓塞、进而产生急性心衰, 导致患者死亡<sup>[8]</sup>. LH缺点是触觉反馈的缺失、无法对肝脏进行手动触诊, 导致镜下难以控制的潜在出血可能、病灶切除不完全等, 以及需要长期腹腔镜手术的学习. LH术后常见的并发症有胸腔积液、腹腔积液、胆漏、出血等, 目前的研究很少有关于腹腔内切口转移、肝性脑病、肝衰竭等严重并发症的报道. 近年来医学技术的成熟及内镜设备的改良, 例如术中超声、微波凝固、氩气刀、内镜

### ■创新盘点

LH治疗肝癌合并肝硬化一直是研究热点, 本文通过对比认为腹腔镜根治肝癌合并肝硬化是安全有效的, 创伤小、恢复快, 术后并发症较少, 短期疗效与开腹肝切除无明显差异, 同时明显缩短住院时间及降低治疗费用.



# 同行评价

本文立意较新, 科学性较好, 研究严谨, 结果有一定的创新性, 对临床工作有实际的指导意义。

线性订书机等, 使LH术在各地广泛开展起来, 随着2008年美国路易斯维尔声明<sup>[9]</sup>的问世, 肿瘤自身大小不再是评估能否行LH的绝对禁忌<sup>[10]</sup>。

LH不仅需要经验丰富的手术团队, 精湛的切肝技巧, 还需要理想的切肝工具。昆明医科大学第一附属医院器官移植中心开展LH已有5余年, 腹腔镜下肝癌根治术近百例, 积累了丰富的经验, 也取得了丰硕的成果。我们的经验是: 对于行腹腔镜肝癌切除术的肝硬化患者, 病灶大小不超过10 cm为宜, 肿瘤位置位于左半肝或右肝V、VI段较合适, 这些部位的病灶在切除时无需大范围的游离肝脏, 切除范围较清楚, 出血容易控制。而位于I、VIII段的病灶一般不采用LH, 因位置靠近肝脏隔面、深面, 暴露困难, 又与下腔静脉及主要肝静脉分支相邻, 出血较难控制, 手术风险较大。

肝癌合并肝硬化的患者, 肝功能受损, 各种凝血因子合成不足, 凝血功能较差<sup>[4]</sup>, 开腹手术治疗中大出血几率较高, 同时肝硬化导致肝脏质地较硬, 肿瘤组织与肝硬化肝组织分界不清, 难以保证切缘距离; 术后肝功恢复较慢, 腹水、水电解质紊乱、低蛋白血症等并发症较多, 严重者甚至导致肝功能衰竭。研究<sup>[11]</sup>表明, LH对机体免疫系统打击较小, 短期疗效优于开腹手术治疗, 但对其远期疗效目前还缺乏大宗病例的对照研究。腹腔镜良好的照明和可观的放大倍率使术者能清楚的识别较小的脉管系统, 有助于减少术中出血量, 更好地做到精细操作。我们观察到LH另一个优势是他能减少患者术后瘢痕及粘连的形成, 使未来复发性肝癌开腹切除及重复腹腔镜切除成为可能。大部分普外科手术后, 腹腔内粘连可导致严重并发症, 这是一个长期困扰外科医生的问题, 增大手术工作量, 并产生一定的医疗开支<sup>[12,13]</sup>。

本研究显示, LH组手术时间略长, 术中出血量较少, 手术创面的渗血程度较开腹手术明显减轻, 可能与气腹压力对血管的压迫作用有关, 手术视野暴露更充分。此外, LH组肝门阻断时间较OH组短, 将残余肝脏组织缺血再灌注损伤降到最低, 并减少胃肠道淤血几率<sup>[14,15]</sup>, 因此LH较OH对肝功能破坏小。术后行LH的患者腹水潴留、水电解质紊乱、低蛋白血症发生率较低, 可能术中不感蒸发、肝脏组织的动员较少, 对肝脏侧支循环、淋巴回流的破坏及间质损伤较少<sup>[5,6]</sup>, 与传统开腹肝切除术相比, LH

术具有创伤小、出血少、术后恢复快、住院时间短、费用略低等优势<sup>[16-18]</sup>。

总之, 我们认为, 对于肿瘤较小、位置表浅的合并肝硬化的肝癌患者, LH减少了对肝脏侧支循环、淋巴回流的破坏及间质损伤, 患者术后黏连、并发症较少, 恢复时间较短, 特别对于危重患者, 能降低治疗风险, 符合快速康复外科原则, 是安全且有效的治疗方式, 本研究病例数较少, 其长期疗效需要大量病例资料的前瞻性研究和长期随访进一步研究。

## 参考文献

- 1 El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology* 2007; 132: 2557-2576 [PMID: 17570226 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.04.061]
- 2 Forner A, Llovet JM, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2012; 379: 1245-1255 [PMID: 22353262 DOI: 10.1016/S0140-6736(11)61347-0]
- 3 Llovet JM, Bruix J. Novel advancements in the management of hepatocellular carcinoma in 2008. *J Hepatol* 2008; 48 Suppl 1: S20-S37 [PMID: 18304676 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.01.022]
- 4 高磊, 经翔, 赵新民, 左艳玲. 肝硬化食道静脉曲张的门脉血流动力学改变及相关参数的研究分析. *临床肝胆病杂志* 2010; 26: 297-300
- 5 Morise Z, Sugioka A, Kawabe N, Umemoto S, Nagata H, Ohshima H, Kawase J, Arakawa S, Yoshida R. Pure laparoscopic hepatectomy for hepatocellular carcinoma patients with severe liver cirrhosis. *Asian J Endosc Surg* 2011; 4: 143-146 [PMID: 22776279 DOI: 10.1111/j.1758-5910.2011.00081.x]
- 6 Kaneko H, Tsuchiya M, Otsuka Y, Yajima S, Minagawa T, Watanabe M, Tamura A. Laparoscopic hepatectomy for hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2009; 16: 433-438 [PMID: 19458892 DOI: 10.1007/s00534-009-0123-5]
- 7 Nguyen KT, Gamblin TC, Geller DA. World review of laparoscopic liver resection-2,804 patients. *Ann Surg* 2009; 250: 831-841 [PMID: 19801936 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181b0c4df]
- 8 Constant DL, Slakey DP, Campeau RJ, Dunne JB. Laparoscopic nonanatomic hepatic resection employing the LigaSure device. *JLS* 2005; 9: 35-38 [PMID: 15791967]
- 9 Buell JF, Cherqui D, Geller DA, O'Rourke N, Iannitti D, Dagher I, Koffron AJ, Thomas M, Gayet B, Han HS, Wakabayashi G, Belli G, Kaneko H, Ker CG, Scatton O, Laurent A, Abdalla EK, Chaudhury P, Dutson E, Gamblin C, D'Angelica M, Nagorney D, Testa G, Labow D, Manas D, Poon RT, Nelson H, Martin R, Clary B, Pinson WC, Martinie J, Vauthey JN, Goldstein R, Roayaie S, Barlet D, Espat J, Abecassis M, Rees M, Fong Y, McMasters KM, Broelsch C, Busuttil R, Belghiti J, Strasberg S, Chari RS. The international position on laparoscopic liver surgery: The Louisville Statement, 2008. *Ann Surg* 2009; 250: 825-830 [PMID: 19916210]

- 10 Tzanis D, Shivathirthan N, Laurent A, Abu Hilal M, Soubrane O, Kazaryan AM, Ettore GM, Van Dam RM, Lainas P, Tranchart H, Edwin B, Belli G, Campos RR, Pearce N, Gayet B, Dagher I. European experience of laparoscopic major hepatectomy. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2013; 20: 120-124 [PMID: 23053354 DOI: 10.1007/s00534-012-0554-2]
- 11 Nguyen KT, Marsh JW, Tsung A, Steel JJ, Gamblin TC, Geller DA. Comparative benefits of laparoscopic vs open hepatic resection: a critical appraisal. *Arch Surg* 2011; 146: 348-356 [PMID: 21079109 DOI: 10.1001/archsurg.2010.248]
- 12 Stanciu D, Menzies D. The magnitude of adhesion-related problems. *Colorectal Dis* 2007; 9 Suppl 2: 35-38 [PMID: 17824968 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2007.01346.x]
- 13 Ergul E, Korukluoglu B. Peritoneal adhesions: facing the enemy. *Int J Surg* 2008; 6: 253-260 [PMID: 17617231 DOI: 10.1016/j.ijsu.2007.05.010]
- 14 Belli G, Fantini C, D'Agostino A, Cioffi L, Langella S, Russolillo N, Belli A. Laparoscopic versus open liver resection for hepatocellular carcinoma in patients with histologically proven cirrhosis: short- and middle-term results. *Surg Endosc* 2007; 21: 2004-2011 [PMID: 17705086 DOI: 10.1007/s00464-007-9503-6]
- 15 Hosokawa I, Yoshitomi H, Shimizu H, Takayashiki T, Miyazaki M. Usefulness of pure laparoscopic hepatectomy for hepatocellular carcinoma in a severely cirrhotic patient. *Case Rep Gastroenterol* 2013; 7: 308-313 [PMID: 23904843 DOI: 10.1159/000354274]
- 16 Ishizawa T, Gumbs AA, Kokudo N, Gayet B. Laparoscopic segmentectomy of the liver: from segment I to VIII. *Ann Surg* 2012; 256: 959-964 [PMID: 22968066 DOI: 10.1097/SLA.0b013e31825ffed3]
- 17 郑树国, 李建伟, 陈健, 范毓东, 田驹, 郭鹏, 邓昊, 别平. 腹腔镜肝切除术临床应用的经验体会. *中华肝胆外科杂志* 2011; 8: 614-617
- 18 Kanazawa A, Tsukamoto T, Shimizu S, Kodai S, Yamazoe S, Yamamoto S, Kubo S. Impact of laparoscopic liver resection for hepatocellular carcinoma with F4-liver cirrhosis. *Surg Endosc* 2013; 27: 2592-2597 [PMID: 23392977 DOI: 10.1007/s00464-013-2795-9]

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利



## 氟哌噻吨美利曲辛联合曲美布汀治疗伴有焦虑抑郁的肠易激综合征患者的疗效评估

韩 静, 孙光斌, 张宝芹, 王柏清, 李甜甜

### ■背景资料

肠易激综合征 (irritable bowel syndrome, IBS) 是世界范围内的多发病, 普通人群中患病率可高达 5%-10%, 对患者的生存质量产生不同程度的负面影响, 是值得重视的临床与社会问题。

韩静, 孙光斌, 张宝芹, 王柏清, 李甜甜, 天津市第五中心医院消化内科 天津市 300450

韩静, 住院医师, 主要从事胃肠病方面的研究。

作者贡献分布: 此课题由韩静与孙光斌设计; 研究过程由韩静、孙光斌、张宝芹、王柏清及李甜甜共同完成; 数据分析及论文写作由韩静完成。

通讯作者: 孙光斌, 主任医师, 300450, 天津市滨海新区塘沽浙江路41号, 天津市第五中心医院消化内科。  
[sun19660901@sina.com](mailto:sun19660901@sina.com)  
电话: 022-65665563

收稿日期: 2016-02-13  
修回日期: 2016-03-09  
接受日期: 2016-03-23  
在线出版日期: 2016-04-28

Accepted: 2016-03-23

Published online: 2016-04-28

### Abstract

**AIM:** To assess the therapeutic effects of flupentixol and melitracen tablets combined with trimebutine in patients with abdominal pain-predominant irritable bowel syndrome (IBS) accompanied with anxiety and depression.

**METHODS:** This multi-center, randomized, prospective study enrolled 48 patients with abdominal pain-predominant IBS who were divided into either a combination treatment group (24 patients) or a control group (24 patients). Trimebutine was administrated in both groups, while flupentixol and melitracen was added in the combination treatment group. The treatment lasted 4 wk. Gastrointestinal symptoms and mood disorders were evaluated before treatment, 1 wk and 4 wk after treatment.

**RESULTS:** At the end of one week after treatment, the rates of improvement of gastrointestinal symptoms in the combination treatment group and control group were 16.7% and 20.8%, and there was no statistically significant difference between them ( $P > 0.05$ ). At the end of 4 wk after treatment, the rates of improvement of gastrointestinal symptoms in the combination treatment group was 87.5%, which was significantly higher than that of the control group (41.7%;  $\chi^2 = 9.507$ ,  $P = 0.002$ ). At the end of 1 week after treatment, there were no statistically significant differences in the rates of Hamilton Depression Scale score improvement

### Therapeutic effects of flupentixol and melitracen combined with trimebutine in patients with irritable bowel syndrome accompanied with anxiety and depression

Jing Han, Guang-Bin Sun, Bao-Qin Zhang, Bai-Qing Wang, Tian-Tian Li

Jing Han, Guang-Bin Sun, Bao-Qin Zhang, Bai-Qing Wang, Tian-Tian Li, Department of Gastroenterology, the Fifth Central Hospital of Tianjin, Tianjin 300450, China

Correspondence to: Guang-Bin Sun, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Fifth Central Hospital of Tianjin, 41 Tanggu Zhejiang Road, Binhai New District, Tianjin 300450, China. [sun19660901@sina.com](mailto:sun19660901@sina.com)

Received: 2016-02-13  
Revised: 2016-03-09

### ■同行评议者

王小众, 教授, 福建医科大学附属协和医院消化内科



(14.3% and 9.09%,  $P > 0.05$ ) or the rates of Hamilton Anxiety Scale score improvement (25.2% vs 22.2%,  $P > 0.05$ ) between the combination treatment group and control group. At the end of 4 weeks after treatment, the rate of Hamilton Depression Scale score improvement in the combination treatment group was significantly higher than that of the control group (61.9% vs 22.7%,  $\chi^2 = 6.776$ ,  $P = 0.009$ ), and the rate of Hamilton Anxiety Scale score improvement was also significantly higher in the combination treatment group (66.7% vs 33.3%,  $\chi^2 = 4.582$ ,  $P = 0.032$ ).

**CONCLUSION:** Flupentixol and melitracen combined with trimebutine could not only improve the anxiety and depression symptoms of patients with abdominal pain-predominant IBS, but also effectively improve gastrointestinal symptoms. The efficacy of the combination treatment is better than that of trimebutine monotherapy.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Irritable bowel syndrome; Anxiety; Depression; Trimebutine; Flupentixol and melitracen

Han J, Sun GB, Zhang BQ, Wang BQ, Li TT. Therapeutic effects of flupentixol and melitracen combined with trimebutine in patients with irritable bowel syndrome accompanied with anxiety and depression. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(12): 1916-1920 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1916.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i12.1916>

## 摘要

**目的:** 观察氟哌噻吨美利曲辛联合曲美布汀治疗伴有焦虑抑郁状态的腹痛明显的肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)患者的疗效。

**方法:** 本研究为多中心、随机、前瞻性研究, 将纳入的48例患者分为联合治疗组(24例)和对照组(24组)。两者均口服曲美布汀, 其中联合治疗组加用氟哌噻吨美利曲辛, 疗程为4 wk, 于治疗前、治疗1、4 wk同时进行胃肠道症状和情绪障碍评估。统计学分析采用卡方检验。

**结果:** 治疗后1 wk, 联合治疗组与对照组的胃肠道症状改善有效率分别为16.7%和20.8%( $P > 0.05$ ); 治疗后4 wk, 联合治疗组的

胃肠道症状改善有效率为87.5%, 高于对照组的41.7%( $\chi^2 = 9.507$ ,  $P = 0.002$ )。治疗后1 wk, 联合治疗组与对照组的汉密尔顿抑郁量表(Hamilton Depression Scale, HAMD)评分有效率分别为14.3%和9.09%, 汉密尔顿焦虑量表(Hamilton Anxiety Scale, HAMA)评分有效率为25.0%和22.2%( $P > 0.05$ )。治疗后4 wk, 联合治疗组与对照组的HAMD评分有效率分别为61.9%和22.7%( $\chi^2 = 6.776$ ,  $P = 0.009$ ), HAMA评分有效率为66.7%和33.3%( $\chi^2 = 4.582$ ,  $P = 0.032$ )。

**结论:** 氟哌噻吨美利曲辛联合曲美布汀不仅可以有效改善腹痛明显的IBS的焦虑抑郁症状, 还可有效改善患者的消化系症状, 效果明显优于曲美布汀治疗。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 肠易激综合征; 焦虑; 抑郁; 曲美布汀; 氟哌噻吨美利曲辛

**核心提示:** 本文利用氟哌噻吨美利曲辛联合曲美布汀治疗伴有焦虑抑郁的腹痛明显的肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)患者, 结果显示联合用药可有效改善腹痛明显的IBS的焦虑抑郁症状, 并可有效改善患者的消化道症状, 故应加强对精神心理因素的治疗。

韩静, 孙光斌, 张宝芹, 王柏清, 李甜甜. 氟哌噻吨美利曲辛联合曲美布汀治疗伴有焦虑抑郁的肠易激综合征患者的疗效评估. *世界华人消化杂志* 2016; 24(12): 1916-1920 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1916.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i12.1916>

## 0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种常见的功能性肠病, 以腹痛或腹部不适为主要症状, 排便后可改善, 常伴有排便习惯改变, 缺乏可解释症状的形态学和生化学异常。其病理生理机制包括消化系感觉和/或运动功能异常、黏膜分泌异常、肠道菌群失调等改变, 临床对于IBS主要采用止泻、解痉等对症治疗, 以缓解症状为目的。本研究重点在于腹痛明显且伴有焦虑抑郁的IBS患者, 给予氟哌噻吨美利曲辛和曲美布汀联合治疗, 观察其疗效。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 本研究为前瞻性研究, 采用随机对照

## ■ 研究前沿

目前研究表明54%-100%的IBS患者有精神症状, 其中以焦虑抑郁多见。因此观察氟哌噻吨美利曲辛联合曲美布汀治疗伴有焦虑抑郁状态的腹痛明显的IBS患者的疗效有重要意义。

■ 创新盘点

本研究为前瞻性研究, 采用随机对照的方法, 表明氟哌噻吨美利曲辛联合曲美布汀治疗伴有焦虑抑郁状态的腹痛明显的IBS患者效果最佳。

表 1 联合治疗组与对照组治疗后的胃肠道症状评估情况比较 [n = 24, n(%)]

分组	治疗后1 wk胃肠道症状改善			治疗后4 wk胃肠道症状改善		
	无效	进步	有效	无效	进步	有效
联合治疗组	16(66.7)	4(16.7)	4(16.7)	1(4.2)	2(8.3)	21(87.5)
对照组	12(50.0)	7(29.2)	5(20.8)	5(20.8)	9(22.2)	10(41.7)

表 2 联合治疗组与对照组治疗后的HAMD评分改善情况比较 [n(%)]

分组	n	治疗后1 wk HAMD评分改善			治疗后4 wk HAMD评分改善		
		无效	进步	有效	无效	进步	有效
联合治疗组	21	14(66.3)	4(19.0)	3(14.3)	4(9.5)	4(9.5)	13(61.9)
对照组	22	17(77.3)	3(13.6)	2(9.09)	10(45.4)	7(31.8)	5(22.7)

HAMD: 汉密尔顿抑郁量表。

的方法, 纳入2013-12/2014-12就诊于天津市第五中心医院的腹痛明显且伴有焦虑抑郁症的IBS患者48例。纳入标准: (1)年龄为18-65岁; (2)IBS符合罗马III诊断标准<sup>[1]</sup>; (3) HAMD评分为8-35分, 或HAMA评分为7-29分; (4)曾应用过抗抑郁药物的患者要度过清洗期(清洗期 = 药物半衰期×5)。所有纳入患者均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 分组与治疗: 采取随机数表法将48例患者分成联合治疗组(24例)和对照组(24例)。两组患者均口服曲美布汀, 每次0.1 g, 每日3次。其中联合治疗组均加用氟哌噻吨美利曲辛, 每日早、午餐后口服; 疗程为4 wk。

1.2.2 疗效评估: 于治疗前、治疗1 wk(8 d±1 d)、治疗4 wk(29 d±1 d)进行腹痛症状和情绪障碍评估。(1)胃肠道症状评估: 根据腹痛、大便形状等临床症状评分标准为, 无症状0分, 偶尔有症状但不影响正常生活, 计1分; 有时有症状影响正常生活但不显著, 计2分; 经常有症状明显影响生活工作计3分。总是有症状几乎无法正常工作, 计4分; 胃肠道症状评分减分率为: (治疗前症状评分-治疗后症状评分)/治疗前症状评分×100%。减分率>60%为有效, 30%-60%为进步, <30%为无效; (2)情绪障碍的评估: HAMD评分和HAMA评分减分率均为: (治疗前症状评分-治疗后症状评分)/治疗前症状评分×100%。减分率>40%为有效, 30%-40%为进步, <30%为无效; HAMD评分<8分, HAMA<7分表明焦虑

抑郁状态都不存在。

**统计学处理** 应用SPSS17.0统计软件进行统计学分析。正态分布的计量资料以mean±s表示, 两组间比较采用t检验, 率的比较采用卡方检验。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料 24例联合治疗组患者中, 年龄平均为45.6岁±13.1岁, 24例对照组年龄为47.8岁±11.4岁, 差异无统计学意义(P>0.05); 联合治疗组中男8例, 女16例; 对照组男9例, 女15例, 差异无统计学意义(P>0.05)。

2.2 胃肠道症状的评估 治疗1 wk后, 联合治疗组与对照组的胃肠道改善有效率差异无统计学意义(P>0.05), 治疗后4 wk, 联合治疗组的胃肠道症状改善有效率为87.5%, 高于对照组的41.7%( $\chi^2 = 9.507, P = 0.002$ )(表1)。

2.3 情绪障碍评估

2.3.1 HAMD评估: 对照组和联合治疗组中符合HAMD评分标准的分别有22例和21例(表2), 治疗后1 wk, 联合治疗组与对照组的HAMD评分改善的有效率差异无统计学意义(P>0.05); 治疗4 wk后, 联合治疗组的评分改善的有效率高于对照组( $\chi^2 = 6.776, P = 0.009$ )。

2.3.2 HAMA评估: 对照组和联合治疗组中符合HAMD评分标准的分别有18例和24例(表3), 治疗后1 wk联合治疗组与对照组的HAMA评分改善的有效率分别为25.0%和22.2%, 差异无统计学意义(P>0.05)。治疗后4 wk, 联合治疗组HAMA评分改善的有效率为66.7%, 高于对照

表 3 联合治疗组与对照组治疗后的HAMA评分改善情况比较  $n(\%)$

分组	$n$	治疗后1 wk HAMA评分改善			治疗后4 wk HAMA评分改善		
		无效	进步	有效	无效	进步	有效
联合治疗组	24	12(50.0)	6(25.0)	6(25.0)	3(12.5)	5(20.8)	16(66.7)
对照组	18	12(66.7)	2(11.1)	4(22.2)	8(44.4)	4(22.2)	6(33.3)

HAMA: 汉密尔顿焦虑量表。

组的33.3%, 差异有统计学意义( $\chi^2 = 4.582, P = 0.032$ )。

### 3 讨论

IBS是世界范围内的多发病, 普通人群中患病率可高达5%-10%<sup>[2]</sup>, 以中青年居多且多见于女性<sup>[3-5]</sup>。IBS 症状常影响患者的学习、生活和工作, 对患者的生存质量产生不同程度的负面影响<sup>[6-8]</sup>, IBS患者较易寻求各种医疗帮助, 花费较多, 因此是值得重视的临床与社会问题。

目前证实IBS的腹痛症状与肠道平滑肌痉挛有关, 给予解痉药物可缓解腹痛症状, 比如曲美布汀, 许多研究表明解痉药物对腹痛、腹部不适有短期疗效。曲美布汀是一种胃肠道运动双向调节剂。他直接作用于消化系平滑肌上钾、钙离子通道和胃肠道神经丛阿片受体。根据消化系处于不同的运动状态进行选择性地调节离子通道和阿片受体, 使处于不正常运动状态的胃肠道恢复正常运动。本研究中, 对照组采用曲美布汀治疗1和4 wk时进行胃肠道症状评估, 发现改善率分别为20.8%和41.7%; 这表明曲美布汀缓解胃肠道症状, 随着服药时间的延长, 有效率呈上升趋势。联合治疗组在治疗1和4 wk时胃肠道症状改善率分别为16.7%和87.5%。其中治疗4 wk时优于对照组, 提示氟哌噻吨美利曲辛联合曲美布汀可更有效的控制胃肠道症状。

54%-100%的IBS患者有精神症状, 其中以焦虑抑郁多见<sup>[9-14]</sup>。2014年美国消化学会的IBS治疗指南中推荐使用调节精神类药物治IBS<sup>[15]</sup>。氟哌噻吨美利曲辛是由氟哌噻吨和美利曲辛组成的合剂, 氟哌噻吨主要作用于突出前膜的多巴胺自身调节受体, 促进多巴胺的合成和释放, 使突出间隙中的多巴胺含量增加, 美利曲辛可抑制突出前膜对去甲肾上腺素和5-羟色胺的再摄取作用, 提高了突出间隙中单胺类递质的含量; 两种成分在治疗上相互协同,

缓解患者的焦虑抑郁情绪。

在有效控制患者情绪障碍的同时, 患者的胃肠道症状得到很大的改善, 联合治疗组明显优于单纯使用曲美布汀组。这表明IBS患者中存在的焦虑抑郁情绪对于IBS的发生、发展有重要的作用。

总之, 对于合并焦虑抑郁的IBS患者, 单纯应用传统药物不能明显改善患者的症状, 应加强对精神心理因素的治疗。

### 4 参考文献

- Longstreth GF, Thompson WG, Chey WD, Houghton LA, Mearin F, Spiller RC. Functional bowel disorders. *Gastroenterology* 2006; 130: 1480-1491 [PMID: 16678561 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.11.061]
- Lovell RM, Ford AC. Global prevalence of and risk factors for irritable bowel syndrome: a meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012; 10: 712-721.e4 [PMID: 22426087 DOI: 10.1016/j.cgh.2012.02.029]
- Zhu L, Huang D, Shi L, Liang L, Xu T, Chang M, Chen W, Wu D, Zhang F, Fang X. Intestinal symptoms and psychological factors jointly affect quality of life of patients with irritable bowel syndrome with diarrhea. *Health Qual Life Outcomes* 2015; 13: 49 [PMID: 25925746 DOI: 10.1186/s12955-015-0243-3]
- Lovell RM, Ford AC. Effect of gender on prevalence of irritable bowel syndrome in the community: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 991-1000 [PMID: 22613905 DOI: 10.1038/ajg.2012.131]
- Adeyemo MA, Spiegel BM, Chang L. Meta-analysis: do irritable bowel syndrome symptoms vary between men and women? *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 32: 738-755 [PMID: 20662786 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04409.x]
- Pimentel M, Lembo A, Chey WD, Zakko S, Ringel Y, Yu J, Mareya SM, Shaw AL, Bortey E, Forbes WP. Rifaximin therapy for patients with irritable bowel syndrome without constipation. *N Engl J Med* 2011; 364: 22-32 [PMID: 21208106 DOI: 10.1056/NEJMoa1004409]
- Tang YR, Yang WW, Wang YL, Lin L. Sex differences in the symptoms and psychological factors that influence quality of life in patients with irritable bowel syndrome. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2012; 24: 702-707 [PMID: 22382707 DOI: 10.1093/ejg/kar300]

### 应用要点

本文研究表明对于合并焦虑抑郁的IBS患者, 单纯应用传统药物不能明显改善患者的症状, 应加强对精神心理因素的治疗, 临床医师可借鉴。



# ■ 同行评价

本研究对伴有焦虑抑郁的IBS患者分组, 采用氟哌噻吨美利曲辛与曲美布汀进行治疗研究, 结果认为对伴焦虑抑郁的IBS患者, 选择抗焦虑抑郁药物有助于缓解症状, 提示在IBS中应重视心因性病因, 有一定临床意义。

- 10.1097/MEG.0b013e328351b2c2]
- 8 Park JM, Choi MG, Kim YS, Choi CH, Choi SC, Hong SJ, Jeong JJ, Lee DH, Lee JS, Lee KJ, Son HJ, Sung IK. Quality of life of patients with irritable bowel syndrome in Korea. *Qual Life Res* 2009; 18: 435-446 [PMID: 19247807 DOI: 10.1007/s11136-009-9461-7]
- 9 Gwee KA, Bak YT, Ghoshal UC, Gonlachanvit S, Lee OY, Fock KM, Chua AS, Lu CL, Goh KL, Kositchaiwat C, Makharia G, Park HJ, Chang FY, Fukudo S, Choi MG, Bhatia S, Ke M, Hou X, Hongo M. Asian consensus on irritable bowel syndrome. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 1189-1205 [PMID: 20594245 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06353.x]
- 10 Kabra N, Nadkarni A. Prevalence of depression and anxiety in irritable bowel syndrome: A clinic based study from India. *Indian J Psychiatry* 2013; 55: 77-80 [PMID: 23439939 DOI: 10.4103/0019-5545.105520]
- 11 Stasi C, Bellini M, Costa F, Mumolo MG, Ricchiuti A, Grosso M, Duranti E, Metelli MR, Gambaccini D, Bianchi L, Di Tanna GL, Laffi G, Taddei S, Marchi S. Neuroendocrine markers and psychological features in patients with irritable bowel syndrome. *Int J Colorectal Dis* 2013; 28: 1203-1208 [PMID: 23377858 DOI: 10.1007/s00384-013-1646-4]
- 12 Surdea-Blaga T, Băban A, Dumitrascu DL. Psychosocial determinants of irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 616-626 [PMID: 22363132 DOI: 10.3748/wjg.v18.i7.616]
- 13 Gwee KA, Leong YL, Graham C, McKendrick MW, Collins SM, Walters SJ, Underwood JE, Read NW. The role of psychological and biological factors in postinfective gut dysfunction. *Gut* 1999; 44: 400-406 [PMID: 10026328 DOI: 10.1136/gut.44.3.400]
- 14 Bonavita V, De Simone R. Towards a definition of comorbidity in the light of clinical complexity. *Neurol Sci* 2008; 29 Suppl 1: S99-102 [PMID: 18545908 DOI: 10.1007/s10072-008-0898-1]
- 15 Weinberg DS, Smalley W, Heidelbaugh JJ, Sultan S. American Gastroenterological Association Institute Guideline on the pharmacological management of irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2014; 147: 1146-1148 [PMID: 25224526 DOI: 10.1053/j.gastro.2014.09.001]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



## 急诊PCI术后消化道出血的相关因素

徐意, 楼玉凤

徐意, 楼玉凤, 宁波大学医学院附属医院急诊内科 浙江省宁波市 315105

徐意, 主治医师, 主要从事急诊医学和危重医学的研究。

作者贡献分布: 徐意负责数据分析及论文撰写; 楼玉凤负责材料的整理。

通讯作者: 徐意, 主治医师, 315105, 浙江省宁波市人民路247号, 宁波大学医学院附属医院急诊内科. xuyi331a@163.com

收稿日期: 2016-03-02

修回日期: 2016-03-16

接受日期: 2016-03-22

在线出版日期: 2016-04-28

### Risk factors for gastrointestinal bleeding after emergency percutaneous coronary intervention

Yi Xu, Yu-Feng Lou

Yi Xu, Yu-Feng Lou, Department of Emergency Medicine, the Affiliated Hospital of Ningbo University Medical College, Ningbo 315105, Zhejiang Province, China

Correspondence to: Yi Xu, Attending Physician, Department of Emergency Medicine, the Affiliated Hospital of Ningbo University Medical College, 247 Renmin Road, Ningbo 315105, Zhejiang Province, China. xuyi331a@163.com

Received: 2016-03-02

Revised: 2016-03-16

Accepted: 2016-03-22

Published online: 2016-04-28

### Abstract

**AIM:** To identify the risk factors for gastrointestinal bleeding after emergency percutaneous coronary intervention (PCI).

**METHODS:** Patients who underwent emergency

PCI at our hospital from July 2013 to January 2016 were selected, including 56 patients with postoperative gastrointestinal bleeding (hemorrhage group) and 57 patients without (non-hemorrhage group). Univariate and multivariate analyses of relevant clinical variables were then performed to identify risk factors for gastrointestinal bleeding in patients who underwent emergency PCI.

**RESULTS:** Of 56 patients with gastrointestinal bleeding, 6 had gastric cancer, 17 had peptic ulcer, 7 had gastric lesions, 5 had ischemic bowel disease, 4 had colon cancer, 11 had other disease, and 6 were normal. Univariate analysis showed that patient's age, BMI, smoking, history of digestive disease, hypertension, diabetes, acute coronary syndrome, use of anticoagulants or IIb/IIIa receptor antagonists, thrombocytopenia and decreased hemoglobin were significantly associated with gastrointestinal bleeding after emergency PCI ( $P < 0.05$ ). Logistic regression analysis showed that age, history of digestive disease, hypertension, acute coronary syndrome, use of IIb/IIIa receptor antagonists, thrombocytopenia and decreased hemoglobin were independent risk factors for gastrointestinal bleeding after emergency PCI ( $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Age, history of digestive disease, hypertension, acute coronary syndrome, use of IIb/IIIa receptor antagonists, thrombocytopenia and decreased hemoglobin are independent risk factors for gastrointestinal bleeding after emergency PCI.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

### 背景资料

年龄、消化性病史、合并高血压、急性冠状动脉综合征、使用IIb/IIIa受体拮抗剂、血小板减少及血红蛋白降低是影响急诊冠状动脉介入术(percutaneous coronary intervention, PCI)术后消化道出血的独立危险因素。

### 同行评议者

毛华, 教授, 主任医师, 南方医科大学(原第一军医大学)珠江医院消化内科; 刘德良, 教授, 主任医师, 中南大学湘雅二医院消化内科

## ■ 研发前沿

近年来, PCI术后消化道出血患者越来越多, 发生率2.3%。上消化道是PCI术后出血的常见部位, 具有起病急, 危险大的特点, 病死率高达10%, 因此明确消化道出血的确切病因成了提高患者预后的重中之重。

**Key Words:** Percutaneous coronary intervention; Gastrointestinal bleeding; Risk factor

Xu Y, Lou YF. Risk factors for gastrointestinal bleeding after emergency percutaneous coronary intervention. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(12): 1921-1925 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1921.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i12.1921>

## 摘要

**目的:** 探讨急诊冠状动脉介入术(percutaneous coronary intervention, PCI)后消化道出血的相关因素。

**方法:** 选取2013-07/2016-01宁波大学医学院附属医院急诊PCI术后消化道出血患者56例(出血组)和未出血患者57例(未出血组), 对两组患者的临床资料进行单因素和多因素分析, 统计消化道出血患者的胃镜/肠镜检查结果。

**结果:** 消化道出血患者56例, 其中胃癌6例, 消化性溃疡17例, 胃黏膜病变7例, 缺血性肠病5例, 结肠癌4例, 其他11例, 正常6例。急诊PCI手术患者的年龄、体质量指数、吸烟、消化性病史、合并高血压、糖尿病、急性冠状动脉综合征、使用抗凝药物、II b/IIIa受体拮抗剂、血小板减少及血红蛋白降低差异显著, 与术后消化道出血具有一定相关性( $P<0.05$ )。其中年龄、消化性病史、合并高血压、急性冠状动脉综合征、使用II b/IIIa受体拮抗剂、血小板减少及血红蛋白降低是影响急诊PCI术后消化道出血的独立危险因素( $P<0.05$ )。

**结论:** 年龄、消化性病史、合并高血压、急性冠状动脉综合征、使用II b/IIIa受体拮抗剂、血小板减少及血红蛋白降低是影响急诊PCI术后消化道出血的独立危险因素。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 冠状动脉介入术; 消化道出血; 因素

## ■ 相关报道

冯雪等在研究中提到双联抗血小板聚集药物可致消化道出血, 且与年龄、吸烟、高血压异常等因素密切相关。凡永艳等则认为, 年龄、既往PCI史、高脂血症并不是上消化道出血的预测因素。

的认可, 但以往文献对急性冠状动脉综合征、使用II b/IIIa受体拮抗剂等因素对PCI手术患者消化道出血的影响并未达成统一。

徐意, 楼玉凤. 急诊PCI术后消化道出血的相关因素. *世界华人消化杂志* 2016; 24(12): 1921-1925 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1921.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i12.1921>

## 0 引言

冠状动脉介入术(percutaneous coronary intervention, PCI)是指利用导管技术疏通狭窄或闭塞冠状动脉管腔的术式, 能够明显改善患者心肌血流灌注, 是治疗冠心病、心肌缺血等心脑血管疾病的重要手段<sup>[1,2]</sup>。近年来, PCI术后消化道出血患者越来越多, 发生率约为2.3%。上消化道是PCI术后出血的常见部位, 易导致患者心肌再缺血, 造成机体循环系统障碍<sup>[3]</sup>。消化道出血具有起病急, 危险大的特点, 病死率高达10%, 因此明确消化道出血的确切病因成了提高患者预后的重中之重。本研究对在宁波大学医学院附属医院接受PCI手术的患者临床资料进行了全面分析, 旨在明确影响术后消化道出血的相关因素, 现分析报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2013-07/2016-01宁波大学医学院附属医院急诊PCI术后消化道出血患者56例(出血组)和未出血患者456例(未出血组), 出血组患者表现出显著性呕血、便血, 与术前比较红细胞积压降低15%以上, 血红蛋白降低3 g/L以上, 其中男26例, 女30例, 年龄24-82岁, 平均61.3岁±6.8岁; 未出血组男256例, 女200例, 年龄22-85岁, 平均52.4岁±7.1岁。纳入标准: (1)术前血凝功能正常; (2)近期未接受胃肠道手术; (3)所有患者均签署知情同意书。排除标准: (1)患有严重的血液系统性疾病; (2)肝、肾功能衰竭; (3)妊娠或哺乳期妇女。

**1.2 方法** 收集两组患者的临床资料, 包括年龄、性别、体质量指数(body mass index, BMI)、是否吸烟、饮酒、是否有消化性病史、PCI手术史、合并症情况及入院是否诊断为急性冠状动脉综合征等。术后记录患者血管病变情况(单支或多支)、是否使用抗凝药物及II b/IIIa受体拮抗剂, 测定患者血小板计数及血红蛋白水平。

**统计学处理** 采用SPSS19.0软件进行统计

**核心提示:** 本文研究采用大容量样本, 发现年龄、消化性病史、合并高血压、急性冠状动脉综合征、使用II b/IIIa受体拮抗剂、血小板减少及血红蛋白降低均是影响急诊冠状动脉介入术(percutaneous coronary intervention, PCI)术后消化道出血的独立危险因素, 其中年龄、消化性病史、合并高血压、血小板减少及血红蛋白降低等因素对消化道出血的影响已得到多数学者



学分析, 计量结果采用单因素方差分析, 有统计学意义的相关因素进行多因素Logistic回归分析. 以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 消化道出血患者的胃镜/肠镜检查结果 消化道出血患者56例, 其中胃癌6例(10.71%), 消化道溃疡17例(30.36%), 胃黏膜病变7例(12.50%), 缺血性肠病5例(8.93%), 结肠癌4例(7.14%), 其他11例(19.64%), 正常6例(10.71%).

2.2 急诊PCI术后消化道出血的单因素分析 急诊PCI手术患者的年龄、BMI、吸烟、消化性病史、合并高血压、糖尿病、急性冠状动脉综合征、使用抗凝药物、II b/IIIa受体拮抗剂、血小板减少及血红蛋白降低差异显著, 与术后消化道出血具有一定相关性( $P<0.05$ )(表1).

2.3 急诊PCI术后消化道出血的多因素Logistic回归分析 年龄、消化性病史、合并高血压、急性冠状动脉综合征、使用II b/IIIa受体拮抗剂、血小板减少及血红蛋白降低是影响急诊PCI术后消化道出血的独立危险因素( $P<0.05$ )(表2).

## 3 讨论

PCI手术由诊断性心导管技术发展而来, 是治疗冠状动脉病变的主要术式, 能够疏通狭窄冠状动脉, 重建冠状动脉血流<sup>[4,5]</sup>. 我国自20世纪80年代初引进PCI手术, 至今已完成上千万例, 临床经验十分丰富. 但是, PCI手术具有侵入性, 即便该术式日趋成熟, 但各种并发症仍无法完全消除. 消化道出血是PCI手术的常见并发症, 既可能由手术穿刺等操作引起, 亦可能与患者合并症、用药种类的有关<sup>[6-8]</sup>. 为了明确消化道出血部位及原因, 我们对入组患者中的56例消化道出血患者进行了胃镜、肠镜检查, 结果发现消化道溃疡患者占30.36%, 其次为胃黏膜病变和胃癌. 本研究数据显示, 年龄 $>70$ 岁、BMI $>25$  kg/m<sup>2</sup>、吸烟、有消化性病史、合并高血压、糖尿病、急性冠状动脉综合征、使用抗凝药物、II b/IIIa受体拮抗剂、血小板减少及血红蛋白降低患者更易发生消化道出血.

为了进一步明确影响PCI术后消化道出血的相关因素, 我们对单因素分析中有统计学意义的因素进行多因素Logistic回归分析. 与年轻患者相比, 老年患者合并心脑血管疾病的风险

表 1 急诊PCI术后消化道出血的单因素分析  $n(\%)$

分组	出血组 ( $n = 56$ )	未出血组 ( $n = 456$ )
年龄(岁)		
≤70	19(33.93) <sup>a</sup>	272(59.65)
>70	37(66.07) <sup>a</sup>	184(40.35)
性别		
男	26(46.43)	256(56.14)
女	30(53.57)	200(43.86)
BMI(kg/m <sup>2</sup> )		
≤25	34(60.71) <sup>a</sup>	384(84.21)
>25	22(39.29) <sup>a</sup>	72(15.79)
吸烟		
是	26(46.43) <sup>a</sup>	160(35.09)
否	30(53.57) <sup>a</sup>	296(64.91)
饮酒		
是	10(17.86)	96(21.05)
否	46(82.14)	360(78.95)
消化性病史		
有	22(39.29) <sup>a</sup>	32(7.02)
无	34(60.71) <sup>a</sup>	424(92.98)
合并高血压		
是	34(60.71) <sup>b</sup>	200(43.86)
否	22(39.29) <sup>b</sup>	256(56.14)
合并糖尿病		
是	17(30.36) <sup>a</sup>	80(17.54)
否	39(69.64) <sup>a</sup>	376(82.46)
急性冠状动脉综合征		
是	36(64.29) <sup>b</sup>	184(40.35)
否	20(35.71) <sup>b</sup>	272(59.65)
既往PCI术史		
有	4(7.14)	32(7.02)
无	52(92.86)	424(92.98)
多支血管病变		
是	42(75.00)	352(77.19)
否	14(25.00)	104(22.81)
使用抗凝药物		
有	23(41.07) <sup>a</sup>	112(24.56)
无	33(58.93) <sup>a</sup>	344(75.44)
使用II b/IIIa受体拮抗剂		
有	29(51.79) <sup>a</sup>	56(12.28)
无	27(48.21) <sup>a</sup>	400(87.72)
血小板减少		
是	7(12.50) <sup>a</sup>	16(3.51)
否	49(87.50) <sup>a</sup>	440(96.49)
血红蛋白降低		
是	25(44.64) <sup>a</sup>	72(15.79)
否	31(55.36) <sup>a</sup>	384(84.21)

<sup>a</sup> $P<0.05$ , <sup>b</sup> $P<0.01$  vs 未出血组. BMI: 体质质量指数; PCI: 冠状动脉介入术.

更高, 因此围手术期需要服用阿司匹林等消炎

## 应用要点

本研究结果明确了PCI术后消化道出血的相关影响因素, 能够指导临床医生对高危患者进行适当干预, 以降低消化道出血发生率.

■名词解释

冠状动脉介入术(PCI): 经心导管技术疏通狭窄甚至闭塞的冠状动脉管腔, 从而改善心肌的血流灌注的治疗方法。

表 2 急诊PCI术后消化道出血的多因素Logistic回归分析

因素	B	SE	Wald	OR	P值	95%CI
年龄	0.833	0.379	4.814	2.301	0.028	1.093–4.844
BMI	0.669	0.36	3.453	1.654	0.063	0.499–1.739
吸烟	0.661	0.366	3.270	1.937	0.071	0.946–3.966
消化性病史	1.087	0.518	4.394	2.964	0.036	1.073–8.186
合并高血压	1.079	0.501	4.630	2.942	0.031	2.492–4.095
合并糖尿病	0.584	0.435	1.799	1.793	0.18	0.764–4.208
急性冠状动脉综合征	1.301	0.346	14.111	3.673	0.001	2.017–4.812
使用抗凝药物	0.622	0.375	2.750	1.463	0.097	0.496–1.594
使用IIb/IIIa受体拮抗剂	0.786	0.273	8.263	2.194	0.004	1.284–3.749
血小板减少	0.699	0.307	5.165	2.812	0.023	2.783–3.573
血红蛋白降低	0.781	0.321	5.919	2.184	0.014	1.164–4.098

BMI: 体质量指数; PCI: 冠状动脉介入术。

药的患者更多, 但是此类非甾体类消炎药对人体胃黏膜的损伤较大, 能够刺激胃酸分泌, 诱发消化道出血<sup>[9,10]</sup>。此外, 老年患者微循环存在不同程度的障碍, 新陈代谢异常, 胃黏膜屏障功能减弱, 更易发生消化道出血。消化性病史是影响术后消化道出血的另一主要因素, 由于既往有消化性病史的患者在PCI围手术期仍可能存在溃疡、糜烂、感染等消化道病变, 术后患者胃肠道屏障功能减弱, 大大增加消化道出血风险<sup>[11,12]</sup>。合并高血压及急性冠状动脉综合征患者的血管基底膜较厚, 弹性降低, 易导致动脉血管内皮细胞凋亡, 影响机体凝血功能, 从而造成消化道出血。IIb/IIIa受体拮抗剂是一种可逆性非肽类血小板抑制剂, 能够抑制血小板聚集, 预防血栓形成<sup>[13-15]</sup>。已有多篇报道表明使用IIb/IIIa受体拮抗剂能够增加消化道出血风险, 但其作用机制尚不十分明确。血小板数量是反映机体凝血系统功能的重要指标, 血红蛋白是一种载氧蛋白质, 血红蛋白含量是判断机体组织供氧及血供情况的数据之一, 因此血小板及血红蛋白降低常意味着消化道出血发生率升高。

总之, 年龄、消化性病史、合并高血压、急性冠状动脉综合征、使用IIb/IIIa受体拮抗剂、血小板减少及血红蛋白降低是影响急诊PCI术后消化道出血的独立危险因素。本次研究中, 性别并未进入多因素Logistic回归模型, 但有学者提出, PCI手术可能导致女性患者雌激素分泌异常, 患者凝血功能及纤溶功能降低, 较男性患者更易发生消化道出血。

4 参考文献

- 1 方建梅, 姚海欣, 吴福连. 经皮冠状动脉介入术后并发上消化道出血的临床护理效果. 世界华人消化杂志 2015; 23: 1469-1472
- 2 Jolly SS, Cairns J, Yusuf S, Meeks B, Shestakovska O, Thabane L, Niemelä K, Steg PG, Bertrand OF, Rao SV, Avezum A, Cantor WJ, Panholty SB, Moreno R, Gershlick A, Bhindi R, Welsh RC, Cheema AN, Lavi S, Rokoss M, Džavík V. Design and rationale of the TOTAL trial: a randomized trial of routine aspiration Thrombectomy with percutaneous coronary intervention (PCI) versus PCI Alone in patients with ST-elevation myocardial infarction undergoing primary PCI. *Am Heart J* 2014; 167: 315-321. e1 [PMID: 24576514 DOI: 10.1016/j.ahj.2013.12.002]
- 3 吕敏芳, 严丽娟, 陈瑛, 许志鹏. 经皮冠脉介入术后阿司匹林相关上消化道出血的危险因素分析. 中华急诊医学杂志 2014; 23: 1040-1042
- 4 赵金河, 卢钰. 泮托拉唑在防治老年患者经皮冠状动脉介入术后并发上消化道出血的临床意义. 世界华人消化杂志 2015; 23: 2111-2115
- 5 Schiariti M, Saladini P, Cuturello D, Iannetta L, Torromeo C, Puddu PE. Reprint of "Decline in platelet count and long-term post-PCI ischemic events: implication of the intra-aortic balloon pump". *Vascul Pharmacol* 2014; 61: 35-41 [PMID: 24657382 DOI: 10.1016/j.vph.2014.03.003]
- 6 冯雪, 张志广, 李熾. 双联抗血小板聚集药物对PCI患者上消化道出血的影响. 天津医药 2014; 42: 251-253
- 7 黄茜, 杨湛南, 朱秀芳, 李超, 刘刚, 吉立双, 王乐, 田立, 杨志瑜. 幽门螺杆菌感染与PCI围术期抗血小板治疗诱发上消化道出血的关系. 江苏医药 2015; 41: 2141-2142
- 8 陆媛, 廖庆华. 经皮冠状动脉介入治疗术后上消化道出血患者临床观察及护理干预. 河北医学 2014; 20: 1382-1384
- 9 李萍. 小剂量阿司匹林口服致消化道出血68例临床分析. 山东医药 2014; 54: 72-73
- 10 张杨, 王朝英, 陈伟庆. 缺血性脑卒中患者血浆肾素水平与阿司匹林所致消化道出血的关系. 重庆医学 2014; 43: 3923-3925
- 11 凡永艳, 李洪, 彭利, 郭文杰, 张彦, 卢才义, 薛桥. 替

- 罗非班对老年急性冠状动脉综合征患者经皮冠状动脉介入治疗围手术期应用的安全性研究. 中华老年多器官疾病杂志 2014; 13: 732-737
- 12 郑若龙, 陈新军, 钱惠东, 李伟章, 蒋文龙, 魏峰, 徐卓文, 张华. 急性心肌梗死患者双联抗血小板治疗加用质子泵抑制剂对预后的影响. 实用医学杂志 2013; 29: 1465-1467
  - 13 吴龙梅, 田新利, 郭洁, 韩莎莎, 张健, 王世宏, 李俊峡. 替罗非班对冠心病支架术后行非心脏手术患者围手术期抗栓治疗的观察. 中华老年多器官疾病杂志 2014; 13: 751-754
  - 14 吴焱贤, 吴赛珠, 钟建开, 陈玉映, 霍燕嫦, 黎文生, 陈盈文, 麦林琳. 冠状动脉内注射替罗非班对急诊介入治疗中慢血流现象的临床疗效. 中华老年心脑血管病杂志 2013; 15: 139-142
  - 15 段小春, 高海, 李南, 张宏. 老年急性非ST段抬高心肌梗死合并糖尿病患者应用替罗非班的有效性和安全性. 中华老年心脑血管病杂志 2013; 15: 582-585

#### ■同行评价

本文研究设计较为合理, 切合临床实践, 结论对临床治疗具有一定的指导意义.

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利





## 腹腔镜超声在机器人辅助腹部肿瘤微创治疗中的应用

高楠, 牟培源, 白媛媛, 周宁新

### ■背景资料

腹腔镜超声可辅助外科医生定位病灶及术式选择, 其与“机器人”系统相结合, 术者不仅可观察组织脏器内部结构, 而且能够减少其触觉反馈减弱的缺点。随着微创外科发展, 两者相结合会拓宽“机器人”系统临床应用范围。

高楠, 辽宁医学院研究生院 辽宁省锦州市 121001

高楠, 牟培源, 白媛媛, 周宁新, 中国人民解放军火箭军总医院全军肝胆胃肠病专科中心 北京市 100088

高楠, 在读硕士, 主要从事腹部超声诊断及肿瘤介入治疗研究。

作者贡献分布: 高楠与牟培源共同设计完成; 本文由高楠、牟培源、白媛媛及周宁新共同完成。

通讯作者: 牟培源, 主任医师, 硕士生导师, 100088, 北京市西城区新外大街16号, 中国人民解放军火箭军总医院全军肝胆胃肠病专科中心。pymu@sina.com  
电话: 010-66343097

收稿日期: 2016-01-10  
修回日期: 2016-03-15  
接受日期: 2016-03-29  
在线出版日期: 2016-04-28

### Application of laparoscopic ultrasound in robot-assisted minimally invasive therapy for abdominal tumors

Nan Gao, Pei-Yuan Mu, Yuan-Yuan Bai, Ning-Xin Zhou

Nan Gao, Graduate School of Liaoning Medical College, Jinzhou 121001, Liaoning Province, China

Nan Gao, Pei-Yuan Mu, Yuan-Yuan Bai, Ning-Xin Zhou, Center for Hepatobiliary and Gastrointestinal Diseases, the Rocket Force General Hospital of PLA, 16 Xinhai Street, Beijing 100088, China

Correspondence to: Pei-Yuan Mu, Chief Physician, Center for Hepatobiliary and Gastrointestinal Diseases, the Rocket Force General Hospital of PLA, 16 Xinhai Street, Xicheng District, Beijing 100088, China. pymu@sina.com

Received: 2016-01-10  
Revised: 2016-03-15  
Accepted: 2016-03-29  
Published online: 2016-04-28

### Abstract

**AIM:** To assess the clinical application of laparoscopic ultrasound in robot-assisted minimally invasive therapy for abdominal tumors.

**METHODS:** A total of 41 patients (16 patients with hilar cholangiocarcinoma, 15 patients with hepatic tumors, 9 patients with pancreatic tumors, and 1 patient with retroperitoneal tumor) underwent laparoscopic ultrasound-guided robot-assisted minimally invasive therapy for abdominal tumors. Laparoscopic ultrasound was used preoperatively to detect the number of lesions, and evaluate their location and relationship with surroundings tissue precisely. Also, by means of laparoscopic ultrasound, the surgical pathways were guided operatively, and preliminary clinical effects were evaluated postoperatively. To assess clinical efficacy, all patients were followed by contrast-enhanced CT/MRI, ultrasound, blood tests, etc.

**RESULTS:** All laparoscopic ultrasound-guided procedures were performed successfully. Laparoscopic ultrasound discovered undetected lesions in 10 patients, which resulted in a change in operative strategy (10/41, 24.39%). No death occurred during the perioperative period. Abnormalities were not found postoperatively by ultrasound and contrast-enhanced CT/MRI in all patients. Laboratory studies demonstrated that blood biochemical indicators decreased to normal range gradually. No severe complications occurred in both intraoperative and postoperative periods. All

### ■同行评议者

江艺, 主任医师, 中国人民解放军南京军区福州总医院肝胆外科; 刘金钢, 教授, 博士生导师, 中国医科大学附属第四医院普外科

patients survived, and their life quality was improved significantly.

**CONCLUSION:** Laparoscopic ultrasound could not only guide operative strategy, but also help to decrease complications and prolong disease-free survival in the postoperative period. This technique provides a safe surgical procedure, and the therapeutic effects could be improved by application of laparoscopic ultrasound in robot-assisted minimally invasive therapy for abdominal tumors.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Laparoscopic ultrasound; Robot; Minimally invasive; Tumor

Gao N, Mu PY, Bai YY, Zhou NX. Application of laparoscopic ultrasound in robot-assisted minimally invasive therapy for abdominal tumors. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(12): 1926-1930 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1926.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i12.1926>

## 摘要

**目的:** 探讨腹腔镜超声在机器人辅助腹部肿瘤微创治疗中的临床应用。

**方法:** 对41例患者(肝门部胆管癌16例, 肝占位15例, 胰腺占位9例, 腹膜后占位1例)行腹腔镜超声引导机器人辅助腹部肿瘤微创治疗。肿瘤治疗前经腹腔镜超声全面探查肿瘤精确部位、数量及其与邻近组织关系, 术中实时引导肿瘤治疗路径, 治疗后即刻经腹腔镜超声初步评价疗效。术后用超声、增强CT/MRI及血生化等进行临床疗效评价。

**结果:** 41例患者在腹腔镜超声引导下均顺利完成机器人辅助腹部肿瘤微创治疗, 手术成功率100%。其中10例患者在腹腔镜超声扫描下发现术前未预期病情, 改变原手术方式, 手术方式纠正率24.39%(10/41)。围手术期无死亡病例, 术后超声、增强CT/MRI均未见异常改变, 生化指标趋于正常, 术中及术后均未见严重并发症, 患者生活质量改善, 生存状况满意。

**结论:** 腹腔镜超声在机器人辅助腹部肿瘤微创治疗中不仅可引导手术方式选择, 而且有助于提高术中安全性、减少术后并发症并延长无瘤生存时间, 从而更利于提高机器人微创治疗的临床疗效。

© 2016版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 腹腔镜超声; 机器人; 微创; 肿瘤

**核心提示:** 腹腔镜超声(laparoscopic ultrasound, LUS)不仅可以引导机器人实现腹部肿瘤治疗微创化, 还可联合肝胆胰切除治疗。LUS助于定位肿瘤边缘及手术切缘, 减少肿瘤在肝内转移风险, 同时助于外科医生选择术式, 提高患者无瘤生存率。

高楠, 牟培源, 白媛媛, 周宁新. 腹腔镜超声在机器人辅助腹部肿瘤微创治疗中的应用. *世界华人消化杂志* 2016; 24(12): 1926-1930 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1926.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i12.1926>

## 0 引言

传统的术中超声检查技术在20世纪80年代已广泛应用于多种外科领域中, 对于手术有指导作用<sup>[1]</sup>。随着腹腔镜外科的发展, 腹腔镜超声(laparoscopic ultrasound, LUS)不仅可弥补传统超声的不足, 克服超声易受气体及肿瘤特殊部位影响的缺点, 还可拓宽腹腔镜手术的适应证范围, 引导术中精确定位肿瘤并探查肿瘤与邻近脏器的关系, 更有助于手术方式的选择。2000年美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准“达芬奇”机器人应用, 我们于2008年引进该手术设备并在国内最早将LUS与“达芬奇”机器人系统相结合应用于临床, 取得较为满意临床效果, 现将LUS技术在机器人辅助腹部肿瘤微创治疗方面的临床应用情况初步总结如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 在中国人民解放军火箭军总医院肝胆中心行LUS引导机器人辅助腹部肿瘤治疗患者41例, 男24例, 女17例, 年龄32-76岁, 平均55.4岁±12.1岁。其中肝门部胆管癌16例, 肝占位15例(肝细胞癌12例, 直肠癌肝转移3例), 胰腺占位9例(胰腺癌8例, 胰岛β细胞瘤1例), 腹膜后占位1例(卵巢癌腹膜后转移)。上述病例均行增强CT、MRI影像学检查及肿瘤标志物检测, 并经手术、病理证实。术中仪器采用腹腔镜设备AIM型; ALOKA-3500型超声诊断仪, 腹腔镜超声探头型号为UST-MC11-8731, 频率为8.0 MHz, 轴直径10 mm, 长度310 mm; 射频消融术(radiofrequency ablation, RFA)治疗仪RITA-

## ■ 研发前沿

机器人与腹腔镜超声是智能化腹腔镜与高频超声结合, 随着“智能”时代的到来, 多学科交叉合作增多, 设备结合的推广应用研究是今后的主要问题。

## ■ 相关报道

Schneider等研究得出腹腔镜超声引导机器人辅助手术比单纯腹腔镜超声引导手术更具有实用性及可行性。

### ■ 创新盘点

开放手术与腹腔镜手术中,术中超声的应用价值已被临床公认,但多数对机器人手术中腹腔镜超声的应用不熟悉,腹腔镜超声引导“机器人”系统相关报道仍较少,临床医生可用于参考借鉴。



图1 原病灶深部腹腔镜超声探查新发现一直径约1.1 cm 病灶。

1500X型; Da Vinci S四臂机器人系统。

### 1.2 方法

1.2.1 治疗: 患者全麻后消毒, 铺无菌单。人工气腹成功建立后, Trocar穿刺置入腹腔镜及操作臂, 探查脏器的基本情况, 再将LUS探头置入腹腔, 全面扫查病灶所在脏器, 探查其与邻近脏器的关系并定位病灶位置, 确定肿瘤治疗路径, 同时确认是否存在术前未知病灶; 术后经LUS初步评估疗效。通过LUS引导避开邻近的重要脏器及血管、胆管等重要结构, 并根据探查结果进一步决定是否需要改变手术方式。

1.2.2 观察指标: 观察手术有无失败及严重并发症出现, 统计手术成功率, 并观察患者术后生活质量及生存状况。通过影像学检查(腹部彩超、增强CT/MRI等)观察病灶是否有血供或强化、实验室检查(肿瘤标志物、胆红素等)术后指标是否降低及降低程度, 从而对LUS引导下微创治疗腹部肿瘤的临床疗效进行评估。

## 2 结果

41例患者在腹腔镜超声引导下均成功完成机器人辅助腹部肿瘤微创治疗, 围手术期无死亡病例。其中10例患者在LUS扫查下发现术前未预期病情, 改变原手术方式, 手术方式纠正率24.39%(10/41)。

2.1 肝脏肿瘤治疗情况 肝占位患者15例, 其中11例仅行RFA; 1例因LUS探查发现术前未检出病灶2个(肝右叶近膈顶部、肝左叶病灶各1个, 直径均<1.2 cm)而改变原手术方式(图1), 由肝左叶切除术改为左叶切除术及右叶RFA; 1例因肿瘤较大并侵犯膈肌, 为便于肿瘤切除, 改行RFA后行肝右后叶肿瘤切除术; 2例分别行肝左叶切除术、肝右叶包块切除术。

2.2 肝门部胆管癌治疗情况 16例肝门部胆管癌

患者, 12例行根治切除术, 4例因发现肝内微小转移灶而改变术式(直径均<1.5 cm)。

2.3 胰腺肿瘤治疗情况 9例胰腺占位患者, 2例经LUS探查发现病灶与大血管关系密切, 难以切除, 改行RFA并注入抗肿瘤药物以减轻胆道梗阻程度并部分缓解黄疸病情; 3例行全机器人Whipple手术; 2例行胰体尾切除术; 1例因LUS发现肝内直径1.3 cm转移灶1个, 于胰体尾切除术、胆囊切除术后追加RFA, 效果较为满意; 1例胰岛β细胞瘤患者经LUS探查其与邻近组织关系及确切位置, 行肿瘤切除术, 术前空腹血糖值为2.18 mmol/L, 术后次日空腹血糖值为8.34 mmol/L, 出院前空腹血糖多次监测均恢复至6.0-7.0 mmol/L。

2.4 腹膜后肿瘤治疗情况 1例卵巢癌腹膜后转移患者, 因LUS示其与大血管关系密切难以切除, 由腹膜后转移癌切除术改为肿瘤RFA以减轻肿瘤负荷, 术后患者状况得到改善。

2.5 随访 全部消融区增强CT/MRI均无强化表现、多普勒超声均未见血流信号。所有患者术后一天转氨酶均呈一过性升高, 随访1 mo后均有不同程度降低或趋于正常, 肿瘤标志物水平趋于正常。梗阻性黄疸患者直接胆红素均呈明显降低趋势, 减黄效果较显著。术后患者31例发热, 20例疼痛, 1例发生胆漏, 经保守治疗好转, 余均未出现严重并发症。患者术后体质量、饮食、睡眠等生活质量均有改善, 生存状况满意。

## 3 讨论

“达芬奇”机器人近年来发展迅速, 拓宽了微创外科的应用领域。机器人外科手术系统由Insite Vision图像处理系统、操作控制台和机械臂3个部分组成。这一系统通过处理腹腔镜提供的图像, 获得放大10-15倍的高分辨率3D图像, 为术者提供高清立体术野图像, 使得镜下视野更近于开腹手术, 有利于医师操作时手眼协调<sup>[2,3]</sup>。从传统开腹手术跨越到可视状态下微创治疗, 超声扮演着“透视眼”的角色。与普通术中超声相比, LUS在机器人手术中具有定位、引导及指导术式选择的功能。机器人系统因术者存在盲区, 腹腔镜仅可观察脏器表面的情况, 腹腔镜超声在机器人手术中可减少术者触觉丧失的缺点, 在狭小的手术空间, 利于机器人手术系统更好地发挥其独特的微创治疗优势。

### ■ 应用要点

腹腔镜超声引导“机器人”系统不仅定位精确、显示脏器深部病灶, 使更多手术得以微创化、减少患者痛苦, 而且助于外科医生选择合适术式, 在未来微创外科领域中拥有良好的前景。



本文1例为近膈顶部肝占位小病灶术前未预知及1例肿瘤体积较大侵犯膈肌而难以切除, 在原术式前先行LUS引导下射频消融, 效果较为满意. 特殊部位直肠癌肝转移(colorectal liver metastases, CRLM)患者切除部分肝脏不仅肝功能储备降低, 并且毗邻重要脉管安全性不高<sup>[4]</sup>, 本组3例CRLM患者病灶位置近门脉或肝静脉, 故选择LUS引导下射频消融治疗, 但因随访时间短, 入组病例少, 其远期疗效尚需进一步评估. Babawale等<sup>[5]</sup>对36例肿瘤直径<4 cm的CRLM患者行LUS引导下射频消融治疗, 1、2、3、4、5年的生存率分别为94%、69%、53%、42%、31%. 本文2例患者在LUS精确引导下成功定位肿瘤后, 分别行机器人辅助肝左叶切除术及右叶包块切除术, LUS助于定位肿瘤边缘及手术切缘, 减少肿瘤在肝内转移风险, 符合无瘤手术原则. 其余8例肝占位患者经LUS探查后发现失去手术切除机会<sup>[6,7]</sup>, 行RFA以降低肿瘤负荷, 同时为肝移植争取了时间. 15例肝占位患者生存质量均满意.

肝门部胆管癌以根治性切除为目标, 对于病变位置特殊难以切除患者, 有效治疗阻塞性黄疸对提高肝门部胆管癌患者生存质量至关重要<sup>[8,9]</sup>. 本文中16例肝门部胆管癌患者, 12例经LUS探查未见新病灶而行根治切除术, 4例经LUS探查后发现术前未检出病灶, 行肿瘤局部切除及胆肠吻合术. 肝门区域解剖结构复杂, 对于可根治性切除病灶, LUS有助于肝门部胆管癌分期及确定可切除范围, 判断是否有肝内及腹腔淋巴结转移. LUS在胆肠吻合术中也发挥重要作用, LUS引导机器人辅助下行胆肠吻合术, 因其微创性强、精确度高, 在一定程度上减少副损伤(血管及胆管损伤), 同时便于观察吻合口情况, 术后发生胆瘘及腹腔感染的几率较小. 商昌珍等<sup>[10]</sup>指出对于Bismuth II型和IV型由于断面常遗留较多胆管, 胆肠吻合技术难度大, 可先用腹腔镜联合术中超声进行探查, 明确有无血管侵犯等. LUS引导机器人对16例肝门部胆管癌精确定位、确定肝脏切缘及指导外科医生顺利完成胆汁外引流术、胆肠吻合术, 术后均无严重并发症.

胰腺周边重要脏器较多, 并且毗邻大血管, LUS的应用不仅有助于指导Whipple手术顺利进行, 而且可以帮助外科医生根据具体情况选择合适的术式. 本组8例胰腺占位患者在LUS

引导下顺利完成手术. LUS对胰腺内分泌肿瘤定位准确, 安立春等<sup>[11]</sup>回顾性分析64例腹腔镜胰岛素瘤患者手术结果, 术中超声对肿瘤检出率为96.9%, 对肿瘤个数定位准确率为100%. 另1例胰腺占位为胰岛β细胞瘤患者, 在LUS实时监测下行机器人辅助肿瘤切除术, 术后多次测量血糖均恢复至正常范围. 腹腔镜超声结合术前影像学能定位多数胰岛素瘤<sup>[12]</sup>. LUS可根据术中情况帮助外科医生判断病情、选择合理术式<sup>[13-15]</sup>. 1例卵巢癌腹膜后转移伴周围淋巴结肿大, 因腹膜后肿瘤位置较深, LUS探查下可以明确病灶病变程度, 因其与大血管关系密切难以切除转为LUS引导下射频消融, 效果较为满意.

总之, LUS不仅可以引导机器人实现腹部肿瘤治疗微创化, 还可联合肝胆胰切除治疗. LUS助于定位肿瘤边缘及手术切缘, 减少肿瘤在肝内转移风险, 符合无瘤手术原则, 降低肿瘤复发率, 提高患者无瘤生存率. 通过实时动态监测, 术中进一步明确诊断, LUS在术前诊断、术式选择、术中引导及术后评估中可发挥不可替代的作用, 在腹部肿瘤治疗中扮演了不可或缺的角色, LUS可为“达芬奇”机器人辅助腹部肿瘤微创治疗的顺利进行保驾护航.

#### 4 参考文献

- 贾伟, 王利峰. 腹腔镜超声在普外科腹腔镜手术中的临床价值. *中国现代药品应用* 2014; 8: 97-98
- 刘荣, 赵之明. 正确认识“达芬奇”手术机器人在肝胆胰外科中的应用. *中华腔镜外科杂志* 2012; 5: 1-3
- Jung M, Hagen ME, Iranmanesh P, Majno P, Buhler LH, Toso C, Cornateanu S, Buchs N, Morel P. [Robotic-assisted hepatic surgery]. *Rev Med Suisse* 2015; 11: 1331-1334 [PMID: 26255493]
- Labori KJ, Schulz A, Drolsum A, Guren MG, Kløw NE, Bjørneth BA. Radiofrequency ablation of unresectable colorectal liver metastases: trends in management and outcome during a decade at a single center. *Acta Radiol Open* 2015; 4: 2058460115580877 [PMID: 26346740 DOI: 10.1177/2058460115580877]
- Babawale SN, Jensen TM, Frøkjær JB. Long-term survival following radiofrequency ablation of colorectal liver metastases: A retrospective study. *World J Gastrointest Surg* 2015; 7: 33-38 [PMID: 25848490 DOI: 10.4240/wjgs.v7.i3.33]
- Jiang K. [Laparoscopy-assisted radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma]. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2015; 95: 2157-2159 [PMID: 26710901]
- Montalti R, Patriiti A, Troisi RI. Robotic Versus Laparoscopic Hepatectomy: What Is the Best Minimally Invasive Approach? *Ann Surg* 2015; 262: e70 [PMID: 24836147]
- Takahashi E, Fukasawa M, Sato T, Takano S,

#### ■名词解释

腹腔镜超声: 将腹腔镜和具有高分辨率的高频超声融为一体, 用于术中诊断及定位.

#### ■同行评价

本文针对目前微创技术前沿, 腹腔镜超声的应用价值已被临床公认, 但多数单位对机器人手术中腹腔镜超声的应用不熟悉, 腹腔镜下超声为微创外科医生提供了新的手段, 该文对临床医生有参考价值。

- Kadokura M, Shindo H, Yokota Y, Enomoto N. Biliary drainage strategy of unresectable malignant hilar strictures by computed tomography volumetry. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 4946-4953 [PMID: 25945008 DOI: 10.3748/wjg.v21.i16.4946]
- 9 Mansour JC, Aloia TA, Crane CH, Heimbach JK, Nagino M, Vauthey JN. Hilar cholangiocarcinoma: expert consensus statement. *HPB (Oxford)* 2015; 17: 691-699 [PMID: 26172136 DOI: 10.1111/hpb.12450]
- 10 商昌珍, 闵军, 陈亚进. 肝门部胆管癌的外科治疗: 争议与展望. *临床外科杂志* 2014; 22: 147-148
- 11 安立春, 罗渝昆, 吕发勤, 李俊来, 唐杰. 腹腔镜超声在腹腔镜胰十二指肠切除术中的定位诊断. *中国医学影像学* 2012; 20: 43-46
- 12 Antonakis PT, Ashrafian H, Martinez-Isla A. Pancreatic insulinomas: Laparoscopic management. *World J Gastrointest Endosc* 2015; 7: 1197-1207 [PMID: 26566426 DOI: 10.4253/wjge.v7.i16.1197]
- 13 Jiang K, Su M, Zhao X, Chen Y, Zhang W, Wang J, Dong J, Huang Z. "One-off" complete radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma adjacent to the gallbladder by a novel laparoscopic technique without gallbladder isolation. *Cell Biochem Biophys* 2014; 68: 547-554 [PMID: 23979983 DOI: 10.1007/s12013-013-9736-z]
- 14 Schneider CM, Peng PD, Taylor RH, Dachs GW, Hasser CJ, DiMaio SP, Choti MA. Robot-assisted laparoscopic ultrasonography for hepatic surgery. *Surgery* 2012; 151: 756-762 [PMID: 21982071 DOI: 10.1016/j.surg.2011.07.040]
- 15 Rodríguez-Sanjuán JC, Gómez-Ruiz M, Trugeda-Carrera S, Manuel-Palazuelos C, López-Useros A, Gómez-Fleitas M. Laparoscopic and robot-assisted laparoscopic digestive surgery: Present and future directions. *World J Gastroenterol* 2016; 22: 1975-2004 [PMID: 26877605 DOI: 10.3748/wjg.v22.i6.1975]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有

#### • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》消化护理学领域征稿启事

**本刊讯** 为了促进消化护理学领域的事业发展,《世界华人消化杂志》已成立消化护理学编辑委员会. 将主要报道消化护理学的基础研究, 临床研究, 临床护理实践和护理管理等原始和综述性文章.

《世界华人消化杂志》成立消化护理学编辑委员会, 由周谊霞副教授([http://www.wjgnet.com/1009-3079/edboard\\_706.htm](http://www.wjgnet.com/1009-3079/edboard_706.htm))等77位专家组成, 分布在24个省市. 其中上海市11位, 陕西省8位, 山东省7位, 黑龙江省7位, 辽宁省6位, 北京市5位, 广东省5位, 河北省3位, 贵州省3位, 湖北省2位, 浙江省2位, 四川省2位, 福建省2位, 江苏省2位, 云南省2位, 新疆维吾尔自治区2位, 甘肃省1位, 海南省1位, 江西省1位, 山西省1位, 天津市1位, 安徽省1位, 河南省1位和吉林省1位. 均来自高等院校和附属医院, 其中主任护师16位, 教授1位, 副主任护师49位, 副教授4位, 主管护师7位.

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的一份学术刊物. 我们真心欢迎消化内科, 消化外科等领域从事护理学工作者积极宣传和踊跃投稿至《世界华人消化杂志》. 请在线投稿, 网址见: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>

《世界华人消化杂志》2014年收到自由投稿和约稿2192篇. 出版手稿937篇(42.7%), 退稿1220篇(55.7%). 邀请476位编委参与同行评议.

《世界华人消化杂志》被国际检索系统美国《化学文摘》(Chemical Abstracts, CA)、荷兰《医学文摘库/医学文摘》(EMBASE/Excerpta Medica, EM)和俄罗斯《文摘杂志》(Abstract Journal, AJ)收录.

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)编辑和出版. BPG主要从事43种国际性生物医学刊物的编辑和出版工作, 包括旗舰刊物《世界胃肠病学杂志》(*World Journal of Gastroenterology, WJG*) . (郭鹏)

## MDR1 G2677T基因多态性在预测紫杉醇为主的化疗方案治疗晚期消化系难治性恶性肿瘤疗效中的价值

汪铁军, 谢中华, 郑元秀, 黄芳芳, 沈靖

汪铁军, 谢中华, 郑元秀, 黄芳芳, 沈靖, 浙江省杭州市余杭区第二人民医院内二科 浙江省杭州市 311121

杭州市余杭区医疗卫生科研建设基金资助项目, No. 2014005

作者贡献分布: 本课题由汪铁军与谢中华共同设计; 标本收集与管理以及检测由郑元秀完成; 数据管理及统计由黄芳芳完成; 论文撰写由黄芳芳与沈靖完成。

通讯作者: 黄芳芳, 主治医师, 311121, 浙江省杭州市安路80号, 余杭区第二人民医院内二科. [zjz2008001@sina.com](mailto:zjz2008001@sina.com)

收稿日期: 2016-01-31

修回日期: 2016-03-14

接受日期: 2016-03-22

在线出版日期: 2016-04-28

### Value of *MDR1* G2677T genetic polymorphism in predicting efficacy of acaclitaxel-based chemotherapy in refractory advanced gastrointestinal malignancies

Tie-Jun Wang, Zhong-Hua Xie, Yuan-Xiu Zheng, Fang-Fang Huang, Jing Shen

Tie-Jun Wang, Zhong-Hua Xie, Yuan-Xiu Zheng, Fang-Fang Huang, Jing Shen, Department of Internal Medicine (Division II), Yuhang District Second People's Hospital of Hangzhou City, Hangzhou 311121, Zhejiang Province, China

Supported by: Medical and Health Research Construction Project of Yuhang District of Hangzhou City, No. 2014005

Correspondence to: Fang-Fang Huang, Attending Physician, Department of Internal Medicine (Division II), Yuhang District Second People's Hospital of Hangzhou City, 80 Anle Road, Hangzhou 311121, Zhejiang Province, China. [zjz2008001@sina.com](mailto:zjz2008001@sina.com)

Received: 2016-01-31

Revised: 2016-03-14

Accepted: 2016-03-22

Published online: 2016-04-28

### Abstract

**AIM:** To investigate the correlation of the *MDR1* G2677T genetic polymorphism with efficacy of paclitaxel-based chemotherapy in patients with refractory advanced gastrointestinal malignancies.

**METHODS:** Ninety-seven patients with refractory advanced gastrointestinal malignancies received paclitaxel-based chemotherapy (130 mg/m<sup>2</sup>, d1, 8, every 3 wk). Efficacy was evaluated after treatment. The *MDR1* G2677T genetic polymorphism was detected by amplifying the gene fragments using PCR and direct sequencing. The correlation of the *MDR1* G2677T genetic polymorphism with efficacy was then analyzed.

**RESULTS:** Totally 94 patients completed the study. Two cases had complete response, 24 cases had partial response, 54 cases had stable disease, and 14 cases had progression disease. The overall response rate was 27.66%. The *MDR1* G2677T wild-type genotype G/G was detected 32 cases, and mutant genotypes were detected in 62 cases (A/A, 6 cases; T/T, 14 cases; G/A, 10 cases; G/T, 12 cases; A/T, 20 cases). There was no significant correlation between tumor location and genotypes. There was a significant correlation between *MDR1* G2677T genetic polymorphism and efficacy ( $P < 0.05$ ). A significant correlation was observed only between the *MDR1* G2677T wild-type genotype G/G and chemotherapeutic effects ( $P < 0.01$ ).

### 背景资料

晚期恶性肿瘤的治疗很棘手, 因此类患者往往接受过多次化疗, 易产生耐药性而成为难治性恶性肿瘤, 肿瘤多药耐药性(multi-drugs resistance, MDR)是肿瘤化疗失败的关键因素, 其21外显子G2677T与MDR1的功能和表达密切相关, 本研究初步探讨MDR1 G2677T基因多态性与紫杉类药物治疗关系。

### 同行评议者

文碧秀, 教授, 中山大学附属第一医院放射治疗科; 田华, 副研究员, 上海交通大学医学院附属仁济医院上海市肿瘤研究所



## ■ 研究前沿

在当前的晚期肿瘤治疗中, 药物对患者治疗的有效性低, 十分有必要建立个体化用药配套的检测技术, 用于指导临床用药, 追踪病患用药后药效, 从而避免不必要的化疗对患者机体的损伤, 目前鲜有 *MDR1* G2677T 基因预测杉类疗效的报道。

**CONCLUSION:** The *MDR1* G2677T genetic polymorphism can be used to predict response to paclitaxel-based chemotherapy in patients with refractory advanced gastrointestinal malignancies. The *MDR1* G2677T wild-type genotype G/G may be associated with a better treatment response compared with other genotypes.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Gene; *MDR1* G2677T; Genetic polymorphism; Paclitaxel; Refractory advanced gastrointestinal malignancy

Wang TJ, Xie ZH, Zheng YX, Huang FF, Shen J. Value of *MDR1* G2677T genetic polymorphism in predicting efficacy of paclitaxel-based chemotherapy in refractory advanced gastrointestinal malignancies. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(12): 1931-1937 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1931.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i12.1931>

## 摘要

**目的:** 探讨 *MDR1* G2677T 基因多态性与紫杉醇为主的化疗方案治疗晚期消化系难治性恶性肿瘤疗效的关系。

**方法:** 97例晚期消化系难治性恶性肿瘤患者给予以紫杉醇为主的化疗方案(130 mg/m<sup>2</sup>, 静脉滴注, d1、8、21 d为1周期), 评价疗效, 于治疗前抽取患者外周血提取DNA, 采用PCR扩增目的基因片段, 直接测序法测定 *MDR1* G2677T 基因多态性, 分析 *MDR1* G2677T 基因多态性与疗效关系。

**结果:** 最终有94例患者完成了本研究, 其中完全缓解(complete response, CR): 2例, 部分缓解(partial response, PR): 24例, 疾病稳定(stable disease, SD): 54例, 疾病进展(progressive disease, PD): 14例, 总缓解率为27.66%。 *MDR1* G2677T 基因野生型G/G有32例, 突变型中有62例(A/A有6例, T/T有14例, G/A有10例, G/T有12例, A/T有20例), 两类基因型与肿瘤发生部位无明显相关性, *MDR1* G2677T 基因多态性与疗效相关( $P < 0.05$ ), 其中仅 *MDR1* G2677T 野生型G/G对疗效的影响有统计学意义( $P < 0.01$ )。

**结论:** *MDR1* G2677T 基因多态性可作为遗传学标志预测紫杉醇对晚期消化系难治性恶性肿瘤患者的化疗敏感性, 野生型G/G基因携带者化疗疗效优于其他基因型携带者。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 基因; *MDR1* G2677T; 多态性; 紫杉醇; 晚期消化系恶性肿瘤

**核心提示:** *MDR1* G2677T 与紫杉醇类疗效有关, 其高表达可导致紫杉醇类耐药性增高。本文通过研究测定晚期消化系难治性恶性肿瘤患者外周血 *MDR1* G2677T 基因多态性, 分析其与紫杉类药物治疗关系。

汪铁军, 谢中华, 郑元秀, 黄芳芳, 沈靖. *MDR1* G2677T 基因多态性在预测紫杉醇为主的化疗方案治疗晚期消化系难治性恶性肿瘤疗效中的价值. *世界华人消化杂志* 2016; 24(12): 1931-1937 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1931.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i12.1931>

## 0 引言

多数晚期恶性肿瘤不能被目前的治疗所治愈, 因此缓解病情和延长生命是治疗的主要目的。晚期恶性肿瘤的治疗很棘手, 因此类患者往往接受过多次化疗, 易产生耐药性而成为难治性恶性肿瘤, 这无疑给家庭和社会造成极大的危害和负担。越来越多的研究<sup>[1-3]</sup>发现, 肿瘤多药耐药性(multi-drugs resistance, MDR)是肿瘤化疗失败的关键因素, 因其对一种抗肿瘤药物产生耐药性, 对结构和作用机制完全不同多种抗肿瘤药物亦可产生耐药性。已被证实 *MDR1* 基因有50多个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP), 其中21外显子G2677T与*MDR1*的功能和表达密切相关<sup>[3]</sup>。最近有研究<sup>[4]</sup>发现, *MDR1* G2677T 与紫杉醇类疗效有关, 其高表达可导致紫杉醇类耐药性增高。紫杉醇为多种晚期难治性恶性肿瘤的一线治疗方案<sup>[5,6]</sup>。本研究通过测定晚期消化系难治性恶性肿瘤患者外周血 *MDR1* G2677T 基因多态性, 分析其与紫杉类药物疗效关系, 筛选预测晚期消化系难治性恶性肿瘤化疗疗效的基因型, 以期对消化系难治性恶性肿瘤患者个体化用药提供理论及实验依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择2014-04/2015-05杭州市余杭区第二人民医院肿瘤内科住院的消化系难治性恶性肿瘤患者97例, 其中男43例, 女54例, 平均年龄为61.12岁±3.06岁。入组对象中, 食管

表 1 入组患者既往治疗情况

肿瘤类型	n	既往治疗	化疗方案
食管癌	34	一线、二线	NF、伊立替康等
胰腺癌	14	一线、二线	健择、多西他赛、卡培他滨等
肝癌	16	一线、二线	吉西他滨、CAFI、FOLFOX4等
胃癌	20	一线、二线	ELF、FOLFOX、DCF、EOX
结肠癌	16	一线、二线	FOLFIRI、XELOX、FOLFOX等

■ 创新盘点

本文研究显示 *MDR1* G2677T 基因多态性可作为遗传学标志预测紫杉醇对晚期消化系难治性恶性肿瘤患者的化疗敏感性, 为其化疗药物的个体化选择提供一定的参考。

癌34例, 其中肝转移8例, 骨转移10例, 头颅转移6例; 胰腺癌14例, 肝转移4例, 淋巴结转移6例; 肝癌16例, 头颅转移4例, 骨转移4例; 胃癌20例, 淋巴结转移12例, 肝转移6例; 结肠癌16例, 肝转移6例。入组患者均有既往治疗情况(表1)。纳入标准: (1)年龄18-75岁, 均经病理和/或细胞学检查证实为恶性肿瘤; (2)有可评价的客观病灶, 并经CT/MR检查证实, ECOG评分 $\leq 2$ 分, 预计生存期 $\geq 3$  mo; 分期为III-IV期; (3)因转移性肿瘤接受过2个以上化疗方案, 因病情进展停药, 距末次化疗时间均在3 wk以上; (4)血常规检查正常: 白细胞(white blood cell, WBC) $\geq 3.0 \times 10^9/L$ , 中性粒细胞 $\geq 1.5 \times 10^9/L$ , 血红蛋白(hemoglobin, Hb) $\geq 90$  g/L; 血小板(platelet, PLT) $\geq 80.0 \times 10^9/L$ ; 心肝肾功能无明显异常; (5)患者或家属签署知情同意书。本课题已经杭州市余杭区第二人民医院医学伦理委员会批准进行。离心机(湘仪离心机仪器有限公司提供); PCR仪(东胜创新生物科技有限公司提供); GeXP Genetic analysis system (Beckman公司提供); Nano Drop分光光度计 (Thermo公司提供)。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 所有入组患者均紫杉醇单药或者紫杉醇联合顺铂方案化疗。给药途径及剂量: 紫杉醇(扬子江药业有限公司提供, 批号14072211)130 mg/m<sup>2</sup>, 静脉滴注, d1、8、21 d为1周期, 顺铂(齐鲁制药有限公司, 批号1501002A)75 mg/m<sup>2</sup>, d1-3, 21 d为1周期。每2周期为1疗程, 每疗程结束后复查CT或核磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)用以评价疗效, 记录实体病灶变化情况, 并予每周复查血常规、肝肾功能等基本情况。

1.2.2 观察指标及方案: (1)*MDR1* G2677T基因型测定: 采用直接测序法PCR扩增*MDR1* 2677T基因目的片段, 方法如下: 所有入组患者于首次化疗前采集外周静脉血5 mL, 置于

EP管内, 抗凝后室温下放置0.5 h后, 采用DNA测序试剂盒(Beckman公司, 批号NA009-2)严格按照试剂盒说明书操作进行提取基因组DNA, 并测定其浓度。PCR扩增*MDR1* 2677T基因的目的片段, 扩增引物序列为: 正向引物: TGTGTCTGGACAAGCACTGA, 反向引物: GTCCAAGAACTGGCTTTGCT(引物由上海英俊生物技术有限公司合成)。反应体系包括rTaq、10 $\times$ rTaq Buffer(25  $\mu$ L)、dNTP(25 mmol/L)、6 $\times$ Loading Buffer(均由上海博彩生物科技有限公司提供)。反应条件: 首先95  $^{\circ}$ C变性2 min, 然后95  $^{\circ}$ C 30 s, 57  $^{\circ}$ C退火30 s, 72  $^{\circ}$ C 30 s, 40个循环, 72  $^{\circ}$ C延伸5 min。电泳观察PCR产物, 符合标准后送至上海英俊生物技术有限公司直接进行测序, 测序结果采用DNASTar软件校对分析*MDR1* 2677T基因型; (2)近期疗效评定: 所有入组患者均需完成上述治疗方案至少2个周期的化疗才可进行疗效评定。通过对比化疗前后的影像学、实验室指标(生化功能、肿瘤标志物指标等)对患者化疗疗效进行评定, 并记录肿瘤进展时间。标准按照2009欧洲癌症研究与治疗协会、加拿大国立癌症研究所及美国国立癌症研究所共同制定的实体瘤疗效评价标准1.1版(Response Evaluation Criteria in Solid Tumors 1.1, RECIST 1.1)<sup>[7]</sup>。对于可评价病灶采用16排螺旋CT用5 mm层面连续扫描, 对于浅表淋巴结采用彩色超声波测量。具体标准如下: 完全缓解(complete response, CR): 所有可见病灶均消失, 持续4 wk以上; 部分缓解(partial response, PR): 双径可测病灶取各病灶最大两垂直径乘积总和减少50%以上, 单径可测病灶则取各病灶最大径之和减少50%以上, 持续4 wk以上; 疾病稳定(stable disease, SD): 双径可测病灶取各病灶最大两垂直径乘积之总和增大 $<25\%$ 或减少 $<50\%$ , 单径可测病灶则取各病灶直径之总和增大 $<25\%$ 或减少 $<50\%$ , 持续4 wk以上。判定NC至少须经2

应用要点

通过测定*MDR1* G2677T基因多态性预测紫杉醇疗效, 从而避免不必要的化疗对患者机体的损伤, 节省有限的医疗资源, 使患者得到最优化的治疗。

表 2 肿瘤类型与基因型关系比较

肿瘤类型	n	基因型(n)		$\chi^2$ 值	P值
		野生型	突变型		
食管癌	30	10	20	-6.46	0.747
胰腺癌	14	6	8		
肝癌	16	8	8		
胃癌	18	4	14		
结肠癌	16	4	12		

周期(6 wk)治疗; 疾病进展(progressive disease, PD): 至少有一个病灶, 双径乘积或(在单径可测病灶)单径增大25%以上, 或出现新病灶. 判定PD必须经6 wk以上的治疗. 至少每两周期评定疗效1次, 病情进展则评价疗效, 若疗效为PD患者则需终止实验, 改为其他治疗方案支持治疗, 疗效为PR的患者继续应用原方案化疗直至SD, 巩固化疗2周期后随访并评定疗效, 疗效为SD的患者巩固化疗2周期后随访并评定疗效, CR患者巩固化疗2周期后随访并评定疗效, 所有未继续化疗患者每月评估病灶1次. 疾病缓解率 = (CR例数+PR例数)/总例数.

**统计学处理** 采用SPSS11.5软件进行统计, 基因多态性与疗效之间的相关性采用 $\chi^2$ 检验及Fisher确切概率法进行, 采用多元Logistic回归分析法分析不同基因型及其他可能影响疗效的因素之间的关系.  $P<0.05$ 表示差异有统计学意义.

2 结果

**2.1 *MDR1* G2677T基因序列及基因遗传平衡检测结果** 最终有94例患者完成了本研究(其中1例胃癌患者转院退出研究, 2例肺癌患者未完成治疗疗程退出研究). 94例样本共6个基因位点的序列测定结果如图1. 根据基因有无突变, 将基因型分为野生型(G/G)和突变型(A/A、T/T、G/T、G/A、A/T)两类. 经Hardy-Weinberg定律进行遗传平衡检测, 6个位点的基因型分布情况均来自同一孟德尔群体, 达到基因平衡: A/A: 6例, G/G: 32例, T/T: 14例, G/T: 10例, G/A: 12例, A/T: 20例( $\chi^2 = 0.084, P = 0.796$ ). 两类基因型与肿瘤发生部位无明显相关性( $P = 0.747$ )(表2).

**2.2 疗效评定** 97例入组患者中除退出研究的3例患者外, 可进行疗效评价的有94例. 其中CR 2例, PR 24例, SD 54例, PD 14例, 总缓解率为

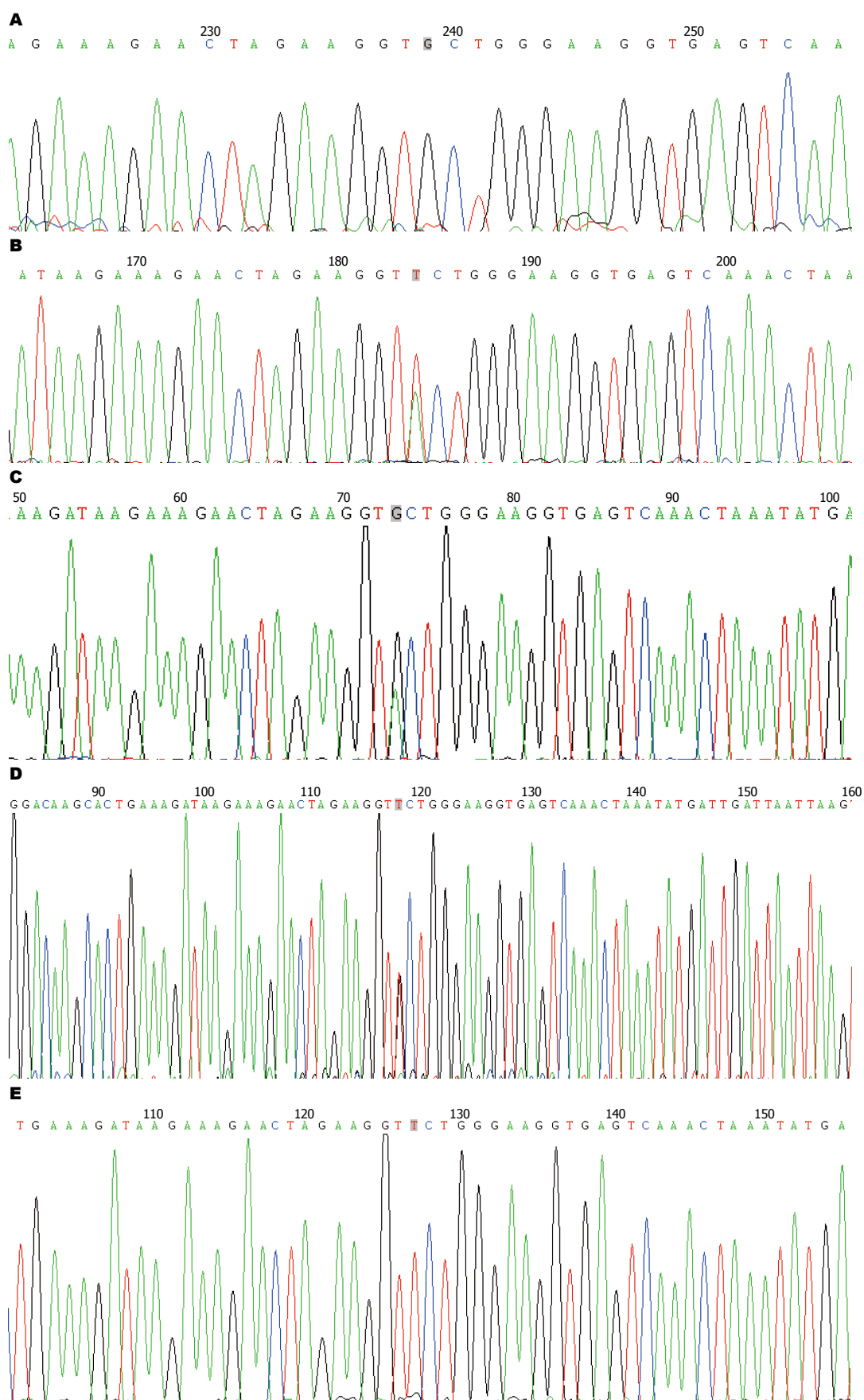
27.66%. 其中肝患者2例CR, 6例PR, 胰腺癌患者2例PR, 胃癌患者6例PR, 结肠癌患者4例PR, 食管癌患者6例PR.

**2.3 疗效与*MDR1* G2677T基因多态性及影响因素的关系** 分析疗效与*MDR1* G2677T基因多态性及其他可能影响疗效因素(年龄、性别、PS评分)之间的关系, 结果显示, 患者年龄、性别及PS评分对疗效的影响无明显显著性差异(均 $P>0.05$ ), 仅*MDR1* G2677T基因多态性与疗效相关( $P<0.05$ )(表3). 进一步分析基因型与疗效关系, 结果显示, *MDR1* G2677T野生型G/G对疗效的影响有统计学意义( $P<0.01$ )(表4).

3 讨论

在当前晚期难治性恶性肿瘤的治疗中, 20%-40%患者可能接受了错误的药物治疗<sup>[8]</sup>, 这也是成为难治性恶性肿瘤的主要原因. 为了达到更佳的治疗效果, 减少对化疗药物不敏感的患者所承受的不良反应, 在化疗前根据可靠的指标预测化疗药物的疗效已变得尤为重要. 已被证实, *MDR1*及其编码产物P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)的异常表达与肿瘤发生多药耐药有明显相关性<sup>[2,9]</sup>. P-gp的主要生理功能为调节细胞膜通透性, 影响药物在细胞内的浓聚, 增强药物及X线的外排能力<sup>[2,10]</sup>, 保护细胞免受药物或毒物的损害, 是耐药的经典途径, 因此*MDR1*/P-gp是肿瘤化疗失败的关键因素. *MDR1*基因具有高度多态性, 已发现其有50多个SNP, 其中21外显子G2677T与*MDR1*及P-gp的功能和表达密切相关<sup>[3,11]</sup>. *MDR1* exon 21 2677位置G转变为T可导致氨基酸发生变化, 即丙氨酸转变为丝氨酸, 使得P-gP的表达和功能发生改变. 国内于庆忠等<sup>[1]</sup>学者研究发现*MDR1* G2677T各类基因类型中, 带有T基因的患者对化疗药物的疗效明显低于其他基因类型的患者. 国外Kim等<sup>[12]</sup>研究发现携带有*MDR1*





同行评价  
本文研究有一定的学术价值及实用价值。

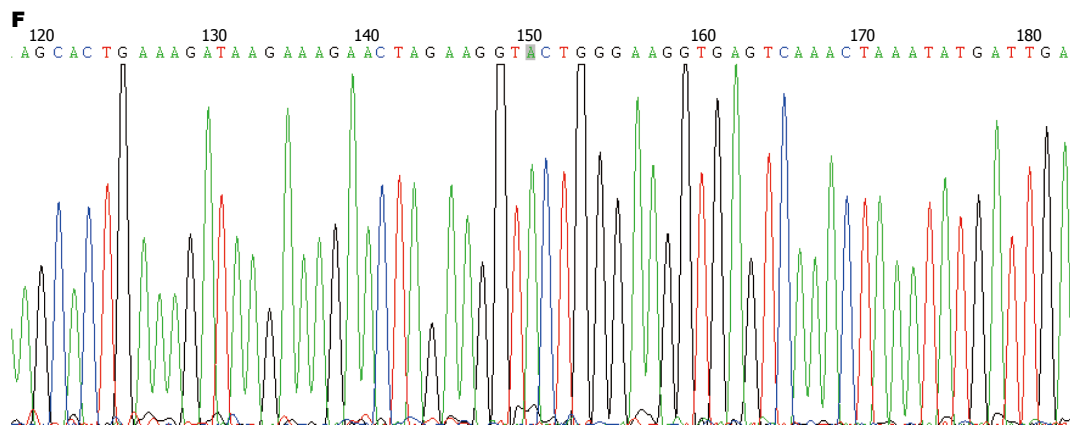


图 1 基因位点的序列测定结果. A: *MDR1*(G2677T)基因野生型(G/G)代表性测序图; B: *MDR1*(G2677T)基因突变型(A/T)代表性测序图; C: *MDR1*(G2677T)基因突变型(G/A)代表性测序图; D: *MDR1*(G2677T)基因突变型(G/T)代表性测序图; E: *MDR1*(G2677T)基因突变型(T/T)代表性测序图; F: *MDR1*(G2677T)基因突变型(A/A)代表性测序图.

表 3 疗效与可能影响疗效的因素的关系

分组	疗效				$\chi^2$ 值	P值
	CR	PR	SD	PD		
性别					0.495	0.712
男	0	16	22	6		
女	2	8	30	10		
年龄(岁)					0.102	0.822
≤60	2	10	20	8		
>60	0	14	32	8		
PS评分(分)					0.090	0.826
0	0	6	10	2		
1	2	12	30	8		
2	0	6	12	6		
基因型					6.346	0.023
野生型	2	8	16	6		
突变型	0	16	36	10		

CR: 完全缓解; PR: 部分缓解; SD: 疾病稳定; PD: 疾病进展.

表 4 基因多态性与疗效关系

疗效	基因型(n)		$\chi^2$ 值	P值
	野生型	突变型		
CR+PR	24	8	18.12	0.0043
SD+PD	8	54		

CR: 完全缓解; PR: 部分缓解; SD: 疾病稳定; PD: 疾病进展.

G2677T基因的患者地高辛浓度是*MDR1*/2677G基因患者的1/2. 临床上已有报道<sup>[13,14]</sup>指出,*MDR1* G2677T基因多态性可用作于鼻咽癌放疗疗效及急性淋巴细胞白血病预测指标, 由此可见, 了解患者或不同人群的*MDR1* G2677T

基因型特点, 对于预测化疗药物的疗效, 制定个体化治疗方案具有重要意义.

紫杉醇为广谱抗肿瘤药, 已被广泛应用于多种恶性肿瘤的临床治疗. 越来越多的研究<sup>[6,15]</sup>显示, 紫杉醇对晚期胃肠道肿瘤、乳腺恶性肿瘤、前列腺癌、胰腺癌等肿瘤均有较好疗效, 可控制部分晚期难治性恶性肿瘤患者病情. 本研究中入组的97例患者既往均接受过反复多次化疗, 病情进展, 为消化系难治性恶性肿瘤. 在接受了以紫杉醇为主的化疗后, 可进行疗效评价的有94例, 其中CR2例, PR 24例, SD 54例, 疾病缓解率为27.66%, 这与国内梅静峰等<sup>[5]</sup>学者报道接近. 采用多元Logistic回归分析影响

疗效的相关因素(包括年龄、性别、PS评分及*MDR1* G2677T基因型), 发现*MDR1* G2677T基因多态性与疗效相关。进一步研究*MDR1* G2677T基因型, 发现共有两类基因型(野生型G/G, 突变型A/T、T/T、G/T、G/A、A/A), 其中*MDR1* G2677T野生型G/G对疗效的影响有统计学意义, 提示野生型G/G基因携带者化疗疗效优于其他基因型携带者, 结果与国内王志远等<sup>[14]</sup>报道类似。由此我们推测,*MDR1* G2677T基因多态性可作为遗传学标志预测紫杉醇对晚期消化系难治性恶性肿瘤患者的化疗敏感性, 可为其化疗药物的个体化选择提供一定的参考。本研究的不足之处在于没有检测P-gp的蛋白含量, 无法直接验证*MDR1* G2677T基因多态性对P-gp蛋白的影响, 且由于研究经费限制, 研究的样本量偏少, 仍需进一步增加样本量深入研究。

#### 4 参考文献

- 1 于庆忠, 韩金祥, 潘继红. 晚期非小细胞肺癌患者XPG基因及MDR1基因单核苷酸多态性与铂类化疗疗效的相关性. 实用癌症杂志 2007; 22: 252-256
- 2 Marzolini C, Paus E, Buclin T, Kim RB. Polymorphisms in human MDR1 (P-glycoprotein): recent advances and clinical relevance. *Clin Pharmacol Ther* 2004; 75: 13-33 [PMID: 14749689 DOI: 10.1016/j.clpt.2003.09.012]
- 3 陈徐艰, 沈亦钰, 周鸿鲲, 倪全法, 费建国, 钟征翔. 多药耐药基因1单核苷酸多态性在肝癌肝动脉栓塞化疗中的预后价值. 中华实验外科杂志 2011; 28: 2227-2229
- 4 Chang H, Rha SY, Jeung HC, Im CK, Ahn JB, Kwon WS, Yoo NC, Roh JK, Chung HC. Association of the ABCB1 gene polymorphisms 2677G > T/A and 3435C > T with clinical outcomes of paclitaxel monotherapy in metastatic breast cancer patients. *Ann Oncol* 2009; 20: 272-277 [PMID: 18836089 DOI: 10.1093/annonc/mdn624]
- 5 梅静峰, 周云, 陈嘉, 孙晓峰, 陈凌翔, 沈波. 白蛋白结合型紫杉醇治疗晚期难治性恶性肿瘤的疗效与安全性观察. 中国肿瘤外科杂志 2012; 4: 355-357
- 6 Kolevska T, Ryan CJ, Huey V, Weisberg L, Wang S, Baer D, Ghadially A, Goldstein D, Fireman B, Fehrenbacher L. Phase II trial of nabpaclitaxel as first line therapy of hormone refractory metastatic prostate cancer(HRPC). *J Clin Oncol* 2009; 27: 5152
- 7 Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, Dancey J, Arbuck S, Gwyther S, Mooney M, Rubinstein L, Shankar L, Dodd L, Kaplan R, Lacombe D, Verweij J. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer* 2009; 45: 228-247 [PMID: 19097774 DOI: 10.1016/j.ejca.2008.10.026]
- 8 Ross JS, Schenkein DP, Kashala O, Linette GP, Stec J, Symmans WF, Pustai L, Hortobagyi GN. Pharmacogenomics. *Adv Anat Pathol* 2004; 11: 211-220 [PMID: 15220824]
- 9 Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, Arnold HP, Brockmöller J, John A, Cascorbi I, Gerloff T, Roots I, Eichelbaum M, Brinkmann U. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 3473-3478 [PMID: 10716719 DOI: 10.1073/pnas.050585397]
- 10 陈俊, 张积仁, 肖明星. P糖蛋白抑制x射线诱导凋亡及对线粒体膜电位的影响. 中华放射医学与防护杂志 2004; 24: 297-299
- 11 Ambudkar SV, Kimchi-Sarfaty C, Sauna ZE, Gottesman MM. P-glycoprotein: from genomics to mechanism. *Oncogene* 2003; 22: 7468-7485 [PMID: 14576852 DOI: 10.1038/sj.onc.1206948]
- 12 Kim RB, Leake BF, Choo EF, Dresser GK, Kubba SV, Schwarz UI, Taylor A, Xie HG, McKinsey J, Zhou S, Lan LB, Schuetz JD, Schuetz EG, Wilkinson GR. Identification of functionally variant MDR1 alleles among European Americans and African Americans. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 70: 189-199 [PMID: 11503014]
- 13 吕慧, 杜智卓, 王薇. 多药耐药基因多态性与儿童急性淋巴细胞性白血病相关性的研究. 中华儿科杂志 2012; 50: 692-696
- 14 王志远, 陈龙华, 范钦, 孙学刚, 袁亚维. MDR1基因G2677T/C3435T多态性对鼻咽癌放疗疗效的影响. 山东医药 2007; 47: 6-8
- 15 Teneriello MG, Tseng PC, Crozier M, Encarnacion C, Hancock K, Messing MJ, Boehm KA, Williams A, Asmar L. Phase II evaluation of nanoparticle albumin-bound paclitaxel in platinum-sensitive patients with recurrent ovarian, peritoneal, or fallopian tube cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27: 1426-1431 [PMID: 19224848 DOI: 10.1200/JCO.2008.18.9548]

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利





## 原发性胆汁性肝硬化合并肺间质病变1例

龙 历, 吴亚云

### ■背景资料

原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)除了特异的肝损伤表现外, 还经常合并其他肝外表现, 而合并肺间质病变虽鲜有报道, 但肺间质病变却是最常见并且影响患者预后的重要因素之一, 因临床症状缺乏特异性, 易被误诊为普通肺炎。

龙历, 吴亚云, 贵州医科大学感染病学教研室 贵州省贵阳市 550004

龙历, 主要从事肝脏疾病的研究。

作者贡献分布: 此课题总思路、写作指导由吴亚云提供; 论文资料查找、写作由龙历完成。

通讯作者: 吴亚云, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 550004, 贵州省贵阳市贵医街28号, 贵州医科大学感染病学教研室。  
gzwu56861@163.com  
电话: 0851-86773914  
传真: 0851-8675056

收稿日期: 2016-03-07  
修回日期: 2016-03-21  
接受日期: 2016-03-28  
在线出版日期: 2016-04-28

### One case of primary biliary cirrhosis with pulmonary interstitial lesions

Li Long, Ya-Yun Wu

Li Long, Ya-Yun Wu, Department of Infectious Diseases, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou Province, China

Correspondence to: Ya-Yun Wu, Professor, Chief Physician, Department of Infectious Diseases, Guizhou Medical University, 28 Guiyi Street, Guiyang 550004, Guizhou Province, China. gzwu56861@163.com

Received: 2016-03-07  
Revised: 2016-03-21  
Accepted: 2016-03-28  
Published online: 2016-04-28

### Abstract

To improve the understanding of primary biliary cirrhosis complicated with interstitial lung disease, we retrospectively analyzed the

clinical information of one patient who had primary biliary cirrhosis complicated with interstitial lung disease, and reviewed the related literature. Primary biliary cirrhosis could affect the lung in the disease progression and result in pulmonary interstitial disease, especially in PBC with inflammatory activity. It is similar to common pneumonia in clinical manifestations and imaging appearances, and antibiotic treatment is ineffective. Primary biliary cirrhosis with clinical manifestations of interstitial lung disease lacks specificity and is easily misdiagnosed as community-acquired pneumonia, but timely immunosuppressant therapy is effective.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Primary biliary cirrhosis; Interstitial lung disease; Pulmonary infections

Long L, Wu YY. One case of primary biliary cirrhosis with pulmonary interstitial lesions. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(12): 1938-1942 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1938.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i12.1938>

### 摘要

原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)在疾病的进展过程中, 可累及肺部, 特别是炎症活动的PBC患者更易出现肺间质病变, 其临床表现及影像学改变与普通肺炎相似, 抗生素治疗无效。回顾性分析贵州医科大学附属医院1例PBC合并肺间质病变患者的临床资料, 并复习相关文献。研究表明, PBC合并肺间质病变的临床表现缺

### ■同行评议者

卢秉久, 教授, 博士生导师, 辽宁中医药大学附属医院感染科

乏特异性, 易误诊为社区获得性肺炎, 及时免疫抑制剂治疗有效。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 原发性胆汁性肝硬化; 肺间质病变; 肺部感染

**核心提示:** 肝硬化患者继发感染时肺部感染常见, 故当原发性胆汁性肝硬化合并肺间质病变时在临床中不易被及时诊断, 往往当作普通肺炎而使用抗生素治疗, 延误患者病情, 因此在日常诊疗工作中应仔细鉴别、拓宽思路。

龙历, 吴亚云. 原发性胆汁性肝硬化合并肺间质病变1例. 世界华人消化杂志 2016; 24(12): 1938–1942 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/1938.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i12.1938>

## 0 引言

自身免疫性肝病(autoimmune liver diseases, ALD)是一组病因不明、免疫介导的肝脏损伤, 包括自身免疫性肝炎(auto-immune hepatitis, AIH)、原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)和原发性硬化性胆管炎(primary sclerosing cholangitis, PSC). 临床上部分患者同时或在病程的不同阶段具有其中两种疾病的临床、生化、免疫及组织学特征时称为重叠综合征, 其中以AIH-PBC重叠综合征最为常见<sup>[1]</sup>. 除了特异的肝损伤表现外, 自身免疫性肝病的另一重要特点是经常合并其他自身免疫病, 常见的有干燥综合征(Sjogren's syndrome, SS)、系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)、系统性硬化症(systemic sclerosis, SSc)、类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)、皮肌炎(dermatomyositis)和/或多发性肌炎(polymyositis, PM)、溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)、克罗恩病(Crohn's disease, CD)等. 迄今为止, 国内有关PBC合并肺间质病变(interstitial lung disease, ILD)虽鲜有报道, 但肺间质病变却是最常见并且影响患者预后的重要因素之一<sup>[2]</sup>, 本文报道1例PBC合并肺间质病变患者的误诊经过, 旨在提高临床医生的治疗水平。

## 1 病例报告

女, 49岁, 因“肝功能异常3年, 目黄2年, 气促

5 mo, 加重3 d”于2015-09-25入院. 3年前, 患者行健康体检发现 $\gamma$ -谷氨酰转氨酶( $\gamma$ -glutamyl transpeptidase, GGT)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)增高, 因无自觉症状, 未重视及治疗. 2年前, 出现巩膜黄染, 伴轻微乏力和食欲减退, 行自身抗体、上腹部CT、肝穿刺活检等检查, 诊断为“PBC”, 同期胸部CT无异常, 未遵医嘱规律服用“熊去氧胆酸”和未定期复查. 5 mo前, 患者上述症状加重, 并出现活动性气促, 无咳嗽、咳痰、发热等, 胸部CT(图1A)示“双肺感染”, 先后予头孢哌酮舒巴坦、莫西沙星等抗炎治疗21 d, 症状无好转, 因经济原因自请出院. 此后仍未复查胸部CT及肝功能. 3 d前, 上述症状再次加重, 并出现咳嗽, 以干咳为主, 常感胸闷憋气、活动耐量下降再次就诊贵州医科大学附属医院, 查肝功能较前明显异常, 以“PBC”收住院. 否认乙型肝炎、结核病史, 否认吸烟史, 无长期大量饮酒、服药、粉尘、坑道作业史. 入院查体: 体温: 36.4 °C, 脉搏: 76次/min, 呼吸: 17次/min, 血压: 98/60 mmHg. 慢性肝病面容, 全身皮肤、黏膜、巩膜轻度黄染, 胸廓对称无畸形, 双下肺底可闻及明显的细湿啰音, 以吸气末明显. 腹平软, 肝未扪及, 脾脏左肋缘下3横指可扪及, 移浊可疑阳性. 入院后予完善辅助检查: 血常规: 白细胞: 2.97 g/L ↓, 中性: 67.5%, 血红蛋白: 118 g/L ↓, 血小板: 68 g/L ↓. 肝功能: 谷丙转氨酶: 67.99 U/L ↑, 谷草转氨酶: 54.64 U/L ↑, 总胆红素: 93.17  $\mu$ mol/L ↑, 直接胆红素: 73.68  $\mu$ mol/L ↑, 间接胆红素: 19.49  $\mu$ mol/L ↑, 血清白蛋白: 29.98 g/L ↓, A/G: 0.775 ↓, GGT: 425.32 U/L ↑, ALP: 714.14 U/L ↑, 总胆汁酸: 226.79  $\mu$ mol/L ↑, 胆碱酯酶: 3865.65 U/L ↓. 超敏C-反应蛋白: 11.37 mg/L ↑. 抗线粒体抗体: AMA: 阳性, 抗线粒体M2抗体(AMA-M2): 阳性, 着丝点型抗核抗体: 阳性. 免疫球蛋白、单项补体: IgG: 21.90 g/L ↑, IgA: 3.620 g/L ↑, IgM: 4.01 g/L ↑, C3: 0.62 g/L ↓. 腹部MRI: 肝左叶囊肿, 脾大; 少量腹水, 双侧胸腔少量积液; 左肾周围炎改变. 胸部CT(图1B)示“双肺感染”. 入院诊断: (1)PBC失代偿期; (2)双肺炎. 患者入院后予头孢哌酮联合莫西沙星抗感染, 熊去氧胆酸、常规保肝、退黄、利尿及营养对症支持等治疗13 d. 于2015-10-05复查胸部CT(图1C)仍提示肺部感染, 病灶较前无明显

## ■ 研究前沿

PBC并肺间质病变的早期诊断、治疗, 以及足够数量病例数的疗效、预后观察有待进一步研究。

## ■ 相关报道

沈敏等详细地介绍了各种自身免疫性肝病、结缔组织病易合并的疾病, 以及合并肺间质病变的诊断标准、治疗等, 为进一步认识这些疾病及拓展临床思维提供了很好的平台。

### 创新盘点

本文通过对临床工作中的实际病例诊疗过程的反思, 结合文献资料分析, 旨在提醒临床医生在工作中不能想当然, 遇到按常规方法处理效果不理想时, 应及时分析疾病的特点, 尽早调整临床诊疗思路。

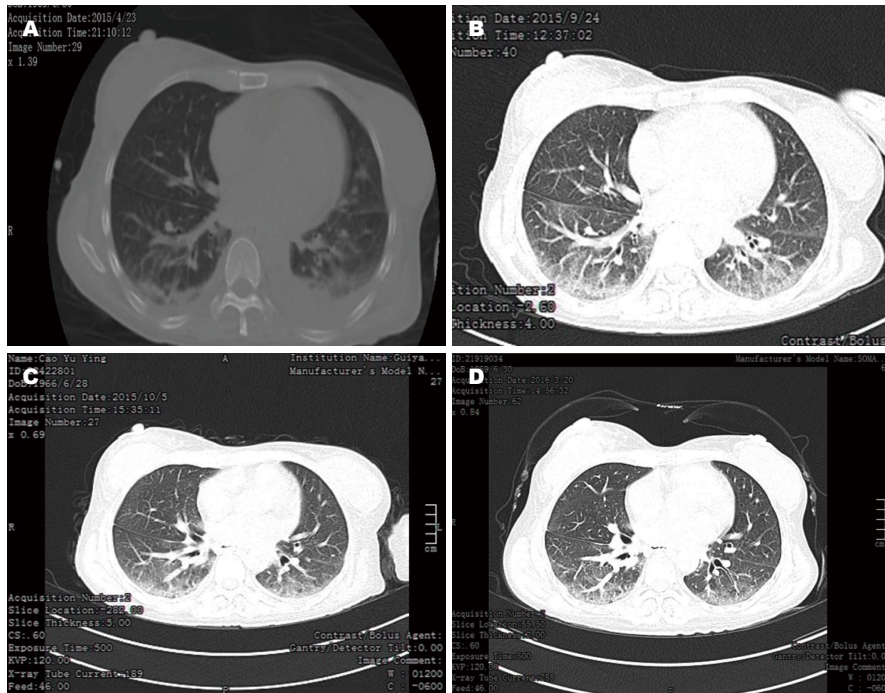


图1 病例胸部CT图。A: 2015-04-23, 双肺见多发斑片状、大片状密度增高影, 边缘模糊, 以双下肺显著, 肺内血管纹理走行尚可; 双侧胸腔积液, 左侧显著; B: 2015-09-24, 双肺见多发斑片状、大片状密度增高影, 边缘模糊, 余双肺血管纹理走行紊乱; 双侧少量胸腔积液; C: 2015-10-05, 双肺仍多发条索状、结节状密度增高影, 边界不清, 伴少许斑片状密度增高影, 病灶较前无明显吸收; D: 2016-03-20, 双肺仍可见斑片状、大片状密度增高影, 边缘模糊, 以双下肺显著, 较前减少。双肺间质性病变较前稍好转。

吸收。行肺功能检查示肺弥散功能减退、中度限制性通气障碍。回顾患者有PBC病史2年, 出现活动性气促症状5 mo余, 查体可闻及双肺底细湿罗音(为Velcro啰音), 以及多次胸部CT提示的毛玻璃样改变和肺功能检查结果, 符合肺间质性病变诊断标准<sup>[3]</sup>, 故考虑双肺病变为PBC合并肺间质性病变而停用抗生素。患者及其家属因顾虑糖皮质激素不良反应, 拒绝使用糖皮质激素治疗, 只接受熊去氧胆酸联合硫唑嘌呤治疗。治疗3 mo后患者感活动性气促稍好转, 咳嗽、胸闷症状稍缓解, 肝功能较前明显好转, 谷丙转氨酶: 56.2 U/L ↑, 谷草转氨酶: 62.1 U/L ↑, 总胆红素: 44.70 μmol/L ↑, 直接胆红素: 35.12 μmol/L ↑, 间接胆红素: 9.58 μmol/L ↑, 血清白蛋白: 32.73 g/L ↓, GGT: 165.27 U/L ↑, ALP: 304.92 U/L ↑, 胆碱酯酶: 4062.77 U/L。出院6 mo后再次门诊复诊诉活动后气促明显好转, 咳嗽、胸闷症状消失; 复查肝功能示: 谷丙转氨酶: 43.1 U/L ↑, 谷草转氨酶: 58.3 U/L ↑, 总胆红素: 42.6 μmol/L ↑, 直接胆红素: 33.48 μmol/L ↑, 间接胆红素: 9.11 μmol/L ↑, 血清白蛋白: 36.02 g/L ↓, GGT: 173.31 U/L ↑, ALP: 327.96 U/L ↑, 胆碱酯酶: 3809.8 U/L。胸

部高分辨CT示: 双肺间质性病变较前稍好转(图1D)。患者从诊断PBC合并肺间质性病变后使用熊去氧胆酸联合硫唑嘌呤免疫抑制, 熊去氧胆酸可以保护受损胆管免受胆汁酸的毒性作用, 在进展期胆汁淤积中, 熊去氧胆酸可通过转录后调控机制刺激受损肝细胞的分泌、抑制胆汁酸诱导的肝细胞及胆管细胞凋亡等多方面来发挥有效作用, 其生物化学应答应在治疗1年后评估, 硫唑嘌呤则能抑制DNA合成, 从而抑制淋巴细胞增殖而产生免疫抑制作用<sup>[4,5]</sup>。因患者目前已发展致肝硬化失代偿期, 而熊去氧胆酸对晚期PBC患者作用甚微, 晚期患者仅能靠肝移植提高存活率<sup>[6]</sup>。因此院外规范服药后, 门诊复查肝功能结果仍有波动符合疾病特点, 但肺部影像学改变明显较前好转, 且咳嗽、胸闷、气促等症状减轻或消失, 说明治疗方案有效, 嘱继续规范使用, 并沟通告知使用糖皮质激素的必要性, 目前仍在随访中。

## 2 讨论

依据2013年我国胆汁淤积性肝病诊断治疗专家共识及自身免疫性肝病诊疗指南<sup>[7,8]</sup>。PBC诊断标准: (1)ALP>2×ULN或GGT>2×ULN; (2)

### 应用要点

肝硬化失代偿期患者较常并发肺部感染, 及时规范的使用抗生素对疾病的控制无疑至关重要; 若免疫性肝硬化患者伴有咳嗽、气短等呼吸道症状, 胸部影像学示“肺部感染”时, 需认真甄别是单纯的感染所致, 还是肺间质性病变, 及时明确诊断制定正确的治疗方案对患者病情预后具有重要意义。



抗线粒体抗体(AMA)≥1:100; (3)肝组织活检显示中度或中度以上胆管损伤. 长期熊去氧胆酸13-15 mg/(kg·d)治疗可减轻患者肝脏炎症及肝纤维化程度, 提高患者的生存率. 此患者虽符合PBC诊断标准, 但早期未接受规范的熊去氧胆酸治疗, 故导致2年时间内疾病快速进展, 并出现了肝外器官的损害症状. ILD是以肺泡单位炎症和间质纤维化为基本病变的弥漫性肺疾病, 可累及肺泡上皮细胞和毛细血管内皮细胞间的基底膜, 若肺泡炎症扩展最终使肺泡结构破坏、肺容积缩小、肺泡-毛细血管膜单位功能丧失, 导致低氧血症和呼吸衰竭. 细胞因子介导的细胞和细胞间的相互作用被认为在ILD发病中起着重要的作用<sup>[9]</sup>. 文献报道<sup>[10-12]</sup>多种自身免疫性疾病或结缔组织病可引起肺间质病变, 然而, 由PBC引起的肺间质病变国内鲜有报道. 沈敏等<sup>[13]</sup>对中国人PBC合并肺间质病变进行研究, 发现国人PBC合并肺间质病变发生率为16%, 其发生率低于系统性硬化症、皮肌炎(或肌炎)和类风湿关节炎, 炎症活动的PBC患者可能更易出现肺间质病变. PBC合并肺间质病变临床表现与其他肺间质病变相似, 主要表现为静息或活动后气短、咳嗽伴或不伴咯痰, 查体可见肺底爆裂音、肺动脉瓣区第二心音亢进、杵状指等. PBC合并肺间质病变的病理表现多样, 包括间质纤维化伴血管炎、淋巴性间质性肺炎、非特异性间质性肺炎、结节肉芽肿改变等. 近一半(46%)PBC合并肺间质病变患者可以没有任何呼吸道症状或体征, 仅在行影像学及肺功能检查时才发现. 免疫性疾病合并肺间质病变病理可见肺组织中淋巴细胞浸润和免疫复合物沉积所介导的肺损伤, 提示免疫机制在PBC合并肺间质病变的发生中起重要作用. 因此, 糖皮质激素通常为其治疗的首选药物, 他不仅能抑制中性粒细胞和淋巴细胞向肺内的迁移, 还能降低免疫复合物水平或改变肺泡巨噬细胞功能, 从而抑制炎症反应, 阻止纤维化的进展. 目前普遍认为单独口服糖皮质激素对肺炎的长期缓解效果不佳, 环磷酰胺可以弥补这一缺憾<sup>[8]</sup>. 故其传统的治疗是包括糖皮质激素和免疫抑制剂, 即糖皮质激素联合环磷酰胺. 确诊后尽早糖皮质激素联合免疫抑制剂治疗, 可使约56%患者胸部病变吸收好转<sup>[9]</sup>.

本例患者的临床特点: (1)起病隐匿, 随着

PBC病情的进展, 即从代偿期肝硬化至失代偿期的过程中, 逐渐累及肺部, 出现肺间质病变的临床症状如活动后气促; (2)影像学检查示双肺从多发斑片状、大片状密度增高影、边缘模糊的毛玻璃样改变演变为多发条索状、结节状密度增高影, 肺纹理走行紊乱; (3)肺功能检查示肺弥散功能减退、中度限制性通气障碍; (4)抗生素治疗无效, 免疫抑制剂治疗有效. 肝硬化患者, 特别是代偿期患者, 因免疫力低下易合并各种感染. 常见感染部位包括肺部、胸腹腔、胆道、尿道、软组织及皮肤等, 部分患者可出现无明显感染部位的自发性菌血症, 一旦合并感染, 肝损伤可进行性加重, 易诱发上消化道出血、肝性脑病、肝肾综合征等严重并发症, 病死率明显增高, 故早期识别、采取有效抗生素治疗是挽救患者生命的关键<sup>[14]</sup>. 据文献报道<sup>[15,16]</sup>, 肝硬化患者由于机体免疫防御功能减低、门静脉高压及低蛋白血症等可致肺循环结构和功能异常, 易发生各种病原所致的肺部感染, 居肝硬化并发感染的第二位, 约为15%-20%. 由于肺部间质性改变的影像学表现有时难以与炎性渗出区别, 故当PBC患者影像学检查提示肺部炎症性改变时, 常常易误诊为普通肺炎, 而先予经验性使用抗生素治疗, 直至正规、足疗程抗生素治疗无效时, 才想到肺间质病变为PBC的肝外表现之一. 普通的肺部感染和肺间质病变无论病因、病理、疾病的发生发展过程及预后, 都是两种截然不同的疾病. 通过本例患者的误诊, 提醒我们在以后的临床工作中, 当遇到PBC患者如伴有咳嗽、咳痰、活动性气促或胸闷等呼吸道症状, 在肺部影像学检查示炎症性改变时, 需高度警惕是否为PBC合并的肺间质病变, 行高分辨率胸部CT、肺功能检查、支气管肺泡灌洗液或CT引导下经皮肺穿刺活检病理等检查明确诊断<sup>[17]</sup>, 以便尽早制定恰当的治疗方案, 避免滥用抗生素及延误疾病的治疗.

### ■名词解释

肺间质病变: 是以肺泡单位炎症和间质纤维化为基本病变的弥漫性肺疾病, 可累及肺泡上皮细胞和毛细血管内皮细胞间的基底膜, 若肺泡炎症扩展最终使肺泡结构破坏、肺容积缩小、肺泡-毛细血管膜单位功能丧失, 导致低氧血症和呼吸衰竭.

### 3 参考文献

- 1 郑盛, 杨晋辉, 尤丽英, 唐映梅. 自身免疫性肝炎—原发性胆汁性肝硬化重叠综合征的临床特征及诊疗分析. 中国全科医学 2012; 15: 3710-3713
- 2 高莉, 章丽娜, 何彩琴, 赵晓蕾, 刘玉兰. 232例自身免疫性肝病合并其他自身免疫病情况及预后分析. 中华消化杂志 2015; 35: 90-94
- 3 张佳林, 叶宝国, 陈宏浦. 结缔组织病肺间质病变临床分析. 中国医药 2013; 8: 28-30
- 4 韩英, 朱疆依. 原发性胆汁性肝硬化的治疗. 实用肝

# 同行评价

本文总体构思较好, 层次较清晰, 论述及引文准确.

- 5 脏病杂志 2013; 16: 102-104
- 6 谢雯, 成军. 《胆汁淤积性肝病诊断治疗专家共识2013》解读. 中华肝脏病杂志 2014; 22: 20-23
- 7 王晓梅, 秦浩歌. 71例原发性胆汁性肝硬化的诊疗体会. 中国医药指南 2013; 11: 327-328
- 8 胆汁淤积性肝病诊断治疗专家委员会. 胆汁淤积性肝病诊断治疗专家共识2013. 中华肝脏病杂志(电子版) 2013; 5: 53-62
- 9 中华医学会风湿病学分会. 自身免疫性肝病诊断和治疗指南. 中华风湿病学杂志 2011; 15: 556-558
- 10 王丽娟, 杨旭燕, 汪慧英. 结缔组织病肺间质病变的诊治进展. 细胞与分子免疫学杂志 2011; 27: 115-117
- 11 侯岩峰. 皮炎炎并发肺间质病变. 中国实用内科杂志 2015; 25: 558-560
- 12 李牧原, 左晓霞. 类风湿关节炎肺间质病变诊治进展. 临床内科杂志 2012; 29: 661-664
- 13 王吉波, 朱孟铸. 原发性干燥综合征相关肺间质病变. 山东医药 2007; 47: 149
- 14 沈敏, 张烜, 张奉春. 原发性胆汁性肝硬化患者肺间质病变的临床分析. 中华全科医师杂志 2008; 7: 157-160
- 15 南月敏, 牛学敏. 肝硬化合并感染的早期识别与经验性治疗. 临床肝胆病杂志 2015; 29: 349-253
- 16 European Association for the Study of the Liver. EASL clinical practice guidelines on the management of ascites, spontaneous bacterial peritonitis, and hepatorenal syndrome in cirrhosis. *J Hepatol* 2010; 53: 397-417 [PMID: 20633946 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.05.004]
- 17 Tandon P, Garcia-Tsao G. Bacterial infections, sepsis, and multiorgan failure in cirrhosis. *Semin Liver Dis* 2008; 28: 26-42 [PMID: 18293275 DOI: 10.1055/s-2008-1040319]
- 18 林莉, 张光峰, 张晓. 结缔组织病肺间质病变的临床、影像和病理诊断. 中华临床免疫和变态反应杂志 2009; 3: 272-277

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利



## 1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取(open access, OA)期刊, 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由1040位专家组成, 分布在中国31个省市、自治区及特别行政区和美国。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病学, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病学实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group Inc, BPG)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OA最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版43种临床医学OA期刊, 其中英文版42种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物。本刊被中国知网《中国期刊全文数据库》, 美国《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》数据库收录。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

## 2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV RNA, AFP, CEA,

■ 《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议。



■《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被中国知网《中国期刊全文数据库》, 美国《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》数据库收录.

ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标. 静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P<sup>H</sup>, *H. pylori*不能写成HP,  $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T,  $V_{max}$ 不能Vmax,  $\mu$ 不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数K; 一些统计学符号(如样本数n, 均数mean, 标准差SD, F检验, t检验和概率P, 相关系数r); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如N, O, P, S, d, l)如n-(normal, 正), N-(nitrogen, 氮), o-(ortho, 邻), O-(oxygen, 氧, 习惯不译), d-(dextro, 右旋), p-(para, 对), 例如n-butyl acetate(醋酸正丁酯), N-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), o-cresol(邻甲酚), 3-O-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), d-amphetamine(右旋苯丙胺), l-dopa(左旋多巴), p-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写in vitro, in vivo, in situ; Ibid, et al, po, vs; 用外文字母代表的物理量, 如m(质量), V(体积), F(力), p(压力), W(功), v(速度), Q(热量), E(电场强度), S(面积), t(时间), z(酶活性, kat), t(摄氏温度, °C), D(吸收剂量, Gy), A(放射性活度, Bq),  $\rho$ (密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L),  $\phi$ (体积分数, mL/L), w(质量分数, mg/g), b(质量摩尔浓度, mol/g), l(长度), b(宽度), h(高度), d(厚度), R(半径), D(直径),  $T_{max}$ ,  $C_{max}$ ,  $V_d$ ,  $T_{1/2}$  CT等. 基因符号通常用小写斜体, 如ras, c-myc; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家

标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如30 kD改为 $M_r$  30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即 $A_r$ (A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、-及-后列出. 在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d. 3.56 ± 0.27 pg/ml应为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用 $1 \times 10^{12}/L$ , WBC数用 $1 \times 10^9/L$ , WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L.  $M_r$ 明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO<sub>2</sub>结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿酸、胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把 $1 \times 10^{-3}$  g与 $5 \times 10^{-7}$  g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO<sub>2</sub>, 50 mL/L CO<sub>2</sub>; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm =  $45 \times 10^{-6}$ ; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

2.5 统计学符号 (1) $t$ 检验用小写 $t$ ; (2) $F$ 检验用英文大写 $F$ ; (3)卡方检验用希文小写 $\chi^2$ ; (4)样本的相关系数用英文小写 $r$ ; (5)自由度用希文小写 $\nu$ ; (6)样本数用英文小写 $n$ ; (7)概率用英文斜体大写 $P$ . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 $\pm$ 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$ , 平均数 $\pm$ 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$ . 统计学显著性用 $^aP < 0.05$ ,  $^bP < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP < 0.05$ ,  $^dP < 0.01$ ; 第三套为 $^eP < 0.05$ ,  $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1000-1500 kg, 3.5 mmol/L  $\pm$  0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如 $3614.5 \text{ g} \pm 420.8 \text{ g}$ , SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成 $3.6 \text{ kg} \pm 0.4 \text{ kg}$ , 过多的位数并无意义. 又如 $8.4 \text{ cm} \pm 0.27 \text{ cm}$ , 其 $\text{SD}/3 = 0.09 \text{ cm}$ , 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该 $23.48 \rightarrow 23.5 \rightarrow 24$ . 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 $\leq 100$ , 百分数到个位;  $101 \leq \text{分母} \leq 1000$ , 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1486800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律

用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

### 3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上

■ 《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wcjd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

■ 《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行,每月8、18、28日出版。

上海交通大学医学院附属医院仁济医院,上海市消化疾病研究所。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

### 3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “马连生”的汉语拼写法为“Lian-Sheng Ma”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China  
基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度, 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征, 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 $P$ ,

后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用:  $^aP<0.05$ ,  $^bP<0.01$ ( $P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP<0.05$ ,  $^dP<0.01$ ; 第3套为 $^eP<0.05$ ,  $^fP<0.01$ 。 $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加



方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上角注角码号. 如马连生<sup>[1]</sup>报告……, 研究<sup>[2-5]</sup>认为……; PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

## 4 写作格式实例

### 4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

### 4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

### 4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

### 4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

### 4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

### 4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcgy.asp>

### 4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

## 5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>. 无法在线

提交的通过[submission@wjgnet.com](mailto:submission@wjgnet.com), 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

## 6 修回稿须知

6.1 修回稿信件 来稿包括所有作者签名的作者投稿函. 内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该文代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、职称、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版版权转让给本刊编辑部.

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

### 《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司  
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号  
远洋国际中心D座903室  
电话: 010-5908-0035  
传真: 010-8538-1893  
E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>

■ 《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

## 2016年国内国际会议预告

- |                                                                                                                                                     |                                                                                                                                          |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 2016-01-21/23<br>2016年胃肠道癌症研讨会(GCS)<br>会议地点: 美国<br>联系方式: <a href="http://gicasym.org/">http://gicasym.org/</a>                                      | 2016-06-03/07<br>2016年美国临床肿瘤学会年会(ASCO)<br>会议地点: 美国<br>联系方式: <a href="http://am.asco.org/">http://am.asco.org/</a>                        |
| 2016-02-20/24<br>第25届亚太肝病研究协会肝病大会(APASL)<br>会议地点: 日本<br>联系方式: <a href="http://www.apasl2016.org/">http://www.apasl2016.org/</a>                     | 2016-06-09/12<br>2016年世界肿瘤介入大会(WCIO)<br>会议地点: 美国<br>联系方式: <a href="http://www.io-central.org/">http://www.io-central.org/</a>            |
| 2016-03-04/05<br>第16届肠胃病学教育年会(AEMG)<br>会议地点: 美国<br>联系方式: <a href="http://aemg.unige.ch/">http://aemg.unige.ch/</a>                                  | 2016-06-14/17<br>2016年欧洲胃肠与腹部放射学协会肝部成像研讨会(ESGAR)<br>会议地点: 捷克<br>联系方式: <a href="http://www.esgar.org/">http://www.esgar.org/</a>          |
| 2016-03-09/11<br>2016年欧洲神经内分泌肿瘤学会第13届年度会议(ENETS)<br>会议地点: 西班牙<br>联系方式: <a href="http://www.aihcc.com/">http://www.aihcc.com/</a>                    | 2016-06-15/18<br>2016年欧洲内境外科学学会国际会议(EAES)<br>会议地点: 荷兰<br>联系方式: <a href="http://eaes.info/">http://eaes.info/</a>                         |
| 2016-03-10/12<br>2016年第3届圣加伦EORTC胃肠癌会议(SG-GICC)<br>会议地点: 瑞士<br>联系方式: <a href="http://www.ncgicc.com/">http://www.ncgicc.com/</a>                    | 2016-09-14/17<br>2016年加拿大放射肿瘤协会大会(CARO-ACRO)<br>会议地点: 加拿大<br>联系方式: <a href="http://www.caro-acro.ca/">http://www.caro-acro.ca/</a>       |
| 2016-03-16/19<br>2016年美国消化内镜外科医师协会年会(SAGES)<br>会议地点: 美国<br>联系方式: <a href="http://www.sages.org/">http://www.sages.org/</a>                          | 2016-09-23/25<br>2016年国际结肠和直肠外科大学学会会议(ISUCRS)<br>会议地点: 印度<br>联系方式: <a href="http://www.isucrs.org/">http://www.isucrs.org/</a>           |
| 2016-04-13/17<br>第51届欧洲肝病学会年会(EASL)<br>会议地点: 西班牙<br>联系方式: <a href="http://www.easl.eu/">http://www.easl.eu/</a>                                     | 2016-10-05/08<br>2016年第5届世界小儿胃肠病学、肝病学与营养学大会(WCPGHAN)<br>会议地点: 加拿大<br>联系方式: <a href="http://www.aihcc.com">http://www.aihcc.com</a>       |
| 2016-04-16/20<br>2016年美国癌症研究协会大会(AACR)<br>会议地点: 美国<br>联系方式: <a href="http://www.aacr.com.cn/">http://www.aacr.com.cn/</a>                           | 2016-10-07/11<br>2016年欧洲肿瘤内科会议(ESMO)<br>会议地点: 丹麦<br>联系方式: <a href="http://www.esmo.org/">http://www.esmo.org/</a>                        |
| 2016-04-30/05-04<br>2016年美国结直肠外科医师协会年会(ASCRS)<br>会议地点: 美国<br>联系方式: <a href="http://www.ascrs.org/">http://www.ascrs.org/</a>                        | 2016-10-15/19<br>2016年欧洲联合胃肠病学周(UEG)<br>会议地点: 奥地利<br>联系方式: <a href="http://www.ueg.eu/">http://www.ueg.eu/</a>                           |
| 2016-05-21/24<br>2016年美国消化疾病周(DDW)<br>会议地点: 美国<br>联系方式: <a href="http://www.ddw.org/">http://www.ddw.org/</a>                                       | 2016-11-02/05<br>2016年亚太消化病周(APDW)<br>会议地点: 日本<br>联系方式: <a href="http://www.apdw2016.org/">http://www.apdw2016.org/</a>                  |
| 2016-05-25/28<br>第49届欧洲儿科胃肠病、肝病和营养学协会大会(ESPGHAN)<br>会议地点: 希腊<br>联系方式: <a href="http://www.espghancongress.org/">http://www.espghancongress.org/</a> | 2016-11-14/16<br>2016年第25届美国癌症研究所年会(AICR)<br>会议地点: 美国<br>联系方式: <a href="http://www.aicr-congress.com/">http://www.aicr-congress.com/</a> |

曹巍 教授  
郑州大学附属郑州中心医院转化医学中心

李勇 教授  
河北医科大学第四医院

陈伟 副主任医师  
中国医学科学院北京协和医院肠外肠内营养科

梁道明 副教授  
昆明医科大学第二附属医院胃肠外科

程明亮 教授  
贵州医科大学附属医院感染科

刘杰民 副主任医师  
贵州省人民医院消化内科

丁向春 主任医师  
宁夏医科大学总医院感染性疾病科

刘绍能 主任医师  
中国中医科学院广安门医院

高道键 副教授  
中国人民解放军第二军医大学附属东方肝胆外科医院内镜科

刘松林 教授  
湖北中医药大学中医临床基础学科实验室

郭长江 研究员  
中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

陆斌 副教授  
中国人民解放军第二军医大学

韩双印 主任医师  
郑州大学人民医院消化内科

吕维富 教授  
安徽省立医院影像科

胡兵 副研究员  
上海中医药大学附属龙华医院肿瘤科

孟立娜 教授  
浙江中医药大学附属第一医院消化科

黄颖秋 教授  
本溪钢铁(集团)总医院消化内科

倪俊 副主任医师  
浙江省湖州市中心医院普通外科

季光 教授  
上海中医药大学脾胃病研究所

牛春燕 教授  
西安医学院第一附属医院

江丽萍 副主任护师  
浙江省中医院

秦建民 主任医师  
上海中医药大学附属普陀医院

江学良 教授  
济南军区总医院消化科

沈薇 教授  
重庆医科大学附属第二医院

姜春萌 教授  
大连医科大学附属第二医院

时永全 教授  
中国人民解放军第四军医大学西京医院消化内科

孔桂美 讲师  
扬州大学

孙星 副主任医师  
上海交通大学附属第一人民医院

李欣 教授  
承德医学院

汤朝晖 主任医师  
上海交大医学院附属新华医院普外科



## 志谢

田虎 主任医师  
山东省千佛山医院普外中心肝胆外二科

王成锋 主任医师  
中国医学科学院肿瘤医院腹部肿瘤外科

王金胜 教授  
长治医学院病理学教研室

王军 主任医师  
河北医科大学第四医院放疗一科

王晓东 主任医师  
四川大学华西第二医院

吴灵飞 教授  
汕头大学医学院第二附属医院

向晓星 主任医师  
苏北人民医院消化科, 扬州大学临床医学院

薛东波 教授  
哈尔滨医科大学附属第一医院

颜学兵 教授  
徐州医学院附属医院

于珮 主任医师  
天津医科大学代谢病医院

袁红霞 教授  
天津中医药大学

张德奎 主任医师  
兰州大学第二医院

张雅丽 主任医师  
黑龙江省中医药科学院

张一 教授  
南昌大学第一附属医院感染科

郑虹 主任医师  
天津市第一中心医院外科

郑建明 教授  
中国人民解放军第二军医大学附属长海医院

郑培永 研究员  
上海中医药大学附属龙华医院

朱新宇 教授  
山西医科大学第一医院传染病科

朱元民 主任医师  
北京大学人民医院消化内科

朱争艳 研究员  
天津市第三中心医院



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**  
8226 Regency Drive, Pleasanton,  
CA 94588, USA  
Fax: +1-925-223-8242  
Telephone: +1-925-223-8243  
E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

