

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2015 年 7 月 18 日 第 23 卷 第 20 期 (Volume 23 Number 20)



20/2015

ISSN 1009-3079



《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》和《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被《Chemical Abstracts》，《EMBASE/Excerpta Medica》和《Abstracts Journals》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》编辑委员会成员，由507位专家组成，分布在中国29个省市，自治区，特别行政区和美国。其中，上海市89位、北京市70位、广东省40位、江苏省31位、辽宁省29位、陕西省27位、黑龙江省24位、山东省20位、湖北省16位、吉林省15位、天津市13位、浙江省13位、福建省12位、贵州省11位、湖南省11位、四川省11位、河北省10位、新疆维吾尔自治区10位、广西壮族自治区8位、江西省8位、云南省8位、安徽省8位、重庆市6位、海南省4位、河南省4位、甘肃省3位、山西省3位、内蒙古自治区1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

名誉主编

潘伯荣教授

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
陈国忠主任医师
陈洪副教授
陈其奎教授
陈卫昌教授
陈卫刚教授
陈贻胜教授
程斌教授
迟宝荣教授
迟雁副教授

崔立红教授
戴菲副主任医师
丁士刚教授
董蕾教授
杜雅菊主任医师
杜奕奇副教授
段志军教授
樊冬梅副主任医师
樊晓明教授
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
郭晓钟教授
郝建宇教授
郝丽萍副教授
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
季国忠教授
江米足教授
姜春萌教授
姜慧卿教授
姜相君主任医师
蓝宇教授
李淑德教授
李瑜元教授
李兆申教授
林志辉教授
刘冰熔教授
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
吕农华教授

马欣主任医师
毛恩强教授
毛高平教授
孟庆华教授
缪应雷主任医师
欧希龙副教授
潘秀珍教授
潘阳林副教授
任粉玉教授
邵先玉教授
沈琳主任医师
沈薇教授
施瑞华教授
宋军副教授
唐世刚教授
田宇彬教授
虞必光教授
宛新建副教授
王承党教授
王良静研究员
王蔚虹教授
夏时海教授
徐灿副教授
徐可树教授
杨建民教授
姚定康教授
于珮主任医师
张国主任医师
张庆瑜教授
张小晋主任医师
郑培永研究员
郑鹏远教授
郑素军主任医师
郑敏副教授
周国雄主任医师
周力主任医师

消化外科学
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
陈炳官教授
陈光教授
陈海龙教授
陈积圣教授
陈进宏副主任医师
陈凇教授
陈龙奇主任医师
陈汝福教授
陈钟教授
程树群副教授
仇毓东教授
崔清波副教授
崔云南教授
戴朝六教授
戴冬秋教授
单云峰主任医师
丁义涛教授
杜顺达副教授
傅红副教授
傅晓辉副教授
高毅主任医师
葛海燕教授
龚建平主任医师
顾国利副主任医师
顾晋教授
顾岩教授
韩天权教授
郝纯毅主任医师
何向辉教授
胡安斌教授
黄成副主任医师
姜卫东教授
姜波健教授
金山主任医师
康春博副主任医师
孔静副教授

兰平教授
李富宇教授
李革副教授
李华教授
李华山主任医师
李胜研究员
李涛副主任医师
李小荣教授
李旭副教授
李汛教授
李正荣副教授
李宗芳教授
梁力建教授
刘宝林教授
刘超教授
刘宏鸣副教授
刘金钢教授
刘亮副主任医师
禄韶英副教授
吕云福教授
麻勇副研究员
齐清会教授
秦华东教授
秦建民主任医师
邱伟华主任医师
曲兴龙主任医师
任宁主任医师
施宝民教授
施诚仁教授
石毓君副研究员
宋新明教授
宋振顺教授
孙诚谊教授
孙星副教授
孙学英教授
谭晓冬教授
汤朝晖副主任医师
唐南洪教授
汪波主任医师

王道荣主任医师
王德盛副主任医师
王凤山教授
王刚研究员
王健生教授
王蒙副教授
王晓锋副主任医师
王永兵主任医师
王悦华副主任医师
王振军教授
王征副主任医师
王铮副研究员
王忠裕教授
吴文溪教授
吴晓峰副主任医师
肖卫东副教授
谢敏主任医师
徐迅迪教授
徐泱副主任医师
许剑民教授
薛东波教授
杨柏霖副主任医师
杨家和主任医师
殷正丰教授
于则利教授
禹正杨副教授
喻春钊教授
袁周副主任医师
张进祥副教授
张俊副研究员
张力为副教授
赵青川主任医师
郑建勇副教授
智绪亭教授
周伟平教授
周翔宇副主任医师
周志祥教授
朱建伟教授
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
陈茂伟教授
丁惠国教授
范学工教授
高润平教授
高泽立副教授
管世鹤教授
郭永红副主任医师
胡国信主任医师
靳雪源主任医师
兰英华副教授
林潮双主任医师
刘纯杰研究员
刘正稳教授
马丽娜主任医师
毛德文教授
彭亮副主任医师
钱林学主任医师
王凯教授
王怡主任医师
吴君主任医师
谢仕斌主任医师
宣世英教授

杨贵波教授
杨江华副教授
姚鹏主任医师
张明辉主任医师
张一教授
赵秀英副教授
周陶友副教授
朱传武教授
庄林主任医师

消化中医药学

杜群研究员
郭湘潭教授
李军祥教授
李康副教授
李晓波教授
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
南极星教授
牛英才研究员
司富春教授
斯拉甫·艾白教授
谭周进教授
唐旭东主任医师
王富春教授
王来友副教授
王笑民主任医师
吴焕淦教授
徐庆教授
许玲教授
袁红霞研究员

消化肿瘤学

曹秀峰教授
曹志成院士
陈锦飞主任医师
崔杰峰副研究员
代智副研究员
侯风刚副教授
江建新副主任医师
姜又红教授
蒋敬庭教授
李杰主任医师
李苏宜教授
梁国刚教授
刘宝瑞教授
刘炳亚研究员
刘云鹏教授
卢宁副主任医师
卢晓梅教授
陆斌副教授
朴龙镇副教授
沈克平主任医师
史颖弘副教授
王阁教授
肖文华主任医师
肖秀英副主任医师
徐建明主任医师
杨秋蒙副主任医师
伊力亚尔·夏合丁教授
袁媛教授
张凤春教授
张倜主任医师
郑丽端副教授
周建奖教授
朱永良副研究员

消化影像学

白彬主任医师
管樑主任医师
胡红杰主任医师
李健丁教授
龙学颖副主任医师
肖恩华教授
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

李家平教授
刘杰民副主任医师
茅爱武教授
孙明军教授
万军教授
吴灵飞教授
余日胜主任医师
张火俊副教授
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
杜业勤主任医师
唐文富教授
王学美研究员
袁建业副研究员
张春虎副教授
赵岩教授

消化基础研究

曾柱教授
陈敬贤教授
崔莲花教授
邓安梅教授
邓庆副研究员
董玉兰副教授
段义农教授
高国全教授
高英堂研究员
郭俊明教授
郭长江研究员
黄河副教授
黄昆教授
黄文林教授
姜宏教授
黎观红教授
李东辉教授
李瀚旻教授
李君文研究员
李孟森教授
李文贵副教授
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
刘长征副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任浩副教授
沈东炎副教授
沈涛副教授
台桂香教授
谭学瑞教授
汤静主管药师

田文静副教授
汪思应教授
王明荣研究员
王钦红教授
王书奎教授
王秀伶教授
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
吴志强副教授
夏敏教授
杨金娥副教授
阴赅宏研究员
张红教授
张淑坤副研究员
赵铁建教授
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

消化病理学

陈云昭副教授
樊祥山副主任医师
郭炜教授
季菊玲副教授
李慧副教授
林洁副教授
刘芳芳副主任医师
刘丽江教授
门秀丽教授
莫发荣副教授
潘兴华副主任医师
王娅兰教授
颜宏利教授
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
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
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
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
王晓春副主任护师
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
谢晓芬主管护师
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
俞静娟副主任护师
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
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

2015年7月18日 第23卷 第20期 (总第496期)

述评

- 3171 甲胎蛋白在乙型肝炎病毒诱导肝癌发生中的作用及临床应用展望

张超, 李刚

- 3182 经导管动脉化疗栓塞术对肝癌转移潜能的影响

康振, 肖恩华

基础研究

- 3188 表没食子儿茶素没食子酸酯通过PI3K/AKT信号通路抑制人肝癌细胞株HepG2增殖和促进凋亡

李懿, 赵莉莉, 李易, 赵燕, 李良平

- 3195 不同剂量槲皮素对高甘油三酯血症相关性急性胰腺炎大鼠胰腺病理的影响

郑俊媛, 曾悦, 吴江红, 陈静, 刘杰

- 3203 模拟微重力环境下腹腔感染大鼠肠黏膜屏障损害及抗感染疗效

鲍时明, 邓忠伟, 杨建武, 李晓鸥, 董满库, 周金莲, 杨鹤鸣, 李成林, 崔彦

临床研究

- 3213 酪氨酸蛋白激酶7在胃癌中的表达及临床意义

叶志强, 张谢夫, 刘涛, 董新华, 郭鲁伟

- 3219 不同腰围水平与非酒精性脂肪肝发病风险的关系

王珊, 佟博, 张海玲, 蒋晓忠, 张杰, 段和力, 吴寿岭

- 3226 大肠癌原发灶与淋巴结转移灶中PI3Kp110
- α
- 、PI3Kp110
- β
- 与Bcl-2、CyclinD1表达的相关性及其意义

姜涛, 吴淑华, 何双, 温菲菲, 高向前, 李扬扬

文献综述

- 3235 细胞谱系示踪技术在肝脏纤维化上皮-间质转化研究中的应用

王芳, 赵礼金

- 3241 自噬在胆管癌中的相关研究进展

王胤达, 朱李璐, 陈钟

- 3247 饥饿素对于消化系统疾病的诊断及治疗价值

陈鹏, 吕农华

研究快报

- 3254 胆盐输出泵在胆管癌大鼠胆管组织中的表达状况
张孟瑜, 王洁萍, 冯春红, 李波, 夏先明
- 3259 TUNEL染色结合细胞形态学特点鉴别急性胰腺炎时腺泡细胞的死亡方式
胡洋洋, 周春华, 窦文欢, 凤辉, 王少峰
- 3265 隔药饼灸对FGIDs肝郁脾虚模型大鼠胃肠组织中SP表达及尿液D-木糖排泄率的影响
葛君芸, 常小荣, 刘密, 刘未艾, 黄河, 吕安林, 沈菁
- 3270 溃疡性结肠炎大鼠结肠肌层突触小体相关蛋白25的表达变化
商博鑫, 董蕾, 史海涛, 王华, 杨素贞

临床经验

- 3277 内镜下钬激光碎石术治疗胃石症的临床效果评价
许琮, 黎培员, 覃华, 周琦, 赵秋
- 3283 胃十二指肠溃疡合并真菌感染的临床及内镜特点分析240例
洪军波, 左玮, 汪安江, 徐珊, 朱宏涛, 祝荫, 吕农华
- 3289 FAM、EAP、ELF方案治疗胃癌的成本和效果对照
卢介珍, 吴永良
- 3294 慢性乙型肝炎患者ALT、GGT、ALP、CHE、Alb/GLb、PA、TBIL、HBV标志物定量与组织病理学的关系
范和发, 郑辉才
- 3298 乙型肝炎肝硬化患者不同肝癌筛查方案的比较及对预后影响
李鹏, 陈玉涵, 张世斌, 丁惠国
- 3304 胃俞穴和足三里穴穴位注射山莨菪碱治疗中度急性胰腺炎的效果
王先英, 潘明
- 3308 影像设备引导下腹横肌平面阻滞对结肠手术患者镇痛效果的影响
祝建斌, 申文, 王必铭
- 3315 快速康复外科在结直肠癌患者中的应用
才保加, 张成武, 王晓龙, 游先强, 王祥盛, 王吉哲
- 3321 同伴支持教育对直肠癌造口患者术后延续护理效果的影响
刘玉莹, 耿云平, 房芳, 马学霞
- 3326 益生菌增效治疗幽门螺杆菌感染的Meta分析再评价
周本刚, 肖政, 汪成琼, 刘梅, 李仕宇, 陈安海

附录

- I - V 《世界华人消化杂志》投稿须知
I 2015年国内国际会议预告

志谢

- I 志谢世界华人消化杂志编委

消 息

- 3181 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号
3212 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版)
3234 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊
3253 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
3264 《世界华人消化杂志》2013-2014年电子版合订本正式发布
3276 《世界华人消化杂志》修回稿须知
3282 《世界华人消化杂志》正文要求
3303 《世界华人消化杂志》外文字符标准
3320 《世界华人消化杂志》参考文献要求

封面故事

《世界华人消化杂志》编委, 李刚, 教授, 100191, 北京市海淀区学院路38号, 北京大学医学部基础医学院生物化学与分子生物学系. 主要从事甲胎蛋白生物功能的研究. 现任北京大学教授, 博士生导师, 国家政府特殊津贴专家. 兼任深圳北京大学香港科技大学医学中心主任助理, 科教部部长, 深圳生化学会理事长. 全国科学技术名词新词委员会委员. 教育部、卫生部、财政部相关专家组成员. 教育部十二五规划教材《生物化学》主编. 《世界肿瘤研究》期刊主编, 《中国生物化学与分子生物学报》等十个期刊编委. 曾在美国密执根州立大学和加州大学学习工作多年. 曾获国家级教学成果二等奖, 省部级科技进步一等奖4次和二等奖3次. 国内外共发表科学论文110余篇, 主编、副主编、参编专业书籍64部.

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 2015-07-18

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》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》和《Abstracts Journals》收录.

《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊.

《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

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有

Contents

Volume 23 Number 20 July 18, 2015

EDITORIAL

- 3171 Role of alpha-fetoprotein in hepatitis B virus-induced hepatocellular carcinoma: Prospect in clinical application
Zhang C, Li G
- 3182 Effect of transcatheter arterial chemoembolization on metastasis potential of hepatocellular carcinoma
Kang Z, Xiao EH

BASIC RESEARCH

- 3188 Epigallocatechin-3-gallate induces human liver cancer HepG2 cell apoptosis and growth inhibition by suppressing phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase B signaling
Li Y, Zhao LL, Li Y, Zhao Y, Li LP
- 3195 Effect of different doses of quercetin on pancreatic pathology in rats with hypertriglyceridemia related acute pancreatitis
Zhen JY, Zeng Y, Wu JH, Chen J, Liu J
- 3203 Effects of simulated microgravity and intravenous moxifloxacin on intestinal mucosal barrier in rats with abdominal infection
Bao SM, Deng ZW, Yang JW, Li XO, Dong MK, Zhou JL, Yang HM, Li CL, Cui Y

CLINICAL RESEARCH

- 3213 Clinical significance of expression of protein tyrosine kinase 7 in gastric adenocarcinoma
Ye ZQ, Zhang XF, Liu T, Dong XH, Guo LW
- 3219 Relationship between waist circumference level and new onset of non-alcoholic fatty liver disease
Wang S, Tong B, Zhang HL, Jiang XZ, Zhang J, Duan HL, Wu SL
- 3226 Clinical significance of expression of PI3Kp110 α , PI3Kp110 β , Bcl-2 and CyclinD1 in primary colorectal cancer and lymph node metastases
Jiang T, Wu SH, He S, Wen FF, Gao XQ, Li YY

REVIEW

- 3235 Cell lineage tracing in study of epithelial-to-mesenchymal transition during hepatic fibrosis
Wang F, Zhao LJ
- 3241 Autophagy in cholangiocarcinoma
Wang YD, Zhu LR, Chen Z
- 3247 Diagnostic and therapeutic value of Ghrelin in digestive diseases
Chen P, Lv NH

RAPID COMMUNICATION

- 3254 Bile salt export pump expression in bile duct tissues of rats with bile duct cancer
Zhang MY, Wang JP, Feng CH, Li B, Xia XM
- 3259 TUNEL staining combined with cell morphologic characteristics for identifying acinar cell death mode in rats with acute pancreatitis
Hu YY, Zhou CH, Dou WH, Feng H, Wang SF
- 3265 Influence of cake-separated moxibustion on gastrointestinal expression of substance P and urinary excretion of D-xylose in functional dyspepsia rats with liver-stagnation and spleen-deficiency syndrome
Ge JY, Chang XR, Liu M, Liu WA, Huang H, Guo AL, Shen J
- 3270 Change in expression of synaptosomal associated protein of 25 kDa in the colonic muscle layer of rats with ulcerative colitis
Shang BX, Dong L, Shi HT, Wang H, Yang SZ

CLINICAL PRACTICE

- 3277 Curative effect of endoscopic holmium laser lithotripsy in management of gastric bezoars
Xu C, Li PY, Qin H, Zhou Q, Zhao Q
- 3283 Clinical and endoscopic features of gastrointestinal ulcer with fungal infection: Analysis of 240 cases
Hong JB, Zuo W, Wang AJ, Xu S, Zhu HT, Zhu Y, Lv NH
- 3289 Cost-effectiveness analysis of three chemotherapy regimens for treatment of gastric cancer
Lu JZ, Wu YL
- 3294 Relationship of serum liver function parameters and hepatitis B virus markers with liver histopathology in patients with chronic hepatitis B
Fan HF, Zheng HC
- 3298 Comparison of different hepatocarcinoma screening schemes for patients with hepatitis B associated cirrhosis: Detection rate and impact on prognosis
Li P, Chen YH, Zhang SB, Ding HG
- 3304 Effects of Weishu and Zusanli acupoint injection of anisodamine in treatment of moderately severe acute pancreatitis
Wang XY, Pan M
- 3308 Impact of ultrasound-guided transversus abdominis plane block on analgesic effects in patients receiving colon operation
Zhu JB, Shen W, Wang BM
- 3315 Application of fast track surgery in colorectal cancer patients
Cai BJ, Zhang CW, Wang XL, You XQ, Wang XS, Wang JZ
- 3321 Influence of peer support education on clinical effects of postoperative continued nursing care in rectal cancer patients after colostomy
Liu YY, Geng YP, Fang F, Ma XX
- 3326 Probiotics as adjunctive therapy for *Helicobacter pylori* infection: An overview of meta-analyses
Zhou BG, Xiao Z, Wang CQ, Liu M, Li SY, Chen AH

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 23 Number 20 July 18, 2015

APPENDIX

- I – V Instructions to authors
I Calendar of meetings and events in 2015

ACKNOWLEDGMENT

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

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Gang Li, Professor, Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medical Sciences, Peking University Health Science Center, 38 Xueyuan Road, Haidian District, Beijing 100191, China

Indexed/Abstracted by

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 July 18, 2015

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

<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

<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

© 2015 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. If you do not have web access, please contact the editorial office.

甲胎蛋白在乙型肝炎病毒诱导肝癌发生中的作用及临床应用展望

张超, 李刚

张超, 李刚, 北京大学医学部基础医学院生物化学与分子生物学系 北京市 100191
李刚, 教授, 主要从事基因表达调控和信号转导通路方面的研究。

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81072710, 81370522

作者贡献分布: 本综述由张超完成; 李刚审校。

通讯作者: 李刚, 教授, 100191, 北京市海淀区学院路38号, 北京大学医学部基础医学院生物化学与分子生物学系。
ligang55@bjmu.edu.cn

收稿日期: 2015-04-07 修回日期: 2015-04-21

接受日期: 2015-04-24 在线出版日期: 2015-07-18

Role of alpha-fetoprotein in hepatitis B virus-induced hepatocellular carcinoma: Prospect in clinical application

Chao Zhang, Gang Li

Chao Zhang, Gang Li, Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medical Sciences, Peking University Health Science Center, Beijing 100191, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81072710 and 81370522

Correspondence to: Gang Li, Professor, Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medical Sciences, Peking University Health Science Center, 38 Xueyuan Road, Haidian District, Beijing 100191, China. ligang55@bjmu.edu.cn

Received: 2015-04-07 Revised: 2015-04-21

Accepted: 2015-04-24 Published online: 2015-07-18

Abstract

Mammalian alpha-fetoprotein (AFP) as a fetal specific alpha-globulin that has been used as a serum fetal defect/tumor marker for diagnosis and prediction of liver disease. Over the past decade, research indicates that AFP

as an intracellular signal molecule is not only a biomarker but also interacts with hepatitis B virus (HBV) and hepatitis B virus protein x and plays multifarious roles in the development of hepatocellular carcinoma, especially in HBV-induced liver cancer.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Alpha-fetoprotein; Hepatitis B virus; Hepatocellular carcinoma; Gene regulation; Signal pathway

Zhang C, Li G. Role of alpha-fetoprotein in hepatitis B virus-induced hepatocellular carcinoma: Prospect in clinical application. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(20): 3171-3181 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3171.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i20.3171>

摘要

甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)是一种胚胎特异性α-球蛋白, 是临床诊断胎儿缺陷和肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的肿瘤标志物。近年来不断有研究证实, AFP在HCC中发挥信号分子样作用, 尤其在乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)诱导的肝癌中, AFP和HBV及HBV编码的x蛋白质(hepatitis B virus protein x, HBx)之间存在相互协同作用, 调控并且促进肝癌的发生发展过程。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 甲胎蛋白; 乙型肝炎病毒; 肝细胞癌; 基

背景资料

甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)在临床被用作诊断肝癌肿瘤标志物, 但胞浆内的AFP的生物学功能却不甚明了, 在乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)诱导的肝癌中, AFP的存在可使患者容易产生耐药性, 且预后更差、死亡率更高。

同行评议者

秦建民, 主任医师, 上海中医药大学附属普陀医院普外科

■ 研发前沿

本文介绍HBV诱导肝癌发生的分子机制、AFP在肝癌细胞中重新表达的机制, 能够有效降低AFP可望成为临床治疗肝癌的新思路。

因调控; 信号通路

核心提示: 甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)不仅是肿瘤标志物, 胞浆中的AFP还可以发挥信号分子的作用, 在肝癌的发生发展过程中起促进作用. AFP的表达与乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)的感染密切相关, 并能和HBV协同作用, 共同促进癌症的进程。

张超, 李刚. 甲胎蛋白在乙型肝炎病毒诱导肝癌发生中的作用及临床应用展望. 世界华人消化杂志 2015; 23(20): 3171-3181
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3171.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i20.3171>

0 引言

甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)在临床常被用作检测胎儿缺陷和肝脏肿瘤发生的标志物^[1]. 我国是肝癌高发区, 患者占全球55%以上^[2], 临床统计, 80%以上的肝癌患者由乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)的慢性感染发展而来, 肝癌的发生和HBV感染密不可分^[3,4]. 成人中, 约70%-80%的肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)患者血清中AFP升高, AFP水平的升高与HCC各种恶性特征相关联^[5,6], 且血清中高AFP值的患者相对于低AFP值的患者, 预后极差, 无病生存率(disease free survival, DFS)和总生存率(overall survival, OS)等指标远低于后者^[7]. 由此可知, 在HBV诱导肝癌的发生发展过程中, AFP必定发挥了重要的作用. 本文将从以下几个方面展开。

1 AFP的分子结构

1.1 基因和蛋白质结构 AFP基因位于4号染色体, 由14个外显子和15个内含子组成^[8], 剪切成熟的mRNA编码609个氨基酸, 其中位于N末端的19个氨基酸是信号肽, 分子量约为69 kDa, 属于白蛋白基因超家族的成员. 这一家族的结构特点为: 由半胱氨酸的残基形成二硫键, 而内折成为一个U形的三级结构域, 具有这一结构的还包括: 白蛋白、维生素D蛋白和 α -球蛋白等(图1)^[9].

1.2 结构预测功能 使用GCG(Wisconsin GCG software)软件对AFP的分子结构进行分析, 结果显示其第三个结构域中包含有转录调节功能的氨基酸序列. 这一序列中, 有9个疏水氨基酸重复序列, 形成一个亮氨酸拉链样的结构,

是经典的与顺式作用元件结合的结构域^[10]. 对AFP的几段氨基酸序列: 447-480、339-362、445-457、458-470、471-480分析发现, AFP可与多种核受体或核转录因子序列匹配(表1)^[10,11], 有这样的结构基础为前提, 为AFP在细胞内发挥生物学功能, 提供了理论依据和研究方向。

2 AFP与肝癌的关系

2.1 AFP抑制免疫功能 在HCC中, AFP基因重新表达, 癌细胞较之正常细胞增殖能力和抗凋亡能力都大为提高, AFP在其中发挥作用^[12]. 在体外培养的人肝癌细胞中, 加入适当剂量的AFP时, 他可直接促进肝癌细胞的增殖^[13].

临床研究^[14]发现, 血清AFP值高的患者较之AFP低值或阴性的患者凋亡指数显著降低, 其预后、存活率及对药物的敏感性等方面也远远低于后者^[13]. 在胚胎发育过程中, AFP可以有效抑制T淋巴细胞介导的细胞毒性, 使胎儿逃逸母体的免疫排斥^[15]. 在肝癌细胞中, 分泌的AFP同样可以保护癌细胞免受免疫细胞的攻击, 如AFP可以抑制免疫细胞的增殖、诱导抑制性的T淋巴细胞、降低自然杀伤细胞的活性, 以及导致淋巴细胞和树突状细胞(dendritic cells, DCs)凋亡^[16,17]. 将AFP作用于肝癌患者的单核细胞, 发现AFP不仅能抑制单核细胞转变为成熟的DCs, 并且能损伤DCs的功能、抑制DCs对T细胞的激活、抑制DCs合成肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 和白介素(interleukin, IL)-12并诱导DCs凋亡, 使TNF受体(tumor necrosis factor receptor, TNFR)的表达停止或者丢失. AFP的所有这些功能, 都明显地导致了肿瘤细胞逃避免疫监视, 细胞凋亡减少^[18,19].

2.2 AFP干扰信号通路 有研究^[12,20]证实, 胞浆中的AFP可以选择性地和Caspase3结合形成复合物, 阻断来自Caspase8凋亡级联信号的传递, 进而阻断了Fas/FasL、TNF/TNFR等凋亡通路, 促进细胞增殖. 胞浆中AFP还可以与PTEN相互作用, 干扰磷脂酰肌醇3激酶(phosphatidylinositol 3 kinase, PI3K)/Akt信号通路. PTEN可以维护基因稳定性, 通过调控细胞增殖、迁移、侵袭和微血管生成等来发挥抑制肿瘤的功能. PTEN突变或缺失时, 会导致Akt的激活和肿瘤的发生, 而Akt非正常激活在癌症转移中发挥着关键作用^[21]. 此外, 胞浆AFP可以与维甲酸受体(retinoic acid receptor, RAR)相互作用, 干

表 1 人甲胎蛋白部分序列与各种生长因子、转录相关因子保守序列的匹配

Protein	Amino-acid numbers	Amino-acid sequence	Percent Identity/Similarity
Growth factors			
Human AFP	447-480	LS EDKLLACGEG AADIIGHLCIRH	100/100
		EMTPVNP GVG	
Human TGF- β	106-117	LS EDQLLLIQIP	50/8
Human ATV	955-968	LS EQRLLP R GEG	58/17
Human IL2	1245-1256	IXS IIVGHLGX F	42/8
Transcription-associated factors			
Human AFP	339-362	YSRRHPQLAVSVILRVAKGYQELL	100/100
Human RAR	235-254	FAKRLPGFRXGXXLRIADQXITLL	35/40
Human RXR	346-365	WAKRIPHFSX SXXLPLDDQXVILL	35/35
Human T3R	286-305	FAKKLPMFCXEXXLP CEDQXIILL	20/45
Human ER	360-379	FAKRVPGFVXDXXLRLHDQXVHLL	25/35
Human AFP	445-457	LS EDKLLACGEG	100/100
Human HGMP	10-22	LS EDKLLAVARE	66/8
Human Zn-Fg	725-736	LS DHKLL ESTCK	42/25
Human Rev-erb	523-535	FS EXKLNALTEE	50/30
Human RAR	307-319	FANQXLLXPLEM	30/40
Human Coup	305-317	VX EXKLKALVDS	30/30
Human AFP	458-470	AADIIGHLCIR	100/100
Human HGMP	12-21	VAQIIIGHLCIR	83/7
Human Zn-Fg	330-341	AGGTLVGHL CVR	50/25
Human C-myc	217-226	VQSIIVGHL CWF	50/17
Human Rb-p	2612-2623	LQSIIVGHL GCF	42/25
Human Coup	489-502	AAGVAPGHV LRI	33/25
Human AFP	471-480	EMTPVNP GVG	100/100
Human Crumbs	1652-1661	QWTPVNP G VQ	70/10
Human PAX-3	512-521	IMTPVNP GVP	70/10
Human HOXG2	633-642	EMTPSTP GLQ	60/30
Human TF11D	163-174	PMT PATPGSA	50/20
Human Src-TK	1280-1289	EMAPIWPGAL	50/20
Human Kid-TS	1145-1154	KSTGANP GVP	50/10
Human Cad-TS	3718-3727	EMTPVLEAII	50/0
Human FTZ-F1	628-637	KPTPISPGYQ	40/30
Human I-Rel TF	528-537	EAS PSTPGRQ	40/30

AFP: 甲胎蛋白; TGF- β : 转化生长因子 β ; IL: 白介素; HGMP: 人类基因组图谱制作计划。

扰RA-RAR信号通路, 导致RAR调控的下游基因的表达变化, 甚至影响到整个细胞中生物学行为的改变^[22]。已得到证实的RAR下游基因有*GADD153*、*Fhl4*、*GADD45 α* 和*Bcl-2*^[23-25]。这些蛋白质在促进或抑制凋亡的过程中都发挥着重要的作用^[26-28]。这也可以部分地解释, 为什么临床上在使用全反式维甲酸(all-trans-retinoic acid, ATRA)治疗AFP阳性的肝癌患者时很容易出现耐药性。胞浆中AFP可直接参与生物过程, 而分泌到胞外的AFP不可能直接进入细胞内调节细胞的生命活动, 因而预测有

AFP受体(AFP receptor, AFPR)的存在, 并且可能是跨膜的G蛋白偶联受体(G-protein-coupled receptor, GPCR)^[29,30], AFP可能通过AFP-GPCR-cAMP-PKA途径来调节肝癌细胞的生长。AFP还可以通过酪氨酸蛋白激酶TPK-Ras-MAPK途径促进肝癌细胞生长, 研究^[31]发现AFP作用于Bel7402细胞可显著地提高胞内Ca²⁺浓度, 而Ca²⁺是重要的第二信使物质, 他能调节许多细胞内酶的活性, 可以通过AFP-Ca²⁺-PKC/CaM等途径来影响肝细胞代谢。

总之, AFP是肝癌细胞中促进细胞增殖, 血

创新盘点

本文最大创新点就在于将HBV和AFP在肝癌发生发展中的关系及相互作用联系起来, 发掘了胞浆中AFP在HBV诱导肝癌中的作用以及临床应用前景。

应用要点

实用价值即为临床肝癌治疗提供了一种新的思考途径, 在现有治疗的基础上, 尝试降低AFP的水平, 可以达到更佳的治疗效果。

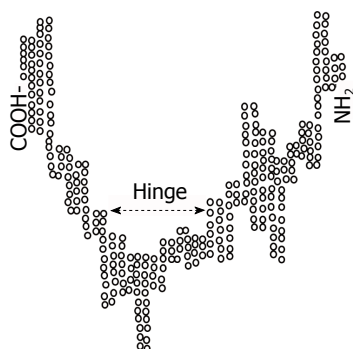


图 1 人类甲胎蛋白(AFP)的二级结构模式图。

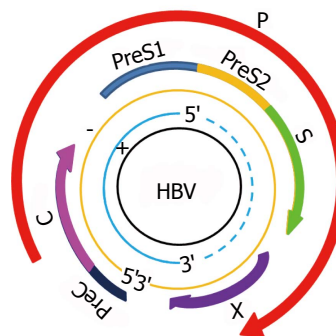


图 2 HBV基因组. HBV: 乙型肝炎病毒。

管生成和抑制细胞凋亡的关键分子. AFP疫苗已被证明可启动AFP相关免疫反应, 尽管针对单一抗原的疫苗的应用价值有待讨论, 但该疫苗对于肝硬化晚期及存在HCC风险的患者可能是一个很有价值的预防途径. 这也表明在HCC患者中AFP发挥着一种有效的调节肝癌进程的作用, 可能会成为未来用以治疗癌症的靶标。

3 HBV分子结构

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus)简称HBV, 是一种嗜肝DNA病毒, 分为外衣壳和核心两部分. 基因组全长约3.2 kb, 为不完全的双链环状DNA, 4个开放读码框(open reading frame, ORF)均位于负链, 分别为S区、C区、P区、X区(图2)^[4]. S区编码乙型肝炎表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg), 可诱导机体产生特意保护性的抗-HBs^[32]. C区编码e抗原(hepatitis B e antigen, HBeAg)和核心抗原(hepatitis B core antigen, HBcAg), HBcAg可诱导体液免疫和细胞免疫, 刺激机体产生抗-HBc, HBeAg传染性强, 是HBV复制以具有强感染性的指标. P区最长, 编码DNA聚合酶等. X基因编码x蛋白, HBx具有反式激活作用, 可激活HBV本身和细胞的多种调控基因, 促进HBV的复制^[33,34].

4 HBV与肝癌的关系

4.1 HBV与肝癌的关系 慢性HBV感染是一个全球性的主要健康问题, 慢性乙型肝炎感染者发展为肝癌的终生风险是未感染者的10-25倍之多, 即便是隐匿的HBV携带者或清除HBsAg之后, 发展为肝癌的风险较之未感染人群依然是增高的^[35]. 世界卫生组织肝癌预防会议指出: HBV与肝癌关系密切, 肝癌患者中HBsAg阳性率高达81.82%。

在肝癌发病机制的研究方面, 由于HBV病

毒感染和HCC之间有着很长的潜伏期, 并且肝癌的发病率和年龄也密切相关, 人们一度错误地认为病毒只是起到一个间接作用. 但更多的证据表明, HBV可以通过改变宿主基因的表达和细胞表型, 促进长期肝损伤、慢性炎症、细胞死亡、再生和氧化应激性DNA损伤, 直接和间接地促进肝癌的发生和进程^[36]. HBV相关肝癌的基因组整合率不但高达85%-90%, 且通常先于肝癌的发生^[37], 整合事件一般好发生在人类基因组不稳定的位点及其周围, 癌症相关的区域, 或者调节细胞信号、增殖和活力的位点^[38], 与整合相关的遗传不稳定性可能改变癌基因及肿瘤抑制基因和microRNA的表达. HBV的存在还可使信号通路失去正常的秩序和管制, 例如Wnt/ β -catenin信号通路、转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)信号通路、Ras/MAPK信号通路、PTEN/Akt和雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)信号通路以及p14ARF/p53信号通路等^[39,40], 出现异常激活或者抑制. 在HBV感染中, 病毒的直接“贡献”可归纳如图3所示^[37,41].

4.2 HBx与肝癌的关系 HBx蛋白质是一种多功能的调节因子. 调节转录、信号转导、细胞周期进程、细胞凋亡、蛋白质降解通路以及通过整合到宿主基因组而影响遗传物质的稳定性^[42]. 研究^[43]证实, 即使不存在HBV复制, HCC患者体内HBx在mRNA和蛋白质水平都是升高的. 而且慢性乙型肝炎患者和HCC患者相比, 在后者体内HBx的抗体更容易被检测到. 转基因小鼠模型中, HBx的表达不受控制与肝癌的发生密切相关, 这些都暗示了在肝癌的发展过程中HBx的作用^[44].

HBx可以参与转录调控, 目前的报道都认为HBx并不直接与DNA结合, 但他可通过与胞核中的众多转录因子结合, 如核因

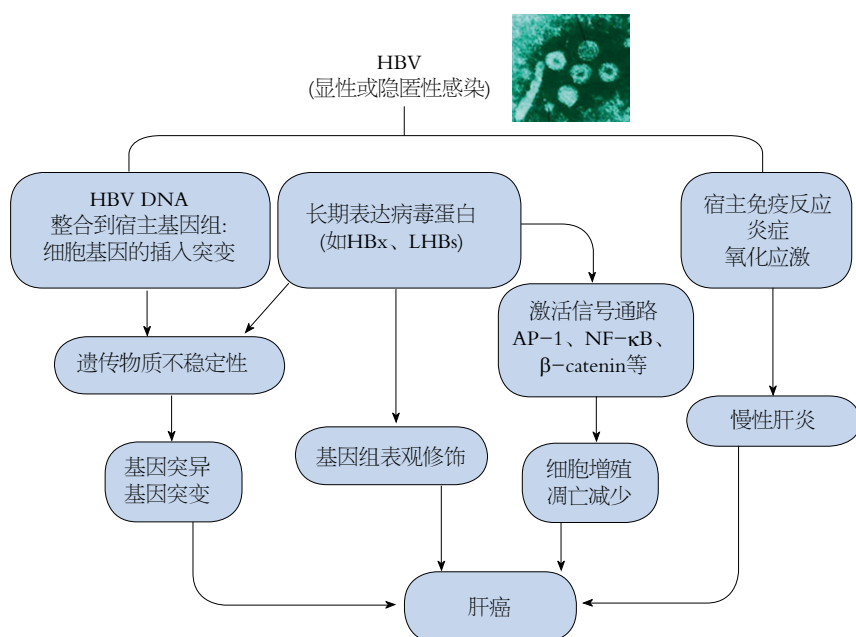


图 3 慢性乙型肝炎病毒感染与肝癌的发生. HBV: 乙型肝炎病毒; AP-1: 激活蛋白-1; NF-κB: 核因子κB; HBx: 乙型肝炎病毒x蛋白; LHBs: 乙型肝炎病毒大蛋白.

子κB(nuclear factor-κB, NF-κB)、激活蛋白-1(activator protein-1, AP-1)、激活转录因子(activating transcription factor, ATF)、cAMP反应元间结合转录因子(cAMP response element binding protein, CREB)、RNA聚合酶和TATA结合蛋白(TATA binding protein, TBP)等, 来间接干扰转录过程^[45-48]. HBx还可以转录激活一些与细胞增殖相关的基因启动子, 如*IL-8*、*TGF-β*、*EGRF*等. 研究^[42,49]还发现, 在早期癌变过程中, HBx可以转变肝细胞的TGF-β信号, 使之从肿瘤抑制途径pSmad3C转化为致癌途径pSmad3L. HBx可以调节c-Jun的转录, c-Jun和c-fos相互作用组成异源二聚体, 被认为在控制真核基因表达和细胞增殖上发挥核心作用^[50]. 位于胞浆中的HBx可以激活信号转导通路, 如Ras-Raf-MAPK通路、Jak-STAT和Src蛋白激酶通路等. Ras-Raf-MAPK级联通路的激活又可以活化转录因子AP-1和NF-κB. HBx还可以抑制细胞周期蛋白依赖激酶2(cyclin dependent kinase 2, CDK2)的活性, 与Wnt-1互作激活Wnt/β-catenin通路, 最终导致细胞周期监测点的失控. 结合p53并使其失活, 与损伤特异性DNA结合蛋白-1(damage-specific DNA binding protein-1, DDB1)结合影响DNA的损伤修复, 使基因的改变得以积累^[51]. 通过激活c-Myc, 使其在热休克蛋白90α(heat shock protein 90α, *HSP90α*)启动子区特定定位

点的结合增强, 促进HSP90α的表达, 在肿瘤细胞中HSP90α可作为AFP依赖的一个分子伴侣, 使癌蛋白保持活性构象^[52]. HBx还可以影响基因的表观修饰, 上调甲基转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)1、DNMT3a1和DNMT3a的表达来提高细胞内总体甲基转移酶活性, 使一些肿瘤抑制因子的启动子发生高甲基化, 如p16/INK4A等, 下调染色质修饰蛋白Suz12和Znf198, 使组蛋白3第27位赖氨酸发生3甲基化(H3K27Me3)而导致抑癌基因沉默, 而失去抑制肿瘤的功能^[53-55]. 图4对HBx在胞内的作用机制进行了汇总描述.

5 HBV与AFP的关系

在肝癌的发病和发展过程中AFP和HBV都发挥了各自的作用, 那么两个如此重要的因素之间是否存在某些联系, 这是一个值得探究的问题. 临床统计, 在HBsAg阳性肝癌中, AFP阳性率显著高于HBsAg阴性肝癌; 同理, 循环中AFP的mRNA为阳性的肝癌中, 87.5%为HBV感染者, 而在AFP的mRNA水平为阴性的肝癌中, HBV感染者的比例仅有33.3%^[56], 这提示HBV感染与肝癌患者AFP升高有关, HBV可能通过与肝癌细胞的整合, 而使肝癌细胞合成AFP的能力增强, 也可能是HBx结合转录因子、干扰信号通路等途径促使AFP的表达增强. 临床队列研究^[57], 对93例HBV肝硬化的患

同行评价

本文为深入了解肝细胞癌发生机制和分子靶向治疗提供了重要的理论依据, 具有较高的学术价值.

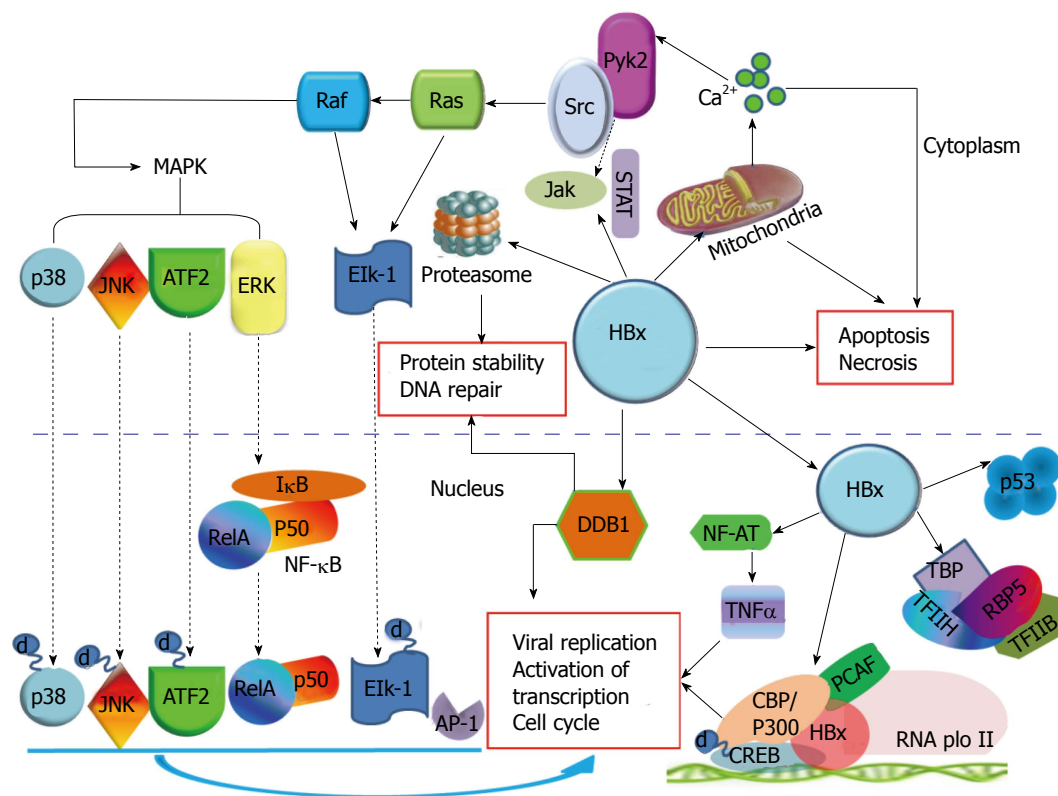


图 4 HBx蛋白质的多种生物活性. HBx: 乙型肝炎病毒x蛋白; AP-1: 激活蛋白-1; NF-κB: 核因子κB; CBP: CREB结合蛋白; TNFα: 肿瘤坏死因子α.

者使用恩替卡韦治疗, 并严密监控结果, 其中16(17.2%)例发展为肝癌, 这些患者的共同点是, 均有AFP不可控的持续性增高. 故而, 乙型肝炎肝硬化患者AFP水平升高是发展为HCC的一个极高危因素^[57].

早在20世纪90年代, 就有研究^[58]指出, AFP的表达受两个互斥的反式作用元件肝核因子(hepatocyte nuclear factor, HNF)-3和p53控制. HNF-3促进AFP表达, p53抑制AFP的表达, 当p300组蛋白乙酰转移酶使p53发生乙酰化后, 抑制作用增强. 在正常的成年人肝细胞中, p53的抑制作用占主导, 猜测当肝发生再生、病毒刺激或恶性转变时, 在某些因素的作用下, 可使p53的抑制作用削弱, 甚至完全解除. 2000年时预测就得到印证, 有研究^[59]解释HBx和肿瘤抑制蛋白p53之间存在相互作用, HBx存在可使p53的抑制作用削弱而增强AFP的表达. 之后Arima等^[60]又进一步分别在含有野生型、突变型和缺失p53基因的3个肝癌细胞系HepG2、HuH-7和Hep3B中使用HBx表达质粒和AFP报告基因共转染的方法证实了, HBx可以与p53相互作用, 进而解除p53对AFP基因启动子区活性的抑制, 使AFP表达上升. 除了和

p53结合, HBx也能够激活AFP的5'上游序列, 使AFP的表达上升, 主要作用位点分别位于-5.0--3.0 kb、-2.9--1.0 kb以及C/EBP、AP-1、HNF-1等转录因子的结合位点^[50], 其中中间的位点作用相对较弱. 我们实验室也分别将不同长度的AFP报告基因与HBx的表达质粒共转染, 结果显示, HBx作用于AFP基因的-1.8--1.0 kb和启动子区域, 使AFP基因的转录活性增强, 促进AFP表达. 在我们的实验中发现了AFP可以上调Bcl-2. 我们证实胞浆中的AFP能够和核转录因子RAR相互作用, 阻碍RAR入核与基因转录调控区结合, 而在Bcl-2的负调控区恰好存在RAR的结合位点^[23], 并且Bcl-2基因的启动子可以被全反式维甲酸的拮抗剂所激活^[61], 故而AFP可以上调Bcl-2的表达. 有学者^[62]在对HBx稳转的HepG2细胞系进行蛋白组学分析发现, HBx可以也促进Bcl-2的表达. 这一点通过HBx可上调AFP的表达就可以得到解释, 同时还有报道^[63]指出, HBx可以上调甲基转移酶DNMT1和DNMT3a, 而导致RAR-β₂启动子区的过度甲基化, 致其表达下降. HBx的这一效应不但可以进一步解释, 他可使Bcl-2表达上升, 而且可以解释在HCC患者中, 因为缺少了

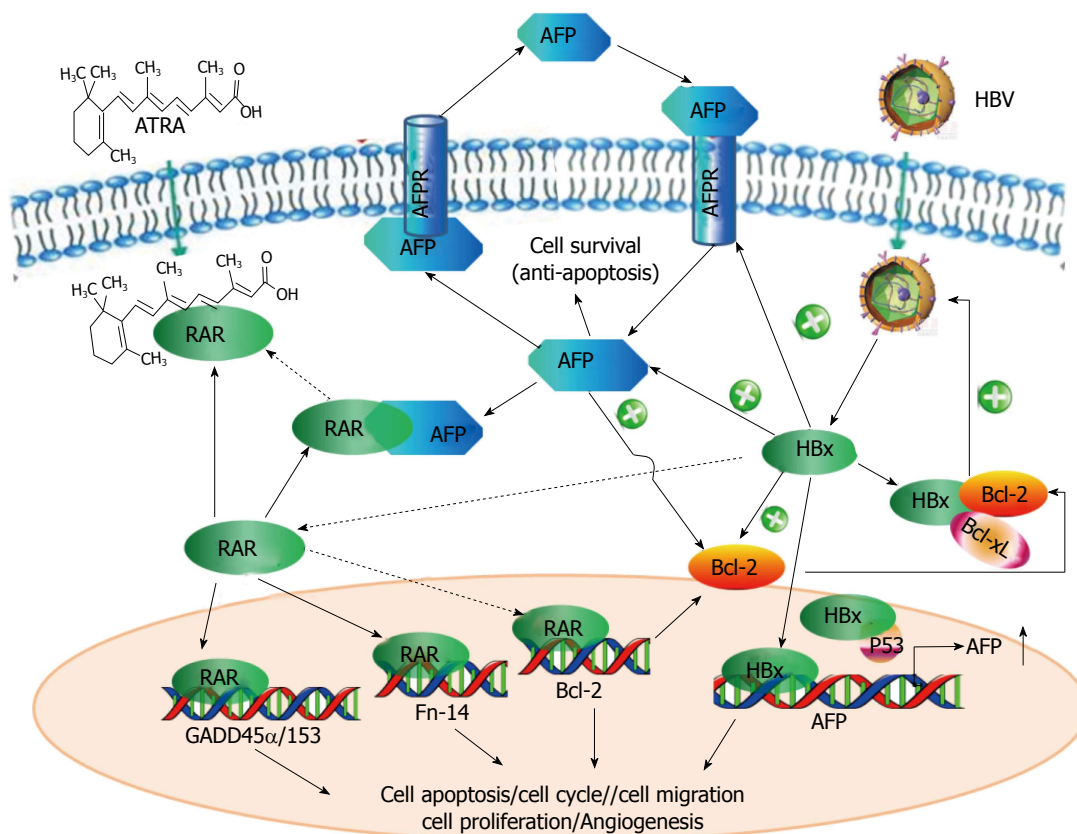


图 5 HBV与AFP的关系以及他们的多种生物活性. HBV: 乙型肝炎病毒; AFP: 甲胎蛋白; ATRA: 全反式维甲酸; HBx: 乙型肝炎病毒x蛋白.

RAR- β_2 这个关键执行者, 加之AFP又与ATRA竞争结合RAR, 故而ATRA不能发挥其抗肿瘤作用. HBx不但可以促进AFP的表达, 还可以促进AFPR的表达, AFPR的表达增加可促使对外泌AFP的吸收, 研究^[64]认为AFPR可作为HBx蛋白驱动肝癌的早期指标及应用于追踪癌细胞转移. HBx还可以通过结构中Bcl-2 homology 3 (BH3)-like基序与Bcl-2和Bcl-xL相互作用, 升高细胞内的 Ca^{2+} 浓度, 促进HBV复制^[65]. 如此, HBV-HBx-(AFPR)-AFP-Bcl-2-HBV在细胞内就如同形成一个正反馈的通路, 不断加速细胞的恶性进程. 近期研究^[66]发现, HBx对AFP的表达影响早于很多原癌基因, 如*Src*、*CXCR4*和*Ras*, AFP与PTEN结合, 激活PI3K/Akt通路且促进mTOR介导的对转录因子缺氧诱导因子1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)的刺激, 因而导致*Src*、*CXCR4*和*Ras*等原癌基因激活, 这让AFP在HBV诱导肝癌的发生过程中的作用, 显得愈发重要.

针对已知HBV(主要是HBx)和AFP关系的研究, 以及我们实验室对其二者的研究成果, 总结绘图如图5.

6 结论

2015年, 加拿大Partnership抗癌中心的Allemani博士等在*LANCET*杂志在线版发文, 通过对以人口为基础的登记数据进行中心分析得出全球癌症生存率监测数据. 所有国家肝癌和肺癌仍是致命性疾病, 这两种癌症的5年生存率欧洲均低于20%, 北美则为15%-19%, 蒙古和泰国低至7%-9%, 可见肝癌的形势非常严峻. 由上述可知, AFP在HBV诱导的肝癌发生发展过程中发挥了重要作用是毋庸置疑的. 如能加深对AFP作用机制的研究, 必将成为未来治疗肝癌的一个新靶点. 换言之, 如果能够直接降低HCC患者体内的AFP水平, 或对AFP基因加以沉默是否会有助于疾病的治疗呢?

研究^[67-72]发现, 从中药淫羊藿中提取得到的一种单一有效成分, 命名为阿可拉定(Icaritin), 化学名为3,5,7-三羟基-2-(4-羟甲基苯基)-8-(3-甲基丁烯基-2)-1,2-苯并吡喃酮-4, 已被证实对多种肿瘤具有抑制生长和促进凋亡的作用. 他可通过抑制JAK/STAT3信号, 降低受STAT3调节的Bcl-xL、Mcl-1、Survivin和CyclinD1等蛋白质的水平; 导致细胞周期S期阻滞; 激活

Fas、Caspase3、Caspase8、Caspase9、DNA 修复酶(poly ADP-ribose polymerase, PARP), 降低Bcl-2、c-Myc、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP)、CDK2等蛋白质水平; 以及改变Bcl-2/Bax比例等途径, 来抑制肾癌细胞、Burkitt淋巴瘤细胞、肝癌细胞、肺癌细胞、胶质母细胞瘤细胞、骨肉瘤细胞等的生长并促进凋亡。这种药物经过一定的修饰、改造, 应用于临床试验(现已进入临床III期)发现, 其能明显降低部分肝癌患者的AFP的水平, 在保守治疗下达到良好的预后效果, 而AFP水平不能降低的患者, 预后较差。这一过程中, 阿可拉定是如何降低AFP, 以及为什么只有一部分患者对药物处理有反应, 其中的机制我们尚不清楚, 但我们有理由相信, 随着对AFP研究的不断深入, 对AFP生物学效应和作用机制的不断清晰明确, 一定能够为临床HCC的治疗提供更多更好的方法。

7 参考文献

- Jeng LB, Lee WC, Wang CC, Chen MF, Hsieh TT. Hepatocellular carcinoma in a pregnant woman detected by routine screening of maternal alpha-fetoprotein. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172: 219-220 [PMID: 7531398 DOI: 10.1016/0002-9378(95)90121-3]
- Venook AP, Papandreou C, Furuse J, de Guevara LL. The incidence and epidemiology of hepatocellular carcinoma: a global and regional perspective. *Oncologist* 2010; 15 Suppl 4: 5-13 [PMID: 21115576 DOI: 10.1634/theoncologist.2010-S4-05]
- Iavarone M, Colombo M. HBV-related HCC, clinical issues and therapy. *Dig Liver Dis* 2011; 43 Suppl 1: S32-S39 [PMID: 21195370 DOI: 10.1016/S1590-8658(10)60690-1]
- Neuveut C, Wei Y, Buendia MA. Mechanisms of HBV-related hepatocarcinogenesis. *J Hepatol* 2010; 52: 594-604 [PMID: 20185200 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.10.033]
- Tangkijvanich P, Anukulkarnkusol N, Suwangool P, Lertmaharit S, Hanvivatvong O, Kullavanijaya P, Poovorawan Y. Clinical characteristics and prognosis of hepatocellular carcinoma: analysis based on serum alpha-fetoprotein levels. *J Clin Gastroenterol* 2000; 31: 302-308 [PMID: 11129271 DOI: 10.1097/00004836-200012000-00007]
- Suriapranata IM, Sudania WM, Tjong WY, Suciptan AA, Gani RA, Hasan I, Sanityoso A, Budihusodo U, Miskad UA, Akil F, Lelosutan SA, Martamala R, Yusuf I, Lesmana LA, Sulaiman A, Tai S. Alpha-fetoprotein gene polymorphisms and risk of HCC and cirrhosis. *Clin Chim Acta* 2010; 411: 351-358 [PMID: 19968979 DOI: 10.1016/j.cca.2009.11.030]
- Mitsuhashi N, Kobayashi S, Doki T, Kimura F, Shimizu H, Yoshidome H, Ohtsuka M, Kato A, Yoshitomi H, Nozawa S, Furukawa K, Takeuchi D, Suda K, Miura S, Miyazaki M. Clinical significance of alpha-fetoprotein: involvement in proliferation, angiogenesis, and apoptosis of hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: e189-e197 [PMID: 18466288 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05340.x]
- Morinaga T, Sakai M, Wegmann TG, Tamaoki T. Primary structures of human alpha-fetoprotein and its mRNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80: 4604-4608 [PMID: 6192439]
- Mizejewski GJ. Alpha-fetoprotein structure and function: relevance to isoforms, epitopes, and conformational variants. *Exp Biol Med* (Maywood) 2001; 226: 377-408 [PMID: 11393167]
- Mizejewski GJ. An apparent dimerization motif in the third domain of alpha-fetoprotein: molecular mimicry of the steroid/thyroid nuclear receptor superfamily. *Bioessays* 1993; 15: 427-432 [PMID: 7689318]
- Dauphinée MJ, Mizejewski GJ. Human alpha-fetoprotein contains potential heterodimerization motifs capable of interaction with nuclear receptors and transcription/growth factors. *Med Hypotheses* 2002; 58: 453-461 [PMID: 12323110 DOI: 10.1054/mehy.2001.1445]
- Li M, Zhou S, Liu X, Li P, McNutt MA, Li G. alpha-Fetoprotein shields hepatocellular carcinoma cells from apoptosis induced by tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand. *Cancer Lett* 2007; 249: 227-234 [PMID: 17046153 DOI: 10.1016/j.canlet.2006.09.004]
- Li P, Wang SS, Liu H, Li N, McNutt MA, Li G, Ding HG. Elevated serum alpha fetoprotein levels promote pathological progression of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4563-4571 [PMID: 22147961 DOI: 10.3748/wjg.v17.i41.4563]
- Wang XW, Xie H. Alpha-fetoprotein enhances the proliferation of human hepatoma cells in vitro. *Life Sci* 1999; 64: 17-23 [PMID: 10027738 DOI: 10.1016/S0024-3205(98)00529-3]
- Semeniuk DJ, Boismenu R, Tam J, Weissenhofer W, Murgita RA. Evidence that immunosuppression is an intrinsic property of the alpha-fetoprotein molecule. *Adv Exp Med Biol* 1995; 383: 255-269 [PMID: 8644510 DOI: 10.1007/978-1-4615-1891-4_27]
- Wang XW, Xu B. Stimulation of tumor-cell growth by alpha-fetoprotein. *Int J Cancer* 1998; 75: 596-599 [PMID: 9466662]
- Yamada A, Hayami M. Suppression of natural killer cell activity by chicken alpha-fetoprotein in Japanese quails. *J Natl Cancer Inst* 1983; 70: 735-738 [PMID: 6187964]
- Evdokimova VN, Liu Y, Potter DM, Butterfield LH. AFP-specific CD4+ helper T-cell responses in healthy donors and HCC patients. *J Immunother* 2007; 30: 425-437 [PMID: 17457217 DOI: 10.1097/CJI.0b013e31802fd8e2]
- Li MS, Ma QL, Chen Q, Liu XH, Li PF, Du GG, Li G. Alpha-fetoprotein triggers hepatoma cells escaping from immune surveillance through altering the expression of Fas/FasL and tumor necrosis factor related apoptosis-inducing ligand and its receptor of lymphocytes and liver cancer cells. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 2564-2569 [PMID: 15849812 DOI: 10.3748/wjg.v11.i17.2564]
- Li M, Li H, Li C, Zhou S, Guo L, Liu H, Jiang W, Liu X, Li P, McNutt MA, Li G. Alpha fetoprotein is a novel protein-binding partner for caspase-3 and blocks the apoptotic signaling pathway in human

- hepatoma cells. *Int J Cancer* 2009; 124: 2845-2854 [PMID: 19267404 DOI: 10.1002/ijc.24272]
- 21 Li M, Li H, Li C, Wang S, Jiang W, Liu Z, Zhou S, Liu X, McNutt MA, Li G. Alpha-fetoprotein: a new member of intracellular signal molecules in regulation of the PI3K/AKT signaling in human hepatoma cell lines. *Int J Cancer* 2011; 128: 524-532 [PMID: 20473866 DOI: 10.1002/ijc.25373]
 - 22 Li M, Li H, Li C, Guo L, Liu H, Zhou S, Liu X, Chen Z, Shi S, Wei J, McNutt MA, Li G. Cytoplasmic alpha-fetoprotein functions as a co-repressor in RA-RAR signaling to promote the growth of human hepatoma Bel 7402 cells. *Cancer Lett* 2009; 285: 190-199 [PMID: 19501957 DOI: 10.1016/j.canlet.2009.05.014]
 - 23 Young RL, Korsmeyer SJ. A negative regulatory element in the bcl-2 5'-untranslated region inhibits expression from an upstream promoter. *Mol Cell Biol* 1993; 13: 3686-3697 [PMID: 8388542]
 - 24 Wang S, Jiang W, Chen X, Zhang C, Li H, Hou W, Liu Z, McNutt MA, Lu F, Li G. Alpha-fetoprotein acts as a novel signal molecule and mediates transcription of Fn14 in human hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2012; 57: 322-329 [PMID: 22521346 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.03.029]
 - 25 Li C, Wang S, Jiang W, Li H, Liu Z, Zhang C, McNutt MA, Li G. Impact of intracellular alpha fetoprotein on retinoic acid receptors-mediated expression of GADD153 in human hepatoma cell lines. *Int J Cancer* 2012; 130: 754-764 [PMID: 21365646 DOI: 10.1002/ijc.26025]
 - 26 Bocaneti F, Altamura G, Corteggio A, Velescu E, Borzacchiello G. Expression of bcl-2 and p53 in bovine cutaneous fibropapillomas. *Infect Agent Cancer* 2015; 10: 2 [PMID: 25601891 DOI: 10.1186/1750-9378-10-2]
 - 27 Hoffman B, Liebermann DA. Gadd45 in modulation of solid tumors and leukemia. *Adv Exp Med Biol* 2013; 793: 21-33 [PMID: 24104471 DOI: 10.1007/978-1-4614-8289-5_2]
 - 28 Peck AB, Murgita RA, Wigzell H. Cellular and genetic restrictions in the immunoregulatory activity of alpha-fetoprotein. III. Role of the MLC-stimulating cell population in alpha-fetoprotein-induced suppression of T cell-mediated cytotoxicity. *J Immunol* 1982; 128: 1134-1140 [PMID: 6173421]
 - 29 Mizejewski GJ. Review of the adenocarcinoma cell surface receptor for human alpha-fetoprotein; proposed identification of a widespread mucin as the tumor cell receptor. *Tumour Biol* 2013; 34: 1317-1336 [PMID: 23446764 DOI: 10.1007/s13277-013-0704-4]
 - 30 Mizejewski GJ. The adenocarcinoma cell surface mucin receptor for alpha-fetoprotein: is the same receptor present on circulating monocytes and macrophages? A commentary. *Tumour Biol* 2014; 35: 7397-7402 [PMID: 24916573 DOI: 10.1007/s13277-014-2183-7]
 - 31 Li MS, Li PF, He SP, Du GG, Li G. The promoting molecular mechanism of alpha-fetoprotein on the growth of human hepatoma Bel7402 cell line. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 469-475 [PMID: 12046072]
 - 32 Fang ZL, Sabin CA, Dong BQ, Wei SC, Chen QY, Fang KX, Yang JY, Huang J, Wang XY, Harrison TJ. Hepatitis B virus pre-S deletion mutations are a risk factor for hepatocellular carcinoma: a matched nested case-control study. *J Gen Virol* 2008; 89: 2882-2890 [PMID: 18931087 DOI: 10.1099/vir.0.2008/002824-0]
 - 33 Parvez MK. HBV and HIV co-infection: Impact on liver pathobiology and therapeutic approaches. *World J Hepatol* 2015; 7: 121-126 [PMID: 25625003 DOI: 10.4254/wjh.v7.i1.121]
 - 34 Olawumi HO, Olanrewaju DO, Shittu AO, Durotoye IA, Akande AA, Nyamngee A. Effect of hepatitis-B virus co-infection on CD4 cell count and liver function of HIV infected patients. *Ghana Med J* 2014; 48: 96-100 [PMID: 25667557 DOI: 10.4314/gmj.v48i2.7]
 - 35 Sherman M. Risk of hepatocellular carcinoma in hepatitis B and prevention through treatment. *Cleve Clin J Med* 2009; 76 Suppl 3: S6-S9 [PMID: 19465708 DOI: 10.3949/ccjm.76.s3.02]
 - 36 Guerrieri F, Belloni L, Pediconi N, Levrero M. Molecular mechanisms of HBV-associated hepatocarcinogenesis. *Semin Liver Dis* 2013; 33: 147-156 [PMID: 23749671 DOI: 10.1055/s-0033-1345721]
 - 37 Bouchard MJ, Navas-Martin S. Hepatitis B and C virus hepatocarcinogenesis: lessons learned and future challenges. *Cancer Lett* 2011; 305: 123-143 [PMID: 21168955 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.11.014]
 - 38 Hai H, Tamori A, Kawada N. Role of hepatitis B virus DNA integration in human hepatocarcinogenesis. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 6236-6243 [PMID: 24876744 DOI: 10.3748/wjg.v20.i20.6236]
 - 39 Villanueva A, Chiang DY, Newell P, Peix J, Thung S, Alsinet C, Tovar V, Roayaie S, Minguez B, Sole M, Battiston C, Van Laarhoven S, Fiel MI, Di Feo A, Hoshida Y, Yea S, Toffanin S, Ramos A, Martignetti JA, Mazzaferro V, Bruix J, Waxman S, Schwartz M, Meyerson M, Friedman SL, Llovet JM. Pivotal role of mTOR signaling in hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2008; 135: 1972-1983, 1983. e1-e11 [PMID: 18929564 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.08.008]
 - 40 de La Coste A, Romagnolo B, Billuart P, Renard CA, Buendia MA, Soubrane O, Fabre M, Chelly J, Beldjord C, Kahn A, Perret C. Somatic mutations of the beta-catenin gene are frequent in mouse and human hepatocellular carcinomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 8847-8851 [PMID: 9671767 DOI: 10.1073/pnas.95.15.8847]
 - 41 Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144: 646-674 [PMID: 21376230 DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013]
 - 42 Ng SA, Lee C. Hepatitis B virus X gene and hepatocarcinogenesis. *J Gastroenterol* 2011; 46: 974-990 [PMID: 21647825 DOI: 10.1007/s00535-011-0415-9]
 - 43 Su Q, Schröder CH, Hofmann WJ, Otto G, Pichlmayr R, Bannasch P. Expression of hepatitis B virus X protein in HBV-infected human livers and hepatocellular carcinomas. *Hepatology* 1998; 27: 1109-1120 [PMID: 9537452 DOI: 10.1002/hep.510270428]
 - 44 Zhang H, Wu LY, Zhang S, Qiu LY, Li N, Zhang X, Zhang XZ, Shan CL, Ye LH, Zhang XD. Anti-hepatitis B virus X protein in sera is one of the markers of development of liver cirrhosis and liver cancer mediated by HBV. *J Biomed Biotechnol*

- 2009; 2009: 289068 [PMID: 19746176 DOI: 10.1155/2009/289068]
- 45 Kim HR, Lee SH, Jung G. The hepatitis B viral X protein activates NF-kappaB signaling pathway through the up-regulation of TBK1. *FEBS Lett* 2010; 584: 525-530 [PMID: 19958770 DOI: 10.1016/j.febslet.2009.11.091]
- 46 Qadri I, Fatima K, AbdeL-Hafiz H. Hepatitis B virus X protein impedes the DNA repair via its association with transcription factor, TFIIH. *BMC Microbiol* 2011; 11: 48 [PMID: 21375739 DOI: 10.1186/1471-2180-11-48]
- 47 Tanaka Y, Kanai F, Ichimura T, Tateishi K, Asaoka Y, Guleng B, Jazag A, Ohta M, Imamura J, Ikenoue T, Ijichi H, Kawabe T, Isobe T, Omata M. The hepatitis B virus X protein enhances AP-1 activation through interaction with Jab1. *Oncogene* 2006; 25: 633-642 [PMID: 16247477 DOI: 10.1038/sj.onc.1209093]
- 48 Tang H, Delgermaa L, Huang F, Oishi N, Liu L, He F, Zhao L, Murakami S. The transcriptional transactivation function of HBx protein is important for its augmentation role in hepatitis B virus replication. *J Virol* 2005; 79: 5548-5556 [PMID: 15827169 DOI: 10.1128/JVI.79.9.5548-5556.2005]
- 49 Murata M, Matsuzaki K, Yoshida K, Sekimoto G, Tahashi Y, Mori S, Uemura Y, Sakaida N, Fujisawa J, Seki T, Kobayashi K, Yokote K, Koike K, Okazaki K. Hepatitis B virus X protein shifts human hepatic transforming growth factor (TGF)-beta signaling from tumor suppression to oncogenesis in early chronic hepatitis B. *Hepatology* 2009; 49: 1203-1217 [PMID: 19263472 DOI: 10.1002/hep.22765]
- 50 Zhou MX, Watabe M, Watabe K. The X-gene of human hepatitis B virus transactivates the c-jun and alpha-fetoprotein genes. *Arch Virol* 1994; 134: 369-378 [PMID: 7510474 DOI: 10.1007/BF01310574]
- 51 Zhang X, Zhang H, Ye L. Effects of hepatitis B virus X protein on the development of liver cancer. *J Lab Clin Med* 2006; 147: 58-66 [PMID: 16459163 DOI: 10.1016/j.lab.2005.10.003]
- 52 Li W, Miao X, Qi Z, Zeng W, Liang J, Liang Z. Hepatitis B virus X protein upregulates HSP90alpha expression via activation of c-Myc in human hepatocarcinoma cell line, HepG2. *Virol J* 2010; 7: 45 [PMID: 20170530 DOI: 10.1186/1743-422X-7-45]
- 53 Park IY, Sohn BH, Yu E, Suh DJ, Chung YH, Lee JH, Surzycki SJ, Lee YI. Aberrant epigenetic modifications in hepatocarcinogenesis induced by hepatitis B virus X protein. *Gastroenterology* 2007; 132: 1476-1494 [PMID: 17408664 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.01.034]
- 54 Zheng DL, Zhang L, Cheng N, Xu X, Deng Q, Teng XM, Wang KS, Zhang X, Huang J, Han ZG. Epigenetic modification induced by hepatitis B virus X protein via interaction with de novo DNA methyltransferase DNMT3A. *J Hepatol* 2009; 50: 377-387 [PMID: 19070387 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.10.019]
- 55 Wang WH, Studach LL, Andrisani OM. Proteins ZNF198 and SUZ12 are down-regulated in hepatitis B virus (HBV) X protein-mediated hepatocyte transformation and in HBV replication. *Hepatology* 2011; 53: 1137-1147 [PMID: 21480320 DOI: 10.1002/hep.24163]
- 56 Montaser LM, Abbas OM, Saltah AM, Waked IA. Circulating AFP mRNA as a Possible Indicator of Hematogenous Spread of HCC Cells: A Possible Association with HBV Infection. *J Egypt Natl Canc Inst* 2007; 19: 48-60 [PMID: 18839035]
- 57 Luo K, Liu Z, Karayiannis P. Effect of antiviral treatment on alpha-fetoprotein levels in HBV-related cirrhotic patients: early detection of hepatocellular carcinoma. *J Viral Hepat* 2010; 17: 511-517 [PMID: 19818003 DOI: 10.1111/j.1365-2893.2009.01208.x]
- 58 Lee KC, Crowe AJ, Barton MC. p53-mediated repression of alpha-fetoprotein gene expression by specific DNA binding. *Mol Cell Biol* 1999; 19: 1279-1288 [PMID: 9891062]
- 59 Ogden SK, Lee KC, Barton MC. Hepatitis B viral transactivator HBx alleviates p53-mediated repression of alpha-fetoprotein gene expression. *J Biol Chem* 2000; 275: 27806-27814 [PMID: 10842185 DOI: 10.1074/jbc.M004449200]
- 60 Arima T, Nakao K, Nakata K, Ishikawa H, Ichikawa T, Hamasaki K, Ishii N, Eguchi K. Transactivation of human alpha-fetoprotein gene by X-gene product of hepatitis B virus in human hepatoma cells. *Int J Mol Med* 2002; 9: 397-400 [PMID: 11891535 DOI: 10.3892/ijmm.9.4.397]
- 61 Rasooly R, Schuster GU, Gregg JP, Xiao JH, Chandraratna RA, Stephensen CB. Retinoid x receptor agonists increase bcl2a1 expression and decrease apoptosis of naive T lymphocytes. *J Immunol* 2005; 175: 7916-7929 [PMID: 16339527 DOI: 10.4049/jimmunol.175.12.7916]
- 62 Niu D, Feng H, Chen WN. Proteomic analysis of HBV-associated HCC: insights on mechanisms of disease onset and biomarker discovery. *J Proteomics* 2010; 73: 1283-1290 [PMID: 20188222 DOI: 10.1016/j.jprot.2010.02.016]
- 63 Jung JK, Park SH, Jang KL. Hepatitis B virus X protein overcomes the growth-inhibitory potential of retinoic acid by downregulating retinoic acid receptor-beta2 expression via DNA methylation. *J Gen Virol* 2010; 91: 493-500 [PMID: 19828754 DOI: 10.1099/vir.0.015149-0]
- 64 Li M, Zhu M, Li W, Lu Y, Xie X, Wu Y, Zheng S. Alpha-fetoprotein receptor as an early indicator of HBx-driven hepatocarcinogenesis and its applications in tracing cancer cell metastasis. *Cancer Lett* 2013; 330: 170-180 [PMID: 23211536 DOI: 10.1016/j.canlet.2012.11.042]
- 65 Geng X, Huang C, Qin Y, McCombs JE, Yuan Q, Harry BL, Palmer AE, Xia NS, Xue D. Hepatitis B virus X protein targets Bcl-2 proteins to increase intracellular calcium, required for virus replication and cell death induction. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109: 18471-18476 [PMID: 23091012 DOI: 10.1073/pnas.1204668109]
- 66 Zhu M, Guo J, Li W, Lu Y, Fu S, Xie X, Xia H, Dong X, Chen Y, Quan M, Zheng S, Xie K, Li M. Hepatitis B virus X protein induces expression of alpha-fetoprotein and activates PI3K/mTOR signaling pathway in liver cells. *Oncotarget* 2015; 6: 12196-12208 [PMID: 25682869]
- 67 Li S, Priceman SJ, Xin H, Zhang W, Deng J, Liu Y, Huang J, Zhu W, Chen M, Hu W, Deng X, Zhang J, Yu H, He G. Icaritin inhibits JAK/STAT3 signaling and growth of renal cell carcinoma. *PLoS One* 2013; 8: e81657 [PMID: 24324713 DOI: 10.1371/journal.

- pone.0081657]
- 68 Li ZJ, Yao C, Liu SF, Chen L, Xi YM, Zhang W, Zhang GS. Cytotoxic effect of icaritin and its mechanisms in inducing apoptosis in human burkitt lymphoma cell line. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 391512 [PMID: 24895574 DOI: 10.1155/2014/391512]
- 69 Wang XF, Wang J. Icaritin suppresses the proliferation of human osteosarcoma cells in vitro by increasing apoptosis and decreasing MMP expression. *Acta Pharmacol Sin* 2014; 35: 531-539 [PMID: 24608674 DOI: 10.1038/aps.2013.178]
- 70 Zheng Q, Liu WW, Li B, Chen HJ, Zhu WS, Yang GX, Chen MJ, He GY. Anticancer effect of icaritin on human lung cancer cells through inducing S phase cell cycle arrest and apoptosis. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2014; 34: 497-503 [PMID: 25135717 DOI: 10.1007/s11596-014-1305-1]
- 71 Han H, Xu B, Hou P, Jiang C, Liu L, Tang M, Yang X, Zhang Y, Liu Y. Icaritin Sensitizes Human Glioblastoma Cells to TRAIL-Induced Apoptosis. *Cell Biochem Biophys* 2015 Jan 11. [Epub ahead of print] [PMID: 25577511 DOI: 10.1007/s12013-014-0499-y]
- 72 Sun L, Peng Q, Qu L, Gong L, Si J. Anticancer agent icaritin induces apoptosis through caspase-dependent pathways in human hepatocellular carcinoma cells. *Mol Med Rep* 2015; 11: 3094-3100 [PMID: 25434584 DOI: 10.3892/mmr.2014.3007]

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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》于 2012-12-26 获得 RCCSE 中国权威学术期刊 (A+) 称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6 448种中文学术期刊参与评价,计算出各刊的最终得分,并将期刊最终得分按照从高到低依次排列,按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围。其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%。

经导管动脉化疗栓塞术对肝癌转移潜能的影响

康振, 肖恩华

背景资料

经导管动脉化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)对肝癌转移潜能的影响目前观点尚不统一。

康振, 肖恩华, 中南大学湘雅二医院放射科 湖南省长沙市 410011

肖恩华, 教授, 主任医师, 博士生导师, 主要从事腹部影像诊断及介入治疗研究。

湖南省社发领域科技支撑计划项目, No. 2015SF2020-4

作者贡献分布: 本文综述由康振完成; 肖恩华审校。

通讯作者: 肖恩华, 教授, 主任医师, 博士生导师, 410011, 湖南省长沙市芙蓉区人民中路139号, 中南大学湘雅二医院放射科, cjr.xiaoenhua@vip.163.com

电话: 0731-85292116

收稿日期: 2015-04-06 修回日期: 2015-06-01

接受日期: 2015-06-11 在线出版日期: 2015-07-18

Effect of transcatheter arterial chemoembolization on metastasis potential of hepatocellular carcinoma

Zhen Kang, En-Hua Xiao

Zhen Kang, En-Hua Xiao, Department of Radiology, the Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, Hu'nan Province, China

Supported by: Hunan Province Scientific and Technological Support Project in the Field of Social Development, No. 2015SF2020-4

Correspondence to: En-Hua Xiao, Professor, Chief Physician, Department of Radiology, the Second Xiangya Hospital, Central South University, 139 Renmin Middle Road, Furong District, Changsha 410011, Hu'nan Province, China. cjr.xiaoenhua@vip.163.com

Received: 2015-04-06 Revised: 2015-06-01

Accepted: 2015-06-11 Published online: 2015-07-18

Abstract

Transcatheter arterial chemoembolization (TACE) is an important treatment method for advanced hepatocellular carcinoma (HCC), but whether it promotes the metastasis potential of HCC is still controversial. TACE can inhibit tumor cell proliferation, promote tumor cell apoptosis, increase the expression of tumor-suppressor

factors, and decrease the expression of some tumor angiogenesis factors, thus benefiting HCC patients and decreasing the metastasis potential of HCC. However, TACE could increase the expression of some angiogenesis factors, change the hemodynamics of HCC, and bring some adverse impacts on patients' immune system and HBV load, which could potentially lead to HCC metastasis. This review summarizes the impacts of TACE on tumor cells, tumor hemodynamics, angiogenesis, immune function and HBV load, with an aim to elucidate the effect of TACE on HCC metastasis potential.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Transcatheter arterial chemoembolization; Hepatocellular carcinoma; Metastasis; Cell apoptosis; Tumor suppressor factor; Tumor angiogenesis factor; Immune; Hepatitis B virus

Kang Z, Xiao EH. Effect of transcatheter arterial chemoembolization on metastasis potential of hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(20): 3182-3187 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3182.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i20.3182>

摘要

经导管动脉化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)是治疗中晚期肝癌的重要方法, 但其是否促进肝癌的转移潜能, 目前研究观点尚不统一。TACE可通过抑制肝癌细胞增殖, 促进肿瘤细胞凋亡, 促使抑癌因子表达增加, 降低部分肿瘤血管生成因子的表达, 使肝癌患者获益并降低肝癌转移潜能; 但也可能使部分肿瘤血管

同行评议者

孙诚谊, 教授, 贵阳医学院附属医院; 李家平, 教授, 主任医师, 中山大学附属第一医院肿瘤介入科

生成因子表达增加, 改变肝癌供应血流动力学, 对患者免疫及病毒载量一些可能的负面影响而成为肝癌转移的潜在危险因素. 本文从TACE对肿瘤细胞、血管改变及生成、免疫、病毒的影响各方面作一综述, 阐述TACE对肝癌转移潜能的可能影响.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 经导管动脉化疗栓塞术; 肝癌; 转移; 细胞凋亡; 抑癌因子; 肿瘤血管生成因子; 免疫; 乙型肝炎病毒

核心提示: 本研究从经导管动脉化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)对肝癌细胞的作用, 肿瘤供血血管宏观及微观的改变, 转移抑制相关因子、肿瘤血管生成因子、免疫、乙型肝炎病毒的变化这些方面综合阐述了TACE对肝癌转移的影响.

康振, 肖恩华. 经导管动脉化疗栓塞术对肝癌转移潜能的影响. 世界华人消化杂志 2015; 23(20): 3182-3187 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3182.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i20.3182>

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是最常见的原发性肝脏恶性肿瘤, 约占90%, 根据国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer)数据显示, 每年大约有670000新发肝癌病例^[1], 使其成为全球发病率第5位和致死率第3位的癌症. 一般来说, 只有不到30%-40%的肝癌患者能获得潜在治愈性疗法, 包括手术切除和肝移植, 因为患者在确诊时往往处于晚期, 而失去治愈的机会^[2].

经导管动脉化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)通过超选肿瘤供血动脉将药物包括化疗药物、栓塞剂或放射性物质输送至肝癌病灶, 被证明是能提高肝癌患者生存率的治疗方法, >50%的肝癌患者对TACE存在客观的反应, 表现为肿瘤的坏死, 最终转变为患者生存率的提高, 随机对照试验^[3]和系统评价^[4]等证据级别较高的研究均证明这一观点.

但TACE也有其自身弊端, TACE难以完全栓塞肿瘤供血血管, 改变肝癌血流动力学, 术中术后缺血缺氧等因素可造成侧支供血、血管新生, 从而影响TACE疗效, 对于不能接受手术

切除及射频消融的肝癌患者其5年生存率仅有17.0%-38.8%^[5], 且有研究^[6]显示TACE仅对分化好的肝癌有效, 对于低分化的肝癌效果较差, 残余肝癌细胞将更具有侵袭性, 且可游离至血液中, 造成肝内外转移, 虽然TACE可反复再次治疗, 但从长期看其控制肿瘤的能力仍欠佳^[7], 患者容易发生复发和转移^[8]. 本文将本研究团队近年来的研究成果做一总结, 同时从宏观及微观方面阐述TACE对肝癌转移潜能的影响.

1 TACE对HCC肿瘤细胞及转移的影响

本研究团队早期研究显示接受TACE治疗的肝癌患者中位生存期为803.3 d, 1、2、3年生存率分别为84.0%、67.9%、40.7%, 均高于单纯手术组, 提示TACE治疗HCC安全有效, 可改善患者的生存率. TACE术后, 与肿瘤细胞增殖活性相关的*p53*、*PCNA*、*Ki-67*基因及癌基因*bcl-2*表达下降, 而细胞凋亡基因*bax*表达增加, 并且TACE可诱导细胞凋亡, 引起肿瘤坏死, 促使肿瘤包膜形成、体积缩小, 导致转移潜能下降^[9].

我们进一步发现TACE抑制肝癌转移潜能是通过抑制肝癌细胞增殖指数、S期细胞比率而实现的, 而肿瘤DNA指数与转移关系不大, 多次、多材料联合化疗栓塞、重复治疗间隔<2 mo对肝癌转移潜能抑制作用最强, 这也是目前国内TACE治疗肝癌的普遍观念^[10].

2 TACE对肝癌侧支血管形成及转移的影响

多次TACE(≥ 2 次)有可能引起肝癌细胞通过外周血转移^[11], 推测可能与肝癌TACE术后血流动力学改变有关, 包括供瘤血管难以完全栓塞、已栓塞血管再通、部分门脉参与供血, 且局部肿瘤处于缺氧环境, 诱发肿瘤血管生成, 在宏观上表现为供瘤血管侧支形成或潜在交通支的开放^[12]. 丁勋^[13]报道肝癌TACE术后, 近半数出现了侧支循环, 其中又有约70%为肝外侧支, 且随着TACE次数的增加, 肝外侧支循环发生率增加, 从第1次TACE术后的10.2%到第4次TACE术后的75.0%, 侧支循环的起源均为靠近肿瘤或临近肝脏的主要解剖血管, 如膈下动脉、肠系膜上动脉、胃的多根供血血管等, 随着TACE次数的增加, 潜在的侧支血管增多, 从而导致肝癌细胞血行转移的风险增加. 这提示我们无论哪一次TACE, 术中应尽量仔细寻找供瘤血管, 将其进行栓塞, 以最大程度地栓塞

■ 相关报道

高国政报道TACE术后肝癌的复发或转移与栓塞是否彻底、侧支循环的建立密切相关. 亦有较多的研究报道了许多因子参与肝癌的转移过程. 本文综合各方面研究观点, 概述TACE对肝癌转移潜能的影响.

应用要点

TACE对肝癌细胞有促坏死凋亡的作用, 并具备抑制肝癌转移的潜能, 但在侧支形成、微血管生成方面需要引起临床医生的注意及给予相应的治疗措施, 防止肝癌转移, 同时检测患者的免疫状态、乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)载量也可用于病情的评估及预后。

供瘤血管, 防止肝癌的血管生成, 以减少肝癌的复发及转移。我们的研究提示TACE次数增加、栓塞量是肝癌进展的保护性因素。

3 TACE对微血管的影响

侧支或者新生血管是TACE术后的宏观表现, 从微观方面来讲, 是因为存在血管生成拟态, 血管生成拟态表现为肿瘤血管不规则, 缺乏完整的基底膜从而具有一定渗漏性, 血管存在异常分支模式, 并且癌细胞自身具有形成肿瘤血管通道的能力, 这些均是肝癌血管新生的基础及微观表现^[14]。同时TACE术后微血管密度增加, 也是血管新生的微观表现^[15]。微血管密度可能与血管生成相关因子有关, 这些血管生成因子在肝癌的侵袭转移中占有重要的地位, 将在下面叙述。

4 TACE对转移抑制相关因子的影响

我们早期研究^[16]显示转移抑制基因*nm23/ndpk*高表达可抑制HCC的转移, 不同TACE术后*nm23/ndpk*阳性率均高于手术后阳性表达率, 说明TACE没有促进HCC转移。这在随后的研究^[17]也得到验证, 术前TACE能提高转移抑制因子*nm23*的表达, 能潜在性地抑制HCC的转移并提高患者的生存率。

上皮型钙黏蛋白Ecad是转移抑制因子, 其高表达可抑制HCC侵袭转移潜能, 我们的研究^[18]表明不同HCC类型TACE术后Ecad表达不同, 对于梁索型和透明细胞型的肝癌, TACE术后Ecad表达下降, 而未分化型和实体型的肝癌TACE术后Ecad表达增高; 且随病理分级的增高Ecad表达减低, TACE治疗却可以使其增加, 提示TACE抑制了肝癌的转移。这在随后的研究中亦得到证实, Ecad在TACE组和直接手术组相比无差异, TACE对肝癌的侵袭转移能力未产生不良的影响, 术前行TACE治疗可使不能一期直接手术切除的肝癌患者获益^[19]。Ecad同时是上皮间质转化的标志之一, 他是肿瘤转移的重要机制, Ecad阴性的肝癌患者接受TACE治疗后, 其远期生存率较差, 容易早期复发^[20], 亦验证了我们的研究结果。

*CD151*是被证实的人类第一个促癌基因, 我们通过ELISA检测TACE术前后巨块型肝癌患者血清*CD151*的表达, 发现*CD151*在术后5-7 d表达水平明显升高, 术后30 d降低, 随访6 mo未发现明显复发及转移, 提示巨块型HCC患者接

受TACE治疗, 肿瘤的侵袭转移不明显^[21]。

5 TACE对肿瘤血管生成因子的影响

国内外许多研究研究了TACE对肿瘤血管生成因子的影响, 研究最多也比较成熟的是血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF), VEGF在TACE术后表达增高, 提示可能会增加HCC的转移潜能^[22]。Hsieh等^[23]报道TACE术后7 d VEGF-A>16.7 pg/mL可作为肿瘤快速生长的一个独立诊断标准, 其诊断敏感度是76%, 特异度是66.7%; 我们之前的一项研究^[24]亦证实, 血清VEGF高水平组(>100 ng/L)患者中74%再发, 而血清VEGF低水平组(<100 ng/L)的患者中无1例再发, 提示VEGF可以作为预测HCC患者介入后复发转移的生物学指标。同时不同栓塞程度对VEGF也会有不同影响, 完全栓塞后血清中VEGF逐渐增高, 至术后1 mo时下降; 大部分栓塞后血清中VEGF短期内明显下降, 至1 mo时增高; 小部分栓塞后血清中VEGF于术后3 d下降, 以后逐渐升高^[25], 提示介入医生应在患者耐受许可下尽量栓塞, 同时应给予抗血管生成治疗^[21], 尤其是在术后3 d-1 mo内。

基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase 9, MMP-9)是基质金属蛋白酶家族中促使VEGF释放的主要成分^[26], 通过促进细胞外基质水解进而促进HCC细胞的浸润转移^[27], 而TACE可以降低HCC组织MMP-9的表达, 提示TACE有可能抑制HCC细胞的转移潜能, 术前TACE有可能延长可切除HCC患者的生存期^[28], 且术后第2天MMP-2浓度下降, 虽术后30 d浓度升高, 但仍未超过治疗前水平, 提示肿瘤侵袭性较治疗前未增加, TACE未增加肝癌的侵袭性^[29]。

TACE术后, 组织的缺氧环境可能激活Akt、Erk通路, 激活缺氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF)-1 α 蛋白水平的增加^[30], 且HIF-1 α 的升高与VEGF升高具有相关性, 与门静脉侵犯及转移显著相关^[22], 提示HIF-1 α 可能参与肿瘤的侵袭转移。

其他的相关因子也有许多研究, 如胰岛素样生长因子(insulinlike growth factors, IGF)-II^[31]、Survivin^[32]、尿激酶型纤溶酶原激活因子(urokinase type plasminogen activator, uPA)^[33]、可溶性细胞黏附因子-1(soluble vascular cell adhesion molecule-1, sICAM-1)^[34]在TACE术后下降; 碱性成纤维因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)^[35]、肝细胞生长因子(hepatocyte growth

factor, HGF)^[36]、 α v整合素^[37]、血浆胎生生长因子(placental growth factor, PLGF)在TACE术后升高; 其他无显著相关性的为CD44V6^[38]、黑色素瘤抗原基因(melanoma antigen gene, MAGE-1)^[39]。而骨桥蛋白(osteopontin, OPN)尚存在不一致的观点^[40,41]。

以上研究显示TACE对常见且主要的抑癌因子及促肿瘤血管生成因子的影响, 总体效应倾向于TACE可抑制HCC的转移潜能。这些因子如同癌症相关的原癌基因与抑癌基因一样, 存在一种对立的关系, 但总体上看TACE可使患者获益, 抑制HCC的转移潜能, 至于那些潜在性促使HCC转移相关的血管生成因子在TACE术后有的表达增加, 目前支持其促使了HCC转移的证据略少, 检测这些因子可帮助评估TACE疗效, 为HCC有无残存、复发、转移及下一步的治疗方法提供参考依据。

6 TACE对免疫的影响

机体的免疫状态涉及很多方面, 包括天然性免疫和获得性免疫, 在TACE术后, 外周血的树突状细胞明显减少, 提示TACE可能影响肝癌患者的免疫功能, 且树突状细胞的减少与EVGF的表达水平明显升高有相关性^[42], 提示TACE术后免疫功能与肿瘤血管生成及肿瘤转移亦可能存在相关性。TACE对中性粒细胞/淋巴细胞比值影响不一, 但一项研究^[43]显示87.6%肝癌患者TACE术后中性粒细胞/淋巴细胞比值升高, 预后较好, 这可能与HCC患者免疫相关。

在TACE术前及术后1 wk, CD4(+)CD25(+)调节性T细胞的比例并未明显变化, 但术后1 mo病情稳定的患者中CD4(+)CD25(+)的比例下降, 而病情恶化的患者中CD4(+)CD25(+)的比例明显上升, 提示可根据CD4(+)CD25(+)的比例来预测患者的免疫功能及预后^[44]。TACE会使CD3、CD4和CD4/8水平显著增加, 也会增加免疫球蛋白和补体水平, 提示可能改善了肝癌患者的细胞免疫和体液免疫^[45]。

目前证据尚不能证明TACE对患者免疫功能产生负面影响, 监测患者的免疫功能可以帮助评估患者的病情及预后。

7 TACE对HBV的影响

我们对TACE后乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)的变化进行综述, 发现TACE对HBV的影响目前看法尚不一致^[46], 一些研究显示可激活

HBV病毒, 一般发生在TACE术后3 mo, HBV DNA中位水平为 1.58×10^4 IU/mL, 重要的预测因子包括血清总胆红素、肝硬化、TACE次数^[47]、术前白细胞减低^[48], 但亦有研究^[49]表明TACE并不会影响HBV DNA的水平及HBV的激活; 但无论TACE对HBV的影响如何, 监测HBV的变化及必要时的干预是很必要的, 一项研究^[50]显示HBV DNA高载量是TACE术后肝癌复发或转移的独立预测因子, 我们的研究亦提示HBV阳性是肝癌终末进展(包括复发及转移)的危险因素。

8 对策

从以上几方面提示我们应当尽量栓塞肝癌供血血管, 术后给予抗血管生成及抗HBV治疗, 同时肿瘤血管生成因子在肝癌的复发转移中占有重要的地位, 提示临床医生也从这些因子着手减少肝癌的复发转移, 有研究^[5]显示Batimastat(BB-94)是一种有效的、广谱MMP抑制剂, 联合TACE可减少肝癌的复发。HIF-1 α -ASODN能抑制TACE术后肿瘤新生血管生成, 且研制出特殊纳米粒子载体, 提高抗血管生成效率^[51]。通过基因敲除或者RNA干扰方法降低血管生成相关分子的表达, 可使缺氧条件下增强的细胞迁移和侵袭能力降低^[52]。研究能与肝癌细胞特异性结合的肽类物质, 并将其运用在TACE中, 更能提高治疗的靶向性, 尚需很大的努力。

9 结论

TACE对抑癌因子、肿瘤血管生成相关因子、免疫、HBV多方面的积极作用均提示TACE治疗HCC具有明确及肯定的效果, 对于一些肿瘤血管生成因子不利的影响要求我们筛选出高敏感性的转移相关因子, 用于评估HCC患者TACE术后的病情变化, 适时去再次干预, 并努力开发出相应的抑制剂及降低其表达的技术; TACE对免疫及HBV的影响尚不一致, 对其进行监测具有重要的意义。以后的研究可专注于微观环境的变化方面, 更好的改善TACE, 以利于提高HCC患者的生存率。

10 参考文献

- 1 Kudo M. Molecular targeted therapy for hepatocellular carcinoma: bench to bedside. *Dig Dis* 2011; 29: 273-277 [PMID: 21829017 DOI: 10.1159/000327558]

同行评价

本文将该团队近年来的研究成果做一总结, 从TACE对肿瘤细胞、侧枝血管、微血管、转移抑制相关因子、肿瘤血管生成因子、免疫、HBV等方面的影响归纳文献, 阐述了TACE对肝癌转移潜能的影响。文章思路清晰, 格式工整。

- 2 Song P, Tang W, Tamura S, Hasegawa K, Sugawara Y, Dong J, Kokudo N. The management of hepatocellular carcinoma in Asia: a guideline combining quantitative and qualitative evaluation. *Biosci Trends* 2010; 4: 283-287 [PMID: 21248425]
- 3 Lo CM, Ngan H, Tso WK, Liu CL, Lam CM, Poon RT, Fan ST, Wong J. Randomized controlled trial of transarterial lipiodol chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2002; 35: 1164-1171 [PMID: 11981766 DOI: 10.1053/jhep.2002.33156]
- 4 Marelli L, Stigliano R, Triantos C, Senzolo M, Cholongitas E, Davies N, Tibballs J, Meyer T, Patch DW, Burroughs AK. Transarterial therapy for hepatocellular carcinoma: which technique is more effective? A systematic review of cohort and randomized studies. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2007; 30: 6-25 [PMID: 17103105 DOI: 10.1007/s00270-006-0062-3]
- 5 Xiao L, Wang M. Batimastat nanoparticles associated with transcatheter arterial chemoembolization decrease hepatocellular carcinoma recurrence. *Cell Biochem Biophys* 2014; 70: 269-272 [PMID: 24639109 DOI: 10.1007/s12013-014-9893-8]
- 6 Gao ZH, Bai DS, Jiang GQ, Jin SJ. Review of preoperative transarterial chemoembolization for resectable hepatocellular carcinoma. *World J Hepatol* 2015; 7: 40-43 [PMID: 25624995 DOI: 10.4254/wjh.v7.i1.40]
- 7 Forner A, Llovet JM, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2012; 379: 1245-1255 [PMID: 22353262 DOI: 10.1016/S0140-6736(11)61347-0]
- 8 康振, 肖恩华. 肝细胞肝癌TACE术后血管改变研究进展. 国际医学放射学杂志 2013; 4: 353-356, 360
- 9 肖恩华, 胡国栋, 李锦清, 黄洁夫. 经导管动脉化疗栓塞治疗肝细胞癌的疗效观察. 中华肿瘤杂志 2005; 8: 478-482
- 10 肖恩华, 胡国栋, 李锦清, 张亚奇, 陈敏山. 化疗栓塞对肝细胞癌PI、SPF、DI的影响. 临床放射学杂志 2001; 8: 624-627
- 11 敖江帆, 肖永奇, 倪惠文. TACE治疗肝癌前后外周血中AFP mRNA的变化及其意义研究. 中华肿瘤防治杂志 2006; 15: 1188-1190
- 12 Miyayama S, Yamashiro M, Okuda M, Yoshie Y, Nakashima Y, Ikeno H, Orito N, Matsui O. The march of extrahepatic collaterals: analysis of blood supply to hepatocellular carcinoma located in the bare area of the liver after chemoembolization. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2010; 33: 513-522 [PMID: 19756862 DOI: 10.1007/s00270-009-9697-1]
- 13 丁勋. 原发性肝癌TACE术后血管改变及复发转移的部分因素分析. 昆明: 昆明医学院, 2007
- 14 Folberg R, Hendrix MJ, Maniotis AJ. Vasculogenic mimicry and tumor angiogenesis. *Am J Pathol* 2000; 156: 361-381 [PMID: 10666364 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)64739-6]
- 15 Yi J, Liao X, Yang Z, Li X. Study on the changes in microvessel density in hepatocellular carcinoma following transcatheter arterial chemoembolization. *J Tongji Med Univ* 2001; 21: 321-322, 331 [PMID: 12539559 DOI: 10.1007/BF02886568]
- 16 肖恩华, 胡国栋, 刘鹏程, 胡道予, 刘绍春, 郝春荣. 化疗栓塞对肝细胞癌转移抑制基因nm23/ndpk表达的影响-介入治疗与肿瘤转移潜能研究之一. 临床放射学杂志 2000; 11: 716-718
- 17 Lu W, Li YH, He XF, Mo YY, Zhu ZY. Transcatheter arterial chemoembolization enhances expression of Nm23-H1 and TIMP-2 in the tumor tissue of patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2011; 58: 558-564 [PMID: 21661431]
- 18 肖恩华, 胡国栋, 胡道予, 刘鹏程, 刘绍春, 郝春荣. 化疗栓塞对肝细胞癌上皮型钙粘蛋白表达的影响. 介入放射学杂志 2001; 1: 20-23
- 19 王超. 术前TACE对肝细胞肝癌病人P53、Ki-67、E-cadherin蛋白表达和预后的影响. 青岛: 青岛大学, 2010
- 20 谢晓莺. 上皮间质转化(EMT)与肝细胞肝癌根治切除术后肝内复发的关系以及与肝动脉栓塞化疗疗效的关系研究. 上海: 复旦大学, 2008
- 21 Kang Z, Xiao E. Expression of CD151 before and after transcatheter arterial chemoembolization for liver cancer and its correlation with invasion and metastasis. *Zhonghua Zhongliu Zazhi* 2014; 36: 921-922 [PMID: 25623767]
- 22 Jia ZZ, Jiang GM, Feng YL. Serum HIF-1 α and VEGF levels pre- and post-TACE in patients with primary liver cancer. *Chin Med Sci J* 2011; 26: 158-162 [PMID: 22207924 DOI: 10.1016/S1001-9294(11)60041-2]
- 23 Hsieh MY, Lin ZY, Chuang WL. Serial serum VEGF-A, angiopoietin-2, and endostatin measurements in cirrhotic patients with hepatocellular carcinoma treated by transcatheter arterial chemoembolization. *Kaohsiung J Med Sci* 2011; 27: 314-322 [PMID: 21802642 DOI: 10.1016/j.kjms.2011.03.008]
- 24 熊正平, 杨树仁, 肖恩华, 周顺科, 张子曙, 梁赵玉. 肝细胞癌化疗栓塞后血清血管内皮细胞生长因子与转移关系的研究. 中华肿瘤杂志 2003; 25: 562-565
- 25 张富强. 肝癌患者不同栓塞程度对血清中血管内皮生长因子含量变化关系的研究. 泸州: 泸州医学院, 2009
- 26 Bergers G, Brekken R, McMahon G, Vu TH, Itoh T, Tamaki K, Tanzawa K, Thorpe P, Itohara S, Werb Z, Hanahan D. Matrix metalloproteinase-9 triggers the angiogenic switch during carcinogenesis. *Nat Cell Biol* 2000; 2: 737-744 [PMID: 11025665 DOI: 10.1038/35036374]
- 27 李宾. S100A4、MMP-9在肝癌细胞株、肝细胞肝癌组织中的表达及意义. 济南: 山东大学, 2008
- 28 卢伟, 李彦豪, 何晓峰, 秦耿耿, 梅雀林, 庞桦进. TACE对肝癌MMP-2和MMP-9表达及患者预后的影响研究. 临床放射学杂志 2010; 5: 665-668
- 29 张彩芬. 原发性肝癌TACE治疗前后血HIF-1 α 、OPN、sICAM-1、MMP-2的动态变化及临床意义. 济南: 山东大学, 2010
- 30 Xu W, Kwon JH, Moon YH, Kim YB, Yu YS, Lee N, Choi KY, Kim YS, Park YK, Kim BW, Wang HJ. Influence of preoperative transcatheter arterial chemoembolization on gene expression in the HIF-1 α pathway in patients with hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2014; 140: 1507-1515 [PMID: 24853275 DOI: 10.1007/s00432-014-1713-4]
- 31 任宗海, 虞希祥, 李荣洲, 林纳, 季婷婷, 蔡积武. 血清IGF-II在肝癌患者TACE介入治疗前后的变化. 中国中西医结合外科杂志 2007; 4: 339-341
- 32 文张, 郭雅, 李家荃, 黎乐群. 经动脉化疗栓塞术对肝癌细胞凋亡抑制基因Survivin mRNA和蛋白的影响. 实用放射学杂志 2008; 5: 697-700, 703

- 33 陈济铭, 郑山, 陈仲武, 陈一平. 原发性肝癌TACE前后血清uPA含量变化及其意义. 当代医学 2009; 29: 550-553
- 34 陈仲武, 陈济铭, 陈一平, 李海利, 郑山. 肝细胞肝癌患者TACE前后血清sICAM-1的表达及其意义. 中国介入影像与治疗学 2009; 3: 226-229
- 35 曾普华. 原发性肝癌围介入期中证候演变规律及介入对VEGF、bFGF表达水平影响. 广州: 广州中医药大学, 2007
- 36 李波, 倪才方, 刘一之, 金泳海, 朱晓黎, 邹建伟. 肝癌患者经导管动脉化疗药物栓塞术前后血清肝细胞生长因子水平变化及其临床意义. 中国临床药理学与治疗学 2008; 11: 1268-1271
- 37 周建平, 周伟平. 大肝癌TACE后肿瘤组织VEGF、 α v整合素表达及MVD变化. 东南国防医药 2010; 3: 206-208
- 38 李兴睿, 杨志芳, 易继林. 肝癌经肝动脉栓塞化疗后VEGF和CD44v6表达的意义. 世界华人消化杂志 2006; 14: 1305-1308
- 39 李传行, 张福君, 吴明玮, 吴沛宏, 黄金华, 范卫君. 肝动脉化疗栓塞对肝癌患者外周血MAGE-1 mRNA的影响. 中国(第七届)肿瘤微创治疗学术大会暨世界影像引导下肿瘤微创治疗学会成立筹备大会, 中国广东广州, 2011
- 40 王冠. 肝癌患者TACE前后血清VEGF、CTGF、HIF-1 α 和OPN的动态变化及临床意义. 济南: 山东大学, 2013
- 41 杨光, 黄景香, 李智岗, 李顺宗, 谷铁树. 原发性肝癌TACE治疗前后血清中OPN含量的变化. 第五届中国肿瘤学术大会暨第七届海峡两岸肿瘤学术会议、国际肿瘤细胞与基因治疗学会会议、第二届中日肿瘤介入治疗学术会议, 中国河北石家庄, 2008
- 42 Liu J, Yi J. Relationship between the changes of VEGF level and dendritic cells in peripheral blood of patients with hepatocellular carcinoma after transcatheter arterial chemoembolization. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2007; 27: 58-60 [PMID: 17393111 DOI: 10.1007/s11596-007-0117-y]
- 43 Huang ZL, Luo J, Chen MS, Li JQ, Shi M. Blood neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts survival in patients with unresectable hepatocellular carcinoma undergoing transarterial chemoembolization. *J Vasc Interv Radiol* 2011; 22: 702-709 [PMID: 21514523 DOI: 10.1016/j.jvir.2010.12.041]
- 44 Xiong B, Feng G, Luo S, Liang H, Qiu L, Zheng C, Liu X, Zhou G. Changes of CD4(+) CD25 (+) regulatory T cells in peripheral blood in patients with hepatocellular carcinoma before and after TACE. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2008; 28: 645-648 [PMID: 19107357 DOI: 10.1007/s11596-008-0606-7]
- 45 Quan Y, Liu JG, Cai YC, Zhang JR. [Changes of immune function in liver cancer patients after transcatheter arterial chemoembolization combined with interstitial therapy]. *Nanfang Yike Daxue Xuebao* 2009; 29: 2288-2290 [PMID: 19923089]
- 46 尹芝兰, 肖恩华. 原发性肝癌行TACE术后对乙型肝炎病毒影响. 介入放射学杂志 2014; 23: 1114-1116
- 47 Peng JW, Lin GN, Xiao JJ, Jiang XM. Hepatitis B virus reactivation in hepatocellular carcinoma patients undergoing transcatheter arterial chemoembolization therapy. *Asia Pac J Clin Oncol* 2012; 8: 356-361 [PMID: 22897940 DOI: 10.1111/j.1743-7563.2012.01534.x]
- 48 Lin CI, Lin ZY, Hsieh MY, Huang CF, Chen SH, Chuang WL. Potential risk factors for the reactivation of the replication of hepatitis B and C viruses after transcatheter arterial chemoembolization of hepatocellular carcinoma. *Kaohsiung J Med Sci* 2011; 27: 554-559 [PMID: 22208538 DOI: 10.1016/j.kjms.2011.06.029]
- 49 Lao XM, Wang D, Shi M, Liu G, Li S, Guo R, Yuan Y, Chen M, Li J, Zhang Y, Lin X. Changes in hepatitis B virus DNA levels and liver function after transcatheter arterial chemoembolization of hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res* 2011; 41: 553-563 [PMID: 21615643 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2011.00796.x]
- 50 Tan YW, Zhang YH, Jiang WJ, Xing MY, Man XB, Mao JZ, Ge GH, Wu CS, Zhu MQ, Xu J, Sun L, Zhou XP. [Relationship between metastasis or recurrence of hepatocellular carcinoma and hepatitis B virus DNA or double mutation at 1762/1764 in the basic core promoter]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2013; 21: 679-683 [PMID: 24160343 DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2013.09.008]
- 51 郑延波. 载HIF-1 α 反义寡核苷酸纳米粒对兔VX2肝移植瘤TACE术后肿瘤新生血管影响的实验研究. 沈阳: 中国医科大学, 2007
- 52 陈呈世. 缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)的RNA干扰联合经动脉化疗栓塞治疗肝癌的实验研究. 上海: 复旦大学, 2012

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



表没食子儿茶素没食子酸酯通过PI3K/AKT信号通路抑制人肝癌细胞株HepG2增殖和促进凋亡

李 懿, 赵莉莉, 李 易, 赵 燕, 李良平

■背景资料

肝癌是肝细胞增殖过度而凋亡受阻的恶性疾病, 而表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin-3-gallate, EGCG)可通过抑制磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶B(phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase B, PI3K/AKT)信号通路而诱导肿瘤细胞凋亡、阻止肿瘤细胞增殖、浸润和转移。如抑制肺癌、胃癌等的生长及转移、降低乳腺癌的发生率改善子宫颈癌的预后等。

李懿, 李易, 李良平, 四川省人民医院消化内科 四川省成都市 610072
 赵莉莉, 北京大学人民医院消化内科 北京市 100044
 赵燕, 国家体育总局运动医学重点实验室 运动医学四川省重点实验室 四川省成都市 610072
 李懿, 主治医师, 主要从事消化系统肿瘤的研究。
 作者贡献分布: 课题设计与指导由李良平与李易完成; 实验执行、数据分析及论文写作由李懿完成; 文章修改由赵莉莉与赵燕完成。
 通讯作者: 李良平, 主任医师, 610072, 四川省成都市一环路西二段32号, 四川省人民医院消化内科。892797672@qq.com
 电话: 028-87394654
 收稿日期: 2015-04-07 修回日期: 2015-04-28
 接受日期: 2015-06-09 在线出版日期: 2015-07-18

Epigallocatechin-3-gallate induces human liver cancer HepG2 cell apoptosis and growth inhibition by suppressing phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase B signaling

Yi Li, Li-Li Zhao, Yi Li, Yan Zhao, Liang-Ping Li

Yi Li, Yi Li, Liang-Ping Li, Department of Gastroenterology, Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610072, Sichuan Province, China
 Li-Li Zhao, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Peking University, Beijing 100044, China
 Yan Zhao, Key Laboratory of Sports Medicine, the State Sports General Administration; Key Laboratory of Sports Medicine of Sichuan Province, Chengdu 610072, Sichuan Province, China
 Correspondence to: Liang-Ping Li, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Sichuan Provincial People's Hospital, 32 Xierduan, the 1st Ring Road, Chengdu 610072, Sichuan Province, China. 892797672@qq.com
 Received: 2015-04-07 Revised: 2015-04-28
 Accepted: 2015-06-09 Published online: 2015-07-18

■同行评议者

黄成, 副主任医师, 复旦大学附属中山医院肝外科

Abstract

AIM: To investigate the effect of epigallocatechin-3-gallate (EGCG) on cell apoptosis and proliferation in the human liver cancer cell line HepG2 and to explore the underlying mechanism.

METHODS: HepG2 cells in logarithmic growth phase were treated with different concentrations of EGCG (0, 10, 20, 40 µg/mL) for 48 h. MTT and flow cytometric analysis were used to evaluate the proliferation, membrane potential and apoptosis of HepG2 cells. The expression of phosphatidylinositol 3 kinase (PI3K), p-protein kinase B (p-AKT), AKT, BCL-2, Bax, pro-Caspase3, cleaved Caspase3, poly(ADP-ribose) polymerase (PARP), cleaved PARP and cytochrome C (CytC) in HepG2 cells was detected by Western blot.

RESULTS: EGCG treatment significantly decreased the cell proliferation, membrane potential and the expression of PI3K, p-AKT, cleaved PARP, cleaved Caspase3 and Bcl-2 in HepG2 cells, and increased cell apoptosis and the expression of pro-Caspase3, PARP, CytC and Bax. However, EGCG treatment had no significant influence on the expression of AKT.

CONCLUSION: EGCG induces cell apoptosis and growth inhibition in the human liver cancer cell line HepG2 possibly by suppressing PI3K/AKT signaling

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Epigallocatechin-3-gallate; HepG2;

Proliferation; Apoptosis; Phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase B

Li Y, Zhao LL, Li Y, Zhao Y, Li LP. Epigallocatechin-3-gallate induces human liver cancer HepG2 cell apoptosis and growth inhibition by suppressing phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase B signaling. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(20): 3188-3194 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3188.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i20.3188>

摘要

目的: 探讨表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin-3-gallate, EGCG), 对人肝癌细胞株HepG2的作用及其机制。

方法: 对数生长期的HepG2细胞分别用不同浓度的EGCG处理(0、10、20、40 $\mu\text{g/mL}$)。细胞培养48 h后, 利用MTT检测细胞增殖; 流式检测细胞凋亡和膜电位, 免疫印迹法检测磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidylinositol 3 kinase, PI3K)、蛋白激酶B(protein kinase B, AKT)、p-AKT、BCL-2、Bax、pro-Caspase3、cleavage-Caspase3、多聚ADP-核糖聚合酶[poly(ADP-ribose)polymerase, PARP]、Cleavage-PARP和细胞色素C(cytochrome C, CytC)表达。

结果: EGCG可以成浓度依赖诱导HepG2细胞增殖抑制和凋亡, 上调Bax, pro-Caspase3, PARP和CytC表达, 下调PI3K, p-AKT, Cleavage-PARP, Cleavage-Caspase3和Bcl-2的表达和细胞膜电位, 但对AKT表达无明显影响。

结论: EGCG可通过抑制PI3K/AKT信号通路而诱导HepG2细胞增殖抑制和凋亡。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 表没食子儿茶素没食子酸酯; HepG2; 增殖; 凋亡; PI3K/AKT

核心提示: 表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin-3-gallate, EGCG)可通过抑制磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶B(phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase B)信号通路激活而诱导HepG2细胞增殖抑制和凋亡, 其机制可能与调节线粒体膜通透性转运孔(mitochondrial permeability transition pore)的开放程度来实现的。

李懿, 赵莉莉, 李易, 赵燕, 李良平. 表没食子儿茶素没食子酸酯通过PI3K/AKT信号通路抑制人肝癌细胞株HepG2增殖和促

进凋亡. *世界华人消化杂志* 2015; 23(20): 3188-3194 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3188.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i20.3188>

0 引言

肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是人类常见的恶性肿瘤之一, 发病率高, 目前占据我国肿瘤致死性疾病的第2位, 严重威胁人类的生命健康. 由于癌症早期低诊断率, 许多患者一经发现大多已进入肝癌终末期, 早已失去手术治疗的指征^[1-6]. 因此, 寻找一种具有抗癌活性的药物是一个紧迫而现实的问题. 表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin-3-gallate, EGCG)是从绿茶提取的儿茶素单体成分, 研究^[7-10]发现其具有抑制肿瘤细胞增殖和促进肿瘤细胞凋亡的作用. 而增殖过度 and 凋亡受阻是肝癌的重要的发病机制^[11-13]. 因此本研究以人肝癌细胞株HepG2为靶细胞, 探讨EGCG对人肝癌细胞株HepG2作用及其机制。

1 材料和方法

1.1 材料 人肝癌细胞株HepG2, 购自ATCC, EGCG(Signa, USA)经HPLC鉴定纯度超过99%; MTT试剂盒(上海碧云天, 中国), Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒(南京凯基, 中国)RPMI 1640培养基, 美国Gibco公司; 小牛血清, 杭州四季青公司; 12孔培养板, 美国Falcon公司; β -actin抗体(Abmart, China), Bcl-2抗体(Santa Cruz, CA), Bax抗体(Santa Cruz, CA), 磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidylinositol 3 kinase, PI3K)(CST, USA), 多聚ADP-核糖聚合酶[poly(ADP-ribose)polymerase, PARP](CST, USA), Cleavage-PARP(CST, USA), pro-Caspase3(Santa Cruz, CA), Cleavage-Caspase3(Santa Cruz, CA), 蛋白激酶B(protein kinase B, AKT)抗体(CST, USA), p-AKT抗体(CST, USA), 细胞色素C(cytochrome C, CytC)(CST, USA). 蛋白裂解液RIPA(碧云天), 蛋白酶抑制剂cocktail及Western blot凝胶制备试剂盒购自武汉谷歌生物公司, BCA蛋白定量试剂盒(碧云天). 酶标仪(Thermo Fisher).

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 人肝癌细胞株HepG2自中国科学院上海细胞生物所, 置于含有10%胎牛血清的RPMI 1640, 细胞培养于37 $^{\circ}\text{C}$ 、50 mL/L CO_2 培养箱中, 加入浓度含10%胎牛血清的RPMI

■ 研究前沿

目前研究发现EGCG具有广泛的抗癌活性, 具有抗肺癌, 乳腺癌, 胃癌等多种肿瘤活性, 但具体机制不明, 最大的问题是如何在临床获得具有保护作用的EGCG浓度。

■ 相关报道

在类似研究中, 已经有人通过低表达和高表达进一步确认了EGCG抗肿瘤的机制。

1640培养基, 生长至占据75%-85%培养瓶面积时用胰蛋白酶消化传代。

1.2.2 细胞增殖的MTT法检测: 取对数生长期HepG2细胞, 每孔 0.5×10^5 个细胞接种于96孔培养板中, 每孔体积200 μ L; 细胞完全贴壁后离心弃上清分别加入EGCG(0、10、20、40 μ mol/L作用48 h); 同时设置对照组(加入等量的培养基), 空白组(不加细胞加等量的PBS液), 每组均设6个复孔; 结束培养前4 h每孔加入5 g/L的MTT液20 μ L, 弃去上清液后每孔加200 μ L DMSO, 轻微振荡10 min, 溶解MTT沉淀物, 待孔内结晶完全彻底溶解并色素均匀后上酶标仪于570 nm检测各孔的吸光度(A)值, 记录结果, 计算细胞增殖率。细胞增殖率 = (蛇床子素组A值-空白组A值)/(对照组A值-空白组A值) $\times 100\%$ 。

1.2.3 流式细胞术检测HepG2细胞凋亡: 采用Annexin V-FITC/PI双染色法检测HepG2细胞凋亡。将 2×10^5 个对数生长期HepG2细胞接种在6孔培养板中, 生长至90%融合时, 药物处理同上。然后按凋亡试剂盒说明以500 μ L的结合缓冲液重悬, 按步骤说明加入5 μ L Annexin V-FITC混匀后, 再加入5 μ L PI, 轻微震荡混匀后避光, 室温反应15 min。同时设立阴性对照组(不加Annexin V-FITC和PI), 置入流式细胞仪检测HepG2细胞凋亡率。

1.2.4 流式细胞术检测线粒体膜电位: 取对数生长期的细胞接种于6孔板中, 调整密度为 1×10^5 /mL。细胞培养48 h后, 收集各组所有悬浮细胞, 调整细胞密度为 1×10^5 /mL, 每孔100 μ L, 加入EGCG(0、10、20、40 μ g/mL), 48 h后收集各组细胞悬液, PBS洗涤, 弃上清液, 1 mmol/L Fluo-3, 1 mmol/L rhodamine 123, 37 $^{\circ}$ C孵育20 min, PBS洗涤, 重悬, 流式检测。

1.2.5 Western blot检测各组细胞PI3K、AKT、p-AKT、Bax、Bcl-2、pro-Caspase3、PARP、Cleavage-PARP、Cleavage-Caspase3和CytC蛋白表达: 将各浓度组收集的细胞用预冷的PBS清洗后, 按照蛋白裂解液RIPA操作说明提取蛋白, BCA法进行蛋白定量, 将各组蛋白浓度调成一致, 沸水煮5 min, 待用。取各组细胞总蛋白样品80 μ g, 以样品中的 β -actin为内参, 经SDS-PAGE凝胶电泳, 转膜, 然后用含5%脱脂奶粉的PBS封闭2 h, 分别加入适量含2%脱脂奶粉的PBS稀释[PI3K(1 : 500)、AKT抗

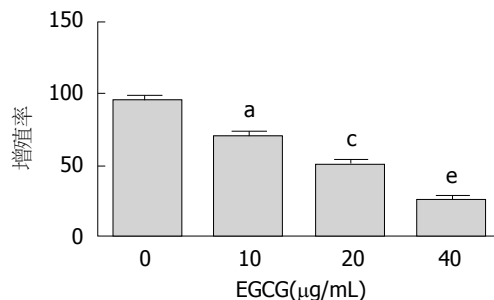


图1 MTT检测EGCG对HepG2细胞增殖的影响。^a $P < 0.05$ vs 0 μ g/mL; ^c $P < 0.05$ vs 10 μ g/mL; ^e $P < 0.05$ vs 20 μ g/mL。EGCG: 表没食子儿茶素没食子酸酯。

体(1 : 1000)、p-AKT(1 : 500)、Bax(1 : 500)、Bcl-2(1 : 500)、PARP(1 : 1000)、pro-Caspase3(1 : 1000)、Cleavage-PARP(1 : 300)、Cleavage-Caspase3(1 : 500)、CytC(1 : 500)和 β -actin(1 : 3000)]抗体, 4 $^{\circ}$ C孵育过夜。PBS洗膜3次, 10 min/次, 根据一抗的来源, 再分别加入适量含2%脱脂奶粉的PBS稀释的HRP标记羊抗兔IgG(1 : 500)、HRP标记羊抗鼠IgG(1 : 5000)室温下作用2 h, PBS洗膜3次, 10 min/次, ECL化学发光显色、压片、显影、定影、胶片扫描保存。用Ge-I Pro Analy zer(Ver.3.0)软件测定蛋白条带灰度值条带灰度值PI3K、AKT、p-AKT、Bax、Bcl-2、pro-Caspase3、PARP、Cleavage-PARP、Cleavage-Caspase3、CytC与 β -actin内参条带灰度值的比值分别将上述蛋白表达量化。

统计学处理 采用SPSS12.0统计软件包进行资料分析, 实验结果采用mean \pm SD表示, 资料采用单因素方差分析(ANOVA), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 EGCG诱导HepG2细胞增殖抑制 MTT检测实验结果显示, EGCG呈浓度依赖性抑制HepG2细胞增殖, 10、20、40 μ g/mL EGCG处理HepG2细胞后, 细胞的增殖率依次下降, 且10 μ g/mL EGCG处理组与对照组相比, 20 μ g/mL EGCG处理组与10 μ g/mL EGCG处理组相比, 40 μ g/mL EGCG处理组与20 μ g/mL EGCG处理组相比, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)(图1)。

2.2 EGCG诱导HepG2细胞凋亡 流式检测结果显示, EGCG可以成浓度依赖性促进HepG2细胞凋亡, 10、20、40 μ g/mL EGCG处理HepG2细胞后, 细胞的凋亡率依次升高, 且10 μ g/mL

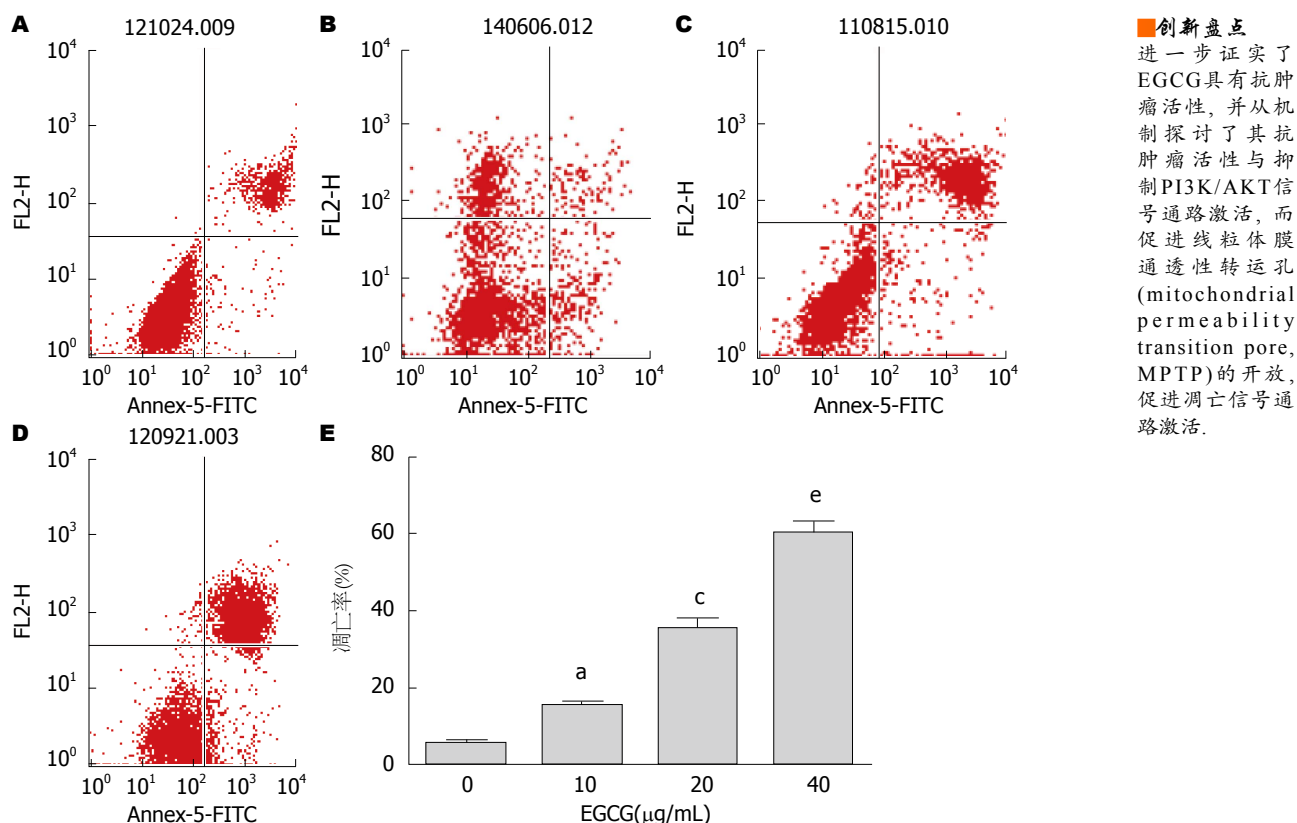


图2 流式检测EGCG对HepG2细胞凋亡的影响. A: 0 µg/mL; B: 10 µg/mL; C: 20 µg/mL; D: 40 µg/mL; E: 柱状图表达凋亡率. ^a $P < 0.05$ vs 0 µg/mL; ^c $P < 0.05$ vs 10 µg/mL; ^e $P < 0.05$ vs 20 µg/mL. EGCG: 表没食子儿茶素没食子酸酯。

EGCG处理组与对照组相比, 20 µg/mL EGCG处理组与10 µg/mL EGCG处理组相比, 40 µg/mL EGCG处理组与20 µg/mL EGCG处理组相比, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)(图2)。

2.3 EGCG对HepG2细胞线粒体膜电位的影响
流式检测结果显示, EGCG可以成浓度依赖性降低HepG2细胞膜电位, 10、20、40 µg/mL EGCG处理HepG2细胞后, 细胞的膜电位依次降低, 且10 µg/mL EGCG处理组与对照组相比, 20 µg/mL EGCG处理组与10 µg/mL EGCG处理组相比, 40 µg/mL EGCG处理组与20 µg/mL EGCG处理组相比, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)(图3)。

2.4 EGCG抑制PI3K/AKT信号通路激活
Western blot显示, EGCG成浓度依赖性降低PI3K, p-AKT的表达, 且10 µg/mL EGCG处理组与对照组相比, 20 µg/mL EGCG处理组与10 µg/mL EGCG处理组相比, 40 µg/mL EGCG处理组与20 µg/mL EGCG处理组相比, 差异均有统计学意义($P < 0.05$), 但对AKT表达无明显影响($P > 0.05$)。这显示EGCG可以抑制HepG2细胞PI3K/AKT信号通路的激活(图4)。

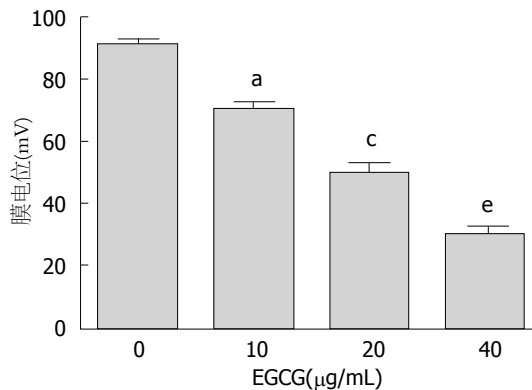


图3 流式检测EGCG对HepG2细胞膜电位的影响. ^a $P < 0.05$ vs 0 µg/mL; ^c $P < 0.05$ vs 10 µg/mL; ^e $P < 0.05$ vs 20 µg/mL. EGCG: 表没食子儿茶素没食子酸酯。

2.5 EGCG对HepG2细胞BCL-2、Bax、pro-Caspase3、Cleavage-Caspase3、PARP、Cleavage-PARP和CytC蛋白表达的影响
Western blot显示: EGCG可以成浓度依赖性促进BCL-2、pro-Caspase3、PARP的降解和上调Bax、Cleavage-PARP、Cleavage-Caspase3和CytC的表达, 且10 µg/mL EGCG处理组与对照组相比, 20 µg/mL EGCG处理组与10 µg/mL EGCG处理组相比, 40 µg/mL EGCG处理组与

应用要点

为临床上预防和治疗肝癌提供了新的选择, 需要得到纯度更高的单体.

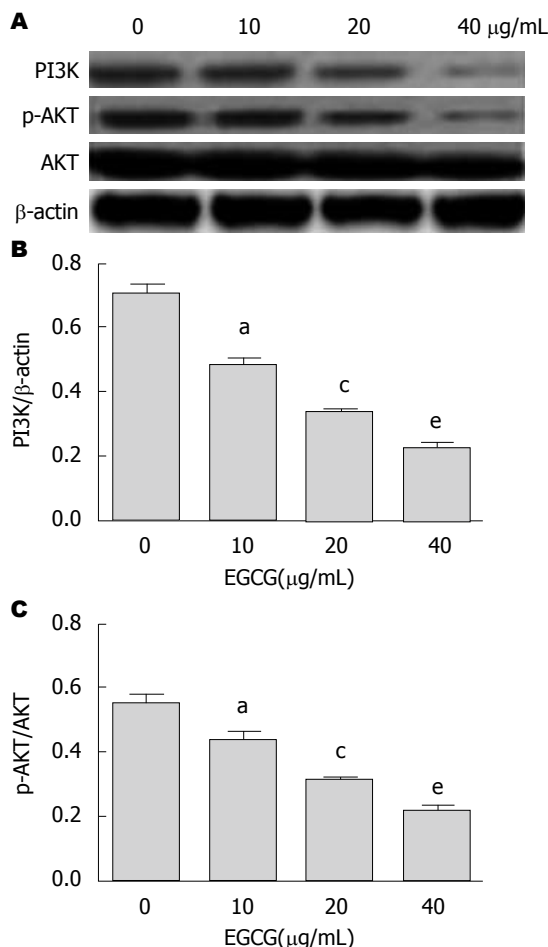


图4 Western blot检测各组细胞PI3K、p-AKT和AKT的表达。A: Western blot结果; B: 半定量检测PI3K表达; C: 半定量检测AKT表达。* $P < 0.05$ vs 0 $\mu\text{g/mL}$; ^c $P < 0.05$ vs 10 $\mu\text{g/mL}$; ^e $P < 0.05$ vs 20 $\mu\text{g/mL}$ 。EGCG: 表没食子儿茶素没食子酸酯; PI3K: 磷脂酰肌醇-3-激酶; AKT: 蛋白激酶B。

20 $\mu\text{g/mL}$ EGCG处理组相比, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)(图5)。

3 讨论

肝癌是好发于人类的常见恶性肿瘤, 死亡率极高, 严重威胁人类健康。目前肝癌的治疗方式主要包括手术切除, 肝移植等、放化疗等, 目前疗效都欠佳, 寻找一种新的抗癌治疗方案成为一个紧迫而现实问题^[1-6]。

绿茶是东方民族常用的茶叶之一, 其主要成分为EGCG, 最近研究^[13-21]发现表EGCG具有广泛的抗肿瘤活性, 其机制包括诱导肿瘤细胞凋亡, 阻止肿瘤细胞增殖、浸润和转移。如抑制肺癌、胃癌等的生长及转移、降低乳腺癌的发生率改善子宫颈癌的预后等。

本研究中我们利用不同的浓度处理人肝癌细胞株HepG2 48 h, 实验结果显示EGCG可

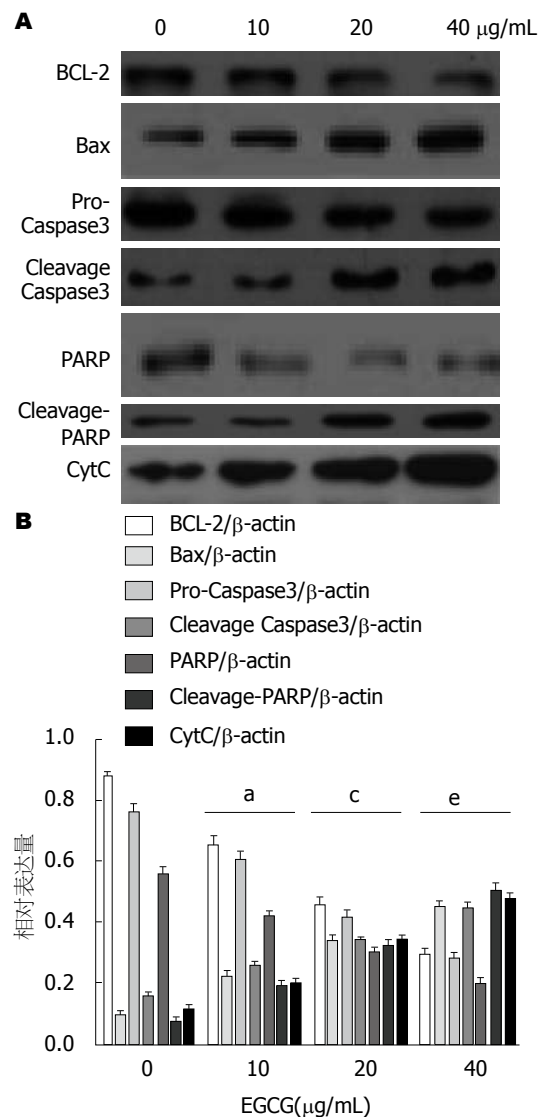


图5 Western blot检测HepG2细胞BCL-2、Bax、pro-Caspase3、Cleavage-Caspase3、PARP、Cleavage-PARP和CytC表达。A: Western blot结果; B: 半定量检测BCL-2、Bax、pro-Caspase3、Cleavage-Caspase3、PARP、Cleavage-PARP和CytC表达。* $P < 0.05$ vs 0 $\mu\text{g/mL}$; ^c $P < 0.05$ vs 10 $\mu\text{g/mL}$; ^e $P < 0.05$ vs 20 $\mu\text{g/mL}$ 。EGCG: 表没食子儿茶素没食子酸酯; PI3K: 磷脂酰肌醇-3-激酶; PARP: 多聚ADP-核糖聚合酶; CytC: 细胞色素C。

以成浓度依赖性抑制HepG2增殖和促进HepG2细胞凋亡, 上调PARP和Pro-Caspase3的表达和下调Cleavage-PARP和Cleavage-Caspase3的表达。证实了EGCG具有诱导HepG2细胞增殖抑制和凋亡受阻的活性, 因而具有抗肿瘤的活性, 这进一步证实了先前的研究报道EGCG具有拮抗肝癌细胞HepG2细胞增殖的活性^[22,23]。

研究发现线粒体在细胞凋亡的过程中起着至关重要的枢纽作用, 线粒体膜电位与线粒体内膜通透性呈负相关, 而线粒体内膜通透性取决于线粒体外膜与内膜接触位点由多个蛋

白质组成的通透转运孔道-线粒体膜通透性转运孔(mitochondrial permeability transition pore, MPTP)开放, MPTP开放增多, 线粒体内膜通透性增加, 而线粒体膜电位下降^[24,25]。线粒体膜间隙含有细胞色素C、钙离子, 凋亡诱导因子等多种促凋亡因子。MPTP开放导致线粒体的膜电位崩解, 使线粒体内部如细胞色素C等促凋亡因子外流, 而细胞色素C等促凋亡因子外流可导致凋亡信号通路的激活, 进而增加促凋亡蛋白的表达^[24-27]。在实验中我们发现EGCG可以成浓度依赖性降低细胞膜电位和抗凋亡蛋白表达, 而增加细胞色素C和促凋亡蛋白Bax的表达, 因此我们可以推测EGCG可以促进MPTP的开放, 进而增加线粒体内膜通透性, 导致细胞色素C增加, 进而凋亡信号通路广泛激活。但EGCG如何调节MPTP的开放具体机制不清楚。最近研究发现PI3K/AKT信号途径与MPTP的开放密切相关^[28-30], 而EGCG可调控PI3K/AKT信号途径^[31]。

实验结果显示EGCG可以成浓度依赖性促进PI3K降解和下调p-AKT的表达, 但对AKT表达无明显影响。因此, 我们可推测EGCG可通过抑制PI3K/AKT信号通路而促进MPTP的开放, 引发线粒体内膜通透性增加, 导致细胞色素C增加, 从而诱发凋亡信号通路广泛激活, 进而导致HepG2细胞增殖抑制和凋亡。

总之, EGCG可通过抑制PI3K/AKT信号通路而诱导HepG2细胞增殖抑制和凋亡。但是EGCG是直接作用于PI3K信号分子还是通过调节其上游激酶和/或信号分子而间接发挥作用仍不清楚, 除PI3K/AKT信号通路外, 是否还有其他信号通路涉及EGCG诱导Hep2细胞增殖抑制和凋亡尚需进一步更深入的研究。

4 参考文献

- 1 Khaderi S, Guiteau J, Cotton RT, O'Mahony C, Rana A, Goss JA. Role of liver transplantation in the management of hepatoblastoma in the pediatric population. *World J Transplant* 2014; 4: 294-298 [PMID: 25540737 DOI: 10.5500/wjt.v4.i4.294]
- 2 Clark T, Maximin S, Meier J, Pokharel S, Bhargava P. Hepatocellular Carcinoma: Review of Epidemiology, Screening, Imaging Diagnosis, Response Assessment, and Treatment. *Curr Probl Diagn Radiol* 2015 Apr 16. [Epub ahead of print] [PMID: 25979220 DOI: 10.1067/j.cpradiol.2015.04.004]
- 3 Hong YP, Li ZD, Prasoon P, Zhang Q. Immunotherapy for hepatocellular carcinoma: From basic research to clinical use. *World J Hepatol* 2015; 7: 980-992 [PMID: 25954480 DOI: 10.4254/

- wjh.v7.i7.980]
- 4 Wáng YX, De Baere T, Idée JM, Ballet S. Transcatheter embolization therapy in liver cancer: an update of clinical evidences. *Chin J Cancer Res* 2015; 27: 96-121 [PMID: 25937772 DOI: 10.3978/j.issn.1000-9604.2015.03.03]
- 5 Kalyan A, Nimeiri H, Kulik L. Systemic therapy of hepatocellular carcinoma: current and promising. *Clin Liver Dis* 2015; 19: 421-432 [PMID: 25921671 DOI: 10.1016/j.cld.2015.01.009]
- 6 Govaere O, Roskams T. Pathogenesis and prognosis of hepatocellular carcinoma at the cellular and molecular levels. *Clin Liver Dis* 2015; 19: 261-276 [PMID: 25921662 DOI: 10.1016/j.cld.2015.01.002]
- 7 Zhang L, Wei Y, Zhang J. Novel mechanisms of anticancer activities of green tea component epigallocatechin-3-gallate. *Anticancer Agents Med Chem* 2014; 14: 779-786 [PMID: 24851882]
- 8 Camfield DA, Stough C, Farrimond J, Scholey AB. Acute effects of tea constituents L-theanine, caffeine, and epigallocatechin gallate on cognitive function and mood: a systematic review and meta-analysis. *Nutr Rev* 2014; 72: 507-522 [PMID: 24946991 DOI: 10.1111/nure.12120]
- 9 Yiannakopoulou ECh. Effect of green tea catechins on breast carcinogenesis: a systematic review of in-vitro and in-vivo experimental studies. *Eur J Cancer Prev* 2014; 23: 84-89 [PMID: 23939462 DOI: 10.1097/CEJ.0b013e328364f23e]
- 10 Lecumberri E, Dupertuis YM, Miralbell R, Pichard C. Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate (EGCG) as adjuvant in cancer therapy. *Clin Nutr* 2013; 32: 894-903 [PMID: 23582951 DOI: 10.1016/j.clnu.2013.03.008]
- 11 Zhang W, Yang P, Gao F, Yang J, Yao K. Effects of epigallocatechin gallate on the proliferation and apoptosis of the nasopharyngeal carcinoma cell line CNE2. *Exp Ther Med* 2014; 8: 1783-1788 [PMID: 25371733]
- 12 Steinway SN, Dang H, You H, Rountree CB, Ding W. The EGFR/ErbB3 Pathway Acts as a Compensatory Survival Mechanism upon c-Met Inhibition in Human c-Met+ Hepatocellular Carcinoma. *PLoS One* 2015; 10: e0128159 [PMID: 26000702 DOI: 10.1371/journal.pone.0128159]
- 13 Fang F, Chang RM, Yu L, Lei X, Xiao S, Yang H, Yang LY. MicroRNA-188-5p Suppresses Tumor Cell Proliferation and Metastasis by Directly Targeting FGF5 in Hepatocellular Carcinoma. *J Hepatol* 2015 May 18. [Epub ahead of print] [PMID: 25998163 DOI: 10.1016/j.jhep.2015.05.008]
- 14 Khan N, Mukhtar H. Dietary agents for prevention and treatment of lung cancer. *Cancer Lett* 2015; 359: 155-164 [PMID: 25644088 DOI: 10.1016/j.canlet.2015.01.038]
- 15 Gao Y, Li W, Jia L, Li B, Chen YC, Tu Y. Enhancement of (-)-epigallocatechin-3-gallate and theaflavin-3-3'-digallate induced apoptosis by ascorbic acid in human lung adenocarcinoma SPC-A-1 cells and esophageal carcinoma Eca-109 cells via MAPK pathways. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 438: 370-374 [PMID: 23892041 DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.07.078]
- 16 Bai J, Ma M, Cai M, Xu F, Chen J, Wang G, Shuai X, Tao K. Inhibition enhancer of zeste homologue 2 promotes senescence and apoptosis induced by

同行评价

本研究探讨了绿茶成分EGCG对肝细胞癌HepG2增殖和凋亡的影响, 该研究思路清晰, 设计合理, 统计学处理可靠, 行文尚流畅, 但创新性一般, 有一定的临床应用价值。

- doxorubicin in p53 mutant gastric cancer cells. *Cell Prolif* 2014; 47: 211-218 [PMID: 24738879 DOI: 10.1111/cpr.12103]
- 17 Ranzato E, Magnelli V, Martinotti S, Waheed Z, Cain SM, Snutch TP, Marchetti C, Burlando B. Epigallocatechin-3-gallate elicits Ca²⁺ spike in MCF-7 breast cancer cells: essential role of Cav3.2 channels. *Cell Calcium* 2014; 56: 285-295 [PMID: 25260713 DOI: 10.1016/j.ceca.2014.09.002]
- 18 Wang S, Chen R, Zhong Z, Shi Z, Chen M, Wang Y. Epigallocatechin-3-gallate potentiates the effect of curcumin in inducing growth inhibition and apoptosis of resistant breast cancer cells. *Am J Chin Med* 2014; 42: 1279-1300 [PMID: 25242081 DOI: 10.1142/S0192415X14500803]
- 19 Muthusami S, Prabakaran DS, An Z, Yu JR, Park WY. EGCG suppresses Fused Toes Homolog protein through p53 in cervical cancer cells. *Mol Biol Rep* 2013; 40: 5587-5596 [PMID: 24065519 DOI: 10.1007/s11033-013-2660-x]
- 20 Zhang Y, Duan W, Owusu L, Wu D, Xin Y. Epigallocatechin-3-gallate induces the apoptosis of hepatocellular carcinoma LM6 cells but not non-cancerous liver cells. *Int J Mol Med* 2015; 35: 117-124 [PMID: 25370579 DOI: 10.3892/ijmm.2014.1988]
- 21 Sharma C, Nusri Qel-A, Begum S, Javed E, Rizvi TA, Hussain A. (-)-Epigallocatechin-3-gallate induces apoptosis and inhibits invasion and migration of human cervical cancer cells. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 4815-4822 [PMID: 23167425]
- 22 Shan X, Li Y, Meng X, Wang P, Jiang P, Feng Q. Curcumin and (-)-epigallocatechin-3-gallate attenuate acrylamide-induced proliferation in HepG2 cells. *Food Chem Toxicol* 2014; 66: 194-202 [PMID: 24508477 DOI: 10.1016/j.fct.2014.01.046]
- 23 Shen X, Zhang Y, Feng Y, Zhang L, Li J, Xie YA, Luo X. Epigallocatechin-3-gallate inhibits cell growth, induces apoptosis and causes S phase arrest in hepatocellular carcinoma by suppressing the AKT pathway. *Int J Oncol* 2014; 44: 791-796 [PMID: 24402647 DOI: 10.3892/ijo.2014.2251]
- 24 Juhaszova M, Zorov DB, Kim SH, Pepe S, Fu Q, Fishbein KW, Ziman BD, Wang S, Ytrehus K, Antos CL, Olson EN, Sollott SJ. Glycogen synthase kinase-3 β mediates convergence of protection signaling to inhibit the mitochondrial permeability transition pore. *J Clin Invest* 2004; 113: 1535-1549 [PMID: 15173880]
- 25 da Silva MF, Natali AJ, da Silva E, Gomes GJ, Teodoro BG, Cunha DN, Drummond LR, Drummond FR, Moura AG, Belfort FG, de Oliveira A, Maldonado IR, Alberici LC. Attenuation of Ca²⁺ homeostasis, oxidative stress, and mitochondrial dysfunctions in diabetic rats heart: insulin therapy or aerobic exercise? *J Appl Physiol* (1985) 2015 May 21. [Epub ahead of print] [PMID: 25997948 DOI: 10.1152/jappphysiol.00915.2014]
- 26 Nazari A, Sadr SS, Faghihi M, Azizi Y, Hosseini MJ, Mobarra N, Tavakoli A, Imani A. Vasopressin attenuates ischemia-reperfusion injury via reduction of oxidative stress and inhibition of mitochondrial permeability transition pore opening in rat hearts. *Eur J Pharmacol* 2015; 760: 96-102 [PMID: 25895639 DOI: 10.1016/j.ejphar.2015.04.006]
- 27 Weiss JN, Korge P, Honda HM, Ping P. Role of the mitochondrial permeability transition in myocardial disease. *Circ Res* 2003; 93: 292-301 [PMID: 12933700]
- 28 Jie B, Zhang X, Wu X, Xin Y, Liu Y, Guo Y. Neuregulin-1 suppresses cardiomyocyte apoptosis by activating PI3K/Akt and inhibiting mitochondrial permeability transition pore. *Mol Cell Biochem* 2012; 370: 35-43 [PMID: 22886427]
- 29 Zhao J, Cheng YY, Fan W, Yang CB, Ye SF, Cui W, Wei W, Lao LX, Cai J, Han YF, Rong JH. Botanical drug puerarin coordinates with nerve growth factor in the regulation of neuronal survival and neuritogenesis via activating ERK1/2 and PI3K/Akt signaling pathways in the neurite extension process. *CNS Neurosci Ther* 2015; 21: 61-70 [PMID: 25310912 DOI: 10.1111/cns.12334]
- 30 Kim SN, Kim ST, Doo AR, Park JY, Moon W, Chae Y, Yin CS, Lee H, Park HJ. Phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling pathway mediates acupuncture-induced dopaminergic neuron protection and motor function improvement in a mouse model of Parkinson's disease. *Int J Neurosci* 2011; 121: 562-569 [PMID: 21770712 DOI: 10.3109/00207454.2011.591515]
- 31 Yu DK, Zhang CX, Zhao SS, Zhang SH, Zhang H, Cai SY, Shao RG, He HW. The anti-fibrotic effects of epigallocatechin-3-gallate in bile duct-ligated cholestatic rats and human hepatic stellate LX-2 cells are mediated by the PI3K/Akt/Smad pathway. *Acta Pharmacol Sin* 2015; 36: 473-482 [PMID: 25832428 DOI: 10.1038/aps.2014.155]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



不同剂量槲皮素对高甘油三酯血症相关性急性胰腺炎大鼠胰腺病理的影响

郑俊媛, 曾悦, 吴江红, 陈静, 刘杰

郑俊媛, 曾悦, 吴江红, 陈静, 刘杰, 上海交通大学附属第一人民医院消化内科 上海市 200080

郑俊媛, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究。

国家自然科学基金青年基金资助项目, No. 81200322

上海市自然科学基金面上基金资助项目,

No. 12ZR1424000

上海市胰腺疾病重点实验室开放课题基金资助项目, No.

SPDF2013004

作者贡献分布: 本课题由曾悦设计; 研究过程由郑俊媛、吴江红、陈静及刘杰操作完成; 数据分析由郑俊媛完成; 本论文写作由郑俊媛与曾悦完成。

通讯作者: 曾悦, 副主任医师, 200080, 上海市新松江路650号, 上海交通大学附属第一人民医院消化内科。

carrie@medmail.com.cn

电话: 021-63240090

收稿日期: 2015-04-27 修回日期: 2015-05-20

接受日期: 2015-06-01 在线出版日期: 2015-07-18

Effect of different doses of quercetin on pancreatic pathology in rats with hypertriglyceridemia related acute pancreatitis

Jun-Yuan Zhen, Yue Zeng, Jiang-Hong Wu, Jing Chen, Jie Liu

Jun-Yuan Zhen, Yue Zeng, Jiang-Hong Wu, Jing Chen, Jie Liu, Department of Gastroenterology, Affiliated First People's Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200080, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81200322; Shanghai Natural Science Foundation, No. 12ZR1424000; Open Fund of Shanghai Key Laboratory of Pancreatic Diseases, No. SPDF2013004

Correspondence to: Yue Zeng, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Affiliated First People's Hospital, Shanghai Jiaotong University, 650 Xinsongjiang Road, Shanghai 200080, China. carrie@medmail.com.cn

Received: 2015-04-27 Revised: 2015-05-20

Accepted: 2015-06-01 Published online: 2015-07-18

Abstract

AIM: To investigate the effect of different doses of quercetin on the pancreatic pathology in rats with cerulein-induced acute pancreatitis (AP) associated with hypertriglyceridemia (HTG).

METHODS: Seventy-two male SD rats were randomly divided into 12 groups: HTG group ($n = 6$, fed a high-fat diet for 2 wk: 77% normal chow + 3% cholesterol + 20% lard), HTG + AP group ($n = 6$, after 2 wk of a high-fat diet, AP was induced by peritoneal injection of 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ cerulein twice at 1-h interval), HTG + AP + quercetin groups [$n = 24$, divided into 4 groups (6 rats each), quercetin (50, 100, 150, 200 mg/kg) was administered to rats by peritoneal injection after AP induction], normal blood lipid group ($n = 6$, fed normal chow for 2 wk), normal blood lipid + AP group ($n = 6$, after 2 wk of normal chow, AP was induced by peritoneal injection of 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ cerulein twice at 1-h interval), normal blood lipid + AP + quercetin groups [$n = 24$, divided into 4 groups (6 rats each), quercetin (50, 100, 150, 200 mg/kg) was administered to rats by peritoneal injection after AP induction]. All rats were sacrificed 9 h after AP induction. Plasma levels of amylase were tested and the pathological changes of pancreatic tissues were observed.

RESULTS: After two weeks of a high-fat diet, serum levels of triglyceride and total cholesterol were much higher than those in rats given normal chow ($P < 0.001$). Compared with the normal blood lipid + AP group, plasma level of amylase was significantly higher

背景资料

随着饮食结构的改变, 高甘油三酯血症 (hypertriglyceridemia, HTG) 相关性急性胰腺炎 (acute pancreatitis, AP) 的发病率逐年升高, 且病情严重, 易反复发作, 并发症较多; 发病机制复杂, 目前尚未有统一、有效的治疗方案。本文从胰腺组织学改善的角度探讨了槲皮素对HTG相关性AP的治疗作用。

同行评议者

沈薇, 教授, 重庆医科大学附属第二医院消化内科

■ 研究前沿

槲皮素(quercetin)是植物界广泛分布的一种黄酮类化合物, 具有抗炎、抗氧化、降压、降脂、抗肿瘤等多种药理作用。大量研究表明槲皮素对酒精性脂肪肝、心血管疾病、糖尿病、急性肺损伤等多种疾病都具有一定的保护效应。

(23670.00 U/L \pm 2053.13 U/L vs 13136.00 U/L \pm 3536.95 U/L) and pancreatic tissue injury was significantly more serious in the HTG + AP group (9.75 \pm 0.94 vs 5.92 \pm 1.32) ($P = 0.022$; $P < 0.001$). Quercetin intervention groups showed significantly lower levels of amylase and less serious pancreatic tissue injury; the effect was dose-dependent. This protective effect of quercetin was more obvious in the HTG + AP group than in the AP group (HTG + AP + 100, 150, 200 mg/kg quercetin group vs HTG + AP group total histopathological scores: $P < 0.001$ for all; normal blood lipid + AP + 100, 150, 200 mg/kg quercetin group vs normal blood lipid + AP group total histopathological scores: $P = 0.084$, $P = 0.003$, $P < 0.001$), particularly in acinar necrosis and inflammatory infiltration (HTG + AP + 100, 150, 200 mg/kg quercetin group vs HTG + AP group necrosis score: $P < 0.001$ for all; inflammatory infiltration: $P = 0.008$, $P = 0.006$, $P = 0.001$).

CONCLUSION: Quercetin could significantly ameliorate the pancreatic pathology in rats with HTG related AP, especially acinar necrosis and inflammatory infiltration. The protective effect is dose-dependent.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Quercetin; Hypertriglyceridemia; Acute pancreatitis

Zhen JY, Zeng Y, Wu JH, Chen J, Liu J. Effect of different doses of quercetin on pancreatic pathology in rats with hypertriglyceridemia related acute pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(20): 3195-3202 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3195.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i20.3195>

摘要

目的: 观察不同剂量的槲皮素对高甘油三酯血症(hypertriglyceridemia, HTG)相关性急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)大鼠胰腺病理的影响。

方法: 72只♂SD大鼠, 随机分为12组: HTG组($n = 6$, 高脂饮食2 wk: 77%普通饲料+3%胆固醇+20%猪油)、HTG+AP组($n = 6$, 高脂饮食2 wk, 腹腔内注射雨蛙肽50 μ g/kg \times 2次, 间隔1 h)、HTG+AP+槲皮素组($n = 24$, 高脂饮食2 wk后再分为4组, 诱发AP后分别给予50、100、150、200 mg/kg槲皮素腹腔注射)、正常血脂组($n = 6$, 正常饮食2 wk)、

正常血脂+AP组($n = 6$, 正常饮食2 wk, 腹腔内注射雨蛙肽50 μ g/kg \times 2次, 间隔1 h)、正常血脂+AP+槲皮素组($n = 24$, 正常饮食2 wk后再分为4组, 诱发AP后分别给予50、100、150、200 mg/kg槲皮素腹腔注射)。所有大鼠均于AP造模后9 h处死, 测定血浆淀粉酶活性, 评价胰腺病理变化。

结果: 大鼠高脂饮食2 wk后, 血清甘油三酯和总胆固醇均较正常饮食组明显升高, 且差异有统计学意义($P < 0.001$)。与正常血脂+AP组相比, HTG+AP组的血浆淀粉酶活性(23670.00 U/L \pm 2053.13 U/L vs 13136.00 U/L \pm 3536.95 U/L)和胰腺病理学评分(9.75分 \pm 0.94分 vs 5.92分 \pm 1.32分)均明显升高, 且差异有统计学意义($P = 0.022$; $P < 0.001$)。正常血脂+AP+槲皮素组和HTG+AP+槲皮素组的血浆淀粉酶活性均呈剂量依赖性下降, 胰腺病理损伤也相应地减轻, 槲皮素的这种保护效应对HTG+AP组尤为明显(HTG+AP 100、150、200 mg/kg槲皮素干预组 vs 未给药组总评分: 均 $P < 0.001$; 正常血脂+AP 100、150、200 mg/kg槲皮素干预组 vs 未给药组总评分: $P = 0.084$, $P = 0.003$, $P < 0.001$)。其中, 又以腺泡坏死和炎性浸润改善得最为显著(HTG+AP 100、150、200 mg/kg槲皮素干预组 vs 未给药组坏死评分: 均 $P < 0.001$; 炎性浸润评分: $P = 0.008$, $P = 0.006$, $P = 0.001$)。

结论: 槲皮素可以减轻大鼠HTG相关性AP的胰腺病理损伤, 尤其是腺泡坏死和炎性浸润, 且这一保护作用呈现剂量依赖性。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 槲皮素; 高甘油三酯血症; 急性胰腺炎

核心提示: 槲皮素可以呈剂量依赖性地改善胰腺病理, 且槲皮素对高甘油三酯血症(hypertriglyceridemia)相关性急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)的胰腺病理改善作用显著大于正常血脂的AP, 尤其是腺泡坏死和炎性浸润。

郑俊媛, 曾悦, 吴江红, 陈静, 刘杰. 不同剂量槲皮素对高甘油三酯血症相关性急性胰腺炎大鼠胰腺病理的影响. *世界华人消化杂志* 2015; 23(20): 3195-3202 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3195.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i20.3195>

0 引言

随着西式饮食的全球化, 高脂食物的摄入越来越

越多, 高脂饮食相关性疾病也越来越成为各学科的研究热点, 包括高脂饮食诱发的高脂血症、肥胖、非酒精性脂肪肝、糖尿病、高血压等。作为急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)发病的危险因素之一, 高脂饮食诱发的高脂血症可直接诱发AP以及加重AP病情^[1]。槲皮素(3,3',4',5,7-五羟基黄酮)(quercetin)是一种广泛存在于水果、蔬菜和谷物等植物中的植源性黄酮类化合物, 具有抗炎、抗氧化、降压、降脂、抗肿瘤等多种药理作用, 对多种疾病可发挥保护效应^[2-5]。本研究拟在大鼠高脂饮食诱发高甘油三酯血症(hypertriglyceridemia, HTG)的基础上再诱发AP模型, 并观察不同剂量槲皮素对其的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 健康♂SD大鼠(SPF级, 体质量150-160 g) 72只, 与动物饲料, 均购自上海斯莱克实验动物有限公司。高脂饲料配方(以质量分数表示): 77%正常饲料+20%猪油+3%胆固醇。雨蛙肽、槲皮素和二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)购自Sigma。雨蛙肽溶于生理盐水(normal saline, NS), 槲皮素溶于50%DMSO。

1.2 方法

1.2.1 造模及分组: SD大鼠分为12组: (1)HTG组($n = 6$), SD大鼠高脂饮食2 wk建立HTG模型; (2)HTG+AP组($n = 6$), SD大鼠高脂饮食2 wk建立HTG模型后, 腹腔内注射雨蛙肽50 $\mu\text{g}/\text{kg} \times 2$ 次, 每次间隔1 h; (3)HTG+AP+槲皮素组($n = 24$): SD大鼠建立HTG+AP模型后再分为4个不同剂量槲皮素干预组, 每组6只。50 mg/kg干预组, 诱发AP后30 min予槲皮素50 mg/kg腹腔注射; 100 mg/kg干预组, 诱发AP后30 min和1 h各予50 mg/kg槲皮素腹腔注射; 150 mg/kg干预组, 诱发AP后30 min、1和2 h各予50 mg/kg槲皮素腹腔注射; 200 mg/kg干预组, 诱发AP后30 min、1、2和3 h各予50 mg/kg槲皮素腹腔注射; (4)正常血脂组($n = 6$); (5)正常血脂+AP组($n = 6$): SD大鼠正常饮食2 wk后, 腹腔内注射雨蛙肽50 $\mu\text{g}/\text{kg} \times 2$ 次, 每次间隔1 h; (6)正常血脂+AP+槲皮素组($n = 24$): SD大鼠建立正常血脂+AP模型后再分为4组, 每组6只, 分别予50、100、150、200 mg/kg槲皮素腹腔注射。未予槲皮素干预组均予等量50%DMSO腹腔注射作为对照。鉴于预实验表明诱发AP 9 h后胰腺病理

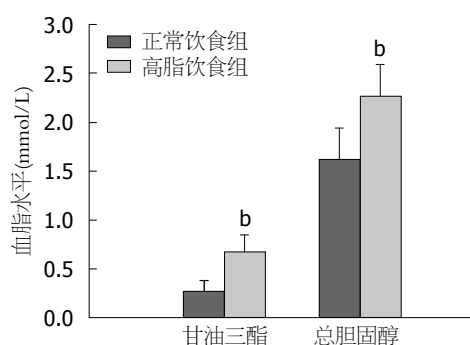


图1 正常饮食组和高脂饮食组大鼠血清甘油三酯、总胆固醇水平。^b $P < 0.01$ vs 正常饮食组。

损伤最严重, 故本试验选择术后9 h解剖取材。所有大鼠予1%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉, 腹主动脉采血处死。

1.2.2 标本取材及处理: 正常饮食或高脂饮食2 wk后, 所有大鼠尾静脉采血, 分离血清送检本院生化室检测甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)。解剖后, 抽取腹主动脉血分离血浆送检本院生化室检测淀粉酶活性。取胰腺组织置于中性甲醛溶液中固定48 h, 常规脱水、包埋、切片及HE染色, 胰腺组织病理学评分参照Schmidt法^[6]。

统计学处理 各组计量资料采用mean \pm SD表示。通过SPSS19.0软件进行统计学分析, 采用 t 检验和方差分析比较各组间差异, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 高脂饮食诱导HTG和加重AP 高脂饮食2 wk后, 成功建立HTG模型, 大鼠血清TG、TC水平平均显著高于正常饮食组($0.67 \text{ mmol/L} \pm 0.18 \text{ mmol/L}$ vs $0.27 \text{ mmol/L} \pm 0.11 \text{ mmol/L}$, $2.27 \text{ mmol/L} \pm 0.32 \text{ mmol/L}$ vs $1.62 \text{ mmol/L} \pm 0.32 \text{ mmol/L}$)($P < 0.001$)(图1)。诱发AP后, HTG+AP组的淀粉酶活性明显高于正常血脂+AP组($23670.00 \text{ U/L} \pm 2053.13 \text{ U/L}$ vs $13136.00 \text{ U/L} \pm 3536.95 \text{ U/L}$, $P = 0.022$)(图2)。光镜下可见HTG+AP组胰腺水肿、坏死、出血和炎性浸润程度较正常血脂+AP组明显加重, 尤其是腺泡坏死($3.42 \text{ 分} \pm 0.38 \text{ 分}$ vs $1.58 \text{ 分} \pm 0.74 \text{ 分}$)和炎性浸润($1.42 \text{ 分} \pm 0.49 \text{ 分}$ vs $0.75 \text{ 分} \pm 0.27 \text{ 分}$)($P < 0.001$, $P = 0.020$)(图3, 4)。

2.2 槲皮素显著抑制大鼠HTG相关性AP 血浆淀粉酶活性 HTG大鼠诱发AP, 槲皮素干预组的血浆淀粉酶活性随着槲皮素剂量的升高而

相关报道

Carvalho等研究显示, 在正常饮食小鼠AP模型(雨蛙肽50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ip, qh $\times 5$ h)中, 造模前1 h预先给予槲皮素灌胃, 可减轻胰腺损伤, 降低白介素(interleukin, IL)-1 β 、IL-6、肿瘤坏死因子- α 和过氧化物酶(myeloperoxidase)、丙二醛(methanedicarboxylic aldehyde)水平, 推测槲皮素可能通过抗炎抗氧化的机制发挥保护效应, 但该研究并未观察到25、50、100 mg/kg槲皮素明显的剂量依赖效应。

■ 创新亮点

本研究采用SD大鼠AP建模、槲皮素小剂量(50、100 mg/kg)和大剂量(150、200 mg/kg)腹腔注射给药,发现槲皮素呈剂量依赖性地改善胰腺病理,且槲皮素对HTG相关性AP的病理改善作用显著大于正常血脂的AP,尤其是腺泡坏死和炎性浸润。

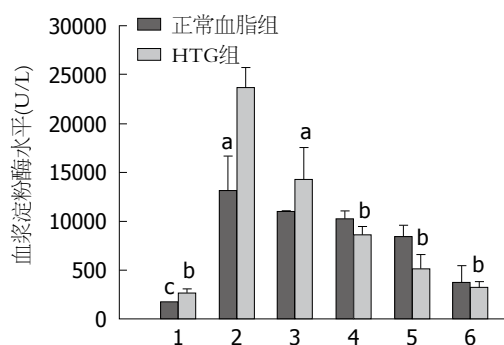


图2 各组大鼠血浆淀粉酶水平。1: 正常血脂, HTG组; 2: 正常血脂+AP组, HTG+AP组; 3: 50 mg/kg槲皮素干预组; 4: 100 mg/kg槲皮素干预组; 5: 150 mg/kg槲皮素干预组; 6: 200 mg/kg槲皮素干预组。^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ vs HTG+AP组; ^c $P<0.05$ vs 正常血脂+AP组。HTG: 高甘油三酯血症; AP: 急性胰腺炎。

逐渐减低, 50、100、150、200 mg/kg槲皮素干预组血浆淀粉酶活性分别为 $14272.33 \text{ U/L} \pm 3272.79 \text{ U/L}$ 、 $8650.00 \text{ U/L} \pm 822.64 \text{ U/L}$ 、 $5140.33 \text{ U/L} \pm 1461.33 \text{ U/L}$ 和 $3283.67 \text{ U/L} \pm 523.57 \text{ U/L}$, 与未给药组($23670.00 \text{ U/L} \pm 2053.13 \text{ U/L}$)比较, 差异均有统计学意义(P 值分别为0.014, <0.001 , <0.001 , <0.001)。而正常血脂大鼠诱发AP后, 槲皮素干预组血浆淀粉酶活性虽然随槲皮素剂量依赖性地降低, 但与未给药组比较, 差异均无统计学意义(图2)。正常血脂+AP和HTG+AP 50、100、150、200 mg/kg槲皮素干预组淀粉酶被抑制的程度分别是16.26% vs 39.70%、22.12% vs 63.46%、35.74% vs 78.28%和71.67% vs 86.13%。

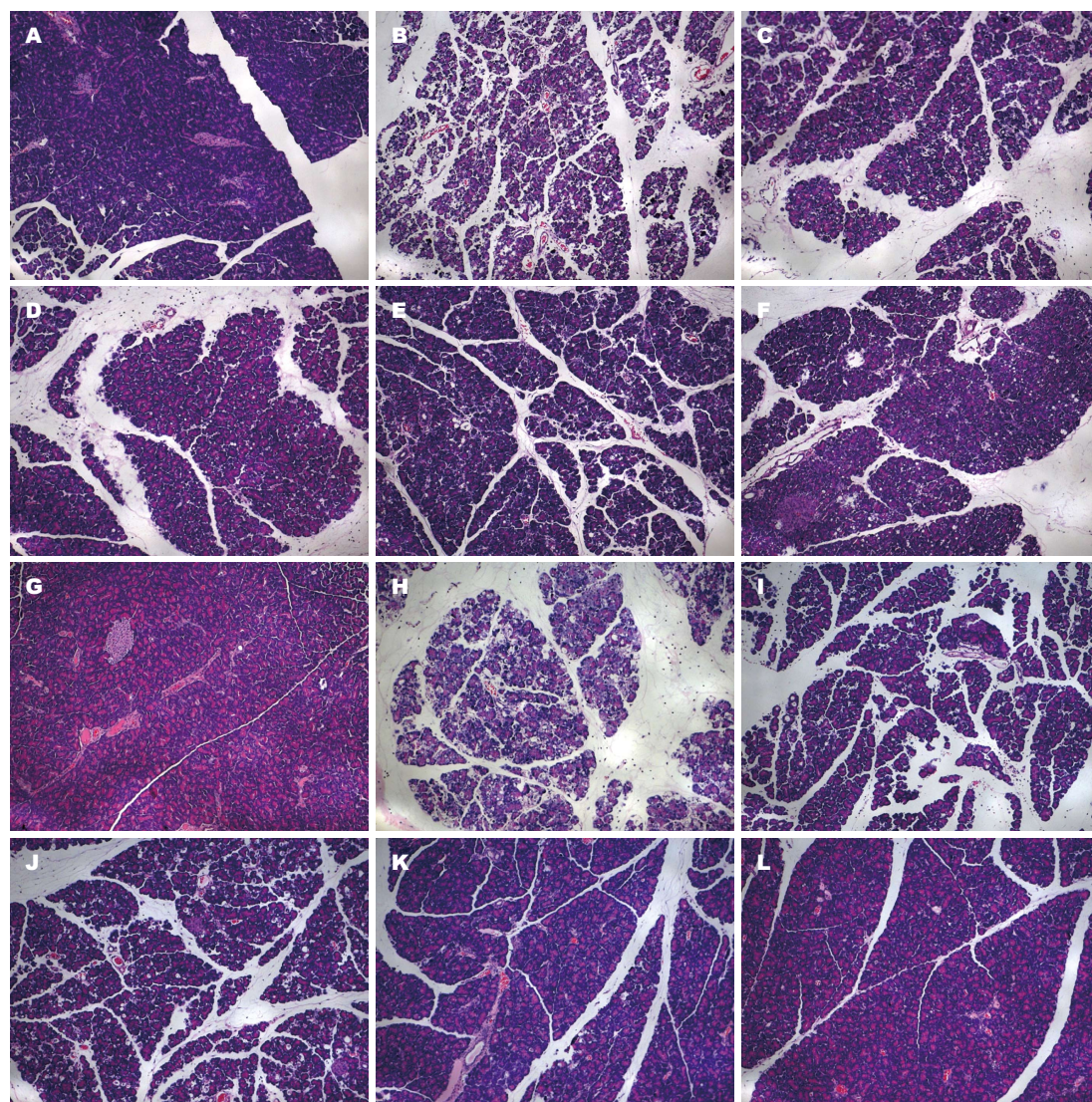
2.3 槲皮素显著减轻大鼠HTG相关性AP的胰腺病理损伤 HTG大鼠AP槲皮素干预后, 胰腺病理损伤减轻, 总评分和水肿、出血、坏死、炎性浸润评分均随着槲皮素剂量的升高而逐渐降低, 且100、150、200 mg/kg槲皮素干预组的病理评分与未给药组比较, 差异均有统计学意义(总评分: 均 $P<0.001$; 水肿: 均 $P<0.001$; 出血: $P=0.03$, $P=0.036$, $P=0.001$; 坏死: 均 $P<0.001$; 炎性浸润: $P=0.008$, $P=0.006$, $P=0.001$), 而50 mg/kg槲皮素干预组则没有。其中, 在胰腺坏死方面, HTG+AP+100、150、200 mg/kg槲皮素干预组的评分分别为 $1.17 \text{ 分} \pm 0.26 \text{ 分}$ 、 $0.75 \text{ 分} \pm 0.52 \text{ 分}$ 、 $0.42 \text{ 分} \pm 0.38 \text{ 分}$, 与HTG+AP组($3.42 \text{ 分} \pm 0.38 \text{ 分}$)比较, 均 $P<0.001$; 炎性浸润评分分别为 $0.58 \text{ 分} \pm 0.38 \text{ 分}$ 、 $0.42 \text{ 分} \pm 0.49 \text{ 分}$ 、 $0.25 \text{ 分} \pm 0.27 \text{ 分}$, 与HTG相关性AP组($1.42 \text{ 分} \pm 0.49 \text{ 分}$)比较, P 值分别为0.008、

0.006、0.001。

正常血脂大鼠AP槲皮素干预后, 总评分和水肿、出血、坏死、炎性浸润评分也都呈现槲皮素剂量依赖性地降低。但其中, 150和200 mg/kg槲皮素干预组的胰腺病理总评分与未给药组比较, 差异有统计学意义($P=0.003$; $P<0.001$), 而50和100 mg/kg槲皮素干预组则没有; 100、150、200 mg/kg槲皮素干预组的水肿评分与未给药组比较, 差异有统计学意义($P=0.035$; $P<0.001$; $P<0.001$), 而50 mg/kg槲皮素干预组则没有; 200 mg/kg槲皮素干预组的坏死和炎性浸润评分与未给药组比较($0.67 \text{ 分} \pm 0.52 \text{ 分}$ vs $1.58 \text{ 分} \pm 0.74 \text{ 分}$; $0.33 \text{ 分} \pm 0.26 \text{ 分}$ vs $0.75 \text{ 分} \pm 0.27 \text{ 分}$), 差异有统计学意义($P=0.032$; $P=0.022$), 而50、100、150 mg/kg槲皮素干预组则没有。具体病理变化及评分如图3、4。

3 讨论

已有研究^[7]表明HTG加重雨蛙肽诱导的AP, 本研究通过在SD大鼠高脂饮食2 wk诱发HTG的基础上诱发AP模型, 进一步证实与正常血脂的AP相比, HTG相关性AP的胰腺损伤更为严重, 血浆淀粉酶活性也更高。高脂饮食诱发的HTG相关性AP重症化的机制可能包括: (1)过多的TG被胰脂肪酶水解成游离脂肪酸(free fatty acids, FFAs), FFA对胰腺腺泡细胞和血管内皮细胞有直接的细胞毒性; 大量乳糜微粒可增加血液黏稠度, 甚至堵塞血管; 局部缺血缺氧进一步导致pH下降, 酸性环境更加加重FFA的毒性^[8]; (2)高脂饮食引起内脏脂肪大量堆积, AP时大量胰周脂肪坏死, 脂解作用及其产生的不饱和脂肪酸(unsaturated fatty acids, UFAs)也可能是AP加重的原因之一^[9]; (3)过量的TG沉积在肝脏胰腺等非脂肪组织, 前者发展为非酒精性脂肪性肝病, 后者则可能引起“非酒精性脂肪性胰腺病”, 通过扰乱微循环和氧化应激引起胰腺慢性损伤^[10], 从而使得胰腺对各种致病因素的敏感性增加, 发生AP时胰腺病理损伤可能也更加严重; (4)慢性低度炎症学说: 高脂饮食增加体内脂质代谢, 产生大量氧自由基, 使机体处于一种慢性低度炎症状态^[11], AP时炎症反应进一步加剧扩大; (5)内质网应激学说: 高脂血症可以促进肝脏、脂肪和胰腺等多个组织发生内质网应激反应(endoplasmic reticulum stress, ERS)^[12-15]。Zeng等^[16]的研究发



应用要点

本研究在大鼠HTG相关性AP模型上首次探讨槲皮素干预对胰腺病理的影响,发现槲皮素可剂量依赖性地改善HTG相关性AP的胰腺病理,对HTG相关性AP发病机制的阐明及治疗方案的制定具有一定的价值。

图3 各组大鼠胰腺组织病理变化(HE染色×100)。A: 正常血脂组; B: 正常血脂+AP组; C: 正常血脂+AP+50 mg/kg槲皮素组; D: 正常血脂+AP+100 mg/kg槲皮素组; E: 正常血脂+AP+150 mg/kg槲皮素组; F: 正常血脂+AP+200 mg/kg槲皮素组; G: HTG组; H: HTG+AP组; I: HTG+AP+50 mg/kg槲皮素组; J: HTG+AP+100 mg/kg槲皮素组; K: HTG+AP+150 mg/kg槲皮素组; L: HTG+AP+200 mg/kg槲皮素组。HTG: 高甘油三酯血症; AP: 急性胰腺炎。

现在SD大鼠高脂饮食的基础上再用雨蛙肽诱发AP模型, 胰腺损伤比正常饮食AP明显加重, 而且电镜观察到前者内质网出现极度扩张、变形并出现空泡; ERS标记分子葡萄糖调节蛋白78(glucose-regulated protein 78, GRP78)、剪切型X盒结合蛋白1(spliced X-box binding protein 1, sXBP1)的基因和蛋白水平均显著增高; (6)脂肪因子学说: 脂肪组织不仅是机体的能量“贮存仓库”, 还是一个重要的内分泌器官, 分泌脂联素(adiponectin, APN)、瘦素、抵抗素、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、内脂素等多种因子, 称脂肪因子。高脂饮食可引起脂肪因子分泌异常, 比如APN分泌水平降低^[17]; 而APN对高脂饮食AP具有保护

效应, Araki等^[18]在*Gut*上发表了一项研究, APN基因敲除小鼠予高脂饮食喂养后即使给予低剂量雨蛙肽注射也诱导了严重的胰腺损伤, 而利用腺病毒转染的APN过表达小鼠经高脂饮食+雨蛙肽处理, 胰腺损伤却明显减轻。

槲皮素是植物界分布最广的一种黄酮类化合物, 大量研究^[19-22]表明槲皮素对非酒精性脂肪性肝病、心血管疾病、II型糖尿病等多种疾病都具有一定的保护效应。Carvalho等^[23]在注射雨蛙肽(50 μ g/kg *i.p.*, qh×5 h)诱发正常饮食小鼠AP 1 h之前预先给予25、50、100 mg/kg槲皮素灌胃, 结果发现这三个剂量槲皮素干预组的胰腺损伤均明显减轻, 白介素(interleukin, IL)-1 β 、IL-6、TNF- α 和过氧化物

■名词解释

内质网应激(ERS): 任何扰乱ER稳态的因素如氧化应激、Ca²⁺紊乱、病毒感染等都可导致ERS, 激活多条下游通路, 促进细胞生存; 但应激反应过于强烈或持久时, ERS则引起细胞损伤甚至死亡. ERS激活的三大信号通路包括: IRE1 α /sXBP1、PERK/eIF2 α 和ATF6通路.

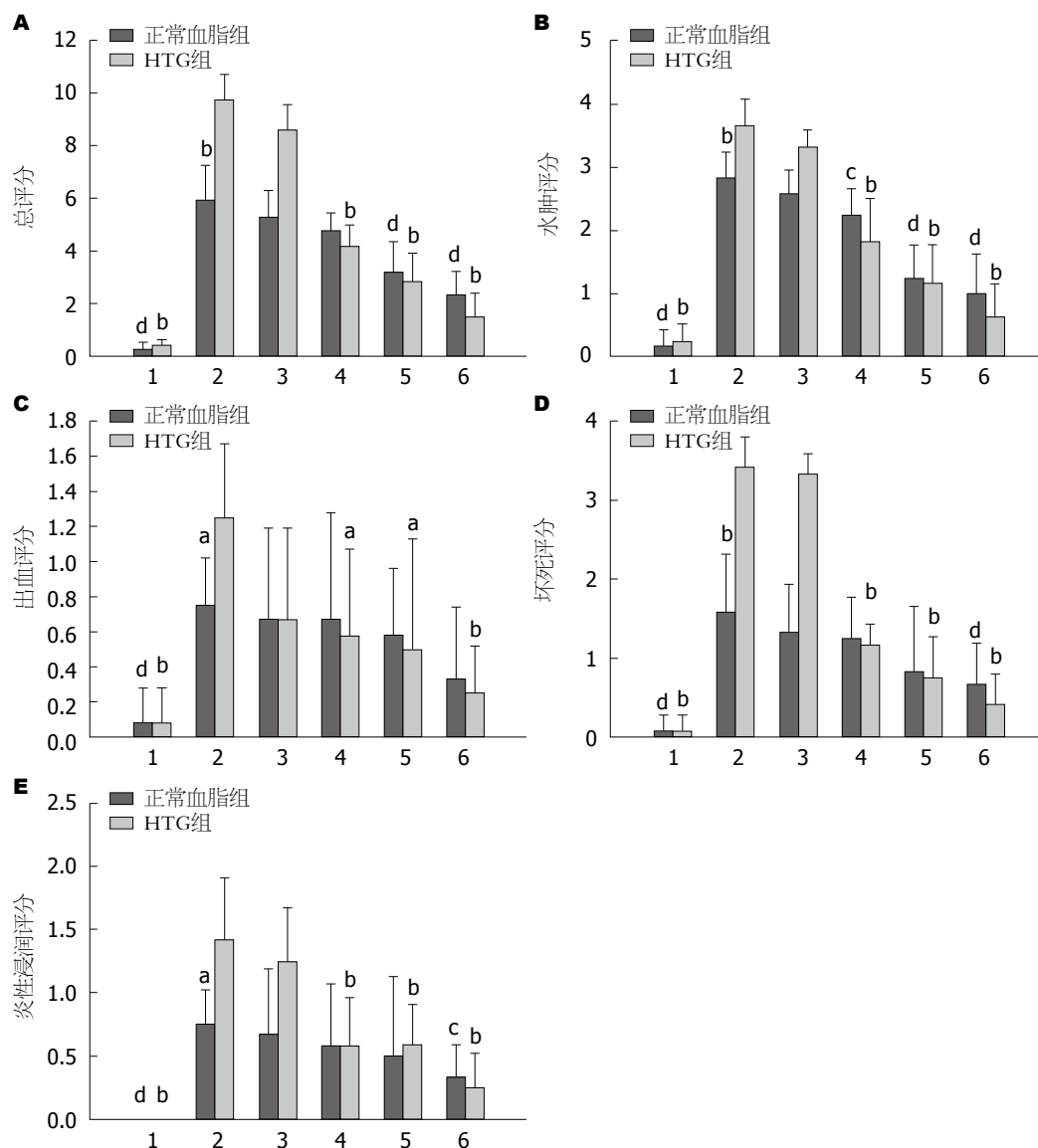


图 4 各组大鼠胰腺组织病理学评分. A: 总评分; B: 水肿评分; C: 出血评分; D: 坏死评分; E: 炎性浸润评分. 1: 正常血脂, HTG组; 2: 正常血脂+AP组, HTG+AP组; 3: 50 mg/kg槲皮素干预组; 4: 100 mg/kg槲皮素干预组; 5: 150 mg/kg槲皮素干预组; 6: 200 mg/kg槲皮素干预组. ^a*P*<0.05, ^b*P*<0.01 vs HTG+AP组; ^c*P*<0.05, ^d*P*<0.01 vs 正常血脂+AP组. HTG: 高甘油三酯血症; AP: 急性胰腺炎.

酶(myeloperoxidase, MPO)、丙二醛(methane dicarboxylic aldehyde, MDA)水平均降低, 且与未给药组比较差异均有统计学意义, 故推测槲皮素可能是通过抗炎抗氧化的机制发挥保护效应, 但该研究并未观察到25、50、100 mg/kg槲皮素明显的剂量依赖效应. 我们查阅文献, 参考了槲皮素动物实验的安全剂量之后, 采用SD大鼠AP建模和槲皮素大剂量, 即150、200 mg/kg治疗性腹腔注射给药进一步证实了槲皮素对AP的保护效应, 而且呈明显的剂量依赖效应; 而常规剂量50 mg/kg槲皮素干预对AP的病理改善不明显, 病理学评分虽有下降却差异均无统计学意义. 更有趣的是, 我们发现槲

皮素干预后, HTG的AP比正常血脂的AP改善的更为显著, 且血浆淀粉酶和胰腺的病理改变随着槲皮素的剂量改变依赖效应更明显. 与正常血脂诱发AP相比, 槲皮素更明显地改善了HTG诱发AP的动物胰腺病理变化, 推测他可能阻断了HTG相关性AP发病的主要发病环节. 有研究^[24]表明槲皮素可以影响高脂饮食肥胖大鼠内脏脂肪因子的分泌和表达, 从而调节肥胖相关炎症反应; 槲皮素也能刺激APN的分泌^[25], 发挥抗炎抗氧化的作用. 大量的体内和体外实验研究^[26-30]发现槲皮素还可以抑制ERS, 而ERS正是高脂血症HTG相关性AP的重要发病机制之一^[16]. 槲皮素极有可能就是通过阻断

ERS或者调节脂肪因子的分泌表达来发挥对HTG相关性AP的保护效应。鉴于本研究中槲皮素给药和解剖取材只相差8个多小时, 而槲皮素发挥降脂作用是慢性的、长期的(至少是在连续8 wk以上)^[31], 故槲皮素不可能是通过降脂作用来改善HTG相关性AP的。

本研究成功建立HTG相关性大鼠AP模型, 进一步证实了HTG的AP比正常血脂的AP病情更严重; 并观察到治疗性给予槲皮素干预后, AP的病理损伤明显减轻, 且槲皮素对AP的保护效应呈剂量依赖性。最有意义的是发现槲皮素对HTG相关性AP的病理改善作用显著大于正常血脂的AP, 尤其是腺泡坏死和炎性浸润, 提示槲皮素较为针对性地抑制了HTG相关性AP的某个主要发病机制, 确切的机制有待进一步研究。

4 参考文献

- Baranyai T, Terzin V, Vajda Á, Wittmann T, Czako L. Hypertriglyceridemia causes more severe course of acute pancreatitis. *Clin Lipidol* 2012; 7: 731-736 [DOI: 10.2217/cl.p.12.69]
- Takashima K, Matsushima M, Hashimoto K, Nose H, Sato M, Hashimoto N, Hasegawa Y, Kawabe T. Protective effects of intratracheally administered quercetin on lipopolysaccharide-induced acute lung injury. *Respir Res* 2014; 15: 150 [PMID: 25413579 DOI: 10.1186/s12931-014-0150-x]
- Liu H, Guo X, Chu Y, Lu S. Heart protective effects and mechanism of quercetin preconditioning on anti-myocardial ischemia reperfusion (IR) injuries in rats. *Gene* 2014; 545: 149-155 [PMID: 24769323 DOI: 10.1016/j.gene.2014.04.043]
- Mahmoud MF, Hassan NA, El Bassossy HM, Fahmy A. Quercetin protects against diabetes-induced exaggerated vasoconstriction in rats: effect on low grade inflammation. *PLoS One* 2013; 8: e63784 [PMID: 23717483 DOI: 10.1371/journal.pone.0063784]
- Liu SH, Lu TH, Su CC, Lay IS, Lin HY, Fang KM, Ho TJ, Chen KL, Su YC, Chiang WC, Chen YW. Lotus leaf (*Nelumbo nucifera*) and its active constituents prevent inflammatory responses in macrophages via JNK/NF- κ B signaling pathway. *Am J Chin Med* 2014; 42: 869-889 [PMID: 25004880 DOI: 10.1142/S0192415X14500554]
- Schmidt J, Rattner DW, Lewandrowski K, Compton CC, Mandavilli U, Knoefel WT, Warshaw AL. A better model of acute pancreatitis for evaluating therapy. *Ann Surg* 1992; 215: 44-56 [PMID: 1731649 DOI: 10.1097/0000658-199201000-00007]
- Hu G, Zhao Y, Tang Y, Wang Y, Shen J, Liu L, Li H, Liu Y, Cui X, Yu Y, Guo C, Wang X, Liu G. Development of a novel model of hypertriglyceridemic acute pancreatitis in hamsters: protective effects of probucol. *Pancreas* 2012; 41: 845-848 [PMID: 22781908 DOI: 10.1097/MPA.0b013e318247d784]
- Valdivielso P, Ramirez-Bueno A, Ewald N. Current knowledge of hypertriglyceridemic pancreatitis. *Eur J Intern Med* 2014; 25: 689-694 [PMID: 25269432 DOI: 10.1016/j.ejim.2014.08.008]
- Noel P, Patel K, Durgampudi C, Trivedi RN, de Oliveira C, Crowell MD, Pannala R, Lee K, Brand R, Chennat J, Slivka A, Papachristou GL, Khalid A, Whitcomb DC, DeLany JP, Cline RA, Acharya C, Jaligama D, Murad FM, Yadav D, Navina S, Singh VP. Peripancreatic fat necrosis worsens acute pancreatitis independent of pancreatic necrosis via unsaturated fatty acids increased in human pancreatic necrosis collections. *Gut* 2014 Dec 10. [Epub ahead of print] [PMID: 25500204 DOI: 10.1136/gutjnl-2014-308043]
- Yan MX, Li YQ, Meng M, Ren HB, Kou Y. Long-term high-fat diet induces pancreatic injuries via pancreatic microcirculatory disturbances and oxidative stress in rats with hyperlipidemia. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 347: 192-199 [PMID: 16814251 DOI: 10.1016/j.bbrc.2006.06.063]
- Das N, Sikder K, Bhattacharjee S, Majumdar SB, Ghosh S, Majumdar S, Dey S. Quercetin alleviates inflammation after short-term treatment in high-fat-fed mice. *Food Funct* 2013; 4: 889-898 [PMID: 23644882 DOI: 10.1039/c3fo30241e]
- Wang Y, Wu Z, Li D, Wang D, Wang X, Feng X, Xia M. Involvement of oxygen-regulated protein 150 in AMP-activated protein kinase-mediated alleviation of lipid-induced endoplasmic reticulum stress. *J Biol Chem* 2011; 286: 11119-11131 [PMID: 21296878 DOI: 10.1074/jbc.M110.203323]
- Li YX, Han TT, Liu Y, Zheng S, Zhang Y, Liu W, Hu YM. Insulin resistance caused by lipotoxicity is related to oxidative stress and endoplasmic reticulum stress in LPL gene knockout heterozygous mice. *Atherosclerosis* 2015; 239: 276-282 [PMID: 25635326 DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2015.01.020]
- Pierre N, Deldicque L, Barbé C, Naslain D, Cani PD, Francaux M. Toll-like receptor 4 knockout mice are protected against endoplasmic reticulum stress induced by a high-fat diet. *PLoS One* 2013; 8: e65061 [PMID: 23741455 DOI: 10.1371/journal.pone.0065061]
- Kim JA, Montagnani M, Chandrasekran S, Quon MJ. Role of lipotoxicity in endothelial dysfunction. *Heart Fail Clin* 2012; 8: 589-607 [PMID: 22999242 DOI: 10.1016/j.hfc.2012.06.012]
- Zeng Y, Wang X, Zhang W, Wu K, Ma J. Hypertriglyceridemia aggravates ER stress and pathogenesis of acute pancreatitis. *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 2318-2326 [PMID: 22389298 DOI: 10.5754/hge12042]
- Chaolu H, Asakawa A, Ushikai M, Li YX, Cheng KC, Li JB, Zoshiki T, Terashi M, Tanaka C, Atsuchi K, Sakoguchi T, Tsai M, Amitani H, Horiuchi M, Takeuchi T, Inui A. Effect of exercise and high-fat diet on plasma adiponectin and nesfatin levels in mice. *Exp Ther Med* 2011; 2: 369-373 [PMID: 22977512]
- Araki H, Nishihara T, Matsuda M, Fukuhara A, Kihara S, Funahashi T, Kataoka TR, Kamada Y, Kiyohara T, Tamura S, Hayashi N, Shimomura I. Adiponectin plays a protective role in caerulein-induced acute pancreatitis in mice fed a high-fat diet. *Gut* 2008; 57: 1431-1440 [PMID: 18579666 DOI: 10.1136/gut.2007.135665]
- Surapaneni KM, Priya VV, Mallika J. Pioglitazone, quercetin and hydroxy citric acid effect on cytochrome P450 2E1 (CYP2E1) enzyme levels in experimentally induced non alcoholic steatohepatitis (NASH). *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2014; 18: 2736-2741 [PMID: 25317811]
- Arumugam S, Thandavarayan RA, Arozal W, Sari

■同行评价

本研究选题紧密结合临床, 设计合理, 从胰腺组织学改善的角度探讨了槲皮素对HTG相关性AP的治疗作用, 具有一定创新, 科学性、学术性较好, 具有一定理论及临床意义。

- FR, Giridharan VV, Soetikno V, Palaniyandi SS, Harima M, Suzuki K, Nagata M, Tagaki R, Kodama M, Watanabe K. Quercetin offers cardioprotection against progression of experimental autoimmune myocarditis by suppression of oxidative and endoplasmic reticulum stress via endothelin-1/MAPK signalling. *Free Radic Res* 2012; 46: 154-163 [PMID: 22145946 DOI: 10.3109/10715762.2011.647010]
- 21 Eid HM, Nachar A, Thong F, Sweeney G, Haddad PS. The molecular basis of the antidiabetic action of quercetin in cultured skeletal muscle cells and hepatocytes. *Pharmacogn Mag* 2015; 11: 74-81 [PMID: 25709214 DOI: 10.4103/0973-1296.149708]
- 22 Alam MM, Meerza D, Naseem I. Protective effect of quercetin on hyperglycemia, oxidative stress and DNA damage in alloxan induced type 2 diabetic mice. *Life Sci* 2014; 109: 8-14 [PMID: 24946265 DOI: 10.1016/j.lfs.2014.06.005]
- 23 Carvalho KM, Morais TC, de Melo TS, de Castro Brito GA, de Andrade GM, Rao VS, Santos FA. The natural flavonoid quercetin ameliorates cerulein-induced acute pancreatitis in mice. *Biol Pharm Bull* 2010; 33: 1534-1539 [PMID: 20823570 DOI: 10.1248/bpb.33.1534]
- 24 Kim OY, Lee SM, Do H, Moon J, Lee KH, Cha YJ, Shin MJ. Influence of quercetin-rich onion peel extracts on adipokine expression in the visceral adipose tissue of rats. *Phytother Res* 2012; 26: 432-437 [PMID: 21833991 DOI: 10.1002/ptr.3570]
- 25 Wein S, Behm N, Petersen RK, Kristiansen K, Wolffram S. Quercetin enhances adiponectin secretion by a PPAR-gamma independent mechanism. *Eur J Pharm Sci* 2010; 41: 16-22 [PMID: 20580672 DOI: 10.1016/j.ejps.2010.05.004]
- 26 Liu CM, Zheng GH, Ming QL, Sun JM, Cheng C. Protective effect of quercetin on lead-induced oxidative stress and endoplasmic reticulum stress in rat liver via the IRE1/JNK and PI3K/Akt pathway. *Free Radic Res* 2013; 47: 192-201 [PMID: 23249147 DOI: 10.3109/10715762.2012.760198]
- 27 Suganya N, Bhakkiyalakshmi E, Suriyanarayanan S, Paulmurugan R, Ramkumar KM. Quercetin ameliorates tunicamycin-induced endoplasmic reticulum stress in endothelial cells. *Cell Prolif* 2014; 47: 231-240 [PMID: 24666891 DOI: 10.1111/cpr.12102]
- 28 Wu Z, Zhao J, Xu H, Lyv Y, Feng X, Fang Y, Xu Y. Maternal quercetin administration during gestation and lactation decrease endoplasmic reticulum stress and related inflammation in the adult offspring of obese female rats. *Eur J Nutr* 2014; 53: 1669-1683 [PMID: 24570028 DOI: 10.1007/s00394-014-0673-4]
- 29 Guo W, Ding J, Zhang A, Dai W, Liu S, Diao Z, Wang L, Han X, Liu W. The inhibitory effect of quercetin on asymmetric dimethylarginine-induced apoptosis is mediated by the endoplasmic reticulum stress pathway in glomerular endothelial cells. *Int J Mol Sci* 2014; 15: 484-503 [PMID: 24451129 DOI: 10.3390/ijms15010484]
- 30 Yao S, Sang H, Song G, Yang N, Liu Q, Zhang Y, Jiao P, Zong C, Qin S. Quercetin protects macrophages from oxidized low-density lipoprotein-induced apoptosis by inhibiting the endoplasmic reticulum stress-C/EBP homologous protein pathway. *Exp Biol Med* (Maywood) 2012; 237: 822-831 [PMID: 22829699 DOI: 10.1258/ebm.2012.012027]
- 31 Kobori M, Masumoto S, Akimoto Y, Oike H. Chronic dietary intake of quercetin alleviates hepatic fat accumulation associated with consumption of a Western-style diet in C57/BL6J mice. *Mol Nutr Food Res* 2011; 55: 530-540 [PMID: 21462320 DOI: 10.1002/mnfr.201000392]

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



模拟微重力环境下腹腔感染大鼠肠黏膜屏障损害及抗感染疗效

鲍时明, 邓忠伟, 杨建武, 李晓鸥, 董满库, 周金莲, 杨鹤鸣, 李成林, 崔彦

鲍时明, 崔彦, 安徽医科大学解放军第306临床学院 北京市 100101

邓忠伟, 杨建武, 李晓鸥, 董满库, 杨鹤鸣, 李成林, 崔彦, 中国人民解放军第306医院普通外科 北京市 100101

周金莲, 中国人民解放军第306医院病理科 北京市 100101

鲍时明, 在读硕士, 主要从事消化外科的临床和基础研究。

全军医学科研“十二五”重点课题基金资助项目, No. BWS11J051

作者贡献分布: 本课题由崔彦与鲍时明设计; 研究过程由鲍时明与邓忠伟完成; 杨建武、李晓鸥、董满库、周金莲、杨鹤鸣及李成林参与部分实验工作并对实验数据和图表处理进行指导; 论文撰写由鲍时明完成, 崔彦指导。

通讯作者: 崔彦, 教授, 主任医师, 100101, 北京市朝阳区安翔北里9号, 中国人民解放军第306医院普通外科。

dryancui@aliyun.com

电话: 010-66356106

收稿日期: 2015-04-20 修回日期: 2015-05-26

接受日期: 2015-06-10 在线出版日期: 2015-07-18

Anxiang Beili, Chaoyang District, Beijing 100101, China. dryancui@aliyun.com

Received: 2015-04-20 Revised: 2015-05-26

Accepted: 2015-06-10 Published online: 2015-07-18

Abstract

AIM: To investigate the effects of simulated microgravity and intravenous moxifloxacin on intestinal mucosal barrier in rats with abdominal infection.

METHODS: Sixty healthy adult male Wistar rats were randomly divided into six groups ($n = 10$ each): microgravity + abdominal infection (MAI), microgravity + abdominal infection + moxifloxacin (MAIM), microgravity + sham operation (MSO), normal gravity + abdominal infection (NGAI), normal gravity + abdominal infection + moxifloxacin (NGAIM), and normal gravity + sham operation (NGSO). Tail suspension was used to simulate the weightlessness animal model, and cecal ligation and puncture (CLP) model was used to mimic abdominal infection. The CLP procedure was performed in rats under simulated weightlessness for 48 h. Moxifloxacin hydrochloride (30 mg/kg) was injected via the tail vein for animals in the MAIM and GAIM groups at 0, 24 and 48 h post-CLP. At 60 h post-CLP, blood and ileal samples were collected for measurement of serum diamine oxidase (DAO) and D-lactate (D-LA) by radioimmunoassay, portal endotoxin by kinetic turbidimetric limulus test, Occludin and ZO-1 expression in the ileal mucosa by immunohistochemistry and Western blot, and Fas, FasL and Bax mRNA expression by real-time PCR. The pathological changes in the

背景资料

腹腔感染是临床上最常见的一种急腹症,一旦航天员在航天飞行过程中发生类似情况,由于环境极为特殊,病情演变充满未知数,救治条件极度受限,防控不当则严重威胁航天员健康和生命,并影响航天任务。如何合理处置,亟待深入研究。

Effects of simulated microgravity and intravenous moxifloxacin on intestinal mucosal barrier in rats with abdominal infection

Shi-Ming Bao, Zhong-Wei Deng, Jian-Wu Yang, Xiao-Ou Li, Man-Ku Dong, Jin-Lian Zhou, He-Ming Yang, Cheng-Lin Li, Yan Cui

Shi-Ming Bao, Yan Cui, Department of General Surgery, PLA 306 Teaching Hospital of Anhui Medical University, Beijing 100101, China

Zhong-Wei Deng, Jian-Wu Yang, Xiao-Ou Li, Man-Ku Dong, He-Ming Yang, Cheng-Lin Li, Yan Cui, Department of General Surgery, PLA 306 Hospital, Beijing 100101, China

Jin-Lian Zhou, Department of Pathology, PLA 306 Hospital, Beijing 100101, China

Supported by: the Key Research Project of PLA Medical Science Foundation in the “Twelve Five-year Plan” Period, No. BWS11J051

Correspondence to: Yan Cui, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, PLA 306 Hospital, 9

同行评议者

董玉兰, 副教授, 中国农业大学

■ 研发前沿

随着我国载人航天计划第三步实施目标的逼近和航天员长期驻留空间站的要求, 航天医学保障和研究工作亟待加强。有关失重环境下腹腔感染及抗感染治疗过程中肠黏膜屏障病理生理变化的研究尚未见报道。

ileum were observed under a light microscope.

RESULTS: Light microscopy revealed interstitial edema and vascular congestion in the ileal mucosa and submucosa with focal necrosis and inflammatory cell infiltration in animals with abdominal infection upon simulated microgravity. The pathological alterations in the MAIM and NGAIM groups were alleviated compared with the MAI and NGAI groups. DAO activity, serum *D*-LA level and portal endotoxin were significantly increased in the MAI and NGAI groups, but significantly decreased in the moxifloxacin treatment groups, with the lowest level in the sham operation groups ($P < 0.05$). These parameters were significantly higher in animals under simulated microgravity than in animals under normal gravity ($P < 0.05$). Immunohistochemistry showed that Occludin and ZO-1 proteins stained as brown particles were mainly located in the cell membrane and cytoplasm with a continuous distribution in the normal intestinal mucosa. Their staining was sparse in the MAI and NGAI groups, which was improved in the moxifloxacin treatment groups, especially in the MSO and NGSO groups. Western blot analysis showed that Occludin and ZO-1 proteins were expressed at a low level in the MAI and NGAI groups, up-regulated after moxifloxacin treatment, and highest in the MSO and NGSO groups ($P < 0.05$). Real-time PCR showed that Fas, FasL and Bax mRNAs were expressed abundantly in the ileal mucosa in the MAI and NGAI groups, down-regulated in the MAIM and NGAIM groups, and lowest in the MSO and NGSO groups ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Simulated microgravity aggravates the damage to intestinal mucosal barrier in rats with CLP-induced abdominal infection, and intravenous moxifloxacin could exert an unambiguous therapeutic effect on the pathological changes in the intestinal mucosal barrier.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Simulated weightlessness; Abdominal infection; Ileum; Intestinal barrier; Moxifloxacin hydrochloride

Bao SM, Deng ZW, Yang JW, Li XO, Dong MK, Zhou JL, Yang HM, Li CL, Cui Y. Effects of simulated microgravity and intravenous moxifloxacin on intestinal mucosal barrier in rats with abdominal infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(20): 3203-3212 URL:

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3203.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i20.3203>

摘要

目的: 研究模拟失重环境对腹腔感染大鼠肠黏膜屏障的损害作用及抗感染治疗效果。

方法: 健康♂成年Wistar大鼠60只, 随机分为6组($n = 10$), 分别为模拟失重并腹腔感染组(microgravity+abdominal-infection, MAI)、模拟失重并腹腔感染治疗组(microgravity+abdominal-infection+moxifloxacin, MAIM)、模拟失重并腹腔假手术组(microgravity+sham-operation, MSO)、正常重力腹腔感染组(normal-gravity+abdominal-infection, NGAI)、正常重力腹腔感染治疗组(normal-gravity+abdominal-infection+moxifloxacin, NGAIM)和正常重力腹腔假手术组(normal-gravity+sham-operation, NGSO)。采用尾悬吊法建立模拟失重动物模型, 盲肠结扎穿孔术(cecal ligation and puncture, CLP)建立腹腔感染模型。根据分组要求, 尾悬吊模拟失重48 h时, 建立腹腔感染动物模型。MAIM组和NGAIM组动物分别于CLP后0、24及48 h经尾静脉注射盐酸莫西沙星氯化钠注射液(30 mg/kg), 其余组注射等量体积的生理盐水。CLP后60 h取材, 采用放免法测定血清二胺氧化酶(diamine oxidase, DAO)、*D*-乳酸(*D*-lactate, *D*-LA), 动态浊度法测定门静脉血内毒素含量, 免疫组织化学和Western blot法测定肠黏膜紧密连接蛋白Occludin和ZO-1表达, Real-time PCR检测肠黏膜Fas、FasL和Bax mRNA表达水平, 并光镜下观察回肠黏膜组织病理变化。

结果: MAI和NGAI组大鼠回肠黏膜和黏膜下层出现明显的间质水肿和血管充血, 黏膜层炎性细胞浸润, 肠绒毛排列紊乱, 黏膜上皮脱落, 部分黏膜固有层腺体局灶性坏死。MAIM和NGAIM组大鼠回肠黏膜病变较MAI和NGAI组减轻。大鼠血清DAO活性和*D*-LA及门静脉内毒素含量结果显示感染组最高、治疗组下降、假手术组最低($P < 0.05$)。并且, MAI、MAIM、MSO组血清DAO活性和门静脉内毒素含量均高于相对应的正常重力组($P < 0.05$)。免疫组织化学结果显示, Occludin和ZO-1蛋白染色为棕色颗粒, 位于回肠黏膜细胞膜上和细胞质中, 沿肠黏膜上皮连续分布。在MAI和NGAI组回肠黏

膜表达稀少, MAIM和NGAIM组染色加深, MSO和NGSO组最深. Western blot测定结果显示, MAI和NGAI组大鼠回肠黏膜Occludin和ZO-1蛋白表达量最低, MAIM和NGAIM组表达量上升, MSO和NGSO组表达量最高, 各组间差异显著($P<0.05$). 模拟失重各组的Occludin和ZO-1蛋白表达较相对应的正常重力各组的表达明显下降($P<0.05$). RT-PCR检测发现, MAI和NGAI组回肠黏膜Fas、FasI和Bax mRNA表达量最高, MAIM和NGAIM组表达量下降, MSO和NGSO组表达量最低, 各组间差异显著($P<0.05$). 除MSO和NGSO组的FasI, 模拟失重各组的Fas、FasI和Bax mRNA表达较相对应的正常重力各组的表达明显上调($P<0.05$).

结论: 模拟失重环境导致CLP所致腹腔感染大鼠肠黏膜屏障损害进一步加剧, 静脉用盐酸莫西沙星对其有确定治疗效果.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 模拟失重; 腹腔感染; 小肠; 肠黏膜屏障; 莫西沙星

核心提示: 本研究发现, 模拟失重环境下的腹腔感染及脓毒反应进一步对肠黏膜屏障造成破坏, 血清二胺氧化酶(diamine oxidase)活性和D-乳酸(D-lactate)值及门静脉内毒素含量显著升高, 回肠黏膜组织中Occludin和ZO-1蛋白表达下降, Fas、FasI和Bax mRNA表达上调, 经静脉途径应用盐酸莫西沙星治疗后各项指标明显改善.

鲍时明, 邓忠伟, 杨建武, 李晓鸥, 董满库, 周金莲, 杨鹤鸣, 李成林, 崔彦. 模拟微重力环境下腹腔感染大鼠肠黏膜屏障损害及抗感染疗效. 世界华人消化杂志. 2015; 23(20): 3203–3212
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3203.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i20.3203>

0 引言

随着我国载人航天计划第三步实施目标的逼近和航天员长期驻留空间站的要求, 航天医学保障和研究工作亟待加强^[1,2]. 航天员在航天飞行环境以及地面特殊条件下进行模拟失重训练过程中受到多种不利因素的影响, 一旦发生各种感染, 其病情特点和处置要求均有一定特殊性, 并且微重力环境可导致微生物的生物学特性改变, 增加了航天飞行中感染性疾病预防的复杂性^[3-5]. 肠道是人体最大的细菌库和内毒素池, 肠黏膜屏障功能的有效防护至关重

要^[6,7]. 有关失重环境下腹腔感染及抗感染治疗过程中肠黏膜屏障病理生理变化的研究尚未见报道. 本实验通过研究尾悬吊模拟失重及腹腔感染大鼠血清二胺氧化酶(diamine oxidase, DAO)和D-乳酸(D-lactate, D-LA)、门静脉内毒素、回肠黏膜Occludin、ZO-1蛋白以及Fas、FasI和Bax基因表达水平, 结合肠黏膜组织病理学变化, 探讨在模拟失重环境下腹腔感染大鼠肠黏膜屏障损害情况及抗感染治疗效果, 为航天失重环境中感染性疾病的防治措施提供参考依据.

1 材料和方法

1.1 材料 动物实验经医院伦理委员会批准后进行. 实验动物为SPF级健康♂成年Wistar大鼠60只, 体质量 $260\text{ g}\pm 20\text{ g}$, 由军事医学科学院实验动物中心提供. 动物饲养条件为人工控温($23\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$), 保持12 h光照与黑暗交替, 自由活动、饮水、采食. 适应性饲养7 d后, 采用随机数表法将实验动物分为6组($n=10$), 分别为失重并腹腔感染组(microgravity+abdominal-infection, MAI)、失重并腹腔感染治疗组(microgravity+abdominal-infection+moxifloxacin, MAIM)、失重并腹腔假手术组(microgravity+sham-operation, MSO)、正常重力腹腔感染组(normal-gravity+abdominal-infection, NGAI)、正常重力腹腔感染治疗组(normal-gravity+abdominal-infection+moxifloxacin, NGAIM)及正常重力腹腔假手术组(normal-gravity+sham-operation, NGSO). 实验用药品盐酸莫西沙星氯化钠注射液(moxifloxacin hydrochloride and sodium chloride injection)为Bayer Vital GmbH产品.

1.2 方法

1.2.1 实验模型的建立与取材: 参照Morey-Holten等的方法^[8], 采用尾悬吊法建立模拟失重大鼠模型. 对照各组大鼠尾部不悬吊, 置同样环境中. 模拟失重48 h后, 按分组要求进行手术造模, 采用盲肠结扎穿孔术(cecal ligation and puncture, CLP)建立腹腔感染模型^[9]. 腹腔注射10%水合氯醛(300 mg/kg)麻醉动物, 备皮消毒, 经腹正中纵行切口, 进腹后寻找盲肠, 分离系膜, 避免损伤主要血管. 将盲肠内容物推至盲肠远端, 在盲肠远端与盲肠根部1/2处用1号丝线结扎. 避开主要血管, 用20 G针头在盲肠游离端贯通穿刺2次, 轻压见肠内容物

■ 创新盘点

本研究证实, 失重环境下的腹腔感染及脓毒反应对肠黏膜屏障造成进一步损害, 经静脉途径应用盐酸莫西沙星对控制腹腔感染进而维护肠黏膜屏障具有明确疗效, 未见类似研究报道.

应用要点

本文探讨模拟失重环境下腹腔感染大鼠肠黏膜屏障损害情况及抗感染治疗效果, 为航天失重环境中感染性疾病的防治措施提供参考文献。

溢出, 以保证穿孔开放. 关闭腹腔. 假手术组开腹后找到盲肠, 不作结扎和穿孔, 其他处理同上. 术后各组动物均自由进食饮水, 皮下注射预热37℃生理盐水(5 mL/kg)补充液体. 模拟失重组动物待麻醉苏醒后继续尾悬吊处理. 治疗组分别于术后0、24及48 h经尾静脉注射盐酸莫西沙星氯化钠注射液(30 mg/kg), 其余组注射等量体积的生理盐水. CLP后60 h进行实验取材, 动物麻醉后经原切口进腹, 眼球取血的同时, 剖腹取门静脉血, 距回盲部5 cm处取回肠组织2份, 洗净, 分别置-80℃冰箱保存和浸于4%多聚甲醛(pH 7.4)中固定备用. 血标本4℃过夜, 3000 r/min离心10 min, 分离血清, -80℃保存备用.

1.2.2 放射免疫测定血清DAO、D-LA及门静脉内毒素含量: 取血清, 离心5000 r/min×3 min, 取上清液, 放射免疫法测定血清中DAO和D-LA, 动态浊度法鲎试验(kinetic turbidimetric limulus test)检测门静脉血毒素含量. 按DAO和D-LA放免试剂盒(南京建成生物工程研究所)以及鲎试验试剂盒(厦门鲎试剂试验厂有限公司)说明书进行检测.

1.2.3 免疫组织化学法检测Occludin、ZO-1蛋白表达: 取固定于4%多聚甲醛中的小肠标本, 经梯度乙醇脱水、浸蜡、包埋、5 μm连续切片、烤干、脱蜡等步骤, 微波抗原修复, 3%过氧化氢滴加于切片组织上以阻断内源性过氧化物酶. 滴加稀释好的一抗, 4℃湿盒中孵育过夜, PBS冲洗切片3次, 每次3 min, 滴加聚合物辅助剂, 37℃孵育20 min. PBS冲洗切片3次, 每次2 min, 滴加辣根过氧化物酶标记的二抗IgG多聚体, 37℃孵育20-30 min. DAB溶液显色, 蒸馏水冲洗, 苏木素复染, 脱水、封片. Occludin、ZO-1蛋白染色阳性判定: 肠黏膜上皮细胞间染棕黄色或棕褐色, 颜色越浅表达量越低.

1.2.4 Western blot测定肠黏膜Occludin和ZO-1蛋白表达: 按照全蛋白提取试剂盒说明书进行回肠黏膜蛋白提取和定量. 取适量RIPA裂解液匀浆组织, 测蛋白浓度后, 各样品取50 μg总蛋白并根据蛋白分子量配制10%的PAGE胶电泳. 将聚丙烯酰胺凝胶上的蛋白质通过电转移并印记至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜. 用含5%脱脂奶粉的TBST封闭液浸泡PVDF膜, 室温摇床封闭2 h. 稀释相应的一抗, 使PVDF膜浸泡于一抗

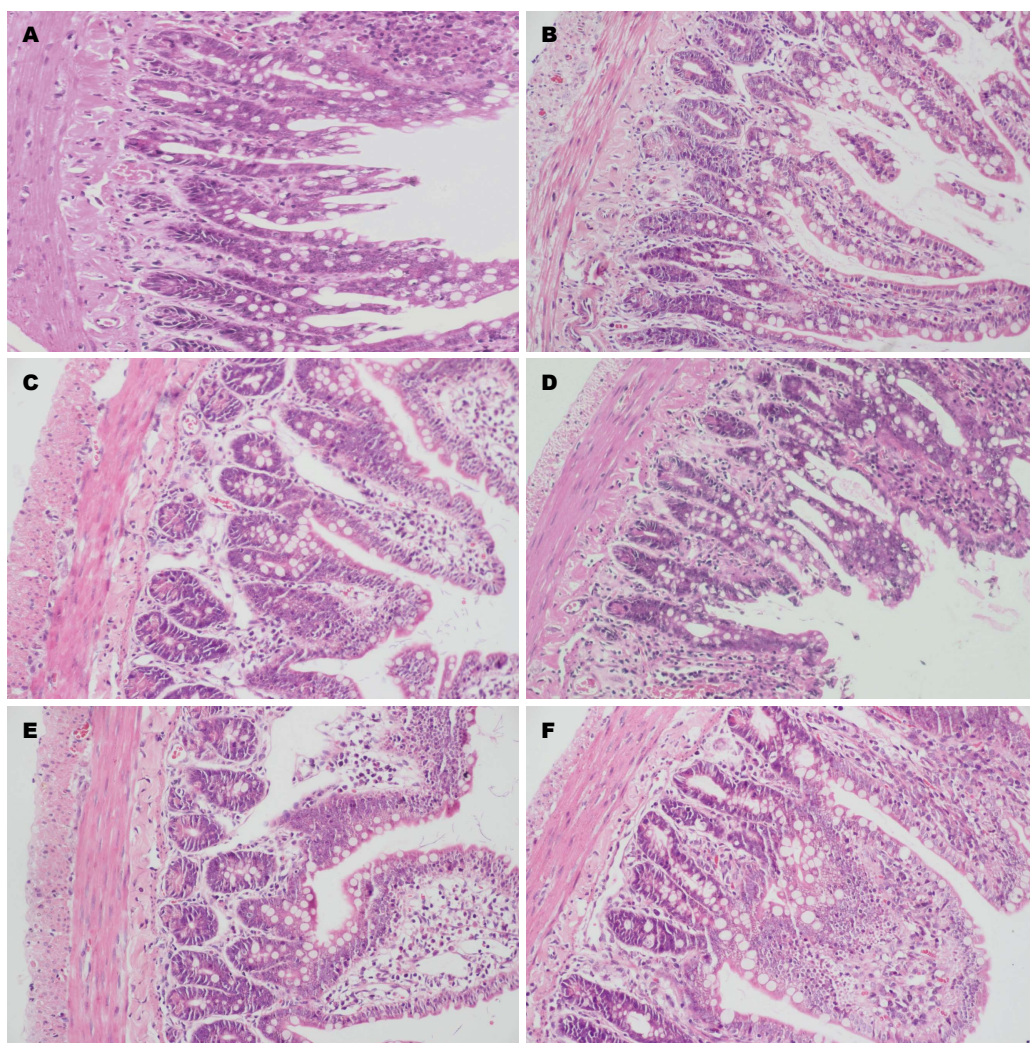
孵育液中, 4℃孵育过夜. TBST充分洗涤PVDF膜5-6次, 每次5 min. 用封闭液稀释相应的HRP标记二抗, 根据抗体说明书稀释相应倍数, 室温摇床孵育2 h. 洗膜后显色曝光. BandScan分析胶片灰度值.

1.2.5 Real-time PCR检测回肠黏膜Fas、FasI和Bax mRNA表达水平: 通过文献检索和Genbank比对设计引物, 引物序列分别为: Fas上游: 5'-ACCTCATCACTAGAAGCCACCAG-3', 下游: 5'-GTGGTACTTGGCCTTGGGTTTA-3', 扩增片段长度116 bp; FasI上游: 5'-CCGTGAGTTCACCAACCACA-3', 下游: 5'-CGGGGGTTCCCTGTAAAGTG-3', 扩增片段长度120 bp; Bax上游: 5'-CAGGCGAATTGGCGATGAAC-3', 下游: 5'-CCCAGTTGAAGTTGCCGTCT-3', 扩增片段长度134 bp; β-actin上游: 5'-CACGATGGAGGGGCCGACTCATC-3', 下游: 5'-TAAAGACCTCTATGCCAACACAGT-3', 扩增片段长度240 bp. 按照RNA提取试剂盒说明书提取组织总RNA, 测定RNA纯度、含量及完整性. 按照逆转录试剂盒操作说明合成cDNA, 以cDNA为模板进行荧光RT-PCR扩增, 分别检测Fas、FasI和Bax mRNA的表达. PCR反应条件为预变性95℃ 10 min, 变性95℃ 15 s, 退火60℃ 15 s, 延伸72℃ 15 s, 经35个循环. 各基因相对含量用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$, 扩增不同基因得到Ct值, $\Delta Ct = Ct_{\text{实验组}} - Ct_{\beta\text{-actin}}$, 根据 $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{\text{实验组}} - \Delta Ct_{\text{对照组}}$, 得到实验组目的基因的相对含量 $2^{-\Delta\Delta Ct}$.

统计学处理 采用SPSS20.0统计软件进行数据分析, 数据用mean±SD表示, 多组样本均数比较采用单因素方差分析(One way-ANOVA), 组间两两比较采用t检验, 以P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 大鼠小肠黏膜光镜观察 MAI、NGAI组大鼠回肠黏膜和黏膜下层出现明显的间质水肿和血管充血, 黏膜层炎性细胞浸润, 肠绒毛排列紊乱, 高矮不一, 部分倒伏、融合, 部分绒毛尖端破溃, 黏膜上皮脱落, 部分黏膜固有层腺体局灶性坏死. MAIM、NGAIM组大鼠回肠黏膜的上述病变减轻. MSO、NGSO组大鼠回肠黏膜各层结构基本完整, 肠绒毛排列整齐, 仅有少量淋巴细胞增生及炎细胞浸润. 模拟失重组和正常重力组之间的差异不明显(图1).



同行评价

本文研究模拟失重环境对腹腔感染大鼠肠黏膜屏障的损害作用及抗感染治疗效果,具有一定的理论意义和应用参考价值。方案设计合理,实验方法科学,数据可靠,结果明确。

图 1 光镜下各组回肠黏膜病理变化(HE × 100)。A: 模拟失重并腹腔感染组(MAI); B: 模拟失重并腹腔感染治疗组(MAIM); C: 模拟失重并腹腔假手术组(MSO); D: 正常重力腹腔感染组(NGAI); E: 正常重力腹腔感染治疗组(NGAIM); F: 正常重力腹腔假手术组(NGSO)。

2.2 大鼠血清DAO活性、D-LA及门静脉内毒素含量 放射免疫测定的大鼠血清DAO活性、D-LA及门静脉内毒素含量结果为感染组最高,治疗组下降,假手术组最低($P < 0.05$)。同时发现,MAI、MAIM、MSO组血清DAO活性和门静脉内毒素含量均高于相对应的正常重力组($P < 0.05$)。MAI和MAIM组血清D-LA含量高于相对应的正常重力组($P < 0.05$)(表1)。

2.3 免疫组织化学检测Occludin和ZO-1蛋白表达 Occludin和ZO-1蛋白免疫反应沉淀物均为棕色颗粒,位于回肠黏膜细胞膜上和细胞质中,沿肠黏膜上皮连续分布。实验各组大鼠回肠黏膜上均有Occludin和ZO-1蛋白表达,MAI和NGAI组回肠黏膜Occludin和ZO-1蛋白表达稀少,MAIM和NGAIM组染色加深,MSO和NGSO组最深。模拟失重组与正常重力组之间

的差异不明显(图2, 3)。

2.4 Western blot测定结果 实验各组动物回肠黏膜Occludin和ZO-1蛋白表达特点基本一致,MAI和NGAI组表达量最低,MAIM和NGAIM组表达量上升,MSO和NGSO组表达量最高,各组间差异显著($P < 0.05$)。模拟失重各组的Occludin和ZO-1蛋白表达较相对应的正常重力各组的表达明显下降($P < 0.05$)(图4)。

2.5 Real-time PCR检测回肠黏膜Fas、FasI和Bax mRNA表达 检测结果显示,实验各组肠黏膜都有Fas、FasI和Bax mRNA表达,MAI和NGAI组表达量最高,MAIM和NGAIM组表达量下降,MSO和NGSO组表达量最低,各组间差异显著($P < 0.05$)。除MSO和NGSO组的FasI,模拟失重各组的Fas、FasI和Bax mRNA表达较相对应的正常重力各组的表达明显上调

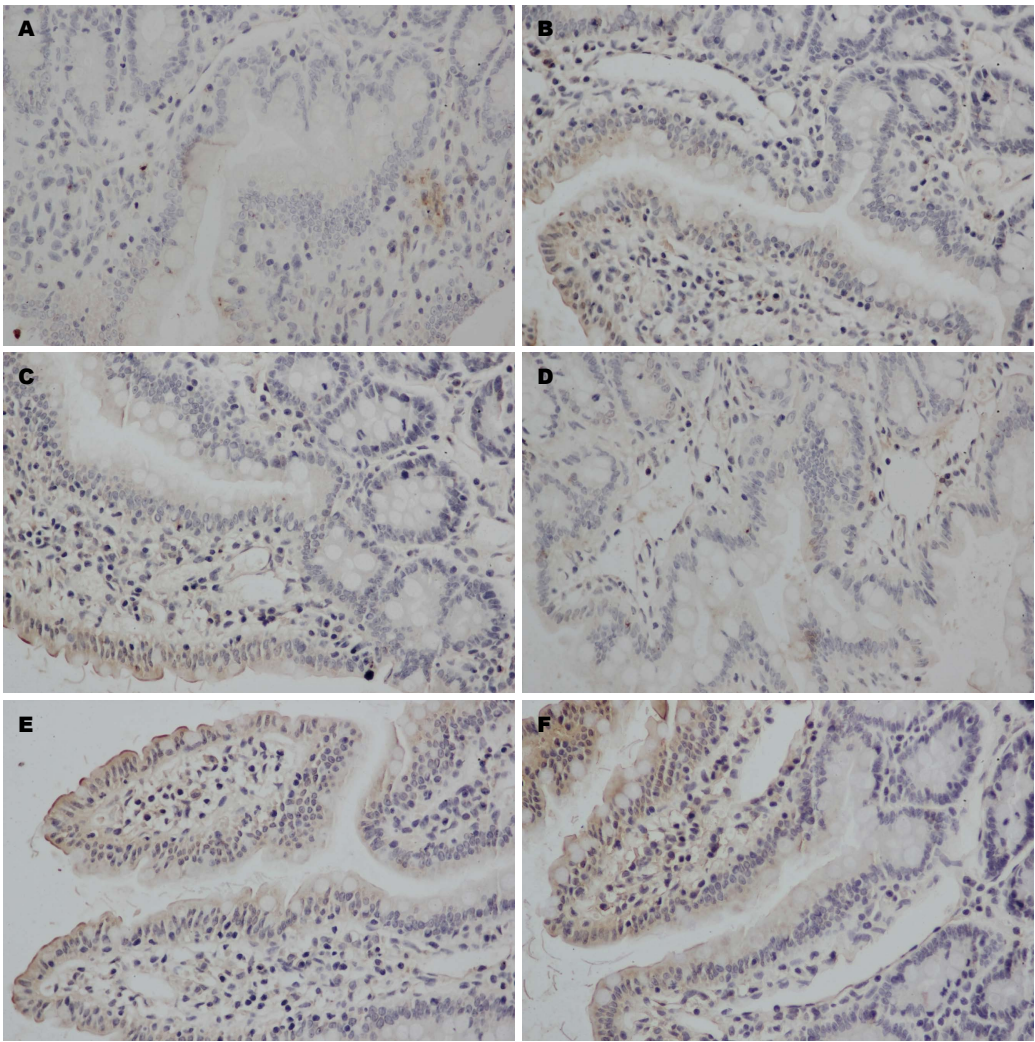


图 2 实验各组动物回肠组织中Occludin蛋白表达(PV-9000 × 200). A: 模拟失重并腹腔感染组(MAI); B: 模拟失重并腹腔感染治疗组(MAIM); C: 模拟失重并腹腔假手术组(MSO); D: 正常重力腹腔感染组(NGAI); E: 正常重力腹腔感染治疗组(NGAIM); F: 正常重力腹腔假手术组(NGSO).

表 1 大鼠血清DAO活性、D-LA及门静脉内毒素含量 (mean ± SD)

分组	DAO活力(U/L)	D-LA含量(mmol/L)	内毒素(EU/mL)
MAI	61.095 ± 1.266 ^a	1.939 ± 0.034 ^a	0.395 ± 0.012 ^a
MAIM	48.889 ± 1.836 ^a	0.920 ± 0.037 ^a	0.261 ± 0.010 ^a
MSO	26.652 ± 1.563	0.424 ± 0.028	0.157 ± 0.009
NGAI	52.619 ± 1.354 ^c	1.295 ± 0.030 ^c	0.325 ± 0.009 ^c
NGAIM	35.635 ± 1.251 ^c	0.669 ± 0.026 ^c	0.201 ± 0.008 ^c
NGSO	15.263 ± 1.363	0.305 ± 0.022	0.104 ± 0.007

^a*P*<0.05 vs MSO; ^c*P*<0.05 vs NGSO. MAI: 模拟失重并腹腔感染组; MAIM: 模拟失重并腹腔感染治疗组; MSO: 模拟失重并腹腔假手术组; NGAI: 正常重力腹腔感染组; NGAIM: 正常重力腹腔感染治疗组; NGSO: 正常重力腹腔假手术组. DAO: 二胺氧化酶; D-LA: D-乳酸.

(*P*<0.05)(图5).

3 讨论

航天员在航天失重环境中罹患感染性疾病的

问题, 已受到学术界的关注. 相关研究^[4,5,10-12]表明, 在失重环境中机体各系统发生的一系列生理病理变化以及微生物性状和致病性的改变, 给航天医学研究和实施带来重大挑战. 腹腔感

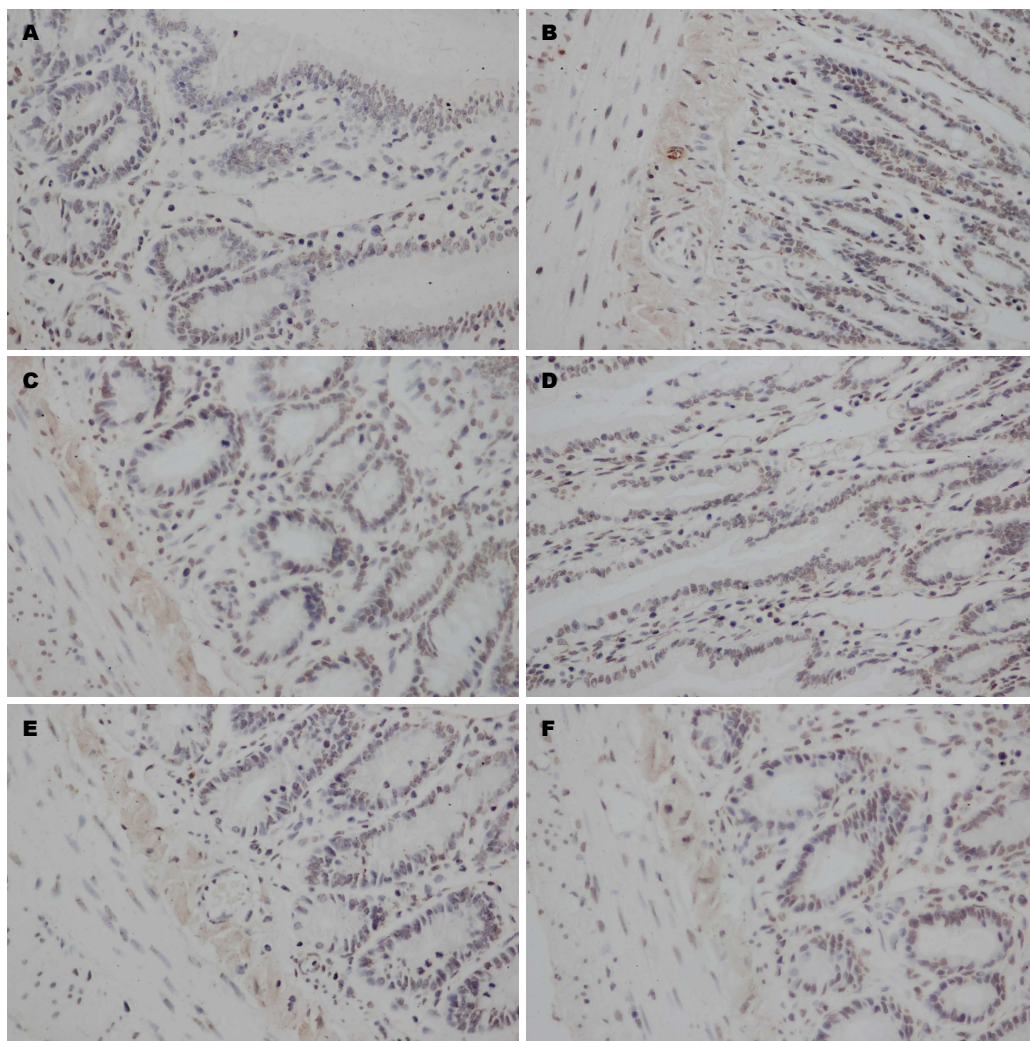


图 3 实验各组动物回肠组织中ZO-1蛋白表达(PV-9000 × 200). A: 模拟失重并腹腔感染组(MAI); B: 模拟失重并腹腔感染治疗组(MAIM); C: 模拟失重并腹腔假手术组(MSO); D: 正常重力腹腔感染组(NGAI); E: 正常重力腹腔感染治疗组(NGAIM); F: 正常重力腹腔假手术组(NGSO).

染是临床上最常见的一种急腹症^[13], 一旦航天员在航天飞行过程中发生类似情况, 由于环境极为特殊, 病情演变充满未知数, 救治条件极度受限, 防控不当则严重威胁航天员健康和生命, 并影响航天任务. 如何合理处置, 亟待深入研究.

研究^[14]证实, 失重对胃肠黏膜屏障功能可能造成一定影响. 白树民等^[15]进行模拟失重大鼠肠道菌群影响的研究, 扫描电镜发现大鼠盲肠上皮出现明显的病理性改变, 包括细胞肿胀、上皮细胞绒毛排列紊乱、稀疏等, 认为这种病理性损害可能与肠道通透性改变密切相关, 进而引起肠道微生态失调. 李成林等^[16]进行大鼠尾悬吊实验, 发现在模拟失重早期应激阶段, 大鼠回肠黏膜组织中核因子 κ B(nuclear factor kappa B, NF- κ B)蛋白表达水平明显增强,

NF- κ B被激活并调控下游基因, 可能是加重肠黏膜屏障损伤的机制之一. 陈英等^[17,18]研究发现, 尾悬吊模拟失重大鼠小肠黏膜的光镜和电镜结果均显示小肠黏膜绒毛和微绒毛变稀少, 变短变宽, 表面积减小; 小肠黏膜紧密连接蛋白表达减少, 小肠黏膜通透性增加, 认为小肠黏膜微观结构的改变可能是造成航天员在航空飞行中出现腹泻、腹胀等消化和吸收不良症状的重要原因之一.

肠黏膜屏障在抵御腹腔感染过程中发挥重要作用^[6,19]. 腹腔感染及全身脓毒反应过程中, 机体释放大量细胞因子和炎性介质, 对肠黏膜生物屏障、机械屏障、化学屏障和免疫屏障造成一系列直接和间接的损伤效应^[10,19,20]. 在失重环境对肠黏膜屏障结构和功能造成一定影响的基础上, 再遭受腹腔感染及脓毒反应,

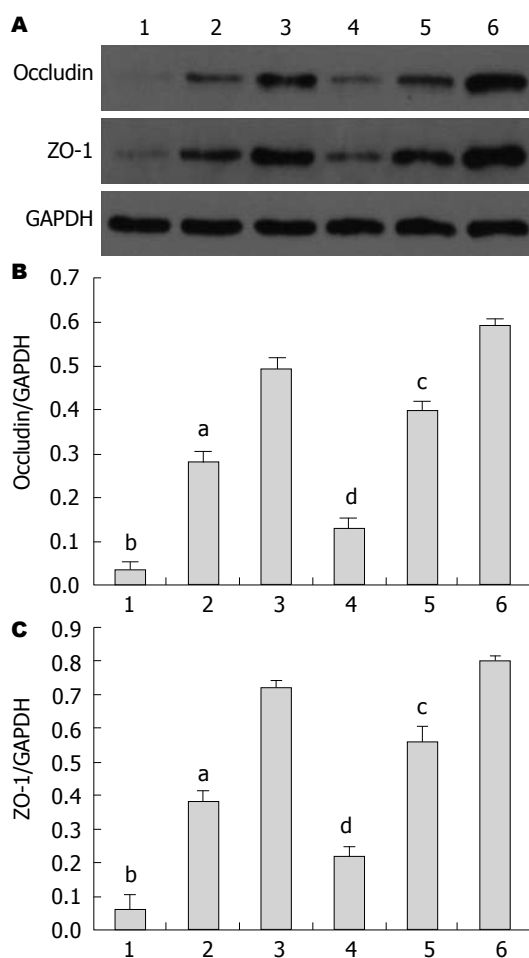


图4 实验各组动物回肠组织Occludin及ZO-1蛋白的表达。A: Occludin蛋白和ZO-1蛋白的表达; B: Occludin/GAPDH比值; C: ZO-1/GAPDH比值。1: MAI; 2: MAIM; 3: MSO; 4: NGAI; 5: NGAIM; 6: NGSO。MAI: 模拟失重并腹腔感染组; MAIM: 模拟失重并腹腔感染治疗组; MSO: 模拟失重并腹腔假手术组; NGAI: 正常重力腹腔感染组; NGAIM: 正常重力腹腔感染治疗组; NGSO: 正常重力腹腔假手术组。^a*P*<0.05, ^b*P*<0.01 vs MSO; ^c*P*<0.05, ^d*P*<0.01 vs NGSO。

势必对肠黏膜屏障造成进一步破坏。

DAO是哺乳动物肠黏膜上皮绒毛细胞胞质中具有高度活性的细胞内酶。肠黏膜上皮细胞受损后其被释放至肠细胞间隙并进入血管和淋巴管, 导致血DAO升高, 因而血液循环中和肠黏膜DAO活性可作为反映肠黏膜屏障通透性及结构损伤与修复情况的标志物^[21]。D-LA是胃肠道固有细菌的代谢终产物, 肠黏膜一旦受损, 大量D-LA会通过损伤的肠黏膜入血, 并且血D-LA含量越高, 导致肠黏膜通透性越大, 造成恶性循环^[6,19]。跨膜蛋白Occludin和胞质黏附蛋白ZO-1是紧密连接蛋白和肠黏膜屏障最重要的组成部分, 主要集中于紧密连接纤维内, 上皮细胞通过Occludin蛋白封闭细胞间隙, 并与ZO-1等结合形成紧密连接的基础

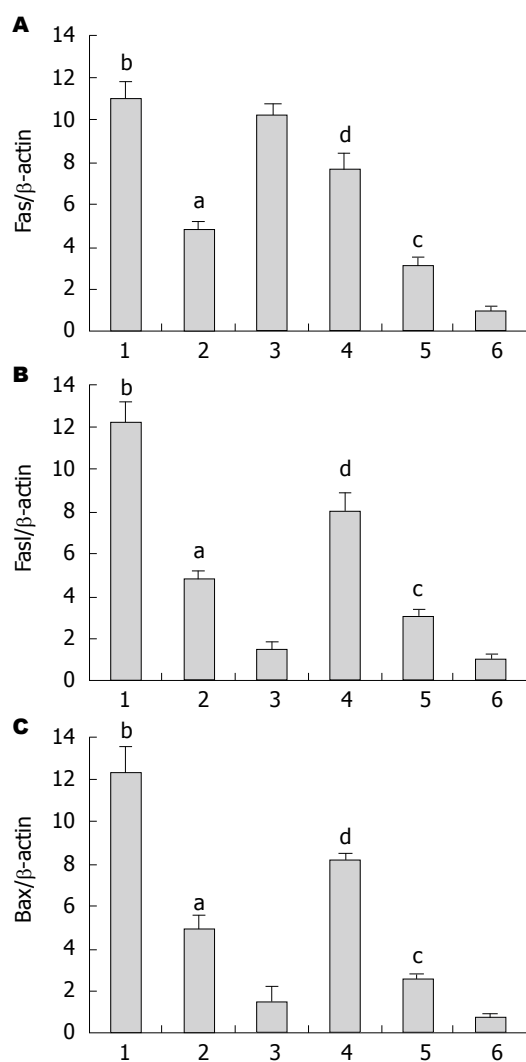


图5 Real-time PCR检测回肠黏膜组织中Fas、FasL和Bax基因表达。A: Fas mRNA表达; B: FasL mRNA表达; C: Bax mRNA表达。1: MAI; 2: MAIM; 3: MSO; 4: NGAI; 5: NGAIM; 6: NGSO。MAI: 模拟失重并腹腔感染组; MAIM: 模拟失重并腹腔感染治疗组; MSO: 模拟失重并腹腔假手术组; NGAI: 正常重力腹腔感染组; NGAIM: 正常重力腹腔感染治疗组; NGSO: 正常重力腹腔假手术组。^a*P*<0.05, ^b*P*<0.01 vs MSO; ^c*P*<0.05, ^d*P*<0.01 vs NGSO。

结构。紧密连接一旦遭到破坏, 肠通透性即升高, 屏障功能受损^[22]。另外, 炎症因子和氧化应激导致促凋亡蛋白Bax蛋白在回肠黏膜上皮细胞表达增加, 主要机制包括激活Fas、FasL信号转导途径和Bax调节途径而发挥作用^[23]。本研究结果显示, 模拟微重力基础上腹腔感染动物的血清DAO活性和D-LA含量显著升高, Occludin和ZO-1蛋白表达量明显下降, Fas mRNA、FasL mRNA和Bax mRNA表达上调, 上皮细胞凋亡增加。上述多项检测指标均提示, 模拟微重力基础上腹腔感染动物的肠黏膜屏障完整性遭到破坏, 功能明显受损。

内毒素是革兰氏阴性细菌细胞壁内的脂多糖, 细菌死亡、细胞壁崩解时释出。机体受到严重细菌感染时, 细菌过度繁殖, 定植机会增大, 产生大量代谢产物和毒素。内毒素入血则造成广泛的损伤作用, 包括损害肠黏膜上皮细胞线粒体和溶酶体, 抑制氧化过程, 导致上皮细胞自溶, 破坏紧密连接蛋白的磷酸化或去磷酸化过程, 破坏肠黏膜屏障功能^[24,25]。本实验研究发现, 模拟失重环境中腹腔感染大鼠门静脉内毒素含量显著高于假手术组, 亦高于相对应的正常重力组。提示大鼠腹腔感染加重了模拟失重环境下的肠黏膜屏障损害。Rivera等^[26]进行大鼠和小鼠进行4 wk模拟失重实验, 发现实验动物的门静脉内毒素含量明显升高(>50%)。周金莲等^[27]的研究亦发现, 尾悬吊模拟失重可导致大鼠门静脉内毒素血症。显然, 失重应激作用造成胃肠道蠕动紊乱、血液瘀滞、微生态失调等一系列情况。失重环境下的腹腔感染及脓毒反应进一步对肠黏膜屏障造成破坏, 通透性增加, 加剧门静脉内毒素血症, 对肝脏及全身产生广泛影响。

腹腔脏器破裂穿孔或者化脓性炎症向腹腔扩散, 往往导致腹膜炎或脓肿的继发改变, 这种复杂性腹腔感染多合并多种病原菌的混合感染, 外科干预和应用抗生素是最基本的治疗措施^[13]。本研究选用盐酸莫西沙星经静脉途径治疗模拟失重和正常重力环境下的腹腔感染动物, 实验结果显示, 盐酸莫西沙星治疗组大鼠回肠黏膜水肿、充血和炎细胞浸润及渗出明显减轻, 血清DAO活性和血清D-LA及门静脉内毒素含量明显下降, Occludin和ZO-1蛋白表达上调, Bax、Fas和FasL mRNA表达量下调; 模拟失重和正常重力组之间各指标无明显差异。实验结果说明静脉用盐酸莫西沙星对控制失重环境下大鼠腹腔感染和肠黏膜损害有确定效果, 模拟失重因素并未明显影响其治疗效果。模拟失重条件下肠蠕动减缓和肠内容物向心性漂移等因素理应对腹腔感染有一定影响; 另外, 由于本实验周期短, 模拟失重对盲肠结扎穿孔术后所溢出病原菌的影响可能不大, 但均有待进一步探讨。本实验研究提示, 鉴于航天飞行过程中极为特殊的环境, 航天员一旦发生腹腔感染性疾病, 当首选积极的抗感染药物治疗; 盐酸莫西沙星抗菌谱广, 穿透性强, 药效稳定, 可作为航天医疗保障备选抗生素^[28]。

尽管如此, 必须加强研究航天外科手术技术的应用以应对严重腹腔感染及其他急腹症等情况。国外已有学者开展了太空腹腔镜手术、超声引导腹腔穿刺引流甚至太空机器人手术等的研究^[29,30]。我们在该领域的研究亟待加强, 以跟进保障我国载人航天事业的新发展新突破。

4 参考文献

- 1 陈善广, 陈金盾, 姜国华. 我国载人航天成就与空间站建设. *航天医学与医学工程* 2012; 25: 391-396
- 2 李莹辉. 航天医学研究现状与趋势. *航天医学与医学工程* 2013; 26: 421-425
- 3 黄玉玲, 杨建武, 易勇, 崔彦. 微重力及太空飞行对微生物影响的研究进展. *北京生物医学工程* 2014; 33: 102-106
- 4 朱敏立, 王萍, 崔彦, 裴士杰, 王小辉. 模拟失重大鼠肺组织肺炎链球菌感染的病理改变. *中华航空航天医学杂志* 2014; 25: 194-197
- 5 Mermel LA. Infection prevention and control during prolonged human space travel. *Clin Infect Dis* 2013; 56: 123-130 [PMID: 23051761 DOI: 10.1093/cid/cis861]
- 6 Lopetuso LR, Scaldaferrri F, Bruno G, Petito V, Franceschi F, Gasbarrini A. The therapeutic management of gut barrier leaking: the emerging role for mucosal barrier protectors. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2015; 19: 1068-1076 [PMID: 25855934]
- 7 Iizuka M, Konno S. Wound healing of intestinal epithelial cells. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 2161-2171 [PMID: 21633524 DOI: 10.3748/wjg.v17.i17.2161]
- 8 Morey-Holton ER, Globus RK. Hindlimb unloading rodent model: technical aspects. *J Appl Physiol* (1985) 2002; 92: 1367-1377 [PMID: 11895999]
- 9 Rittirsch D, Huber-Lang MS, Flierl MA, Ward PA. Immunodesign of experimental sepsis by cecal ligation and puncture. *Nat Protoc* 2009; 4: 31-36 [PMID: 19131954 DOI: 10.1038/nprot.2008.214]
- 10 Li M, Holmes V, Zhou Y, Ni H, Sanzari JK, Kennedy AR, Weissman D. Hindlimb suspension and SPE-like radiation impairs clearance of bacterial infections. *PLoS One* 2014; 9: e85665 [PMID: 24454913 DOI: 10.1371/journal.pone.0085665]
- 11 崔彦, 董家鸿, 张铭, 周金莲, 刘子沛, 王平, 李成林, 张建中. NF- κ B在模拟失重大鼠肝组织中的表达. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 3480-3484
- 12 张雯, 李静, 韩全利, 陈英, 唐合兰, 杜斌, 杨春敏. 模拟失重大鼠实验性胃溃疡愈合的影响. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 2863-2868
- 13 Shirah GR, O'Neill PJ. Intra-abdominal Infections. *Surg Clin North Am* 2014; 94: 1319-1333 [PMID: 25440126 DOI: 10.1016/j.suc.2014.08.005]
- 14 郭彪, 李成林, 崔彦. 失重对消化系统影响的研究进展. *胃肠病学和肝病杂志* 2013; 22: 482-487
- 15 白树民, 黄纪明, 朱德兵, 李志霞, 洪建武, 周熙成, 梁明, 熊德鑫. 模拟失重大鼠肠道菌群影响的研究. *中国微生物学杂志* 2001; 13: 326-327
- 16 李成林, 张铭, 周金莲, 崔彦, 余佩武. 模拟失重大鼠肠黏膜NF- κ B表达的影响. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 3328-3331
- 17 陈英, 杨春敏, 王萍, 毛高平, 任力. 模拟失重状态下大鼠小肠黏膜光镜及电镜的形态学改变. *中华航空航天医学杂志* 2008; 19: 124-128
- 18 陈英, 杨春敏, 毛高平, 王萍, 刘庆森, 郭明洲. 模拟失重大鼠小肠黏膜紧密连接蛋白表达的影响. *航天医学与医学工程* 2011; 24: 327-331

- 19 高金生, 杨书良. 肠黏膜屏障损伤的原因与机制研究进展. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1540-1544
- 20 成红刚, 丁连安, 曲林林, 牛冬光. 腹腔感染大鼠肠黏膜通透性的改变与E-cadherin蛋白表达的关系. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 2479-2484
- 21 Luk GD, Bayless TM, Baylin SB. Diamine oxidase (histaminase). A circulating marker for rat intestinal mucosal maturation and integrity. *J Clin Invest* 1980; 66: 66-70 [PMID: 6772669]
- 22 Suzuki T. Regulation of intestinal epithelial permeability by tight junctions. *Cell Mol Life Sci* 2013; 70: 631-659 [PMID: 22782113 DOI: 10.1007/s00018-012-1070-x]
- 23 Weber CR, Raleigh DR, Su L, Shen L, Sullivan EA, Wang Y, Turner JR. Epithelial myosin light chain kinase activation induces mucosal interleukin-13 expression to alter tight junction ion selectivity. *J Biol Chem* 2010; 285: 12037-12046 [PMID: 20177070 DOI: 10.1074/jbc.M109.064808]
- 24 Ronco C. Endotoxin removal: history of a mission. *Blood Purif* 2014; 37 Suppl 1: 5-8 [PMID: 24457488 DOI: 10.1159/000356831]
- 25 张燕, 罗予. 肠道黏膜受损及保护机制的研究进展. *中国微生态学杂志* 2010; 22: 85-88
- 26 Rivera CA, Tcharmtchi MH, Mendoza L, Smith CW. Endotoxemia and hepatic injury in a rodent model of hindlimb unloading. *J Appl Physiol* (1985) 2003; 95: 1656-1663 [PMID: 12794033]
- 27 周金莲, 李成林, 易勇, 周立艳, 段育忠, 刘子沛, 吉敏, 张涛, 崔彦. 模拟失重导致门静脉内毒素血症和肝脏超微结构改变. *胃肠病学和肝病杂志* 2011; 20: 1140-1143
- 28 Al Omari MM, Jaafari DS, Al-Sou'od KA, Badwan AA. Moxifloxacin hydrochloride. *Profiles Drug Subst Excip Relat Methodol* 2014; 39: 299-431 [PMID: 24794910 DOI: 10.1016/B978-0-12-800173-8.00007-6]
- 29 Kirkpatrick AW, Nicolaou S, Campbell MR, Sargsyan AE, Dulchavsky SA, Melton S, Beck G, Dawson DL, Billica RD, Johnston SL, Hamilton DR. Percutaneous aspiration of fluid for management of peritonitis in space. *Aviat Space Environ Med* 2002; 73: 925-930 [PMID: 12234046]
- 30 Haidegger T, Sándor J, Benyó Z. Surgery in space: the future of robotic telesurgery. *Surg Endosc* 2011; 25: 681-690 [PMID: 20652320 DOI: 10.1007/s00464-010-1243-3]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版)

本刊讯 依据文献计量学的原理和方法, 经研究人员对相关文献的检索、计算和分析, 以及学科专家评审, 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种, 统计到的文献数量共计221177余万篇次, 涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下, 期刊学术水平稳步提升, 编校质量稳定, 再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录。在此, 向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者, 表示衷心的感谢!(《世界华人消化杂志》编辑部)

酪氨酸蛋白激酶7在胃腺癌中的表达及临床意义

叶志强, 张谢夫, 刘涛, 董新华, 郭鲁伟

叶志强, 张谢夫, 刘涛, 董新华, 郭鲁伟, 郑州大学第一附属医院胃肠外科 河南省郑州市 450052

叶志强, 在读硕士, 主要从事胃肠道肿瘤的基础与临床研究。

作者贡献分布: 此课题由张谢夫与叶志强共同设计; 研究过程由叶志强、张谢夫、刘涛、董新华及郭鲁伟共同完成; 数据分析与论文写作由叶志强与刘涛完成。

通讯作者: 张谢夫, 教授, 450052, 河南省郑州市建设东路1号, 郑州大学第一附属医院胃肠外科。zhangxiefu@medmail.com.cn
电话: 0371-67967131

收稿日期: 2015-04-18 修回日期: 2015-05-12

接受日期: 2015-05-15 在线出版日期: 2015-07-18

Clinical significance of expression of protein tyrosine kinase 7 in gastric adenocarcinoma

Zhi-Qiang Ye, Xie-Fu Zhang, Tao Liu, Xin-Hua Dong, Lu-Wei Guo

Zhi-Qiang Ye, Xie-Fu Zhang, Tao Liu, Xin-Hua Dong, Lu-Wei Guo, Department of Gastrointestinal Surgery, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, He'nan Province, China

Correspondence to: Xie-Fu Zhang, Professor, Department of Gastrointestinal Surgery, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe East Road, Zhengzhou 450052, He'nan Province, China. zhangxiefu@medmail.com.cn

Received: 2015-04-18 Revised: 2015-05-12

Accepted: 2015-05-15 Published online: 2015-07-18

Abstract

AIM: To explore the role of protein tyrosine kinase 7 (PTK7) in gastric adenocarcinoma (GAC).

METHODS: A total of 210 GAC tissue samples and 30 normal gastric mucosal tissues were obtained from patients who underwent D2/D3 lymphadenectomy. Immunohistochemical method was used to detect the expression

of PTK7 in GAC tissues and normal gastric mucosa tissues. The correlations of expression of PTK7 in GAC with clinical characteristics and 3-year survival rate in GAC patients were analyzed.

RESULTS: In GAC tissues and normal gastric mucosa tissues, the expression of PTK7 differed significantly (87.14% vs 22.86%, $P < 0.05$). In GAC tissues, the expression of PTK7 has no significant correlation with gender, age, tumor location or size ($P > 0.05$), but was significantly correlated with Lauren classification ($P = 0.011$), differentiation ($P = 0.039$), invasion depth ($P = 0.025$) and distant metastasis ($P = 0.034$). In GAC patients, positive expression of PTK7 was associated with a poorer 3-year survival rate compared with patients with negative expression of PTK7 (39.89% vs 62.96%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: The expression of PTK7 in GAC is higher than that in normal gastric mucosa tissues, and high expression of PTK7 is related to clinical pathological characteristics. PTK7 may be a useful biomarker to predict the prognosis for patients with GAC. PTK7 might be a potential therapeutic target for GAC.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gastric adenocarcinoma; Immunohistochemical; Survival rate; Protein tyrosine kinase 7

Ye ZQ, Zhang XF, Liu T, Dong XH, Guo LW. Clinical significance of expression of protein tyrosine kinase 7 in gastric adenocarcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(20): 3213-3218 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3213.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i20.3213>

■背景资料

胃癌(gastric carcinoma, GC)是人类第五大恶性肿瘤,由于其诊断发现较晚以及其复杂的致病因素,使其5年生存率一直不尽如人意,其中胃腺癌(gastric adenocarcinoma, GAC)占GC患者的90%以上。酪氨酸蛋白激酶7(protein tyrosine kinase 7, PTK7)是一种缺乏催化活性的受体蛋白酪氨酸激酶,有文献报道PTK7与肿瘤的发生、发展和浸润有关,且PTK7在肺癌、结肠癌、乳腺癌、食管鳞状细胞癌中均出现高表达,与患者预后差有关。但国内外对于PTK7与GAC的关系的明确研究较为少见。

■同行评议者

肖恩华,教授,中南大学湘雅二医院放射教研室

■ 研究前沿

PTK7是一种缺乏催化活性的受体蛋白酪氨酸激酶, 体外实验证明了PTK7在肿瘤细胞核内皮细胞的迁移中发挥着重要的作用, 在许多肿瘤中, PTK7出现高表达。但对于PTK7与GC的关系研究尚少。本文基于此, 对PTK7与GAC的关系进行相关临床研究, 以明确他们之间的关系, 为以后治疗提供依据。

摘要

目的: 研究酪氨酸蛋白激酶7(protein tyrosine kinase 7, PTK7)在胃腺癌(gastric adenocarcinoma, GAC)中的表达及临床意义。

方法: 收集210例接受D2/D3胃癌根治术GAC患者的手术切除标本以及30例正常癌旁胃黏膜组织, 免疫组织化学Envision法检测PTK7在GAC组织及正常组织中表达差异, 分析PTK7在GAC中的表达差异与患者临床病理资料以及3年生存率之间的关系。

结果: PTK7在GAC中的阳性表达明显比正常组织中高(87.14% vs 22.86%, $P < 0.05$)。在GAC中, PTK7的表达与患者的性别, 年龄, 肿瘤位置及大小无关($P > 0.05$), 与肿瘤的Lauren分型($P = 0.011$), 分化程度($P = 0.039$), 浸润深度($P = 0.025$)和是否转移($P = 0.034$)相关, PTK7阴性表达患者3年生存率更高(39.89% vs 62.96%, $P < 0.05$)。

结论: (1)PTK7在GAC组织中的表达水平显著高于其正常的胃黏膜组织; (2)PTK7的高表达与GAC的临床病理特征密切相关; (3)PTK7可能成为评价GAC患者预后的指标; (4)PTK7可能成为潜在的GAC早期诊断分子标志物或治疗靶点。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃腺癌; 免疫组织化学; 生存率; 酪氨酸蛋白激酶7

核心提示: 酪氨酸蛋白激酶7(protein tyrosine kinase 7, PTK7)虽然与肿瘤的发生、发展有关, 并且与多种肿瘤有密切关系, 但在胃癌中研究较少; 本文基于此, 对PTK7与胃腺癌(gastric adenocarcinoma, GAC)之间的关系进行研究, 以致其可能成为作为诊断、治疗、评估GAC预后的一个新的治疗。

叶志强, 张谢夫, 刘涛, 董新华, 郭鲁伟. 酪氨酸蛋白激酶7在胃腺癌中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2015; 23(20): 3213-3218 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3213.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i20.3213>

■ 相关报道

Shin等发现下调PTK7基因可以降低食管癌鳞状细胞癌的致瘤性, 并在ESCC细胞系中建立的PTK7的模型中证实了这一结果。

较晚以及其复杂的致病因素可能是5年生存率一直不尽如人意的原因^[3-5]。GC患者90%以上为胃腺癌^[6](gastric adenocarcinoma, GAC)。酪氨酸蛋白激酶7(protein tyrosine kinase 7, PTK7)是一种缺乏催化活性的受体蛋白酪氨酸激酶, 与肿瘤的发生、发展和浸润有关^[7-9], PTK7在肺癌、结肠癌、乳腺癌、食管鳞状细胞癌中均出现高表达^[10-12], 且与患者预后差有关^[13,14]。但国内外少见PTK7与GAC的关系, 本研究旨在探讨PTK7在GAC中的表达及其临床意义。

1 材料和方法

1.1 材料 收集郑州大学第一附属医院胃肠外科GAC患者210例手术标本及30例癌旁正常组织, 2010-01/2011-12进行D2或D3标准胃癌根治术。研究对象均接受了标准的淋巴结清扫; 均按照指南行术前常规辅助检查, 所有患者在进行手术之前未曾接受过放疗、中医和西医治疗等, 术后标本经2名及以上资深专家证明为GAC。患者知情并签字同意, 医院和学校伦理委员会书面批准。本研究所有GAC患者均随访36 mo以上, 临床病理资料完整可查, GAC患者临床病理及病历资料从医院病历系统中获取。210例患者平均年龄为59.33岁±10.71岁, 男112例, 女98例。肿瘤位置位于贲门69例, 胃体68例, 胃底73例; 肿瘤大小, 5 cm及以上79例, 5 cm以下131例; Lauren分型肠型151例, 弥漫型41例, 混合型18例; 高分化52例, 中分化80例, 低分化78例; 浸润深度T₁T₂期56例, T₃T₄期154例。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学检测及相关分析: 采用免疫组织化学Envision法检测PTK7在210例GAC组织及30例正常的癌旁组织中的表达情况, 分析GAC患者的PTK7表达与临床病理资料(患者性别、年龄、肿瘤大小位置、Lauren分型、分化程度、浸润深度和有无转移)的关系, 分析GAC患者组织与正常组织中PTK7表达的差异, 分析GAC患者PTK7阴性表达组与阳性表达组3年生存率的差异。

1.2.2 免疫组织化学结果判定: 运用Greenspan半定量分析法, 观察随机选取的5个高倍镜视野, 并且人工计数细胞数100个/高倍镜视野, 用着色细胞数及颜色深浅计分, 用两种计分乘积来判定结果即二级计分法, 具体方法如

0 引言

数年来, 胃癌(gastric carcinoma, GC)的发病率有下降趋势, 但由于GC所引起的死亡仍然高居所有恶性肿瘤的第2位^[1,2]。GC的诊断发现

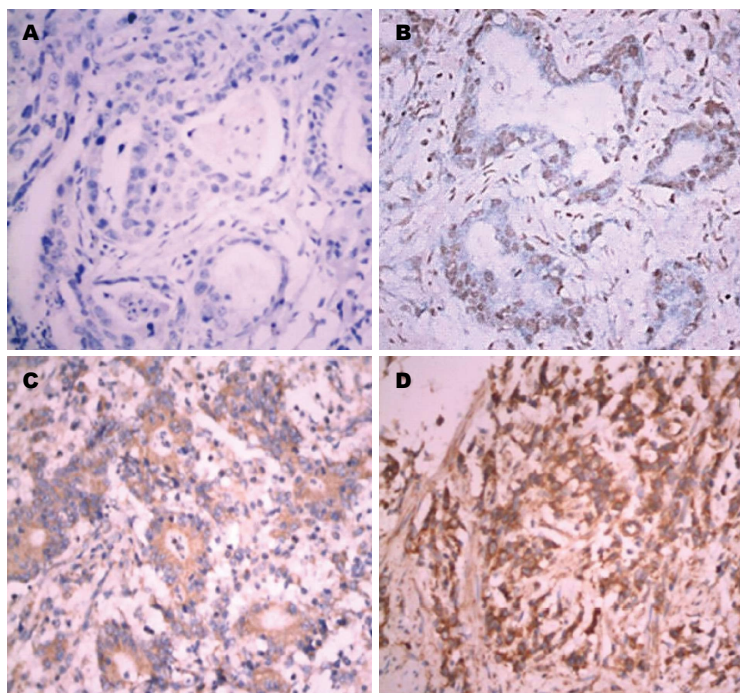


图 1 PTK7在胃腺癌组织中的表达(IHC × 400). A: PTK7在高分化腺癌中阴性表达(-); B: PTK7在高分化腺癌中弱阳性表达(+); C: PTK7在中分化腺癌中阳性表达(++); D: PTK7在低分化腺癌中强阳性表达(+++). PTK7: 酪氨酸蛋白激酶7.

创新点

虽然很多文献证实PTK7与肿瘤的发生、发展和浸润有关, 并且在肺癌、食管癌、结肠癌、乳腺癌中均出现高表达, 但对于PTK7与GAC之间的关系在国内少有文献报道. 本文基于此, 研究PTK7与GAC之间的表达及其临床的意义.

表 1 PTK7在胃腺癌和胃正常组织中表达的百分比 $n(\%)$

类别	PTK7		P值
	阴性	阳性	
胃腺癌组织	27(12.86)	183(87.14)	0.0121
正常胃组织	10(33.33)	20(66.67)	

¹Fisher确切概率法; PTK7: 酪氨酸蛋白激酶7.

下: 阳性细胞计数<10%计0分, 10%-25%计1分, 26%-50%计2分, >50%计3分, 细胞着色强度: 棕褐色、棕黄色、淡黄色, 不着色分别计3、2、1和0分. 积分结果≤1为阴性, >1为阳性.

1.2.3 术后随访: 术后复查血常规、肝功能和肿瘤标志物, 在前2年应每月1次病史询问, 并由主治以上职称医生行系统的体格检查, 然后每半年检查1次, 术后3年内至少1次/6 mo的胸腹部CT扫描检查, 胃镜或者超声胃镜检查至少每年1次, 总共3年. 随访方式采用住院复查、电话随访以及门诊随访. PTK7阳性组随访时间6-36 mo, 中位随访时间为25 mo, 12例患者失访, 失访率为6.42%(12/183); PTK7阴性组患者随访时间为11-36 mo, 中位随访时间为30 mo, 2例患者失访, 失访率为7.41%(2/27). 随访止于2015-01-01, 患者死亡或失访亦随访终止.

统计学处理 实验数据采用SPSS17.0软件包进行分析. 连续变量采用 t 检验, 相关性分析采用配对四格表的关联性分析, 临床病理因素

间的关系进行 χ^2 检验, Kaplan-Meier法和Log-rank检验行生存分析. $P<0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 GAC组织以及正常胃黏膜组织中PTK7的表达情况 PTK7主要表达于GAC细胞核及细胞质中(图1), 在GAC组织以及正常胃黏膜组织中PTK7阳性表达分别为87.14%(183/210)和66.67%(20/30), PTK7在GAC组织中的阳性表达明显高于在正常胃黏膜中的表达, 差异具有统计学意义($P=0.012$)(表1).

2.2 PTK7的表达与GAC患者的临床病理因素之间的关系 GAC患者中, PTK7的表达与患者的年龄、性别、肿瘤大小及位置无关, 与组织的Lauren分型、分化程度高低、浸润深度和是否有转移相关(表2).

2.3 PTK7阳性表达与阴性表达的GAC患者远期生存率 GAC患者PTK7阴性表达与阳性表达患者的3年生存率(62.96% vs 39.89%, $P<0.05$). Kaplan-Meier法和Log-rank检验行生存分析, GAC患者中, PTK7阴性表达与阳性表达组患者显示为不同生存曲线($\chi^2=4.851$, $P=0.028$)(图2).

3 讨论

据世界卫生组织统计, GC发生仍然非常流行, 其发生率仍然排在人类恶性肿瘤的第5位^[15].

应用要点

根据PTK7在GC中的表达情况, 可将PTK7作为评估GAC预后的一个新的指标, PTK7也可能成为将来GAC治疗的一个新的靶点, 同时PTK7还可能成为临床上早期诊断的标志物之一.

表 2 PTK7在胃腺癌中的表达

临床参数	PTK7		// χ^2 值	P值
	阴性	阳性		
年龄(岁)	59.33 ± 10.71	59.67 ± 11.41	1.550	0.122
性别[n(%)]			0.437	0.508
男	16(14.2)	96(85.8)		
女	11(11.2)	87(88.8)		
部位[n(%)]			0.255	0.880
贲门	10(14.49)	59(85.51)		
胃体	8(11.76)	60(88.24)		
胃底	9(12.32)	64(87.68)		
肿瘤大小[n(%)]			0.004	0.947
<5 cm	17(12.98)	114(87.02)		
≥5 cm	10(12.65)	69(87.35)		
Lauren分型[n(%)]			6.640	0.011
肠型	25(16.56)	126(83.44)		
弥漫型	2(4.87)	39(95.13)		
混合型	0(0.00)	18(100.00)		
分化[n(%)]			6.468	0.039
高分化	12(23.08)	40(76.82)		
中分化	10(14.29)	70(85.71)		
低分化	6(7.70)	72(92.30)		
浸润程度[n(%)]			5.007	0.025
T ₁ , T ₂	12(21.43)	44(78.57)		
T ₃ , T ₄	15(9.74)	139(90.33)		
pTNM分期[n(%)]			5.049	0.025
I, II	16(19.27)	67(80.73)		
III, IV	11(8.66)	116(91.34)		
远处转移[n(%)]				0.034 ¹
无	26(15.12)	146(84.88)		
有	1(2.63)	37(97.37)		

¹Fisher确切概率法; PTK7: 酪氨酸蛋白激酶7.

实现R0切除和标准的淋巴结清扫对于GC患者的生存仍具有重要意义^[16-18]. 近年来, 研究^[17,19,20]表明积极的化疗, 特别是新辅助化疗可以降低GAC患者的临床分期, 缩小肿瘤体积, 增加患者手术实现R0切除的几率, 提高患者的总生存率和无病生存率, 但患者的生存率仍然很低, 尤其是T₃₋₄期GC患者, 无论是否有淋巴结转移, 即使进行了R0切除后, 使30%-50%的GAC患者得到治愈, 术后5年生存率却仅为8%-26%^[21-23]. 不健康的生活方式以及环境的严重污染, GAC患者的数量仍在增加, 因此, 如何早期发现诊断GAC就显得尤为重要^[24,25].

PTK7由7个免疫球蛋白样子的环外域, 催化活性的酪氨酸蛋白域和跨膜结构域, 人类PTK7基因位于染色体6p21.1-p12.2, PTK7基

因是由20个外显子构成的^[26]. 体外实验证明了PTK7在肿瘤细胞核内皮细胞的迁移中发挥着重要的作用^[27,28], 在许多肿瘤中, PTK7出现高表达^[29].

总之, PTK7在GAC患者的癌旁正常组织中的表达显著比GAC组织中少, 在GAC患者中, PTK7阴性表达比PTK7阳性表达的GAC患者3年生存率更高, PTK7的高表达与GAC患者的性别、年龄、肿瘤大小以及位置无关, 而与GAC患者的Lauren分型, GAC瘤细胞分化程度, 患者的pTNM分期以及是否有淋巴结转移有关, 而Lauren分型, 肿瘤细胞分化程度, 肿瘤pTNM分期以及是否有淋巴结转移都与GAC患者预后有着千丝万缕的关系. 因此, PTK7在GAC患者中的表达情况可以作为评估GAC预

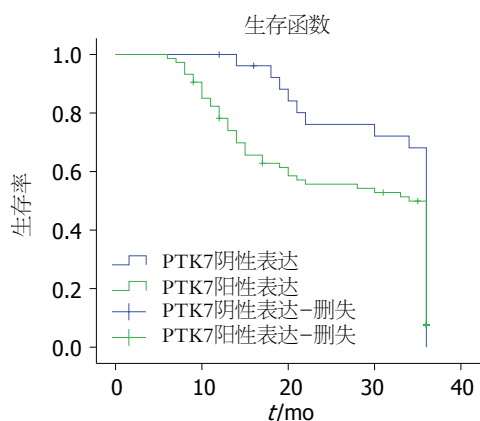


图 2 GAC患者PTK7阴性表达与PTK7阳性表达累积生存率. PTK7: 酪氨酸蛋白激酶7; GAC: 胃癌。

后的一个新指标, 而PTK7则可能成为GAC治疗新的靶点, PTK7也可能成为GAC早期诊断的标志物。

4 参考文献

- Murray CJ, Lopez AD. Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study. *Lancet* 1997; 349: 1498-1504 [PMID: 9167458 DOI: 10.1016/S0140-6736(96)07492-2]
- Pisani P, Parkin DM, Bray F, Ferlay J. Estimates of the worldwide mortality from 25 cancers in 1990. *Int J Cancer* 1999; 83: 18-29 [PMID: 10449602]
- Hansson LE, Sparén P, Nyrén O. Survival in stomach cancer is improving: results of a nationwide population-based Swedish study. *Ann Surg* 1999; 230: 162-169 [PMID: 10450729 DOI: 10.1097/0000658-199908000-00005]
- Yang L. Incidence and mortality of gastric cancer in China. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 17-20 [PMID: 16440411]
- Okines AF, Reynolds AR, Cunningham D. Targeting angiogenesis in esophagogastric adenocarcinoma. *Oncologist* 2011; 16: 844-858 [PMID: 21632459 DOI: 10.1634/thenocologist.2010-0387]
- Birchmeier C, Birchmeier W, Gherardi E, Vande Woude GF. Met, metastasis, motility and more. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003; 4: 915-925 [PMID: 14685170 DOI: 10.1038/nrm1261]
- Golubkov VS, Prigozhina NL, Zhang Y, Stoletov K, Lewis JD, Schwartz PE, Hoffman RM, Strongin AY. Protein-tyrosine pseudokinase 7 (PTK7) directs cancer cell motility and metastasis. *J Biol Chem* 2014; 289: 24238-24249 [PMID: 25006253 DOI: 10.1074/jbc.M114.574459]
- Jin N, Siddiqui RA, English D, Rhoades RA. Communication between tyrosine kinase pathway and myosin light chain kinase pathway in smooth muscle. *Am J Physiol* 1996; 271: H1348-H1355 [PMID: 8897927]
- Hunter T, Cooper JA. Protein-tyrosine kinases. *Annu Rev Biochem* 1985; 54: 897-930 [PMID: 2992362 DOI: 10.1146/annurev.bi.54.070185.004341]
- Endoh H, Tomida S, Yatabe Y, Konishi H, Osada H, Tajima K, Kuwano H, Takahashi T, Mitsudomi T. Prognostic model of pulmonary adenocarcinoma by expression profiling of eight genes as determined by quantitative real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction. *J Clin Oncol* 2004; 22: 811-819 [PMID: 14990636 DOI: 10.1200/JCO.2004.04.109]
- Na HW, Shin WS, Ludwig A, Lee ST. The cytosolic domain of protein-tyrosine kinase 7 (PTK7), generated from sequential cleavage by a disintegrin and metalloprotease 17 (ADAM17) and γ -secretase, enhances cell proliferation and migration in colon cancer cells. *J Biol Chem* 2012; 287: 25001-25009 [PMID: 22665490 DOI: 10.1074/jbc.M112.348904]
- Prebet T, Lhoumeau AC, Arnoulet C, Aulas A, Marchetto S, Audebert S, Puppo F, Chabannon C, Sainty D, Santoni MJ, Sebbagh M, Summerour V, Huon Y, Shin WS, Lee ST, Esterni B, Vey N, Borg JP. The cell polarity PTK7 receptor acts as a modulator of the chemotherapeutic response in acute myeloid leukemia and impairs clinical outcome. *Blood* 2010; 116: 2315-2323 [PMID: 20558616 DOI: 10.1182/blood-2010-01-262352]
- Speers C, Tsimelzon A, Sexton K, Herrick AM, Gutierrez C, Culhane A, Quackenbush J, Hilsenbeck S, Chang J, Brown P. Identification of novel kinase targets for the treatment of estrogen receptor-negative breast cancer. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 6327-6340 [PMID: 19808870 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-1107]
- Shin WS, Kwon J, Lee HW, Kang MC, Na HW, Lee ST, Park JH. Oncogenic role of protein tyrosine kinase 7 in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Sci* 2013; 104: 1120-1126 [PMID: 23663482 DOI: 10.1111/cas.12194]
- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- Sasako M. Principles of surgical treatment for curable gastric cancer. *J Clin Oncol* 2003; 21: 274s-275s [PMID: 14645409 DOI: 10.1200/JCO.2003.09.172]
- Cunningham D, Allum WH, Stenning SP, Thompson JN, Van de Velde CJ, Nicolson M, Scarffe JH, Lofts FJ, Falk SJ, Iveson TJ, Smith DB, Langley RE, Verma M, Weeden S, Chua YJ. Perioperative chemotherapy versus surgery alone for resectable gastroesophageal cancer. *N Engl J Med* 2006; 355: 11-20 [PMID: 16822992 DOI: 10.1056/NEJMoa055531]
- Sakamoto J. Neoadjuvant chemotherapy: a standard treatment for locally advanced gastric cancer in the near future? *Gastric Cancer* 2003; 6: 131-133 [PMID: 14520524 DOI: 10.1007/s10120-003-0254-3]
- Yoshikawa T, Sasako M, Yamamoto S, Sano T, Imamura H, Fujitani K, Oshita H, Ito S, Kawashima Y, Fukushima N. Phase II study of neoadjuvant chemotherapy and extended surgery for locally advanced gastric cancer. *Br J Surg* 2009; 96: 1015-1022 [PMID: 19644974 DOI: 10.1002/bjs.6665]
- 谢振山, 张谢夫, 刘光辉, 刘涛, 董新华, 杨振. 应用多西他赛联合S-1新辅助化疗方案治疗可切除的进展期胃癌的疗效. *世界华人消化杂志* 2014; 22: 5334-5338
- Macdonald JS. Role of post-operative chemoradiation in resected gastric cancer. *J Surg*

■名词解释

酪氨酸蛋白激酶7(PTK7): 是在结肠癌细胞系中分解而发现的, 也被叫结肠癌激酶4(colon carcinoma kinase 4), 是一种缺乏催化活性的受体蛋白酪氨酸激酶, 是PTK7/Otk的共同受体, 在许多肿瘤中出现高表达, 包括肺癌、结肠癌、食管癌、乳腺癌等; 并且与肿瘤的发生有着千丝万缕的关系。

同行评价

PTK7在GAC中的表达及临床意义的研究报道不多, 作者研究显示其可以作为评估GAC预后的一个新指标, 治疗新的靶点, 早期诊断的标志物, 为进一步临床研究提供了基础。

- Oncol* 2005; 90: 166-170 [PMID: 15895449 DOI: 10.1002/jso.20223]
- 22 Noguchi Y, Yoshikawa T, Tsuburaya A, Motohashi H, Karpeh MS, Brennan MF. Is gastric carcinoma different between Japan and the United States? *Cancer* 2000; 89: 2237-2246 [PMID: 11147594 DOI: 10.1002/1097-0142(20001201)89: 11<2237:: AID-CNCR12>3.0.CO; 2-9]
- 23 Theuer CP, Kurosaki T, Ziogas A, Butler J, Anton-Culver H. Asian patients with gastric carcinoma in the United States exhibit unique clinical features and superior overall and cancer specific survival rates. *Cancer* 2000; 89: 1883-1892 [PMID: 11064344 DOI: 10.1002/1097-0142(20001101)89: 9<1883:: AID-CNCR3>3.3.CO; 2-8]
- 24 Marrelli D, Roviello F, De Stefano A, Farnetani M, Garosi L, Messano A, Pinto E. Prognostic significance of CEA, CA 19-9 and CA 72-4 preoperative serum levels in gastric carcinoma. *Oncology* 1999; 57: 55-62 [PMID: 10394126 DOI: 10.1159/000012001]
- 25 Oesterling JE. Prostate specific antigen: a critical assessment of the most useful tumor marker for adenocarcinoma of the prostate. *J Urol* 1991; 145: 907-923 [PMID: 1707989]
- 26 Jung JW, Ji AR, Lee J, Kim UJ, Lee ST. Organization of the human PTK7 gene encoding a receptor protein tyrosine kinase-like molecule and alternative splicing of its mRNA. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1579: 153-163 [PMID: 12427550 DOI: 10.1016/S0167-4781(02)00536-5]
- 27 Golubkov VS, Strongin AY. Insights into ectodomain shedding and processing of protein-tyrosine pseudokinase 7 (PTK7). *J Biol Chem* 2012; 287: 42009-42018 [PMID: 23095747 DOI: 10.1074/jbc.M112.371153]
- 28 Shin WS, Maeng YS, Jung JW, Min JK, Kwon YG, Lee ST. Soluble PTK7 inhibits tube formation, migration, and invasion of endothelial cells and angiogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 371: 793-798 [PMID: 18471990 DOI: 10.1216/j.bbrc.2008.04.168]
- 29 Jin J, Ryu HS, Lee KB, Jang JJ. High expression of protein tyrosine kinase 7 significantly associates with invasiveness and poor prognosis in intrahepatic cholangiocarcinoma. *PLoS One* 2014; 9: e90247 [PMID: 24587299 DOI: 10.1371/journal.pone.0090247]

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



不同腰围水平与非酒精性脂肪肝发病风险的关系

王 珊, 佟 博, 张海玲, 蒋晓忠, 张 杰, 段和力, 吴寿岭

王珊, 佟博, 张海玲, 蒋晓忠, 张杰, 段和力, 华北理工大学附属开滦总医院消化内科 河北省唐山市 063000
 吴寿岭, 华北理工大学附属开滦总医院心内科 河北省唐山市 063000

王珊, 主治医师, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 王珊负责整理资料、论文设计、数据分析、论文撰写的全过程; 佟博与张海玲协助整理资料及数据分析; 蒋晓忠、张杰及段和力协助论文设计; 吴寿岭协助论文修改。

通讯作者: 吴寿岭, 主任医师, 063000, 河北省唐山市新华东道57号, 华北理工大学附属开滦总医院心内科。

drvusl@163.com

电话: 0315-3025655

收稿日期: 2015-04-22 修回日期: 2015-06-01

接受日期: 2015-06-10 在线出版日期: 2015-07-18

Relationship between waist circumference level and new onset of non-alcoholic fatty liver disease

Shan Wang, Bo Tong, Hai-Ling Zhang,
 Xiao-Zhong Jiang, Jie Zhang, He-Li Duan,
 Shou-Ling Wu

Shan Wang, Bo Tong, Hai-Ling Zhang, Xiao-Zhong Jiang, Jie Zhang, He-Li Duan, Department of Gastroenterology, Affiliated Kailuan General Hospital of North China University of Science and Technology, Tangshan 063000, Hebei Province, China
 Shou-Ling Wu, Department of Cardiology, Affiliated Kailuan General Hospital of North China University of Science and Technology, Tangshan 063000, Hebei Province, China

Correspondence to: Shou-Ling Wu, Chief Physician, Department of Cardiology, Affiliated Kailuan General Hospital of North China University of Science and Technology, 57 Xinhua East Street, Tangshan 063000, Hebei Province, China. drvusl@163.com

Received: 2015-04-22 Revised: 2015-06-01

Accepted: 2015-06-10 Published online: 2015-07-18

Abstract

AIM: To investigate the relationship between different waist circumference (WC) levels and

new onset of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD).

METHODS: A total of 55358 subjects without NAFLD were initially recruited from people who underwent health examination between 2006 and 2007 for this community-based prospective cohort study, and 36978 subjects were finally included in the analysis. According to the baseline WC measurement and its quartile, the subjects were divided into four groups. The incidence of NAFLD in 2012-2013 was compared in the four groups, and multiple Logistic regression analysis was used to test the relationship between different WC levels and new onset of NAFLD.

RESULTS: Along with increasing WC in the four quartile groups, the incidence of NAFLD progressively increased, being 13.5%, 26.0%, 31.6% and 38.4%, respectively, of the total population (13.4%, 24.7%, 30.3% and 38.9% in males, and 13.6%, 28.8%, 36.5% and 36.0% in females). Multiple Logistic regression analysis showed that compared with the first quartile group, the second, third, and forth quartile groups had increased risk of NAFLD after adjusting age, gender and other risk factors, with the OR values being 1.72, 1.91 and 2.04, respectively (1.66, 1.87 and 2.19 in males, and 1.60, 1.80 and 1.46 in females).

CONCLUSION: The incidence of NAFLD increases with increasing WC.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Non-alcoholic fatty liver disease; Waist

■背景资料

非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的发病率呈上升趋势, 而NAFLD的发生及发展与肥胖, 尤其是腹型肥胖密切相关; 腰围是目前公认的衡量腹型肥胖最简单实用的指标。已有横断面研究发现腰围水平增加是NAFLD的危险因素, 但尚缺乏大规模的前瞻性流行病学研究。

■同行评议者

郝丽萍, 副教授, 华中科技大学同济医学院公共卫生学院营养与食品卫生学系; 陈茂伟, 教授, 广西医科大学第一附属医院质量管理办公室

■ 研究前沿

NAFLD的发病率逐年上升, 因此研究NAFLD发病的危险因素为目前的研究热点, 从而为NAFLD的一级预防提供可靠依据。

circumference; Cohort study

Wang S, Tong B, Zhang HL, Jiang XZ, Zhang J, Duan HL, Wu SL. Relationship between waist circumference level and new onset of non-alcoholic fatty liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(20): 3219-3225 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3219.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i20.3219>

摘要

目的: 探讨开滦研究人群不同腰围水平与非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)发病风险的关系。

方法: 采用前瞻性队列研究方法, 以参加2006-2007年度健康体检的55358例无NAFLD的开滦集团在职及离退休员工作为观察队列, 纳入最终统计分析的有效数据为36978例, 依据基线腰围四分位数将观察对象分为4组, 比较4组2012-2013年度健康体检时NAFLD的发病率, 用多因素Logistic回归分析不同腰围水平与NAFLD发病风险的关系。

结果: (1)按基线腰围四分位数分组, NAFLD发病率分别为13.5%、26.0%、31.6%和38.4%, 差异有统计学意义($P<0.01$)。按性别分层后, 男性4组NAFLD发病率分别为13.4%、24.7%、30.3%和38.9%, 女性4组NAFLD发病率分别为13.6%、28.8%、36.5%和36.0%; (2)影响NAFLD发病的多因素Logistic回归分析显示, 校正年龄、性别及多种混杂因素后, 与第一分位组比较, 腰围第二、三、四分位组NAFLD的发病风险均增加, OR值分别为1.72、1.91和2.04。在不同性别人群中校正上述混杂因素后, 男性OR值分别为1.66、1.87和2.19, 女性OR值分别为1.60、1.80、1.46。

结论: 腰围增加会增加NAFLD的发病风险。

© 2015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; 腰围; 队列研究

核心提示: 本研究采用前瞻性队列研究方法, 探讨不同腰围水平与非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)发病风险的相关性, 结果表明腰围增加是NAFLD发病的危险因素。

王珊, 佟博, 张海玲, 蒋晓忠, 张杰, 段和力, 吴寿岭. 不同

腰围水平与非酒精性脂肪肝发病风险的关系. *世界华人消化杂志* 2015; 23(20): 3219-3225 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3219.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i20.3219>

0 引言

非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是指除外酒精和其他明确的损伤因素所致的, 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。NAFLD的发生及发展与肥胖, 尤其是腹型肥胖密切相关; 而腰围是目前公认的衡量腹型肥胖最简单实用的指标^[1,2]。已有横断面研究发现腰围水平增加是NAFLD的危险因素^[3-7], 但尚缺乏大规模的前瞻性流行病学研究。本研究通过开滦研究资料(注册号: ChiCTR-TNC-11001489)分析了开滦研究人群不同腰围水平与NAFLD发病风险之间的关系, 为NAFLD的一级预防提供可靠依据。

1 材料和方法

1.1 材料 2006-06/2007-10由开滦总医院等十一家医院参加, 对开滦在职及离退休职工进行健康体检, 共有101510例(男81110例, 女20400例)参加本次健康体检, 选择其中符合纳入标准的观察对象组成研究队列。入选标准及排除标准: 入选标准: (1)2006-2007年度参加健康体检的开滦集团在职及离退休职工; (2)基线腰围及脂肪肝资料完整者; (3)签署知情同意书者。排除标准: (1)2006-2007年度体检时肝脏B超检查发现脂肪肝者、长期大量饮酒者(折合乙醇量男4组 ≥ 140 g/wk, 女4组 ≥ 70 g/wk)及肝炎病毒标志物(HBsAg)阳性、药物性肝损害、胆汁淤积性肝损害、药物依赖、肝硬化者; (2)因调出、退休迁居外地或其他原因2012-2013年度体检未参加者; (3)2012-2013年度体检脂肪肝资料缺失者。超声仪采用荷兰飞利浦公司PHILIPS-IU22型彩色超声诊断仪, 9阵探头, 探头频率为3.5MHz。应用日立7600型自动生化分析仪, 试剂由北方生物研究所提供。

1.2 方法

1.2.1 资料收集: 流行病学调查内容、血压测量见本课题组已发表的文献[8]。身高、体质量测量: 采用经校准的RGZ-120型体质量秤于早晨7:30-9:00进行, 被测量者赤脚、脱帽、穿

轻单衣,“立正”姿势站立。身高测量精确至0.1 cm, 体质量测量精确至0.1 kg, 计算体质量指数(body mass index, BMI) = 体质量(kg)/[身高(m)²]。腰围测量时, 身体直立, 两臂自然下垂, 不要收腹, 呼吸保持平稳, 皮尺水平放在髂骨上、肋骨下最窄的部位(腰最细的部位), 测量精确至0.1 cm。

1.2.2 NAFLD的诊断标准: NAFLD的判断按照中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组2006年修订的NAFLD诊疗指南中B超诊断标准: (1)肝区近场回声弥漫性增强(强于肾脏和脾脏), 远场回声逐渐衰减; (2)肝内管道结构显示不清; (3)肝脏轻至中度肿大, 边缘角圆钝; (4)彩色多普勒血流显像提示肝内彩色血流信号减少或不易显示, 但肝内血管走向正常; (5)肝右叶包膜及横膈回声显示不清楚或不完整。具备上述第(1)项及第(2)-(4)项中1项者为轻度脂肪肝; 具备上述第(1)项及第(2)-(4)项中2项者为中度脂肪肝; 具备上述第(1)项及第(2)-(4)项中2项和第(5)项者为重度脂肪肝^[9]。

1.2.3 生化指标: 受试者空腹至少8 h, 于体检当日晨起抽取肘静脉血5 mL, 离心后取血清检测空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)、甘油三酯(triglycerides, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein-cholesterol, HDL-c)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein-cholesterol, LDL-c)、尿酸(uric acid, UA)、C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)等指标。

1.2.4 分组: 将研究对象按基线腰围四分位数为第一分位组(腰围<78 cm)、第二分位组(78 cm≤腰围<84 cm)、第三分位组(84 cm≤腰围<90 cm)、第四分位组(腰围≥90 cm)。

统计学处理 健康体检数据由各医院终端录入, 通过网络上传至开滦总医院计算机室服务器, 形成Oracle12.0g数据库, 用SPSS13.0统计软件分析。计量资料以mean±SD表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用LSD法; 计数资料用百分率(%)表示, 率的比较用 χ^2 检验。应用多因素Logistic回归分析不同腰围水平与NAFLD发病风险的关系, 以 $P<0.05$ (双侧检验)为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象的一般特征 在参加2006-2007年度健康查体的101510例职工中, 肝脏B超诊断

脂肪肝者为32192例, 排除有长期大量饮酒、病毒性肝炎、药物依赖、肝硬化等病史者12085例, 排除基线腰围及脂肪肝信息缺失者1875例, 由符合入选标准的55358例观察对象组成观察队列。至2012-2013年度健康体检结束时, 观察队列中有2459例死亡, 15722例因各种原因未参加2012-2013年度健康体检, 199例脂肪肝信息缺失, 最终纳入统计分析的有效数据为36978例, 其中男26134例, 女10844例, 基线平均年龄为48.50岁±12.20岁。

2.2 不同腰围分组基线资料比较 随着腰围的增加, 年龄、收缩压、舒张压、BMI、TG、TC、FBG、UA、CRP呈逐渐上升趋势(其中TG、CRP为非正态分布, 进行对数转换后符合正态分布), HDL-c呈逐渐下降趋势, 各组间比较差异均有统计学意义($P<0.01$)(表1)。

2.3 观察队列不同腰围分组新发NAFLD情况 至2012-2013年度健康体检时, 观察队列的平均随访时间为5.78年±0.51年, 在纳入统计分析的36978例观察对象中, 有10179例发生了NAFLD, 发病率为27.5%, 其中男7480例, 发病率为28.6%, 女2699例, 发病率为24.9%。随着腰围的增加, NAFLD的发病率逐渐升高, 第一分位组、第二分位组、第三分位组和第四分位组的NAFLD发病率分别为13.5%、26.0%、31.6%和38.4%, 组间比较差异有统计学意义($P<0.01$)。按性别分层后, 男女4组NAFLD发病率分别为13.4%、24.7%、30.3%和38.9%, 13.6%、28.8%、36.5%和36.0%, 组间比较差异均有统计学意义($P<0.01$)(表2)。

2.4 影响NAFLD发病的Logistic回归模型分析 以2012-2013年度体检时是否发生NAFLD为因变量, 以基线腰围四分位分组, 基线年龄、性别、收缩压、舒张压、BMI、TG、TC、LDL-c、HDL-c、FBG、UA、CRP为自变量引入多因素Logistic回归模型, 分析影响NAFLD发病的因素。模型1为单因素分析, 结果显示与第一分位组相比, 第二分位组、第三分位组和第四分位组的OR值分别为2.24、2.95和3.99。模型2校正了年龄、性别后, 第二分位组、第三分位组和第四分位组的OR值分别为2.41、3.27和4.59。模型3在模型2的基础上进一步校正了收缩压、舒张压、BMI、TG、TC、LDL-c、HDL-c、FBG、UA、CRP, 第二分位组、第三分位组和第四分位组发生

■创新盘点

本研究探讨不同腰围水平与NAFLD发病风险的相关性, 为前瞻性队列研究, 样本量大, 观察时间长, 结果可靠, 有较强的现实意义。

应用要点

本研究结果表明腰围增加增加NAFLD的发病风险, 腰围<78 cm者NAFLD的发病风险最低。因此人们可通过改变生活方式减少腰围来降低NAFLD的发病风险, 减少NAFLD对健康的威胁。

表 1 不同腰围水平的基线资料比较

项目	第一分位组 (腰围<78 cm)	第二分位组 (78 cm≤腰围<84 cm)	第三分位组 (84 cm≤腰围<90 cm)	第四分位组 (腰围≥90 cm)	F/χ ² 值	P值
例数(男/女)	4556/4529	6304/2778	7311/1894	7963/1643	2886.103	0.000
年龄(岁)	43.71±12.17	48.01±11.79 ^b	49.57±11.61 ^{bd}	52.47±11.56 ^{bdf}	876.238	0.000
收缩压(mmHg)	117.60±17.11	124.48±18.41 ^b	127.98±18.74 ^b	131.56±19.73 ^{bf}	996.643	0.000
舒张压(mmHg)	76.62±9.94	80.25±10.54 ^b	82.24±10.70 ^{bd}	84.00±11.27 ^{bdf}	849.164	0.000
腰围(cm)	72.15±4.09	80.53±1.59 ^b	86.28±1.67 ^{bd}	95.84±6.71 ^{bdf}	52027.793	0.000
BMI(kg/m ²)	21.65±2.472	23.56±2.39 ^b	24.66±2.49 ^d	26.02±2.96 ^{bdf}	4586.545	0.000
TC(mmol/L)	4.74±1.04	4.83±1.08 ^b	4.87±1.08 ^{bd}	4.90±1.08 ^{bdf}	40.070	0.000
LDL-c(mmol/L)	2.31±0.77	2.36±0.85 ^b	2.34±0.90 ^b	2.17±1.03 ^{bd}	74.415	0.000
HDL-c(mmol/L)	1.57±0.37	1.56±0.38 ^b	1.55±0.40 ^d	1.50±0.41 ^{bdf}	47.207	0.000
FBG(mmol/L)	5.08±1.13	5.18±1.27 ^b	5.27±1.34 ^{bd}	5.33±1.51 ^{bdf}	68.087	0.000
UA(μmol/L)	249.70±68.56	266.22±71.55 ^b	272.41±74.69	285.21±79.96 ^{bdf}	372.784	0.000
Lg[TG(mmol/L)]	-0.03±0.22	0.05±0.23 ^b	0.10±0.24 ^{bd}	0.13±0.25 ^{bdf}	781.914	0.000
Lg[CRP(mg/L)]	-0.34±0.66	-0.23±0.66 ^b	-0.16±0.66 ^{bd}	-0.05±0.70 ^{bdf}	305.887	0.000

^bP<0.01 vs 第一分位组; ^dP<0.01 vs 第二分位组; ⁱP<0.01 vs 第三分位组。BMI: 体质指数; TC: 总胆固醇; LDL-c: 低密度脂蛋白胆固醇; HDL-c: 高密度脂蛋白胆固醇; FBG: 空腹血糖; UA: 尿酸; TG: 甘油三酯; CRP: C反应蛋白。

表 2 不同腰围分组NAFLD的发病率 n1/n(%)

分组	总的NAFLD发病率	男性NAFLD发病率	女性NAFLD发病率
第一分位组	1228/9085(13.5)	612/4556(13.4)	616/4529(13.6)
第二分位组	2358/9082(26.0) ^b	1559/6304(24.7) ^b	799/2778(28.8) ^b
第三分位组	2906/9205(31.6) ^b	2214/7311(30.3) ^b	692/1894(36.5) ^b
第四分位组	3687/9606(38.4) ^b	3095/7963(38.9) ^b	592/1643(36.0) ^b
合计	10179/36978(27.5)	7480/26134(28.6)	2699/10844(24.9)

^bP<0.01 vs 第一分位组。NAFLD: 非酒精性脂肪肝。

NAFLD的风险减弱, OR值分别为1.72、1.91和2.04, 但差异仍存在统计学意义(P<0.01)。

按性别分层后, 在不同性别人群中, 腰围增加仍增加NAFLD的发病风险。模型1显示, 在男性中与第一分位组相比, 第二分位组、第三分位组和第四分位组发生NAFLD风险的OR值分别为2.12、2.80和4.10, 女性OR值分别为2.57、3.66、3.58。模型2显示校正了年龄后, 男性OR值分别为2.26、3.09和4.89, 女性OR值分别为2.30、3.17、3.05。模型3显示腰围分组对不同性别NAFLD发病的影响程度进一步减弱, 男性OR值分别为1.66、1.87和2.19, 女性OR值分别为1.60、1.80和1.46, 但差异仍存在统计学意义(P<0.01)(表3)。

3 讨论

近20余年来由于经济发展和生活方式西化, 我

国NAFLD的患病率不断升高^[10,11]。全球NAFLD的患病率为6%-33%^[12,13], 我国香港、北京等地NAFLD患病率亦已高达30%左右^[14-16]。与已有的大量NAFLD患病率的流行病学数据相比, 国内外鲜见NAFLD发病率方面的研究报道。本研究显示基线平均年龄为48.50岁±12.20岁的36978例观察对象, 在5.78年±0.51年后, NAFLD的累积发病率为27.5%, 每100人年NAFLD的发病率为5%。相关研究有范建高等^[17]对5402例无过量饮酒史、无肝酶升高、无脂肪肝的受试者(男性4633例, 平均年龄37岁), 2年内复查肝脏超声波检测发现327例(6.1%)有NAFLD, 每100人年NAFLD的发病率为3%。但因研究对象的选择不同, 本研究结果略高于上述报道。

本研究结果显示随着基线腰围的增加, 总人口NAFLD的发病率逐渐升高, 第一、二、

表 3 不同腰围水平与新发NAFLD关系的Logistic回归模型

模型	总人群		男性		女性	
	OR(95%CI)	P值	OR(95%CI)	P值	OR(95%CI)	P值
模型1						
第一分位组	1		1		1	
第二分位组	2.24(2.08–2.42)	0.000	2.12(1.91–2.35)	0.000	2.57(2.28–2.89)	0.000
第三分位组	2.95(2.74–3.18)	0.000	2.80(2.54–3.09)	0.000	3.66(3.22–4.15)	0.000
第四分位组	3.99(3.71–4.29)	0.000	4.10(3.72–4.51)	0.000	3.58(3.14–4.08)	0.000
模型2						
第一分位组	1		1		1	
第二分位组	2.41(2.23–2.61)	0.000	2.26(2.04–2.51)	0.000	2.30(2.04–2.60)	0.000
第三分位组	3.27(3.03–3.53)	0.000	3.09(2.80–3.42)	0.000	3.17(2.78–3.61)	0.000
第四分位组	4.59(4.25–4.96)	0.000	4.89(4.43–5.40)	0.000	3.05(2.66–3.49)	0.000
模型3						
第一分位组	1		1		1	
第二分位组	1.72(1.59–1.87)	0.000	1.66(1.49–1.85)	0.000	1.60(1.41–1.82)	0.000
第三分位组	1.91(1.75–2.08)	0.000	1.87(1.68–2.08)	0.000	1.80(1.56–2.08)	0.000
第四分位组	2.04(1.86–2.23)	0.000	2.19(1.95–2.46)	0.000	1.46(1.24–1.71)	0.000

■名词解释
非酒精性脂肪肝 (NAFLD): 是指除外酒精和其他明确的损伤因素所致的, 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。

NAFLD: 非酒精性脂肪肝。

表 4 不同腰围分组NAFLD的发病率 $n1/n(\%)$

分组	总NAFLD发病率	男性NAFLD发病率	女性NAFLD发病率
第一分位组	1407/10617(13.3)	718/5484(13.1)	689/5133(13.4)
第二分位组	2719/10819(25.1)	1828/7625(24.0)	891/3194(27.9)
第三分位组	3417/11071(30.9)	2623/8873(29.6)	794/2198(36.1)
第四分位组	4482/11802(38.0)	3795/9883(38.4)	687/1919(35.8)
合计	12025/44309(27.1)	8964/31865(28.1)	3061/12444(24.6)

NAFLD: 非酒精性脂肪肝。

三、四分位组分别为13.5%、26.0%、31.6%和38.4%($P<0.01$)。按性别分层后, 在男性中4组发病率分别为13.4%、24.7%、30.3%和38.9%, 与总人群趋势相同; 而在女性中, 4组发病率分别为13.6%、28.8%、36.5%和36.0%。杨春伟等^[18]的研究得出糖尿病非肥胖人群($BMI<25\text{ kg/m}^2$)NAFLD的发病率随腰围水平的增加而依次升高, 由此可见无论是糖尿病人群还是普通人群, 无论是非肥胖人群还是总人群, 随着腰围的增加, NAFLD的发病率均增加。

影响人群发生NAFLD的因素是多方面的, 结果显示随着基线腰围的增加年龄、收缩压、舒张压、BMI、TG、TC、FBG、UA、CRP均有逐渐升高趋势, 而HDL-c有逐渐下降趋势。国内外已有研究^[19-24]证实上述因素为NAFLD发病的危险因素, 因此, 我们通过

Logistic回归模型校正上述多种混杂因素, 结果显示随着腰围的增加, NAFLD的发病风险仍增加, 与第一分位组相比, 第二、三、四分位组的OR值分别为1.72、1.91和2.04($P<0.01$)。在不同性别人群中, 校正多种混杂因素后, 男性第二、三、四分位组OR值分别为1.66、1.87和2.19。而在女性中, 与第一分位组比较, 第二、三、四分位组NAFLD发病风险均增加, OR值分别为1.60、1.80、1.46。国内外未见相同报道, 但相似的有Ju等^[24]的横断面研究, 他们纳入9159例, 按腰围四分位分组, 经过多元Logistic回归分析结果显示, 与腰围第一分位组相比, 第二、三、四分位组NAFLD的患病风险在男性和女性中均增加。本研究与上述结果相一致, 提示腰围增加是NAFLD发病的独立危险因素, 腰围 $<78\text{ cm}$ 者NAFLD的发病风险最低。

同行评价

本研究采用前瞻性队列研究方法, 探讨腰围水平与NAFLD发病风险的相关性, 结果表明腰围增加是NAFLD患病风险因素。论文撰写较好, 条理清楚, 表述清晰, 选题具有较强的现实意义, 研究结果为NAFLD的预防提供依据。

表 5 不同腰围水平与新发NAFLD关系的Logistic回归模型

模型	总人群		男性		女性	
	OR(95%CI)	P值	OR(95%CI)	P值	OR(95%CI)	P值
模型1						
第一分位组	1		1		1	
第二分位组	2.20(2.05–2.36)	0.000	2.09(1.91–2.30)	0.000	2.50(2.23–2.79)	0.000
第三分位组	2.92(2.73–3.13)	0.000	2.79(2.54–3.05)	0.000	3.65(3.24–4.11)	0.000
第四分位组	4.01(3.75–4.29)	0.000	4.14(3.79–4.52)	0.000	3.60(3.18–4.07)	0.000
模型2						
第一分位组	1		1		1	
第二分位组	2.38(2.21–2.55)	0.000	2.23(2.03–2.45)	0.000	2.27(2.02–2.54)	0.000
第三分位组	3.26(3.04–3.51)	0.000	3.08(2.81–3.37)	0.000	3.21(2.84–3.62)	0.000
第四分位组	4.68(4.36–5.03)	0.000	4.95(4.52–5.42)	0.000	3.10(2.73–3.52)	0.000
模型3						
第一分位组	1		1		1	
第二分位组	1.68(1.56–1.81)	0.000	1.63(1.48–1.80)	0.000	1.55(1.37–1.74)	0.000
第三分位组	1.88(1.74–2.03)	0.000	1.84(1.67–2.03)	0.000	1.78(1.56–2.04)	0.000
第四分位组	2.05(1.88–2.23)	0.000	2.21(1.99–2.46)	0.000	1.43(1.23–1.66)	0.000

NAFLD: 非酒精性脂肪肝。

NAFLD发病机制目前尚未阐明, 现已提出比较成熟为“二次打击”学说^[25]。胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)导致肝脏的脂肪沉积, 成为NAFLD发病中的首次打击; 而在此基础上发生的氧化应激和脂质过氧化损伤, 成为NAFLD发病中的第二次打击, 从而导致肝脏的炎症。脂肪性肝炎的持续存在, 即炎症-坏死的循环, 或其他因素的打击, 造成肝脏细胞外基质的合成大于降解, 从而形成进展性纤维化。NAFLD的发病机制十分复杂, 经研究他还与细胞因子、遗传和环境等多种因素有关。Seo等^[26]一项长达4年的前瞻性研究得出肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)是NAFLD发展的预测因子; Fan等^[27]通过动物实验表明生长激素缺乏可导致NAFLD的发展, 并认为肥胖是生长激素缺乏或作用不足的结果; 还有研究^[28]认为维生素D缺乏症与NAFLD的发展与演变相关联; 但仍需进一步研究来证实。而IR仍是NAFLD发病的始动和中心环节, 可能贯穿于NAFLD发病全过程。近年来研究^[29]证实腰围是预测IR的敏感性指标, 随着腰围的增大, IR加重。Park等^[30]的研究显示腰围变化也与IR相关。由此可见, 腰围增加可能通过加重IR来增加NAFLD的发病风险。

总之, 研究结果表明腰围增加可增加NAFLD的发病风险, 腰围<78 cm者NAFLD的

发病风险最低。而腰围对饮食和体力锻炼更加敏感^[31], 因此制定合理的能量摄入以及纠正饮食结构调整、中等量有氧运动、纠正不良生活方式和行为, 通过改变生活方式控制体质量, 减少腰围对NAFLD的防治至关重要。

本研究虽为大规模前瞻性研究, 也有一定的局限性。(1)NAFLD的诊断未通过肝脏活检取得病理证实, 而是B型超声诊断; (2)本研究的观察对象男性所占比例较大, 可能使统计结果产生一定的偏倚, 在一定程度上限制了研究结论的外延; (3)由于队列人群未参加2012-2013年度查体者人数较多, 为此, 我们将未参加2012-2013年度查体或脂肪肝信息缺失者但参加了2010-2011年度查体且有脂肪肝信息的人群纳入最终统计分析, 共44309例, 所得结果相同, 如表4、5。

4 参考文献

- 1 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]
- 2 贾伟平, 陆俊茜, 项坤三, 包玉倩, 陆惠娟, 陈蕾. 简易体脂参数估测腹内型肥胖的可靠性评价. *中华流行病学杂志* 2002; 23: 20-23
- 3 罗海钊, 陈容平, 杨锐, 孙嘉, 张如意, 何芳, 蔡德鸿, 陈宏. 腰围预测非酒精性脂肪性肝病的切点研究. *实用医学杂志* 2013; 29: 196-198
- 4 马金香, 周永健, 陈平雁, 聂玉强, 石胜利, 李瑜元. 广东省农村社区居民脂肪肝流行病学调查. *中国公共卫生*

- 2007; 23: 874-876
- 5 Hsu CS, Kao JH. Non-alcoholic fatty liver disease: an emerging liver disease in Taiwan. *J Formos Med Assoc* 2012; 111: 527-535 [PMID: 23089687 DOI: 10.1016/j.jfma.2012.07.002]
 - 6 黄志鹏, 苏智军, 蒋建家, 孙炳庆, 林振忠, 曾志雄. 非酒精性脂肪性肝病严重程度与腹腔内脂肪面积、身体质量指数及腰围的相关性分析. *临床肝胆病杂志* 2013; 29: 445-448
 - 7 刘欣, 吴绍燕, 张明军, 陈受田. 人体测量学指标在非酒精性脂肪性肝病筛查中的应用. *重庆医学* 2014; 43: 4343-4345
 - 8 吴寿岭, 王娜, 赵海燕, 刘义, 朱峰, 张子强, 李金峰, 金成, 于青, 李云. 高敏C反应蛋白对高血压前期人群进展至高血压的预测价值. *中华高血压杂志* 2010; 18: 390-394
 - 9 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. *中华肝脏病杂志* 2006; 14: 161-163
 - 10 丁雯瑾, 范建高. 世界胃肠病组织非酒精性脂肪性肝病诊疗指南简介. *实用肝脏病杂志* 2014; 17: 1-3
 - 11 中国医师协会脂肪性肝病专家委员会. 脂肪性肝病诊疗规范化的专家建议. *实用肝脏病杂志* 2014; 16: 207-209
 - 12 Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34: 274-285 [PMID: 21623852 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04724.x]
 - 13 Paredes AH, Torres DM, Harrison SA. Nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Liver Dis* 2012; 16: 397-419 [PMID: 22541706 DOI: 10.1016/j.cld.2012.03.005]
 - 14 Yan J, Xie W, Ou WN, Zhao H, Wang SY, Wang JH, Wang Q, Yang YY, Feng X, Cheng J. Epidemiological survey and risk factor analysis of fatty liver disease of adult residents, Beijing, China. *J Gastroenterol Hepatol* 2013; 28: 1654-1659 [PMID: 23731053 DOI: 10.1111/jgh.12290]
 - 15 Hu X, Huang Y, Bao Z, Wang Y, Shi D, Liu F, Gao Z, Yu X. Prevalence and factors associated with nonalcoholic fatty liver disease in Shanghai work-units. *BMC Gastroenterol* 2012; 12: 123 [PMID: 22978800 DOI: 10.1186/1471-230X-12-123]
 - 16 Zhou YJ, Li YY, Nie YQ, Ma JX, Lu LG, Shi SL, Chen MH, Hu PJ. Prevalence of fatty liver disease and its risk factors in the population of South China. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 6419-6424 [PMID: 18081233 DOI: 10.3748/wjg.v13.i47.6419]
 - 17 范建高, 周琪, 沃千红. 人体质量指数及其变化与非酒精性脂肪性肝病发病的关系. *中华肝脏病杂志* 2010; 18: 676-679
 - 18 杨春伟, 刘星, 刘秀荣, 王晓涛, 张景义, 闫秀纵, 周艳茹, 陈朔华, 曹正新, 吴寿岭. 糖尿病非肥胖人群腰围与新发非酒精性脂肪肝的关系. *天津医药* 2015; 43: 51-54
 - 19 吕霞霞, 孙建光. 非酒精性脂肪肝相关危险因素分析. *现代预防医学* 2011; 38: 2231-2233
 - 20 向国卿, 孟宪云, 张浩, 台文霞, 孟晓丹, 王炳元. 脂肪肝相关危险因素的评估. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1038-1041
 - 21 蒋晓忠, 王建军, 吴寿岭, 张艳敏, 张杰, 王剑利, 段和力, 李广鉴, 王谦. 高敏C反应蛋白对2型糖尿病患者非酒精性脂肪肝的预测价值. *中华肝脏病杂志* 2013; 21: 57-61
 - 22 Lee JW, Cho YK, Ryan M, Kim H, Lee SW, Chang E, Joo KJ, Kim JT, Kim BS, Sung KC. Serum uric Acid as a predictor for the development of nonalcoholic Fatty liver disease in apparently healthy subjects: a 5-year retrospective cohort study. *Gut Liver* 2010; 4: 378-383 [PMID: 20981217 DOI: 10.5009/gnl.2010.4.3.378]
 - 23 张艳敏, 张萌, 蒋晓忠, 常延河, 张杰, 段和力, 吴寿岭, 张海玲, 王谦, 朱国玲. 甘油三酯对2型糖尿病患者新发非酒精性脂肪肝的预测价值. *实用预防医学* 2015; 22: 438-441
 - 24 Ju DY, Choe YG, Cho YK, Shin DS, Yoo SH, Yim SH, Lee JY, Park JH, Kim HJ, Park DI, Sohn CI, Jeon WK, Kim BI. The influence of waist circumference on insulin resistance and nonalcoholic fatty liver disease in apparently healthy Korean adults. *Clin Mol Hepatol* 2013; 19: 140-147 [PMID: 23837138 DOI: 10.3350/cmh.2013.19.2.140]
 - 25 Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology* 1998; 114: 842-845 [PMID: 9547102 DOI: 10.1016/S0016-5085(98)70599-2]
 - 26 Seo YY, Cho YK, Bae JC, Seo MH, Park SE, Rhee EJ, Park CY, Oh KW, Park SW, Lee WY. Tumor Necrosis Factor- α as a Predictor for the Development of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A 4-Year Follow-Up Study. *Endocrinol Metab (Seoul)* 2013; 28: 41-45 [PMID: 24396649 DOI: 10.3803/EnM.2013.28.1.41]
 - 27 Fan Y, Fang X, Tajima A, Geng X, Ranganathan S, Dong H, Trucco M, Sperling MA. Evolution of hepatic steatosis to fibrosis and adenoma formation in liver-specific growth hormone receptor knockout mice. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2014; 5: 218 [PMID: 25566190 DOI: 10.3389/fendo.2014.00218]
 - 28 Iruzubieta P, Terán Á, Crespo J, Fábrega E. Vitamin D deficiency in chronic liver disease. *World J Hepatol* 2014; 6: 901-915 [PMID: 25544877 DOI: 10.4254/wjh.v6.i12.901]
 - 29 Wahrenberg H, Hertel K, Leijonhufvud BM, Persson LG, Toft E, Arner P. Use of waist circumference to predict insulin resistance: retrospective study. *BMJ* 2005; 330: 1363-1364 [PMID: 15833749 DOI: 10.1136/bmj.38429.473310.AE]
 - 30 Park K, Lee DH, Erickson DJ, Himes JH, Shikany JM, Jacobs DR. Association of long-term change in waist circumference with insulin resistance. *Obesity (Silver Spring)* 2010; 18: 370-376 [PMID: 19680235 DOI: 10.1038/oby.2009.252]
 - 31 Schneider HJ, Glaesmer H, Klotsche J, Böhler S, Lehnert H, Zeiher AM, März W, Pittrow D, Stalla GK, Wittchen HU. Accuracy of anthropometric indicators of obesity to predict cardiovascular risk. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 589-594 [PMID: 17105840 DOI: 10.1210/jc.2006-0254]

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



大肠癌原发灶与淋巴结转移灶中PI3Kp110 α 、PI3Kp110 β 与Bcl-2、CyclinD1表达的相关性及其意义

姜涛, 吴淑华, 何双, 温菲菲, 高向前, 李扬扬

■背景资料

大肠癌是人类消化系统常见的恶性肿瘤, 而肿瘤的浸润和转移则是术后复发及不良预后的重要原因。因此, 深入研究大肠癌的侵袭和转移机制, 对于有效防止肿瘤复发、转移及判断预后均具有重要的意义。

姜涛, 温菲菲, 滨州医学院病理学教研室 山东省滨州市 256603
吴淑华, 何双, 高向前, 李扬扬, 滨州医学院附属医院病理科 山东省滨州市 256603
姜涛, 在职研究生, 主要从事消化系统肿瘤的研究。

山东省科技攻关基金资助项目, No. 2010GSF10259

作者贡献分布: 本课题由姜涛与吴淑华设计; 研究过程由姜涛、李扬扬、高向前、何双及温菲菲共同操作完成; 研究所用试剂由吴淑华提供; 切片阅片与结果判读由吴淑华、李扬扬及何双完成; 本论文写作由姜涛完成。

通讯作者: 吴淑华, 教授, 主任医师, 研究生导师, 256603, 山东省滨州市黄河二路661号, 滨州医学院附属医院病理科。
wsh6108@126.com

电话: 0543-3258653

收稿日期: 2015-04-29 修回日期: 2015-05-18

接受日期: 2015-06-01 在线出版日期: 2015-07-18

Clinical significance of expression of PI3Kp110 α , PI3Kp110 β , Bcl-2 and CyclinD1 in primary colorectal cancer and lymph node metastases

Tao Jiang, Shu-Hua Wu, Shuang He, Fei-Fei Wen, Xiang-Qian Gao, Yang-Yang Li

Tao Jiang, Fei-Fei Wen, Department of Pathology, Binzhou Medical University, Binzhou 256603, Shandong Province, China

Shu-Hua Wu, Shuang He, Xiang-Qian Gao, Yang-Yang Li, Department of Pathology, Affiliated Hospital of Binzhou Medical University, Binzhou 256603, Shandong Province, China

Supported by: Scientific and Technological Project of Shandong Province, No. 2010GSF10259

Correspondence to: Shu-Hua Wu, Professor, Chief Physician, Department of Pathology, Affiliated Hospital of Binzhou Medical University, 661 Huanghe Er Road, Binzhou 256603, Shandong Province, China. wsh6108@126.com

Received: 2015-04-29 Revised: 2015-05-18

Accepted: 2015-06-01 Published online: 2015-07-18

■同行评议者

程英升, 教授, 上海交通大学附属第六人民医院放射科

Abstract

AIM: To investigate the expression of phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)p110 α , PI3Kp110 β , B-cell lymphoma-2 (Bcl-2) and CyclinD1 in primary colorectal cancer (CRC) and lymph node metastases, and to analyze their correlations with clinicopathologic characteristics and prognosis of CRC.

METHODS: Immunohistochemistry was used to detect expression of PI3Kp110 α , PI3Kp110 β , Bcl-2 and CyclinD1 in 30 cases of normal colorectal mucosa, 52 cases of CRC without lymph node metastasis, 50 cases of primary CRC tissues and corresponding lymph node metastases. The correlations between PI3Kp110 α , PI3Kp110 β , Bcl-2, and CyclinD1 expression as well as their relationship with clinicopathologic characteristics and prognosis of CRC were analyzed.

RESULTS: The expression of PI3Kp110 α and Bcl-2 in CRC without lymph node metastasis, primary CRC tissues and corresponding lymph node metastases was significantly higher than that in normal colorectal mucosa ($P < 0.05$). PI3Kp110 β and CyclinD1 expression was also significantly increased in CRC without lymph node metastasis, primary CRC tissues, and corresponding lymph node metastases compared with the normal colorectal mucosa. What's more, PI3Kp110 β and CyclinD1 expression was significantly increased in CRC with lymph node metastases compared with CRC without lymph node metastases ($P < 0.05$). Spearman analysis showed that PI3Kp110 α

expression was positively associated with Bcl-2 expression in the four groups ($P < 0.05$), PI3Kp110 α expression was positively associated with CyclinD1 expression in normal colorectal mucosa, CRC without lymph node metastasis, and CRC with lymph node metastasis ($P < 0.05$), and PI3Kp110 β expression was positively correlated with Bcl-2 and CyclinD1 expression in the four groups ($P < 0.05$). PI3Kp110 α , PI3Kp110 β and CyclinD1 expression was related to cancer cell differentiation and lymph node metastasis, and Bcl-2 expression was associated with cancer cell differentiation. Kaplan-Meier analysis showed that PI3Kp110 α , PI3Kp110 β , Bcl-2 and CyclinD1 were prognostic factors for CRC, and Cox proportional hazards regression analysis showed that PI3Kp110 α and PI3Kp110 β were independent prognostic factors for CRC.

CONCLUSION: PI3Kp110 α , PI3Kp110 β , Bcl-2, and CyclinD1 expression is increased in primary CRC tissues and lymph node metastases compared with normal mucosa, suggesting that they may play important roles in the development and progression of CRC. PI3Kp110 α and PI3Kp110 β promote cancer cell growth *via* Bcl-2 and CyclinD1 in CRC with lymph node metastases. PI3Kp110 α , PI3Kp110 β , Bcl-2 and CyclinD1 are associated with tumor cell differentiation and CRC metastasis. PI3Kp110 α and PI3Kp110 β are independent prognostic factors for CRC.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colorectal cancer; Lymph node metastasis; PI3Kp110 α ; PI3Kp110 β ; Bcl-2; CyclinD1

Jiang T, Wu SH, He S, Wen FF, Gao XQ, Li YY. Clinical significance of expression of PI3Kp110 α , PI3Kp110 β , Bcl-2 and CyclinD1 in primary colorectal cancer and lymph node metastases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(20): 3226-3234 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3226.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i20.3226>

摘要

目的: 检测大肠癌原发灶与淋巴结(lymph node, LN)转移灶中磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)p110 α 、PI3Kp110 β 与B细胞淋巴瘤基因-2(B cell lymphoma 2, *Bcl-2*)、CyclinD1的表达情况, 探讨在大肠癌发生及转移中的相关性及其与临床病理因素及预后的关系。

方法: 采用免疫组织化学方法在30例正常大肠黏膜组织, 52例未发生LN转移的大肠癌组织, 50例发生LN转移的大肠癌原发灶及其转移灶中检测PI3Kp110 α 、PI3Kp110 β 、Bcl-2和CyclinD1的表达情况及其差异, 分析PI3Kp110 α 、PI3Kp110 β 与Bcl-2和CyclinD1之间的相关性以及与临床病理因素及其预后的关系。

结果: (1)PI3Kp110 α 与Bcl-2在无LN转移组、有LN转移组的原发灶和其相应LN转移灶中的表达均高于正常肠黏膜组($P < 0.05$); PI3Kp110 β 与CyclinD1在无LN转移组、有LN转移组的原发灶和其相应LN转移灶中的表达均高于正常肠黏膜组, 且在有LN转移的原发灶中的表达均高于其相应LN转移灶和无LN转移组肠癌中的表达($P < 0.05$); (2)PI3Kp110 α 与Bcl-2在4组中均呈正相关($P < 0.05$); PI3Kp110 α 与CyclinD1在正常肠黏膜组, 无LN转移组和有LN转移组中均呈正相关($P < 0.05$); PI3Kp110 β 与Bcl-2和CyclinD1在4组中均呈正相关($P < 0.05$); (3)PI3Kp110 α 、PI3Kp110 β 和CyclinD1蛋白的表达与肿瘤分化程度及LN转移相关, Bcl-2的表达与肿瘤分化程度相关; (4)Kaplan-Meier分析显示: PI3Kp110 α 、PI3Kp110 β 、Bcl-2和CyclinD1为影响大肠癌预后的因素之一; Cox比例风险模型分析显示: PI3Kp110 α 、PI3Kp110 β 是影响大肠癌患者预后的独立因素。

结论: (1)PI3Kp110 α 、PI3Kp110 β 与Bcl-2、CyclinD1在大肠癌原发灶及转移灶中的表达均高于正常黏膜, 在肿瘤的发生发展中发挥重要作用; (2)大肠癌LN转移灶中, PI3Kp110 α 与PI3Kp110 β 分别通过影响Bcl-2及CyclinD1对转移灶中的肿瘤生长起促进作用; (3)PI3Kp110 α 、PI3Kp110 β 、Bcl-2和CyclinD1与大肠癌的分化程度有关, 且PI3Kp110 α 、PI3Kp110 β 和CyclinD1与大肠癌的转移密切相关; (4)PI3Kp110 α 和PI3Kp110 β 是影响大肠癌预后的独立危险因素。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 大肠癌; 淋巴结转移灶; PI3Kp110 α ; PI3Kp110 β ; B细胞淋巴瘤基因-2; CyclinD1

核心提示: 本实验表明磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)p110 α 、PI3Kp110 β 与细胞的凋亡及周期蛋白在大肠癌

■研究前沿

临床研究发现, 早期发生淋巴结(lymph node, LN)转移是大肠癌的一个特征, 而大肠癌生存相关分析结果显示, 发生LN转移及远处转移患者生存率明显减低。因此深入研究大肠癌的发生及转移机制具有重要的临床意义。

■ 相关报道

研究发现, 磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/AKT信号通路在多种肿瘤中存在异常激活, 该通路不仅与肿瘤的发生、增殖、存活等方面密切相关, 而且在肿瘤细胞抵抗凋亡、血管发生以及细胞迁徙中也发挥了重要作用。

的发生与转移中发挥重要作用, 大肠癌淋巴结(lymph node)转移灶与原发灶之间存在肿瘤的异质性改变与PI3Kp110 α 、PI3Kp110 β 的异常表达密切相关。

姜涛, 吴淑华, 何双, 温菲菲, 高向前, 李扬扬. 大肠癌原发灶与淋巴结转移灶中PI3Kp110 α 、PI3Kp110 β 与Bcl-2、CyclinD1表达的相关性及其意义. 世界华人消化杂志 2015; 23(20): 3226-3234 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3226.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i20.3226>

0 引言

大肠癌是人类消化系常见的恶性肿瘤, 在我国其发病率呈上升趋势。由于大肠癌的起病隐匿, 许多患者在发现时多为中晚期。肿瘤的浸润和转移, 则是术后复发及不良预后的重要原因^[1]。而淋巴结(lymph node, LN)转移是大肠癌转移的主要途径, 也是导致术后复发的主要原因^[2]。因此, 深入研究大肠癌的侵袭和转移机制, 对于有效防止肿瘤复发、转移及判断预后均具有重要的意义。本文通过在大肠癌原发灶及其LN转移灶中检测磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)p110 α 、PI3Kp110 β 、B细胞淋巴瘤基因-2(B cell lymphoma 2, Bcl-2)和CyclinD1的表达情况, 分析其表达差异与相关性, 探讨PI3Kp110 α 、PI3Kp110 β 在大肠癌转移中的相关性及其与预后的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 收集滨州医学院附属医院2007-01/2009-01经手术切除的52例无LN转移的大肠癌标本, 50例有LN转移的大肠癌及其相应的LN转移灶, 30例正常大肠黏膜(距肿瘤5 cm以上)。所选病例均由2位病理学专家重新阅片分类, 均为首次发现, 术前未经放疗及化疗, 且有完整的随访资料。大肠癌病例中, 男69例, 女33例, 平均年龄63.2岁; 按世界卫生组织病理学分级标准分为高-中分化腺癌65例, 低分化腺癌37例。按照Dukes分期分为A+B期52例, C+D期50例。全部标本均经40 g/L中性甲醛固定, 石蜡包埋, 4 μ m连续切片。兔多克隆抗体PI3Kp110 α (YT3709)、Bcl-2(YT0470)、CyclinD1(YT1173)购自ImmunoWay公司, 稀释浓度均为1:100, PI3Kp110 β (ab151549)兔多克隆抗体购自Abcam公司, 稀释浓度为1:200。

柠檬酸, 通用型二抗及DAB显色液购自北京中杉金桥生物技术有限公司。使用已知阳性片为阳性对照, 以PBS代替一抗作为阴性对照。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学: 采用EnVision法免疫组织化学步骤进行。方法如下: 4 μ m厚切片经脱蜡至水化, 柠檬酸高压热修复2 min, 滴加一抗并4 $^{\circ}$ C过夜。PBS洗涤后滴加通用型二抗, 37 $^{\circ}$ C孵育30 min, DAB镜下显色2 min, 苏木素复染, 盐酸酒精分化, 脱水后中性树脂封片。

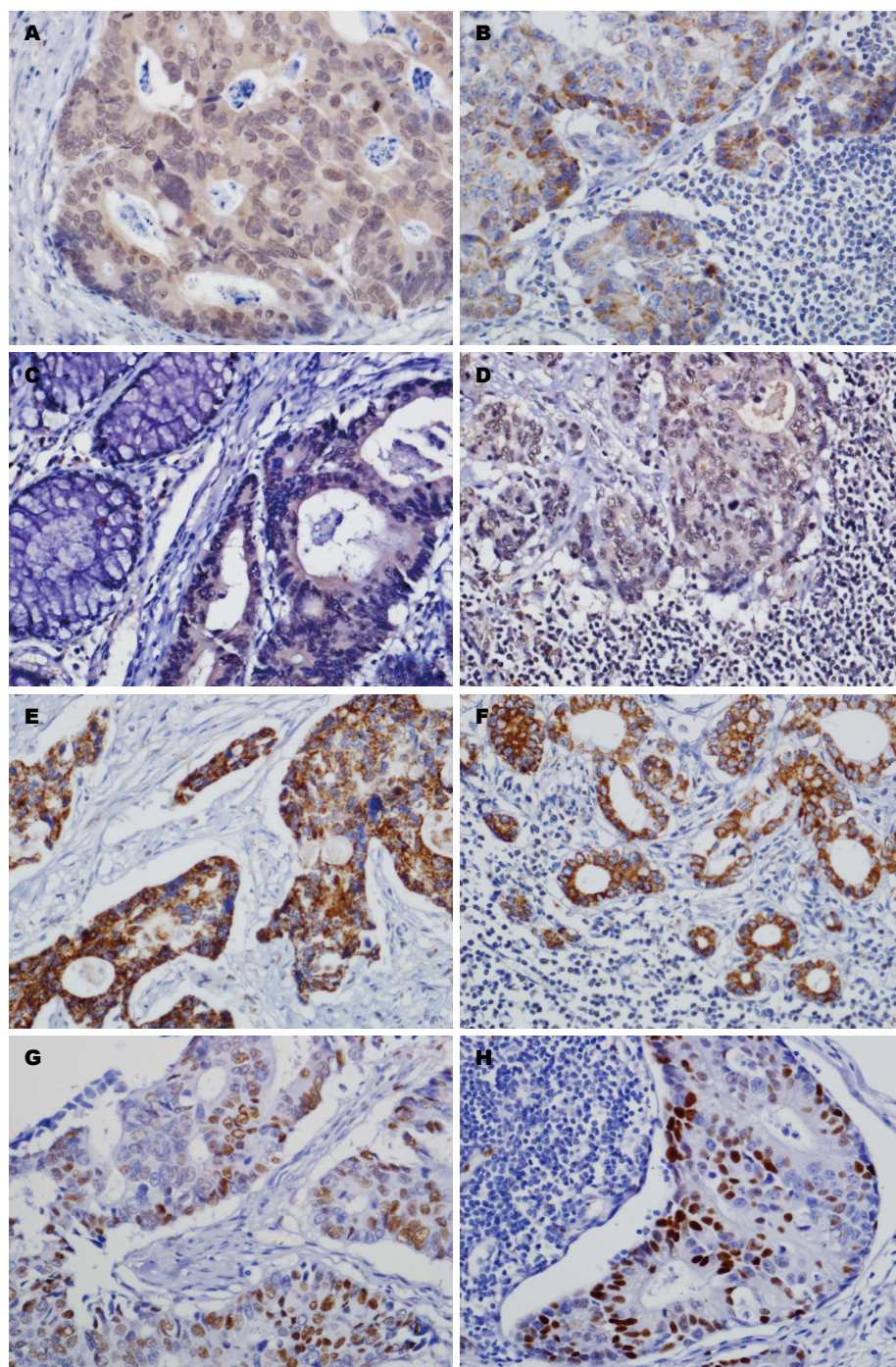
1.2.2 结果判定: PI3Kp110 α 、PI3Kp110 β 和Bcl-2阳性时为细胞质黄色-黄褐色颗粒, CyclinD1阳性时为细胞核黄色-棕褐色颗粒。采用染色强度与阳性细胞百分率相结合的判定标准。染色强度: 不着色为0分, 淡黄色1分, 棕黄色2分, 黄褐色3分。阳性细胞所占百分比: 阳性细胞数<5%计为0分, 5%-30%计为1分, 31%-60%计为2分, >60%计为3分。染色总分为两者的乘积, 阴性(-): 0分, 弱阳性(+): 1-4分, 中度阳性(++): 5-8分, 强阳性(+++): 9-12分。

统计学处理 使用SPSS19.0统计软件, 不同分组之间蛋白的表达差异采用 χ^2 检验; 蛋白表达相关性采用Spearman相关性分析, 采用Kaplan-Meier法进行单因素生存分析, 并进行Log-rank法检验, Cox风险模型进行多因素生存分析, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 PI3Kp110 α 、PI3Kp110 β 、Bcl-2和CyclinD1在不同分组中的表达情况 PI3Kp110 α 、PI3Kp110 β 、Bcl-2和CyclinD1在正常肠黏膜组、无LN转移组、有LN转移的原发灶及相应LN转移灶中的表达如表1、图1(图1为其阳性表达)。多组二分类资料的两两 χ^2 检验比较结果显示, PI3Kp110 α 与Bcl-2在无LN转移组、有LN转移的原发灶及相应的LN转移灶中的表达均高于正常肠黏膜组($P<0.05$), 但3组间表达差异无统计学意义($P>0.05$)。PI3Kp110 β 与CyclinD1在无LN转移组、有LN转移的原发灶及相应的LN转移灶中的表达均高于正常肠黏膜组, 且在有LN转移的原发灶中的表达均高于相应的LN转移灶及无LN转移组中的表达($P<0.05$)。

2.2 PI3Kp110 α 、PI3Kp110 β 、Bcl-2和CyclinD1在不同分组中的相关性 Spearman相



■创新盘点

本文通过在大肠癌原发灶及其LN转移灶中检测PI3Kp110 α 、PI3Kp110 β 、B细胞淋巴瘤基因-2(B cell lymphoma 2, *Bcl-2*)和CyclinD1的表达情况,分析其表达差异与相关性,探讨PI3Kp110 α 、PI3Kp110 β 在大肠癌转移中的相关性及其与预后的关系。

图1 PI3Kp110 α 、PI3Kp110 β 与Bcl-2、CyclinD1在大肠癌原发灶与淋巴结转移灶中阳性表达情况($\times 400$). A: PI3Kp110 α 在大肠癌原发灶中阳性表达; B: PI3Kp110 α 在淋巴结转移灶中阳性表达; C: PI3Kp110 β 在大肠癌原发灶中阳性表达; D: PI3Kp110 β 在淋巴结转移灶中阳性表达; E: Bcl-2在大肠癌原发灶中阳性表达; F: Bcl-2在淋巴结转移灶中阳性表达; G: CyclinD1在大肠癌原发灶中阳性表达; H: CyclinD1在淋巴结转移灶中阳性表达. PI3K: 磷脂酰肌醇3-激酶; *Bcl-2*: B细胞淋巴瘤基因-2.

关性分析结果显示: PI3Kp110 α 与Bcl-2在正常肠黏膜组、无LN转移组、有LN转移的原发灶及相应的LN转移灶中的表达均呈正相关; PI3Kp110 α 与CyclinD1在正常肠黏膜组、无LN转移组和有LN转移的原发灶中的表达均呈正相关,而在LN转移灶中的表达无相关性

($P>0.05$)(表2). PI3Kp110 β 与Bcl-2和CyclinD1在正常肠黏膜组、无LN转移组、有LN转移的原发灶及相应的LN转移灶中均呈正相关关系(表3).

2.3 PI3Kp110 α 、PI3Kp110 β 与Bcl-2、CyclinD1的表达与临床病理因素的相关性 本

应用要点

本文研究发现同步检测PI3Kp-110α、PI3Kp110β与细胞的凋亡及周期蛋白对于临床预测肿瘤的发生、发展、判断预后以及肿瘤的基因治疗具有积极意义。

表 1 PI3Kp110α、PI3Kp110β、Bcl-2和CyclinD1在不同分组中的表达情况 n(%)					
分组	n	PI3Kp110α(+)	PI3Kp110β(+)	Bcl-2(+)	CyclinD1(+)
正常黏膜组	30	4(13.3) ^a	5(16.6) ^a	6(20) ^a	3(10) ^a
无LN转移组	52	33(63) ^c	32(61) ^c	29(55)	26(50) ^c
有LN转移组	50	42(84) ^e	44(88) ^e	31(62)	37(74) ^e
LN转移灶组	50	38(76)	33(66)	24(48)	19(38)

^a*P*<0.05 vs 无LN转移组; ^c*P*<0.05 vs 有LN转移组; ^e*P*<0.05 vs LN转移灶组. LN: 淋巴结; PI3K: 磷脂酰肌醇3-激酶; Bcl-2: B细胞淋巴瘤基因-2.

表 2 PI3Kp110α与Bcl-2和CyclinD1在不同分组中的相关性								
指标	正常黏膜组		无LN转移组		有LN转移组		LN转移灶组	
	r值	P值	r值	P值	r值	P值	r值	P值
PI3Kp110α与Bcl-2	0.539	0.002	0.678	0.000	0.332	0.019	0.402	0.004
PI3Kp110α与CyclinD1	0.523	0.050	0.342	0.001	0.735	0.000	0.229	0.108

LN: 淋巴结; PI3K: 磷脂酰肌醇3-激酶; Bcl-2: B细胞淋巴瘤基因-2.

表 3 PI3Kp110β与Bcl-2和CyclinD1在不同分组中的相关性								
指标	正常黏膜组		无LN转移组		有LN转移组		LN转移灶组	
	r值	P值	r值	P值	r值	P值	r值	P值
PI3Kp110β与Bcl-2	0.447	0.013	0.551	0.000	0.345	0.014	0.594	0.001
PI3Kp110β与CyclinD1	0.745	0.000	0.536	0.000	0.342	0.015	0.388	0.005

LN: 淋巴结; PI3K: 磷脂酰肌醇3-激酶; Bcl-2: B细胞淋巴瘤基因-2.

实验免疫组织化学结果显示: PI3Kp110α、PI3Kp110β、Bcl-2和CyclinD1在大肠癌中均表达增高(*P*<0.05), 临床病理因素分析显示: Bcl-2的表达与分化程度相关, 在低分化大肠癌中的表达均高于高-中分化大肠癌; PI3Kp110α、PI3Kp110β和CyclinD1蛋白表达与分化程度和LN转移均有关, 三者 在低分化大肠癌组织中的表达均高于高-中分化大肠癌组织, 在伴有LN转移的大肠癌组织中的表达均高于无LN转移组(表4).

2.4 生存分析 102例大肠癌患者的中位生存时间为57.5 mo, 5年生存率为52.0%(53/102). Kaplan-Meier分析显示, PI3Kp110α、PI3Kp110β、Bcl-2和CyclinD1是大肠癌预后相关因素(*P*<0.05)(图2), PI3Kp110α阳性患者的5年生存率为41.5%, 阴性患者5年生存率为56.8%; PI3Kp110β阳性患者5年生存率为38.3%, 阴性患者5年生存率为60.3%; Bcl-2阳

性患者5年生存率为42.5%; 阴性患者5年生存率为53.6%, CyclinD1阳性患者5年生存率为40.5%; 阴性患者5年生存率为56.5%, 差异有统计学意义(*P*<0.05). Cox比例风险模型分析显示: PI3Kp110α、PI3Kp110β是影响大肠癌患者预后的独立因素(表5).

3 讨论

大肠癌是常见的恶性肿瘤之一, 世界范围内, 女性和男性发病率分别高居消化系肿瘤第2位和第3位, 且每年新发患者约120万例, 死亡患者约有60万例^[3]. 在我国, 大肠癌的发病率和死亡率每年均有升高, 且不断年轻化^[4]. 临床研究^[5]发现, 早期发生LN转移是大肠癌的一个特征, 而大肠癌生存相关分析结果显示, 发生LN转移及远处转移患者生存率明显减低. 因此深入研究大肠癌的发生及转移机制具有重要的临床意义.

表 4 PI3Kp110α、PI3Kp110β、Bcl-2、CyclinD1与临床病理因素的相关性

临床病理因素	n	PI3Kp110α(+)	P值	PI3Kp110β(+)	P值	Bcl-2(+)	P值	CyclinD1(+)	P值
性别			0.491				0.818		0.726
男	68	39		41	0.498	42		40	
女	34	16		17		19		20	
年龄(岁)			0.573				0.702		0.627
<60	46	22		20	0.235	22		24	
≥60	56	30		31		29		32	
肿瘤直径(cm)			0.579				0.715		0.784
<3	48	24		26	0.803	24		27	
≥3	54	30		28		29		29	
肿瘤部位			0.543				0.543		0.701
结肠	53	25		27	0.689	27		28	
直肠	49	26		23		22		24	
分化程度			0.028				0.040		0.037
高-中	65	30		32	0.029	31		29	
低	37	26		27		26		25	
LN ¹			0.019				0.331		0.011
否	52	33		32	0.002	29		26	
是	50	42		44		31		37	

LN¹: lymph node metastasrs; PI3K: 磷脂酰肌醇3-激酶; Bcl-2: B细胞淋巴瘤基因-2.

表 5 大肠癌患者预后多因素生存分析

参数	B	SE	Wald	df	Exp(B)	95.0%CI	P值
PI3Kp110α	0.755	0.206	13.723	1	2.355	1.659-3.370	<0.001
PI3Kp110β	0.839	0.155	16.234	1	2.667	1.762-4.536	<0.001

近年研究^[6-13]发现, PI3K/AKT(protein kinase B)信号通路在甲状腺癌、卵巢癌、前列腺癌、子宫内膜癌、乳腺癌、恶性胶质瘤、成神经管细胞瘤、鼻咽癌及骨髓增生异常综合征等多种肿瘤中存在异常激活, 该通路不仅与肿瘤的发生、增殖、存活等方面密切相关, 而且在肿瘤细胞抵抗凋亡、血管发生以及细胞迁徙中也发挥了重要作用^[7,14,15]. PI3Kp110α、PI3Kp110β是PI3K亚基p110的催化亚单位, 二者的表达增多, 可以上调PI3Ks的活性, 进一步激活PI3K/AKT信号转导通路, 通过影响下游分子活性, 致使细胞代谢及细胞周期的失调和紊乱, 从而导致细胞的癌变. 本课题组前期研究结果已经证明, PI3Kp110α、PI3Kp110β在大肠黏膜恶变过程中的表达均有不同程度升高, 在大肠癌的发生过程中发挥重要作用^[16-22]. 但在大肠癌转移中所发挥的作用以及在原发灶及转移灶中的表达差异及意

义鲜见报道. 肿瘤的转移机制十分复杂, 事实上, 在肿瘤的转移过程中, 有大量肿瘤细胞发生迁徙, 但仅有少数肿瘤细胞通过免疫逃逸, 避免环境干扰能在新的环境中生存, 并且继续生长增殖形成转移瘤. 因此, 探讨PI3Kp110α和PI3Kp110β在肿瘤细胞转移中的作用及其机制具有重要意义. 本研究发现, PI3Kp110α与PI3Kp110β在大肠癌原发灶及转移灶中的表达均高于正常肠黏膜, 且PI3Kp110β在有LN转移组中的表达高于无淋巴转移组及LN转移灶, 提示PI3Kp110α与PI3Kp110β在大肠癌的发生过程中发挥了重要的作用, 并且PI3Kp110β与LN的转移密切相关.

肿瘤细胞在转移灶中的生存机制是转移性肿瘤赖以生存的基础. Bcl-2是重要的凋亡抑制基因, 研究^[23-27]表明, Bcl-2在多种恶性肿瘤如鳞状细胞癌、肝癌、软组织瘤和乳腺癌中呈高表达, 且与肿瘤的发生发展及预后密切相

■同行评价

本文研究大肠癌原发灶与LN转移灶中PI3Kp110α、PI3Kp110β与Bcl-2、CyclinD1表达差异性和相关性有一定价值, 其在大肠癌的发生与转移中发挥重要作用, 且大肠癌LN转移灶与原发灶之间的异质性改变与PI3Kp110α、PI3Kp110β的异常表达密切相关.

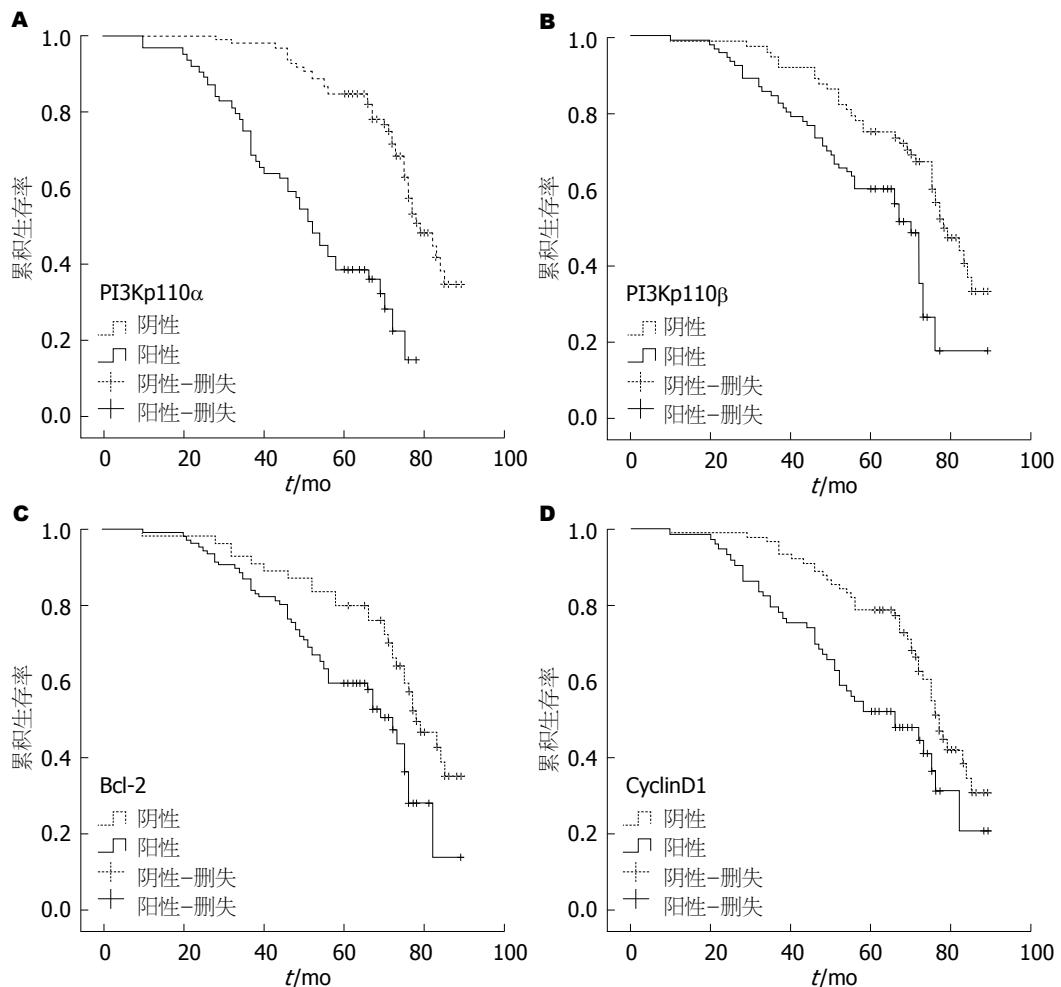


图 2 PI3Kp110 α 、PI3Kp110 β 、Bcl-2、CyclinD1与大肠癌预后的相关性. A: PI3Kp110 α ; B: PI3Kp110 β ; C: Bcl-2; D: CyclinD1. PI3K: 磷脂酰肌醇3-激酶; Bcl-2: B细胞淋巴瘤基因-2.

关. 本实验结果显示, Bcl-2在大肠癌原发灶与转移灶中表达均增高, 提示在大肠癌发生过程中Bcl-2发挥了重要作用. CyclinD1是细胞周期调控的重要正向调控因子, 在肿瘤的发生发展过程中发挥重要的作用. 当CyclinD1基因呈激活状态时, CyclinD1持续高表达, 将导致G1期缩短, 细胞提前进入S期, 使正常调节紊乱, 导致细胞周期进程加快、增殖失控, 最终导致肿瘤形成^[28-30]. 本研究发现, CyclinD1在大肠癌原发灶与转移灶中表达均增高, 并且CyclinD1在有LN转移的大肠癌中表达高于无LN转移组大肠癌及LN转移灶, 提示CyclinD1不仅与大肠癌的发生发展有关, 同时与LN的转移及其异位生长密切相关.

本实验相关性分析结果提示, 在大肠癌原发灶中, PI3Kp110 α 与Bcl-2、CyclinD1以及PI3Kp110 β 与Bcl-2、CyclinD1之间均呈正相关关系, 提示在大肠癌的发生过程中,

PI3Kp110 α 、PI3Kp110 β 、Bcl-2和CyclinD1发挥协同作用, 亦证实了大肠癌的发生是多基因及其表达产物顺序变化, 发挥协同作用的多环节过程. 而在大肠癌LN转移灶中, PI3Kp110 α 、PI3Kp110 β 均与Bcl-2的表达密切相关, PI3Kp110 β 与CyclinD1表达呈正相关, 而PI3Kp110 α 与CyclinD1两者之间无明显相关. 提示PI3K/AKT信号通路激活的肿瘤细胞抗凋亡在肿瘤的转移过程中发挥了重要作用, 而PI3Kp110 β 所调控的细胞增殖周期进程加速又进一步促进了肿瘤的异位生长. 结合LN转移灶与原发病灶中PI3Kp110 β 和CyclinD1表达的差异, 提示恶性肿瘤虽然是由一个发生恶变的细胞单克隆增殖而来, 但是其演进过程中可能出现某些基因或大分子的改变, 表现出各自特性的“亚克隆”, 而肿瘤细胞的这些异质性是促使肿瘤细胞侵袭、迁徙、转移以及转以后异位生存的重要因素. 而关于PI3Kp110 α 、

PI3Kp110 β 引起细胞凋亡与增殖的分子机制尚需进一步研究。

准确判断肿瘤患者预后, 合理选择治疗方案对于肿瘤的临床治疗十分重要。众多因素可影响患者的预后, 而目前关于PI3Kp110 α 、PI3Kp110 β 、Bcl-2和CyclinD1与大肠癌患者预后的研究较少。本研究随访102例大肠癌根治术患者术后生存情况, 并对PI3Kp110 α 、PI3Kp110 β 、Bcl-2和CyclinD1与生存进行多因素生存分析。研究结果显示, 大肠癌患者5年总体生存率为52%, 生存分析发现PI3Kp110 α 、PI3Kp110 β 、Bcl-2和CyclinD1阳性患者的5年生存率均低于阴性患者。Cox比例风险模型分析显示: PI3Kp110 α 、PI3Kp110 β 是影响大肠癌患者预后的独立因素。我们认为, PI3Kp110 α 、PI3Kp110 β 可上调Bcl-2和CyclinD1高表达, 导致肿瘤细胞抗凋亡和细胞周期进程加快, 在促进肿瘤细胞生长、转移及异位生长中发挥作用, 检测PI3Kp110 α 、PI3Kp110 β 对于判断肿瘤的转移及预后具有重要价值。

总之, 本实验表明PI3Kp110 α 、PI3Kp110 β 与细胞的凋亡及周期蛋白在大肠癌的发生与转移中发挥重要作用, 大肠癌LN转移灶与原发灶之间存在肿瘤的异质性改变与PI3Kp110 α 、PI3Kp110 β 的异常表达密切相关。深入研究PI3Kp110 α 、PI3Kp110 β 与大肠癌转移的相关性以及LN转移灶中肿瘤的异质性改变的关系及其调控机制, 对于临床预测肿瘤的发生、发展、判断预后以及肿瘤的基因治疗具有积极意义。

4 参考文献

- 1 邢宝才. 结直肠癌肝转移的规范化治疗. 中华消化外科杂志 2013; 12: 413-416
- 2 徐肇斌, 熊斌, 张坤林, 龙小玲. 大肠癌淋巴结转移规律的相关因素分析. 临床外科杂志 2003; 11: 90-91
- 3 Jemal A, Center MM, DeSantis C, Ward EM. Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19: 1893-1907 [PMID: 20647400 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-10-0437]
- 4 代珍, 郑荣寿, 邹小农, 张思维, 曾红梅, 李霓, 陈万青. 中国结直肠癌发病趋势分析和预测. 中华预防医学杂志 2012; 46: 598-603
- 5 Javed MA, Sheel AR, Sheikh AA, Page RD, Rooney PS. Size of metastatic deposits affects prognosis in patients undergoing pulmonary metastectomy for colorectal cancer. *Ann R Coll Surg Engl* 2014; 96: 32-36 [PMID: 24417827 DOI: 10.1308/003588414X13824511650371]
- 6 Xing M. Recent advances in molecular biology of thyroid cancer and their clinical implications.

- Otolaryngol Clin North Am* 2008; 41: 1135-1146, ix [PMID: 19040974 DOI: 10.1016/j.otc.2008.07.001]
- 7 Janku F, Wheler JJ, Westin SN, Moulder SL, Naing A, Tsimberidou AM, Fu S, Falchook GS, Hong DS, Garrido-Laguna I, Luthra R, Lee JJ, Lu KH, Kurzrock R. PI3K/AKT/mTOR inhibitors in patients with breast and gynecologic malignancies harboring PIK3CA mutations. *J Clin Oncol* 2012; 30: 777-782 [PMID: 22271473 DOI: 10.1200/JCO.2011.36.1196]
- 8 Wang LE, Ma H, Hale KS, Yin M, Meyer LA, Liu H, Li J, Lu KH, Hennessy BT, Li X, Spitz MR, Wei Q, Mills GB. Roles of genetic variants in the PI3K and RAS/RAF pathways in susceptibility to endometrial cancer and clinical outcomes. *J Cancer Res Clin Oncol* 2012; 138: 377-385 [PMID: 22146979 DOI: 10.1007/s00432-011-1103-0]
- 9 Levine DA, Bogomolny F, Yee CJ, Lash A, Barakat RR, Borgen PI, Boyd J. Frequent mutation of the PIK3CA gene in ovarian and breast cancers. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 2875-2878 [PMID: 15837735 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-04-2142]
- 10 Knobbe CB, Trampe-Kieslich A, Reifemberger G. Genetic alteration and expression of the phosphoinositol-3-kinase/Akt pathway genes PIK3CA and PIKE in human glioblastomas. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2005; 31: 486-490 [PMID: 16150119 DOI: 10.1111/j.1365-2990.2005.00660.x]
- 11 Hartmann W, Digon-Söntgerath B, Koch A, Waha A, Endl E, Dani I, Denkhaus D, Goodyer CG, Sörensen N, Wiestler OD, Pietsch T. Phosphatidylinositol 3'-kinase/AKT signaling is activated in medulloblastoma cell proliferation and is associated with reduced expression of PTEN. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 3019-3027 [PMID: 16707597 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-2187]
- 12 Or YY, Hui AB, Tam KY, Huang DP, Lo KW. Characterization of chromosome 3q and 12q amplicons in nasopharyngeal carcinoma cell lines. *Int J Oncol* 2005; 26: 49-56 [PMID: 15586224]
- 13 Nyäkern M, Tazzari PL, Finelli C, Bosi C, Follo MY, Grafone T, Piccaluga PP, Martinelli G, Cocco L, Martelli AM. Frequent elevation of Akt kinase phosphorylation in blood marrow and peripheral blood mononuclear cells from high-risk myelodysplastic syndrome patients. *Leukemia* 2006; 20: 230-238 [PMID: 16341040 DOI: 10.1038/sj.leu.2404057]
- 14 Yuan TL, Cantley LC. PI3K pathway alterations in cancer: variations on a theme. *Oncogene* 2008; 27: 5497-5510 [PMID: 18794884 DOI: 10.1038/onc.2008.245]
- 15 Li J, Davies BR, Han S, Zhou M, Bai Y, Zhang J, Xu Y, Tang L, Wang H, Liu YJ, Yin X, Ji Q, Yu DH. The AKT inhibitor AZD5363 is selectively active in PIK3CA mutant gastric cancer, and sensitizes a patient-derived gastric cancer xenograft model with PTEN loss to Taxotere. *J Transl Med* 2013; 11: 241 [PMID: 24088382 DOI: 10.1186/1479-5876-11-241]
- 16 李扬扬, 吴淑华, 刘鲁英, 牟清海, 赵大华. PIK3CA蛋白在大肠癌变过程中的表达及临床意义. 滨州医学院学报 2010; 33: 5-8
- 17 高向前, 吴淑华, 纪洪, 李扬扬, 燕炜, 孟晓. 结直肠癌组织中PI3KCB蛋白表达及其与多药耐药基因产物的相关性. 山东医药 2012; 52: 7-9
- 18 高向前, 吴淑华, 李扬扬, 曹璋, 纪洪. 结直肠癌与不同上皮内瘤变腺瘤中PI3Kp110 β 的表达及临床意义.

- 临床与实验病理学杂志 2012; 28: 518-521
- 19 燕伟, 吴淑华, 李扬扬, 高向前, 孟晓. 大肠癌组织中PIK3CA和PIK3CB的表达及意义. 临床与实验病理学杂志 2013; 29: 18-22
- 20 孟晓, 吴淑华, 李扬扬, 田东. PI3Kp110不同亚单位在结直肠腺瘤癌变中的表达及相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21: 661-666
- 21 温菲菲, 吴淑华, 李扬扬, 高向前, 何双. 大肠癌组织中PIK3CA、PIK3CB蛋白与多药耐药基因产物表达的相关性及其临床意义. 世界华人消化杂志 2015; 23: 202-209
- 22 Wen F, He S, Sun C, Li T, Wu S. PIK3CA and PIK3CB expression and relationship with multidrug resistance in colorectal carcinoma. *Int J Clin Exp Pathol* 2014; 7: 8295-8303 [PMID: 25550888]
- 23 van Oosterwijk JG, Meijer D, van Ruler MA, van den Akker BE, Oosting J, Krenács T, Picci P, Flanagan AM, Liegl-Atzwanger B, Leithner A, Athanasou N, Daugaard S, Hogendoorn PC, Bovée JV. Screening for potential targets for therapy in mesenchymal, clear cell, and dedifferentiated chondrosarcoma reveals Bcl-2 family members and TGF β as potential targets. *Am J Pathol* 2013; 182: 1347-1356 [PMID: 23415961 DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.12.036]
- 24 Adams JM. Therapeutic potential of a peptide targeting BCL-2 cell guardians in cancer. *J Clin Invest* 2012; 122: 1965-1967 [PMID: 22622043 DOI: 10.1172/JCI64120]
- 25 Hardwick JM, Youle RJ. SnapShot: BCL-2 proteins. *Cell* 2009; 138: 404, 404. e1 [PMID: 19632186 DOI: 10.1016/j.cell.2009.07.003]
- 26 Soriano ME, Scorrano L. Traveling Bax and forth from mitochondria to control apoptosis. *Cell* 2011; 145: 15-17 [PMID: 21458662 DOI: 10.1016/j.cell.2011.03.025]
- 27 Marquez RT, Xu L. Bcl-2: Beclin 1 complex: multiple, mechanisms regulating autophagy/apoptosis toggle switch. *Am J Cancer Res* 2012; 2: 214-221 [PMID: 22485198]
- 28 Shirali S, Aghaei M, Shabani M, Fathi M, Sohrabi M, Moeinifard M. Adenosine induces cell cycle arrest and apoptosis via cyclinD1/Cdk4 and Bcl-2/Bax pathways in human ovarian cancer cell line OVCAR-3. *Tumour Biol* 2013; 34: 1085-1095 [PMID: 23345014 DOI: 10.1007/s13277-013-0650-1]
- 29 Wang MT, Chen G, An SJ, Chen ZH, Huang ZM, Xiao P, Ben XS, Xie Z, Chen SL, Luo DL, Tang JM, Lin JY, Zhang XC, Wu YL. Prognostic significance of cyclinD1 amplification and the co-alteration of cyclinD1/pRb/ppRb in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Dis Esophagus* 2012; 25: 664-670 [PMID: 22150974 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2011.01291.x]
- 30 Chen B, Zhang C, Dong P, Guo Y, Mu N. Molecular regulation of cervical cancer growth and invasion by VEGFa. *Tumour Biol* 2014; 35: 11587-11593 [PMID: 25135429 DOI: 10.1007/s13277-014-2463-2]

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊. 中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高. 精品科技期刊的遴选周期为三年. (《世界华人消化杂志》编辑部)

细胞谱系示踪技术在肝脏纤维化上皮-间质转化研究中的应用

王芳, 赵礼金

王芳, 赵礼金, 遵义医学院附属医院肝胆外科 贵州省遵义市 563003

王芳, 在读硕士, 住院医师, 主要从事肝胆管结石的基础与临床研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81260085

作者贡献分布: 本文综述由王芳完成; 赵礼金审校。

通讯作者: 赵礼金, 教授, 主任医师, 563003, 贵州省遵义市汇川区大连路149号, 遵义医学院附属医院肝胆外科。386421696@qq.com

电话: 0852-8608244

收稿日期: 2015-05-14 修回日期: 2015-06-08

接受日期: 2015-06-15 在线出版日期: 2015-07-18

Cell lineage tracing in study of epithelial-to-mesenchymal transition during hepatic fibrosis

Fang Wang, Li-Jin Zhao

Fang Wang, Li-Jin Zhao, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81260085

Correspondence to: Li-Jin Zhao, Professor, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, 149 Dalian Road, Huichuan District, Zunyi 563003, Guizhou Province, China. 386421696@qq.com

Received: 2015-05-14 Revised: 2015-06-08

Accepted: 2015-06-15 Published online: 2015-07-18

Abstract

Hepatic fibrosis is the common pathologic process of chronic liver injury. Early studies mostly used immunohistochemistry to assess the role of epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) in human or animal liver repair, and several types of liver cells including

hepatocytes, cholangiocytes, hepatic stellate cells (HSCs) and liver progenitor cells have been shown to undergo EMT during hepatic fibrosis. However, this technique has several flaws. In recent years, with the rapid development of genetic engineering, especially the application of the recombinant enzyme Cre/loxP system, cell lineage tracing is becoming a popular and powerful tool to overcome the limitations of immunostaining for identifying EMT during hepatic fibrosis. Since this technique genetically labels cells, the marker will be present in any progeny of the labeled cells. Many groups have generated different lineages of double transgenic (DTG) mice and utilized different models of hepatic injury to investigate whether EMT contributes to hepatic injury or not. The purpose of this article is to summarize evidence, which is obtained using lineage cell tracing, for and against the possibility that EMT is involved in hepatic fibrosis.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Epithelial-to-mesenchymal transition; Hepatic fibrosis; Cell lineage tracing

Wang F, Zhao LJ. Cell lineage tracing in study of epithelial-to-mesenchymal transition during hepatic fibrosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(20): 3235-3240 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3235.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i20.3235>

摘要

肝脏纤维化是多种慢性肝脏损伤共同的病理过程。通过免疫组织化学技术研究人和

■背景资料

肝脏纤维化是多种慢性肝脏损伤共同的病理过程。通过免疫组织化学技术研究人和动物样本证实, 在慢性损伤肝脏纤维化过程中, 一些肝脏细胞可发生上皮-间质转化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)促进肝脏纤维化。

■同行评议者

鲁玉辉, 副教授, 福建中医药大学中医学学院

■ 研发前沿

随着基因工程技术的飞速发展, 细胞谱系示踪技术也有所突破, 尤其是诱导性重组酶Cre/loxP系统的应用, 极大地拓宽了细胞谱系示踪技术的应用范围. 近年来, 细胞谱系示踪技术被应用于肝纤维化过程中的EMT研究, 但研究结果大不一致.

动物样本证实, 在慢性损伤肝脏纤维化过程中, 一些肝脏细胞可发生上皮-间质转化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)促进肝脏纤维化. 然而免疫组织化学技术存在许多技术上的缺陷, 导致肝脏纤维化过程中存在EMT的观点饱受质疑. 细胞谱系示踪技术为研究器官发育、组织损伤修复以及单细胞的分化命运提供了重要的手段. 近些年, 随着基因工程技术的飞速发展, 细胞谱系示踪技术也有所突破, 尤其是诱导性重组酶Cre/loxP系统的应用, 极大地拓宽了细胞谱系示踪技术的应用范围. 目前, 该技术越来越多的应用于研究肝脏纤维化过程中的EMT. 本文将近来细胞谱系示踪技术在判断肝脏纤维化过程中是否发生EMT的实验研究作一综述.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 上皮-间质转化; 肝纤维化; 细胞谱系示踪技术

核心提示: 细胞谱系示踪技术越来越多被用于追踪肝脏细胞是否经历上皮-间质转化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)/间质-上皮转化(mesenchymal-to-epithelial transition, MET), 促进肝纤维化病程. 尽管通过这种方式研究EMT/MET具有很强的说服力, 但其结果仍颇具争议. 本文将近来细胞谱系示踪技术在判断肝脏纤维化过程中是否发生EMT的实验研究作一综述.

王芳, 赵礼金. 细胞谱系示踪技术在肝脏纤维化上皮-间质转化研究中的应用. 世界华人消化杂志 2015; 23(20): 3235-3240
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3235.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i20.3235>

0 引言

上皮-间质转化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)是指相互毗邻、具有极性的上皮细胞转化成缺乏细胞间连接、具有自由移动能力的间充质细胞的过程. 其可逆过程称间质-上皮转化(mesenchymal-to-epithelial transition, MET). 在一个时间点, 逐渐间质化的上皮细胞仍保留一些上皮细胞特有的特征, 即共同表达上皮和间质标志物, 被认为是确定EMT的确切证据^[1-4]. 近年来通过免疫组织化学的技术研究人和动物样本证实, 在慢性损伤致肝脏纤维化过程中, 一些肝脏细胞如肝细胞、

胆管上皮细胞, 肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)等, 可发生EMT, 转化成肌纤维母细胞, 分泌大量细胞外基质, 促进肝脏纤维化^[5-11]. 深入研究EMT发生机制的文章也不少^[12-22].

而免疫组织化学技术存在以下几个弊端^[1,5]. 首先, 在任一时间点, 证明任一种细胞表达几种蛋白标志物具有技术上的挑战, 因此几乎不可能用这种方法获得单个细胞复杂的改变; 其次, 用共染的方法判断一个细胞是否同时表达上皮或间质标志物是很困难的. 有可能明显的共同表达两种标志物不过是反应了毗邻的细胞分别表达了一种标志物; 再者, EMT/MET不是静止的, 而是不断变化的, 因而就算是先进的免疫组织化学技术也不可能捕捉到一个细胞转变的整个过程, 而这正是一个细胞发生了EMT/MET的直接证据^[23-29]. 因而一些肝脏细胞能通过EMT/MET促进肝脏纤维化的观点仍备受质疑^[1,5].

为克服免疫共染技术的局限性, 近几年细胞谱系示踪技术越来越多被用于追踪肝脏细胞是否经历EMT/MET, 促进肝纤维化. 尽管通过这种方式研究EMT/MET具有很强的说服力, 但其结果仍颇具争议^[1]. 本文将近来细胞谱系示踪技术在判断肝脏纤维化过程中是否发生EMT的实验研究作一综述.

1 细胞谱系示踪技术

细胞谱系示踪是指利用各种方式标记细胞, 并对包括其后代所有细胞的增殖、分化以及迁移等活动进行追踪观察^[30]. 自20世纪以来, 谱系示踪技术为研究器官发育、组织损伤修复以及单细胞的分化命运提供了重要的手段. 近些年, 随着基因工程技术的飞速发展, 细胞谱系示踪技术也有所突破, 尤其是诱导性重组酶Cre/loxP系统的应用, 极大地拓宽了细胞谱系示踪技术的应用范围^[30-34].

Cre重组酶由Sternberg等^[35]在P1噬菌体中发现, 是一种特异性重组酶, 能够介导由34 bp的“LoxP”铆定的基因序列特异性重组, 完成对同向“LoxP”序列所铆定基因片段的切除以及对向“LoxP”铆钉基因的倒位^[33]. Cre/loxP系统将两只小鼠杂交, 其中1只转基因小鼠含有在目的基因两端分别有1个loxP位点的基因序列, 另一只转基因小鼠中, Cre重组酶被置于某特定基因启动子的调控之下, 杂交后产生

的同时含有上述2种基因型的子代小鼠就会在某一特定类型的细胞中缺失目的基因^[35-38]。

2 细胞谱系技术肝纤维化EMT研究中的应用

遗传谱系示踪技术作为判断EMT的一种强有力的工具已经广受推崇。该技术通过遗传标记细胞,因此在任何经遗传标记的细胞后代中都可以检测到标志物。Zeisberg等^[39]作为第一个团队利用此技术表明肝细胞发生EMT可能是肌纤维母细胞的一个重要来源。他们通过杂交白蛋白(albumin, Alb)-Cre小鼠和Rosa26-floxstop-Lac小鼠构建双转基因小鼠, Alb-Cre小鼠在白蛋白启动子控制下表达Cre重组酶。Rosa26-floxstop-LacZ小鼠的LacZ报告基因只有在Cre介导flox外显子切除后被激活表达。因此,在双转基因小鼠中只有白蛋白表达阳性的细胞后代可以永久性的被 β 半乳糖苷酶标记。然后检测这些小鼠是否共同表达 β 半乳糖苷酶和公认的间质标志物成纤维特异性蛋白-1(fibroblast specific protein 1, FSP1)。结果发现:健康的双转基因小鼠,几乎没有检测到FSP1阳性细胞。然而, CCl₄诱导的小鼠肝细胞FSP1表达阳性,而且几乎一半的FSP1阳性细胞共同表达 β 半乳糖苷酶。因此该实验团队得出结论:肝细胞来源的肌纤维细胞,可促进肝脏纤维化进程^[39]。

第二个尝试利用细胞谱系示踪技术证明肝脏损伤中是否发生EMT的团队使神经胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)-Cre小鼠和floxStopRepressorflox-绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)小鼠杂交繁殖^[20]。合成的双转基因小鼠Cre重组酶仅仅在被HSCs标志物GFAP激活的细胞中表达。通过追踪转基因小鼠的HSCs判断其是否可以发生MET产生成熟的肝脏上皮细胞。饲喂蛋氨酸-胆碱缺乏、乙硫氨酸充足的食物后,这些转基因老鼠中大约1/3成熟的白蛋白阳性肝细胞和几乎所有的肝内胆管细胞都表达了GFP。这些数据进一步证明了来源于肝脏祖细胞的肝细胞、胆管细胞和HSCs在某种具体的肝脏损伤修复中具有EMT/MET的能力^[40,23]。

然而,这两个报道受到了另外几个细胞谱系示踪技术研究结果的挑战。第一个是Taura等^[41]杂交胶原蛋白1 α 1(collagen1 α 1)-GFP报告小鼠和Zeisberg等^[39]使用的Alb-Cre-Rosa26-floxstop-LacZ报告小鼠,同时鉴定肝脏损伤中

产生胶原蛋白的细胞和白蛋白阳性来源的细胞。与Zeisberg等^[39]不同,他们没有发现FSP1和 β 半乳糖苷酶共同表达。其次,在CCl₄诱导的肝脏纤维化的不同阶段,也没有检测到肝细胞来源的细胞表达胶原蛋白。

后来,同一实验团队构建了大量转基因小鼠研究在肝脏损伤中胆管细胞的EMT和HSCs的MET^[42]。首先, Scholten等^[42]杂交他莫昔芬诱导的Krt19-CreERT小鼠和Rosa26f/f-黄色荧光蛋白(yellow fluorescent protein, YFP)小鼠追踪胆管细胞的命运。结果发现在胆总管结扎(bile duct ligate, BDL)和CCl₄诱导的肝脏纤维化小鼠后代胆管细胞中,没有证据表明HSCs或者肌纤维母细胞表达YFP和Krt19。后来他们杂交在GFAP或胶原 α 2启动子控制下表达Cre重组酶的小鼠和Rosa26f/f-mT/GFP或者Rosa26f/f-YFP小鼠,其后代HSCs和肌纤维母细胞被永久标记,也没有在YFP+细胞中检测到表达E-钙黏蛋白或者胆管上皮特异性标志物泛角蛋白。因此,他们认为胆管细胞的EMT和HSCs的MET没有在肝脏纤维化或肝脏再生过程中发挥作用。

来自同一个实验团队的Asterreicher等通过第三个实验证明了HSCs或者产生I型胶原蛋白的纤维母细胞不能表达FSP1^[42]。而且,他们发现FSP1阳性的肝脏细胞表达巨噬细胞标志物,由此得出结论传统的肝脏肌纤维母细胞不表达FSP1。与此观点一致的是,当FSP1-Cre小鼠和Rosa26-YFP小鼠杂交后,通过BDL或者CCl₄诱导肝脏纤维化,未能检测表达YFP的细胞同时表达连接蛋白或者 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)。这项研究结果向利用FSP1作为特异性间质标志物研究肝脏EMT提出了巨大的质疑。

不支持肝脏纤维化过程中发生EMT的第四项研究来自于Chu等^[43]的实验。他们通过杂交甲胎蛋白(alpha fetal protein, AFP)-Cre小鼠和Rosa26-YFP小鼠, YFP标记所有的肝脏上皮细胞,包括肝细胞、胆管细胞和卵圆细胞。尽管在体外培养过程中检测到了EMT,但在3种不同的体内肝脏损伤模型中,没有表达YFP的细胞表达各种公认的间质标志物,包括FSP1、波形蛋白、 α -SMA。因此,他们得出结论在体内不存在肝细胞或者胆管细胞的EMT发生。因此, Kisseleva等^[2]认为在体内未发生EMT,而且

■ 相关报道

肝纤维化过程中,可能伴随有肝细胞的上皮-间质转化,即有EMT的发生,近年来通过EMT研究肝纤维化机制成为热点。

应用要点

本文能较好的反映现阶段细胞谱系示踪技术在肝脏纤维化EMT研究中的应用概况, 可为相关研究提供一些参考.

提出“肝脏上皮细胞无促进实验性的肝脏纤维化的能力”. 后来, Troeger等^[44]报道vimentin-CreER肌纤维母细胞未能发生MET也支持了上述言论.

最近, Michelotti等^[45]用上述相同类型的细胞谱系示踪技术发现HSCs可转分化成肝细胞和胆管细胞. 他们构建 α -SMA-Cre-ERT2或者GFAP-Cre-ERTM小鼠和Rosa-Stop-flox-YFP杂交的双转基因小鼠. 经BDL处理, 在纤维化的肝脏中可观察到3种类型的YFP阳性细胞: 基质细胞、肝细胞、胆管细胞. 为了验证上述结果, 经BDL后分离这些转基因小鼠的肝细胞, 通过流式细胞学技术检测YFP表达情况. 与先前肝脏损伤中来源于HSCs的肝细胞百分比一致, 他们发现大约24%-34%肝细胞YFP表达阳性^[40]. 此外, 他们通过PCR技术分析肝细胞DNA, 检测Rosa26基因座的重组情况, 发现在他莫昔芬组处理组没有发现Cre介导的重组, 这是一条关于转基因重组的直接证据, 而在之前否定肝脏损伤存在EMT的研究中从未提过. 同一实验组, 在肝脏部分切除模型中, 也发现了EMT/MET的证据^[46]. 这项研究发现, 他莫昔芬诱导 α -SMA-YFP小鼠后, 经肝叶部分切除后48-72 h, 部分祖细胞、胆管细胞和25%的肝细胞YFP表达阳性, 这显示肝脏上皮细胞来源 α -SMA-YFP. 这两项研究最吸引人的地方是他们认为HSCs是肝脏常驻细胞类型, 具有内在可塑性, 能发生MET-EMT取代成人肝脏上皮细胞. 这和Guo等^[47]提出的“转化乳腺细胞”相似, 共同表达上皮和间质标志物, 假设其能在乳腺癌中补充干细胞数量^[47,48].

3 细胞谱系示踪技术存在的问题

要调和如前所述的支持和反对在体内肝细胞发生EMT的观点是相当困难的, 实际上研究相同的纤维化模型产生不一致甚至相反的数据使得理解起来更加的困难. 我们将尝试寻找一些解释这种差异的可能性.

首先, 和其他技术一样, 细胞谱系示踪技术也有一些缺点. Cre介导的重组效率不可能百分百成功. 例如, Scholten等^[42]报道在他们的试验中, Krt19-Cre/YFP小鼠的Cre重组效率仅达到40%, 因此, 极有可能未标记的Krt19+细胞发生了EMT. 实际上, Taura等^[41]在早期的研究中利用双转基因 α -SMA/collagen1 α 1报告小鼠确

定在肝脏损伤中 α -SMA表达细胞和产生胶原蛋白之间的关系, 大约50%HSCs没有表达任何的转基因, 仅仅7%表达 α -SMA荧光蛋白, 14%表达胶原蛋白, 30%在培养5 d后表达两种转基因; 其次, 一些用于构建双转基因公认的细胞特异性标志物其实缺乏特异性. 例如, 有报道^[40]称传统的HSCs标志物GFAP在胆管细胞中也有表达; 再者, 不同的实验肝脏损伤模型的检测的时间点不同, 且检测时间点有限. 由于EMT/MET是一个转化过程, 没有检测到EMT/MET的研究者可能已经错过了细胞发生表型转化的时间窗, 或者说细胞已经完成了EMT, 甚至又逆转成最初的情况; 最后, 细胞谱系示踪技术仍然在一定程度上依靠免疫组织化学技术确定细胞是否共同表达一定的标志物, 从而确定是否发生了EMT. 因此, 免疫组织化学技术的局限性仍然存在.

事实上, 仅仅使用几个上皮和间质标志物决定是否发生EMT是不够的. 一些标志物可能信号太弱, 或者可能表达其他类型标志物的细胞反而不表达被检测的标志物, 以至于目前的技术没有能力检测. 最后在动物模型中得到的数据可能不能准确的反应人肝脏疾病的病理生理过程. 考虑到这些和所有目前可用的动物实验数据的局限性, 认为人肝脏损伤中未发生EMT/MET还为时过早.

4 结论

为了更好地判断体内是否发生了EMT/MET, 我们建议在将来进行细胞谱系示踪技术研究时注意以下几个问题: (1)保证足够的动物数量, 检测不同的损伤模型及在损伤中或损伤后不同的时间点; (2)应使用不同的方法检测以弥补各种方法的不足, 如直接的免疫荧光技术、抗体介导的免疫组织化学技术、不同肝脏细胞的分离技术、Cre重组酶的重组效率检测、PCR检测荧光蛋白表达、流式细胞学技术等^[49,50]; (3)确保阳性和阴性的对照试验. 总之, 细胞谱系示踪技术作为一种直观有力的研究方法, 随着基因打靶技术及各种光学显微观察技术的不断发展, 将有望开启研究肝脏纤维化相关疾病中EMT的新篇章.

5 参考文献

- Xie G, Diehl AM. Evidence for and against epithelial-to-mesenchymal transition in the liver.

- Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2013; 305: G881-G890 [PMID: 24157970 DOI: 10.1152/ajpgi.00289.2013]
- 2 Kisseleva T, Brenner DA. Is it the end of the line for the EMT? *Hepatology* 2011; 53: 1433-1435 [PMID: 21433040 DOI: 10.1002/hep.24312]
 - 3 Pinzani M. Epithelial-mesenchymal transition in chronic liver disease: fibrogenesis or escape from death? *J Hepatol* 2011; 55: 459-465 [PMID: 21320559 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.02.001]
 - 4 Choi SS, Diehl AM. Epithelial-to-mesenchymal transitions in the liver. *Hepatology* 2009; 50: 2007-2013 [PMID: 19824076 DOI: 10.1002/hep.23196]
 - 5 李旭, 齐明华. 肝内细胞上皮-间质转化: 肝纤维化发生的新机制. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 811-817
 - 6 Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest* 2009; 119: 1420-1428 [PMID: 19487818 DOI: 10.1172/JCI39104]
 - 7 Zeisberg M, Neilson EG. Biomarkers for epithelial-mesenchymal transitions. *J Clin Invest* 2009; 119: 1429-1437 [PMID: 19487819 DOI: 10.1172/JCI36183]
 - 8 Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology* 2008; 134: 1655-1669 [PMID: 18471545 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.03.003]
 - 9 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]
 - 10 Thiery JP, Sleeman JP. Complex networks orchestrate epithelial-mesenchymal transitions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006; 7: 131-142 [PMID: 16493418 DOI: 10.1038/nrm1835]
 - 11 Acloque H, Adams MS, Fishwick K, Bronner-Fraser M, Nieto MA. Epithelial-mesenchymal transitions: the importance of changing cell state in development and disease. *J Clin Invest* 2009; 119: 1438-1449 [PMID: 19487820 DOI: 10.1172/JCI38019]
 - 12 Meindl-Beinker NM, Dooley S. Transforming growth factor-beta and hepatocyte transdifferentiation in liver fibrogenesis. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23 Suppl 1: S122-S127 [PMID: 18336655 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2007.05297]
 - 13 Dooley S, Hamzavi J, Ciucan L, Godoy P, Ilkavets I, Ehnert S, Ueberham E, Gebhardt R, Kanzler S, Geier A, Breitkopf K, Weng H, Mertens PR. Hepatocyte-specific Smad7 expression attenuates TGF-beta-mediated fibrogenesis and protects against liver damage. *Gastroenterology* 2008; 135: 642-659 [PMID: 18602923 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.04.038]
 - 14 Choi SS, Omenetti A, Syn WK, Diehl AM. The role of Hedgehog signaling in fibrogenic liver repair. *Int J Biochem Cell Biol* 2011; 43: 238-244 [PMID: 21056686 DOI: 10.1016/j.biocel.2010.10.015]
 - 15 Omenetti A, Choi S, Michelotti G, Diehl AM. Hedgehog signaling in the liver. *J Hepatol* 2011; 54: 366-373 [PMID: 21093090 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.10.003]
 - 16 Yang JJ, Tao H, Li J. Hedgehog signaling pathway as key player in liver fibrosis: new insights and perspectives. *Expert Opin Ther Targets* 2014; 18: 1011-1021 [PMID: 24935558 DOI: 10.1517/14728222.2014.927443]
 - 17 Kordes C, Sawitz A, Müller-Marbach A, Ale-Agha N, Keitel V, Klonowski-Stumpe H, Häussinger D. CD133+ hepatic stellate cells are progenitor cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 352: 410-417 [PMID: 17118341 DOI: 10.1016/j.bbrc.2006.11.029]
 - 18 刘忠涛, 熊力, 文宇, 苗雄. TGF-β介导的上皮间质转化. *中国普通外科杂志* 2013; 22: 211-217
 - 19 Caiado F, Carvalho T, Rosa I, Remédio L, Costa A, Matos J, Heissig B, Yagita H, Hattori K, da Silva JP, Fidalgo P, Pereira AD, Dias S. Bone marrow-derived CD11b+Jagged2+ cells promote epithelial-to-mesenchymal transition and metastasization in colorectal cancer. *Cancer Res* 2013; 73: 4233-4246 [PMID: 23722542 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-0085]
 - 20 Xie G, Karaca G, Swiderska-Syn M, Michelotti GA, Krüger L, Chen Y, Premont RT, Choi SS, Diehl AM. Cross-talk between Notch and Hedgehog regulates hepatic stellate cell fate in mice. *Hepatology* 2013; 58: 1801-1813 [PMID: 23703657 DOI: 10.1002/hep.26511]
 - 21 Saad S, Stanners SR, Yong R, Tang O, Pollock CA. Notch mediated epithelial to mesenchymal transformation is associated with increased expression of the Snail transcription factor. *Int J Biochem Cell Biol* 2010; 42: 1115-1122 [PMID: 20348013 DOI: 10.1016/j.biocel.2010.03.016]
 - 22 Chen Y, Zheng S, Qi D, Zheng S, Guo J, Zhang S, Weng Z. Inhibition of Notch signaling by a γ-secretase inhibitor attenuates hepatic fibrosis in rats. *PLoS One* 2012; 7: e46512 [PMID: 23056328 DOI: 10.1371/journal.pone.0046512]
 - 23 曾帅丹, 刘磊. 上皮间质转化与肝胆系统纤维化的研究进展. *临床肝胆病杂志* 2014; 30: 695-699
 - 24 Omenetti A, Porrello A, Jung Y, Yang L, Popov Y, Choi SS, Witek RP, Alpini G, Venter J, Vandongen HM, Syn WK, Baroni GS, Benedetti A, Schuppan D, Diehl AM. Hedgehog signaling regulates epithelial-mesenchymal transition during biliary fibrosis in rodents and humans. *J Clin Invest* 2008; 118: 3331-3342 [PMID: 18802480 DOI: 10.1172/JCI35875]
 - 25 Robertson H, Kirby JA, Yip WW, Jones DE, Burt AD. Biliary epithelial-mesenchymal transition in posttransplantation recurrence of primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2007; 45: 977-981 [PMID: 17393507 DOI: 10.1002/hep.21624]
 - 26 Syn WK, Jung Y, Omenetti A, Abdelmalek M, Guy CD, Yang L, Wang J, Witek RP, Fearing CM, Pereira TA, Teaberry V, Choi SS, Conde-Vancells J, Karaca GF, Diehl AM. Hedgehog-mediated epithelial-to-mesenchymal transition and fibrogenic repair in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2009; 137: 1478-1488.e8 [PMID: 19577569 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.06.051]
 - 27 Yang MC, Wang CJ, Liao PC, Yen CJ, Shan YS. Hepatic stellate cells secrete type I collagen to trigger epithelial mesenchymal transition of hepatoma cells. *Am J Cancer Res* 2014; 4: 751-763 [PMID: 25520865]
 - 28 Liu Z, Wang J, Guo C, Fan X. microRNA-21 mediates epithelial-mesenchymal transition of human hepatocytes via PTEN/Akt pathway. *Biomed Pharmacother* 2015; 69: 24-28 [PMID: 25661333 DOI: 10.1016/j.biopha.2014.10.028]

■名词解释

上皮-间质转化 (EMT): 相互毗邻、具有极性的上皮细胞转化成缺乏细胞间连接、具有自由移动能力的间充质细胞的过程; 细胞谱系示踪: 利用各种方式标记细胞, 并对包括其后代所有细胞的增殖、分化以及迁移等活动进行追踪观察。

同行评价

本文综述了细胞谱系示踪技术在肝脏纤维化EMT研究中的应用, 分析了细胞谱系示踪技术可能存在的问题, 并且提出了改进的方法, 有一定的科学性和新颖性.

- 29 李裕明, 韩克强, 郑璐, 李靖, 许商成, 田野望, 李洪艳, 皮会, 丰钱鹏, 梁平. 上皮间质转化标志物 E-cadherin和Vimentin在原发性肝癌中的表达及其临床意义. *中华肝脏病杂志* 2013; 21: 279-284
- 30 Kretzschmar K, Watt FM. Lineage tracing. *Cell* 2012; 148: 33-45 [PMID: 22265400 DOI: 10.1016/j.cell.2012.01.002]
- 31 van Amerongen R. Lineage Tracing in the Mammary Gland Using Cre/lox Technology and Fluorescent Reporter Alleles. *Methods Mol Biol* 2015; 1293: 187-211 [PMID: 26040689 DOI: 10.1007/978-1-4939-2519-3_11]
- 32 李晓刚, 苏楠, 杜晓兰, 陈林. 细胞谱系示踪技术. *生理科学进展* 2014; 45: 379-384
- 33 Humphreys BD, DiRocco DP. Lineage-tracing methods and the kidney. *Kidney Int* 2014; 86: 481-488 [PMID: 24088959 DOI: 10.1038/ki.2013.368.24088959]
- 34 Li XG, Su N, Du XL, Chen L. [Cell lineage tracing]. *Shengli Kexue Jinzhan* 2014; 45: 379-384 [PMID: 25764799]
- 35 Sternberg N, Hamilton D. Bacteriophage P1 site-specific recombination. I. Recombination between loxP sites. *J Mol Biol* 1981; 150: 467-486 [PMID: 6276557]
- 36 Nagy A. Cre recombinase: the universal reagent for genome tailoring. *Genesis* 2000; 26: 99-109 [PMID: 10686599 DOI: 10.1002/(SICI)1526-968X(200002)26:2<99::AID-GENE1>3.0.CO;2-B]
- 37 Hoess RH, Wierzbicki A, Abremski K. The role of the loxP spacer region in P1 site-specific recombination. *Nucleic Acids Res* 1986; 14: 2287-2300 [PMID: 3457367 DOI: 10.1093/nar/14.5.2287]
- 38 Kos CH. Cre/loxP system for generating tissue-specific knockout mouse models. *Nutr Rev* 2004; 62: 243-246 [PMID: 15291397 DOI: 10.1111/j.1753-4887.2004.tb00046.x]
- 39 Zeisberg M, Yang C, Martino M, Duncan MB, Rieder F, Tanjore H, Kalluri R. Fibroblasts derive from hepatocytes in liver fibrosis via epithelial to mesenchymal transition. *J Biol Chem* 2007; 282: 23337-23347 [PMID: 17562716 DOI: 10.1074/jbc.M700194200]
- 40 Yang L, Jung Y, Omenetti A, Witek RP, Choi S, Vandongen HM, Huang J, Alpini GD, Diehl AM. Fate-mapping evidence that hepatic stellate cells are epithelial progenitors in adult mouse livers. *Stem Cells* 2008; 26: 2104-2113 [PMID: 18511600 DOI: 10.1634/stemcells.2008-0115]
- 41 Taura K, Miura K, Iwaisako K, Osterreicher CH, Kodama Y, Penz-Osterreicher M, Brenner DA. Hepatocytes do not undergo epithelial-mesenchymal transition in liver fibrosis in mice. *Hepatology* 2010; 51: 1027-1036 [PMID: 20052656 DOI: 10.1002/hep.23368]
- 42 Scholten D, Osterreicher CH, Scholten A, Iwaisako K, Gu G, Brenner DA, Kisseleva T. Genetic labeling does not detect epithelial-to-mesenchymal transition of cholangiocytes in liver fibrosis in mice. *Gastroenterology* 2010; 139: 987-998 [PMID: 20546735 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.05.005]
- 43 Chu AS, Diaz R, Hui JJ, Yanger K, Zong Y, Alpini G, Stanger BZ, Wells RG. Lineage tracing demonstrates no evidence of cholangiocyte epithelial-to-mesenchymal transition in murine models of hepatic fibrosis. *Hepatology* 2011; 53: 1685-1695 [PMID: 21520179 DOI: 10.1002/hep.24206]
- 44 Troeger JS, Mederacke I, Gwak GY, Dapito DH, Mu X, Hsu CC, Pradere JP, Friedman RA, Schwabe RF. Deactivation of hepatic stellate cells during liver fibrosis resolution in mice. *Gastroenterology* 2012; 143: 1073-1083.e22 [PMID: 22750464 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.06.036]
- 45 Michelotti GA, Xie G, Swiderska M, Choi SS, Karaca G, Krüger L, Premont R, Yang L, Syn WK, Metzger D, Diehl AM. Smoothed is a master regulator of adult liver repair. *J Clin Invest* 2013; 123: 2380-2394 [PMID: 23563311]
- 46 Swiderska-Syn M, Syn WK, Xie G, Krüger L, Machado MV, Karaca G, Michelotti GA, Choi SS, Premont RT, Diehl AM. Myofibroblastic cells function as progenitors to regenerate murine livers after partial hepatectomy. *Gut* 2014; 63: 1333-1344 [PMID: 24173292 DOI: 10.1136/gutjnl-2013-305962]
- 47 Guo W, Keckesova Z, Donaher JL, Shibue T, Tischler V, Reinhardt F, Itzkovitz S, Noske A, Zürcher-Härdi U, Bell G, Tam WL, Mani SA, van Oudenaarden A, Weinberg RA. Slug and Sox9 cooperatively determine the mammary stem cell state. *Cell* 2012; 148: 1015-1028 [PMID: 22385965 DOI: 10.1016/j.cell.2012.02.008]
- 48 Scheel C, Eaton EN, Li SH, Chaffer CL, Reinhardt F, Kah KJ, Bell G, Guo W, Rubin J, Richardson AL, Weinberg RA. Paracrine and autocrine signals induce and maintain mesenchymal and stem cell states in the breast. *Cell* 2011; 145: 926-940 [PMID: 21663795 DOI: 10.1016/j.cell.2011.04.029]
- 49 Feil S, Krauss J, Thunemann M, Feil R. Genetic inducible fate mapping in adult mice using tamoxifen-dependent Cre recombinases. *Methods Mol Biol* 2014; 1194: 113-139 [PMID: 25064100 DOI: 10.1007/978-1-4939-1215-56]
- 50 Romagnani P, Rinkevich Y, Dekel B. The use of lineage tracing to study kidney injury and regeneration. *Nat Rev Nephrol* 2015; 11: 420-431 [PMID: 25963592 DOI: 10.1038/nrneph.2015.67]

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



自噬在胆管癌中的相关研究进展

王胤达, 朱李璐, 陈钟

王胤达, 朱李璐, 陈钟, 南通大学附属医院肝胆外科 江苏省南通市 226001

王胤达, 硕士, 主要从事肝胆肿瘤的临床与基础研究。

江苏省“科教兴卫工程”医学领军人才和创新团队基金资助项目, No. LJ201134

作者贡献分布: 本文综述由王胤达与朱李璐完成; 文献查找及汇总由王胤达与朱李璐完成; 陈钟审校。

通讯作者: 陈钟, 教授, 主任医师, 226001, 江苏省南通市西寺路20号, 南通大学附属医院肝胆外科。chenz9806@163.com

收稿日期: 2015-05-25 修回日期: 2015-06-05

接受日期: 2015-06-15 在线出版日期: 2015-07-18

Autophagy in cholangiocarcinoma

Yin-Da Wang, Li-Rong Zhu, Zhong Chen

Yin-Da Wang, Li-Rong Zhu, Zhong Chen, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Supported by: Jiangsu Provincial Outstanding Medical Academic Leader and Innovation Team Program, No. LJ201134

Correspondence to: Zhong Chen, Professor, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Nantong University, 20 West Temple Road, Nantong 226001, Jiangsu Province, China. chenz9806@163.com

Received: 2015-05-25 Revised: 2015-06-05

Accepted: 2015-06-15 Published online: 2015-07-18

Abstract

Autophagy is a process through which cells utilize lysosomal hydrolases to degrade abnormal proteins and damaged organelles. This process allows cells to reuse degradation products and degrade harmful substances to maintain intracellular stability. Autophagy is normally maintained at a low level. Cells under unfavorable conditions activate autophagy to cope with unfavorable adverse factors. Autophagy participates in many physiological

and pathological processes, such as cell aging, bacterial invasion, neurodegenerative diseases, apoptosis and tumor development. Autophagy also plays important roles in tumorigenesis, tumor progression, metastasis, relapse, and drug resistance of a variety of tumors including cholangiocarcinoma. However, the detailed mechanisms remain unclear. Analysis of the mechanism and regulation of autophagy in the genesis and development of cholangiocarcinoma has important significance and application value. This review summarizes the advances in research of autophagy in cholangiocarcinoma.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Cholangiocarcinoma; Autophagy; Therapy

Wang YD, Zhu LR, Chen Z. Autophagy in cholangiocarcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(20): 3241-3246
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3241.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i20.3241>

摘要

自噬是细胞利用溶酶体降解细胞质异常蛋白质及受损细胞器等以重新利用胞内的降解物质、降解胞内有害物质的过程, 以维持细胞内环境稳定。正常情况下, 自噬维持在较低水平, 但当细胞处在不利因素条件下时, 自身自噬也会被激活应对不利因素。自噬参与许多生理和病理过程, 如细胞老化、细菌入侵、神经退行性疾病、细胞凋亡以及肿瘤的发生发展。自噬与包括胆管癌在内的多种肿瘤的发生、发展、转移、复发、耐药等方面有着重要作用, 但自噬在这些方面的详细机制仍不清楚。探讨分析自噬在胆管癌

■背景资料

介于胆管癌的生物学特性, 目前除了手术, 放化疗效果都不如人意, 尤其其中晚期胆管癌患者的疗效及预后很差, 尽管不少新的治疗方案被证实有效, 但其总体预后仍无明显改善。自噬可以维持内环境稳定并参与许多生理和病理过程。自噬在胆管癌中的角色很复杂, 不同时期作用不尽相同。因此, 如何调控自噬治疗胆管癌是将是目前研究的一个热点。

■同行评议者

韩天权, 教授, 上海交通大学医学院附属瑞金医院外科, 上海消化外科研究所

■ 研发前沿

近年来, 人们研究发现自噬参与包括肿瘤的发生发展和肿瘤耐药在内的许多生理和病理过程, 而其具体机制和具体作用十分复杂, 如何通过调控自噬作用并应用于相关疾病的治疗值得深入研究。

中的发生、发展中的作用机制和调控途径, 具有重要的意义和应用价值. 本文对自噬在胆管癌中的研究进展进行综述。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胆管癌; 自噬; 治疗

核心提示: 胆管癌恶性程度高, 预后差, 且对放化疗均不敏感. 自噬在多种肿瘤中的作用研究已较多, 有望成为肿瘤辅助治疗的重要手段, 但在胆管癌中的研究仍十分有限. 本文对自噬在胆管癌中的研究进展进行综述。

王胤达, 朱李璐, 陈钟. 自噬在胆管癌中的相关研究进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(20): 3241-3246 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3241.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i20.3241>

0 引言

胆管癌是一类起源于胆管上皮细胞的恶性肿瘤, 约占所有胃肠道恶性肿瘤的3%, 其发病率正在世界范围内不断增加, 并且恶性程度高, 症状隐匿, 预后很差^[1]. 胆管癌根据其解剖部位可分为肝内胆管癌(intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC)、肝门部胆管癌和远端胆管癌^[2]. 目前, 手术仍然是治疗胆管癌的首选方式; 对于晚期胆管癌, 通常使用吉西他滨+顺铂的联合化疗方案^[1,3]. 然而胆管癌高度促结缔组织增生能力、丰富的肿瘤微环境及异质性决定了其对化疗药物的耐药性^[1]. 目前, 也没有针对胆管癌十分有效的靶向治疗方法^[4]. 近年来研究发现, 自噬与包括胆管癌在内的多种肿瘤的发生、发展密切相关, 并且自噬在肿瘤治疗、耐药中发挥着重要作用, 有望成为肿瘤辅助治疗的重要手段. 已经有一些报告关于在胆管癌中自噬的作用^[5-11]. 然而, 其作用目前尚未明确, 探讨分析自噬在胆管癌中的发生、发展中的作用机制和调控途径, 具有重要的意义和应用价值. 本文对自噬在胆管癌中的研究进展进行综述。

1 自噬及分型

细胞自噬(autophagy)是一种高度保守并且广泛存在于真核生物细胞中的过程^[12], 其主要功能为通过溶酶体降解系统, 对细胞内受损、变性或衰老的蛋白质及细胞器进行降解和再循

环利用, 避免大量有害物质蓄积对细胞造成伤害, 以维持正常细胞的内环境^[13-15]. 除了细胞的维护, 自噬参与许多生理和病理过程, 如细胞老化, 细菌入侵, 神经退行性疾病, 细胞凋亡以及肿瘤的发生发展^[13,16].

自噬分为巨自噬、微自噬和分子伴侣介导的自噬(chaperone-mediated autophagy, CMA)3种类型^[17]. (1)巨自噬: 即通常所说的自噬, 是细胞质中可溶性蛋白及受损细胞器等被非溶酶体来源的双层膜结构所包裹形成自噬体, 再被运送至溶酶体与之融合形成自噬溶酶体并降解其内成分; (2)微自噬: 降解物直接被自身溶酶体膜包裹形成一个内在的囊泡并降解; (3)CMA: 仅存在于哺乳动物细胞中, 是指分子伴侣蛋白识别并与要被降解的可溶性蛋白质结合形成复合物转运入溶酶体进行降解。

2 自噬与肿瘤

随着自噬的深入研究, 人们发现自噬活性的调节与mTOR(mammalian target of rapamycin)信号途径、RAS-RAF-1-MEKERK1/2信号转导通路、磷酸肌醇-3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/Akt(PKB)途径、内质网压力应激反应及死亡相关蛋白激酶(the death-associated protein kinase, DAPK)等信号通路有关^[18-20], 而这些通路及蛋白应激反应也与肿瘤形成密切相关. 这充分表明了肿瘤的形成、发展、浸润转移和耐药中, 自噬扮演了十分重要的角色. 一方面, 肿瘤细胞通过自噬以适应各种存活压力, 如癌基因、缺氧、内质网应激、肿瘤微环境、药物作用等; 另一方面自噬过度激活也会引起细胞发生程序性死亡, 不同于凋亡, 这种死亡方式被称为II型程序性细胞死亡^[21,22].

2.1 自噬对肿瘤发生的双重作用 自噬在肿瘤形成的早期起着抑制的作用, 而在肿瘤形成之后, 又转变为促进肿瘤的生长, 特别是在实体肿瘤中, 肿瘤细胞大量快速增长, 大量增生的肿瘤细胞会导致营养和生长因子缺乏以及氧气供应减少, 尤其是在肿瘤自身血管网还未建立完善之前, 特别是肿瘤组织的中央区域, 而自噬可为肿瘤细胞提供必要的生长所需物质^[12-15]. 因此, 自噬既可以抑制肿瘤的形成, 也可以保护肿瘤细胞免遭各种有害因素的损伤^[23,24]. 自噬的这种双面作用必须根据具体的肿瘤具体情况而言。

2.1.1 自噬可保护肿瘤: 肿瘤细胞具有代谢快以及对营养和能量的需求高等特点, 从肿瘤初发时期自身血管网还未建立完善, 到肿瘤不断快速增殖致使新生血管供不应求, 再到肿瘤细胞脱离原发灶游走等都会出现营养不足或供应中断, 而肿瘤得以度过这一危机的最大原因是其高自噬活性^[12-15]。此外, 当进行化放疗时, 大量肿瘤细胞发生坏死或凋亡, 而受损的细胞也会受药物及射线的影响, 产生大量的受损细胞器和蛋白质等有害物质, 这时, 高自噬活性可使肿瘤细胞及时清除这些有害物质以避免触发程序性死亡通路, 同时还能提供应急代谢物质和能量, 为受损细胞器和DNA的修复提供物质条件并争取一定时间, 从而使处于凋亡性细胞死亡的肿瘤细胞得以存活^[12-15]。“失巢凋亡”是细胞与胞外基质或者毗邻细胞脱离接触而诱发的特殊细胞程序性死亡, 然而肿瘤细胞能够克服这种程序性死亡, 使其在血管缺失的情况下得以继续存活, 其中自噬发挥了关键性的作用^[25,26]。活性氧(reactive oxygen species, ROS)系统通过各种途径激活自噬, 其中包括自噬相关基因(autophagy-related gene, *ATG*)4的直接修饰, 高迁移率族蛋白B1(human high-mobility group box-1, HMGB1)表达增加, 同时胞外释放量也增加。而当自噬过程被ROS激活后, 自噬可通过降解受损的线粒体和氧化蛋白, 反而减轻ROS引起的损伤, 从而起到对肿瘤细胞的保护性作用^[27]。所以, 在晚期肿瘤化疗过程中, 抑制肿瘤细胞自噬对其治疗有着重要意义。

2.1.2 自噬可抑制肿瘤发生: 自噬作用虽然可以缓解细胞的代谢压力, 并且保持细胞活性, 可以认为, 自噬作用是肿瘤细胞的生存机制。然而自噬在肿瘤发生初期可以抑制肿瘤细胞恶性转化。在乳腺癌和卵巢癌患者中都发现Beclin1(*BECN1*)基因拷贝丢失, 提示自噬抑制肿瘤发生。*BECN1*是酵母ATG6蛋白的哺乳类同源体。而Yue等^[28]的研究发现*BECN1*基因敲除的杂合小鼠多种肿瘤发生率都明显上升。而Mizushima等^[29]建立了ATG5敲除的小鼠模型, 这种杂合小鼠更易被诱导发生肝癌, 并且敲低ATG7在肝脏中的表达后可以诱发肝脏良性肿瘤。Inami等^[30]研究也得到相似的结果。Degenhardt等^[31]研究进一步证实了自噬抑制肿瘤的机制, 他们发现在自噬和凋亡缺失的细胞中, 肿瘤发生率更高; 坏死和炎症可以形成促

进肿瘤生长的微环境, 而研究表明自噬降低容易导致不稳定基因组和非整倍体的形成, 从而促使肿瘤发生。另外, 抑制自噬可使p62蛋白表达增加, 进而下调细胞核因子 κ B(nuclear factor kappa B, NF- κ B), 使ROS增加, 从而使DNA损伤增加^[32]。p62能与泛素化蛋白结合并将目标蛋白输送至自噬溶酶体进行降解。此外, p62蛋白还能与Keap1结合, 下调核因子E2相关因子2(nuclear factor erythroid-2-related factor 2, NRF2), 从而促进肿瘤发生, 但其具体机制目前仍不清楚^[33,34]。总之, 自噬通路下游分子p62过表达导致NRF2蛋白持续激活对肿瘤的发生有着十分重要的作用^[30]。

2.2 自噬在肿瘤治疗中的作用 目前临床有些药物如广泛应用于M3型急性非淋巴细胞白血病的三氧化二砷(As_2O_3)被证明可能是通过自噬作用抑制肿瘤增殖。Goussetis等^[35,36]研究表明 As_2O_3 主要是通过激活自噬作用, 从而诱导白血病细胞自噬性细胞死亡; 而抑制自噬均可阻止 As_2O_3 诱导的细胞死亡。然而在肿瘤化疗过程中, 大量肿瘤细胞的死亡促进其发生自噬以度过危机, 进而使一部分肿瘤细胞得以存活^[21,37]。Ajabnoor等^[38]研究发现, 紫杉类药物可诱导细胞凋亡因子的缺失从而造成肿瘤细胞凋亡作用减弱, 同时自噬水平得到增强, 说明自噬过程是肿瘤耐药的原因之一。Huang等^[39,40]进一步阐述了自噬促进耐药的机制, 研究显示HMGB1通过与BECN1结合干扰BECN1-PI3KC3复合物的形成从而促进自噬发生, 造成骨肉瘤耐药的发生。而近期研究^[41,42]发现顺铂、奥沙利铂以及5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-Fu)等化疗药物各自都可以诱导胃癌细胞保护性自噬, 而化疗药物联合自噬抑制剂氯喹应用, 可以提高胃癌细胞凋亡率。同样抑制自噬, 对肿瘤化放疗的增敏作用也在神经胶质瘤^[43-45]、结肠癌^[46-48]、乳腺癌^[49-51]等肿瘤的相关研究中得到证实。上述研究表明在辅助治疗过程中抑制自噬的发生, 可以起到增敏作用, 提高辅助治疗的疗效, 可能是一种新的肿瘤治疗方式。然而由于肿瘤细胞的组织类型和所受的刺激类型不同, 故当同一化疗药物或放疗作用于不同肿瘤细胞、化放疗作用于同一肿瘤细胞, 以及同一肿瘤不同时期时, 自噬的作用可能都不同^[52]。因此, 自噬在肿瘤治疗中的作用仍需进一步研究。

■ 相关报道

Hong等研究发现抑制自噬可以增加胆管癌细胞对5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil)化疗的敏感性。

■应用要点

通过研究不同方法调控不同时期胆管癌中自噬的水平, 可能成为胆管癌的治疗一种新策略。

3 自噬与胆管癌

虽然自噬在许多肿瘤中的作用及机制研究较多, 但其在胆管癌中的研究目前仍十分有限。

3.1 自噬在胆管癌中作用 在同一肿瘤的不同时期, 自噬的作用也不相同, 胆管癌也一样。Sasaki等^[11]研究发现在肝内胆管结石伴多发胆管上皮癌变早期阶段, 自噬作用是显著增加的; 如果这一阶段下调自噬水平, 则可能导致胆管上皮癌变早期阶段进一步向胆管癌发展。上述研究表明, 在胆管癌发生初期, 自噬水平的增加可能是机体对肿瘤发生后的一个反应; 机体通过增加自噬水平, 促进早期肿瘤细胞程序性死亡, 从而起到抑制肿瘤进一步发展的作用。Dong等^[5]研究发现自噬基因*BECN1*在78%的ICC患者标本表达, *BECN1*低表达患者无病生存率和总生存率均比高表达患者要低, 其可能成为ICC的新型预后标志物; 60.9%的患者原发肿瘤中*BECN1*呈高表达而转移灶中则呈低表达, 30.4%的患者原发肿瘤和转移灶中均呈低表达, 只有8.7%的患者表现为原发肿瘤中低表达而转移灶中高表达, 说明*BECN1*蛋白的表达ICC与侵袭和转移相关。而Wang等^[6]在对*BECN1*表达与肝内胆管细胞癌和肝外胆管癌(extrahepatic cholangiocarcinoma, ECC)临床病理及预后的影响的研究中进一步证实了这一结果。Nitta等^[7]对自噬相关蛋白Ambra1的研究中发现, Ambra1表达增加, 胆管癌细胞的侵袭活性显著升高, 抑制自噬则能降低其侵袭性; 同时发现抑制自噬还能显著降低转化生长因子(transforming growth factor, TGF)- β 1诱导的细胞侵袭; 此外Ambra1与Snail[上皮间质转化(epithelial mesenchymal transition, EMT)的主要转录因子]的表达呈正相关, 进一步证明了自噬可能参与EMT相关的胆管癌细胞侵袭。而Thongchot等^[8]研究发现, 低氧诱导的自噬能提高胆管癌细胞的迁移能力, 并且提示其预后不佳。结合以上所有相关研究, 我们可以得出这样一个结论: 在肿瘤发生初期, 机体通过增加自噬作用来抑制肿瘤的进一步演化; 而在肿瘤形成后, 肿瘤细胞则能通过调控自身的自噬水平来应对外界各种压力以保持部分肿瘤细胞得以存活。然而上述对自噬在胆管癌中作用和机制研究仍处于较浅层的方面, 仍需更深入的研究。

3.2 抑制自噬对胆管癌化疗的增敏作用 众所周

知, 目前仍无针对胆管癌的有效化放疗方案, 虽然吉西他滨+顺铂的联合化疗方案被证明能够一定程度上提高患者的存活期^[1,3], 但其总体效果仍十分有限。目前, 已经有很多报道提示调控自噬可以增加肿瘤对放化疗的敏感性, 同样情况也适用于胆管癌。近期, Hou等^[9]研究发现, 使用自噬抑制剂或敲除*BECN1*基因可以抑制肿瘤的生长, 同时能增加ICC细胞对化疗药物的敏感性, 从而进一步诱导肿瘤细胞的死亡。而最近Hong等^[10]的研究发现辣椒素(capsaicin)可以抑制5-Fu诱导的胆管癌细胞自噬, 并且增加了化疗敏感性。这些研究给胆管癌的辅助治疗带来了新的希望, 有望改善目前化疗方案的疗效以及提供新的靶向治疗方向。但是, 目前相关的研究很少, 且多停留在针对晚期或术后胆管癌患者方面, 通过抑制自噬对化疗增敏; 而针对早期肿瘤发生方面调控自噬的研究更少, 故各方面仍需更要进一步研究。

4 结论

自噬在肿瘤细胞中的作用虽与正常细胞相似, 但肿瘤细胞在发生发展或干预过程中面临着自身或外界的压力较大, 并且在不同肿瘤或同一肿瘤的不同时期, 或在肿瘤的治疗期间, 自噬的作用都不尽相同。因而要根据各个肿瘤的特异性来认识利用自噬, 这同样适用于胆管癌。然而目前, 自噬在胆管癌中的研究十分有限, 其具体机制和作用仍然需要进一步研究。虽然已有抑制自噬可增加胆管癌化疗敏感性的报道, 但在治疗过程中到底应该促进自噬的发生进而提高对肿瘤产生杀伤性作用, 还是抑制自噬以增加化疗药物的敏感性, 还是两者可以兼得, 仍需进一步的临床研究。总之, 随着对胆管癌中自噬的研究深入, 相信调控自噬这一方式将给胆管癌的治疗带来新的希望。

5 参考文献

- 1 Razumilava N, Gores GJ. Cholangiocarcinoma. *Lancet* 2014; 383: 2168-2179 [PMID: 24581682 DOI: 10.1016/s0140-6736(13)61903-0]
- 2 Ghouri YA, Mian I, Blechacz B. Cancer review: Cholangiocarcinoma. *J Carcinog* 2015; 14: 1 [PMID: 25788866 DOI: 10.4103/1477-3163.151940]
- 3 Razumilava N, Gores GJ. Classification, diagnosis, and management of cholangiocarcinoma. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013; 11: 13-21.e1; quiz e3-e4 [PMID: 22982100 DOI: 10.1016/j.cgh.2012.09.009]
- 4 Huang Y, Li X, Zhao Y. Progression of targeted therapy in advanced cholangiocarcinoma. *Chin J Cancer Res* 2015; 27: 122-127 [PMID: 25937773 DOI: 10.1016/j.ccr.2015.03.001]

- 10.3978/j.issn.1000-9604.2015.04.01]
- 5 Dong LW, Hou YJ, Tan YX, Tang L, Pan YF, Wang M, Wang HY. Prognostic significance of Beclin 1 in intrahepatic cholangiocellular carcinoma. *Autophagy* 2011; 7: 1222-1229 [PMID: 21654208 DOI: 10.4161/auto.7.10.16610]
 - 6 Wang TT, Cao QH, Chen MY, Xia Q, Fan XJ, Ma XK, Lin Q, Jia CC, Dong M, Ruan DY, Lin ZX, Wen JY, Wei L, Li X, Chen ZH, Wang L, Wu XY, Wan XB. Beclin 1 deficiency correlated with lymph node metastasis, predicts a distinct outcome in intrahepatic and extrahepatic cholangiocarcinoma. *PLoS One* 2013; 8: e80317 [PMID: 24303007 DOI: 10.1371/journal.pone.0080317]
 - 7 Nitta T, Sato Y, Ren XS, Harada K, Sasaki M, Hirano S, Nakanuma Y. Autophagy may promote carcinoma cell invasion and correlate with poor prognosis in cholangiocarcinoma. *Int J Clin Exp Pathol* 2014; 7: 4913-4921 [PMID: 25197362]
 - 8 Thongchot S, Yongvanit P, Loilome W, Seubwai W, Phunichom K, Tassaneeyakul W, Pairojkl C, Promkottra W, Techasen A, Namwat N. High expression of HIF-1 α , BNIP3 and PI3KC3: hypoxia-induced autophagy predicts cholangiocarcinoma survival and metastasis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014; 15: 5873-5878 [PMID: 25081716]
 - 9 Hou YJ, Dong LW, Tan YX, Yang GZ, Pan YF, Li Z, Tang L, Wang M, Wang Q, Wang HY. Inhibition of active autophagy induces apoptosis and increases chemosensitivity in cholangiocarcinoma. *Lab Invest* 2011; 91: 1146-1157 [PMID: 21647092 DOI: 10.1038/labinvest.2011.97]
 - 10 Hong ZF, Zhao WX, Yin ZY, Xie CR, Xu YP, Chi XQ, Zhang S, Wang XM. Capsaicin enhances the drug sensitivity of cholangiocarcinoma through the inhibition of chemotherapeutic-induced autophagy. *PLoS One* 2015; 10: e0121538 [PMID: 25933112 DOI: 10.1371/journal.pone.0121538]
 - 11 Sasaki M, Nitta T, Sato Y, Nakanuma Y. Autophagy may occur at an early stage of cholangiocarcinogenesis via biliary intraepithelial neoplasia. *Hum Pathol* 2015; 46: 202-209 [PMID: 25466963 DOI: 10.1016/j.humpath.2014.09.016]
 - 12 Kuma A, Hatano M, Matsui M, Yamamoto A, Nakaya H, Yoshimori T, Ohsumi Y, Tokuhisa T, Mizushima N. The role of autophagy during the early neonatal starvation period. *Nature* 2004; 432: 1032-1036 [PMID: 15525940 DOI: 10.1038/nature03029]
 - 13 Mizushima N, Komatsu M. Autophagy: renovation of cells and tissues. *Cell* 2011; 147: 728-741 [PMID: 22078875 DOI: 10.1016/j.cell.2011.10.026]
 - 14 He C, Klionsky DJ. Regulation mechanisms and signaling pathways of autophagy. *Annu Rev Genet* 2009; 43: 67-93 [PMID: 19653858 DOI: 10.1146/annurev-genet-102808-114910]
 - 15 Hara T, Nakamura K, Matsui M, Yamamoto A, Nakahara Y, Suzuki-Migishima R, Yokoyama M, Mishima K, Saito I, Okano H, Mizushima N. Suppression of basal autophagy in neural cells causes neurodegenerative disease in mice. *Nature* 2006; 441: 885-889 [PMID: 16625204 DOI: 10.1038/nature04724]
 - 16 Li X, Xu HL, Liu YX, An N, Zhao S, Bao JK. Autophagy modulation as a target for anticancer drug discovery. *Acta Pharmacol Sin* 2013; 34: 612-624 [PMID: 23564085 DOI: 10.1038/aps.2013.23]
 - 17 Yoshimori T. Autophagy: a regulated bulk degradation process inside cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 313: 453-458 [PMID: 14684184]
 - 18 Poornima P, Weng CF, Padma VV. Neferine from *Nelumbo nucifera* induces autophagy through the inhibition of PI3K/Akt/mTOR pathway and ROS hyper generation in A549 cells. *Food Chem* 2013; 141: 3598-3605 [PMID: 23993526 DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.05.138]
 - 19 Wang RC, Wei Y, An Z, Zou Z, Xiao G, Bhagat G, White M, Reichelt J, Levine B. Akt-mediated regulation of autophagy and tumorigenesis through Beclin 1 phosphorylation. *Science* 2012; 338: 956-959 [PMID: 23112296 DOI: 10.1126/science.1225967]
 - 20 Zhou S, Zhao L, Kuang M, Zhang B, Liang Z, Yi T, Wei Y, Zhao X. Autophagy in tumorigenesis and cancer therapy: Dr. Jekyll or Mr. Hyde? *Cancer Lett* 2012; 323: 115-127 [PMID: 22542808 DOI: 10.1016/j.canlet.2012.02.017]
 - 21 Mizushima N, Levine B, Cuervo AM, Klionsky DJ. Autophagy fights disease through cellular self-digestion. *Nature* 2008; 451: 1069-1075 [PMID: 18305538 DOI: 10.1038/nature06639]
 - 22 Levine B, Yuan J. Autophagy in cell death: an innocent convict? *J Clin Invest* 2005; 115: 2679-2688 [PMID: 16200202 DOI: 10.1172/jci26390]
 - 23 Chen S, Rehman SK, Zhang W, Wen A, Yao L, Zhang J. Autophagy is a therapeutic target in anticancer drug resistance. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1806: 220-229 [PMID: 20637264 DOI: 10.1016/j.bbcan.2010.07.003]
 - 24 Chen N, Debnath J. Autophagy and tumorigenesis. *FEBS Lett* 2010; 584: 1427-1435 [PMID: 20035753 DOI: 10.1016/j.febslet.2009.12.034]
 - 25 Kenific CM, Thorburn A, Debnath J. Autophagy and metastasis: another double-edged sword. *Curr Opin Cell Biol* 2010; 22: 241-245 [PMID: 19945838 DOI: 10.1016/j.ceb.2009.10.008]
 - 26 Horbinski C, Mojesky C, Kyprianou N. Live free or die: tales of homeless (cells) in cancer. *Am J Pathol* 2010; 177: 1044-1052 [PMID: 20639456 DOI: 10.2353/ajpath.2010.091270]
 - 27 Scherz-Shouval R, Elazar Z. Regulation of autophagy by ROS: physiology and pathology. *Trends Biochem Sci* 2011; 36: 30-38 [PMID: 20728362 DOI: 10.1016/j.tibs.2010.07.007]
 - 28 Yue Z, Jin S, Yang C, Levine AJ, Heintz N. Beclin 1, an autophagy gene essential for early embryonic development, is a haploinsufficient tumor suppressor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 15077-15082 [PMID: 14657337 DOI: 10.1073/pnas.2436255100]
 - 29 Mizushima N, Yoshimori T, Levine B. Methods in mammalian autophagy research. *Cell* 2010; 140: 313-326 [PMID: 20144757 DOI: 10.1016/j.cell.2010.01.028]
 - 30 Inami Y, Waguri S, Sakamoto A, Kouno T, Nakada K, Hino O, Watanabe S, Ando J, Iwadate M, Yamamoto M, Lee MS, Tanaka K, Komatsu M. Persistent activation of Nrf2 through p62 in hepatocellular carcinoma cells. *J Cell Biol* 2011; 193: 275-284 [PMID: 21482715 DOI: 10.1083/jcb.201102031]
 - 31 Degenhardt K, Mathew R, Beaudoin B, Bray K, Anderson D, Chen G, Mukherjee C, Shi Y, G  linas

■名词解释

细胞自噬(auto-phagy): 一种高度保守且广泛存在于真核生物细胞中的过程, 主要利用溶酶体降解细胞质中异常蛋白质及受损细胞器等, 同时重新利用胞内的降解物质、降解胞内有害物质, 以维持细胞内环境稳定, 并参与许多生理和病理过程。

同行评价

自噬对肿瘤的作用尚不完全清楚, 有促进作用和抑制作用, 以及对肿瘤的治疗也有一定影响, 而自噬在胆管癌中研究较少, 因此, 有较积极的研究意义。

- C, Fan Y, Nelson DA, Jin S, White E. Autophagy promotes tumor cell survival and restricts necrosis, inflammation, and tumorigenesis. *Cancer Cell* 2006; 10: 51-64 [PMID: 16843265 DOI: 10.1016/j.ccr.2006.06.001]
- 32 Liu L, McKeenhan WL, Wang F, Xie R. MAP1S enhances autophagy to suppress tumorigenesis. *Autophagy* 2012; 8: 278-280 [PMID: 22301994 DOI: 10.4161/auto.8.2.18939]
- 33 Kwon J, Han E, Bui CB, Shin W, Lee J, Lee S, Choi YB, Lee AH, Lee KH, Park C, Obin MS, Park SK, Seo YJ, Oh GT, Lee HW, Shin J. Assurance of mitochondrial integrity and mammalian longevity by the p62-Keap1-Nrf2-Nqo1 cascade. *EMBO Rep* 2012; 13: 150-156 [PMID: 22222206 DOI: 10.1038/embor.2011.246]
- 34 Stępkowski TM, Kruszkowski MK. Molecular cross-talk between the NRF2/KEAP1 signaling pathway, autophagy, and apoptosis. *Free Radic Biol Med* 2011; 50: 1186-1195 [PMID: 21295136 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.01.033]
- 35 Goussetis DJ, Altman JK, Glaser H, McNeer JL, Tallman MS, Platanias LC. Autophagy is a critical mechanism for the induction of the antileukemic effects of arsenic trioxide. *J Biol Chem* 2010; 285: 29989-29997 [PMID: 20656687 DOI: 10.1074/jbc.M109.090530]
- 36 Goussetis DJ, Gounaris E, Wu EJ, Vakana E, Sharma B, Bogoy M, Altman JK, Platanias LC. Autophagic degradation of the BCR-ABL oncoprotein and generation of antileukemic responses by arsenic trioxide. *Blood* 2012; 120: 3555-3562 [PMID: 22898604 DOI: 10.1182/blood-2012-01-402578]
- 37 Liang C, Feng P, Ku B, Dotan I, Canaani D, Oh BH, Jung JU. Autophagic and tumour suppressor activity of a novel Beclin1-binding protein UVRAG. *Nat Cell Biol* 2006; 8: 688-699 [PMID: 16799551 DOI: 10.1038/ncb1426]
- 38 Ajabnoor GM, Crook T, Coley HM. Paclitaxel resistance is associated with switch from apoptotic to autophagic cell death in MCF-7 breast cancer cells. *Cell Death Dis* 2012; 3: e260 [PMID: 22278287 DOI: 10.1038/cddis.2011.139]
- 39 Huang J, Ni J, Liu K, Yu Y, Xie M, Kang R, Vernon P, Cao L, Tang D. HMGB1 promotes drug resistance in osteosarcoma. *Cancer Res* 2012; 72: 230-238 [PMID: 22102692 DOI: 10.1158/0008-5472.can-11-2001]
- 40 Huang J, Liu K, Yu Y, Xie M, Kang R, Vernon P, Cao L, Tang D, Ni J. Targeting HMGB1-mediated autophagy as a novel therapeutic strategy for osteosarcoma. *Autophagy* 2012; 8: 275-277 [PMID: 22301993 DOI: 10.4161/auto.8.2.18940]
- 41 Zhang HQ, He B, Fang N, Lu S, Liao YQ, Wan YY. Autophagy inhibition sensitizes cisplatin cytotoxicity in human gastric cancer cell line SGC7901. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14: 4685-4688 [PMID: 24083726]
- 42 Xu L, Qu XJ, Liu YP, Xu YY, Liu J, Hou KZ, Zhang Y. Protective autophagy antagonizes oxaliplatin-induced apoptosis in gastric cancer cells. *Chin J Cancer* 2011; 30: 490-496 [PMID: 21718595 DOI: 10.5732/cjc.010.10518]
- 43 Ito H, Daido S, Kanzawa T, Kondo S, Kondo Y. Radiation-induced autophagy is associated with LC3 and its inhibition sensitizes malignant glioma cells. *Int J Oncol* 2005; 26: 1401-1410 [PMID: 15809734 DOI: 10.3892/ijo.26.5.1401]
- 44 Lomonaco SL, Finniss S, Xiang C, Decarvalho A, Umansky F, Kalkanis SN, Mikkelsen T, Brodie C. The induction of autophagy by gamma-radiation contributes to the radioresistance of glioma stem cells. *Int J Cancer* 2009; 125: 717-722 [PMID: 19431142 DOI: 10.1002/ijc.24402]
- 45 Shingu T, Fujiwara K, Böglér O, Akiyama Y, Moritake K, Shinojima N, Tamada Y, Yokoyama T, Kondo S. Stage-specific effect of inhibition of autophagy on chemotherapy-induced cytotoxicity. *Autophagy* 2009; 5: 537-539 [PMID: 19270491 DOI: 10.4161/auto.5.4.8164]
- 46 Carew JS, Medina EC, Esquivel JA, Mahalingam D, Swords R, Kelly K, Zhang H, Huang P, Mita AC, Mita MM, Giles FJ, Nawrocki ST. Autophagy inhibition enhances vorinostat-induced apoptosis via ubiquitinated protein accumulation. *J Cell Mol Med* 2010; 14: 2448-2459 [PMID: 19583815 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2009.00832.x]
- 47 Apel A, Herr I, Schwarz H, Rodemann HP, Mayer A. Blocked autophagy sensitizes resistant carcinoma cells to radiation therapy. *Cancer Res* 2008; 68: 1485-1494 [PMID: 18316613 DOI: 10.1158/0008-5472.can-07-0562]
- 48 Selvakumaran M, Amaravadi RK, Vasilevskaya IA, O'Dwyer PJ. Autophagy inhibition sensitizes colon cancer cells to antiangiogenic and cytotoxic therapy. *Clin Cancer Res* 2013; 19: 2995-3007 [PMID: 23461901 DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-12-1542]
- 49 Abedin MJ, Wang D, McDonnell MA, Lehmann U, Kelekar A. Autophagy delays apoptotic death in breast cancer cells following DNA damage. *Cell Death Differ* 2007; 14: 500-510 [PMID: 16990848 DOI: 10.1038/sj.cdd.4402039]
- 50 Vazquez-Martin A, Oliveras-Ferraro C, Menendez JA. Autophagy facilitates the development of breast cancer resistance to the anti-HER2 monoclonal antibody trastuzumab. *PLoS One* 2009; 4: e6251 [PMID: 19606230 DOI: 10.1371/journal.pone.0006251]
- 51 Lv S, Wang X, Zhang N, Sun M, Qi W, Li Y, Yang Q. Autophagy facilitates the development of resistance to the tumor necrosis factor superfamily member TRAIL in breast cancer. *Int J Oncol* 2015; 46: 1286-1294 [PMID: 25572822 DOI: 10.3892/ijo.2014.2812]
- 52 Wang Y, Singh R, Massey AC, Kane SS, Kaushik S, Grant T, Xiang Y, Cuervo AM, Czaja MJ. Loss of macroautophagy promotes or prevents fibroblast apoptosis depending on the death stimulus. *J Biol Chem* 2008; 283: 4766-4777 [PMID: 18073215 DOI: 10.1074/jbc.M706666200]

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



饥饿素对于消化系统疾病的诊断及治疗价值

陈鹏, 吕农华

陈鹏, 吕农华, 南昌大学第一附属医院消化内科 江西省南昌市 330006

陈鹏, 在读研究生, 主要从事消化系统疾病研究。

国家临床重点专科建设基金资助项目, No. 卫办医政函(2011)872号

作者贡献分布: 本文综述由陈鹏完成; 吕农华审校。

通讯作者: 吕农华, 教授, 主任医师, 330006, 江西省南昌市东湖区永外正街17号, 南昌大学第一附属医院消化内科。
luonghua@163.com

电话: 0791-88694817

收稿日期: 2015-05-15 修回日期: 2015-06-11

接受日期: 2015-06-19 在线出版日期: 2015-07-18

Diagnostic and therapeutic value of Ghrelin in digestive diseases

Peng Chen, Nong-Hua Lv

Peng Chen, Nong-Hua Lv, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Supported by: National Key Clinical Discipline Construction Fund, No. (2011)872

Correspondence to: Nong-Hua Lv, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, 17 Yongwaizheng Street, Donghu District, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. luonghua@163.com

Received: 2015-05-15 Revised: 2015-06-11

Accepted: 2015-06-19 Published online: 2015-07-18

Abstract

Ghrelin is a 28 amino-acid multi-functional peptide hormone, which was identified as a natural ligand of growth hormone secretagogue receptor (GHS-R). Ghrelin has been found in the stomach, intestine, pancreas and liver. In recent years, the application value of Ghrelin in digestive system diseases has attracted wide attention, especially in the protection of liver damage, assessment of the

severity of pancreatitis, and evaluation of the activity and prognosis of peptic ulcer, gastritis and inflammatory bowel disease, and the occurrence and progression of gastrointestinal cancer. In this paper, we review the recent advance in understanding the role of Ghrelin in digestive diseases.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Ghrelin; Digestive diseases; Diagnosis; Therapy

Chen P, Lv NH. Diagnostic and therapeutic value of Ghrelin in digestive diseases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(20): 3247-3253 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3247.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i20.3247>

摘要

饥饿素(Ghrelin)是一种生长激素促分泌物受体的内源性配体, 由28个氨基酸残基组成的。Ghrelin在胃、肠道、胰腺、肝脏等器官中都有表达, 近年来Ghrelin在消化系统疾病中的应用价值得到重视, 特别是在肝功能损害的保护、评估胰腺炎的严重程度、胃炎及消化性溃疡的预后评价、炎症性肠病的活动性评判、消化系肿瘤发生发展中的作用等方面。本文通过归纳总结国内外相关文献, 就Ghrelin在消化系统疾病的诊断及治疗效果判断中的作用做一总结, 现综述如下。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 饥饿素; 消化系统疾病; 诊断; 治疗

核心提示: 饥饿素(Ghrelin)是一种生长激素促

背景资料

Ghrelin作为一种有生物活性的物质, 其在消化系统疾病的诊断、病情监测、指导治疗等方面可能具有重要的作用。然而对于Ghrelin的作用机制研究还处于初步探索阶段, 很有必要将近年来Ghrelin在消化系统疾病的研究进展进行一定程度的归纳总结。

同行评议者

蓝宇, 教授, 北京积水潭医院消化科

■ 研究前沿

本文归纳总结了近年来Ghrelin作为一种诊断指标及治疗效果判定其在肝脏疾病、胰腺疾病、胃肠道疾病及消化系统肿瘤等消化系统疾病的研究进展。

分泌物受体的内源性配体, 其在胃、肠道、胰腺、肝脏等器官中都有表达, 其在消化系统疾病中的应用价值得到重视, 特别是在肝功能损害的保护、评估胰腺炎的严重程度、胃炎及消化性溃疡的预后评价、炎症性肠病的活动性评判、消化系统肿瘤发生发展中的作用等方面, 但是Ghrelin这些作用仍处在初步探讨阶段, 其应用前景有待于进一步观察。

陈鹏, 吕农华. 饥饿素对于消化系统疾病的诊断及治疗价值. 世界华人消化杂志 2015; 23(20): 3247-3253 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3247.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i20.3247>

0 引言

饥饿素(Ghrelin)是1999年由日本科学家Kojima等^[1]首次发现的一种生长激素促分泌受体(growth hormone secretagogue receptor, GHS-R)的内源性配体, 是一个由28个氨基酸残基组成的脑-肠肽, 主要是由胃底的X/A样内分泌细胞分泌, 也在肠道、胰腺、肾脏、性腺、胎盘、心脏、肺、乳腺、唾液腺、肾上腺等组织中表达。Ghrelin在与其受体结合后可产生广泛的生物学作用, 其对消化系统的功能^[2]包括: (1)调节胃肠激素分泌及胃肠活动; (2)调节蛋白质及脂肪摄入; (3)调节能量代谢; (4)调节免疫应答及炎症反应等。研究^[3]发现Ghrelin作为一种新发现的促生长激素释放多肽, 以其独特的分子结构与生物学功能, 在机体重要的生理活动与代谢平衡中发挥着不可或缺的作用。Ghrelin的失衡可能与肝脏疾病、胰腺炎、胃肠道疾病及消化系统肿瘤等密切相关, 有广阔的应用前景。

1 Ghrelin与肝脏疾病

近年来非酒精性脂肪肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的发病率在全球范围内呈增多趋势, 其病因非常复杂, 已经成为威胁人类健康的第二大肝病, 可经历“二次打击”从单纯非酒精性脂肪肝到脂肪性肝炎、肝硬化甚至肝癌的演变^[4,5]。Ghrelin作为一种新发现的内源性促生长激素释放肽, 不仅能促进生长激素释放、增加食欲, 对改善胰岛素抵抗, 抑制炎症反应、抗肝纤维化和肿瘤等可能有促进作用, 具有巨大的临床研究价值和应用前景。有研究认为Ghrelin-Ghrelin酰基转移酶系统(Ghrelin-Ghrelin acyltransferase system,

GOAT)在肝脏脂肪变性及非酒精性脂肪肝的进展中起到关键作用^[6]。Estep等^[7]的临床对照研究发现NAFLD组患者较非NAFLD患者去酰基化Ghrelin水平明显升高(2.58 pg/mL vs 1.24 pg/mL, $P<0.02$), NAFLD患者中纤维化分期 ≥ 2 的患者血液Ghrelin水平近乎2倍于纤维化分期 <2 的患者(8.73 pg/mL vs 4.22 pg/mL, $P<0.04$)提示Ghrelin在NAFLD的发病机制中起到关键作用, 其与NAFLD及纤维化关系密切。Machado等^[8]的一项临床对照研究发现非酒精性脂肪肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)组患者与非NASH组患者之间Ghrelin差异没有统计学意义。Ghrelin与体质指数($r = -0.28$, $P = 0.012$)及腰围($r = -0.24$, $P = 0.039$)负相关, 没有性别及年龄差异, 血液Ghrelin水平与患者血脂水平及脂肪变性的严重程度无明显关系, 提示Ghrelin的失衡可能促进了非酒精性脂肪肝病的病情进展。Li等^[9]的一项动物实验发现在给予Ghrelin治疗后NAFLD组的小鼠与非NAFLD组相比脂类代谢明显加强, Ghrelin治疗在不干扰PCR和ELISA基因的基础表达的情况下, 明显减少他们mRNA及蛋白水平($P<0.01$), 提示Ghrelin可能成为NAFLD的潜在治疗方法。然而Gutierrez-Grobo等^[10]的一项横向临床研究发现血液Ghrelin水平的升高对于NAFLD患者的脂肪变性具有一定的抑制作用。

Ghrelin在慢性肝病(chronic liver disease, CLD)及肝损伤中的作用亦不能忽视, Elkabbany等^[11]在儿童和青少年中开展的一项关于Ghrelin对慢性肝病患者营养情况评估的临床对照研究发现慢性肝病患者组血液Ghrelin水平高于对照组, 血液Ghrelin浓度与体质指数标准差评分(body mass index standard deviation score, BMISDS)($r = -0.95$, $P<0.001$)、肱三头肌皮褶厚度(triceps skinfold thickness, TSFT)($r = -0.88$, $P<0.001$)及肩胛下皮褶厚度(subscapular skinfold thickness, SSFT)($r = 0.83$, $P<0.001$)负相关^[12]。高血液Ghrelin浓度可能提示机体存在克服慢性肝病导致营养不良的代偿机制, 提示血液Ghrelin水平可以作为早期检测及评估儿童慢性肝病导致营养不良的严重程度的血液学参数。Tacke等^[13]的一项临床对照研究发现与健康对照组[平均210 pmol/L(138-319 pmol/L)]相比慢性肝病组[平均230 pmol/L(94-719 pmol/L)]患者血液

Ghrelin水平明显升高($P = 0.041$), 血液甲胎蛋白(alphafetoprotein, AFP)水平与血液Ghrelin水平负相关. Kabil等^[14]的动物实验发现长期服用Ghrelin可以对硫代乙酰胺诱导的肝损伤起到一定程度的保护作用, 为Ghrelin治疗慢性肝损伤及肝纤维化提供了新的思路. Golestan Jahromi等^[15]的动物实验亦发现Ghrelin对乙酰氨基酚引起的肝损伤有保护作用.

病毒性肝炎是肝硬化及肝癌的主要病因之一, 而营养失衡导致的疾病恶化及预后不良又是肝硬化及肝癌患者面临的共同问题, Ghrelin可以刺激生长激素的分泌, 从而导致体质质量增加, 食物摄入量增加, 减少脂肪的利用, Ataseven等^[16]的临床对照研究发现血液Ghrelin水平在乙型肝炎和/或丁型肝炎引起的肝硬化及肝癌患者组较对照组明显升高($P < 0.05$), 结合Murata等^[17]的研究提示Ghrelin可能在肝硬化及肝癌诊断及治疗上中具有一定的价值.

2 Ghrelin与胰腺炎

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是临床上相对比较常见的急危重病之一, 具有起病急、发展快、预后不良且并发症多等特点, 其中重型者占20%左右, 可出现多器官功能衰竭等严重的全身并发症, 病死率高达15%-56%^[18]. Ghrelin除了具有强大的刺激生长激素(growth hormone, GH)释放的作用外, 还能抑制炎症因子的产生和释放、抗氧化等作用, 并且在保护胰腺组织及评估胰腺炎的严重程度可能具有一定的价值^[19,20]. Lee等^[21]的临床对照研究发现入院时SAP高风险组的胰腺炎患者较低风险组患者血液Ghrelin浓度明显升高($286.39 \text{ pg/mL} \pm 272.19 \text{ pg/mL}$ vs $175.96 \text{ pg/mL} \pm 138.87 \text{ pg/mL}$, $P = 0.049$), 但是两组患者血液Ghrelin水平在入院后48 h($P = 0.450$)及出院时($P = 0.678$)无明显差异, 还发现胰腺炎患者在出院时血液Ghrelin浓度较入院时明显升高($240.65 \text{ pg/mL} \pm 247.96 \text{ pg/mL}$ vs $369.41 \text{ pg/mL} \pm 254.27 \text{ pg/mL}$, $P = 0.001$), 提示SAP高风险的患者具有高血液浓度的Ghrelin, 血液Ghrelin水平的增加与胰腺的愈合过程密切相关^[22]. Panek等^[23]的临床对照研究发现随着治疗的不断进展, 胆源性胰腺炎患者的血液Ghrelin浓度不断升高($P = 0.0133$), 提示胆源性胰腺炎患者血液Ghrelin的不断升高可以作为治疗过程及

病情恢复的一种参照物. Bukowczan等^[24]的一项对于缺血-再灌注导致胰腺炎的动物实验中发现经过Ghrelin治疗后的第5-14天, 老鼠组织血流明显恢复, 差异具有统计学意义, 提示Ghrelin对缺血-再灌注导致的胰腺炎具有保护作用, 其所涉及的机制可能是多因素介导的抗炎及抗氧化机制. Dembiński等^[25,26]的动物研究亦发现经Ghrelin治疗后, 小鼠的胰腺炎可在一定程度上得到缓解.

然后Ülger等^[27]的一项临床对照研究发现轻症胆源性胰腺炎患者血液Ghrelin的水平在入院时($2.37 \text{ ng/mL} \pm 0.63 \text{ ng/mL}$)较出院时($3.39 \text{ ng/mL} \pm 1.99 \text{ ng/mL}$)明显降低($P < 0.05$); 重症胆源性胰腺炎患者血液Ghrelin的水平在入院时($2.49 \text{ ng/mL} \pm 1.60 \text{ ng/mL}$)较出院时($2.60 \text{ ng/mL} \pm 2.11 \text{ ng/mL}$)明显降低, 但差异无统计学意义($P > 0.05$), Ghrelin水平变化只在轻症胆源性胰腺炎具有一定的评估价值, 在重症胆源性胰腺炎没有明显差异. 对Ghrelin在胰腺炎病情严重程度评估中的价值提出质疑. Türkoğlu等^[28]的一项前瞻性队列研究发现血液Ghrelin水平在轻症胰腺炎($6.97 \text{ ng/mL} \pm 0.84 \text{ ng/mL}$)及重症胰腺炎($6.74 \text{ ng/mL} \pm 0.65 \text{ ng/mL}$)之间没有明显区别, 差异无统计学意义($P = 0.1923$). 提示Ghrelin对于胰腺炎严重程度没有预测作用.

胰腺癌是目前已知的恶性度最高的肿瘤之一, 预后极差^[29], Ghrelin在胰腺癌中的作用已有一定研究, Duxbury等^[30]的研究发现Ghrelin可以通过依赖Akt的机制增加胰腺癌细胞的能动性、扩散性及侵袭性, 提示胰腺癌可能是一种Ghrelin-应答的恶性肿瘤, 然而Karaca等^[31]却发现血液Ghrelin高于基线水平的癌症患者比低于基线水平的患者存活时间更长($P = 0.001$), 所以Ghrelin在胰腺癌中的价值还有待进一步展开大样本研究加以剖析.

3 Ghrelin与胃疾病

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染可能会导致胃炎, 增加消化性溃疡及胃癌的风险^[32], Ghrelin可由人体多种组织产生, 但胃是循环中Ghrelin的主要来源, 多项研究^[33,34]发现*H. pylori*感染的患者较非*H. pylori*患者Ghrelin mRNA表达明显下降, 而Ghrelin mRNA表达的抑制可能会导致胃体的腺体萎缩及胃体慢

■ 相关报道

既往文献多报道Ghrelin在单一消化系统疾病中的价值, 比如非酒精性脂肪肝、胰腺炎、胃肠疾病及消化系统肿瘤等, 本文重点就是将上述研究成果加以总结归纳.

■创新盘点

本文为一综述性报道, 重点介绍Ghrelin在肝功能损害的保护、评估胰腺炎的严重程度、胃炎及消化性溃疡的预后评价、IBD的活动性评判、消化系统肿瘤发生发展中的作用。暂未发现Ghrelin在消化系统疾病应用方面的综述性文章。

性炎症。Isomoto等^[35]的临床研究发现*H. pylori*阳性患者血液Ghrelin水平较*H. pylori*阴性患者明显降低($99 \text{ fmol/mL} \pm 44 \text{ fmol/mL}$ vs $175 \text{ fmol/mL} \pm 119 \text{ fmol/mL}$, $P < 0.001$)。Jang等^[36]的临床研究发现在*H. pylori*根除前后患者血液Ghrelin出现明显升高($30.12 \text{ pg/mL} \pm 10.23 \text{ pg/mL}$ vs $40.75 \text{ pg/mL} \pm 41.93 \text{ pg/mL}$)。在溃疡合并*H. pylori*感染者血液Ghrelin的水平明显下降($P = 0.01$)。而溃疡愈合及*H. pylori*根除后Ghrelin mRNA表达及血液Ghrelin的水平都出现升高($P = 0.000$)。提示Ghrelin在溃疡合并*H. pylori*感染患者的治疗及预后起着重要的作用。

Rau等^[37]的研究发现在正常胃黏膜约有20%的嗜铬粒蛋白阳性神经内分泌细胞表达Ghrelin, 而在自身免疫性胃炎患者中约有一半的神经内分泌细胞表达Ghrelin, 说明Ghrelin可能成为自身免疫性胃炎重要的血液学标志物。Campana等^[38]的临床对照研究发现慢性萎缩性胃炎患者组血液Ghrelin较健康对照组明显升高($82.8 \text{ pmol/L} \pm 61.3 \text{ pmol/L}$ vs $35.1 \text{ pmol/L} \pm 17.1 \text{ pmol/L}$)。提示Ghrelin在慢性萎缩性胃炎具有重要的评估价值。然而Kawashima等^[39]的研究发现重度慢性萎缩性胃炎患者的酰基化Ghrelin水平明显低于轻度及中度慢性萎缩性胃炎患者($7.6 \text{ fmol/mL} \pm 0.6 \text{ fmol/mL}$ vs $16.4 \text{ fmol/mL} \pm 1.5 \text{ fmol/mL}$, $P < 0.01$; $7.6 \text{ fmol/mL} \pm 0.6 \text{ fmol/mL}$ vs $13.3 \text{ fmol/mL} \pm 1.2 \text{ fmol/mL}$, $P < 0.01$)。

Legakis等^[40]的临床对照研究发现癌症患者较健康对照组相比Ghrelin明显降低, 差异具有统计学意义($P < 0.001$)。Tian等^[41]的研究发现血液Ghrelin浓度在 1 nmol/L 至 10 nmol/L 之间时可以促进胃癌的AGS细胞的增殖, 而在 100 nmol/L 的水平时没有增殖效应, 在Ghrelin位于 10 nmol/L 时可以通过ERK1/2和PI3K/Akt的磷酸化来刺激胃癌AGS细胞的增殖, 在表明Ghrelin可以通过激活ERK1/2和PI3K/Akt路径刺激胃癌细胞的增殖。

4 Ghrelin与肠道疾病

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种病因尚不完全清楚的慢性非特异性肠道炎症性疾病, 包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD)^[42]。Deboer等^[43]的动物实验发现在IBD的动物模

型中Ghrelin显著增高, 给予外源性Ghrelin后, 小鼠的IBD可以得到一定程度的缓解, 可能与增加肠道血流、减少炎症及增加食欲等机制相关。Karmiris等^[44]的临床研究中CD患者组血液Ghrelin为 $48.2 \text{ pg/mL} \pm 4.2 \text{ pg/mL}$, UC组为 $49.4 \text{ pg/mL} \pm 4.6 \text{ pg/mL}$, 健康对照组为 $14.8 \text{ pg/mL} \pm 3.0 \text{ pg/mL}$, IBD组与健康对照组之间的差异具有统计学意义($P < 0.0001$)。表明血液Ghrelin可作为IBD的诊断的一项血液学指标。Alexandridis等^[45]的一项临床研究发现IBD患者血液Ghrelin在急性期($402.4 \text{ pg/mL} \pm 462.6 \text{ pg/mL}$)明显高于缓解期($148.2 \text{ pg/mL} \pm 59.6 \text{ pg/mL}$)($P = 0.0290$)。提示Ghrelin在IBD的病情进展中可能发挥着重要的作用。Hosomi等^[46]的临床研究发现活动期CD组患者Ghrelin的mRNA表达水平较健康对照组明显升高($P = 0.0269$)。缓解期CD组患者Ghrelin的mRNA表达水平较健康对照组亦明显升高($P = 0.0018$)。UC组Ghrelin水平与健康对照组相比也是明显升高(活动期 vs 对照组, $P = 0.0011$; 缓解期 vs 对照组, $P = 0.030$)。在健康对照组患者T细胞在Ghrelin影响下直接向Th-2细胞转化, 然而在CD患者失调的反应引起T细胞向Th-1细胞转化, 提示Ghrelin在CD的发病机制中起到一定作用。Koutroubakis等^[47]的临床研究还发现Ghrelin还可能在IBD患者的骨代谢中起到一定作用, 血液Ghrelin与脊柱骨密度具有一定联系($P = 0.039$)。

Ghrelin可能在癌症中的起到抑制蛋白酶体及诱导自噬的作用。Bonfili等^[48]的研究发现Ghrelin可以通过抑制泛素系统、激活自噬等诱导结直肠恶性肿瘤细胞的凋亡。Lawnicka等^[49]的研究发现Ghrelin参与结肠癌细胞的生长调节, 提示Ghrelin可能成为治疗结肠肿瘤的新方法。He等^[50]的研究发现Ghrelin可以阻遏经过5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-Fu)处理后的HT-29结肠癌细胞的凋亡, 其可能机制就是通过改变Bcl-2/Bax蛋白在癌细胞中的比例, 提示Ghrelin在结肠癌的预防及治疗中具有重要的意义。Wolf等^[51]的临床对照研究发现在癌症患者中Ghrelin血液浓度与BMI下降负相关($r = 0.5$, $P = 0.001$)。癌症引发恶病质患者组血液Ghrelin水平较非恶病质患者组明显升高($1969 \text{ pg/mL} \pm 673 \text{ pg/mL}$ vs $1447 \text{ pg/mL} \pm 462 \text{ pg/mL}$, $P = 0.01$)。同样提示Ghrelin在结肠癌的病情评估中

起着重要的作用。

5 结论

Ghrelin作为一种有生物活性的物质, 其在肝功能损害的保护、评估胰腺炎的严重程度、胃炎及消化性溃疡的预后评价、IBD的活动性评判、消化系肿瘤发生发展中的作用日益得到重视。但是Ghrelin在消化系统疾病的诊断、病情监测、指导治疗等方面的作用仍处在初步探讨阶段, 其应用前景有待于进一步观察, 尚需展开大样本的临床研究对Ghrelin是否可以作为消化系统疾病诊断及治疗效果判断的指标加以证实。

6 参考文献

- Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999; 402: 656-660 [PMID: 10604470]
- El-Salhy M. Ghrelin in gastrointestinal diseases and disorders: a possible role in the pathophysiology and clinical implications (review). *Int J Mol Med* 2009; 24: 727-732 [PMID: 19885611]
- Vasileiou I, Patsouras D, Patsouris E, Theocharis S. Ghrelin and toxicity: recent findings and future challenges. *J Appl Toxicol* 2013; 33: 238-245 [PMID: 22887052 DOI: 10.1002/jat.2803]
- Arguello G, Balboa E, Arrese M, Zanlungo S. Recent insights on the role of cholesterol in non-alcoholic fatty liver disease. *Biochim Biophys Acta* 2015; 1852: 1765-1778 [PMID: 26027904 DOI: 10.1016/j.bbdis.2015.05.015]
- Lückhoff HK, Kruger FC, Kotze MJ. Composite prognostic models across the non-alcoholic fatty liver disease spectrum: Clinical application in developing countries. *World J Hepatol* 2015; 7: 1192-1208 [PMID: 26019735 DOI: 10.4254/wjh.v7.i9.1192]
- Zhang SR, Fan XM. Ghrelin-ghrelin O-acyltransferase system in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 3214-3222 [PMID: 25805927 DOI: 10.3748/wjg.v21.i11.3214]
- Estep M, Abawi M, Jarrar M, Wang L, Stepanova M, Elariny H, Moazez A, Goodman Z, Chandhoke V, Baranova A, Younossi ZM. Association of obestatin, ghrelin, and inflammatory cytokines in obese patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Obes Surg* 2011; 21: 1750-1757 [PMID: 21744131 DOI: 10.1007/s11695-011-0475-1]
- Machado MV, Coutinho J, Carepa F, Costa A, Proença H, Cortez-Pinto H. How adiponectin, leptin, and ghrelin orchestrate together and correlate with the severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2012; 24: 1166-1172 [PMID: 22735605 DOI: 10.1097/MEG.0b013e32835609b0]
- Li Y, Hai J, Li L, Chen X, Peng H, Cao M, Zhang Q. Administration of ghrelin improves inflammation, oxidative stress, and apoptosis during and after non-alcoholic fatty liver disease development. *Endocrine* 2013; 43: 376-386 [PMID: 22843123 DOI: 10.1007/s12020-012-9761-5]
- Gutierrez-Grobe Y, Villalobos-Blasquez I, Sánchez-Lara K, Villa AR, Ponciano-Rodríguez G, Ramos MH, Chavez-Tapia NC, Uribe M, Méndez-Sánchez N. High ghrelin and obestatin levels and low risk of developing fatty liver. *Ann Hepatol* 2010; 9: 52-57 [PMID: 20308723]
- Elkabbany ZA, Hamza RT, Mahmoud NH. Assessment of serum acylated ghrelin in children and adolescents with chronic liver diseases: relation to nutritional status. *ScientificWorldJournal* 2014; 2014: 560516 [PMID: 25379540 DOI: 10.1155/2014/560516]
- Ates Y, Degertekin B, Erdil A, Yaman H, Dagalp K. Serum ghrelin levels in inflammatory bowel disease with relation to disease activity and nutritional status. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 2215-2221 [PMID: 18080768]
- Tacke F, Brabant G, Kruck E, Horn R, Schöffski P, Hecker H, Manns MP, Trautwein C. Ghrelin in chronic liver disease. *J Hepatol* 2003; 38: 447-454 [PMID: 12663236]
- Kabil NN, Seddiek HA, Yassin NA, Gamal-Eldin MM. Effect of ghrelin on chronic liver injury and fibrogenesis in male rats: possible role of nitric oxide. *Peptides* 2014; 52: 90-97 [PMID: 24333973 DOI: 10.1016/j.peptides.2013.11.022]
- Golestan Jahromi M, Nabavizadeh F, Vahedian J, Nahrevanian H, Dehpour AR, Zare-Mehrjardi A. Protective effect of ghrelin on acetaminophen-induced liver injury in rat. *Peptides* 2010; 31: 2114-2117 [PMID: 20727930 DOI: 10.1016/j.peptides.2010.08.009]
- Ataseven H, Bahcecioglu IH, Kuzu N, Yalniz M, Celebi S, Erensoy A, Ustundag B. The levels of ghrelin, leptin, TNF-alpha, and IL-6 in liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma due to HBV and HDV infection. *Mediators Inflamm* 2006; 2006: 78380 [PMID: 17047295]
- Murata M, Okimura Y, Iida K, Matsumoto M, Sowa H, Kaji H, Kojima M, Kangawa K, Chihara K. Ghrelin modulates the downstream molecules of insulin signaling in hepatoma cells. *J Biol Chem* 2002; 277: 5667-5674 [PMID: 11724768]
- Banks PA, Bollen TL, Dervenis C, Gooszen HG, Johnson CD, Sarr MG, Tsiotos GG, Vege SS. Classification of acute pancreatitis--2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus. *Gut* 2013; 62: 102-111 [PMID: 23100216 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-302779]
- Jaworek J, Konturek SJ. Hormonal protection in acute pancreatitis by ghrelin, leptin and melatonin. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 16902-16912 [PMID: 25493003 DOI: 10.3748/wjg.v20.i45.16902]
- Zhou X, Xue C. Ghrelin inhibits the development of acute pancreatitis and nuclear factor kappaB activation in pancreas and liver. *Pancreas* 2009; 38: 752-757 [PMID: 19506532 DOI: 10.1097/MPA.0b013e3181a86b74]
- Lee SH, Kim YD, Kong YH, Han KH, Jeong WJ, Lee SJ, Cheon GJ. The relevance of serum ghrelin concentration to severity of acute pancreatitis. *Gut Liver* 2010; 4: 234-240 [PMID: 20559527 DOI: 10.5009/gnl.2010.4.2.234]
- Liu B, Liu X, Tang C. Change of plasma ghrelin level in acute pancreatitis. *Pancreatolgy* 2006; 6: 531-535 [PMID: 17106216]

应用要点

本文总结了Ghrelin在消化系统疾病的应用价值, 显示Ghrelin可以作为临床医生在实际工作中的一项参考指标。

■同行评价

文章综述了Ghrelin在消化系统疾病如慢性肝病、急性胰腺炎、胃炎及炎性肠病等中变化及机制的探讨, Ghrelin作为一种有生物活性的物质, 其在消化系统疾病发生发展中的作用仍处在初步探讨阶段。综述给读者提供了解Ghrelin作用的载体, 具可读性。

- 23 Panek J, Bonior J, Pieton J, Jaworek J. Serum leptin and ghrelin levels in patients in the early stages of acute biliary pancreatitis and different degrees of severity. *Pol Przegl Chir* 2014; 86: 211-217 [PMID: 24988238 DOI: 10.2478/pjs-2014-0038]
- 24 Bukowczan J, Warzecha Z, Ceranowicz P, Kusnierz-Cabala B, Tomaszewska R, Dembinski A. Therapeutic effect of ghrelin in the course of ischemia/reperfusion-induced acute pancreatitis. *Curr Pharm Des* 2015; 21: 2284-2290 [PMID: 25594510]
- 25 Dembiński A, Warzecha Z, Ceranowicz P, Tomaszewska R, Stachura J, Konturek SJ, Konturek PC. Ghrelin attenuates the development of acute pancreatitis in rat. *J Physiol Pharmacol* 2003; 54: 561-573 [PMID: 14726611]
- 26 Dembiński A, Warzecha Z, Ceranowicz P, Cieszkowski J, Pawlik WW, Tomaszewska R, Kuśnierz-Cabala B, Naskalski JW, Kuwahara A, Kato I. Role of growth hormone and insulin-like growth factor-1 in the protective effect of ghrelin in ischemia/reperfusion-induced acute pancreatitis. *Growth Horm IGF Res* 2006; 16: 348-356 [PMID: 17084100]
- 27 Ülger BV, Gül M, Uslukaya Ö, Oğuz A, Bozdağ Z, Yüksel H, Böyük A. New hormones to predict the severity of gallstone-induced acute pancreatitis. *Turk J Gastroenterol* 2014; 25: 714-717 [PMID: 25599787 DOI: 10.5152/tjg.2014.6201]
- 28 Türkoglu A, Böyük A, Tanrıverdi MH, Gündüz E, Dusak A, Kaplan İ, Gümüş M. The potential role of BMI, plasma leptin, nesfatin-1 and ghrelin levels in the early detection of pancreatic necrosis and severe acute pancreatitis: a prospective cohort study. *Int J Surg* 2014; 12: 1310-1313 [PMID: 25448651 DOI: 10.1016/j.jisu.2014.10.040]
- 29 Zaheer A, Wadhwa V, Oh J, Fishman EK. Pearls and pitfalls of imaging metastatic disease from pancreatic adenocarcinoma: a systematic review. *Clin Imaging* 2015 May 7. [Epub ahead of print] [PMID: 25981735 DOI: 10.1016/j.clinimag.2015.04.017]
- 30 Duxbury MS, Waseem T, Ito H, Robinson MK, Zinner MJ, Ashley SW, Whang EE. Ghrelin promotes pancreatic adenocarcinoma cellular proliferation and invasiveness. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 309: 464-468 [PMID: 12951072]
- 31 Karaca F, Afsar CU, Gunaldi M, Erkurt E, Ercolak V, Sertdemir Y, Paydas S. Alterations of ghrelin with weights and correlation among ghrelin, cytokine and survival in patients receiving chemoradiotherapy for gastrointestinal cancers. *Int J Clin Exp Med* 2015; 8: 876-882 [PMID: 25785069]
- 32 Lee JY, Kim N. Diagnosis of *Helicobacter pylori* by invasive test: histology. *Ann Transl Med* 2015; 3: 10 [PMID: 25705642 DOI: 10.3978/j.issn.2305-5839.2014.11.03]
- 33 Tatsuguchi A, Miyake K, Gudis K, Futagami S, Tsukui T, Wada K, Kishida T, Fukuda Y, Sugisaki Y, Sakamoto C. Effect of *Helicobacter pylori* infection on ghrelin expression in human gastric mucosa. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 2121-2127 [PMID: 15554990]
- 34 Nweneka CV, Prentice AM. *Helicobacter pylori* infection and circulating ghrelin levels - a systematic review. *BMC Gastroenterol* 2011; 11: 7 [PMID: 21269467 DOI: 10.1186/1471-230X-11-7]
- 35 Isomoto H, Nakazato M, Ueno H, Date Y, Nishi Y, Mukae H, Mizuta Y, Ohtsuru A, Yamashita S, Kohno S. Low plasma ghrelin levels in patients with *Helicobacter pylori*-associated gastritis. *Am J Med* 2004; 117: 429-432 [PMID: 15380500]
- 36 Jang EJ, Park SW, Park JS, Park SJ, Hahm KB, Paik SY, Sin MK, Lee ES, Oh SW, Park CY, Baik HW. The influence of the eradication of *Helicobacter pylori* on gastric ghrelin, appetite, and body mass index in patients with peptic ulcer disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23 Suppl 2: S278-S285 [PMID: 19120912 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05415.x]
- 37 Rau TT, Sonst A, Rogler A, Burnat G, Neumann H, Oeckl K, Neuhuber W, Dimmler A, Faller G, Brzozowski T, Hartmann A, Konturek PC. Gastrin mediated down regulation of ghrelin and its pathophysiological role in atrophic gastritis. *J Physiol Pharmacol* 2013; 64: 719-725 [PMID: 24388886]
- 38 Campana D, Nori F, Pagotto U, De lasio R, Morselli-Labate AM, Pasquali R, Corinaldesi R, Tomassetti P. Plasma acylated ghrelin levels are higher in patients with chronic atrophic gastritis. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2007; 67: 761-766 [PMID: 17614968]
- 39 Kawashima J, Ohno S, Sakurada T, Takabayashi H, Kudo M, Ro S, Kato S, Yakabi K. Circulating acylated ghrelin level decreases in accordance with the extent of atrophic gastritis. *J Gastroenterol* 2009; 44: 1046-1054 [PMID: 19701601 DOI: 10.1007/s00535-009-0120-0]
- 40 Legakis I, Stathopoulos J, Matzouridis T, Stathopoulos GP. Decreased plasma ghrelin levels in patients with advanced cancer and weight loss in comparison to healthy individuals. *Anticancer Res* 2009; 29: 3949-3952 [PMID: 19846934]
- 41 Tian PY, Fan XM. The proliferative effects of ghrelin on human gastric cancer AGS cells. *J Dig Dis* 2012; 13: 453-458 [PMID: 22908970 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2012.00616.x]
- 42 Trindade IA, Ferreira C, Pinto-Gouveia J. Inflammatory bowel disease: The harmful mechanism of experiential avoidance for patients' quality of life. *J Health Psychol* 2015 Jun 4. [Epub ahead of print] [PMID: 26044718]
- 43 Deboer MD. Use of ghrelin as a treatment for inflammatory bowel disease: mechanistic considerations. *Int J Pept* 2011; 2011: 189242 [PMID: 21845198 DOI: 10.1155/2011/189242]
- 44 Karmiris K, Koutroubakis IE, Xidakis C, Polychronaki M, Voudouri T, Kouroumalis EA. Circulating levels of leptin, adiponectin, resistin, and ghrelin in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 100-105 [PMID: 16432373]
- 45 Alexandridis E, Zisimopoulos A, Liratzopoulos N, Katsos I, Manolas K, Kouklakis G. Obestatin/ghrelin ratio: a new activity index in inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 1557-1561 [PMID: 19408254 DOI: 10.1002/ibd.20940]
- 46 Hosomi S, Oshitani N, Kamata N, Sogawa M, Yamagami H, Watanabe K, Tominaga K, Watanabe T, Fujiwara Y, Maeda K, Hirakawa K, Arakawa T. Phenotypical and functional study of ghrelin and its receptor in the pathogenesis of Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 1205-1213 [PMID: 18425803 DOI: 10.1002/ibd.20477]
- 47 Koutroubakis IE, Zavos C, Damilakis J, Papadakis G, Neratzoulakis J, Karkavitsas N, Kouroumalis EA. Role of ghrelin and insulin-like growth

- factor binding protein-3 in the development of osteoporosis in inflammatory bowel disease. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45: e60-e65 [PMID: 20921904 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181f42543]
- 48 Bonfili L, Cuccioloni M, Cecarini V, Mozzicafreddo M, Palermo FA, Cocci P, Angeletti M, Eleuteri AM. Ghrelin induces apoptosis in colon adenocarcinoma cells via proteasome inhibition and autophagy induction. *Apoptosis* 2013; 18: 1188-1200 [PMID: 23632965 DOI: 10.1007/s10495-013-0856-0]
- 49 Lawnicka H, Melań-Mucha G, Motylewska E, Mucha S, Stępień H. Modulation of ghrelin axis influences the growth of colonic and prostatic cancer cells in vitro. *Pharmacol Rep* 2012; 64: 951-959 [PMID: 23087147]
- 50 He XT, Fan XM, Zha XL. Ghrelin inhibits 5-fluorouracil-induced apoptosis in colonic cancer cells. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 1169-1173 [PMID: 21375586 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06715.x]
- 51 Wolf I, Sadetzki S, Kanety H, Kundel Y, Pariente C, Epstein N, Oberman B, Catane R, Kaufman B, Shimon I. Adiponectin, ghrelin, and leptin in cancer cachexia in breast and colon cancer patients. *Cancer* 2006; 106: 966-973 [PMID: 16411208]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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29个省、市、自治区、特别行政区和美国的507位胃肠病学和肝病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。

胆盐输出泵在胆管癌大鼠胆管组织中的表达状况

张孟瑜, 王洁萍, 冯春红, 李波, 夏先明

■背景资料

胆管癌的发生发展过程非常复杂, 目前临床上一些手术及非手术治疗手段有限, 且效果并非十分理想。

张孟瑜, 冯春红, 李波, 夏先明, 泸州医学院附属医院肝胆外科 四川省泸州市 646000

王洁萍, 泸州医学院附属医院康复科 四川省泸州市 646000
张孟瑜, 主要从事肝胆胰疾病研究。

四川泸州医学院附属医院课题基金资助项目, No. 12284

作者贡献分布: 本课题由张孟瑜与夏先明设计; 研究过程与论文写作由张孟瑜与王洁萍完成; 数据分析由冯春红完成; 试剂由李波提供。

通讯作者: 夏先明, 教授, 646000, 四川省泸州市江阳区太平街25号, 泸州医学院附属医院肝胆外科, xxm6206@126.com
电话: 0830-3165903

收稿日期: 2015-04-25 修回日期: 2015-05-20

接受日期: 2015-06-01 在线出版日期: 2015-07-18

Bile salt export pump expression in bile duct tissues of rats with bile duct cancer

Meng-Yu Zhang, Jie-Ping Wang, Chun-Hong Feng, Bo Li, Xian-Ming Xia

Meng-Yu Zhang, Chun-Hong Feng, Bo Li, Xian-Ming Xia, Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Jie-Ping Wang, Department of Rehabilitation, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Supported by: Fund of the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College of Sichuan Province, No. 12284

Correspondence to: Xian-Ming Xia, Professor, Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, 25 Taiping Street, Jiangyang District, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. xxm6206@126.com

Received: 2015-04-25 Revised: 2015-05-20

Accepted: 2015-06-01 Published online: 2015-07-18

Abstract

AIM: To develop a rat model of bile duct cancer and detect bile salt export pump (Bsep) expression in bile duct tissues of this model, in order to provide a new method for the prevention

and treatment of bile duct cancer.

METHODS: Sixty Wistar rats were randomly divided into either a control group or an experimental group, with 30 rats in each group. The control group was fed an ordinary diet, and the experimental group was fed a 3'-Me-DAB diet. After 20 wk, the bile duct cancer model was successfully established. Bile duct tissues were taken from rats in both groups to detect the expression of Bsep by immunohistochemistry (streptavidin-peroxidase) and Western blot.

RESULTS: Both immunohistochemistry and Western blot analyses showed that the expression levels of Bsep were significantly higher in the control group than in the experiment group (66.21% vs 18.75%, $\chi^2 = 10.11$, $P < 0.05$; 0.886 ± 0.017 vs 0.297 ± 0.011 , $P < 0.05$).

CONCLUSION: The expression of Bsep protein decreases significantly in rats with bile duct cancer, which suggests that drugs targeting Bsep may be a new therapeutic strategy for bile duct cancer.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Bsep; Bile duct cancer

Zhang MY, Wang JP, Feng CH, Li B, Xia XM. Bile salt export pump expression in bile duct tissues of rats with bile duct cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(20): 3254-3258
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3254.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i20.3254>

摘要

目的: 本研究通过建立胆管癌大鼠模型, 以

■同行评议者

刘金钢, 教授, 博士生导师, 中国医科大学附属盛京医院外科

胆盐输出泵(bile salt export pump, Bsep)为研究对象, 初步探讨Bsep在胆管癌大鼠中的表达状况, 以期治疗胆管癌的找到新的手段和方法。

方法: 取♂ Wistar大鼠(体质量160 g±8 g)60只, 随机分为2组, 每组30只: 普通饮食对照组(简称对照组)予以普通饮食、3'-甲基-4,4'-二甲基氨基偶氮苯(3'-Me-DAB)饮食实验组(简称实验组)予以含3'-Me-DAB饮食。经过20 wk, 建立胆管癌大鼠模型, 取对照组和实验组胆管组织: (1)石蜡切片后用免疫组织化学SP(streptavidin-peroxidase)法检测两组模型胆管组织的Bsep表达的强度; (2)Western blot法检测两组模型胆管组织的Bsep蛋白表达的强度。

结果: 免疫组织化学SP法及Western blot法结果均显示, 对照组Bsep表达阳性率高于实验组(66.21% vs 18.75%, $\chi^2 = 10.11$, $P < 0.05$; 0.886 ± 0.017 vs 0.297 ± 0.011 , $P < 0.05$)。

结论: 实验组大鼠的Bsep基因的表达较对照组减少, 提示我们在胆管癌的治疗中, Bsep有成为新的治疗靶点的可能。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胆盐输出泵基因; 胆管癌

核心提示: 建立胆管癌大鼠模型, 以胆盐输出泵(bile salt export pump, Bsep)为研究对象, 初步探讨Bsep在胆管癌大鼠中的表达状况, 以期治疗胆管癌的找到新的手段和方法。

张孟瑜, 王洁萍, 冯春红, 李波, 夏先明. 胆盐输出泵在胆管癌大鼠胆管组织中的表达状况. 世界华人消化杂志 2015; 23(20): 3254-3258 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3254.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i20.3254>

0 引言

胆管癌是肝胆系统中常见的也是难治的恶性肿瘤之一, 研究资料显示, 其发病率在近年呈升高的趋势, 但目前各种治疗方法和手段想要达到良好的效果仍然存在较大的难度。现治疗胆管癌的方法是首选手术切除, 但手术有适应证和局限性, 首先手术切除率不高, 其次术后5年生存率也不高, 对合并严重心肺功能障碍, 肿瘤已发生浸润或转移者, 已失去了手术的条件, 但介入、放化疗等非手术治疗方法效果有

限。那么, 是否能寻求更为有效的方法呢? 而基因治疗是目前尚未广泛应用又极具前景的治疗方式, 所以, 我们尝试从相关基因入手, 胆盐输出泵(bile salt export pump, Bsep)基因与胆汁酸的排泄有关, 我们已进行实验证明其在肝胆系统部分疾病, 如高脂血症大鼠肝脏组织中表达增加, 那么他在肿瘤组织(胆管癌组织)中是否有表达呢? 目前尚无明确的研究, 因此, 本项目拟以Bsep为研究对象, 研究在胆管癌大鼠胆管细胞中Bsep基因表达的状况, 尝试为胆管癌治疗提供新的思路。

1 材料和方法

1.1 材料 健康成年♂ Wistar大鼠60只, 体质量160 g±8 g, 由泸州医学院动物实验中心提供。所使用试剂及仪器包括: Western blot试剂盒(购自大连宝生物TaKaRa工程有限公司); Bsep单克隆抗体(购自CHEMICON公司, 美国); 冰冻切片机、HFSafe生物安全柜、显微摄像系统(PM-10A)等。

1.2 方法

1.2.1 胆管癌大鼠模型制备: ♂ Wistar大鼠随机分为2组, 每组30只: 普通饮食对照组(简称对照组)予以普通饮食、3'-甲基-4,4'-二甲基氨基偶氮苯(3'-Me-DAB)饮食实验组(简称实验组)予以含3'-Me-DAB饮食。实验组饲以含3'-Me-DAB饮食, 连续20 wk后改为自由进食。对照组, 自由饮水及进食。每天观察动物的精神状态、饮食状况及皮毛的变化等一般情况。于实验第8、16、20 wk, 分别取出模型组动物各2、2、2只, 剖腹观察胆管情况, 记录胆管的形态质地等的变化, 20 wk后经病理检查证实胆管癌大鼠模型建立成功。

1.2.2 实验步骤: 取对照组和实验组胆管组织: (1)石蜡切片后用免疫组织化学SP法检测两组模型胆管组织的Bsep表达的强度; (2)Western blot法检测两组模型胆管及肝脏组织的Bsep蛋白表达的强度。Quantity One软件计算比较Western blot产物条带与β-actin条带的光密度的相对比值, 通过分析, 最终得出其在胆管组织中表达相对含量。

1.2.3 观察指标: Bsep在胆管癌大鼠胆管组织中表达情况。

统计学处理 采用SPSS19.0统计软件进行分析, 统计学方法测得数据用mean±SD表示,

■ 研发前沿

目前研究的热点和重点为新型的治疗胆管癌的方法和药物, 而基因治疗是目前尚未广泛应用又极具前景的治疗方式, 所以尝试从相关基因入手, 为胆管癌治疗提供新的思路。

■ 相关报道

有研究介绍了Bsep基因在胆结石豚鼠肝组织中的表达情况, 初步阐明Bsep基因在胆结石豚鼠肝组织中表达下调可能与结石形成有关。

创新亮点

本文从胆管癌相关基因*Bsep*入手, 初步发现了*Bsep*在胆管癌组织中的表达状况, 为胆管癌治疗找寻新的方法.

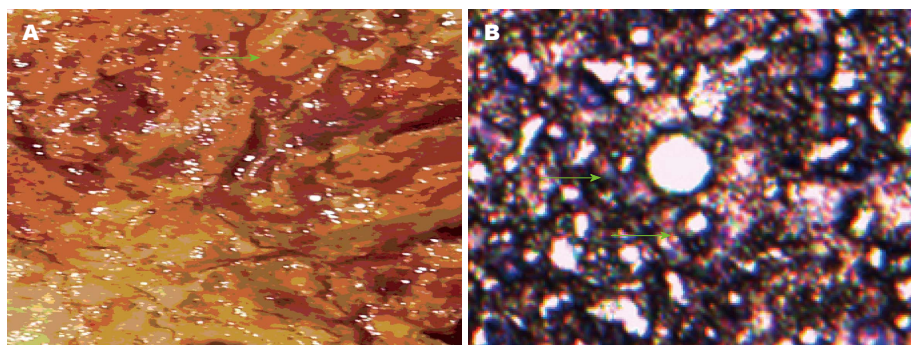


图 1 病理检查证实胆管癌大鼠模型建立. A: 胆管癌组织的切面观察情况, 在100倍物镜下, 见异形细胞成团增生($\times 100$); B: 胆管癌组织在200倍物镜下的观察情况, 在胆管周围可见发生核分裂的肿瘤细胞($\times 200$).

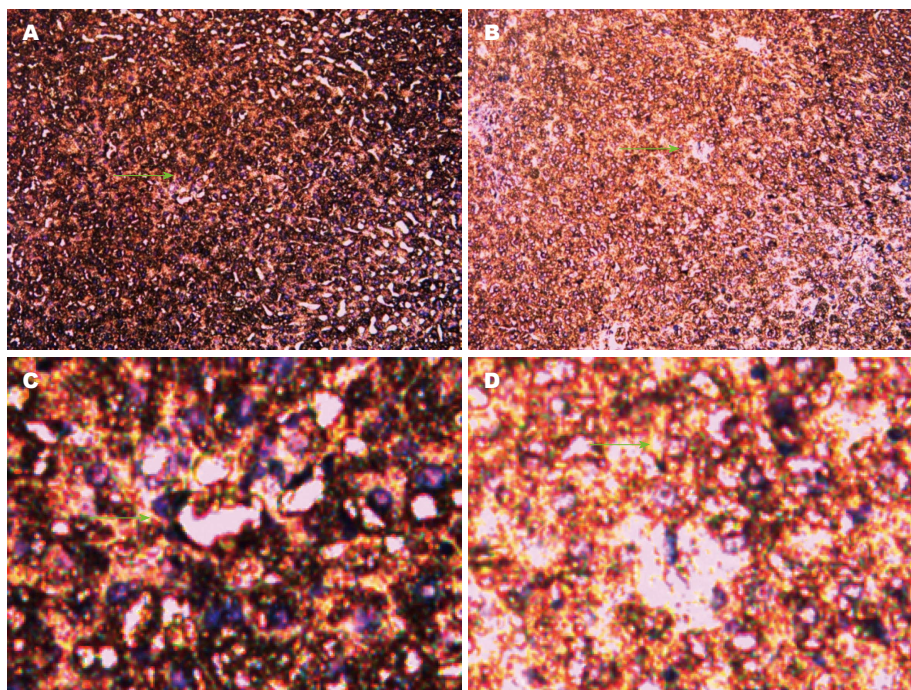


图 2 免疫组织化学SP法染色结果. A, C: *Bsep*基因实验组, *Bsep*基因在实验组中的阳性表达, 绿色箭头所指即为*Bsep*基因; B, D: *Bsep*基因对照组, *Bsep*基因在对照组中的阳性表达, 绿色箭头所指即为*Bsep*基因; A, B: $\times 100$; C, D: $\times 200$. *Bsep*: 胆盐输出泵.

判断组间差异采用*t*检验及 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 大鼠一般情况 实验组大鼠自第6周开始, 逐渐出现进食量下降, 部分体质量与对照组相比明显偏低, 喂食至20 wk后死亡3只. 对照组大鼠生长较好, 未出现死亡病例. 20 wk后经病理检查证实已建立胆管癌大鼠模型, 实验组大鼠胆管肿瘤组织主要集中在肝门部及部分右肝组织(图1).

2.2 免疫组织化学SP法染色结果 光学高倍(100倍及200倍)物镜下: 胆管组织中*Bsep*蛋白

出现黄色染色颗粒为阳性细胞(绿色箭头所指). 每张切片随机选取6个视野, 每个视野内观察80个细胞, 阳性细胞 $\geq 10\%$ 为阳性, 否则为阴性. χ^2 检验显示: 实验组*Bsep*蛋白表达阳性率为18.75%, 对照组*Bsep*蛋白表达阳性率为66.21%($\chi^2 = 10.11$, $P < 0.05$), 差异有统计学意义(图2).

2.3 Western blot法检测结果 我们发现, 在160 kDa处出现了*Bsep*蛋白表达, 利用Quantity One软件, 我们得到实验组*Bsep*蛋白表达较低(0.297 ± 0.011), 对照组*Bsep*蛋白表达较高(0.886 ± 0.017); *Bsep*蛋白在对照组和实验组中表达差异有统计学意义($P < 0.05$)(图3).

应用要点

通过初步发现*Bsep*在胆管癌大鼠胆管组织中的表达状况, 为进一步寻找作用于*Bsep*基因的药物打下基础, 从而改善胆管癌治疗的现状.

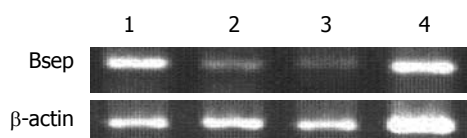


图3 Western blot法所显示Bsep蛋白表达结果. 1, 4: 对照组; 2, 3: 实验组. Bsep: 胆盐输出泵.

3 讨论

胆管癌是肝胆系统常见的恶性肿瘤之一, 目前胆管癌的病因及发病机制尚不完全清楚, 经研究认为其发病是各种因素综合作用的结果, 且所经历的过程较长, 各种影响状况和条件较多. 现阶段我们可以得知的是, 胆管结石、先天性胆管扩张、华支睾吸虫、原发性硬化性胆管炎等都可能与胆管癌发病相关, 但具体的步骤、过程和变化途径并不十分明确. 由于胆管癌综合产生的因素较多, 所以目前的治疗有各种困难存在. 就现阶段的治疗方法来讲, 早期的特别是中下段胆管癌可以行根治性的手术切除, 但一旦肿瘤发生周围组织浸润或远处转移, 在身体其他器官发现了肿瘤病灶, 那么手术则不能再作为首选的治疗手段, 而介入治疗、化疗、放疗等治疗方法效果有限, 即便是经过上述的治疗, 胆管癌的复发率、转移率也较高, 5年生存率并未取得理想的结果, 其治疗方法有待提高. 所以, 我们反复思考, 能不能找到一种行之有效的办法呢? 而就目前而言, 基因治疗是一种尚未广泛应用又极具前景的治疗方案, 可能对胆管癌的治疗产生革命性的变化, 而Bsep基因与胆汁酸排泄有关^[1-3], 如Bsep基因功能紊乱, 胆汁酸淤积形成胆管结石; 进而可能导致胆管细胞的恶变. 因此, Bsep基因进入了我们的思考范围并引导我们设计了上述的对比试验, 以期能发现一些与胆管癌相关的变化^[4-6].

我们已有实验证实法尼基衍生物X受体(farnesyl derivatives X receptor, FXR)在胆管癌大鼠肝脏中的表达减弱, 那么, 作为FXR的靶基因, Bsep在胆管癌大鼠胆管组织中是否出现了相似的变化, 继续引导我们深入研究和思考. Bsep属于ATP结合盒超家族蛋白(ATP binding cassette, ABC), 在人类中其基因位于第2条染色体长臂上2q24-31, 其编码的蛋白叫ABCB11蛋白, 也称Bsep, 其对胆汁酸盐的排泄、胆汁酸盐浓度的稳定和胆汁酸盐的肠肝循环等生

理功能具有重要作用^[7-9]. 胆汁酸的肝肠循环需要各种转运体的参与, 且他们之间需相互调节来完成, 首先肝细胞合成胆汁酸, 接下来胆汁酸经Bsep作用主动分泌后转运至胆道^[10-12], 而当胆汁酸进入肠道后, 重吸收过程则有所不同, 其中游离胆汁酸(石胆酸除外)在小肠和结肠通过扩散作用被动重吸收, 结合胆汁酸在回肠通过小肠刷状缘钠盐依赖的胆汁酸转运体(apical sodium-dependent bile acid transport, ASBT), 胆汁酸结合蛋白和基侧膜的终末腔面钠盐依赖的胆汁酸转运体(terminal apical sodium-dependent bile acid transporter, tASBT)依次作为介质, 最终重吸收入门静脉. 而如果胆汁排泄障碍, Bsep功能紊乱, 则可能出现胆汁淤积, 而由于胆汁淤积, 胆固醇沉积, 胆色素析出, 则可能形成结石^[13-15], 而胆管结石的存在, 正是我们目前了解的可能产生胆管癌的原因之一. 所以, Bsep基因的表达情况是我们所关注的重点.

我们在设计的试验中观察发现, 通过20 wk时间含3'-Me-DAB饮食的喂养成功建立胆管癌大鼠模型, 并且在试验中通过使用免疫组织化学, Western blot等方法进行检测, 从而证实胆管癌大鼠的胆管组织中Bsep基因出现了明显的变化, 表达降低显著, 较对照组有明显的减少, 说明胆管癌时胆汁酸的排泄开始紊乱, 出现了显而易见的困难^[16-18], 由此我们初步考虑如果胆汁酸增加, 则会伴随Bsep基因表达增强, 从而加快胆汁酸的排泄, 而胆管癌时则出现了胆汁酸的代谢障碍, 大量胆汁酸在肝内无法排出, 胆固醇和胆色素的沉积刺激胆管上皮细胞, 进一步可能导致胆管细胞出现恶变. 在目前所用治疗胆管癌的药物普遍存在不同种类的问题, 可能无法完全达到治疗目的、服用时间长、胃肠道反应大, 患者可持续接受性差等缺点, 上述情况阻碍了其作为临床治疗药物的广泛应用, 但目前尚无可直接作用于胆管癌相关基因又可在临床广泛应用的药物. 在此, Bsep基因表达变化的发现, 可能为基础研究和临床治疗胆管癌提供新的药物治疗靶点^[19,20], 找到一种新的治疗手段和方向.

■名词解释

胆盐输出泵(Bsep): 是位于肝细胞毛细胆管面上的重要转运体, 对胆汁酸盐的排泄、浓度稳定的维持和胆汁酸盐的肠肝循环等生理功能具有重要作用.

4 参考文献

- Pedersen JM, Matsson P, Bergström CA, Hoogstraate J, Norén A, LeCluyse EL, Artursson P. Early identification of clinically relevant drug interactions with the human bile salt export pump (BSEP/ABCB11). *Toxicol Sci* 2013; 136: 328-343

■同行评价

本文立意新颖, 课题设计合理, 数据分析方法正确, 具有一定的科研价值。

- 2 Oigimura E, Sekine S, Horie T. Bile salt export pump inhibitors are associated with bile acid-dependent drug-induced toxicity in sandwich-cultured hepatocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 416: 313-317 [PMID: 22108051 DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.11.032]
- 3 Guyot C, Hofstetter L, Stieger B. Differential effects of membrane cholesterol content on the transport activity of multidrug resistance-associated protein 2 (ABCC2) and of the bile salt export pump (ABCB11). *Mol Pharmacol* 2014; 85: 909-920 [PMID: 24711118 DOI: 10.1124/mol.114.092262]
- 4 Warner DJ, Chen H, Cantin LD, Kenna JG, Stahl S, Walker CL, Noeske T. Mitigating the inhibition of human bile salt export pump by drugs: opportunities provided by physicochemical property modulation, in silico modeling, and structural modification. *Drug Metab Dispos* 2012; 40: 2332-2341 [PMID: 22961681 DOI: 10.1124/dmd.112.047068]
- 5 Dawson S, Stahl S, Paul N, Barber J, Kenna JG. In vitro inhibition of the bile salt export pump correlates with risk of cholestatic drug-induced liver injury in humans. *Drug Metab Dispos* 2012; 40: 130-138 [PMID: 21965623 DOI: 10.1124/dmd.111.040758]
- 6 Saber S, Vazifehmand R, Bagherizadeh I, Kasiri M. A novel ABCB11 mutation in an Iranian girl with progressive familial intrahepatic cholestasis. *Indian J Hum Genet* 2013; 19: 366-368 [PMID: 24339557 DOI: 10.4103/0971-6866.120813]
- 7 Chen Y, Vasilenko A, Song X, Valanejad L, Verma R, You S, Yan B, Shiffka S, Hargreaves L, Nadolny C, Deng R. Estrogen and estrogen receptor- α -mediated transrepression of bile salt export pump. *Mol Endocrinol* 2015; 29: 613-626 [PMID: 25675114 DOI: 10.1210/me.2015-1014]
- 8 Stieger B. Role of the bile salt export pump, BSEP, in acquired forms of cholestasis. *Drug Metab Rev* 2010; 42: 437-445 [PMID: 20028269 DOI: 10.3109/03602530903492004]
- 9 Kis E, Ioja E, Rajnai Z, Jani M, Méhn D, Herédi-Szabó K, Krajcsi P. BSEP inhibition: in vitro screens to assess cholestatic potential of drugs. *Toxicol In Vitro* 2012; 26: 1294-1299 [PMID: 22120137 DOI: 10.1016/j.tiv.2011.11.002]
- 10 Ulzurrun E, Stephens C, Crespo E, Ruiz-Cabello F, Ruiz-Núñez J, Saenz-López P, Moreno-Herrera I, Robles-Díaz M, Hallal H, Moreno-Planas JM, Cabello MR, Lucena MI, Andrade RJ. Role of chemical structures and the 1331T>C bile salt export pump polymorphism in idiosyncratic drug-induced liver injury. *Liver Int* 2013; 33: 1378-1385 [PMID: 23701583 DOI: 10.1111/liv.12193]
- 11 Kubitz R, Dröge C, Kluge S, Stross C, Walter N, Keitel V, Häussinger D, Stindt J. Autoimmune BSEP disease: disease recurrence after liver transplantation for progressive familial intrahepatic cholestasis. *Clin Rev Allergy Immunol* 2015; 48: 273-284 [PMID: 25342496 DOI: 10.1007/s12016-014-8457-4]
- 12 Hrycay E, Forrest D, Liu L, Wang R, Tai J, Deo A, Ling V, Bandiera S. Hepatic bile acid metabolism and expression of cytochrome P450 and related enzymes are altered in Bsep (-/-) mice. *Mol Cell Biochem* 2014; 389: 119-132 [PMID: 24399466 DOI: 10.1007/s11010-013-1933-y]
- 13 Köck K, Ferslew BC, Netterberg I, Yang K, Urban TJ, Swaan PW, Stewart PW, Brouwer KL. Risk factors for development of cholestatic drug-induced liver injury: inhibition of hepatic basolateral bile acid transporters multidrug resistance-associated proteins 3 and 4. *Drug Metab Dispos* 2014; 42: 665-674 [PMID: 24154606 DOI: 10.1124/dmd.113.054304]
- 14 Kubitz R, Dröge C, Stindt J, Weissenberger K, Häussinger D. The bile salt export pump (BSEP) in health and disease. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2012; 36: 536-553 [PMID: 22795478 DOI: 10.1016/j.clinre.2012.06.006]
- 15 Stieger B. The role of the sodium-taurocholate cotransporting polypeptide (NTCP) and of the bile salt export pump (BSEP) in physiology and pathophysiology of bile formation. *Handb Exp Pharmacol* 2011; (201): 205-259 [PMID: 21103971 DOI: 10.1007/978-3-642-14541-4_5]
- 16 Rodrigues AD, Lai Y, Cvijic ME, Elkin LL, Zvyaga T, Soars MG. Drug-induced perturbations of the bile acid pool, cholestasis, and hepatotoxicity: mechanistic considerations beyond the direct inhibition of the bile salt export pump. *Drug Metab Dispos* 2014; 42: 566-574 [PMID: 24115749 DOI: 10.1124/dmd.113.054205]
- 17 Morgan RE, Trauner M, van Staden CJ, Lee PH, Ramachandran B, Eschenberg M, Afshari CA, Qualls CW, Lightfoot-Dunn R, Hamadeh HK. Interference with bile salt export pump function is a susceptibility factor for human liver injury in drug development. *Toxicol Sci* 2010; 118: 485-500 [PMID: 20829430 DOI: 10.1093/toxsci/kfq269]
- 18 Aleo MD, Luo Y, Swiss R, Bonin PD, Potter DM, Will Y. Human drug-induced liver injury severity is highly associated with dual inhibition of liver mitochondrial function and bile salt export pump. *Hepatology* 2014; 60: 1015-1022 [PMID: 24799086 DOI: 10.1002/hep.27206]
- 19 Garzel B, Yang H, Zhang L, Huang SM, Polli JE, Wang H. The role of bile salt export pump gene repression in drug-induced cholestatic liver toxicity. *Drug Metab Dispos* 2014; 42: 318-322 [PMID: 24335466 DOI: 10.1124/dmd.113.054189]
- 20 Treiber A, Äänismaa P, de Kanter R, Delahaye S, Treher M, Hess P, Sidharta P. Macitentan does not interfere with hepatic bile salt transport. *J Pharmacol Exp Ther* 2014; 350: 130-143 [PMID: 24769543 DOI: 10.1124/jpet.114.214106]

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



TUNEL染色结合细胞形态学特点鉴别急性胰腺炎时腺泡细胞的死亡方式

胡洋洋, 周春华, 窦文欢, 凤辉, 王少峰

胡洋洋, 周春华, 窦文欢, 凤辉, 王少峰, 苏州大学附属第二医院消化科 江苏省苏州市 215004

胡洋洋, 主要从事消化系统疾病的研究。

苏州市科技发展计划基金资助项目, No. SYS201471

作者贡献分布: 本课题由胡洋洋、周春华及王少峰设计; 研究过程由胡洋洋与窦文欢完成; 试剂由凤辉提供; 论文写作由胡洋洋与凤辉完成; 文章审阅及修改由王少峰完成。

通讯作者: 王少峰, 主任医师, 215004, 江苏省苏州市金阊区三香路1055号, 苏州大学附属第二医院消化科。

sfwang59@sina.cn

电话: 0512-67784806

收稿日期: 2015-04-24 修回日期: 2015-06-09

接受日期: 2015-06-19 在线出版日期: 2015-07-18

TUNEL staining combined with cell morphologic characteristics for identifying acinar cell death mode in rats with acute pancreatitis

Yang-Yang Hu, Chun-Hua Zhou, Wen-Huan Dou, Hui Feng, Shao-Feng Wang

Yang-Yang Hu, Chun-Hua Zhou, Wen-Huan Dou, Hui Feng, Shao-Feng Wang, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215004, Jiangsu Province, China

Supported by: Suzhou Science and Technology Development Project, No. SYS201471

Correspondence to: Shao-Feng Wang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Soochow University, 1055 Sanxiang Road, Jinchang District, Suzhou 215004, Jiangsu Province, China. sfwang59@sina.cn

Received: 2015-04-24 Revised: 2015-06-09

Accepted: 2015-06-19 Published online: 2015-07-18

Abstract

AIM: To detect acinar cell death in rats with acute pancreatitis (AP) by TdT-mediated dUTP nick labeling (TUNEL) staining and to study

the correlation between the morphology of TUNEL positive cells and their death modes.

METHODS: Acute necrotizing pancreatitis (ANP) was induced in rats by injection of 4% sodium taurocholate in the pancreaticobiliary duct, and the pathological changes in pancreatic tissue were observed. Pancreatic tissue sections were stained by TUNEL, and the morphological changes of TUNEL positive cells were evaluated under a light microscope.

RESULTS: Compared to the sham operated group, the pancreas of ANP rats exhibited typical pathological changes of AP, and had a large number of TUNEL positive acinar cells. The TUNEL positive cells showed various morphologic characteristics, which included the manifestations of both apoptosis and necrosis. The apoptotic morphology was characterized by nuclear condensation and karyorrhexis followed by the formation of apoptotic bodies, while necrotic cells demonstrated nuclear swelling, karyolysis and cytoplasmic vacuolization. There were significant differences between the morphologic characteristics of the two cell death modes.

CONCLUSION: TUNEL staining itself cannot well differentiate the apoptosis and necrosis of acinar cells in AP. However, when combined with the morphologic characteristics of TUNEL positive cells, TUNEL staining can preliminarily identify the two modes of cell death.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

■背景资料

腺泡细胞的凋亡和坏死与急性胰腺炎的病理生理密切相关, 诱导腺泡细胞从坏死向凋亡转变有望成为急性胰腺炎的有效治疗手段。急性胰腺炎时腺泡细胞的死亡反应成为研究中的热点, 但目前仍缺乏对腺泡细胞的凋亡与坏死进行原位检测的有效指标和方法。

■同行评议者

徐灿, 副教授, 副主任医师, 上海市长征医院

■ 研究前沿

TUNEL染色是检测组织细胞原位凋亡的最直观方法,但其同时也可对坏死细胞产生阳性染色。细胞形态学表现是判断细胞死亡方式的可靠依据,将其与TUNEL染色相结合有助于提高TUNEL染色检测AP时腺泡细胞凋亡与坏死的特异性,从而更好地应用于基础及临床研究。

Key Words: Acute pancreatitis; TdT-mediated dUTP nick labeling; Apoptosis; Necrosis

Hu YY, Zhou CH, Dou WH, Feng H, Wang SF. TUNEL staining combined with cell morphologic characteristics for identifying acinar cell death mode in rats with acute pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(20): 3259-3264 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3259.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i20.3259>

摘要

目的: 通过脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导的缺口末端标记(TdT-mediated dUTP nick labeling, TUNEL)染色检测大鼠急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)中腺泡细胞的死亡情况,探讨TUNEL染色阳性细胞的形态与细胞死亡方式之间的关系。

方法: 大鼠随机分为ANP组和假手术组(sham operation, SO),每组6只,利用4%的牛磺胆酸钠胰胆管逆行注射建立大鼠急性坏死性胰腺炎(acute necrotizing pancreatitis, ANP)模型,对两组大鼠胰腺组织进行病理学观察并采用TUNEL技术对胰腺组织切片进行染色,光镜下观察TUNEL染色阳性细胞的形态学表现。

结果: 对比假手术组,ANP组大鼠胰腺组织出现典型的AP样病理改变,同时可见大量的TUNEL染色阳性腺泡细胞。阳性细胞之间的形态学特点各异,其中既有细胞呈凋亡表现,如核固缩和核破裂伴凋亡小体形成;也有细胞呈坏死表现,如核膨胀、核溶解以及胞质空泡化。两种细胞死亡方式的形态学表现之间存在显著差异。

结论: AP时, TUNEL染色并不能很好地区分腺泡细胞的坏死与凋亡,但其联合阳性染色细胞的形态学特征可初步鉴别两种细胞死亡方式。

© 2015 年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 急性胰腺炎; 脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导的缺口末端标记; 凋亡; 坏死

核心提示: 现有证据表明脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导的缺口末端标记(TdT-mediated dUTP nick labeling, TUNEL)在检测急性胰腺炎时腺泡细胞凋亡方面缺乏特异性。本研究提示TUNEL染色结合细胞学形态特点可初步区分腺泡细胞的凋亡与坏死,从而提高TUNEL染

色在检测急性胰腺炎时腺泡细胞死亡反应中的特异性。

胡洋洋, 周春华, 窦文欢, 凤辉, 王少峰. TUNEL染色结合细胞形态学特点鉴别急性胰腺炎时腺泡细胞的死亡方式. *世界华人消化杂志* 2015; 23(20): 3259-3264 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3259.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i20.3259>

0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)时,腺泡细胞大量死亡。细胞凋亡和坏死是两种主要的死亡方式,因其各自在AP的病理生理中发挥重要的作用,近来已成为AP研究领域中的热点^[1]。许多研究^[1-3]表明,人为干预以强化AP时腺泡细胞的凋亡反应有助于AP严重程度缓解,提示其潜在的临床应用价值。相关的基础研究亦可为临床开发出新型的AP治疗手段提供理论及实验依据。长久以来,脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导的缺口末端标记(TdT-mediated dUTP nick labeling, TUNEL)染色被认为是凋亡检测的经典方法之一,但其检测细胞凋亡的特异性一直存在争议。有学者认为, TUNEL阳性结果只能反应核内的DNA发生断裂,并不能很好地区分凋亡与坏死^[4];也有观点认为,细胞发生凋亡或坏死时,其各自的形态学特征存在明显的差异,并可作为对细胞凋亡或坏死进行辨别的依据^[5]。因此,本实验在急性坏死性胰腺炎(acute necrotizing pancreatitis, ANP)动物模型的基础上,利用TUNEL法对胰腺组织切片进行染色,结合阳性染色细胞的形态学特点的差异分析胰腺腺泡细胞的死亡方式。

1 材料和方法

1.1 材料 健康清洁级♂SD大鼠12只,体质量200 g左右,由苏州大学实验动物中心提供。牛磺胆酸钠(美国Sigma公司); TUNEL试剂盒及蛋白酶K工作液(美国罗氏公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物模型的制备: 大鼠随机分为ANP组和假手术组(sham operation, SO),每组6只。实验前禁食16 h,自由饮水,实验前3 h禁水。ANP模型制备参考Wittel等^[6]所用方法: 2%戊巴比妥钠溶液腹腔内注射麻醉,固定、消毒、剖腹,找到胰胆管,用无损伤动脉夹夹闭肝门部胆管,从胰胆管开口十二指肠系膜缘对侧肠壁穿刺插

■ 相关报道

Fortunato等在2009年报道了酒精联合脂多糖诱导的急性胰腺炎模型,其对急性胰腺炎时腺泡细胞的凋亡与坏死进行了深入研究。该研究利用TUNEL染色结合细胞形态学表现对腺泡细胞的死亡方式进行了初步的鉴别,并且深入地研究了自噬、坏死与凋亡三者之间的关系。

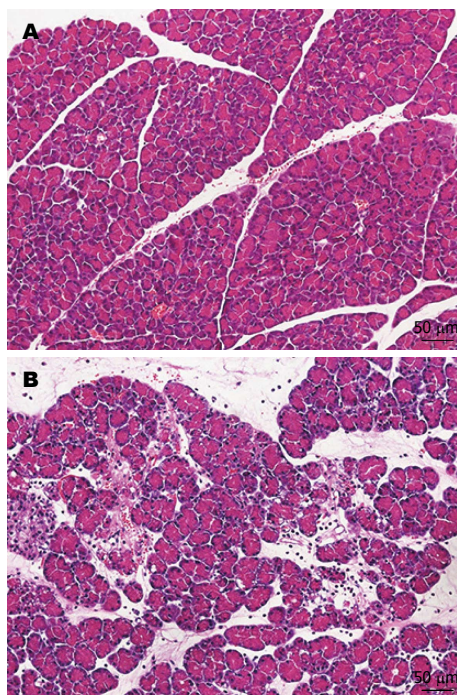


图1 HE染色检测大鼠胰腺组织病理学改变($\times 200$). A: 假手术组; B: 急性坏死性胰腺炎组.

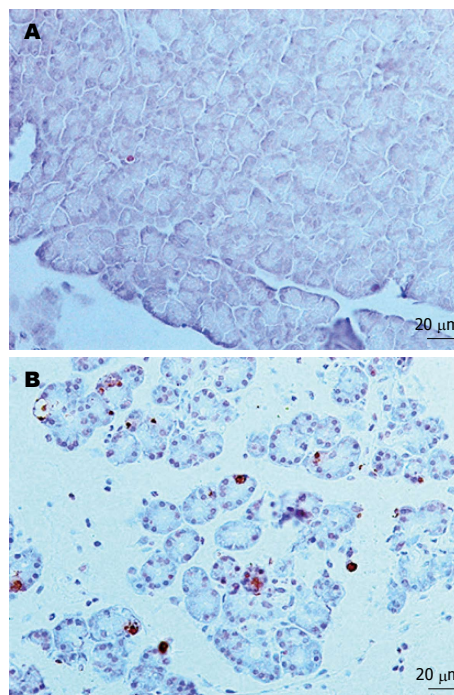


图2 大鼠胰腺组织TUNEL染色($\times 400$). A: 假手术组胰腺组织内偶见个别棕染阳性细胞; B: 急性坏死性胰腺炎组胰腺组织见大量棕染阳性细胞.

创新点

本研究通过TUNEL法对急性坏死性胰腺炎胰腺组织进行染色,分析了TUNEL染色阳性细胞之间的形态学差异以及其与细胞死亡方式的关系,揭示TUNEL染色联合细胞形态学观察可用于初步鉴别腺泡细胞的坏死与凋亡情况.

入24号肠管套针,连接微量输液泵以0.1 mL/min的速度推注4%牛磺胆酸钠0.1 mL/100 g,注毕后观察5 min拔管,移除动脉夹,缝合十二指肠穿刺口并关腹.术后于大鼠后肢皮下注射生理盐水10 mL以补足液体. SO组开腹后仅将十二指肠提出切口,翻动胰腺后关腹.以胰腺组织病理检查判断造模是否成功.

1.2.2 胰腺组织病理学检查: 两组大鼠于造模后12 h处死,取大鼠胰腺组织固定于40 g/L多聚甲醛溶液中,常规脱水、包埋、切片成4 μ m,苏木素-伊红(HE)染色后光镜下观察.典型的ANP病理表现为胰腺组织间质出血,组织明显水肿,大量炎性细胞浸润,组织细胞大片坏死.

1.2.3 胰腺组织TUNEL染色: TUNEL染色步骤按TUNEL试剂盒(美国罗氏公司)说明进行:胰腺组织石蜡切片60 $^{\circ}$ C烤片15 min,依次置入二甲苯中脱蜡,梯度乙醇水化;蛋白酶K工作液室温下处理切片10 min,磷酸盐缓冲液(phosphate buffer solution, PBS)漂洗3次;加入配置好的TUNEL反应工作液(TdT: 核酸混合液 = 1:9),37 $^{\circ}$ C下孵育1 h; 3% H_2O_2 甲醇溶液室温处理10 min, PBS漂洗3次;加入转化-过氧化物酶溶液,37 $^{\circ}$ C下孵育30 min, PBS漂洗3次;加入二氨基联苯胺显色, PBS冲洗,苏木素复染胞核,梯度乙醇脱水,二甲苯

透明,中性树胶封片,光镜下见细胞核棕染为TUNEL阳性染色,观察并记录阳性细胞的胞核以及胞质形态.

2 结果

2.1 胰腺组织病理学改变 SO组大鼠胰腺组织光镜下腺体小叶及腺泡结构清晰完整,间质轻度水肿(图1A). ANP组胰腺组织内可见大片腺泡细胞坏死,腺泡细胞空泡化明显,腺泡及小叶正常结构被破坏,间质明显水肿,实质及间质内炎症细胞浸润,间质内血管扩张或出血(图1B).

2.2 胰腺组织TUNEL染色情况 SO组偶见个别阳性棕染细胞(图2A), ANP组见大量的细胞核染成深棕色(图2B). ANP组TUNEL染色阳性细胞具有多种形态,具体表现为: (1)核固缩: 棕染细胞核体积缩小,染色质颗粒状固缩或在核膜下边集形成环形、新月体形(图3A);可合并胞质空泡化(图3B); (2)核膨胀: 棕染细胞核体积膨大,但核膜尚完整,形态较规则,常合并胞质空泡化(图3C); (3)核破裂: 棕染细胞核大小不一,核膜破裂,染色质碎片与胞膜结构形成凋亡小体(图3D);如合并胞质空泡化,则染色质在胞内弥漫分布(图3E); (4)核溶解: 核内DNA被酶解,核内染色质淡染,有的仅余核轮廓(图3F).

应用要点

本研究通过将TUNEL染色与细胞形态学观察相结合, 提高了其在检测急性胰腺炎时腺泡细胞凋亡与坏死中的特异性, 从而为急性胰腺炎病理生理的临床及基础研究提供了更加优化的细胞死亡检测方法。

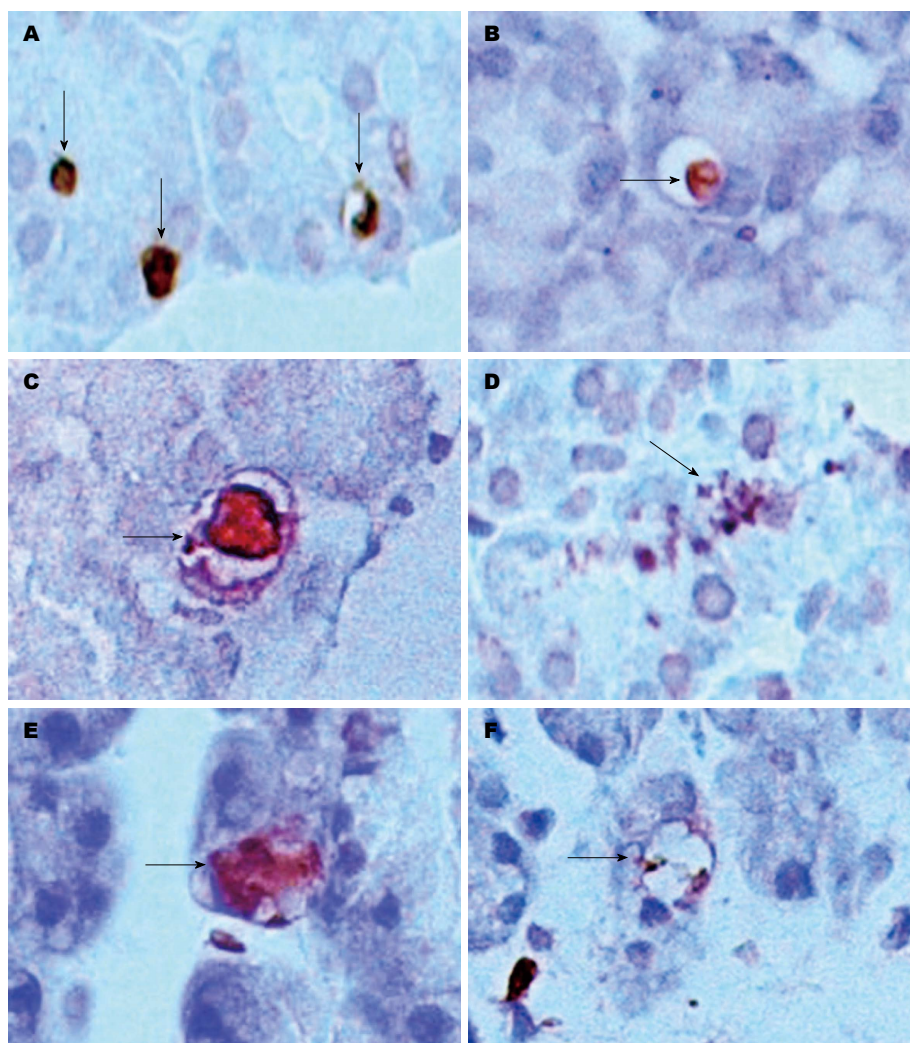


图 3 急性坏死性胰腺炎组大鼠胰腺组织TUNEL染色阳性细胞形态学特征($\times 2500$)。A: 核固缩; B: 核固缩伴胞质空泡化; C: 核肿胀伴胞质空泡化; D: 核破裂伴凋亡小体形成; E: 核破裂伴染色质弥散胞内; F: 核溶解。箭头示相应细胞形态学特征。

3 讨论

胰腺腺泡细胞的损伤被认为是AP的起始事件, 其中腺泡细胞的凋亡和坏死是细胞损伤的两种主要死亡结局^[7]。凋亡时, 细胞膜结构完整, 凋亡小体形成, 并可诱导吞噬细胞对其进行清除, 不诱发局部炎症反应; 而坏死表现为胞膜的破坏, 胞内致炎物质释放, 可诱发或放大大局炎症^[8,9]。在多种AP动物模型中都可观察到AP的严重程度与腺泡细胞凋亡的程度呈反比, 与坏死呈正比^[10]。多种干预手段, 如大黄承气汤治疗以及抑制内源性硫化氢合成等, 可通过诱导腺泡细胞凋亡以减轻实验性AP的严重程度^[11,12]。因此, 诱导细胞凋亡有望成为AP的新型临床治疗手段, 对AP时腺泡细胞死亡反应的检测也有助于判断实验性或临床AP的严重程度。但目前, 如何有效而又特异地检测腺

泡细胞的原位死亡反应仍是一大难题。

细胞凋亡的检测手段有多种, 其中TUNEL是最直观的原位检测方法之一, TUNEL的工作原理是利用脱氧核糖核苷酸和生物素所组成的衍生物对凋亡细胞核DNA断裂产生的3'-OH末端进行原位标记, 核酸内切酶活化使DNA降解断裂是TUNEL法检测凋亡的基础^[13]。但也有许多研究^[14,15]表明, 细胞坏死时也可发生DNA断裂, 并能被TUNEL法所检测到; 另一方面, AP往往同时出现大量的细胞凋亡和坏死, 这些因素都能降低TUNEL法在检测AP腺泡细胞凋亡中的特异性。与此同时, 有学者观察了AP时TUNEL染色阳性腺泡细胞的形态, 发现其形态学特征之间存在明显的差异, 通过辨别这种差异, 可对TUNEL阳性细胞是凋亡还是坏死进行初步的判定^[16]。本实验中, 大鼠予4%牛磺胆酸

钠胰胆管内逆行灌注后, 病理学观察显示胰腺组织出现典型的ANP病理改变, 提示造模成功。进一步利用TUNEL法对胰腺组织切片进行染色, 结果显示ANP组大鼠胰腺组织内出现多量的棕染阳性细胞, 胞核及细胞的形态各异, 其胞核的形态学表现可基本概括为上述的核固缩、核膨胀、核破裂及核溶解四种类型; 胞质的形态学表现可有凋亡小体形成和胞质空泡化。

凋亡和坏死虽然都指向细胞的不可逆性死亡, 但两种细胞死亡方式的形态学特征却存在明显的不同^[17]。细胞凋亡时, 胞质和胞核发生固缩, 继而细胞核发生裂解产生核碎片, 核碎片与胞质内成分一起被胞膜结构包绕形成凋亡小体^[18]; 坏死则表现为细胞整体结构的膨胀, 细胞膜结构崩解, 核固缩、核破裂及核溶解^[19]。由此可见, 核破裂合并凋亡小体形成是细胞凋亡的特异性表现, 核膨胀及核溶解则指向坏死。然而, 核固缩及核破裂既可在凋亡也可在坏死时发生^[20], 如何对此类情况下的细胞死亡方式进行辨别? 在本实验中, 我们观察到许多的TUNEL阳性细胞出现胞质空泡化。胞质空泡化是AP中常见的病理现象, 研究^[21]表明这种病理现象源于细胞自噬通路的受阻。自噬是细胞内重要的物质与能量再生通路, 其功能状态可影响细胞的死亡过程。Fortunato等^[16]认为AP时TUNEL检测阳性合并胞质空泡化提示腺泡细胞正在发生坏死; 细胞发生空泡化时, 自噬通路受阻, 导致胞内的ATP耗竭, 从而促进了细胞坏死。Degterev等^[22]则认为自噬参与了细胞的“程序性坏死”, 若细胞同时出现自噬和凋亡的形态学特征提示细胞正在发生“程序性坏死”^[23]。因此在AP胰腺组织中, TUNEL阳性细胞的空泡化现象是判定坏死的重要指标。

总之, 基于检测断裂DNA的TUNEL法可反应AP中腺泡细胞的死亡情况, 但TUNEL染色阳性本身并不能很好地区分凋亡与坏死, 两者之间的鉴别还需结合阳性染色细胞的形态学特点。在TUNEL染色阳性的腺泡细胞中, 核膨胀及核溶解表明细胞坏死; 核固缩、核破裂连同凋亡小体形成指向细胞凋亡; 而无论核形态, 如细胞发生空泡化, 则提示细胞发生坏死。目前鉴定细胞原位死亡最可靠的指标还是形态学特征, TUNEL仍是这一领域的经典方法, 重视TUNEL检测中的细胞形态学特性可进一步优化此法在AP腺泡细胞死亡反应研究中的

应用, 从而更有利于实验或临床中的AP病理生理研究。

4 参考文献

- Bhatia M. Apoptosis versus necrosis in acute pancreatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 286: G189-G196 [PMID: 14715516 DOI: 10.1152/ajpgi.00304.2003]
- Lin Z, Guo J, Xue P, Huang L, Deng L, Yang X, Xia Q. Chaiqinchengqi decoction regulates necrosis-apoptosis via regulating the release of mitochondrial cytochrome c and caspase-3 in rats with acute necrotizing pancreatitis. *J Tradit Chin Med* 2014; 34: 178-183 [PMID: 24783930]
- Weng TI, Wu HY, Chen BL, Liu SH. Honokiol attenuates the severity of acute pancreatitis and associated lung injury via acceleration of acinar cell apoptosis. *Shock* 2012; 37: 478-484 [PMID: 22258232 DOI: 10.1097/SHK.0b013e31824653be]
- 来茂德. 凋亡与坏死及相关问题. *浙江大学学报(医学版)* 2001; 30: 245-247
- Davidovich P, Kearney CJ, Martin SJ. Inflammatory outcomes of apoptosis, necrosis and necroptosis. *Biol Chem* 2014; 395: 1163-1171 [PMID: 25153241 DOI: 10.1515/hsz-2014-0164]
- Wittel UA, Wiech T, Chakraborty S, Boss B, Lauch R, Batra SK, Hopt UT. Taurocholate-induced pancreatitis: a model of severe necrotizing pancreatitis in mice. *Pancreas* 2008; 36: e9-e21 [PMID: 18376298 DOI: 10.1097/MPA.0b013e3181575103]
- 张桂信, 陈海龙, 宫爱霞, 张利. 胰腺腺泡细胞凋亡与急性胰腺炎及其治疗策略. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 1115-1120
- 陈海龙, 尚东, 关凤林. 急性胰腺炎与细胞凋亡. *世界华人消化杂志* 2001; 9: 418-420
- Mareninova OA, Sung KF, Hong P, Lugea A, Pandolfi SJ, Gukovsky I, Gukovskaya AS. Cell death in pancreatitis: caspases protect from necrotizing pancreatitis. *J Biol Chem* 2006; 281: 3370-3381 [PMID: 16339139 DOI: 10.1074/jbc.M511276200]
- Kaiser AM, Saluja AK, Sengupta A, Saluja M, Steer ML. Relationship between severity, necrosis, and apoptosis in five models of experimental acute pancreatitis. *Am J Physiol* 1995; 269: C1295-C1304 [PMID: 7491921]
- Wang J, Chen G, Gong H, Huang W, Long D, Tang W. Amelioration of experimental acute pancreatitis with Dachengqi Decoction via regulation of necrosis-apoptosis switch in the pancreatic acinar cell. *PLoS One* 2012; 7: e40160 [PMID: 22768339 DOI: 10.1371/journal.pone.0040160]
- Wang G, Han B, Zhou H, Wu L, Wang Y, Jia G, Lv J, Cheng Z, Pan S, Liu J, Zhou Y, Sun B. Inhibition of hydrogen sulfide synthesis provides protection for severe acute pancreatitis rats via apoptosis pathway. *Apoptosis* 2013; 18: 28-42 [PMID: 23054084 DOI: 10.1007/s10495-012-0770-x]
- Gavrieli Y, Sherman Y, Ben-Sasson SA. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J Cell Biol* 1992; 119: 493-501 [PMID: 1400587]
- Dong Z, Saikumar P, Weinberg JM, Venkatachalam MA. Internucleosomal DNA cleavage triggered by plasma membrane damage during necrotic cell death. Involvement of serine but not cysteine

■名词解释

脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导的缺口末端标记(TUNEL): 通过末端脱氧核糖核苷酸转移酶将荧光素标记的dUTP连接到断裂DNA的3'-OH端, 并进一步偶联辣根过氧化物酶标记的荧光素抗体, 利用辣根过氧化物酶的底物二氨基苯胺显影, 可在光镜下观察到呈深棕色的阳性染色。

■同行评价

本文对实验性急性胰腺炎胰腺组织进行病理及TUNEL检查, 结合细胞形态学特点对腺泡细胞的死亡方式进行鉴别, 研究设计尚可, 但需要指出该研究的临床指导意义。

- proteases. *Am J Pathol* 1997; 151: 1205-1213 [PMID: 9358745]
- 15 Grasl-Kraupp B, Ruttkay-Nedecky B, Koudelka H, Bukowska K, Bursch W, Schulte-Hermann R. In situ detection of fragmented DNA (TUNEL assay) fails to discriminate among apoptosis, necrosis, and autolytic cell death: a cautionary note. *Hepatology* 1995; 21: 1465-1468 [PMID: 7737654]
- 16 Fortunato F, Bürgers H, Bergmann F, Rieger P, Büchler MW, Kroemer G, Werner J. Impaired autolysosome formation correlates with Lamp-2 depletion: role of apoptosis, autophagy, and necrosis in pancreatitis. *Gastroenterology* 2009; 137: 350-360, 360. e1-e5 [PMID: 19362087 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.04]
- 17 Fink SL, Cookson BT. Apoptosis, pyroptosis, and necrosis: mechanistic description of dead and dying eukaryotic cells. *Infect Immun* 2005; 73: 1907-1916 [PMID: 15784530 DOI: 10.1128/IAI.73.4.1907-1916.2005]
- 18 Taylor RC, Cullen SP, Martin SJ. Apoptosis: controlled demolition at the cellular level. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008; 9: 231-241 [PMID: 18073771 DOI: 10.1038/nrm2312]
- 19 Kroemer G, Martin SJ. Caspase-independent cell death. *Nat Med* 2005; 11: 725-730 [PMID: 16015365 DOI: 10.1038/nm1263]
- 20 Majno G, Joris I. Apoptosis, oncosis, and necrosis. An overview of cell death. *Am J Pathol* 1995; 146: 3-15 [PMID: 7856735]
- 21 Mareninova OA, Hermann K, French SW, O'Konski MS, Pandol SJ, Webster P, Erickson AH, Katunuma N, Gorelick FS, Gukovsky I, Gukovskaya AS. Impaired autophagic flux mediates acinar cell vacuole formation and trypsinogen activation in rodent models of acute pancreatitis. *J Clin Invest* 2009; 119: 3340-3355 [PMID: 19805911 DOI: 10.1172/JCI38674]
- 22 Degterev A, Huang Z, Boyce M, Li Y, Jagtap P, Mizushima N, Cuny GD, Mitchison TJ, Moskowitz MA, Yuan J. Chemical inhibitor of nonapoptotic cell death with therapeutic potential for ischemic brain injury. *Nat Chem Biol* 2005; 1: 112-119 [PMID: 16408008 DOI: 10.1038/nchembio711]
- 23 Ouyang L, Shi Z, Zhao S, Wang FT, Zhou TT, Liu B, Bao JK. Programmed cell death pathways in cancer: a review of apoptosis, autophagy and programmed necrosis. *Cell Prolif* 2012; 45: 487-498 [PMID: 23030059 DOI: 10.1111/j.1365-2184.2012.00845.x]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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》2013-2014 年电子版合订本正式发布

本刊讯 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, print ISSN 1009-3079, online ISSN 2219-2859, DOI: 10.11569) 2013-2014年电子版合订本在百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group Inc)网站已正式发布, 可以免费下载使用. 请作者和读者访问*WCJD*电子版合订本, 见: <http://www.wjgnet.com/bpg/e-boundjournals.htm>. (郭鹏)

隔药饼灸对FGIDs肝郁脾虚模型大鼠胃肠组织中SP表达及尿液D-木糖排泄率的影响

葛君芸, 常小荣, 刘密, 刘未艾, 黄河, 吕安林, 沈菁

葛君芸, 常小荣, 刘密, 黄河, 吕安林, 沈菁, 湖南中医药大学针灸推拿学院 湖南省长沙市 410007

刘未艾, 湖南中医药大学第二附属医院针灸科 湖南省长沙市 410005

葛君芸, 助理实验师, 主要从事刺灸法治病机制的研究。

国家重点基础研究发展计划(973计划)基金资助项目, No. 2009CB522904

国家自然科学基金资助项目, No. 81173326

国家自然科学基金青年基金资助项目, Nos. 81303049, 81403486

湖南省教育厅科学研究基金资助项目, No. 13C701

作者贡献分布: 此课题由常小荣与刘密设计; 动物实验与指标检测分析由葛君芸、刘未艾、黄河、吕安林及沈菁完成; 论文写作由葛君芸与常小荣完成。

通讯作者: 常小荣, 教授, 博士生导师, 410007, 湖南省长沙市韶山中路113号, 湖南中医药大学针灸推拿学院。

xrchang1956@163.com

电话: 0731-88458187

收稿日期: 2015-04-26 修回日期: 2015-05-17

接受日期: 2015-06-01 在线出版日期: 2015-07-18

81173326; the National Natural Science Foundation of Youth, Nos. 81303049 and 81403486; Hu'nan Provincial Department of Education Science Research Project, No. 13C701

Correspondence to: Xiao-Rong Chang, Professor, College of Acupuncture and Massage, Hu'nan University of TCM, 113 Shaoshan Middle Road, Changsha 410007, Hu'nan Province, China. xrchang1956@163.com

Received: 2015-04-26 Revised: 2015-05-17

Accepted: 2015-06-01 Published online: 2015-07-18

Abstract

AIM: To observe the influence of cake-separated moxibustion on gastrointestinal expression of substance P (SP) and urinary excretion of D-xylose in functional dyspepsia rats with liver-stagnation and spleen-deficiency syndrome, and to explore the mechanisms underlying the therapeutic effect of cake-separated moxibustion on functional dyspepsia.

METHODS: Thirty-six rats were randomly divided into a control group (A), a model group (B) and a cake-separated moxibustion group (C), with 12 rats in each group. Except the control group, the other two groups were subjected to induction of functional dyspepsia using a composite modeling method. Food intake and body weight were measured before and after modeling. Saline and cake-separated moxibustion were applied to the corresponding groups for 14 d. After treatment, urine sample were collected for the detection of urinary D-xylose excretion rate, and stomach and colon tissues were collected to determine the expression of SP using Western blot.

RESULTS: After modeling, food intake, body weight and urinary D-xylose excretion

■背景资料

功能性胃肠病(functional gastrointestinal disorders, FGIDs)是指具有腹胀、腹痛等消化系统症状,但缺乏器质性疾病(如胃炎、肠炎等)或其他证据的一组慢性、复发性、难以缓解性的胃肠道综合征。西医尚无明确的治疗方案,主要采用胃肠动力药及抑酸剂等药物对症治疗,但长期疗效不佳。中医灸法对本病临床疗效确切,探讨其效应机制具有重大意义。

■同行评议者

王富春, 教授, 长春中医药大学

Influence of cake-separated moxibustion on gastrointestinal expression of substance P and urinary excretion of D-xylose in functional dyspepsia rats with liver-stagnation and spleen-deficiency syndrome

Jun-Yun Ge, Xiao-Rong Chang, Mi Liu, Wei-Ai Liu, He Huang, An-Lin Guo, Jing Shen

Jun-Yun Ge, Xiao-Rong Chang, Mi Liu, He Huang, An-Lin Guo, Jing Shen, College of Acupuncture and Massage, Hu'nan University of TCM, Changsha 410007, Hu'nan Province, China

Wei-Ai Liu, Department of Acupuncture and Moxibustion, the Second Affiliated Hospital of Hu'nan University of TCM, Changsha 410005, Hu'nan Province, China

Supported by: the National Key Basic Research Development Program (973 Program), No. 2009CB522904; National Natural Science Foundation of China, No.

■ 研究前沿

精神心理因素对胃肠道生理有重大的影响, 而脑肠肽是认知和情感中枢与神经内分泌和免疫系统相联系的双向通路的分子基础, P物质(substance P, SP)作为脑肠肽物质之一, 是胃肠运动调节中主要的兴奋性神经递质, 不仅可抑制胃肠道黏膜分泌, 刺激肠道运动, 同时又存在于感觉神经元内, 可作为内脏感觉神经递质向中枢神经系统传递免疫细胞发出的信息。

rate were significantly reduced in groups B and C compared with group A ($P < 0.05$). After treatment, urinary D-xylose excretion significantly increased in group C compared with group B ($P < 0.05$). Compared with group A, SP expression in the gastric antrum and colon was significantly increased in groups B and C ($P < 0.01$). Compared with group B, SP expression in group C decreased significantly ($P < 0.01$).

CONCLUSION: Cake-separated moxibustion may regulate the expression of SP and improve gastrointestinal motor function, thus achieving the purpose of treatment of functional dyspepsia with liver-stagnation and spleen-deficiency syndrome.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Cake-separated moxibustion; Functional dyspepsia; Substance P; D-xylose

Ge JY, Chang XR, Liu M, Liu WA, Huang H, Guo AL, Shen J. Influence of cake-separated moxibustion on gastrointestinal expression of substance P and urinary excretion of D-xylose in functional dyspepsia rats with liver-stagnation and spleen-deficiency syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(20): 3265-3269 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3265.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i20.3265>

摘要

目的: 观察隔药饼灸对功能性胃肠病(functional gastrointestinal disorders, FGIDs)肝郁脾虚模型大鼠胃肠组织中P物质(substance P, SP)表达及尿液D-木糖排泄率的影响, 探讨隔药饼灸对FGIDs的治疗作用及其作用机制。

方法: 将36只大鼠随机分为空白组、模型组和隔药饼灸组。每组12只, 除空白组外, 其余2组采用复合病因造模法进行造模。3组大鼠于造模前与造模后都进行食量和体质量的测定, 然后各组按被试因素施加方法, 分别进行生理盐水和隔药饼灸14 d。治疗结束后, 收集大鼠尿标本, 用于检测大鼠尿D-木糖排泄率, 再取胃和结肠组织, 采用Western blot检测SP含量。

结果: 2组大鼠造模后, 食量和体质量均较空白组大鼠明显减少($P < 0.05$), 同时尿D-木糖排泄率较造模前明显下降($P < 0.05$); 治疗后, C组尿D-木糖排泄率较治疗前明显上升

($P < 0.05$); SP含量: 与A组相比, B、C组大鼠胃窦和结肠部位SP含量显著升高($P < 0.01$); 与B组相比, C组大鼠各组织中SP含量显著下降($P < 0.01$)。

结论: 隔药饼灸通过调节SP表达, 从而达到改善胃肠运动功能的作用, 这可能是其作用机制之一。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 隔药饼灸; 功能性消化不良; P物质; D-木糖

核心提示: 隔药饼灸能否通过对体内P物质(substance P)的调控, 从而调节胃肠道功能, 达到治疗肝郁脾虚功能性胃肠病(functional gastrointestinal disorders)的目的。

葛君芸, 常小荣, 刘密, 刘未艾, 黄河, 吴安林, 沈菁. 隔药饼灸对FGIDs肝郁脾虚模型大鼠胃肠组织中SP表达及尿液D-木糖排泄率的影响. *世界华人消化杂志* 2015; 23(20): 3265-3269 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3265.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i20.3265>

0 引言

功能性胃肠病(functional gastrointestinal disorders, FGIDs)是指具有腹胀、腹痛等消化系统症状, 但缺乏器质性疾病(如胃炎、肠炎等)或其他证据的一组慢性、复发性、难以缓解性的胃肠道综合征^[1], 临床上主要表现为上腹不适、嗝气、烧灼感、隐痛、饱胀等症状, 持续时间比较长^[2]。流行病学调查显示: FGIDs广泛存在, 人群发病率为23.5%-40.0%; 在我国消化不良患者约占普通内科门诊的10%, 占消化内科门诊的50%^[3]。一项最新的文献研究^[4]报道表明, 针灸疗法用于治疗FGIDs能有效改善胃肠不适的症状, 而且安全无不良反应。本课题采用隔药饼灸法, 以FGIDs肝郁脾虚证大鼠为受试对象, 观察隔药饼灸对胃肠组织中P物质(substance P, SP)表达及尿液D-木糖排泄率的影响, 从而探讨隔药饼灸治疗FGIDs肝郁脾虚证可能的作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料 健康SD大鼠36只, 雌雄各半, 体质量200-250 g, 由湖南中医药大学动物实验中心提供[动物合格证号: SCXK(湘)2009-0004], 饲养

■ 相关报道

2002年, 世界胃肠病学大会提出了心因性动力病(psychomotor disorder)这一全新概念, 从神经胃肠病学角度将与身心疾病相关的情感综合征归入此范畴, 再次强调了心理因素在胃肠疾病发病机制中的重要作用。

温度20℃-25℃, 相对湿度50%-70%; Western blot检测试剂(维尔生物有限公司); D-木糖(Sigma公司); D-木糖试剂盒(南京建成生物工程研究所); 超低温冰箱(美国Forma Scientific); UV756MC紫外可见分光光度计(上海精科仪器厂); ZLSC-5型不锈钢电热重蒸馏水器(上海申安医疗器械厂); AUE-210电子分析天平(长沙湘仪天平仪器厂); Eppendorf台式高速冷冻离心机(德国Simga公司); 神灸300灸艾柱(苏州东方艾绒厂, 型号:“东方一型”, 批号:20100812); S658电热恒温水浴箱(长沙东风医疗仪器厂); Western blot检测设备(维尔生物有限公司)等。

1.2 方法

1.2.1 药饼制备: 陈皮(炒)、白芍(炒)、白术(炒)、防风按一定比例粉碎为末, 使用时以醋调成糊状, 在每个穴位上压成厚2 mm、直径1 cm±0.2 cm的药饼。

1.2.2 造模: 按文献[5]报道方法制作大鼠肝郁脾虚证FGIDs模型, 采用慢性束缚应激+过度疲劳+饮食失节的方法, 在此基础上加夹尾30 min、摇晃5 min, 实验前全部动物进行预游泳, 剔除游泳时间<10 min、>20 min的大鼠; 造模大鼠于每天上午8:00置于束缚盒中限制3 h, 同时夹尾30 min、摇晃5 min, 下午2:00置于装有温水(22℃±1℃)的大塑料桶中游泳10 min, 隔日足量喂食, 连续21 d。

1.2.3 动物分组及处理: 将36只SD大鼠编号按随机数字表法随机分为空白组(A)、模型组(B)和隔药饼灸组(C), 每组12只, 除空白组正常饲养外, 其余2组均采用上述方法造模后, 按被试因素施加方法分组处理: 空白组正常饲养, 不做任何处理; 模型组行捆绑束缚30 min, 并灌服生理盐水, 灌胃容积均为1 mL/100 g体重(下同); 隔药饼灸组行隔药饼灸30 min, 并灌服生理盐水。模型评价: (1)通过对大鼠一般状态、粪便情况、食量、体质量的观察和反映胃肠吸收功能的尿D-木糖排泄率的检测; (2)对大鼠行为学采用旷场实验进行分析, 了解大鼠的焦虑、抑郁程度, 验证模型是否成功。

1.2.4 选穴及施灸: 参照新世纪全国高等中医院校规划教材《实验针灸学》^[6]及华兴邦大鼠穴位图谱, 选取: I组: 肝俞、脾俞、足三里; II组: 章门、期门、中脘。将大鼠捆绑束缚于鼠板上, 取穴定位剪毛后, 用细绳将已经做好药

饼的底座固定在穴位上, 然后将直径为0.5 cm±0.2 cm的艾灶至于药饼上点燃施灸, 待艾灶燃完且余热散尽后, 再换另一壮, 每穴连续灸4-5壮(约30 min), 1次/d, I组、II组穴位隔日交替施灸, 连续干预14 d。

1.2.5 观测指标: (1)大鼠体质量和食量增长情况测量: 实验开始后隔日上午7:00用电子秤称量大鼠体质量和食量, 并根据体质量调整给药量; (2)尿D-木糖排泄率的测定: 各组动物适应性饲养3 d, 分别于造模前、造模后和治疗后的前1天21:00开始禁食11 h, 相应第二天8:00开始分别用代谢笼收集每只大鼠5 h尿液, 为未服D-木糖的尿液; 然后每只大鼠灌服10% D-木糖溶液, 灌服量为0.15 g/(mL·100 g), 并分别用代谢笼收集灌服D-木糖后的每只大鼠5 h尿液, 为测定尿液(即服用D-木糖后的尿液), 标本速入-80℃超低温冰箱中保存待测。以上过程禁食不禁水, 再采用间苯三酚法^[4]测定尿D-木糖排泄率; (3)胃窦和结肠组织中SP蛋白含量: 实验结束后, 将大鼠麻醉后, 打开腹腔, 将幽门、贲门部结扎, 切断结扎线远侧端的消化系, 摘取整个尾部, 沿胃大弯剖开胃体, 剪取中上段胃壁全层(大小约0.5 cm×0.5 cm), 分离结肠部分, 自盲肠端上方约2 cm处, 剪取结肠组织(长度约1 cm)。取材后, 将样本用冰生理盐水冲洗干净, 分别放入1.5 mL灭菌EP管中, 置于-80℃冰箱中保存, 用Western blot蛋白印迹分析法检测胃窦和结肠组织中SP蛋白含量(检测单位: 长沙维尔生物有限公司)。

统计学处理 采用SPSS19.0软件进行处理, 各检测指标统计数据均以mean±SD表示, 组间两两比较若方差齐时选择LSD法, 方差不齐时选择Tamhane'T3法进行方差分析, 以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠食量和体质量情况 造模前各组大鼠体质量和食量比较, 差异无统计学意义(P>0.05), 具有齐同可比性。与造模前相比, 造模后A组大鼠在体质量及食量方面均有明显增长(P<0.01); B、C组大鼠体质量较造模前稍有增长或增长缓慢, 与造模前相比, 差异无统计学意义(P>0.05), 但与A组比较, 差异均有统计学意义(P<0.01)。说明造模对大鼠体质量、食量均有明显的影响, 即使大鼠的体质量增长缓

■创新亮点

本文以FGIDs肝郁脾虚证大鼠为受试对象, 观察隔药饼灸对胃肠组织中SP表达及尿液D-木糖排泄率的影响, 从而探讨隔药饼灸治疗FGIDs肝郁脾虚证的可能机制。

■应用要点

通过实验观察隔药饼灸对胃肠组织中SP表达及尿液D-木糖排泄的影响, 从而探讨隔药饼灸防治FGIDs的可能机制, 为临床应用隔药饼灸治疗功能性胃肠病提供了一定的理论和实验依据。

■名词解释

P物质(SP): 是由11个氨基酸组成的多肽类物质, 主要来源于含SP的节后神经元, 是第一个被确认的、双重分布的脑肠肽; 他参与机体多种生理功能的调控, 对胃肠功能的调节起着重要的作用。

表 1 各组大鼠食量和体质量情况造模前后的比较 (n = 12, mean ± SD, g)

分组	食量		体质量	
	造模前	造模后	造模前	造模后
空白组	27.25 ± 4.22	30.83 ± 5.17 ^b	202.17 ± 4.13	277.83 ± 35.57 ^b
模型组	23.89 ± 3.62	23.61 ± 1.49 ^d	204.67 ± 9.12	214.25 ± 15.61 ^d
隔药饼灸组	24.55 ± 3.44	25.04 ± 2.17 ^d	202.08 ± 6.68	205.50 ± 8.49 ^d

^bP<0.01 vs 造模前; ^dP<0.01 vs 空白组。

表 2 大鼠造模前后及治疗后尿D-木糖醇排泄率情况比较 (n = 12, mean ± SD, %)

分组	造模前	造模后	治疗后
空白组	24.94 ± 4.14	24.95 ± 3.92	25.05 ± 3.46
模型组	26.79 ± 3.17	16.58 ± 1.29 ^b	16.86 ± 4.46 ^e
隔药饼灸组	26.09 ± 3.70	15.77 ± 4.60 ^b	22.98 ± 2.86 ^{dh}

^bP<0.01 vs 造模前; ^dP<0.01 vs 造模后; ^eP<0.01 vs 空白组; ^hP<0.01 vs 模型组。

表 3 各组大鼠不同组织中的P物质含量比较 (n = 12, mean ± SD)

分组	胃窦	结肠
空白组	0.51 ± 0.01	0.52 ± 0.01
模型组	0.68 ± 0.02 ^b	0.75 ± 0.02 ^b
隔药饼灸组	0.57 ± 0.03 ^d	0.56 ± 0.02 ^d

^bP<0.01 vs 空白组; ^dP<0.01 vs 模型组。

慢、食量减低(表1)。

2.2 各组大鼠尿D-木糖醇排泄率情况 造模前各组大鼠尿D-木糖排泄率比较, 差异无统计学意义(P>0.05), 具有齐同可比性; 造模后, A组尿D-木糖排泄率较造模前无明显变化(P>0.05); 而B、C组尿D-木糖排泄率较造模前明显下降, 差异有统计学意义(P<0.01), 说明造模对大鼠尿D-木糖排泄率均有明显影响, 能降低大鼠的小肠吸收功能。治疗后, B组和C组尿D-木糖排泄率与治疗前(即造模后, 下同)比较明显上升, 差异有统计学意义(P<0.05或P<0.01); 说明隔药饼灸能使尿D-木糖排泄率升高, 有助于提高大鼠的小肠吸收功能(表2)。

2.3 各组大鼠不同组织中的SP含量比较 与A组相比, B组大鼠胃窦和结肠部位的SP含量是显著升高的, 差异有统计学意义(P<0.01), 说明造模成功大鼠各组织中的SP含量是上升的; 与B组相比, C组大鼠各组织中的SP含量是显著下降的, 差异均有统计学意义(P<0.01), 说明隔药饼

灸能使大鼠各组织中的SP含量显著下降(表3)。

3 讨论

FGIDs是一种常见的消化系统疾病, 临床上主要表现为腹痛、腹胀、早饱、嗝气等消化功能障碍症状, 而无任何可以解释这些症状的器质性、系统性或代谢性疾病, 已经成为影响现代人生活质量的重要疾病之一。中医并无此病名, 根据临床症状, 可归属于中医学“痞满”“胃脘痛”“纳呆”范畴, 认为其病因多与饮食伤胃、情志不遂、劳倦伤脾等因素相关, 其病位在脾胃, 与肝胆相关, 以肝失疏泄、脾失运化, 肝郁脾虚, 肝旺乘脾, 升降失常为基本病机。现代医学认为, 功能性消化不良的发生主要与胃肠动力障碍、胃肠激素分泌紊乱、内脏感觉敏感性增高、胃容受功能受损、幽门螺杆菌感染、神经心理因素、胃肠神经介质失调等诸多因素相关^[7,8]。近年来人们认识到脑肠轴功能失调是其发病的核心环节, 胃肠动力障碍是功能性消化不良的主要病理生理学基础, 其中胃肠激素分泌异常与其直接相关^[9]。西医尚无明确的治疗方案, 主要采用对症治疗, 辅以心理治疗和抗焦虑抑郁治疗^[10,11]。目前药物治疗主要是抑酸剂、胃肠动力药、胃黏膜保护剂及根除幽门螺杆菌治疗, 这些药物虽有一定疗效, 但停药后容易反复^[12]。

大量的实验研究^[13,14]证明SP是胃肠运动调节中主要的兴奋性神经递质, 对胃肠道的兴奋

作用表现为对胃肠纵行肌和环行肌有双重的收缩效应: 包括直接的短时作用和紧随的由胆碱能神经释放乙酰胆碱(acetylcholine, ACh)引起的长时作用。SP是由11个氨基酸组成的多肽类物质, 主要来源于含SP的节后神经元, 是第一个被确认的、双重分布的脑肠肽, 主要分布于中枢神经系统(central nervous system, CNS)、脊髓背根和肠神经系统(enteric nervous system, ENS), 小部分分布于肠嗜铬细胞, 其中以胃肠道和CNS浓度最高, 它可以以激素和神经递质的形式, 对胃平滑肌产生很强的刺激作用, 加强肠道平滑肌收缩、肠蠕动和胃排空, 并且能刺激胆囊收缩, 参与机体多种生理功能的调控, 对胃肠功能的调节起着重要的作用^[15,16]。作为兴奋性运动神经元递质, SP能抑制胃肠道黏膜分泌, 刺激肠道运动, 同时又存在于感觉神经元内, 可作为内脏感觉神经递质向中枢神经系统传递免疫细胞发出的信息(如炎症引起的疼痛), 成为神经-免疫系统相互关系的重要环节^[17]。

本实验结果显示: 造模结束后, 大鼠的体质量和食量明显下降, 且模型组大鼠的尿D-木糖排泄率明显降低。治疗结束后, 隔药饼灸组能提高大鼠的尿D-木糖排泄率, 说明隔药饼灸能改善小肠的吸收功能, 对FGIDs有一定治疗作用, 这为临床上应用隔药饼灸治疗本病提供了一定的实验依据。同时, 与模型组相比, 隔药饼灸组使大鼠胃肠SP含量均明显降低。故提示隔药饼灸通过调节SP表达, 从而达到改善胃肠运动功能的作用, 这可能是其作用机制之一。

4 参考文献

1 Koloski NA, Talley NJ, Boyce PM. Epidemiology

- and health care seeking in the functional GI disorders: a population-based study. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2290-2299 [PMID: 12358247 DOI: 10.1016/S0166-2236(02)02270-1]
- 2 Gerkens A. [Irritable bowel syndrome: diet and complementary medicine therapies?]. *Rev Med Brux* 2012; 33: 430-435 [PMID: 23091952]
- 3 刘文忠. 幽门螺杆菌感染与非溃疡性消化不良. 现代消化及介入诊疗 2010; 15: 91-97
- 4 于晗, 董勤, 仲远明. 针灸治疗功能性消化不良现代临床文献计量分析及其选穴特点探讨. 辽宁中医药大学学报 2014; 16: 126-128
- 5 岳利峰, 丁杰, 陈家旭, 岳广欣, 梁媛, 霍素坤, 李晶晶. 肝郁脾虚证大鼠模型的建立与评价. 北京中医药大学学报 2008; 31: 394-399
- 6 李忠仁. 实验针灸学. 北京: 中国中医药出版社, 2003: 314-319
- 7 陈灏珠. 实用内科学. 12版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 1639-1640
- 8 中华人民共和国卫生部. 中药新药临床研究指导原则. 北京: 中国医药科技出版社, 1993: 11-12
- 9 中华人民共和国卫生部. 中药新药临床研究指导原则. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 54-60
- 10 曹芝君. 功能性胃肠病的诊治进展. 肠病学 2009; 14: 718-720
- 11 陈刚. 功能性胃肠病的药物治疗进展. 中国医药指南 2013; 11: 455-457
- 12 李延青. 功能性消化不良的规范治疗—中国消化不良诊治指南解读(二). 中华全科医师杂志 2008; 7: 574-575
- 13 Jun JY, Choi S, Yeum CH, Chang IY, You HJ, Park CK, Kim MY, Kong ID, Kim MJ, Lee KP, So I, Kim KW. Substance P induces inward current and regulates pacemaker currents through tachykinin NK1 receptor in cultured interstitial cells of Cajal of murine small intestine. *Eur J Pharmacol* 2004; 495: 35-42 [PMID: 15219818 DOI: 10.1016/j.ejphar.2004.05.022]
- 14 陈燕, 徐珊. 功能性消化不良的现代研究与中医药治疗进展. 浙江中医学院学报 2005; 29: 89-90
- 15 邓丽君, 李静, 陆杰. P物质对胃肠感觉传入功能的影响. 重庆医科大学学报 2009; 34: 428-431
- 16 陈元方. 胃肠激素概述. 中华消化杂志 1996; 16: 45
- 17 陈代陆, 余德文, 卢国良, 刘绍华, 王湘平, 王振华. 胆囊收缩素与功能性消化不良患者胃电活动及胃运动相关性的临床研究. 中华消化杂志 2003; 23: 121-122

同行评价

本文通过建立FGIDs肝郁脾虚大鼠模型, 观察隔药饼灸对胃肠组织中SP表达及尿液D-木糖排泄率的影响, 探讨隔药饼灸对功能性胃肠病的治疗作用及其作用机制, 具有一定的指导意义。

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



溃疡性结肠炎大鼠结肠肌层突触小体相关蛋白25的表达变化

商博鑫, 董蕾, 史海涛, 王华, 杨素贞

■背景资料

突触小体相关蛋白25与突触小泡蛋白及突触融合蛋白在突触前膜形成核心复合体, 直接参与肠肌间神经元突触小泡与突触前膜的膜融合以及神经递质的释放, 与肠肌间神经元(myenteric neuron, MN)的感觉及运动功能密切相关。因此研究溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)时肠道肌层突触小体相关蛋白25的表达量的变化可直接反映肠肌间神经元的损伤及功能变化情况, 可更进一步了解UC感觉及运动障碍的发生机制。

商博鑫, 董蕾, 史海涛, 王华, 杨素贞, 西安交通大学第二附属医院消化内科 陕西省西安市 710004
 商博鑫, 主要从事神经胃肠病学与胃肠激素的研究。
 “十二五”国家科技支撑计划课题基金资助项目, No. 2012BAJ18B03-03

作者贡献分布: 此课题由商博鑫与董蕾设计; 研究过程由商博鑫、王华及杨素贞操作完成; 数据分析由商博鑫与史海涛完成; 本论文写作由商博鑫、史海涛及董蕾共同完成。

通讯作者: 董蕾, 教授, 主任医师, 710004, 陕西省西安市新城区西五路157号, 西安交通大学第二附属医院消化内科。dong556@126.com

电话: 029-87679272

收稿日期: 2015-04-01 修回日期: 2015-05-16

接受日期: 2015-06-09 在线出版日期: 2015-07-18

Change in expression of synaptosomal associated protein of 25 kDa in the colonic muscle layer of rats with ulcerative colitis

Bo-Xin Shang, Lei Dong, Hai-Tao Shi, Hua Wang, Su-Zhen Yang

Bo-Xin Shang, Lei Dong, Hai-Tao Shi, Hua Wang, Su-Zhen Yang, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Supported by: National Science and Technology Support Program in the “Twelfth Five-Year Plan” Period, No. 2012BAJ18B03-03

Correspondence to: Lei Dong, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, 157 Xiwu Road, Xincheng District, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China. dong556@126.com

Received: 2015-04-01 Revised: 2015-05-16

Accepted: 2015-06-09 Published online: 2015-07-18

Abstract

AIM: To investigate the change in the expression

of synaptosomal associated protein of 25 kDa (SNAP-25) in the colonic muscle layer of rats with ulcerative colitis (UC).

METHODS: A rat model of UC was induced by intracolonic instillation of 2,4-dinitrobenzene sulfonic acid (DNBS). Immunohistochemical technique was used to observe the density of SNAP-25 labeled axons in the colonic smooth muscle layer. The expression of SNAP-25 in the smooth muscle layer was semi-quantified by Western blot. Myeloperoxidase activity (MPO), malonaldehyde (MDA) and superoxide dismutase activity (SOD) were measured by biochemical methods, and the content of interleukin 1 β (IL-1 β) was measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

RESULTS: In the colonic smooth muscle layer of rats with DNBS induced UC, the density of the SNAP-25 labeled axons decreased to 22.60% of that in the control rats (23.76 ± 13.24 vs 5.37 ± 1.96 , $P < 0.01$), and the expression level of SNAP-25 decreased to 34.31% of that in the control rats ($P < 0.01$). Compared with the control group, MPO activity significantly increased (1.91 U/g wet weight ± 0.58 U/g wet weight vs 0.99 U/g wet weight ± 0.21 U/g wet weight, $P < 0.01$), SOD activity significantly declined (4.11 U/mg protein ± 1.80 U/mg protein vs 9.01 U/mg protein ± 2.17 U/mg protein, $P < 0.01$), MDA level (1.72 nmol/mg protein ± 0.28 nmol/mg protein vs 1.11 nmol/mg protein ± 0.27 nmol/mg protein, $P < 0.01$) and IL-1 β (181.51 pg/mg protein ± 55.30 pg/mg protein vs 84.27 pg/mg protein ± 42.27 pg/mg protein, $P < 0.01$).

■同行评议者

张小晋, 主任医师, 北京积水潭医院; 任粉玉, 教授, 延边大学附属医院消化内科

significantly increased in rats with UC.

CONCLUSION: In the smooth muscle layer of rats with DNBS induced UC, the expression of SNAP-25 decreases significantly, which may be partly attributed to increased inflammation and oxidative stress level in the colon.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Ulcerative colitis; Myenteric neuron; Synaptosomal associated protein of 25 kDa; Inflammation; Oxidative stress

Shang BX, Dong L, Shi HT, Wang H, Yang SZ. Change in expression of synaptosomal associated protein of 25 kDa in the colonic muscle layer of rats with ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(20): 3270-3276 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3270.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i20.3270>

摘要

目的: 观察溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)大鼠结肠肌层分子量为25 kDa的突触小体相关蛋白(synaptosomal associated protein of 25 kDa, SNAP-25)的表达情况。

方法: 应用2,4-二硝基苯磺酸(2,4-dinitrobenzene sulfonic acid, DNBS)灌肠的方法制作大鼠UC模型, 免疫组织化学评估结肠肌层SNAP-25标记的神经轴突的密度, Western blot半定量检测肌层SNAP-25含量, HE染色法评价结肠炎症状态, 生化检测方法评价结肠匀浆髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)活力、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活力及丙二醛(malonaldehyde, MDA)含量的变化, 酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)法检测白介素1 β (interleukin 1 β , IL-1 β)含量的变化。

结果: 在DNBS诱导的UC大鼠, 结肠肌层中SNAP-25标记的轴突密度减小为对照的22.60%(23.76个/百个平滑肌细胞 \pm 13.24个/百个平滑肌细胞 vs 5.37个/百个平滑肌细胞 \pm 1.96个/百个平滑肌细胞, $P<0.01$), 肠道肌层SNAP-25蛋白表达量减少为对照组的34.31%($P<0.01$)。与对照组相比, 结肠组织中MPO活力增高(1.91 U/g wet weight \pm 0.58 U/g wet weight vs 0.99 U/g wet weight \pm 0.21 U/g wet weight, $P<0.01$), SOD活力显著降低(4.11 U/mg protein \pm 1.80 U/mg protein vs 9.01

U/mg protein \pm 2.17 U/mg protein, $P<0.01$), MDA含量增高(1.72 nmol/mg protein \pm 0.28 nmol/mg protein vs 1.11 nmol/mg protein \pm 0.27 nmol/mg protein, $P<0.01$), IL-1 β 表达量增高(181.51 pg/mg protein \pm 55.30 pg/mg protein vs 84.27 pg/mg protein \pm 42.27 pg/mg protein, $P<0.01$)。

结论: DNBS诱导的UC大鼠的结肠肌层SNAP-25蛋白表达量明显减少, 肠道组织炎症及氧化应激水平增高可能是其重要原因之一。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 溃疡性结肠炎; 肠肌间神经元; 突触小体相关蛋白25; 炎症; 氧化应激

核心提示: 肠肌间神经元是肠道的重要组成部分, 与肠道的运动及感觉功能密切相关, 研究溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)时肠肌间神经元的损伤及突触小体相关蛋白25的表达情况可更加深入的认识UC的病理状态及症状产生机制。

商博鑫, 董蕾, 史海涛, 王华, 杨素贞. 溃疡性结肠炎大鼠结肠肌层突触小体相关蛋白25的表达变化. *世界华人消化杂志* 2015; 23(20): 3270-3276 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3270.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i20.3270>

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种非特异性慢性结肠炎症, 在我国发病率不断攀升, 严重影响患者生活质量。肠肌间神经元(myenteric neuron, MN)分布于肠道环形平滑肌和纵行平滑肌之间, 与肠平滑肌细胞及肠道外来的传入及传出神经元具有广泛的联系, 直接调节肠道运动及感觉, MN的损伤及功能异常可造成肠道感觉及运动功能障碍^[1,2]。UC患者在病理上不但有炎症表现, 并出现MN损伤, 有研究^[3]显示UC患者MN数目减少了61%以上。因此, UC患者的腹痛、腹泻、腹胀等感觉及运动功能异常相关症状与MN的损伤及功能异常密切相关, 保护MN不受损伤是治疗UC的重要方面, 对于改善症状及疾病预后意义重大。突触小体相关蛋白25(synaptosomal associated protein 25 kDa, SNAP-25)属于可溶性N-乙基马来酰亚胺敏感性因子结合蛋白受

■ 研究前沿

肠肌间神经元损伤及功能改变在UC的病理生理变化及症状成因方面所起的作用尚不完全清楚, 亟待进一步的研究阐明, 以利于对UC的病理生理和治疗评价进行更全面和深入的了解。

■ 相关报道

越来越多的研究者开始关注UC时肠神经元的损伤及功能变化情况, 提出肠神经元的损伤及功能变化与UC的疼痛、腹泻等症状密切相关, 为更加深入的理解UC的病理改变及发病机制提供了有价值的资料。

创新亮点

本文首次通过免疫组织化学染色及Western blot对UC大鼠结肠肌层中与肠肌间神经元密切相关的突触小体相关蛋白25的表达进行了定量研究, 得出该蛋白表达减少的结论, 并且分析了其机制可能与炎症和氧化应激水平升高相关。

体(soluble *N*-ethylmaleimide sensitive factor attachment protein receptor, SNARE)的一种, 与突触小泡蛋白及突触融合蛋白形成SNARE核心复合体, 直接参与MN细胞突触小泡与突触前膜的膜融合以及神经递质的释放, 与MN的感觉及运动功能密切相关, SNAP-25蛋白的正常表达是MN能够保持正常感觉及运动功能的重要基础。然而, 目前国内外在对UC时MN损伤情况进行研究的同时对结肠组织中SNAP-25蛋白的表达情况极少关注, 因此我们利用DNBS诱导大鼠生成UC模型, 采用免疫组织化学及Western blot来全面评价MN的损伤及SNAP-25蛋白在结肠组织的表达情况, 并且测定炎症及氧化应激相关指标来初步探讨产生SNAP-25蛋白表达量变化的原因。

1 材料和方法

1.1 材料 ♂ SD大鼠, 250-300 g, 购自西安交通大学实验动物中心。DNBS(Sigma, USA), SNAP-25兔抗大鼠多克隆抗体(Bioworld, USA), 辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔IgG抗体(Abcam, USA), ECL化学发光底物(Thermo Fisher, USA), RIPA蛋白裂解液(西安赫特生物科技有限公司), 髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)检测试剂盒(南京建成生物研究所), 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)检测试剂盒(碧云天, 上海), 白介素1 β (interleukin 1 β , IL-1 β)ELISA试剂盒(北京欣博盛生物科技有限公司)。垂直电泳槽/转膜仪、化学发光图像分析系统(天能, 上海)。

1.2 方法

1.2.1 大鼠UC模型的建立: 12只大鼠随机分成两组, 对照组及模型组各6只。适应性喂养5 d, 造模前禁食不禁水24 h, 采用Sanovic等^[4]描述的方法并进行改进, 应用DNBS的方法制作UC模型。具体如下, 腹腔注射10%的水合氯醛轻度麻醉大鼠后, 用直径2 mm的硅胶管经肛门插入8 cm后, 模型组缓慢注入溶解有DNBS的500 mL/L的乙醇, 使DNBS的剂量为100 mg/kg, 头低位保持30 s, 以使DNBS能够良好作用于造模部位, 对照组以生理盐水代替DNBS注入, 操作完成后由大鼠自然苏醒。

1.2.2 取材和组织准备: 正常喂养4 d后处死大鼠, 模型组以炎症中央为中点取材2 cm, 对

照组以距肛门8 cm处为中心取材2 cm。去处标本肠系膜后, 沿肠系膜连接处剪开肠管, 生理盐水冲洗干净。将标本切成小块, 一部分用4%的甲醛溶液固定, 石蜡包埋, 用于HE及免疫组织化学染色, 剩余部分用液氮速冻后保存于-80 °C冰箱, 用于检测其他指标。取结肠全层组织, 称质量, 加入冰生理盐水, 在冰上匀浆, 制作10%的匀浆液, 根据试剂盒要求直接用于测定MPO, 或者进行离心取上清用于SOD、MDA、IL-1 β 的测定。依照文献[5]的方法, 解剖显微镜下, 在冰生理盐水中快速剔除肠道黏膜层及黏膜下层, 分离出带有肠肌间神经元的肠道平滑肌组织(smooth muscle layer containing the myenteric plexus, SM/MP), 然后在RIPA裂解液中匀浆裂解, 4 °C孵育40 min后, 低温离心机中12000 *g*离心5 min, 上清液分装后用于Western blot检测。

1.2.3 结肠大体形态评分及HE染色后评分: 按Nosál'ová等^[6]的评价标准进行评分: 0分, 正常黏膜; 1分, 黏膜充血; 2分, 黏膜出血; 3分, 一处溃疡; 4分, 两处或更多溃疡; 5分, 溃疡沿肠道长轴长度>1 cm; 6-10分, 溃疡沿肠道长轴长度>2 cm, 长度每增加1 cm, 评分增加1分。常规切片, 厚度为4 μ m, 然后进行HE染色, 按照Tahan等^[7]描述的标准按照每一项的严重程度对炎症水平进行评分: (1)黏膜结构消失, 0-3分; (2)炎症细胞浸润, 0-3分; (3)平滑肌增厚, 0-3分; (4)腺窝脓肿形成, 0-1分; (5)杯状细胞减少, 0-1分。最后计算总分, 评分结果为0到11分。

1.2.4 结肠组织免疫组织化学染色及轴突密度评价: 沿着肠道纵轴连续切片, 切片厚度为4 μ m, 随机选取2张切片, 按照下述方法进行免疫组织化学染色: 脱蜡, 水化, 一抗4 °C孵育过夜, 孵育二抗, 显色, 苏木素复染, 脱水封片。每张切片随机计数5个400倍视野, 同时计数视野内平滑肌细胞核数目, 最后依照以下公式: 轴突密度 = 所有视野内轴突数目总和/所有视野内平滑肌细胞核数总和, 计量每只大鼠的轴突密度。

1.2.5 Western blot测定SM/MP中SNAP-25蛋白含量: 采用十二烷基硫酸钠-变性聚丙烯酰胺凝胶不连续缓冲系统, 先后配制12%的分离胶和4%的浓缩胶, 每条泳道上样20 μ g蛋白, 电泳, 应用转膜仪将凝胶上的蛋白转到

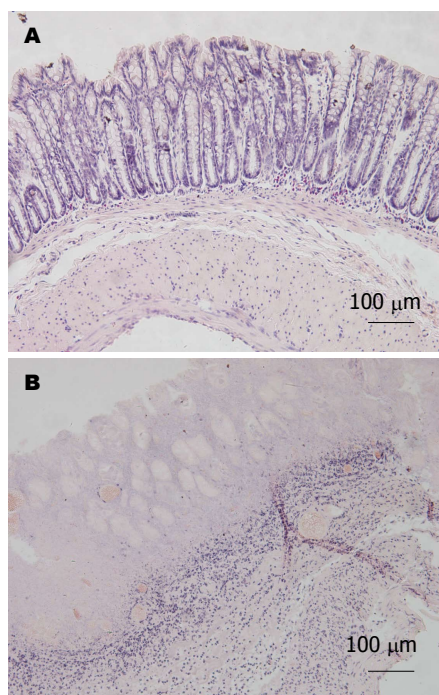


图1 结肠炎大鼠结肠组织HE染色结果($\times 200$). A: 对照结肠组织黏膜结构规则, 有完整的上皮、隐窝、黏膜下层及肌层; B: 在模型组大鼠结肠组织中可见到肠上皮细胞及杯状细胞消失、炎症细胞浸润、溃疡形成、隐窝结构变形及隐窝脓肿形成。

PVDF膜, 5%牛奶孵育1 h进行封闭, 兔抗大鼠SNAP-25抗体(1:1000稀释)4℃孵育过夜, 再用辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗(1:2000稀释)室温孵育1 h, 最后以ECL试剂盒显色, 化学发光图像分析系统采集图像并进行分析。

1.2.6 MPO、SOD、MDA的测定: 应用生化方法进行, 具体操作步骤依照试剂说明书进行。

1.2.7 结肠组织IL-1 β 含量的测定: 取100 μ L组织匀浆液上清加入包被有IL-1 β 的酶标板进行孵育, 接着按照试剂盒依次孵育生物素化的抗体工作液及酶结合工作液, 最后加入显色底物避光孵育, 应用酶标仪测定吸光度, 根据标准曲线计算每个样本的IL-1 β 含量。

统计学处理 计量资料采用mean \pm SD表示, 两组间比较采用独立样本 t 检验, 数据采用SPSS18.0统计软件包进行统计分析, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 结肠组织损伤大体形态及组织学炎症评分结果 大体标本观察可见模型组结肠有明显的充血水肿、糜烂及大小不一的溃疡形成, 并

可见局部黏膜发黑; 对照组黏膜光滑, 无明显充血水肿、糜烂及溃疡面。与对照组比较, 模型组大体炎症水平评分明显升高(6.3分 \pm 0.8分 vs 0.0分 \pm 0.0分, $P<0.01$)。显微镜下观察HE染色切片, 可见对照组结肠黏膜结构规则, 有完整的上皮、隐窝、黏膜下层及肌层(图1A)。在模型组大鼠结肠组织中可见到广泛的肠上皮细胞及杯状细胞消失、明显的炎症细胞浸润、溃疡形成、肌层增厚、隐窝结构变形及隐窝脓肿形成(图1B)。与对照组比较, 模型组肠道损伤评分明显升高(9.2分 \pm 1.7分 vs 0.7分 \pm 0.8分, $P<0.01$)。

2.2 结肠全层SNAP-25蛋白免疫组织化学表达及轴突密度变化结果 从图2A和图2B中可以看到, 相比于对照组, SNAP-25蛋白在DNBS诱导的UC大鼠的平滑肌层及肠肌间神经节表达明显减少。因SNAP-25蛋白标记的肠神经元突起主要为轴突^[8], 因此平滑肌层中经过SNAP-25标记的神经突起可以反映出轴突的密度, 如图2C所示, 与对照组相比, 模型组平滑肌中轴突密度明显减少(5.37个/百个平滑肌细胞 \pm 1.96个/百个平滑肌细胞 vs 23.76个/百个平滑肌细胞 \pm 13.24个/百个平滑肌细胞, $P<0.01$), 肠神经元的功能受到影响。

2.3 结肠SM/MP中SNAP-25蛋白表达Western blot结果 与对照组比较, 模型组结肠去处掉黏膜层及黏膜下层的SM/MP中SNAP-25蛋白表达量显著降低, 相对于对照组的表达量为34.31 \pm 23.73%($P<0.01$)(图3)。

2.4 结肠组织中MPO及SOD活力、MDA含量、IL-1 β 表达量变化结果 与对照组比较, 在全层结肠组织匀浆液中, SOD活力明显降低, 模型组MPO活力明显增高, MDA含量明显增高, IL-1 β 蛋白表达量明显增高(表1)。

3 讨论

结肠组织中的MN细胞是其肠神经系统的重要组成部分, 与外来神经元及自身之间形成紧密的联系, 构成结肠感觉及运动功能的解剖形态学基础^[9]。SNARE核心复合体广泛存在于神经元轴突末梢, 由突触小泡蛋白、突触融合蛋白及SNAP-25三种蛋白按照1:1:1的比例聚合形成, 介导突触囊泡的锚定和融合, 参与神经递质的停靠、释放等过程, 是肠道MN细胞的感觉及运动功能的分子学

应用要点

本文研究表明UC大鼠肠道肌层突触小体相关蛋白25的表达量明显下降, 该蛋白在肠道肌层的表达情况可能会成为评价UC患者感觉及运动功能的重要指标之一。

名词解释

可溶性N-乙基马来酰亚胺敏感性因子结合蛋白受体(soluble N-ethylmaleimide sensitive factor attachment protein receptor, SNARE)核心复合体: 广泛存在于神经元轴突末梢, 由突触小泡蛋白、突触融合蛋白及SNAP-25三种蛋白按照1:1:1的比例聚合形成, 介导突触囊泡的锚定和融合, 参与神经递质的停靠、释放等过程, 是肠道MN细胞的感觉及运动功能的分子学基础。

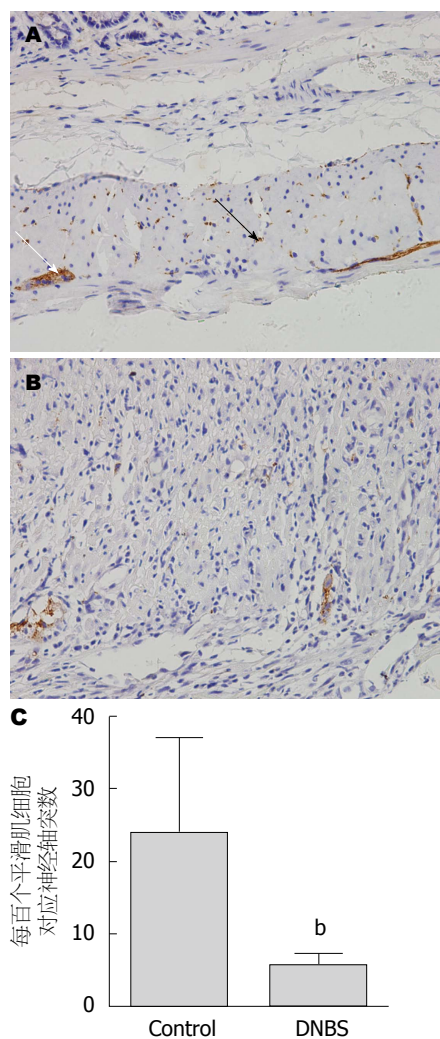


图 2 结肠炎大鼠结肠组织中SNAP-25蛋白表达及轴突密度。A: 对照组结肠组织SNAP-25蛋白表达情况($\times 400$); B: DNBS模型组结肠组织SNAP-25蛋白表达情况($\times 400$); C: 大鼠结肠肌层轴突密度。白色箭头所指棕黄色区域为肠肌间神经节, 黑色箭头所指的为平滑肌中的轴突。^b $P < 0.01$ vs Control组。Control组: 对照组; DNBS组: DNBS造模组。

基础^[10,11]。由于SNAP-25蛋白是SNARE核心复合体的重要结构成分, 因此, SNAP-25蛋白表达量的变化会直接影响到MN细胞的感觉及运动功能, 进而可能产生疼痛及腹泻等感觉及运动功能改变。已有研究显示UC时结肠组织中MN细胞密度降低^[3], 而SNAP-25蛋白广泛表达于MN细胞, 提示结肠SM/MP中SNAP-25蛋白的表达量可能会随着MN细胞数的减少而降低, 结肠肌层中神经轴突密度也可能而降低, 成为产生MN功能异常的重要原因。

Polí等^[12]的研究虽然应用SNAP-25抗体对UC大鼠模型肠道进行了免疫组织化学的

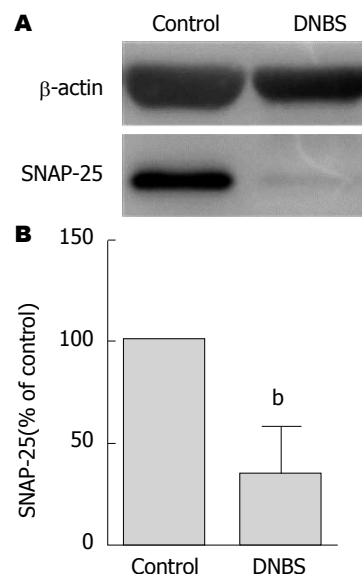


图 3 大鼠结肠组织中SNAP-25蛋白相对表达量。A: Western blot; B: 各组结肠SM/MP中SNAP-25蛋白表达量。^b $P < 0.01$ vs Control组。Control组: 对照组; DNBS组: DNBS造模组。

染色, 但只是进行了定性描述, 未进行进一步的定量研究。Sanovic等^[4]同样应用DNBS诱导的UC模型, 认为结肠肌层神经轴突密度并未发生变化, 可能与其使用了蛋白基因产物9.5(protein gene product 9.5, PGP 9.5)抗体相关, 因PGP 9.5抗体标记神经元的所有结构, 不能区分轴突和树突, 因此不能针对轴突进行准确地评价, 也可能与其观察的时间点有关。本研究应用免疫组织化学对结肠SNAP-25进行标记后, 利用SNAP-25蛋白同时可作为轴突标记的特点对平滑肌层中的轴突密度进行分析, 得出轴突密度减少的结论。在此基础上, 更进一步应用Western-blot对SNAP-25的表达进行了定量研究, 并且明确了急性炎症状况下SNAP-25蛋白在SM/MP组织中表达量减少。

已有研究^[13]表明, 炎症时组织氧化应激水平明显增高, 生成大量的活性氧及自由基, 而氧化应激是大脑神经元SNAP-25蛋白表达减少的重要原因, 具有抗氧化应激作用的维生素E可以抑制SNAP-25蛋白表达量的减少。另外, 双氧水作为常用的氧化应激诱导剂, 使体外培养的肠肌间神经元细胞计数及SNAP-25蛋白表达量明显减少, 其部分机制是通过诱导细胞产生凋亡实现的^[14]。动物实验研究^[15,16]表明, UC大鼠模型结肠组织炎症反应明显, 氧化应

表 1 结肠组织中MPO及SOD活力、MDA含量、IL-1 β 表达量变化 ($n = 6$, mean \pm SD)

分组	MPO (U/g wet weight)	SOD (U/mg protein)	MDA (nmol/mg protein)	IL-1 β (pg/mg protein)
Control组	0.99 \pm 0.21	9.01 \pm 2.17	1.11 \pm 0.27	84.27 \pm 42.27
DNBS组	1.91 \pm 0.58 ^b	4.11 \pm 1.80 ^b	1.72 \pm 0.28 ^b	181.51 \pm 55.30 ^b

^b $P < 0.01$ vs Control组. Control组: 对照组; DNBS组: DNBS造模组. MPO: 髓过氧化物酶; SOD: 超氧化物歧化酶; MDA: 丙二醛; IL-1 β : 白介素1 β .

同行评价

本文设计合理, 方法可靠, 具有可读性及学术价值, 对UC的进一步研究有参考价值.

激水平增高. 在本实验中, DNBS诱导UC大鼠结肠有明显的炎症表现, 炎症评分及组织中炎症指标MPO和IL-1 β 明显升高, 同时抗氧化物质SOD减少, 脂质过氧化产物MDA含量明显增多, 提示大鼠结肠急性炎症和氧化应激很可能是造成SNAP-25蛋白表达减少及轴突密度减少的直接原因.

肠肌间神经元完整的形态及功能结构是肠道正常运动及感觉功能的基础, 本研究提示UC大鼠SNAP-25蛋白表达量减少, 结肠肌层轴突密度降低, 为评价UC患者的结肠神经结构及肠道感觉及运动功能提供了病理学基础, 为以后更加深入的研究UC的肠道感觉及运动障碍提供了新的依据.

4 参考文献

- Linden DR. Enhanced excitability of guinea pig ileum myenteric AH neurons during and following recovery from chemical colitis. *Neurosci Lett* 2013; 545: 91-95 [PMID: 23628671 DOI: 10.1016/j.neulet.2013.04.021]
- Yarandi SS, Srinivasan S. Diabetic gastrointestinal motility disorders and the role of enteric nervous system: current status and future directions. *Neurogastroenterol Motil* 2014; 26: 611-624 [PMID: 24661628 DOI: 10.1111/nmo.12330]
- Bernardini N, Segnani C, Ippolito C, De Giorgio R, Colucci R, Faussone-Pellegrini MS, Chiarugi M, Campani D, Castagna M, Mattii L, Blandizzi C, Dolfi A. Immunohistochemical analysis of myenteric ganglia and interstitial cells of Cajal in ulcerative colitis. *J Cell Mol Med* 2012; 16: 318-327 [PMID: 21426484 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2011.01298.x]
- Sanovic S, Lamb DP, Blennerhassett MG. Damage to the enteric nervous system in experimental colitis. *Am J Pathol* 1999; 155: 1051-1057 [PMID: 10514387 DOI: 10.1016/s0002-9440(10)65207-8]
- Lourenszen S, Wells RW, Blennerhassett MG. Differential responses of intrinsic and extrinsic innervation of smooth muscle cells in rat colitis. *Exp Neurol* 2005; 195: 497-507 [PMID: 16098965 DOI: 10.1016/j.expneurol.2005.06.012]
- Nosál'ová V, Zeman M, Cerná S, Navarová J, Zakálová M. Protective effect of melatonin in acetic acid induced colitis in rats. *J Pineal Res* 2007; 42: 364-370 [PMID: 17439553 DOI: 10.1111/j.1600-079X.2007.00428.x]
- Tahan G, Gramignoli R, Marongiu F, Aktolga S, Cetinkaya A, Tahan V, Dorko K. Melatonin expresses powerful anti-inflammatory and antioxidant activities resulting in complete improvement of acetic-acid-induced colitis in rats. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 715-720 [PMID: 20676767 DOI: 10.1007/s10620-010-1364-5]
- Tasdemir S, Parlakpınar H, Vardi N, Kaya E, Acet A. Effect of endogen-exogenous melatonin and erythropoietin on dinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis. *Fundam Clin Pharmacol* 2013; 27: 299-307 [PMID: 22151426 DOI: 10.1111/j.1472-8206.2011.01016.x]
- Furness JB, Callaghan BP, Rivera LR, Cho HJ. The enteric nervous system and gastrointestinal innervation: integrated local and central control. *Adv Exp Med Biol* 2014; 817: 39-71 [PMID: 24997029 DOI: 10.1007/978-1-4939-0897-4_3]
- Barrenschée M, Böttner M, Harde J, Lange C, Cossais F, Ebsen M, Vogel I, Wedel T. SNAP-25 is abundantly expressed in enteric neuronal networks and upregulated by the neurotrophic factor GDNF. *Histochem Cell Biol* 2015; 143: 611-623 [PMID: 25655772 DOI: 10.1007/s00418-015-1310-x]
- Shin OH. Exocytosis and synaptic vesicle function. *Compr Physiol* 2014; 4: 149-175 [PMID: 24692137 DOI: 10.1002/cphy.c130021]
- Poli E, Lazzaretti M, Grandi D, Pozzoli C, Coruzzi G. Morphological and functional alterations of the myenteric plexus in rats with TNBS-induced colitis. *Neurochem Res* 2001; 26: 1085-1093 [PMID: 11699935]
- Kaneai N, Arai M, Takatsu H, Fukui K, Urano S. Vitamin E inhibits oxidative stress-induced denaturation of nerve terminal proteins involved in neurotransmission. *J Alzheimers Dis* 2012; 28: 183-189 [PMID: 21971407 DOI: 10.3233/jad-2011-111133]
- Lourenszen S, Miller KG, Blennerhassett MG. Discrete responses of myenteric neurons to structural and functional damage by neurotoxins in vitro. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009; 297: G228-G239 [PMID: 19407212 DOI: 10.1152/ajpgi.90705.2008]
- 钟江鹏, 李登欣, 李石, 李杰, 徐静. 己酮可可碱对大鼠溃疡性结肠炎TNF- α 及IL-1 β 表达的影响. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 3679-3683

16 Boussenna A, Goncalves-Mendes N, Joubert-Zakeyh J, Pereira B, Fraisse D, Vasson MP, Texier O, Felgines C. Impact of basal diet on dextran

sodium sulphate (DSS)-induced colitis in rats. *Eur J Nutr* 2014 Nov 20. [Epub ahead of print] [PMID: 25410748 DOI: 10.1007/s00394-014-0800-2]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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、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.

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》、《中国生物学文摘》等国内外相关文摘与检索系统收录.

内镜下钬激光碎石术治疗胃石症的临床效果评价

许琮, 黎培员, 覃华, 周琦, 赵秋

许琮, 黎培员, 覃华, 周琦, 华中科技大学同济医学院附属
同济医院消化内科 湖北省武汉市 430030

赵秋, 武汉大学中南医院消化内科 湖北省武汉市 430071

许琮, 主要从事消化系统肿瘤的研究。

武汉市科技局应用基础研究基金资助项目, No. 2014060101010052

作者贡献分布: 此课题由赵秋与周琦设计; 研究过程由许琮、黎培员及覃华共同完成; 数据分析及论文撰写由许琮与周琦完成。

通讯作者: 周琦, 副教授, 430030, 湖北省武汉市解放大道 1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科。
zhouqi1973@hotmail.com

电话: 027-83663595

收稿日期: 2015-05-08 修回日期: 2015-06-15

接受日期: 2015-06-19 在线出版日期: 2015-07-18

Curative effect of endoscopic holmium laser lithotripsy in management of gastric bezoars

Cong Xu, Pei-Yuan Li, Hua Qin, Qi Zhou, Qiu Zhao

Cong Xu, Pei-Yuan Li, Hua Qin, Qi Zhou, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Qiu Zhao, Department of Gastroenterology, Zhongnan Hospital, Wuhan University, Wuhan 430071, Hubei Province, China

Supported by: Wuhan Science and Technology Department Applied Basic Research Project, No. 2014060101010052

Correspondence to: Qi Zhou, Associate Professor, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Avenue, Wuhan 430030, Hubei Province, China. zhouqi1973@hotmail.com

Received: 2015-05-08 Revised: 2015-06-15

Accepted: 2015-06-19 Published online: 2015-07-18

Abstract

AIM: To assess the curative effect of endoscopic holmium laser lithotripsy in the management

of gastric bezoars.

METHODS: This study was a retrospective analysis of a collection of data over a five-year period. From January 2009 to December 2014, 37 patients were diagnosed with gastric bezoars using endoscopy. Internal medicine, polyp snare forceps, basket forceps, foreign-body forceps or holmium laser lithotripsy was performed to remove the stones for different patients.

RESULTS: Thirteen cases received internal medicine or coke treatment, 11 of whom were cured and 2 of whom failed and were transferred to surgery. Seventeen patients were treated with polyp snare or foreign-body forceps; the average operating time was $92.35 \text{ min} \pm 44.80 \text{ min}$ and the average number of damaged basket forceps was 1.86 ± 0.62 . Seven cases received holmium laser lithotripsy; the average operating time was $22.15 \text{ min} \pm 10.35 \text{ min}$ and the average number of damaged basket forceps was 0.44 ± 0.40 . All of these patients who received holmium laser lithotripsy were cured in two weeks.

CONCLUSION: Holmium laser lithotripsy is a safe and reliable treatment for gastric bezoars, and can effectively and quickly alleviate clinical symptoms, especially for multiple, big and hard gastric bezoars.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gastric bezoars; Holmium laser lithotripsy; Endoscopic therapy

Xu C, Li PY, Qin H, Zhou Q, Zhao Q. Curative effect of

■背景资料

胃石症, 因食入不易消化的动、植物成分而形成团块状物, 临床上患者常并发胃溃疡、上消化道出血、幽门梗阻, 严重者可导致胃穿孔及腹膜炎等, 多采用外科开腹或腹腔镜治疗, 但手术所伴随的风险以及可能带来的不良反应较高。内镜下机械碎石术应用于胃结石的治疗越来越多, 包括胃镜直视下利用异物钳、圈套器、取石网篮等器械机械性切割胃石后再取出。虽然这些技术可以有效地解除患者的痛苦、改善临床症状, 却都存在一定的局限性。

■同行评议者

刘杰民, 副主任医师, 贵州省人民医院消化内科

■ 相关报道

激光技术自诞生以来在医学应用中不断得以扩展, 不仅能粉碎结石且碎石后的颗粒比其他碎石方法细小, 具有良好的切割、汽化及止血功能, 早期主要应用于普外科疾病的治疗, 特别是泌尿系结石、胆囊结石等的碎石治疗, 疗效确切。

endoscopic holmium laser lithotripsy in management of gastric bezoars. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(20): 3277-3282 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3277.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i20.3277>

摘要

目的: 探讨内镜直视下钬激光碎石术治疗胃结石的策略和临床价值。

方法: 回顾性分析2009-01/2014-12华中科技大学同济医学院附属同济医院37例经胃镜检查诊断发现胃或十二指肠结石患者的病例资料。对单纯内科药物或可乐治疗、采取圈套器、异物钳碎石术治疗以及钬激光碎石术治疗胃石症的临床疗效进行总结分析, 结合手术操作的时间及设备的耗损进行对比分析, 比较各种方法的优点及缺点。

结果: 37例患者中13例患者采用单纯药物或可乐治疗, 11例患者随访胃镜显示结石消失或减小, 临床症状明显改善, 2例失败转为手术治疗; 17例患者采用圈套器或异物钳碎石治疗, 16例患者痊愈或明显缓解症状, 1例发生幽门梗阻转外科继续治疗, 平均耗时 $92.35 \text{ min} \pm 44.80 \text{ min}$, 平均损耗器械 $1.86 \text{ 个} \pm 0.62 \text{ 个}$; 采用钬激光碎石术治疗7例, 结石直径较大且多位多发, 术后2 wk复查胃结石均明显消失, 操作平均耗时 $22.15 \text{ min} \pm 10.35 \text{ min}$, 平均者损耗器械 $0.44 \text{ 个} \pm 0.40 \text{ 个}$ 。

结论: 钬激光碎石术是一种可靠安全的治疗胃结石的手段, 尤其对多发、质地较硬、体积较大的胃结石可以迅速有效地解除患者的痛苦。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃结石; 钬激光碎石术; 内镜下治疗

核心提示: 回顾性分析评价胃石症不同治疗方式的临床疗效, 发现钬激光应用于胃内多发、巨大结石具有独特的优势, 是治疗胃石症安全、低耗、不良反应极小的“有效武器”, 临床效果明显优于药物或可乐溶石及圈套器、异物钳碎石术。

许琮, 黎培员, 覃华, 周琦, 赵秋. 内镜下钬激光碎石术治疗胃石症的临床效果评价. 世界华人消化杂志 2015; 23(20): 3277-3282 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3277.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i20.3277>

0 引言

胃结石是人体因食入不易消化的动、植物成分, 滞留胃内在胃酸作用下凝结成固块而沉积于胃腔内引起的疾病^[1]. 有些患者还存在胃蠕动功能障碍(如糖尿病胃轻瘫或残胃术后功能障碍等). 过去对这类疾病的发病率报道不到0.4%^[2], 随着检查技术的不断进步, 这类疾病的检出率呈上升趋势. 根据胃结石组成成分的不同, 分为五种类型: 植物性胃石、毛发性胃石、药物性胃石、食物团及婴幼儿食入不消化的牛奶成分而形成的乳酸性胃石等^[3], 其中植物性胃结石最常见. 临床上多数植物性胃结石是因进食特别是空腹食用大量柿子、黑枣等食物引起的, 一旦形成难以自行排出, 常引起多种症状, 如不及时治疗还会出现出血、穿孔、肠梗阻等严重并发症^[4]. 过去胃石症主要是依靠手术治疗或者药物保守治疗^[5], 容易出现梗阻. 随着内镜、激光和光纤技术的不断发展, 内镜下碎石早已成为主流治疗方式, 主要包括: 钬激光碎石术、碎石器碎石术、网篮取石术、激光微爆破碎石术等^[6]. 本研究回顾性分析华中科技大学同济医学院附属同济医院2009-01/2014-12胃镜检查发现植物性胃石症患者, 分为单纯药物或可乐治疗组13例, 圈套器、异物钳碎石术组17例及钬激光碎石组7例, 评价钬激光碎石术在治疗胃石症方面的临床效果。

1 材料和方法

1.1 材料 回顾性分析2009-01/2014-12华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内镜中心检查发现植物性胃结石患者共计53例, 其中男27例, 女26例, 年龄21-81岁, 平均年龄55.3岁. 经详细询问病史均有大量食用柿子、山楂等病史. 其中5例因胃石巨大坚硬于幽门部或十二指肠球降部发生嵌顿而转入外科治疗, 11例患者未行内镜下治疗且随访资料不完善. 共计37例患者行内镜下治疗或内科药物治疗并随访资料完整, 纳入为本研究的研究对象. 钬激光碎石机为美国LUMENIS公司型号0638-804-00, 日本OLYMPUS公司一次性圈套器15 mm(SD-210U-15 44V)及25 mm(SD-210U-25 46V)美国COOK公司取石网篮(MWB-3X6)及鼠齿鳄口形异物钳(FG-49L-1).

1.2 方法

1.2.1 单纯药物或可乐治疗组: 5例患者采取5%

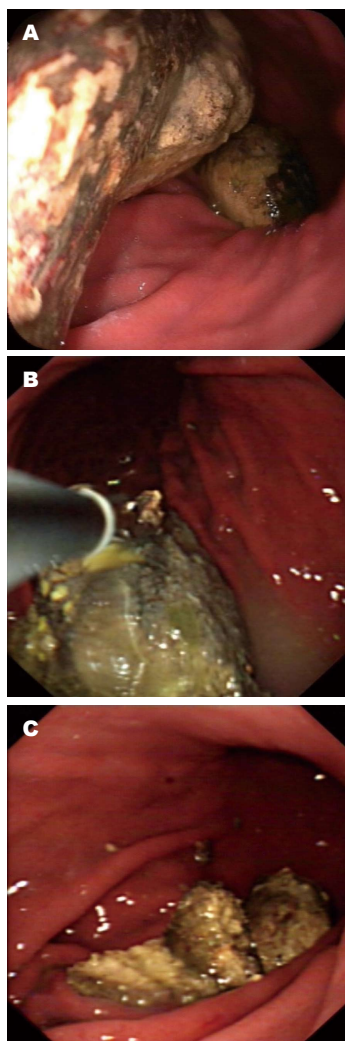


图1 异物钳、圈套器治疗胃多发结石过程. A: 胃镜直视下多发结石; B: 异物钳碎石; C: 术后1 mo复查胃镜显示胃内仍残留结石.

碳酸氢钠50 mL每天3次口服治疗, 同时给予胃黏膜保护剂及质子泵抑制剂治疗. 8例患者接受可口可乐溶石治疗, 合并巨大溃疡或出血者先使用质子泵抑制剂及胃黏膜保护及5-7 d后, 嘱患者每日空腹饮用可口可乐600-1200 mL, 连续饮用3-10 d.

1.2.2 圈套器、异物钳碎石术组: 胃镜直视下以异物钳或圈套器反复钳夹、磨损或勒切结石, 待结石破碎变小后用取石网篮或异物钳取出(图1). 术后予以5%碳酸氢钠、质子泵抑制剂、胃黏膜保护剂或胃动力药物促进排石.

1.2.3 钬激光碎石术组: 采用钬激光机碎石能量2.0-2.5 J, 频率10 Hz, 以20-30 W的功率碎石, 结石部分溶解或大部分破碎后, 以取石网篮或异物钳取出(图2), 术后辅以质子泵抑制剂、胃黏膜保护剂、5%碳酸氢钠或可口可乐治疗.

考虑到患者的耐受性及操作的安全性、可行性, 我们规定内镜下治疗操作时间不超过2 h, 若不能完成则考虑多次内镜下碎石、取石.

1.2.4 随访: 患者定期或不定期门诊或内镜复查随访, 观察有无腹痛、腹胀、食欲不振等腹部不适症状及内镜下结石是否有残余, 随访半个月到两年不等.

统计学处理 利用SPSS17.0软件进行统计分析. 统计样本为等级资料时, 利用Wilcoxon秩和检验; 统计样本为计量资料时, 利用 χ^2 检验, 连续数据用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 组间计量资料均数的比较采用 t 检验, 组间计数资料采用Fisher精确检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 3组胃石症患者治疗效果及疗效比较 单纯药物或可乐治疗组: 13例患者结石均位于胃体, 结石大小约 $0.5 \text{ cm} \times 0.2 \text{ cm}$ - $3.0 \text{ cm} \times 3.0 \text{ cm}$, 10例为单发结石, 12例患者合并有胃窦部或球部溃疡, 溃疡直径 $0.1 \text{ cm} \times 0.2 \text{ cm}$ - $0.8 \text{ cm} \times 0.9 \text{ cm}$ 大小不等. 治疗1-2 mo后内镜复查显示, 结石消失、原先合并溃疡者溃疡面愈合者7例; 胃石虽仍存在但明显缩小, 临床症状明显改善者4例, 2例患者治疗效果不佳, 转外科继续治疗, 治疗有效率为84.615%.

圈套器、异物钳碎石组: 共计17例患者, 2例患者结石位于十二指肠球部, 15例位于胃腔内. 2例患者结石直径较小, 异物钳直接取石成功. 15例患者采用圈套器碎石术, 结石直径大小约 $3 \text{ cm} \times 2 \text{ cm}$ - $5 \text{ cm} \times 5 \text{ cm}$ 不等, 平均直径约 3.5 cm 大小左右, 14例结石为单发, 11例患者合并胃窦、胃角或球部溃疡. 治疗结束后16例患者结石消失或症状明显缓解, 仅1例发生幽门梗阻转外科治疗, 治疗有效率为94.117%.

钬激光碎石组: 7例患者结石直径 $4 \text{ cm} \times 3 \text{ cm}$ - $6 \text{ cm} \times 6 \text{ cm}$ 不等, 平均直径 4.5 cm 左右, 3例单发结石, 2例两个结石, 3例为多发结石, 其中1例患者的结石位于胃体及十二指肠球部, 剩余患者结石均位于胃体. 7例患者治疗结束后全部患者复查结石消失或症状明显缓解, 治疗有效率为100%.

经Wilcoxon秩和检验 $P < 0.001$, 说明三种不同治疗方式临床疗效有明显差异, 其中内镜下治疗方式明显优于单独药物或可乐治疗.

■ 创新盘点

本研究旨在对比评价胃石症不同治疗方式的临床效果, 特别是探索并总结发现钬激光碎石术的独特优势, 以期尽早解除患者的痛苦.

应用要点

钬激光可以迅速击碎多种质地结石, 碎石后体积较小便于排出, 同时还具有一定的止血效果, 避免损伤溃疡及周围组织, 是一种安全有效的治疗方式, 缩短治疗时间并且减少并发症的发生。

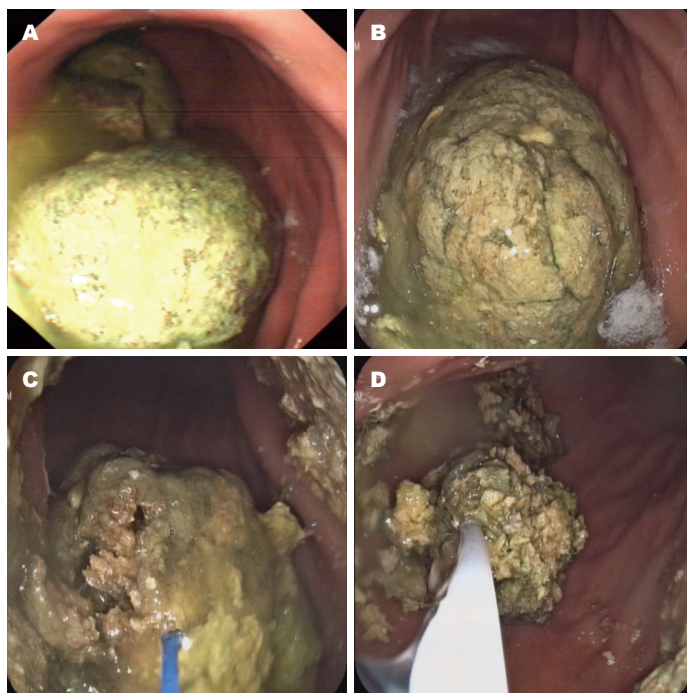


图 2 钬激光治疗胃多发结石过程. A: 胃镜直视下多发结石; B: 最大胃石直径约为5 cm; C: 对最大胃石行钬激光碎石术; D: 对较小胃石行钬激光碎石术。

2.2 两组内镜下处理组临床特征及疗效分析比较 圈套器、异物钳碎石组17例患者, 14例患者结石为单发, 平均直径 $3.03\text{ cm} \pm 1.45\text{ cm}$, 而钬激光碎石组7例患者中仅2例为单发结石, 平均直径 $4.79\text{ cm} \pm 1.44\text{ cm}$, 经统计分析 P 值分别为0.02和0.01, 说明钬激光碎石组的结石直径较大且多发结石居多, 内镜下操作难度相对较大。

圈套器、异物钳碎石组碎石操作平均耗时 $92.35\text{ min} \pm 44.80\text{ min}$, 损耗器械平均 $1.86\text{ 个} \pm 0.62\text{ 个}$, 术后2 wk复查胃镜结石消失且溃疡痊愈8例, 钬激光碎石组操作平均耗时 $22.15\text{ min} \pm 10.35\text{ min}$, 损耗器械 $0.44\text{ 个} \pm 0.40\text{ 个}$, 术后2 wk复查7例患者胃镜显示结石消失且溃疡痊愈, 经统计学分析后均 $P < 0.05$, 说明钬激光碎石不仅操作时间明显缩短、降低器械损耗, 更重要的是, 患者结石和症状可以较快缓解, 尽早解除患者的病痛。

3 讨论

我国胃石症以植物性胃石常见, 特别是空腹食用大量富含鞣酸、酒石酸的食物(柿子、黑枣等)在胃酸环境下形成凝块, 后因反复胃肠蠕动而形成坚硬固块^[7]。胃石对胃壁产生机械压迫继发胃壁黏膜缺血坏死, 加上胃酸的刺激, 因此大约70%-90%的胃石症患者合并有胃或十二指肠溃疡^[8,9]。本研究的37例患者中有30例(81%)合并有胃或十二指肠溃疡, 此类患者内

镜下治疗后仍需使用质子泵抑制剂类药物及胃黏膜保护剂继续治疗。此外胃部手术、老年或糖尿病引起胃肠动力减慢也是导致胃石症的重要原因。

胃石症的诊断过去并没有明确的标准, 而治疗大多采用外科开腹或腹腔镜治疗^[8]。由于手术所伴随的风险以及可能带来的不良反应, 非手术治疗方式越来越多, 包括流质饮食、碳酸氢钠药物处理、木瓜蛋白酶、乙酰半胱氨酸等酶溶解处理方式等^[10]。伴随内镜技术的不断革新和进步, 人们对胃石症的诊断及治疗水平也不断提高。自内镜下治疗胃石症以来, 内镜下机械碎石术应用于胃结石的治疗越来越多, 包括胃镜直视下利用异物钳、圈套器、取石网篮等器械机械性切割胃石后再取出^[7]。虽然这些技术可以有效地解除患者的痛苦、改善临床症状, 却都存在一定的局限性^[11]。

药物溶石通常选用碳酸氢钠, 适合直径较小、形成不久、质地较软的胃石, 对病程长及胃石表面坚硬者效果差, 且长期大量使用碳酸氢钠还有引起消化不良及碱中毒等后果。可口可治疗胃石症是2002年Ladas等^[3]发现的一种简单易行的方法, 后各国学者的个案报道也均获成功, 包括华中科技大学同济医学院附属同济医院内镜中心研究也曾发现可治疗胃石症特别是联合内镜下治疗效果确切、患者易于接受^[4], 但若长期不能缓解, 发生嵌顿、梗阻及穿

孔的风险则增加,反而会增加患者的痛苦。

随着医疗技术的不断发展,内镜下无创性摘除或粉碎胃结石越来越得到人们的重视和推广,对胃结石的缓解可以起到立竿见影的效果。而内镜下机械碎石术除了对治疗设备要求较高外,对较大、较硬的结石操作时间也会相对延长^[12]。我院过去多采用异物钳、圈套器、取石网篮将结石逐渐捣碎,异物钳和圈套器由于张开口径较小,每次钳取体积很小,钳夹质地较硬或体积较大结石时常常会被损坏,操作时间也相对延长。

激光技术自诞生以来在医学应用中不断得以扩展,解决了临床工作中的多种难题,而钬激光是以钇铝石榴石(YAG)为激活媒质,掺敏化离子铬(Cr)、传能离子铥(Tm)、激活离子钬(Ho)的激光晶体(Cr:Tm:Ho:YAG)制成的脉冲固体激光装置产生的新型激光,对软组织精确的消融、汽化、切割、凝固、止血等作用,可以防止误伤黏膜,碎石效率高且安全^[13],早期主要应用于泌尿外科多种疾病的处理,而后逐渐发展拓展可应用于普外科、耳鼻喉科等多种疾病的治疗,特别是泌尿系结石、胆囊结石等的碎石治疗^[14]。华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内镜中心自购买钬激光碎石机以来,7例患者均成功经钬激光碎石并取石,其中3例患者由于结石在直径4 cm×5 cm至6 cm×6 cm之间,均为胃体、十二指肠多发结石,既往可能无法行内镜处理而需行手术治疗,钬激光治疗操作平均花费22.15 min±10.35 min,钬激光碎石后结石体积往往较小,因而器械损耗平均仅0.44个±0.40个,2 wk后复查患者胃内结石消失,溃疡面也基本愈合。可见采用钬激光碎石组平均碎石时间及器械损耗显著低于圈套碎石组,患者的结石消失及溃疡愈合较快,是治疗胃石症安全、低耗、不良反应极小的“有效武器”,临床效果明显优于药物或可乐溶石及圈套器、异物钳碎石术。

总结钬激光碎石术治疗胃石症有其独特的优点: (1)钬激光波长2.1 μm属于近红外波段范围内,这一波长范围内可以通过软性硅晶体光纤传送并且容易被周围的水介质吸收,是内镜下激光治疗方法中安全有效的一种^[14]; (2)钬激光是一种高能脉冲式固体激光,释放能量可以迅速击碎多种质地结石,且结石经碎石后体积多为细小颗粒,便于排出^[15]; (3)鉴

于胃结石患者多数伴有消化道溃疡,而钬激光对周围组织的热凝固损伤较小同时可以产生一定的止血效果^[16],既可以保持内镜下操作视野清晰又可以避免损伤溃疡及周围组织。

总之,采用钬激光碎石术在治疗巨大且多发的胃结石方面发挥令人满意的效果,极大程度的解除患者的痛苦,减少并发症的发生,缩短治疗时间,提高了治疗的安全性,同时大大降低了患者的治疗成本。

4 参考文献

- 1 Mao Y, Qiu H, Liu Q, Lu Z, Fan K, Huang Y, Yang Y. Endoscopic lithotripsy for gastric bezoars by Nd: YAG laser-ignited mini-explosive technique. *Lasers Med Sci* 2014; 29: 1237-1240 [PMID: 24362923 DOI: 10.1007/s10103-013-1512-1]
- 2 Andrus CH, Ponsky JL. Bezoars: classification, pathophysiology, and treatment. *Am J Gastroenterol* 1988; 83: 476-478 [PMID: 3284334]
- 3 Ladas SD, Kamberoglou D, Karamanolis G, Vlachogiannakos J, Zouboulis-Vafiadis I. Systematic review: Coca-Cola can effectively dissolve gastric phytobezoars as a first-line treatment. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 37: 169-173 [PMID: 23252775 DOI: 10.1111/apt.12141]
- 4 黎培员, 覃华, 吴小力, 赵秋, 李荣香, 侯伟, 田德安. 胃石症25例临床分析及可口可乐治疗价值观察. *中华消化内镜杂志* 2011; 28: 581-582
- 5 Robles R, Parrilla P, Escamilla C, Lujan JA, Torralba JA, Liron R, Moreno A. Gastrointestinal bezoars. *Br J Surg* 1994; 81: 1000-1001 [PMID: 7922045]
- 6 Iwamuro M, Okada H, Matsueda K, Inaba T, Kusumoto C, Imagawa A, Yamamoto K. Review of the diagnosis and management of gastrointestinal bezoars. *World J Gastrointest Endosc* 2015; 7: 336-345 [PMID: 25901212 DOI: 10.4253/wjge.v7.i4.336]
- 7 樊超强, 张朋彬, 于劲, 刘璐, 宋元鲲, 王雷. 口服5%碳酸氢钠溶液联合胃镜序贯治疗胃石症的疗效观察. *中华消化内镜杂志* 2013; 30: 404-406
- 8 Kuo JY, Mo LR, Tsai CC, Chou CY, Lin RC, Chang KK. Nonoperative treatment of gastric bezoars using electrohydraulic lithotripsy. *Endoscopy* 1999; 31: 386-388 [PMID: 10433049 DOI: 10.1055/s-1999-24]
- 9 张贺军, 崔荣丽, 金珠. 胃石症临床特征分析及其与幽门螺杆菌感染的关系. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1714-1716
- 10 Gaia E, Gallo M, Caronna S, Angeli A. Endoscopic diagnosis and treatment of gastric bezoars. *Gastrointest Endosc* 1998; 48: 113-114 [PMID: 9684687]
- 11 Senturk O, Hulagu S, Celebi A, Korkmaz U, Duman AE, Dindar G, Bozkurt N, Yilmaz H, Ozturkler M, Can B, Batman A. A new technique for endoscopic treatment of gastric phytobezoars: fragmentation using guidewire. *Acta Gastroenterol Belg* 2014; 77: 389-392 [PMID: 25682627]
- 12 Park SE, Ahn JY, Jung HY, Na S, Park SJ, Lim H, Choi KS, Lee JH, Kim do H, Choi KD, Song HJ, Lee

■同行评价

本文通过探索采用钬激光碎石术治疗巨大、多发胃结石的效果,发现该技术能解除患者的痛苦,减少并发症的发生,缩短治疗时间,提高了治疗的安全性,同时大大降低了患者的治疗成本,对指导临床工作具有一定的意义。

- GH, Kim JH. Clinical outcomes associated with treatment modalities for gastrointestinal bezoars. *Gut Liver* 2014; 8: 400-407 [PMID: 25071905 DOI: 10.5009/gnl.2014.8.4.400]
- 13 Albert P. The holmium: YAG laser: applications in urology. *Clin Laser Mon* 1993; 11: 39-41 [PMID: 10148342]
- 14 Kronenberg P, Traxer O. Update on lasers in urology 2014: current assessment on holmium: yttrium-aluminum-garnet (Ho: YAG) laser lithotripter settings and laser fibers. *World J Urol* 2015; 33: 463-469 [PMID: 25185524 DOI: 10.1007/s00345-014-1395-1]
- 15 Delvecchio FC, Preminger GM. Endoscopic management of urologic disease with the holmium laser. *Curr Opin Urol* 2000; 10: 233-237 [PMID: 10858903]
- 16 Wollin TA, Denstedt JD. The holmium laser in urology. *J Clin Laser Med Surg* 1998; 16: 13-20 [PMID: 9728125]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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: ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$; 第 3 套为^e $P < 0.05$, ^f $P < 0.01$ 。 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/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/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。

胃十二指肠溃疡合并真菌感染的临床及内镜特点分析240例

洪军波, 左 玮, 汪安江, 徐 珊, 朱宏涛, 祝 荫, 吕农华

洪军波, 汪安江, 朱宏涛, 祝荫, 吕农华, 南昌大学第一附属医院消化内科 江西省南昌市 330006

左玮, 南昌大学第一附属医院呼吸内科 江西省南昌市 330006

徐珊, 南昌大学第一附属医院病理科 江西省南昌市 330006
 江西省科技厅基金资助项目, No. 20113BCB24019

作者贡献分布: 此课题由洪军波、左玮及汪安江设计; 数据收集由洪军波与朱宏涛完成; 病理分析由徐珊完成; 数据分析及论文写作由洪军波、祝荫及吕农华完成。

通讯作者: 吕农华, 教授, 330006, 江西省南昌市永外正街17号, 南昌大学第一附属医院消化内科。lunonghua@163.com

电话: 0791-88692505

收稿日期: 2015-05-15 修回日期: 2015-06-07

接受日期: 2015-06-15 在线出版日期: 2015-07-18

Clinical and endoscopic features of gastrointestinal ulcer with fungal infection: Analysis of 240 cases

Jun-Bo Hong, Wei Zuo, An-Jiang Wang, Shan Xu, Hong-Tao Zhu, Yin Zhu, Nong-Hua Lv

Jun-Bo Hong, An-Jiang Wang, Hong-Tao Zhu, Yin Zhu, Nong-Hua Lv, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Wei Zuo, Department of Respiratory Medicine, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Shan Xu, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Supported by: the Foundation of Jiangxi Provincial Department of Science and Technology, No. 20113BCB24019

Correspondence to: Nong-Hua Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, 17 Yongwaizheng Street, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. lunonghua@163.com

Received: 2015-05-15 Revised: 2015-06-07

Accepted: 2015-06-15 Published online: 2015-07-18

Abstract

AIM: To investigate the clinical and endoscopic features of gastrointestinal ulcer with fungal

infection.

METHODS: A total of 240 consecutive patients with gastrointestinal ulcer concomitant with fungal infection were included, and the recorded demographic, clinical and endoscopic data were analyzed.

RESULTS: In total, 5938 patients with malignant gastrointestinal ulcer and 53574 patients with benign gastrointestinal ulcer were screened, and 240 (0.4%) patients with gastrointestinal ulcer concomitant with fungal infection were included. The prevalence of fungal infection in patients with malignant gastrointestinal ulcer was 1.4%, significantly higher than that in patients with benign gastrointestinal ulcer (0.3%) ($P = 0.000$). The rates of emaciation, anaemia, nausea and emesis were significantly higher in patients with malignant gastrointestinal ulcer and fungal infection than in those with benign gastrointestinal ulcer and fungal infection (80.7% vs 41.4%, $P = 0.000$; 37.3% vs 15.9%, $P = 0.000$; 33.7% vs 21.6%, $P = 0.045$). The rates of ulcer with a diameter ≥ 3 cm, ulceration location in the gastric antrum and duodenum, and pyloric obstruction were significantly higher in patients with malignant gastrointestinal ulcer and fungal infection than in those with benign gastrointestinal ulcer and fungal infection (94.0% vs 42.0%, $P = 0.000$; 43.4% vs 21.0%, $P = 0.000$; 6.0% vs 1.3%, $P = 0.05$; 20.5% vs 7.6%, $P = 0.006$).

CONCLUSION: The prevalence of gastrointestinal ulcer with fungal infection is 0.4%, which more frequently occurs in male patients and in the gastric antrum and duodenum. Emaciation, anaemia, nausea, emesis, pyloric obstruction,

背景资料

胃肠道为真菌常见定植部位, 消化系溃疡的发生促进真菌感染, 然而, 合并真菌感染的良恶性消化性溃疡的临床、内镜特点及差异仍鲜有报道。

同行评议者

江学良, 教授, 主任医师, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

■ 研究前沿

侵袭性真菌感染逐渐成为公众健康问题, 消化性溃疡合并真菌感染并不少见, 可能增加溃疡治疗的难度, 明确良恶性消化性溃疡合并真菌感染的特点及差异有利于指导临床实践。

and ulcer diameter ≥ 3 cm are clinical features of malignant gastrointestinal ulcer and fungal infection.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gastrointestinal ulcer; Fungal infection; Gastric cancer

Hong JB, Zuo W, Wang AJ, Xu S, Zhu HT, Zhu Y, Lv NH. Clinical and endoscopic features of gastrointestinal ulcer with fungal infection: Analysis of 240 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(20): 3283-3288 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3283.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i20.3283>

摘要

目的: 探讨胃十二指肠溃疡合并真菌感染的临床及内镜特点。

方法: 纳入合并真菌感染的胃十二指肠溃疡(良性及恶性)240例, 评价人口学资料、临床及内镜表现。

结果: (1)共收集恶性及良性胃十二指肠溃疡溃疡分别为5938例及53574例(共59512例), 纳入合并真菌感染的胃十二指肠溃疡240例(0.4%); 恶性83例(占有恶性溃疡1.4%), 显著高于良性157例(占有良性溃疡0.3%), $P = 0.000$; (2)消瘦、贫血、恶心及呕吐症状在恶性溃疡合并真菌感染(malignant gastrointestinal ulcers concomitant with fungal infection, MGIUFI)患者中的比例均显著高于良性溃疡合并真菌感染(benign gastrointestinal ulcers concomitant with fungal infection, BGIUFI)的患者, 80.7% vs 41.4%, $P = 0.000$; 37.3% vs 15.9%, $P = 0.000$; 33.7% vs 21.6%, $P = 0.045$; (3)MGIUFI患者的溃疡直径 ≥ 3 cm的比例为94.0%, 显著高于BGIUFI患者42.0%, $P = 0.000$ 。胃窦及十二指肠MGIUFI的发生率均显著高于BGIUFI恶性溃疡, 43.4% vs 21.0%, $P = 0.000$; 6.0% vs 1.3%, $P = 0.05$ 。MGIUFI幽门梗阻比例20.5%, 显著高于BGIUFI(7.6%), $P = 0.006$ 。

结论: 胃十二指肠溃疡合并真菌感染的内镜检出率为0.4%, 多见于男性患者。好发于胃窦及十二指肠, 消瘦、贫血、恶心、呕吐、幽门梗阻以及直径 ≥ 3 cm为MGIUFI的临床特征。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃十二指肠溃疡; 真菌感染; 胃癌

核心提示: 本研究比较了合并真菌感染的良、恶性胃十二指肠溃疡的临床、内镜特点, 发现胃十二指肠溃疡合并真菌感染的内镜检出率为0.4%, 贫血、幽门梗阻以及直径 ≥ 3 cm为恶性胃十二指肠溃疡合并真菌感染的临床特征。

洪军波, 左玮, 汪安江, 徐珊, 朱宏涛, 祝荫, 吕农华. 胃十二指肠溃疡合并真菌感染的临床及内镜特点分析240例. *世界华人消化杂志* 2015; 23(20): 3283-3288 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3283.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i20.3283>

0 引言

侵袭性真菌感染逐渐成为公众健康问题^[1], 需要得到临床医师足够重视。研究^[2,3]发现, 真菌在人体消化系普遍存在, 胃黏膜和胃内容物为真菌定植的常见部位。而且, 54.2%的胃溃疡及10.3%的慢性胃炎病例发现有真菌定植, 推测真菌感染可能为继发性^[3,4], 主要发生于免疫力低下的患者^[5], 且消化性溃疡的发生有利于真菌繁殖及感染^[6]。胃十二指肠溃疡合并真菌感染并不少见, 可以发生于良性及恶性溃疡, 但其临床特点以及两者间的差异仍鲜有报道。本文拟分析良、恶性胃十二指肠溃疡合并真菌感染的临床特点, 从而更好地指导临床实践。

1 材料和方法

1.1 材料 筛选2007-01-01/2013-12-31南昌大学第一附属医院消化内科因上消化道症状行内镜检查的患者, 纳入标准: 内镜下表现、并经病理证实的合并真菌感染的胃十二指肠溃疡(包括良性及恶性)。排除标准: 既往有胃十二指肠切除术病史。

1.2 方法

1.2.1 活组织检查: 行胃镜检查时, 取溃疡边缘组织6块, 用于活组织检查。鉴于部分患者经历了多次胃镜检查, 取第一次胃镜检查结果。然而, 当患者的病理结果为肠化(intestinal metaplasia, IM)、不典型增生(dysplasia)、胃癌(gastric cancer, GC)合并真菌感染时, 取该次内镜及病理结果。因此, 每位患者均记一次内镜及病理检查结果^[7]。另外, 由于部分患者溃疡多部位发生, 当计算溃疡直径时, 取直径最大的溃疡。

■ 相关报道

目前研究认为消化道真菌感染并不少见, 考虑为继发性, 好发于男性及免疫功能低下的患者, 系统的抗真菌及质子泵抑制剂治疗可收到较好效果。

1.2.2 诊断标准: 消化性溃疡的诊断标准: 内镜下表现为黏膜缺损直径 ≥ 5 mm, 且超过黏膜肌层^[8]. 病理诊断(IM、不典型增生及GC)采用更新的悉尼标准^[9]. 真菌感染诊断标准: 采用直接镜检、PAS及银染.

1.2.3 临床及内镜表现: 临床症状包括: 腹痛、腹胀、消瘦、贫血、恶心及呕吐、食欲减退、反酸、烧心^[8]. 内镜表现包括: 溃疡部位、直径及大小. 并发症包括: 出血、穿孔、幽门梗阻.

统计学处理 实验数据用SPSS11.7统计软件进行分析, 所有数据以mean \pm SD、构成比或百分率表示, χ^2 检验或Fisher's确切概率法用于检测计数资料间差异, t 检验用于检测计量资料之间的差异, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 一般资料 共收集2007-01-01/2013-12-31南昌大学第一附属医院消化内科经病理证实的恶性及良性胃十二指肠溃疡分别为5938例及53574例(共59512例), 纳入合并真菌感染的胃十二指肠溃疡240例(0.4%): 恶性83例(占有恶性溃疡1.4%), 显著高于良性157例(占有良性溃疡0.3%), $P = 0.000$ (图1). 恶性胃十二指肠溃疡合并真菌感染(malignant gastrointestinal ulcer concomitant with fungal infection, MGIUFI)及良性胃十二指肠溃疡合并真菌感染(benign gastrointestinal ulcer concomitant with fungal infection, BGIUFI)患者的平均年龄分别为57.2岁 \pm 13.2岁及64.2岁 \pm 11.3岁, 两者间差异无统计学意义($P = 0.064$). 同时, 240例患者中, 男性及女性分别为182例及58例(3.1:1), 平均年龄分别为58.9岁 \pm 12.9岁及61.8岁 \pm 12.9岁, 两者间年龄差异无统计学意义($P = 0.138$).

2.2 合并疾病 240例患者中, 合并糖尿病、艾滋病、其他恶性肿瘤、移植术后、长期使用免疫抑制剂、其他疾病的患者分别为45例(18.9%)、6例(2.5%)、30例(12.5%)、7例(2.9%)、34例(14.2%)以及82例(34.2%). 91例(37.9%)患者无合并症. 同时, BGIUFI患者合并其他恶性肿瘤的比例17.2%, 显著高于MGIUFI患者(3.6%), $P = 0.002$. 然而, 良恶性溃疡合并真菌感染患者中, 其他合并疾病比例差异均无统计学意义($P = 0.122-1.000$)(表1).

2.3 临床表现 恶性及良性溃疡合并真菌感染

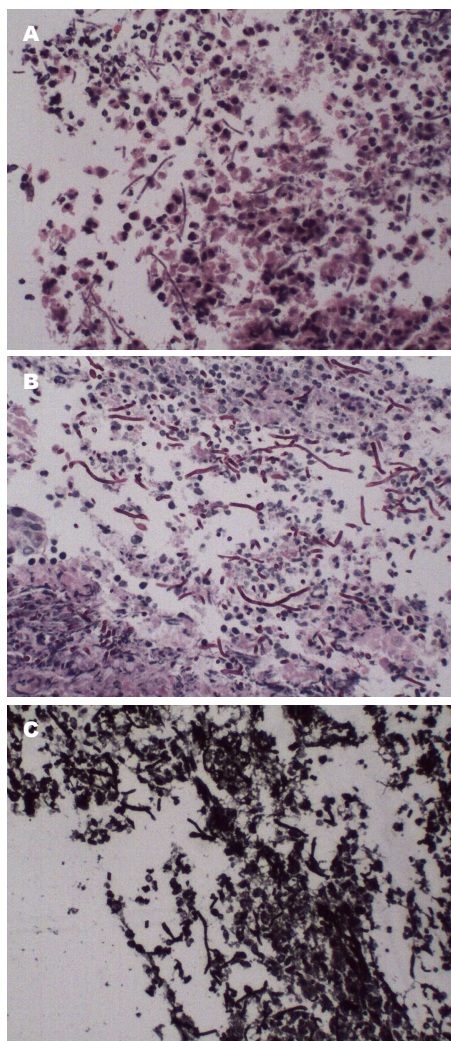


图1 胃黏膜真菌感染($\times 400$). A: HE; B: PAS; C: 六胺银. PAS: 过碘酸雪夫染色.

患者常见症状为上腹痛(88.0% vs 84.1%)、腹胀(68.7% vs 60.5%)、食欲减退(47.0% vs 34.4%)、反酸(8.4% vs 11.4%)、烧心(6.0% vs 9.5%), 上述症状间差异均无统计学意义($P > 0.05$). 然而, 消瘦、贫血、恶心及呕吐症状在MGIUFI患者中的比例均显著高于BGIUFI, 分别为80.7% vs 41.4%, $P = 0.000$; 37.3% vs 15.9%, $P = 0.000$; 33.7% vs 21.6%, $P = 0.045$ (表2).

2.4 内镜表现 MGIUFI患者的溃疡直径 ≥ 3 cm的比例为94.0%, 显著高于BGIUFI患者(42.0%), $P = 0.000$. 胃窦及十二指肠部位MGIUFI的发生率均显著高于BGIUFI, 43.4% vs 21.0%, $P = 0.000$; 6.0% vs 1.3%, $P = 0.05$. 胃体及胃角部位BGIUFI比例显著高于MGIUFI, 分别为52.2% vs 36.2%, $P = 0.021$; 22.3% vs 7.2%, $P = 0.003$. 贲门及胃底溃疡比例差异无统计学意义($P = 0.129-1.000$). 另外, MGIUFI

■ 创新盘点

合并真菌感染的良恶性消化性溃疡的临床、内镜特点及差异仍鲜有报道, 本研究发现胃十二指肠溃疡合并真菌感染的内镜检出率为0.4%, 好发于男性及免疫力低下患者, 贫血、幽门梗阻以及直径 ≥ 3 cm为恶性胃十二指肠溃疡合并真菌感染的临床特征.

应用要点

胃十二指肠溃疡合并真菌感染并不少见, 对于内镜所示巨大溃疡, 表面覆污秽苔, 需要考虑合并真菌感染, 而同时出现贫血、幽门梗阻的临床表现需要考虑为恶性溃疡。治疗上, 需要联合抗真菌及质子泵抑制剂, 恶性溃疡需要行手术治疗。

表 1 合并疾病 n(%)

合并疾病 ¹	MGIUFI (n = 83)	BGIUFI (n = 157)	Odds Ratio (95%CI)	χ ² 值	P值
糖尿病	17(20.4)	28(17.8)	1.187(0.606–2.323)	0.250	0.617
艾滋病	1(1.2)	5(3.2)	0.371(0.043–3.227)	0.873	0.667
其他肿瘤 ²	3(3.6)	27(17.2)	0.181(0.053–0.615)	9.159	0.002
移植术后	2(2.4)	5(3.2)	0.751(0.142–3.955)	0.115	1.000
免疫抑制剂	11(13.2)	23(14.6)	0.890(0.411–1.929)	0.087	0.768
其他	23(27.7)	59(37.6)	0.637(0.357–1.136)	2.351	0.125
无合并疾病	37(44.6)	54(34.4)	1.534(0.891–2.643)	2.392	0.122

¹合并2种或2种以上疾病; ²除外胃十二指肠癌。MGIUFI: 恶性胃十二指肠溃疡合并真菌感染; BGIUFI: 良性胃十二指肠溃疡合并真菌感染。

表 2 临床及内镜表现 n(%)

临床 ¹ 及 内镜表现	MGIUFI (n = 83)	BGIUFI (n = 157)	Odds Ratio (95%CI)	χ ² 值	P值
腹痛	73(88.0)	132(84.1)	1.383(0.629–3.038)	0.655	0.450
腹胀	57(68.7)	95(60.5)	1.431(0.814–2.514)	1.559	0.260
消瘦	67(80.7)	65(41.4)	5.927(3.153–11.141)	33.920	0.000
贫血	31(37.3)	25(15.9)	3.148(1.699–5.833)	13.933	0.000
恶心及呕吐	28(33.7)	34(21.6)	1.842(1.018–3.331)	4.135	0.045
食欲减退	39(47.0)	54(34.4)	1.691(0.983–2.908)	3.628	0.070
反酸	7(8.4)	18(11.4)	0.711(0.284–1.779)	0.535	0.514
烧心	5(6.0)	15(9.5)	0.607(0.213–1.733)	0.886	0.464
直径(cm)					
≥3	78(94.0)	66(42.0)	21.509(8.251–56.069)	61.027	0.000
<3	5(6.0)	91(58.0)			
部位					
贲门	1(1.2)	2(1.3)	0.945(0.084–10.579)	0.002	1.000
胃底	5(6.0)	3(1.9)	3.291(0.766–14.127)	2.851	0.129
胃体	30(36.2)	82(52.2)	0.518(0.300–0.894)	5.644	0.021
胃角	6(7.2)	35(22.3)	0.272(0.109–0.676)	8.698	0.003
胃窦	36(43.4)	33(21.0)	2.878(1.612–5.138)	13.246	0.000
十二指肠	5(6.0)	2(1.3)	4.968(0.942–26.187)	4.327	0.050
并发症					
出血	16(19.3)	18(11.5)	1.844(0.885–3.841)	2.725	0.120
穿孔	5(6.0)	10(6.4)	0.942(0.311–2.854)	0.011	1.000
幽门梗阻	17(20.5)	12(7.6)	3.112(1.407–6.887)	8.425	0.006

¹含两种或两种以上症状。

患者出血及穿孔的比例分别为19.3%及6.0%, 与BGIUFI(11.5%及6.4%)差异无统计学意义($P = 0.120-1.000$)。然而, MGIUFI幽门梗阻比例20.5%, 显著高于BGIUFI(7.6%), $P = 0.006$ (表2)。

2.5 良性胃十二指肠溃疡合并真菌感染的癌前病变发生情况 IM 8例(轻、中度IM分别为5例及3例), 占5.1%; 不典型增生9例(轻、中度异性

增生分别为8例及1例), 占5.7%。

2.6 治疗及随访 随访至2014-05-31。157例BGIUFI患者给予制霉菌素50万U/次, 3次/d, 或氟康唑50 mg/d, 治疗4 wk, 以及埃索美拉唑镁或奥美拉唑镁20 mg/次, 2次/d, 治疗6-8 wk, 同时治疗合并症。120例(76.4%)患者复查胃镜及活检未见真菌, 溃疡基本愈合; 其中, 经¹³C呼

气试验证实幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染115例(95.8%), 并给予10 d含铋剂四联方案(埃索美拉唑镁20 mg/bid, 枸橼酸铋钾220 mg/bid, 阿莫西林1000 mg/bid, 呋喃唑酮100 mg/bid)抗*H. pylori*治疗, 停药4 wk后复查¹³C呼气试验, 112例患者成功根除。另外, 27例(17.2%)患者因合并症死亡。83例MGIUFI患者行外科手术及抗真菌治疗, 68例(81.9%)患者因肿瘤死亡。

3 讨论

研究^[6,10]发现, 当胃黏膜屏障受损, 特别是消化系溃疡存在时易发生真菌感染, 并可能导致难治性溃疡。消化系真菌感染的诊断主要依赖内镜检查^[11], 文献报道胃溃疡合并真菌感染的内镜检出率为6.9%^[12], 且男性多于女性^[1]。然而, 有关胃十二指肠溃疡合并真菌感染的检出率仍鲜有报道。我们的研究发现, 胃十二指肠溃疡合并真菌感染的内镜检出率为0.4%, 且男女患者比例为3.1:1, 提示胃十二指肠溃疡合并真菌感染并不少见, 且好发于男性患者。

既往研究^[4]发现, 良性胃溃疡和GC合并真菌感染的发生率差异无统计学意义。本研究中, MGIUFI的发生率为1.4%, 显著高于BGIUFI患者(0.3%), 进一步证实真菌感染好发于免疫力低下的患者^[5]。同时, 我们的研究发现, 多数患者免疫功能低下, 如合并糖尿病、艾滋病、其他恶性肿瘤以及长期使用免疫抑制剂等。而且, BGIUFI患者合并其他恶性肿瘤的比例显著高于MGIUFI患者。

目前, 有关良恶性溃疡合并真菌感染的临床表现及其差异仍鲜有报道。本研究中, MGIUFI患者表现为消瘦、贫血、恶心、呕吐症状以及幽门梗阻的发生率显著多于BGIUFI患者; 而上腹痛、腹胀、食欲减退、反酸及烧心等症状差异无统计学意义。另外, 既往研究^[3]发现, 真菌性溃疡的直径显著大于单纯性溃疡, 更容易被怀疑为恶性, 而合并真菌感染的良恶性溃疡间直径差异仍未见报道。本研究发现, MGIUFI患者的溃疡直径 ≥ 3 cm的比例为94.0%, 显著高于BGIUFI患者(42.0%)。同时, 胃窦及十二指肠部位MGIUFI比例显著高于BGIUFI患者, 而胃体、胃角部位BGIUFI比例显著高于MGIUFI。上述研究提示, 好发于胃窦及十二指肠部位, 消瘦、贫血、恶心、呕吐、幽门梗阻

以及直径 ≥ 3 cm为MGIUFI的临床特征。

IM和不典型增生为GC的癌前病变^[13], IM、轻中度不典型增生及重度不典型增生患者GC的年发生率分别为0.25%、0.6%和6.0%^[14]。我们既往的研究^[15]发现胃溃疡及复合型溃疡IM的发生率分别为16.4%和8.3%, 不典型增生发生率分别为2.7%和0.7%。然而, BGIUFI患者的病理变化未见相关报道。本研究中, IM及不典型增生的发生率分别为5.1%和5.7%, 提示癌前病变的发生率仍较高, 需要进行常规内镜检查及病理活检随访, 预防GC的发生。

既往研究^[16]提示本病无合并症时, 系统的抗真菌感染可收到较好效果。本文中, 在治疗原发疾病的同时, 经过抗真菌及质子泵抑制剂治疗后多数患者溃疡愈合; 而MGIUFI患者需行手术, 联合抗真菌药物治疗。

总之, 本研究显示胃十二指肠溃疡合并真菌感染并不少见(0.4%), 好发于免疫功能低下患者, 消瘦、贫血、恶心、呕吐、幽门梗阻以及直径 ≥ 3 cm为MGIUFI的临床特征。

4 参考文献

- Lamagni TL, Evans BG, Shigematsu M, Johnson EM. Emerging trends in the epidemiology of invasive mycoses in England and Wales (1990-9). *Epidemiol Infect* 2001; 126: 397-414 [PMID: 11467797 DOI: 10.1017/S0950268801005507]
- Mansueto P, Pisciotto G, Tomasello G, Cabibi D, Seidita A, D'Alcamo A, Patti AM, Sprini D, Carroccio A, Rini GB, Fede GD. Malignant tumor-like gastric lesion due to *Candida albicans* in a diabetic patient treated with cyclosporin: a case report and review of the literature. *Clin Exp Med* 2012; 12: 201-205 [PMID: 21904834 DOI: 10.1007/s10238-011-0158-1]
- Zwolinska-Wcislo M, Budak A, Bogdal J, Trojanowska D, Stachura J. Fungal colonization of gastric mucosa and its clinical relevance. *Med Sci Monit* 2001; 7: 982-988 [PMID: 11535946]
- Loffeld RJ, Loffeld BC, Arends JW, Flendrig JA, van Spreeuwel JP. Fungal colonization of gastric ulcers. *Am J Gastroenterol* 1988; 83: 730-733 [PMID: 3381804]
- Piken E, Dwyer R, Zablen MA. Gastric candidiasis. *JAMA* 1978; 240: 2181-2182 [PMID: 309011 DOI: 10.1001/jama.240.20.2181]
- 马耀辉, 王刚生, 邓洁华, 张晓光, 王爱学, 四荣联. 小鼠胃白念珠菌感染动物模型的建立. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 303-306
- Xia HH, Wong BC, Wong KW, Wong SY, Wong WM, Lai KC, Hu WH, Chan CK, Lam SK. Clinical and endoscopic characteristics of non-*Helicobacter pylori*, non-NSAID duodenal ulcers: a long-term prospective study. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15: 1875-1882 [PMID: 11736717 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2001.01173.x]

■名词解释

胃十二指肠溃疡合并真菌感染: 在内镜下多表现为巨大溃疡, 临床表现为腹痛、腹胀, 甚至可以出现出血及穿孔, 但症状无特异性; 肠化及不典型增生: 为胃癌的癌前病变, 是肠型胃癌发生过程中的重要转折点。

■ 同行评价

本文详细阐述了良恶性溃疡合并真菌感染的临床及内镜特点差异, 且描述了治疗措施及随访经过, 具有一定的临床指导价值。

- 10.1046/j.1365-2036.2001.01115.x]
- 8 Malfertheiner P, Chan FK, McColl KE. Peptic ulcer disease. *Lancet* 2009; 374: 1449-1461 [PMID: 19683340 DOI: 10.1016/S0140-6736(09)60938-7]
- 9 Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994. *Am J Surg Pathol* 1996; 20: 1161-1181 [PMID: 8827022 DOI: 10.1097/0000478-199610000-00001]
- 10 Katzenstein AL, Maksem J. Candidal infection of gastric ulcers. Histology, incidence, and clinical significance. *Am J Clin Pathol* 1979; 71: 137-141 [PMID: 425930]
- 11 Knoke M, Bernhardt H. Endoscopic aspects of mycosis in the upper digestive tract. *Endoscopy* 1980; 12: 295-298 [PMID: 7191797 DOI: 10.1055/s-2007-1021763]
- 12 Di Febo G, Miglioli M, Calò G, Biasco G, Luzzza F, Gizzi G, Cipollini F, Rossi A, Barbara L. Candida albicans infection of gastric ulcer frequency and correlation with medical treatment. Results of a multicenter study. *Dig Dis Sci* 1985; 30: 178-181 [PMID: 2857120]
- 13 Dinis-Ribeiro M, Areia M, de Vries AC, Marcos-Pinto R, Monteiro-Soares M, O'Connor A, Pereira C, Pimentel-Nunes P, Correia R, Ensari A, Dumonceau JM, Machado JC, Macedo G, Malfertheiner P, Matysiak-Budnik T, Megraud F, Miki K, O'Morain C, Peek RM, Ponchon T, Ristimaki A, Rembacken B, Carneiro F, Kuipers EJ. Management of precancerous conditions and lesions in the stomach (MAPS): guideline from the European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE), European Helicobacter Study Group (EHSg), European Society of Pathology (ESP), and the Sociedade Portuguesa de Endoscopia Digestiva (SPED). *Endoscopy* 2012; 44: 74-94 [PMID: 22198778 DOI: 10.1055/s-0031-1291491]
- 14 de Vries AC, van Grieken NC, Looman CW, Casparie MK, de Vries E, Meijer GA, Kuipers EJ. Gastric cancer risk in patients with premalignant gastric lesions: a nationwide cohort study in the Netherlands. *Gastroenterology* 2008; 134: 945-952 [PMID: 18395075 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.01.071]
- 15 Hong JB, Zuo W, Wang AJ1, Xu S, Tu LX, Chen YX, Zhu X, Lu NH. Gastric ulcer patients are more susceptible to developing gastric cancer compared with concomitant gastric and duodenal ulcer patients. *Oncol Lett* 2014; 8: 2790-2794 [PMID: 25364467]
- 16 林才照, 于吉人, 郑树森. 霉菌性胃溃疡的诊断与治疗. *中华胃肠外科杂志* 2004; 7: 191

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



FAM、EAP、ELF方案治疗胃癌的成本和效果对照

卢介珍, 吴永良

卢介珍, 厦门大学附属第一医院肿瘤内科/病案室 福建省厦门市 361003
吴永良, 厦门大学附属第一医院科研部 福建省厦门市 361003

卢介珍, 主任医师, 主要从事肿瘤康复治疗 and 病案室管理研究。
作者贡献分布: 此课题由卢介珍与吴永良设计; 研究过程与数据分析由卢介珍与吴永良共同实施完成; 本论文写作由卢介珍与吴永良共同完成。

通讯作者: 吴永良, 主任药师, 361003, 福建省厦门市镇海路55号, 厦门大学附属第一医院科研部。

lujiezhengzhen@163.com

电话: 0592-2137533

收稿日期: 2015-04-29 修回日期: 2015-05-26

接受日期: 2015-06-10 在线出版日期: 2015-07-18

Cost-effectiveness analysis of three chemotherapy regimens for treatment of gastric cancer

Jie-Zhen Lu, Yong-Liang Wu

Jie-Zhen Lu, Department of Medical Oncology and Medical Record, the First Affiliated Hospital of Xiamen University, Xiamen 361003, Fujian Province, China

Yong-Liang Wu, Department of Scientific Research, the First Affiliated Hospital of Xiamen University, Xiamen 361003, Fujian Province, China

Correspondence to: Yong-Liang Wu, Chief Pharmacist, Department of Scientific Research, the First Affiliated Hospital of Xiamen University, 55 Zhenhai Road, Xiamen 361003, Fujian Province, China. lujiezhengzhen@163.com
Received: 2015-04-29 Revised: 2015-05-26

Accepted: 2015-06-10 Published online: 2015-07-18

Abstract

AIM: To compare the costs and effects of three chemotherapy regimens in the treatment of gastric cancer.

METHODS: From June 2012 to May 2014, 64 patients with gastric cancer were divided into

three groups and given different chemotherapy regimens, namely, 5-fluorouracil (5-Fu) combined with adriamycin (ADM) and mitomycin (MMC) (FAM group), etoposide (VP-16) combined with ADM and cisplatin (PDD) (EAP group), and VP-16 combined with leucovorin (LV) and 5-Fu (ELF group). Pharmacoeconomic cost-effectiveness analysis of the three chemotherapy regimens was performed.

RESULTS: The total effective rates for the FAM, EAP and ELF groups were 45.8%, 54.5% and 50.0%, respectively, which did not differ significantly among the three groups ($P > 0.05$). The median survival time of the three groups were 7, 8, and 9 mo, respectively, which also did not differ significantly among the three groups ($P > 0.05$). The per capita drug cost in one cycle was significantly lower in the EAP group than in the FAM and ELF groups (6388 yuan vs 7689 yuan, 10250 yuan, $P < 0.05$). The cost for each additional 1 percent of total effective rate (117.21 yuan vs 167.88 yuan, 205 yuan, $P < 0.05$) and the cost for each additional 1 mo of the median survival time (912.50 yuan vs 1281.50 yuan, 1281.25 yuan, $P < 0.05$) were significantly lower in the EAP group than in the FAM and ELF groups.

CONCLUSION: The cost-effectiveness of the three regimens for gastric cancer in an ascending order is EAP < FAM < ELF. EAP is the most suitable regimen for the treatment of gastric cancer.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: FAM; EAP; ELF; Gastric cancer; Cost

背景资料

目前化疗是治疗胃癌的主要方法, 但是常规化疗所需要的费用较高, 会给患者增加经济负担, 因而需要寻求一种安全、高效、经济的化疗方案至关重要。研究表明, 通过药物经济学分析能够找到成本-效果最佳的治疗方案, 从而为临床合理用药提供依据。

同行评议者

郑鹏远, 教授, 主任医师, 博士生导师, 郑州大学第五附属医院消化内科

■ 相关报道

临床实践证实, 药物成本和药物治疗效果的变化方向是一致的, 治疗效果越好的药物, 成本也就越高.

Lu JZ, Wu YL. Cost-effectiveness analysis of three chemotherapy regimens for treatment of gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(20): 3289-3293 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3289.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i20.3289>

摘要

目的: 探讨FAM、EAP、ELF方案治疗胃癌的成本和效果.

方法: 选取2012-06/2014-05厦门大学附属第一医院收治的胃癌住院患者64例, 按照化疗方案不同分成3组, FAM组采用5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-Fu)+阿霉素(adriamycin, ADM)+丝裂霉素(mitomycin, MMC)治疗, EAP组采用表鬼臼毒甙(etoposide, VP-16)+ADM+顺铂(cisplatin, PDD)治疗, ELF组VP-16+甲酰四氢叶酸(leucovorin, LV)+5-Fu治疗, 采用药物经济学成本效果分析法对3种化疗方案进行评价.

结果: FAM、EAP、ELF 3组化疗总有效率分别为45.8%、54.5%、50.0%, 比较差异无统计学意义($P>0.05$); 3组中位生存期分别为7、8、9 mo, 比较差异无统计学意义($P>0.05$); 1个周期人均药物费用分别为7689元、6388元、10250元, EAP组明显低于FAM组和ELF组($P<0.05$); 化疗总有效率每增加1个百分点所需费用分别为167.88元、117.21元、205.00元, 中位生存期每增加1 mo成本分别为1281.50元、912.50元、1281.25元, EAP组明显低于FAM组和ELF组($P<0.05$).

结论: 治疗胃癌的FAM、EAP、ELF方案中成本-效果由低到高依次为EAP<FAM<ELF, 临床上EAP为最适合治疗胃癌的化疗方案.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: FAM; EAP; ELF; 胃癌; 成本

核心提示: 本研究中FAM、EAP、ELF 3组化疗总有效率分别为45.8%、54.5%、50.0%, 比较差异无统计学意义($P>0.05$), FAM、EAP、ELF 3组患者中位生存期分别为7、8、9 mo, 比较差异无统计学意义($P>0.05$), 这说明FAM、EAP、ELF 3种化疗方案抗癌效果无明显差别.

卢介珍, 吴永良. FAM、EAP、ELF方案治疗胃癌的成本和效果对照. *世界华人消化杂志* 2015; 23(20): 3289-3293 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3289.asp> DOI:

<http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i20.3289>

0 引言

胃癌是一种常见的消化系恶性肿瘤, 发病率和病死率均较高, 严重影响着患者的生命安全和生活质量. 目前化疗是治疗胃癌的主要方法, 但是常规化疗所需要的费用较高, 会给患者增加经济负担, 因而需要寻求一种安全、高效、经济的化疗方案至关重要^[1]. 研究^[2]表明, 通过药物经济学分析能够找到成本-效果最佳的治疗方案, 从而为临床合理用药提供依据. 为了探讨FAM、EAP、ELF方案治疗胃癌的成本和效果, 本文选取厦门大学附属第一医院在2012-06/2014-05收治的64例胃癌住院患者进行回顾性分析, 结果汇报如下.

1 材料和方法

1.1 材料 资料来源于厦门大学附属第一医院在2012-06/2014-05收治的胃癌住院患者64例, 均经过病理组织学证实, 化疗周期均在2个周期以上, 生存期在3 mo以上, 排除药物禁忌证和肝肾功能不全患者. 按照化疗方案不同分成3组, FAM组24例, 其中男16例, 女8例, 年龄在40-75岁, 平均年龄为50.23岁±6.91岁, 病理分期III期20例, IV期4例; EAP组22例, 其中男15例, 女7例, 年龄在41-76岁, 平均年龄为50.52岁±6.83岁, 病理分期III期16例, IV期6例; ELF组18例, 其中男14例, 女4例, 年龄在41-75岁, 平均年龄为50.65岁±6.81岁, 病理分期III期15例, IV期3例. 3组患者在性别、年龄、病理分期等一般资料上比较差异无统计学意义($P>0.05$), 具有可比性.

1.2 方法

1.2.1 治疗: FAM组化疗方案: 静脉滴注5-氟尿嘧啶((5-fluorouracil, 5-Fu)600 mg/m², 分别于第1、2、5、6天应用, 静脉注射阿霉素(adriamycin, ADM)30 mg/m², 分别于第1、5天应用, 静脉注射丝裂霉素(mitomycin, MMC)10 mg/m², 仅在第1天应用, 6 wk为1个疗程, 治疗3个疗程. EAP组化疗方案: 静脉滴注表鬼臼毒甙(etoposide, VP-16)100 mg/m², 分别于第4-6天应用, 静脉滴注ADM 30 mg/m², 分别于第1、8天应用, 静脉滴注顺铂(cisplatin, PDD)40 mg/m², 分别于第2、7天应用, 4 wk为1个疗程, 治疗3个疗程. ELF组化疗方案: 静脉滴注VP-16 100 mg/m²,

表 1 3组在近期疗效上的比较 $n(\%)$

分组	n	CR	PR	SD	PD	RR
FAM	24	2(8.3)	9(37.5)	8(33.3)	5(20.8)	11(45.8)
EAP	22	4(18.2)	8(36.4)	5(22.7)	5(22.7)	12(54.5)
ELF	18	3(16.7)	6(33.3)	7(38.9)	2(11.1)	9(50.0)

CR: 完全缓解; PR: 部分缓解; SD: 稳定; PD: 进展; RR: 总有效率; FAM: 5-氟尿嘧啶+阿霉素+丝裂霉素; EAP: 表鬼臼毒甙+阿霉素+顺铂; ELF: 表鬼臼毒甙+甲酰四氢叶酸+5-氟尿嘧啶。

表 2 3组在治疗费用上的比较(元)

分组	治疗总费用	化疗药物费用	辅助药物费用	化验检查费用
FAM	7689	1256	5885	548
EAP	6388	1590	4036	762
ELF	10250	4254	5014	982

FAM: 5-氟尿嘧啶+阿霉素+丝裂霉素; EAP: 表鬼臼毒甙+阿霉素+顺铂; ELF: 表鬼臼毒甙+甲酰四氢叶酸+5-氟尿嘧啶。

分别于第1-3天应用, 静脉滴注甲酰四氢叶酸(leucovorin, LV)300 mg/m², 分别于第1-5天应用, 静脉滴注5-Fu 600 mg/m², 分别于第1-5天应用, 3 wk为1个疗程, 治疗3个疗程。

1.2.2 观察指标: 观察患者的近期疗效和中位生存期, 中位生存期的计算以确诊日为开始, 以死亡或者失访为结束; 化验检查费用、化疗和辅助治疗药物的费用以1个化疗周期为成本进行核算, 费用包括化疗药物费用、辅助药物费用、化验检查费用等; 计算费用效果比(CE), 其中CE有效率 = 费用/有效率, CE生存期 = 费用/中位生存期。

1.2.3 疗效判定标准: 采用世界卫生组织制定的实体瘤客观指标对近期疗效进行评价, 完全缓解(complete response, CR): 临床症状明显减轻甚至消失, 病变组织减小50%以上; 部分缓解(partial response, PR): 临床症状明显减轻, 病变范围减小25%-50%; 稳定(stable disease, SD): 临床症状有所减轻, 病变范围减小25%以下; 进展(progressive disease, PD): 临床症状无明显变化, 病变组织无变化甚至扩大; 治疗总有效率 = CR+PR。

统计学处理 采用SPSS17.0统计学软件进行数据分析, 计数资料采用 χ^2 检验, 用百分率表示, 计量资料采用 t 检验, 用mean±SD表示, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3组在近期疗效上的比较 FAM、EAP、ELF 3组CR分别为8.3%、18.2%、16.7%, PR分别为37.5%、36.4%、33.3%, 化疗总有效率分别为45.8%、54.5%、50.0%, 比较差异无统计学意义($P>0.05$)(表1)。

2.2 3组在中位生存期上的比较 FAM、EAP、ELF 3组患者中位生存期分别为7、8、9 mo, 比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.3 3组在治疗费用上的比较 FAM、EAP、ELF 3组患者1个周期人均药物费用分别为7689元、6388元、10250元, EAP组明显低于FAM组和ELF组, 差异具有统计学意义($P<0.05$)(表2)。

2.4 3组成本-效果比较 成本-效果分析采用成本(C)和效果(E)的比值对每获得一份效果所需的净成本进行表示, 其目的在于寻找在达到某一种疗效时成本最低的治疗方案。当成本和效果都增加时, 需要考虑每增加1个效果单位所需要花费的成本, 即增量成本-效果比($\Delta C/\Delta E$), 比值越小说明增加1个单位效果所需要增加的成本就越低, 治疗方案的实际意义就越大, 并且以最低效果作为参照, 其他方案与之相比得出 $\Delta C/\Delta E$ 。化疗总有效率每增加1个百分点所需费用分别为167.88元、117.21元、205.00元, 中位生存期每增加1 mo成本分别为

应用要点

通过药物经济学对成本-效果进行分析, 能够合理地选择最佳的药物治疗方案, 从而降低患者治疗的药物成本。

同行评价
本研究内容实用,
有一定社会价值.

表 3 3组成本-效果(治疗效果)比较

分组	治疗总费用(元)	治疗效果(%)	C/E(元)	ΔC/ΔE
FAM	7689	45.8	167.88	—
EAP	6388	54.5	117.21	149.54
ELF	10250	50.0	205.00	609.76

FAM: 5-氟尿嘧啶+阿霉素+丝裂霉素; EAP: 表鬼臼毒甙+阿霉素+顺铂; ELF: 表鬼臼毒甙+甲酰四氢叶酸+5-氟尿嘧啶; C: 成本; E: 效果.

表 4 3组成本-效果(中位生存期)比较

分组	治疗总费用(元)	中位生存期(mo)	C/E(元)	ΔC/ΔE
FAM	7689	7	1281.50	—
EAP	6388	8	912.50	1301.00
ELF	10250	9	1281.25	1280.50

FAM: 5-氟尿嘧啶+阿霉素+丝裂霉素; EAP: 表鬼臼毒甙+阿霉素+顺铂; ELF: 表鬼臼毒甙+甲酰四氢叶酸+5-氟尿嘧啶; C: 成本; E: 效果.

1281.50元、912.50元、1281.25元, EAP组明显低于FAM组和ELF组, 差异具有统计学意义($P<0.05$)(表3, 4).

3 讨论

胃癌是一种常见的恶性肿瘤, 手术切除是目前最有效的治疗方法, 由于目前手术切除患者5年生存率仅在30%左右, 因而需要联合化疗, 以提高患者的生存率和生活质量^[3]. 大部分胃癌患者发现时已经是中晚期, 甚至已经转移, 手术联合化疗时重要的治疗方法. 目前临床上常用的化疗方案比较多, 而且疗效不一, 成本差别也比较大, 因而在保证一定疗效的前提下如何降低药物治疗的成本是医学界普遍关注的问题, 通过药物经济学对成本-效果进行分析, 能够合理地选择最佳的药物治疗方案, 从而降低患者治疗的药物成本^[4,5].

FAM、EAP、ELF是治疗胃癌的主要化疗方案, 其中FAM组采用5-Fu+ADM+MMC治疗, EAP组采用VP-16+ADM+PDD治疗, ELF组采用VP-16+LV+5-Fu治疗, FAM组和EAP组中共同应用ADM, ADM是一种常用的抗肿瘤抗生素, 能够有效抑制DNA和RNA的合成, 对各种生长周期的肿瘤细胞均具有杀灭作用^[6]. FAM组和ELF组均应用5-Fu, 5-Fu属于抗代谢抗肿瘤药物, 能够有效抑制胸腺嘧啶核苷酸合成酶, 阻断脱氧嘧啶核苷酸向胸腺嘧啶核苷

核转换, 从而干扰DNA合成, 而且在一定程度上也能够抑制RNA的合成^[7]. EAP组和ELF组均应用VP-16, VP-16也是一种有效的抗肿瘤药物, 能够抑制肿瘤细胞的生长^[8]. 本研究中FAM、EAP、ELF 3组化疗总有效率分别为45.8%、54.5%、50.0%, 比较差异无统计学意义($P>0.05$), FAM、EAP、ELF 3组患者中位生存期分别为7、8、9 mo, 比较差异无统计学意义($P>0.05$), 这说明FAM、EAP、ELF 3种化疗方案抗癌效果无明显差别.

临床实践证实, 药物成本和药物治疗效果的变化方向是一致的, 治疗效果越好的药物, 成本也就越高^[9,10]. 成本-效果分析的最终目的是为了在效果和成本之间寻求一个最佳平衡点^[11,12], 在成本分析中, 成本应该包括药物费用、辅助药物费用、床位费用、化验检查费用、护理费用、因疾病而损失的工资、出行费用等, 但是在研究中有诸多限制, 仅以药物费用、辅助药物费用和化验检查费用计算治疗总费用^[13-15]. 本研究中FAM、EAP、ELF 3组患者1个周期人均药物费用分别为7689、6388、10250元, EAP组明显低于FAM组和ELF组($P<0.05$), 化疗总有效率每增加1个百分点所需费用分别为167.88、117.21、205.00元, 中位生存期每增加1 mo成本分别为1281.50、912.50、1281.25元, EAP组明显低于FAM组和ELF组($P<0.05$), 这说明治疗胃癌的FAM、

EAP、ELF方案中成本-效果由低到高依次为EAP<FAM<ELF.

总之, FAM、EAP、ELF方案中EAP为最适合治疗胃癌的化疗方案, 其次为FAM, 最后为ELF.

4 参考文献

- 1 戎佩佩, 宋金春, 吴玥. 曲妥珠单抗联合化疗用于Her-2阳性晚期胃癌的成本-效果分析. 中国药房 2015; 26: 577-579
- 2 王晓君, 许勤. 胃癌术后序贯性早期肠内营养支持的临床效果及卫生经济学评价. 肠外与肠内营养 2013; 20: 348-352
- 3 徐晓梅, 谭本仁, 赖水招. 多西他赛联合替吉奥或卡培他滨治疗胃癌的成本-效果分析. 药物评价研究 2012; 35: 256-260
- 4 王芳, 刘莉, 洪喆. 两种的晚期胃癌化疗方案的疗效及成本对比研究. 现代生物医学进展 2012; 12: 77-79
- 5 徐月红, 关彩萍, 刘韬, 黄红兵, 冯敏, 吴传斌. TLF、FOLFOX6与XELOX方案治疗进展期胃癌的成本-效果分析. 中国药房 2010; 21: 1264-1267
- 6 陈建时, 卢明东, 余小挺, 郑志强. 两种新辅助化疗方案治疗进展期胃癌的成本-效果评价. 中国综合

- 临床 2010; 26: 356-358
- 7 费小非, 盛明宇, 李璐. 晚期胃癌3种化疗方案的成本-效果分析. 中国医院用药评价与分析 2009; 9: 58-60
- 8 孟宪丽. 三种胃癌化疗方案的成本效果分析. 山东医药 2008; 48: 41-42
- 9 刘懿萱, 章璉. 三种化疗方案治疗进展期胃癌的成本效果分析. 药实践杂志 2007; 25: 117-120
- 10 Crew KD, Neugut AI. Epidemiology of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 354-362 [PMID: 16489633]
- 11 Hejna M, Wöhrer S, Schmidinger M, Raderer M. Postoperative chemotherapy for gastric cancer. *Oncologist* 2006; 11: 136-145 [PMID: 16476834 DOI: 10.1634/theoncologist.11-2-136]
- 12 杨青. 3种治疗进展期胃癌化疗方案的成本-效果分析. 中国医院药学杂志 2007; 27: 230-232
- 13 衣学新. 替吉奥、替吉奥与顺铂联合治疗进展期胃癌92例疗效对比分析. 现代预防医学 2012; 39: 1820-1821
- 14 孙书芳, 何瑞荣, 刘琦. 含替吉奥化疗方案治疗胃癌的安全性及剂量调整影响因素的临床研究. 中国现代医药杂志 2014; 16: 32-35
- 15 周子娇, 王晓红. 替吉奥胶囊治疗胃癌的疗效观察及对相关肿瘤标志物的影响. 海南医学院学报 2013; 19: 775-777

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



慢性乙型肝炎患者ALT、GGT、ALP、CHE、Alb/GLb、PA、TBIL、HBV标志物定量与组织病理学的关系

范和发, 郑辉才

■背景资料

临床中采取有效的血清学指标进行间接的判断肝脏组织状况, 对慢性乙型肝炎患者的诊断与治疗以及预后具有重要的作用。

范和发, 三亚市慢性病防治中心检验科 海南省三亚市 572000

郑辉才, 海南农垦三亚医院消化内科 海南省三亚市 572000

范和发, 主管检验师, 主要从事检验方面研究。

作者贡献分布: 本文主要由范和发完成; 研究过程由范和发与郑辉才完成; 试剂提供与数据分析由范和发与郑辉才完成; 本论文写作由范和发完成。

通讯作者: 范和发, 主管检验师, 572000, 海南省三亚市解放路1089号, 三亚市慢性病防治中心检验科。

xiaofanfafa@163.com

电话: 0898-38271800

收稿日期: 2015-05-21 修回日期: 2015-06-11

接受日期: 2015-06-25 在线出版日期: 2015-07-18

Relationship of serum liver function parameters and hepatitis B virus markers with liver histopathology in patients with chronic hepatitis B

He-Fa Fan, Hui-Cai Zheng

He-Fa Fan, Department of Clinical Laboratory, Sanya Chronic Disease Prevention and Control Center, Sanya 572000, Hainan Province, China

Hui-Cai Zheng, Department of Gastroenterology, Hainan Nongken Sanya Hospital, Sanya 572000, Hainan Province, China

Correspondence to: He-Fa Fan, Technician-in-Charge, Department of Clinical Laboratory, Sanya Chronic Disease Prevention and Control Center, 1089 Jiefang Road, Sanya 572000, Hainan Province, China. xiaofanfafa@163.com

Received: 2015-05-21 Revised: 2015-06-11

Accepted: 2015-06-25 Published online: 2015-07-18

(HBV) markers with liver histopathology in chronic hepatitis B patients.

METHODS: Ninety patients with chronic hepatitis B treated at Sanya Chronic Disease Prevention and Control Center from January 2013 to December 2014 were included. The patients underwent liver biopsy, and their venous blood was collected to measure liver function parameters and HBV markers. The relationship between these parameters/markers and liver fibrosis stage/inflammation grade was analyzed.

RESULTS: The differences in alanine aminotransferase (ALT), glutamyl transpeptidase (GGT), alkaline phosphatase (ALP), cholinesterase (CHE), albumin (Alb)/globulin (GLb), prealbumin (PA), and total bilirubin (TBIL) between the mild inflammation group and the severe inflammation group were statistically significant ($P < 0.05$). The differences in ALT, GGT, ALP, CHE, Alb/GLb, PA, and TBIL were also statistically significant between the mild and severe fibrosis groups ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Measurement of liver function indexes in chronic hepatitis B patients can directly determine the variation of liver pathology. HBV DNA load and hepatitis B surface antigen (HBsAg) quantitation have no correlation with liver histological changes.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Chronic hepatitis B; Liver function; Hepatitis B virus; Liver tissue; Pathology

■同行评议者

管世鹤, 教授, 主任医师, 博士生导师, 安徽医科大学第二附属医院

Abstract

AIM: To investigate the relationship of liver function parameters and hepatitis B virus

Fan HF, Zheng HC. Relationship of serum liver function parameters and hepatitis B virus markers with liver histopathology in patients with chronic hepatitis B. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(20): 3294-3297
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3294.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i20.3294>

摘要

目的: 探讨慢性乙型肝炎患者肝功能指标和乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)标志物定量变化, 并分析其与肝组织病理学之间的关系。

方法: 选取三亚市慢性病防治中心2013-01/2014-12的90例慢性乙型肝炎患者作为研究对象, 患者均进行肝穿刺活检, 静脉采血测定肝功能指标和HBV标志物等情况, 并详细的分析其各个指标、HBV定量与慢性乙型肝炎患者肝纤维化分期和肝脏炎症分级之间的相互关系。

结果: 炎症较轻组与炎症较重组的谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、 γ -谷氨酰转移酶(glutamyl transpeptidase, GGT)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、胆碱酯酶(cholinesterase, CHE)、白蛋白(albumin, Alb)/球蛋白(globulin, GLb)、前白蛋白(prealbumin, PA)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)比较差异有统计学意义($P<0.05$)。纤维化较轻组和纤维化较重组的ALT、GGT、ALP、CHE、Alb/GLb、PA、TBIL比较差异有统计学意义($P<0.05$)。

结论: 临床中通过测定慢性乙型肝炎患者的肝功能指标可以直接的反映出其肝组织病理学的变化, 且HBV DNA载量、乙型肝炎表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)定量与肝脏的组织学变化无相关性。

© 2015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; 肝功能指标; 乙型肝炎病毒; 肝组织; 病理学

核心提示: 慢性乙型肝炎患者的肝功能指标可以直接的反映出其肝组织病理学的变化, 通过检测肝功能指标在临床中具有重要的应用价值。

范和发, 郑辉才. 慢性乙型肝炎患者ALT、GGT、ALP、CHE、Alb/GLb、PA、TBIL、HBV标志物定量与组织病理学的关系. *世界华人消化杂志* 2015; 23(20): 3294-3297 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3294.asp>

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3294.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i20.3294>

0 引言

慢性乙型肝炎是临床中常见疾病, 具有较高的发病率, 临床中常常以肝组织病理学检查作为肝脏损伤判断的重要方法, 也是反映出肝脏炎症和纤维化程度的“金标准”, 但是这种检查方法具有一定的创伤性^[1,2]。而肝功能指标和乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)标志物定量等检查均是乙型肝炎患者的常规检查项目, 且检查结果精准, 无创, 尤其在医院中的应用范围广^[3,4]。临床中为了进一步的提高慢性乙型肝炎患者的诊断, 对慢性乙型肝炎患者肝功能指标和HBV标志物定量变化进行分析, 并了解其与肝组织病理学之间的关系, 为提高该病的诊断提供参考, 具体的分析如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2013-01/2014-12的90例慢性乙型肝炎患者作为研究对象, 且均符合《慢性乙型肝炎防治方案》中的诊断标准, 男50例, 女40例, 患者的年龄为19-66岁, 平均年龄47.5岁±4.7岁。

1.2 方法

1.2.1 分组: 此次研究的对象均进行肝脏组织病理学检查, 应用一秒钟肝穿刺法, 标本采集之后应予以低温保存, 中性甲醛固定, 石蜡包埋处理, 最后应用苏木素和伊红以及网状纤维染色。每张切片选择5个完整汇管区^[5]。病理诊断均由病理医师进行完成, 依据肝脏炎症活动程度分为炎症较轻组和炎症较重组, 炎症较轻组: 炎症活动程度分级为G1-G2; 炎症较重组: 炎症活动程度分级为G3-G4。依据纤维化程度分为纤维化较轻组和纤维化较重组, 纤维化较轻组: 纤维化程度分期为S1-S2; 纤维化程度分期为S3-S4。

1.2.2 检测: 采取Moduar P800仪器和罗氏试剂进行测定, 并且采取酶速率法-IFCC法进行测定谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST); 采取甲酚绿比色法进行测定白蛋白(albumin, Alb)、球蛋白(globulin, GLb); 采取重氮盐法进行测定总胆红素(total bilirubin, TBIL); 免疫透射比浊法进行测定前白蛋白(prealbumin, PA); 胆碱酯酶比色法进行测定

■ 相关报道

临床中对于肝功能指标与肝组织病理学之间的联系已经有相关报道, 且认为二者之间的联系紧密。有研究显示, 乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV) DNA载量与肝组织变化之间具有一定的联系。

■ 创新盘点

本研究从肝功能指标、HBV标志物等方面分析, 了解其与肝组织病理学之间的联系, 使得整体性强, 更好的了解肝组织炎症和纤维化的程度状况。

应用要点

本研究慢性乙型肝炎患者的诊断与治疗以及预后具有重要的作用。

表 1 肝功能指标、HBV标志物定量与肝组织炎症分级的相关关系 (mean ± SD)

指标	炎症较轻组 (n = 50)	炎症较重组 (n = 40)	t值	P值
ALT(U/L)	116.8 ± 23.5	337.4 ± 27.9	13.305	<0.05
GGT(U/L)	44.7 ± 5.7	120.5 ± 6.3	23.056	<0.05
ALP(U/L)	77.5 ± 9.6	124.6 ± 10.5	20.173	<0.05
CHE(U/L)	8478.4 ± 113.5	5211.8 ± 89.6	34.729	<0.05
Alb/GLb	1.7 ± 0.2	1.2 ± 0.2	3.117	<0.05
PA(mg/L)	216.7 ± 17.5	103.6 ± 12.8	17.322	<0.05
TBIL(μmol/L)	14.5 ± 5.5	121.7 ± 22.8	19.472	<0.05
HBV DNA(U/mL)	105.5 ± 3.7	104.8 ± 3.9	0.157	>0.05
HBsAg(ng/mL)	103.5 ± 2.4	104.1 ± 1.9	0.463	>0.05

ALT: 谷丙转氨酶; GGT: γ-谷氨酰转氨酶; ALP: 碱性磷酸酶; CHE: 胆碱酯酶; Alb: 白蛋白; GLb: 球蛋白; PA: 前白蛋白; TBIL: 总胆红素; HBV DNA: 乙型肝炎病毒的脱氧核糖核酸; HBsAg: 乙型肝炎表面抗原。

表 2 肝功能指标、HBV标志物定量与肝组织纤维化的相关关系 (mean ± SD)

指标	纤维化较轻组 (n = 46)	纤维化较重组 (n = 44)	t值	P值
ALT(U/L)	113.6 ± 22.9	247.4 ± 26.7	12.518	<0.05
GGT(U/L)	41.7 ± 5.5	104.6 ± 6.8	20.217	<0.05
ALP(U/L)	75.3 ± 8.9	117.9 ± 9.3	18.449	<0.05
CHE(U/L)	8588.7 ± 117.1	5918.9 ± 90.7	31.825	<0.05
AST/ALT	1.1 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.116	>0.05
Alb/GLb	1.7 ± 0.3	1.3 ± 0.2	2.915	<0.05
PA(mg/L)	226.1 ± 15.3	113.4 ± 11.5	14.314	<0.05
TBIL(μmol/L)	16.7 ± 5.8	88.33 ± 14.1	9.368	<0.05
HBV DNA(U/mL)	104.7 ± 2.6	105.6 ± 1.5	0.135	>0.05
HBsAg(ng/mL)	103.9 ± 2.3	104.1 ± 1.5	0.317	>0.05

ALT: 谷丙转氨酶; GGT: γ-谷氨酰转氨酶; ALP: 碱性磷酸酶; CHE: 胆碱酯酶; AST: 谷草转氨酶; Alb: 白蛋白; GLb: 球蛋白; PA: 前白蛋白; TBIL: 总胆红素; HBV DNA: 乙型肝炎病毒的脱氧核糖核酸; HBsAg: 乙型肝炎表面抗原。

胆碱酯酶(cholinesterase, CHE); 谷氨酰转氨酶法-IFCC法测定γ-谷氨酰转氨酶(glutamyl transpeptidase, GGT), 碱性磷酸酶法-IFCC法进行测定碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP). 采取实时荧光定量PCR法进行测定血清HBV DNA; 采取化学发光微粒子免疫分析法测定血清中乙型肝炎表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)、HBsAb和HBeAb以及HBeAg与HBcAb。

统计学处理 本次研究的数据资料均采用SPSS19.0统计学软件进行数据分析与处理, 计量资料采取mean ± SD进行表示, 独立样本采取t进行检验, P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝功能指标、HBV标志物定量与肝组织炎症分级关系 炎症较轻组与炎症较重组的ALT、GGT、ALP、CHE、Alb/GLb、PA、TBIL比较差异有统计学意义(P<0.05). 炎症较轻组与炎症较重组的HBV DNA和HBsAg比较差异无统计学意义(P>0.05)(表1).

2.2 肝功能指标、HBV标志物定量与肝组织纤维化关系 纤维化较轻组和纤维化较重组的ALT、GGT、ALP、CHE、Alb/GLb、PA、TBIL比较差异有统计学意义(P<0.05). 纤维化较轻组和纤维化较重组HBV DNA和HBsAg和AST/ALT比较差异无统计学意义(P>0.05)(表2).

名词解释

肝功能异常: 是指当肝脏受到某些致病因素的损害, 可以引起肝脏形态结构的破坏和肝功能的代谢异常。

3 讨论

慢性乙型肝炎在临床中具有较高的发病率, 很容易引起肝脏炎症与纤维化, 若不及时进行治疗, 很容易导致病情的恶化, 引起肝硬化^[6-10]. 资料显示, 失代偿期肝硬化的预后相对比较差, 且很容易进展为肝细胞癌, 严重影响患者的身体健康^[11-13]. 临床中尽早的诊断患者肝脏炎症与纤维化程度, 对其临床治疗具有重要的作用. 临床中常常以肝组织病理学检查作为肝脏炎症与纤维化的诊断金标准, 但是其具有一定的局限性, 甚至增加患者的痛苦^[14-17]. 因此, 临床中经过有效的血清学指标进行间接的判断出肝脏组织状况, 对慢性乙型肝炎患者的诊断与治疗以及预后具有重要的作用.

经过此次的临床研究分析, 肝功能指标与肝组织病理学之间有着紧密的联系. 肝功能指标中ALT、GGT、ALP、TBIL的增加, 或者PA、CHE、Alb/GLb的降低, 进一步说明, 肝脏炎症情况也会加重, 且肝脏炎症程度与肝功能的相关指标有着密切关系. 同时, ALT、GGT、ALP、TBIL的增加, 或者CHE、Alb/GLb、PA的降低, 也说明肝脏纤维化程度的增加. 另外, 检测中HBV DNA和HBsAg与肝组织病理学变化无任何的关系. 但是, 临床中有研究显示, HBV DNA载量与肝组织变化之间具有一定的联系. 因此, 临床中依然需要大型研究进一步研究证实^[18-21].

总之, 慢性乙型肝炎患者的肝功能指标可以直接的反映出其肝脏组织病理学的变化, 且HBV DNA载量、HBsAg定量与肝脏的组织学变化无相关性.

4 参考文献

- 1 陈仕祥, 范平, 何维新, 江军, 熊志远. 肝功能正常的慢性乙型肝炎病毒感染者病毒复制标志物与肝组织病理改变的关系. 中国综合临床 2012; 28: 19-21
- 2 刘顺庆, 朱晓骏, 孙学华, 李曼, 高月求. ALT轻度升高的HBeAg阳性和阴性慢性乙型肝炎患者肝组织病理学特点. 中华肝脏病杂志 2012; 20: 348-352
- 3 农村立, 龙腾河, 郭玺. ALT正常的慢性乙型肝炎肝组织学特点与临床分析. 山东医药 2012; 52: 51-53
- 4 袁明生. 肝功能指标正常慢性乙型肝炎患者的肝功

能与HBV-DNA病毒载量关系研究. 中国实验诊断学 2013; 17: 2188-2191

- 5 曹灵芝, 王靖. 慢乙肝患者血清肝功能指标、HBV标志物定量与肝组织病理学改变的关系. 山东医药 2014; 54: 40-42
- 6 蔡文品, 朱丰村, 赵春. 慢性乙型肝炎患者血清定量HBsAg与HBV-DNA及肝功能指标间相关性的分析. 医学研究杂志 2014; 43: 126-129
- 7 Xu X, Shang Q, Chen X, Nie W, Zou Z, Huang A, Meng M, Jin L, Xu R, Zhang JY, Fu J, Wang L, Tang Z, Xie Y, Yang X, Zhang Z, Wang FS. Reversal of B-cell hyperactivation and functional impairment is associated with HBsAg seroconversion in chronic hepatitis B patients. *Cell Mol Immunol* 2015; 12: 309-316 [PMID: 25849120 DOI: 10.1038/cmi.2015.25]
- 8 沙广群, 王波, 曹大吉. 慢性乙肝患者HBV-DNA、HBeAg及肝功能的关系分析. 中国卫生标准管理 2015; 6: 19-21
- 9 高继兵, 潘晓龙, 翁伟, 宋有良, 金正胜, 黄义泽. 137例慢性乙型肝炎患者肝功能与乙型肝炎病毒DNA及乙型肝炎e抗原相关性分析. 检验医学与临床 2012; 9: 791-792, 794
- 10 杨凡, 李汛, 王立坤, 杨丽华, 王鲁文, 龚作炯. HBeAg阴性与阳性慢性乙型肝炎患者临床和病毒学特点分析. 中西医结合肝病杂志 2012; 22: 15-16
- 11 肖灿辉, 孙海霞, 张卡, 潘兴飞, 黄飞飞, 徐启桓. 不同肝脏病理炎症分级慢性乙型肝炎患者临床差异分析. 中华实验和临床病毒学杂志 2013; 27: 270-272
- 12 胡金华. 不同基因型HBV感染的慢性乙型肝炎患者临床与病理改变研究. 桂林: 桂林医学院, 2012
- 13 陈蓓. ALT持续正常的慢性HBV感染者的肝组织病理特征及临床意义. 肝脏 2012; 17: 304-306
- 14 侯丽, 古丽娜尔·沙丁, 朱有森. 慢性乙型肝炎患者HBV DNA水平与肝脏病理相关性及其影响因素. 肝脏 2014; 19: 864-867
- 15 冯晓洁, 李惠敏. 慢性乙型肝炎患者肝组织病理特征及其相关因素研究. 中外医学研究 2015; 13: 50-52
- 16 马俊骥, 冯丽英, 冯志杰, 姜慧卿, 孙泽明, 赵丽梅. 丙氨酸氨基转移酶正常或轻度异常乙型肝炎病毒感染者肝病理与临床关系研究. 中国全科医学 2013; 16: 1603-1606
- 17 朱海超, 高国生. 丙氨酸氨基转移酶正常慢性乙型肝炎病毒感染者肝组织病理特点. 实用医学杂志 2013; 29: 1637-1639
- 18 梁柱石, 周德玫, 莫穆隆, 甘楚林, 程璐宁, 周甦, 钟大明. 慢性肝病体征对乙型肝炎病毒慢性感染者肝病理评估的价值. 现代中西医结合杂志 2012; 21: 3319-3321
- 19 陈慧娟, 赵守松, 蒋玖. 乙型肝炎病毒感染者外周血CD4 CD25 CD127low/-调节性T淋巴细胞与肝脏病理的关系. 中华传染病杂志 2013; 31: 603-607
- 20 郑盛. 慢性乙型肝炎病毒感染者外周血CD4 CD25 CD127low/-调节性T淋巴细胞表达水平及其与肝脏病理关系. 西部医学 2014; 26: 1137-1140
- 21 杨玉贵, 武建华, 李蔚, 张全会. 131例慢性HBV携带者肝脏病理与年龄、HBeAg(±)的相关性研究. 中国医药导报 2012; 9: 46-48

同行评价

本文可读性强, 能较好地反映慢性乙型肝炎患者的临床和基础研究水平及进展, 具有较好的应用价值, 且文章观点鲜明, 指导作用明显, 值得临床中应用.

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



乙型肝炎肝硬化患者不同肝癌筛查方案的比较及对预后影响

李 鹏, 陈玉涵, 张世斌, 丁惠国

背景资料

肝癌是我国常见的恶性肿瘤之一, 肝癌能否根治基于发现肿瘤时分期早晚, 而早期肝癌的发现基于有效筛查方案, 目前我国对于发生肝癌不同危险的人群缺乏相对应的筛查方案. 肝癌的分层筛查体系亟待建立.

李鹏, 陈玉涵, 张世斌, 丁惠国, 首都医科大学附属北京佑安医院肝病消化中心 重大传染病防治协同创新中心 北京市 100069

李鹏, 副主任医师, 主要从事肝硬化门脉高压的机制与肝癌早期筛查及诊断方面的研究.

国家十二五重大传染病专项, No. 2012ZX10002-008-05
 首都发展基金专项, No. 2014-1-2181

作者贡献分布: 李鹏与陈玉涵负责临床病例资料的收集、随访; 李鹏与张世斌负责临床及实验室数据分析及统计; 李鹏与丁惠国负责课题设计及论文撰写.

通讯作者: 丁惠国, 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肝病消化中心, 重大传染病防治协同创新中心.

dinghuiguo@medmail.com.cn

电话: 010-83997119

收稿日期: 2015-05-12 修回日期: 2015-06-08

接受日期: 2015-06-19 在线出版日期: 2015-07-18

Comparison of different hepatocarcinoma screening schemes for patients with hepatitis B associated cirrhosis: Detection rate and impact on prognosis

Peng Li, Yu-Han Chen, Shi-Bin Zhang, Hui-Guo Ding

Peng Li, Yu-Han Chen, Shi-Bin Zhang, Hui-Guo Ding, Digestive Internal Medicine Center of Liver Disease, Beijing Youan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Supported by: Major Projects on Infectious Disease, No. 2012ZX10002-008-05; The Capital Science and Technology Development Foundation, No. 2012ZX10002-008-05

Correspondence to: Hui-Guo Ding, Professor, Chief Physician, Digestive Internal Medicine Center of Liver Disease, Beijing Youan Hospital, Capital Medical University; Major infectious diseases Collaborative Innovation Center, 8 Xitoutiao Youanmenwai, Fengtai District, Beijing 100069, China. dinghuiguo@medmail.com.cn

Received: 2015-05-12 Revised: 2015-06-08

Accepted: 2015-06-19 Published online: 2015-07-18

同行评议者

高润平, 教授, 吉林
 大学第一医院
 肝胆胰内科

Abstract

AIM: To compare different screening schemes for patients with hepatitis B associated cirrhosis in terms of detection rate and impact on prognosis.

METHODS: This retrospective study identified a total of 255 patients diagnosed with hepatitis B associated cirrhosis between January 2007 and January 2008 in Alimentary Diseases Centre of Beijing Youan Hospital. These patients were classified into the following two groups according to the time intervals at which they received serum AFP or ultrasonography examination: 82 cases for 3 mo (group A), and 173 cases for 6 mo (group B). The patients were followed for 4 years.

RESULTS: A total of 33 out of 255 patients were detected with hepatocarcinoma (16 cases in group A, 17 cases in group B), and patients with hepatocarcinoma received continued monitoring for 2 years. Higher survival rate was detected in group A (81.3%, 13/16) compared with group B (47.1%, 8/17), but the difference was not statistically significant ($P = 0.071$). According to the Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC) staging standard, significantly more cases of early stage hepatocarcinoma were screened in group A (68.8%, 11/16), compared with group B (5.9%, 1/17) ($P = 0.000$).

CONCLUSION: Our research showed that screening at a 3-mo interval is associated with a higher detection rate of early stage hepatocarcinoma, increased radical cure opportunity and better survival rate for patients with hepatitis B associated cirrhosis.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hepatitis B virus; Cirrhosis; Hepatocellular carcinoma; Screening; Survival rate

Li P, Chen YH, Zhang SB, Ding HG. Comparison of different hepatocarcinoma screening schemes for patients with hepatitis B associated cirrhosis: Detection rate and impact on prognosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(20): 3298-3303 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3298.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i20.3298>

摘要

目的: 比较不同筛查方案对乙型肝炎肝硬化患者肝癌检出情况及预后的影响, 探索针对这一人群的更佳筛查方案。

方法: 收集2007-01/2008-01北京佑安医院消化中心诊治的乙型肝炎肝硬化患者255例, 按其筛查不同间隔时间分为间隔3 mo筛查组(A组)82例、间隔6 mo筛查组(B组)173例。筛查指标为血清甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)及B超, 随访4年。

结果: 255例患者, 至随访结束累计检出肝癌33例(A组: 16例; B组: 17例), 对检出的肝癌患者继续随访2年, 随访结束时累计生存率, A组81.3%(13/16)高于B组47.1%(8/17)($P = 0.071$)。A组中巴塞罗那肝癌分期中属于早期(A期)者占68.8%(11/16), 显著高于B组的5.9%(1/17)($P = 0.000$)。

结论: 针对乙型肝炎肝硬化患者, 间隔3 mo进行筛查可提高早期肝癌检出率、使其获得更多可根治性治疗的机会, 有望延长生存期。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 乙型肝炎病毒; 肝硬化; 肝细胞癌; 筛查; 生存率

核心提示: 肝癌筛查关系乙型肝炎肝硬化这一肝癌发生极高危人群的预后, 目前筛查方案不能完全满足这一人群的筛查需求, 我们提出缩短筛查时间间隔, 有利于发现更多早期肝癌, 为患者赢得更多根治治疗机会, 有望提高远期生存率。

李鹏, 陈玉涵, 张世斌, 丁惠国. 乙型肝炎肝硬化患者不同肝癌筛查方案的比较及对预后影响. *世界华人消化杂志* 2015; 23(20): 3298-3303 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3298.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i20.3298>

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是我国一种常见的恶性肿瘤。全球每年的发病人数约为62.6万例, 我国约占55%, 在肿瘤相关死亡中仅次于肺癌, 位居第2位^[1]。在中国大陆地区HCC患者中80%有乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染或在此基础上的肝硬化背景^[2], HBV相关性肝硬化患者更是被公认为发生HCC的高危人群。HCC患者能否获得根治性治疗(包括手术切除、肝移植、射频消融)机会, 取决于能否早期发现。早期HCC患者接受根治性治疗, 5年生存率高达70%。然而, 我国目前75%左右的HCC患者就诊时已是中晚期, 只能接受姑息性治疗, 导致预后极差。因此, 国内外指南均强调肝癌的早期筛查和监测, HCC的有效筛查可以改善患者的生存率^[3]。欧洲及美国肝脏疾病研究协会指南推荐筛查方案为6 mo检查1次肝脏B超^[4,5]。亚太肝脏研究协会在此基础上添加血清甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)^[6]。在临床工作中我们发现间隔6 mo进行筛查, 很多肿瘤发现时都不是早期, 失去了根治性治疗的机会。有学者认为可根据肿瘤的生长速度或肿瘤倍增时间确定监测的理想时间间隔^[5]。HCC从检测到发展到直径为2 cm约需3-12 mo^[4]。6 mo的筛查间隔对于乙型肝炎肝硬化人群是否能发现更多早期肿瘤呢? 因此, 我们将患者按筛查间隔3 mo及间隔6 mo分为2组, 通过B超及血清AFP作为筛查指标进行随访, 比较不同筛查方案的早期肿瘤筛查结果及对患者预后的影响。探索针对乙型肝炎肝硬化患者适宜筛查方案。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2007-01/2008-01北京佑安医院我院消化中心治疗的乙型肝炎肝硬化患者255例, 诊断标准符合2010年慢性乙型肝炎防治指南^[7]。排除标准: (1)筛选时或随访期间合并或重叠感染其他嗜肝病毒; (2)筛选时存在心、肺、脑、肾及神经系统疾病; (3)筛选时存在其他恶性肿瘤; (4)妊娠及哺乳期女性。HCC的诊断依据2011年卫生部颁布的原发性肝癌诊疗规范^[8]和2010年美国肝病学会肝癌诊治指南^[3]。分期按巴塞罗那标准^[9]。糖尿病诊断符合1985年世界卫生组织(World Health Organization, WHO)诊断标准^[10]。合并饮酒史的酒精摄入标准符合2008年中国酒精性肝病诊疗指南^[11]。实验室及影像学检查材料及规格: AFP

■ 研究前沿

肝癌的筛查在国内外相关领域是研究的热点, 每次国内外相关指南更新均会提及, 目前研发及探索新的血清生物学标志物及联合不同标志物进行组合筛查是热门的发展方向。针对不同人群的有效筛查方案还在不断探索完善当中。

■ 相关报道

欧美指南对于甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)筛查作用持否定态度, 亚太地区及我国是乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)高发区域, AFP和HBV相关肝癌发生有相关性, 故仍将AFP纳入筛查方案, 有文献报道肿瘤的筛查应根据其生长速度和倍增时间决定, 但目前还缺乏统一的方案。

■ 创新盘点

对于乙型肝炎肝硬化这一肝癌的极高危人群, 目前尚无针对性的筛查方案, 本文探索基于目前的常规筛查方案, 缩短筛查时间间隔, 有利于发现更多种类的早期肿瘤, 为根治治疗提供更多可能, 有望提高患者的远期生存率。

表 1 两组患者的随访基线人口统计学资料及临床相关指标

资料	A组(n = 82)	B组(n = 173)	P值
年龄(mean ± SD, 岁)	54.9 ± 8.1	54.2 ± 10.4	0.603
性别[n(%)]			0.292
男	63(76.8)	122(70.5)	
女	19(23.2)	51(29.5)	
Child分级[n(%)]			0.741
A级	44(53.7)	89(51.4)	
B-C级	38(46.3)	84(48.6)	
MELD评分 (mean ± SD, 分)	8.4 ± 4.8	9.1 ± 5.1	0.318
HBeAg[n(%)]			0.441
阳性	49(59.8)	112(64.7)	
阴性	33(40.2)	61(35.3)	

A组: 为新方案筛查组, 间隔3 mo; B组: 为常规方案筛查组, 间隔6 mo。

检测: Cobas e601, 罗氏公司, 德国, 乙型肝炎抗原抗体(HBV-M)检测: 170电化学发光仪, 罗氏公司, 德国, 肝功能血生化检测: AU5400, 奥林巴斯公司, 日本, 凝血酶原时间检测: AcL Top, 库尔特公司, 美国; B超(美国GE公司 LOGIQ E9型)、电子计算机断层扫描(computed tomography, CT)技术, 德国SIEMENS公司 64排螺旋、磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI), 美国GE公司Discovery MR 750 3.0 T型。

1.2 方法

1.2.1 筛查方案: 对所有患者按不同筛查时间分为A组(定义为新方案筛查组): 间隔3 mo、B组(定义为常规方案筛查组): 间隔6 mo。自入组时开始进行血清AFP及肝脏B超筛查。随访终点: 所有患者随访4年或至发现HCC, 对于HCC患者继续随访2年或至患者死亡。AFP ≥ 20 μg/L和/或B超发现肝内结节定义为筛查阳性, 基线及筛查随访期内全部阳性病例均经CT、MRI或病理检查进一步确诊, 排除患者继续按原有方案随访, 至下一随访时间, 如B超显示结节最大径 ≥ 1 cm或增大 ≥ 原结节最大径的50%或数目增多 ≥ 1个, 进一步检查CT、MRI或病理, 如没有变化或变化未达上述标准, 继续按原方案随访, 直至随访结束。

1.2.2 指标检测: 血清学: 空腹采集外周血; AFP: 采用全自动电化学发光免疫分析系统进行测定; HBV-M检测: 电化学发光法测定

HBV-M; 肝脏生化及凝血指标测定: 丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、白蛋白(albumin, ALB)测定采用全自动生化分析仪测定; 凝血酶原时间(prothrombin time, PT)测定采用比浊法。终末期肝病模型(model for end-stage liver disease, MELD)评分 $R = 0.378 \times \ln[\text{胆红素}(\text{mg/dL})] + 1.12 \times \ln[\text{国际标准化比率}(\text{international normalized ratio, INR})] + 0.95 \times \ln[\text{肌酐}(\text{mg/dL})] + 0.64$ (病因: 胆汁性或酒精性0, 其他1)。影像学: B超、CT、MRI。病理组织学和/或细胞学: 检查均由2名以上病理学科专家诊断确证。

统计学处理 应用SPSS16.0统计软件进行统计分析, 计量资料以mean ± SD表示, 比较采用t检验, 计数资料及率的比较采用 χ^2 检验、Fisher检验, 危险因素采用Logist回归单因素及多因素分析。 $P < 0.05$ 认为有统计学意义。

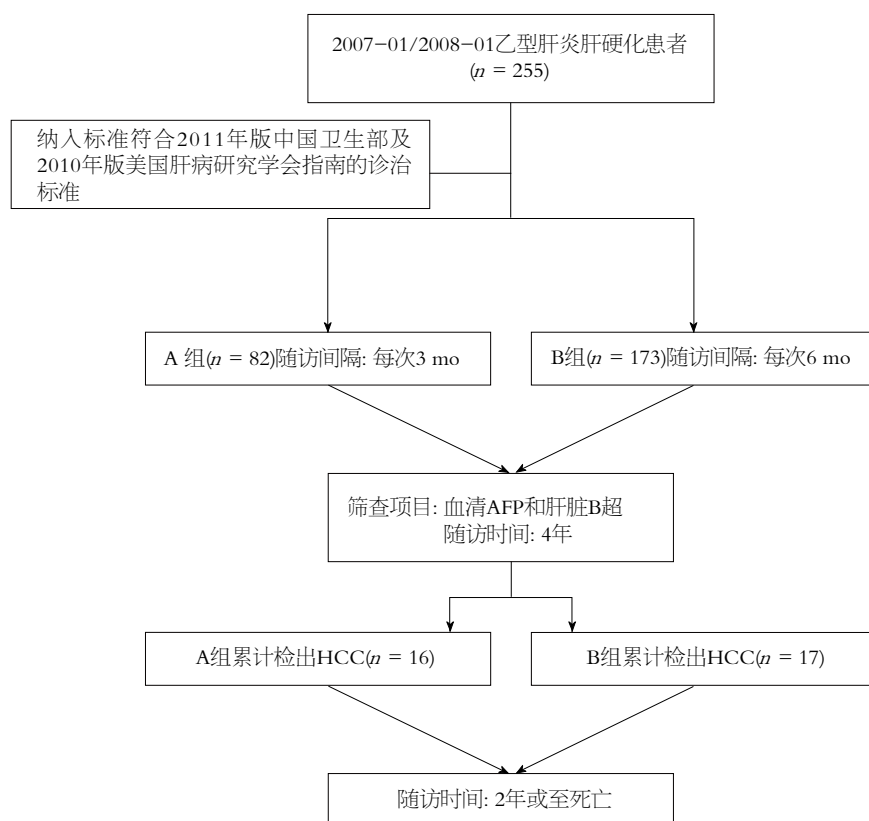
2 结果

2.1 患者的一般情况 表1显示本次纳入随访患者共255例, 每次随访包含血清AFP及B超, 其中A组每次间隔3 mo筛查的患者82例, B组每次筛查间隔6 mo的患者173例。两组患者在人口统计学及临床相关特征方面差异无统计学意义。

2.2 HCC筛查结果 纳入标准及流程如图1。本研究中共筛查患者255例, 基线至随访6 mo, 2组均未发现HCC。至随访4年结束共确诊HCC 33例, 11例病理诊断, 22例CT+MRI诊断。随访至第1年结束确诊4例, 第2年结束确诊9例, 第3年结束确诊11例, 第4年结束确诊9例。

2.3 早期HCC的检出率 33例HCC患者, 其中A组16例, 巴塞罗那临床肝癌(Barcelona Clinic Liver Cancer, BCLC)分期A期11例、B期3例、C期1例、D期1例; B组17例, BCLC A期1例、B期4例、C期7例、D期5例。定义BCLC A期为HCC早期, 则A组中早期HCC 4年累积检出率为13.4%(11/82), B组为0.6%(1/173), 差异有统计学意义($\chi^2 = 20.441, P = 0.000$)(图2)。

2.4 HCC的治疗状况 表2显示了两组中HCC患者在肿瘤的特点和治疗方面的差别。A组和B组中分别有11例(68.8%)和1例(5.9%)患者符合BCLC分期的早期阶段(A期)($P = 0.000$)。BCLC A期HCC患者中, A组有1例行肝移植、4例手



应用要点

缩短筛查时间间隔, 可以提高早期肿瘤的发现率, 对目前的筛查工作提供了新的思路, 发现并纳入更合适的血清生物学标志物是未来探索的方向。

图1 筛查随访流程图. HCC: 肝细胞癌。

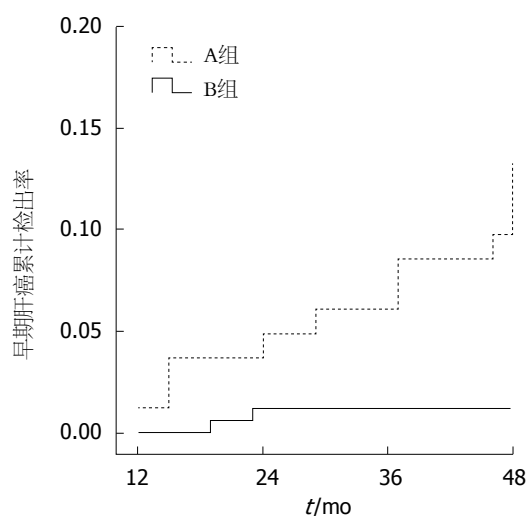


图2 A组与B组4年早期肝癌累积检出率比较. A组: 新方案筛查组, 间隔3 mo; B组: 常规方案筛查组, 间隔6 mo.

术切除、1例手术切除+射频消融, 4例行射频消融治疗; B组1例手术切除治疗. A组比B组有更高比例的患者62.5%(10/16) vs 5.9%(1/17)行根治性治疗($P = 0.001$).

2.5 HCC的生存率 两组HCC患者中1年生存率: A组为93.8%(15/16), B组为64.7%(11/17)($\chi^2 = 4.160$, $P = 0.085$). 2年生存率: A组: 81.3%(13/16),

B组: 47.1%(8/17)($\chi^2 = 4.164$, $P = 0.071$), 差异无统计学意义。

3 讨论

对于高危人群进行肝癌筛查的主要目的是尽快、尽早的发现肿瘤, 以便实施根治性治疗, 从而获得更久的生存期. 筛查项目的检测效果及筛查的时间间隔对筛查的结果都有重要的影响. B超目前无论在欧美还是亚太地区都是HCC的主要筛查项目. HCC的B超特征可因肿瘤大小而有所不同. 直径<2 cm的肿瘤常见低回声结节型, 2-3 cm者显示低回声与周围低回声频率相同, 3-5 cm者多为周围低回声, 而5 cm以上者多为高回声或混合回声^[12]. 我们的研究显示33例HCC中B超提示低回声结节24例, 在12例BCLC A期的患者中提示低回声结节者8例, 占66.7%, 故对于高危人群中筛查B超时发现低回声结节, 特别是<2 cm的低回声结节应特别引起警惕. 应进一步检查CT或MRI并密切随访. 血清AFP作为HCC的筛查指标虽被欧美指南摒弃^[13], 但在亚太地区仍被广泛使用, 这可能与亚太地区的HCC患者以HBV感染为主, 而HBV感染相关HCC患者AFP的阳性率高

■名词解释

巴塞罗那肝癌分期: 是一种肝癌临床分期系统, 这种系统的引入有助于评估患者的患病情况, 提供准确治疗方案和预测患者预后。由Llovet在1999年提出, 后经美国肝脏疾病研究协会在2005年进行修改, 广泛应用于临床。

表 2 两组随访中发生HCC患者的人口统计学资料和临床指标比较

资料	A组(n = 16)	B组(n = 17)	P值
年龄(mean ± SD, 岁)	54.5 ± 8.1	59.6 ± 10.2	0.119
性别[n(%)]			0.576
男	13(81.3)	15(88.2)	
女	3(18.7)	2(11.8)	
肿瘤大小[n(%)]			0.001
≤2 cm	11(68.8)	1(5.9)	
>2 cm	5(31.2)	16(94.1)	
肿瘤数目			0.001
单个	14(87.5)	5(29.4)	
≥2个	2(12.5)	12(70.6)	
BCLC分期[n(%)]			0.000
A期	11(68.8)	1(5.9)	
B-D期	5(31.2)	16(94.1)	
治疗方式[n(%)]			0.001
根治性	10(62.5)	1(5.9)	
姑息性	6(37.5)	16(94.1)	
AFP[n(%)]			0.188
≥20 μg/L	4(25.0)	8(47.1)	
<20 μg/L	12(75.0)	9(52.9)	

A组: 为新方案筛查组, 间隔3 mo; B组: 为常规方案筛查组, 间隔6 mo。

有关。有文献报道, AFP≥20 μg/L时HCC的敏感性为60%, 特异性为80.0%^[5]。约15%-50%的HCC患者AFP升高^[14]。我们的研究显示AFP诊断HCC的敏感性为36.4%, 特异性为66.7%, 诊断效能确实不高。但我们发现在BCLC A期患者中阳性率为25.0%, 提示作为HCC的筛查指标, 在HBV感染相关的肝病人群中仍有一定作用。关于筛查的时间间隔, 我们的研究表明, 对于乙型肝炎肝硬化人群, 与传统间隔6 mo的筛查方案相比, 3 mo的筛查间隔BCLC A期HCC的检出率更高, 而文献证实BCLC A期HCC可以从根治性治疗中获益^[15], 有望延长患者生存期^[16-18]。我们对筛查出的HCC患者继续随访2年, 3 mo筛查间隔组HCC患者的生存率达81.3%, 高于6 mo间隔筛查组的47.1%。但未出现统计学差异, 是否能够延长患者生存时间有待进一步扩大样本长期随访。

总之, 通过我们的研究, 对于乙型肝炎肝硬化人群, 间隔3 mo进行筛查, 有望提高早期HCC的检出率, 使之有机会获得更多根治性治疗机会, 从而可能获得更长生存时间, 使更多患者从中获益。值得临床医生重视。

4 参考文献

1 史国军, 山广志. 原发性肝癌中医病机新论. 浙江中医杂志 2012; 47: 500-501

2 董菁, 江家骥. 乙型肝炎病毒相关性肝细胞癌的筛查及抗病毒治疗的应用. 中国病毒病杂志 2013; 3: 474-479

3 Kudo M. The 2008 Okuda lecture: Management of hepatocellular carcinoma: from surveillance to molecular targeted therapy. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 439-452 [PMID: 20370723 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.06207.x]

4 Bruix J, Sherman M, Llovet JM, Beaugrand M, Lencioni R, Burroughs AK, Christensen E, Pagliaro L, Colombo M, Rodés J. Clinical management of hepatocellular carcinoma. Conclusions of the Barcelona-2000 EASL conference. European Association for the Study of the Liver. *J Hepatol* 2001; 35: 421-430 [PMID: 11592607]

5 Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma: an update. *Hepatology* 2011; 53: 1020-1022 [PMID: 21374666 DOI: 10.1002/hep.24199]

6 Omata M, Lesmana LA, Tateishi R, Chen PJ, Lin SM, Yoshida H, Kudo M, Lee JM, Choi BI, Poon RT, Shiina S, Cheng AL, Jia JD, Obi S, Han KH, Jafri W, Chow P, Lim SG, Chawla YK, Budihusodo U, Gani RA, Lesmana CR, Putranto TA, Liaw YF, Sarin SK. Asian Pacific Association for the Study of the Liver consensus recommendations on hepatocellular carcinoma. *Hepatol Int* 2010; 4: 439-474 [PMID: 20827404 DOI: 10.1007/s12072-010-9165-7]

7 贾继东, 李兰娟. 慢性乙型肝炎防治指南(2010年版). 中华肝脏病杂志 2011; 19: 13-24

8 Qin S. Guidelines on the diagnosis and treatment of primary liver cancer (2011 edition). *Chin Clin Oncol* 2012; 1: 10 [PMID: 25842068 DOI: 10.3978/j.issn.2304-3865.2012.07.01]

9 Forner A, Reig ME, de Lope CR, Bruix J. Current strategy for staging and treatment: the BCLC update and future prospects. *Semin Liver Dis* 2010; 30: 61-74 [PMID: 20175034 DOI: 10.1055/s-0030-1247133]

10 Diabetes mellitus. Report of a WHO study group. *World Health Organ Tech Rep Ser* 1985; 727: 1-113 [PMID: 3934850]

11 Zeng MD, Li YM, Chen CW, Lu LG, Fan JG, Wang BY, Mao YM. Guidelines for the diagnosis and treatment of alcoholic liver disease. *J Dig Dis* 2008; 9: 113-116 [PMID: 18419646 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2008.00332.x]

12 刘兰芬, 张素阁. 急诊超声指南. 北京: 人民军医出版社, 2007: 296-299

13 European Association For The Study Of The Liver; European Organisation For Research And Treatment Of Cancer. EASL-EORTC clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2012; 56: 908-943 [PMID: 22424438 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.12.001]

14 Gonzalez SA, Keeffe EB. Diagnosis of hepatocellular carcinoma: role of tumor markers and liver biopsy. *Clin Liver Dis* 2011; 15: 297-306, vii-x [PMID: 21689614 DOI: 10.1016/j.cld.2011.03.012]

15 Lin SM, Lin CJ, Lin CC, Hsu CW, Chen YC. Randomised controlled trial comparing percutaneous radiofrequency thermal ablation, percutaneous ethanol injection, and percutaneous

- acetic acid injection to treat hepatocellular carcinoma of 3 cm or less. *Gut* 2005; 54: 1151-1156 [PMID: 16009687]
- 16 Wang JH, Changchien CS, Hu TH, Lee CM, Kee KM, Lin CY, Chen CL, Chen TY, Huang YJ, Lu SN. The efficacy of treatment schedules according to Barcelona Clinic Liver Cancer staging for hepatocellular carcinoma - Survival analysis of 3892 patients. *Eur J Cancer* 2008; 44: 1000-1006 [PMID: 18337087 DOI: 10.1016/j.ejca.2008.02.018]
- 17 Tseng PL, Wang JH, Tung HD, Hung CH, Kee KM, Chen CH, Chang KC, Lee CM, Changchien CS, Chen PF, Tsai LS, Lu SN. Optimal treatment increased survival of hepatocellular carcinoma patients detected with community-based screening. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 1426-1434 [PMID: 20659234 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06285.x]
- 18 Kuo YH, Lu SN, Chen CL, Cheng YF, Lin CY, Hung CH, Chen CH, Changchien CS, Hsu HC, Hu TH, Lee CM, Wang JH. Hepatocellular carcinoma surveillance and appropriate treatment options improve survival for patients with liver cirrhosis. *Eur J Cancer* 2010; 46: 744-751 [PMID: 20060710 DOI: 10.1016/j.ejca.2009.12.018]

同行评价

本研究设计合理, 方法可靠, 研究结果和所采取的肝癌筛查路径可以为肝病医师提供参考。

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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^H, *H. pylori*不能写成HP, T1/2不能写成tl/2或T, 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*-methylethanilide(*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*_{max}, *C*_{max}, *V*_d, *T*_{1/2} *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。

胃俞穴和足三里穴穴位注射山莨菪碱治疗中度急性胰腺炎的效果

王先英, 潘明

■背景资料

锦屏县属于黔东南苗族侗族自治州辖县, 气候干湿, 锦屏县中医院年收治急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)患者较多, 常规治疗方法难以满足医疗需要, 患者急切需要一种值得信赖的医疗方法, 中医穴位注射技术可以为患者达到较好的效果。

王先英, 潘明, 锦屏县中医医院中医科 贵州省锦屏县 556700
王先英, 副主任医师, 主要从事中医学科的研究。
作者贡献分布: 本文由王先英撰写; 数据统计由潘明协助完成; 研究过程由王先英完成。
通讯作者: 王先英, 副主任医师, 556700, 贵州省黔东南锦屏县三江镇富民路, 锦屏县中医医院中医科。
wxygz2010@126.com
电话: 0855-7221520
收稿日期: 2015-04-29 修回日期: 2015-05-26
接受日期: 2015-06-10 在线出版日期: 2015-07-18

Effects of Weishu and Zusanli acupoint injection of anisodamine in treatment of moderately severe acute pancreatitis

Xian-Ying Wang, Ming Pan

Xian-Ying Wang, Ming Pan, Chinese Medicine Hospital of Jingping County, Jingping 556700, Guizhou Province, China

Correspondence to: Xian-Ying Wang, Associate Chief Physician, Chinese Medicine Hospital of Jingping County, Fumin Road, Sanjiang Town, Jingping 556700, Guizhou Province, China. wxygz2010@126.com

Received: 2015-04-29 Revised: 2015-05-26

Accepted: 2015-06-10 Published online: 2015-07-18

Abstract

AIM: To assess the clinical effects of Weishu and Zusanli acupoint injection of anisodamine in the treatment of moderately severe acute pancreatitis (MSAP).

METHODS: Ninety MSAP patient treated at Chinese Medicine Hospital of Jinping County from February 2010 to February 2014 were

randomly divided into a control group and an observation group. The control group was given oral ranitidine capsules and other conventional treatment, and the observation group was additionally given Weishu and Zusanli point injection of anisodamine. After treatment, the time to bowel sound recovery, time to first flatus, APACHE II score, hospitalized time, and total effective rate were compared between the two groups.

RESULTS: The total effective rate was significantly higher in the observation group than in the control group (86.7% vs 64.4%, $P < 0.05$). There was 1 vs 5 case of conversion to surgery in the observation group vs control group. Only one patient died in the observation group, but there was two deaths in the control group. The time to bowel sound recovery, hospitalized time, and time to first flatus were significantly shorter in the observation group ($P < 0.05$). APACHE II scores on days 3 and 7 were 7.92 ± 1.23 and 5.24 ± 0.65 , respectively, which were significantly better than those in the control group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Weishu and Zusanli point injection of anisodamine is effective in the treatment of MSAP.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Point injection; Acute pancreatitis; Anisodamine; Intestinal function

Wang XY, Pan M. Effects of Weishu and Zusanli

■同行评议者

马赞, 副教授, 副主任医师, 首都医科大学

acupoint injection of anisodamine in treatment of moderately severe acute pancreatitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(20): 3304-3307 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3304.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i20.3304>

URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3304.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i20.3304>

摘要

目的: 研究胃俞穴和足三里穴穴位注射山莨菪碱对中度急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)患者的治疗作用。

方法: 选择锦屏县中医医院2010-02/2014-02收治的AP患者为研究对象,采用2013年新修订亚特兰大标准评价患者AP的严重程度,抽取其中90例中度患者,随机分成两组,雷尼替丁胶囊口服等常规处理和监护治疗组为对照组,在对照组基础上使用胃俞穴和足三里穴穴位注射山莨菪碱的患者为观察组,以治疗后患者的肠鸣音恢复时间、首次肛门排气时间、急性生理学及慢性健康状况评分(Acute Physiology and Chronic Health Evaluation, APACHE) II 评分变化、住院时间、及治疗总有效率为观察指标评价两组的治疗效果。

结果: 观察组患者治疗总有效率86.7%,中转手术与死亡各1例,对照组总有效率64.4%,中转手术5例,死亡病例2例,两组比较有统计学意义($P<0.05$);观察组患者治疗后记录肠鸣音恢复时间、住院时间均短于对照组($P<0.05$);观察组患者APACHE II 评分在治疗第3天、第7天分别为7.92分 \pm 1.23分、5.24分 \pm 0.65分,较之对照组表现良好($P<0.05$)。

结论: 胃俞穴和足三里穴穴位注射山莨菪碱对中度AP患者的治疗作用明显,对临床治疗有一定的指导意义。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 穴位注射;急性胰腺炎;山莨菪碱;肠功能

核心提示: 山莨菪碱是我国特产茄科植物山莨菪中提取的一种生物碱,他可使平滑肌松弛,解除血管痉挛,减缓患者疼痛,近年来山莨菪碱注射液治疗疾病的报道较多,但是关于穴位注射胰腺炎的报道较少,胃俞穴和足三里穴穴位注射山莨菪碱对中度急性胰腺炎患者的治疗作用明显,为胰腺炎的中西医结合治疗提供了新思路。

王先英,潘明.胃俞穴和足三里穴穴位注射山莨菪碱治疗中度急性胰腺炎的效果.世界华人消化杂志 2015; 23(20): 3304-3307

0 引言

中国医学治疗技术近年来得到了巨大的发展,随着人们对中医的认识,人们在一些疾病的治疗上更乐意接受中医医疗,但现代医学治疗的方式上更趋向于在西医的基础上结合中医疗法,中西医结合疗法可以各取所长,完善中西医的异同点,以达到最佳疗效^[1]。急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP),是外科常见疾病,死亡率较高,我国发病率近年来也逐渐提高^[2],为探讨该病的最佳治疗方法,我们将锦屏县中医医院90例中度AP患者作为研究对象,西医常规治疗对照组,常规治疗结合穴位注射观察组,观察治疗后的效果和预后,现将研究结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 以锦屏县民族中医院2010-02/2014-02收治的90例中度AP患者为研究对象,患者在发病48 h内入院治疗,病例纳入标准:(1)临床症状表现上腹剧痛、伴有恶心、呕吐;(2)血清淀粉酶活性增高 ≥ 3 倍正常值以上;(3)增强计算机断层扫描(computed tomography, CT)显示有特征性AP表现:有脏器功能障碍,或有局部并发症、或有全身并发症,但没有持续性脏器功能障碍;(4)肝胆湿热内蕴症状,表现为上腹窜痛,持续,按压加剧,肝气犯胃,口苦口干,舌红苔黄等。符合中西医对AP的诊断的相关标准要求^[3]。病例排除标准:(1)伴有严重的心、肾、肺部疾病;(2)中途病例跟踪失联,不配合本文研究者;(3)本文研究经过医院伦理委员会认可,不在医院伦理委员会同意的病例范围者排除。确诊询问后均确定为首次出现AP。随机分为两组,对照组45例,其中男25例,女20例,平均年龄55.5岁 \pm 8.2岁;观察组45例,其中男22例,女23例,平均年龄55.8岁 \pm 7.1岁。所采用药品信息如下:盐酸雷尼替丁胶囊,批准文号:国药准字H36021340,胶囊剂,每粒0.15克,江西汇仁药业有限公司;山莨菪碱,国药准字H41023400,10 mg/1 mL,国药集团容生制药有限公司。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 两组均进行以下治疗:(1)监护患者血清、体温、尿淀粉酶等;(2)胃肠进行常规减

■ 研究前沿

中度AP的治疗目前多数采用口服或静脉注射西药治疗,但治疗效果并不明显。中医穴位注射技术应用于各科疾病的治疗,随着经济技术的发展,穴位注射被患者熟知并接受,但是依然有多数患者对穴位注射治疗效果存在一定的怀疑和恐惧。本文即从中医的角度研究AP更好的治疗方法,以达到较高的治疗有效率。

■ 相关报道

代国龙等研究认为山莨菪碱针、低分子右旋糖酐及丹参注射液治疗重症AP具有明显疗效,其机制可能是改善胰腺微循环、阻断诱发的炎症介质产生、减轻胰腺的炎症反应作用。谢江等认为足三里穴位注射山莨菪碱可预防粘连性肠梗阻的发生,利于肠功能的恢复。

应用要点

在西医常规治疗的基础上采用山莨菪碱穴位注射AP患者, 对临床治疗AP有一定的指导意义, 可大力推广。

表 1 两组治疗总有效率比较 [n = 45, n(%)]

分组	中转手术率	转ICU率	并发症率	死亡率	总有效率
观察组	1(2.2)	6(13.3)	2(4.4)	1(2.2)	39(86.7)
对照组	5(11.1)	10(22.2)	8(17.9)	2(4.4)	29(64.4)
χ^2 值	5.294	1.216	4.050	1.045	4.444
P值	<0.05	>0.05	<0.05	>0.05	<0.05

压, 禁止食用食物; (3)服用药物: 盐酸雷尼替丁胶囊150 mg, 口服, 2次/日。观察组同时进行山莨菪碱注射液穴位注射, 患者取侧卧位, 寻胃俞穴和足三里穴, 确定穴位注射点后对局部皮肤消毒, 抽取山莨菪碱7 mg, 在取好穴位处快速将穿刺针刺入皮下, 然后旋转缓慢进针, 针尖进入3 cm上下后, 抽吸至无气体或血液稀释后将山莨菪碱全部注入, 1次/d, 直到患者肛门首次排气。对于治疗无效或者疾病进一步加强的患者转重症加强护理病房(intensive care unit, ICU)或手术治疗。

1.2.2 观察指标: 急性生理学及慢性健康状况评分(Acute Physiology and Chronic Health Evaluation, APACHE)II评分^[4,5]: 入院第1天, 治疗第3天, 第7天分别记录, 分值越高, 病情越重; 患者病情变化情况由监护医生检查记录。

1.2.3 疗效判断标准: 患者治疗效果情况^[6]: 治愈: 临床疼痛症状消失、体温、CT等检查结果正常, APACHE II评分为0; 有效: 肠鸣音恢复基本正常、疼痛减缓, 3分≤APACHE II评分<8分; 无效: 肠鸣音恢复恢复不明显、疼痛依旧、中转手术治疗; 总有效率 = (治愈+有效)/例数。

统计学处理 数据采用SPSS18.0软件进行处理, 计量资料以mean±SD表示, 按照 $\alpha = 0.05$ 的检验水准, 采用t检验比较组间差异性, 计数资料以百分比表示, 用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者治疗肠鸣音、首次排气、总住院时间比较 观察组的肠鸣音恢复时间、首次肛门排气时间、总住院时间均低于对照组(33.85 h±2.67 h vs 68.26 h±5.52 h, 37.44 h±4.86 h vs 70.66 h±6.32 h, 240.17 h±5.26 h vs 363.12 h±4.36 h)($P<0.05$)。

2.2 两组患者治疗期间APACHE II评分变化 入院前观察组与对照组APACHE II评分分别为

13.55分±1.53分、13.63分±0.83分, 差异无统计学意义, 第3天和第7天观察组APACHE II评分较对照组降低(7.92分±1.23分 vs 11.43分±1.64分, 5.24分±0.65分 vs 8.15分±1.44分), 差异均有明显统计学意义($P<0.05$)。

2.3 两组患者治疗效果情况 观察组患者中中转手术与死亡病例各1例, 转ICU率和并发症率例数低于对照组(13.3% vs 22.2%, 4.4% vs 17.9%), 中转手术率、并发症率、总有效率两组差异具有统计学意义(表1)。

3 讨论

AP病情发作快, 治疗不及时容易引起多种并发症, 据相关研究^[7,8]报道, 中国AP患者因AP引起的并发症导致死亡是AP死亡的主要原因之一。传统中医目前对AP的诊断没有统一的标准, 但大致分为四种类型, 即肝郁气滞、脾胃实热、肝脾湿热和蛔扰胆胰, 认为发病原因主要是饮食不节使脾胃受伤, 以热邪、热毒、湿热之邪多见^[9], 本研究病例患者表现上腹窜痛、持续、按压加剧、肝气犯胃、口苦口干、舌红苔黄, 其辨型特征与肝脾湿热类似。西医对AP发病病因的解释与中医大有雷同^[10], 其主要有3大病因: (1)胆道疾病: 如由胆结石、胆道炎引起, 与蛔扰胆胰型相似; (2)酒精: 大量饮酒刺激胰腺液分泌, 引起消化功能紊乱, 与中医脾胃气机升降失司相似; (3)其他消化疾病: 如腹部手术感染, 药物损伤等, 与中医中下焦脏腑功能紊乱辨型类似。

AP病理变化主要突出在患者肠道黏膜组织结构被破坏、胃肠道处于无负荷状态, 胃酸分泌减少, 小肠菌群代谢失衡, 致病细菌侵入消化系统, 产生大量毒素, 进而影响正常细胞活性, 产生炎症反应^[11,12]。所以临床对AP的治疗以调节胰腺分泌, 平衡水电, 缓解疼痛为原则, 在发病初期, 趋向于保守治疗, 采用中西医结合治疗的方法近年来不断成熟, 获得了临床上高度的肯定, 尤其是采用中医水针技术,

名词解释

穴位注射: 俗称“水针”, 选用中西药物注入有关穴位以达到治疗疾病目的的一种方法, 是中医现代化的产物, 相对于原来针灸所采用的“金针”。

通过对胃俞穴和足三里穴的交替施针, 配合西医常规治疗, 可以达到异曲同工之妙, 提高治疗效果^[13,14].

本文研究病例为首次出现AP, 且年龄较大, 常规西医治疗效果不明显, 治疗总有效率为64.4%, 其中无效率达35.6%, 而观察组经胃俞穴与足三里穴穴位注射山莨菪碱后效果明显提升. 古语云: 胃, 胃腑也, 俞, 输也, 穴名意指胃腑的湿热水气由此外输膀胱经. 现代医学证明, 刺激胃俞穴可以使得胃腑的湿热水气由此外输膀胱经, 达到治疗消化系统疾病的目的^[15], 足三里穴是胃经的穴位, 古书记载“若要安, 三里常不干”、“一切病皆灸足三里”, 说明足三里穴对消化系统尤为重要^[16]. 山莨菪碱具有解除平滑肌痉挛、胃肠绞痛的功效, 加速胃容物的排空, 口服吸收一般较少, 通过穴位注射, 对穴位进行一段时间的刺激, 对AP治疗有很大的辅助治疗作用^[17]. 将本文研究数据进一步进行比较也不难看出, 观察组患者住院时间为10 d左右, 而对照组则为15 d, 在入院第3天, 两组患者APACHE II评分即出现差异, 对观察组患者出院后继续进行穴位注射后, 最后总有效率达到86.7%, 显著高于对照组. 归结原因为: 穴位注射山莨菪碱可以促进胃肠动力, 减少胃肠绞痛, 达到较好的治疗效果.

总之, 在西医常规治疗的基础上采用山莨菪碱穴位注射AP患者肠功能恢复作用明显, 对临床治疗有一定的指导意义.

4 参考文献

- 1 梁艳娉, 马盈盈, 巫织娥, 周小香. 急性胰腺炎的中西结合治疗与护理探讨. 中国中医药咨讯 2010; 2: 241-242
- 2 雷若庆. 浅谈进一步提高急性胰腺炎的治疗水平. 中华外科杂志 2010; 48: 1373-1374
- 3 郭蒙蒙, 姜婷, 熊青. 急性胰腺炎亚特兰大分类新标准解读. 医学新知杂志 2013; 23: 43-48
- 4 赵春娟. APACHE-II、APACHE-III评分在重症急性胰腺炎中的应用价值. 南宁: 广西医科大学, 2009
- 5 姜凌琳. 急性胰腺炎中医病证与细胞因子及相关物质基础的研究. 扬州: 扬州大学, 2008
- 6 陈旻湖. 急性胰腺炎的诊断. 中华消化杂志 2013; 33: 730-731
- 7 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组. 中国急性胰腺炎诊治指南(草案). 现代消化及介入诊疗 2007; 12: 206-208
- 8 钱家鸣. 再谈我国急性胰腺炎的病因与治疗. 中华内科杂志 2007; 46: 979-980
- 9 黄天生, 朱生樑, 马淑颖, 王晓素, 周秉舵, 王高峰, 王宏伟, 李黎, 尚莹莹, 郭召平. 急性胰腺炎中医证型与疾病轻重类型相关性研究. 江苏中医药 2011; 43: 32-33
- 10 雷艳珍, 牛明华, 邹晓平. 急性胰腺炎266例血型检测及其相关性研究. 陕西医学杂志 2011; 40: 1249-1250
- 11 陈玉梅, 冯志杰. 急性胰腺炎肠道功能障碍的发病机制与治疗. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1643-1648
- 12 陈婧华, 陈垦, 王晖. 急性胰腺炎发病机制研究进展. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2478-2483
- 13 苏宏领, 李婷婷, 夏亮. 应用足三里穴治疗急性胰腺炎的研究进展. 实用临床医学 2013; 14: 132-134, 139
- 14 戈宏焱, 陈博. 穴位贴敷配合药物治疗急性胰腺炎临床观察. 中国针灸 2012; 32: 602-604
- 15 常小荣, 严洁, 易受乡. 足三里梁门胃俞穴红外辐射与慢性胃痛的相关规律及其应用. 世界华人消化杂志 2009; 17: 516-520
- 16 许建新. 足三里穴的临床应用. 针灸临床杂志 2011; 27: 21-22
- 17 代国龙, 李庭军. 山莨菪碱针、低分子右旋糖酐联合丹参注射液治疗重症急性胰腺炎46例. 海南医学 2011; 22: 25-26

■同行评价

本研究具有一定的临床意义.

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



影像设备引导下腹横肌平面阻滞对结肠手术患者镇痛效果的影响

祝建斌, 申文, 王必铭

■背景资料

开腹手术患者术后产生的疼痛主要来自腹壁切口, 腹横肌平面阻滞(transversus abdominis plane block, TAPB)是指通过侧腹壁的腹内斜肌和腹横肌之间的神经筋膜层注射局麻药来阻滞支配正中腹壁的神经, 以期获得良好的镇痛效果。随着影像技术的发展, 超声引导下进行TAPB可观察穿刺针的走向以及药物扩散的方向、范围, 提高了TAPB的成功率和安全性。

祝建斌, 申文, 王必铭, 温岭市东方医院麻醉科 浙江省温岭市 317525

祝建斌, 主治医师, 主要从事麻醉及疼痛方面临床和基础研究。
作者贡献分布: 本文主要由祝建斌与申文共同写作完成; 王必铭全程参与研究。

通讯作者: 祝建斌, 主治医师, 317525, 浙江省温岭市大溪镇大溪北路472号, 温岭市东方医院麻醉科. zjianbinbin@163.com
电话: 0576-86337199

收稿日期: 2015-05-25 修回日期: 2015-06-05

接受日期: 2015-06-15 在线出版日期: 2015-07-18

Impact of ultrasound-guided transversus abdominis plane block on analgesic effects in patients receiving colon operation

Jian-Bin Zhu, Wen Shen, Bi-Ming Wang

Jian-Bin Zhu, Wen Shen, Bi-Ming Wang, Department of Anesthesiology, Oriental Hospital of Wenling City, Wenling 317525, Zhejiang Province, China

Correspondence to: Jian-Bin Zhu, Attending Physician, Department of Anesthesiology, Oriental Hospital of Wenling City, 472 Daxi North Road, Daxi Town, Wenling 317525, Zhejiang Province, China. zjianbinbin@163.com
Received: 2015-05-25 Revised: 2015-06-05
Accepted: 2015-06-15 Published online: 2015-07-18

Abstract

AIM: To assess the impact of imaging-guided transversus abdominis plane block (TAPB) on analgesic effects in patients receiving colon operation.

METHODS: Ninety patients who received colon operation from January 2012 to December 2014 at our hospital were enrolled for the study

and randomly divided into an observation group and a control group, with 40 cases in each group. All cases received ultrasound-guided TAPB with 30 mL of 0.25% ropivacaine (observation group) or saline (control group). Systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP), and heart rate (HR) changes during surgery, Ramsay scores and visual analogue scale (VAS) scores at 1, 2, 6, 12, and 24 h after surgery, sufentanil consumption during and after surgery, frequency of electronic analgesia pump use after surgery, intestinal rehabilitation index after surgery, and incidence of adverse reactions were compared between the two groups.

RESULTS: SBP, DBP, and HR at 3 min after skin incision and at the end of surgery were significantly lower in the observation group than in the control group ($P < 0.05$). VAS scores at 1, 2, 6, 12, and 24 h after surgery were significantly lower in the observation group than in the control group ($P < 0.05$). Sufentanil consumption during surgery and in 24 h after surgery, and frequency of electronic analgesia pump use after surgery were significantly lower in the observation group than in the control group ($P < 0.05$). The time to first exhaust, time to first defecation, time to resume a normal diet, and hospitalization time were significantly shorter in the observation group than in the control group ($P < 0.05$). Three (7.5%) patients developed adverse reactions in the observation group, including 2 cases of nausea and 1 case of vomiting. Ten (25.0%) patients developed adverse reactions in the control group, including 7 cases of

■同行评议者

刘宝林, 教授, 中国医科大学附属盛京医院; 李健丁, 教授, 山西医科大学第一医院放射科CT室

nausea and 3 case of vomiting. No respiratory repression, urine retention urine or other serious adverse reactions occurred in either group. The incidence of adverse reactions in the observation group was significantly lower than that in the control group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Ultrasound-guided TAPB before colon surgery could reduce the fluctuation of vital signs, effectively relieve postoperative pain and promote postoperative recovery, without significant complications.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Ultrasonography; Transversus abdominis plane block; Postoperative analgesia

Zhu JB, Shen W, Wang BM. Impact of ultrasound-guided transversus abdominis plane block on analgesic effects in patients receiving colon operation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(20): 3308-3314 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3308.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i20.3308>

摘要

目的: 探讨超声引导下腹横肌平面阻滞(transversus abdominis plane block, TAPB)对结肠手术患者镇痛效果的影响。

方法: 选取2012-01/2014-12于温岭市东方医院接受择期结肠手术的80例患者为研究对象, 随机分为观察组和对照组, 每组40例。全部患者均在超声引导下进行TAPB, 分别注入30 mL的0.25%罗哌卡因(观察组)或等量的生理盐水(对照组)。比较两组患者术中的收缩压(systolic blood pressure, SBP)、舒张压(diastolic blood pressure, DBP)和心率(heart rate, HR)的变化, 术后1、2、6、12、24 h的Ramsay评分和视觉模拟量表(visual analogue scale, VAS)评分, 术中、术后使用舒芬太尼进行补救的剂量, 术后电子镇痛泵的按压次数, 术后肠道康复指标以及不良反应发生率。

结果: 观察组在切口后3 min、手术结束时的SBP、DBP、HR均显著低于对照组($P < 0.05$)。观察组术后1、2、6、12、24 h的VAS评分均显著低于对照组($P < 0.05$)。观察组术中、术后24 h内的舒芬太尼用量以及电子镇痛泵按压次数均显著低于对照组($P < 0.05$)。观察组患者的术后首次排气时间、首次排便时间、进

行普食时间、住院时间等术后肠道康复指标均显著少于对照组($P < 0.05$)。观察组出现3例(7.5%)不良反应, 包括2例恶心, 1例呕吐, 对照组出现10例(25.0%)不良反应, 包括7例恶心, 3例呕吐, 所有患者均无呼吸抑制、尿潴留等严重不良反应。观察组的不良反应发生率显著低于对照组($P < 0.05$)。

结论: 在结肠手术前进行过影像设备引导下TAPB减少了术中生命体征的波动, 有效缓解了术后的疼痛感, 促进了术后的康复, 安全可靠, 值得临床推广。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 超声引导; 腹横肌平面阻滞; 术后镇痛

核心提示: 在结肠手术前进行影像设备引导下腹横肌平面阻滞(transversus abdominis plane block)可减少术中生命体征的波动, 有效缓解术后的疼痛感, 促进术后的康复, 安全可靠, 值得临床推广。

祝建斌, 申文, 王必铭. 影像设备引导下腹横肌平面阻滞对结肠手术患者镇痛效果的影响. *世界华人消化杂志* 2015; 23(20): 3308-3314 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3308.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i20.3308>

0 引言

开腹手术患者术后产生的疼痛主要来自腹壁切口, 若镇痛效果不好, 不仅会降低患者的生活质量和满意度, 还容易使术后恢复延迟, 甚至发展成为神经病理性疼痛, 故开腹手术过程中的镇痛一直是国内外研究的热点所在。腹横肌平面阻滞(transversus abdominis plane block, TAPB)是指通过侧腹壁的腹内斜肌和腹横肌之间的神经筋膜层注射局麻药来阻滞支配正中腹壁的神经, 以期获得良好的镇痛效果。随着影像技术的发展, 超声引导下进行TAPB可观察穿刺针的走向以及药物扩散的方向、范围, 提高了TAPB的成功率和安全性, 近年来TAPB逐渐成为国外研究的热点, 但在国内应用较少, 且多集中在产科手术, 较少研究关注其在结肠手术患者的应用效果。本研究旨在探讨超声引导下TAPB对结肠手术患者的镇痛效果及安全性, 为临床应用提供参考依据, 现将结果报道如下。

■ 研究背景

目前临床上常用的术后镇痛方法包括经硬膜外间隙自控镇痛(patient controlled epidural analgesia, PCEA)和经静脉患者自控镇痛(patient controlled intravenous analgesia, PCIA)两种模式, 但PCEA的不良反应发生率较高, 应用范围较窄, PCIA的应用效果不定, 且较容易出现并发症。近年来TAPB因有效率和安全性在临床上越来越重要, 其不仅可应用在产科手术中, 在开腹结肠手术中也有应用很强的应用前景。

■ 相关报道

杨莉对40例经腹胃癌手术患者均实行了超声引导下TAPB, 发现注射40 mL 0.375%布比卡因的TM组的术中和术后镇痛药物用量均显著低于注射等量生理盐水的M组, 超声引导下TAPB明显提高了患者对镇痛效果的满意度。Walter等的一份随机、对照研究证实超声引导下TAPB可有效降低腹腔镜结肠手术的术后疼痛感, 促进术后康复。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2012-01/2014-12于温岭市东方医院接受择期结肠手术的80例患者为研究对象, 纳入标准: (1)手术采用全麻, 且为传统开腹手术; (2)美国麻醉师协会(American Society of Anesthesiologists, ASA) I-III级; (3)均同意入组, 已签署知情同意书。排除标准: (1)侧腹壁穿刺部位皮肤有破损; (2)合并严重的心、肺、肝、肾功能不全; (3)有药物、酒精滥用史。按照随机数字表分为观察组和对照组, 两组各40例。观察组中男24例, 女16例, 年龄39-69岁, 平均50.1岁 \pm 10.3岁, 体质量48-77 kg, 平均63.6 kg \pm 12.0 kg, 手术时间101-178 min, 平均139.3 min \pm 28.8 min, 术中失血量115-185 mL, 平均150.5 mL \pm 28.6 mL。对照组中男25例, 女15例, 年龄40-68岁, 平均51.2岁 \pm 9.8岁, 体质量49-80 kg, 平均65.0 kg \pm 11.6 kg, 手术时间103-180 min, 平均140.7 min \pm 29.0 min, 术中失血量115-190 mL, 平均149.8 mL \pm 29.5 mL。两组的性别、年龄、体质量、手术时间及失血量等资料比较, 差异无统计学意义($P>0.05$), 具有可比性。本研究符合医学伦理学原则, 已通过本院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 全部患者术前常规禁食、禁饮12 h, 入室后监测心电图、血压、血氧饱和度、呼吸频率, 并建立静脉通路、面罩吸氧。两组患者统一麻醉方案, 均依次采用咪达唑仑0.3-0.4 mg/kg、依托咪酯0.15-0.3 mg/kg、舒芬太尼0.5 μ g/kg、阿曲库铵0.15 mg/kg, 快速诱导后行气管插管, 然后进行超声引导下TAPB, 具体方法为: 使用美国GE USN60便携式超声仪及频率在8-14 MHz的高频探头在第12肋和髂嵴之间的腋前线水平区域进行扫描, 从浅到深依次识别腹壁的肌肉和组织, 获得TAPB图像。然后使用22 G \times 10 cm的局麻针在高频探头的纵轴中位线进针, 注意保持局麻针和中位线在一个水平面, 在超声的引导下将局麻针穿刺到腹横肌和腹内斜肌之间的筋膜处, 回抽无气体和血液后, 观察组在此处注入30 mL的0.25%盐酸罗哌卡因注射液, 对照组则在此处注入30 mL的生理盐水, 观察液体是否正常扩散。然后采用同样的方法进行对侧的TAPB。全部过程坚持双盲原则, 患者、麻醉医师和术者均对注射液不知情。阻滞完成后15-20 min进行手术, 术

中给予1.5%-2%七氟烷吸入和5-7 mg/(kg \cdot h)丙泊酚微泵维持, 间断静推罗库溴铵, 若血压升高 \geq 20%则给予舒芬太尼0.1 μ g/kg, 将脑电双频谱指数(bispectral index, BIS)维持在40-60。术后待患者苏醒后给予经静脉患者自控镇痛(patient controlled intravenous analgesia, PCIA), 全部患者均采用一次性的电子镇痛泵, 配方为120 μ g的舒芬太尼加入100 mL的0.9%氯化钠溶液中, 背景剂量为2 mL/h, 单次输注2 mL, 锁定时间为15 min。

1.2.2 观察指标: 生命体征: 记录全部患者术前、切皮前、切皮后3、20、40 min、手术结束时、术后1、4、8、16、24 h时两组患者的收缩压(systolic blood pressure, SBP)、舒张压(diastolic blood pressure, DBP)和心率(heart rate, HR)。

镇痛效果: 在术后1、2、6、12、24、48 h对全部患者进行Ramsay评分和视觉模拟量表(visual analogue scale, VAS)评分。Ramsay评分结果为1-6分, 1分代表烦躁不安, 2分代表清醒、安静合作, 3分代表嗜睡、对指令反应敏捷, 4分代表浅睡眠、可快速唤醒, 5分代表入睡状态、对呼叫反应迟钝, 6分代表深睡状态、对呼叫无反应, 1分提示镇静效果差, 2-4分提示镇静效果满意, 5-6分提示过度镇静。VAS疼痛评分时采用一条10 cm长的游动标尺, 尺上有10个刻度, 包括0-10分, 0分代表无痛, 10分代表难以忍受的剧烈疼痛, 让患者在直尺上标出能代表自己疼痛程度的位置, 医生根据患者标出的位置记录其评分。据此比较两组患者术后不同时刻的Ramsay镇静评分和VAS疼痛评分。并记录术中、术后12 h内、12-24 h使用舒芬太尼进行补救的剂量, 以及术后电子镇痛泵的按压次数。

术后肠道康复: 记录全部患者的术后首次排气时间、首次排便时间、进行普食时间、住院时间等术后肠道康复指标。

不良反应: 观察并记录全部患者术后穿刺部位有无出现感染、血肿, 有无出现皮肤瘙痒、恶心、呕吐、尿潴留、下肢感觉或运动异常、呼吸抑制等不良反应。

统计学处理 所有资料均采用SPSS17.0统计学软件进行统计分析, 定性资料采用 χ^2 检验, 定量资料以mean \pm SD表示, 用 t 检验, $P<0.05$ 视为差异具有统计学意义。

表 1 两组患者不同时间点的生命体征比较 (mean ± SD, n = 40)

分组与项目	术前	切皮前	切皮后3 min	切皮后20 min	切皮后40 min	手术结束时	术后1h	术后4h	术后8h	术后16h	术后24h
SBP(mmHg)											
观察组	121.7 ± 17.5	110.3 ± 12.3	115.0 ± 13.6	116.8 ± 15.7	117.5 ± 16.1	126.8 ± 17.5	121.8 ± 18.0	121.3 ± 19.5	121.6 ± 19.1	122.3 ± 19.5	123.0 ± 18.1
对照组	123.5 ± 18.1	111.2 ± 15.8	123.6 ± 17.3	120.5 ± 18.6	118.9 ± 18.2	138.2 ± 20.2	126.1 ± 18.6	125.5 ± 19.0	124.8 ± 18.8	123.6 ± 18.3	124.9 ± 18.5
t值	0.452	0.284	2.472	0.961	0.364	2.698	1.051	0.976	0.755	0.307	0.464
P值	0.652	0.777	0.016	0.339	0.717	0.009	0.297	0.332	0.452	0.759	0.644
DBP(mmHg)											
观察组	81.5 ± 12.0	71.3 ± 12.6	73.2 ± 11.8	77.1 ± 12.7	81.8 ± 13.3	83.6 ± 12.9	83.1 ± 12.2	82.6 ± 13.0	83.3 ± 13.4	83.7 ± 13.5	83.9 ± 12.3
对照组	82.6 ± 12.6	72.0 ± 15.3	81.9 ± 15.5	80.2 ± 16.6	83.9 ± 18.0	90.8 ± 16.1	85.0 ± 15.3	84.6 ± 14.8	84.2 ± 14.6	84.2 ± 15.0	84.3 ± 16.2
t值	0.400	0.223	2.792	0.938	0.593	2.207	0.614	0.642	0.287	0.157	0.435
P值	0.690	0.824	0.007	0.351	0.555	0.030	0.541	0.523	0.775	0.876	0.665
HR(次/min)											
观察组	74.6 ± 11.7	68.8 ± 12.1	71.9 ± 13.6	74.2 ± 13.8	76.0 ± 13.2	80.1 ± 13.8	77.3 ± 11.9	76.0 ± 13.6	74.8 ± 13.0	75.2 ± 14.2	76.2 ± 15.3
对照组	75.2 ± 12.3	69.3 ± 12.8	79.7 ± 14.2	78.0 ± 14.2	78.7 ± 12.5	88.6 ± 17.2	78.5 ± 12.6	75.7 ± 13.3	75.2 ± 12.8	76.0 ± 13.7	76.9 ± 15.8
t值	0.224	0.180	2.509	1.214	0.939	2.438	0.438	0.100	0.139	0.251	0.201
P值	0.824	0.858	0.014	0.229	0.350	0.017	0.663	0.921	0.891	0.803	0.841

SBP: 收缩压; DBP: 舒张压; HR: 心率.

2 结果

2.1 生命体征 观察组在切皮后3 min、手术结束时的SBP、DBP、HR均显著低于对照组($P<0.05$). 其余时间点的SBP、DBP和HR比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)(表1).

2.2 镇痛效果 观察组术后1、2、6、12、24 h的VAS评分均显著低于对照组($P<0.05$). 观察组术中、术后各时间段的舒芬太尼用量以及电子镇痛泵按压次数均显著低于对照组($P<0.05$)(表2, 3).

2.3 术后肠道康复 观察组患者的术后首次排气时间、首次排便时间、进行普食时间、住院时间等术后肠道康复指标均显著少于对照组($1.8\text{ d} \pm 0.5\text{ d}$ vs $2.2\text{ d} \pm 0.6\text{ d}$, $2.5\text{ d} \pm 0.8\text{ d}$ vs $3.1\text{ d} \pm 1.0\text{ d}$, $2.2\text{ d} \pm 0.7\text{ d}$ vs $2.9\text{ d} \pm 1.1\text{ d}$, $5.6\text{ d} \pm 1.2\text{ d}$ vs $6.7\text{ d} \pm 1.5\text{ d}$, 均 $P<0.05$).

2.4 不良反应 观察组出现3例(7.5%)不良反应, 包括2例恶心、1例呕吐, 对照组出现10例(25.0%)不良反应, 包括7例恶心、3例呕吐, 所有患者均无呼吸抑制、观察组的不良反应发生率显著低于对照组($P<0.05$).

创新点
以往国内关于TAPB的研究较少, 且多集中在产科手术, 较少研究关注其在结肠手术患者的应用效果. 本研究属于一份随机、对照的临床研究, 将接受择期结肠手术的80例患者随机分为观察组和对照组, 全部患者均在超声引导下进行TAPB, 观察组和对照组患者分别在TAPB后注入30 mL的0.25%罗哌卡因(观察组)或等量的生理盐水(对照组), 比较两组患者术中的血压和心率的搏动, 术后不同时刻的Ramsay评分和视觉模拟量表(visual analogue scale)评分, 以及术中、术后使用舒芬太尼进行补救的剂量, 术后电子镇痛泵的按压次数, 术后肠道康复指标以及不良反应发生率.

应用要点

本研究结果表明在结肠手术前进行过影像设备引导下TAPB时穿刺定位的准确性很高,术中生命体征的波动幅度较低,有效缓解了术后的疼痛感,促进了术后的康复,其有效性和安全性均很高,值得临床推广。

表 2 两组患者不同时间点的Ramsay评分和VAS评分比较 (mean ± SD, n = 40, 分)

分组与项目	术后1 h	术后2 h	术后6 h	术后12 h	术后24 h	术后36 h	术后48 h
Ramsay评分							
观察组	2.3 ± 0.5	2.4 ± 0.4	2.5 ± 0.4	2.2 ± 0.6	2.3 ± 0.7	2.3 ± 0.5	2.4 ± 0.7
对照组	2.5 ± 0.6	2.3 ± 0.5	2.7 ± 0.6	2.5 ± 1.0	2.7 ± 1.1	2.5 ± 0.8	2.6 ± 1.0
t值	1.620	0.988	1.754	1.627	1.940	1.341	1.036
P值	0.106	0.326	0.083	0.108	0.056	0.184	0.303
VAS评分							
观察组	2.0 ± 0.9	2.1 ± 1.0	2.2 ± 1.1	2.3 ± 1.2	2.2 ± 1.0	2.3 ± 0.9	2.1 ± 0.8
对照组	2.6 ± 1.2	2.8 ± 1.4	2.8 ± 1.3	2.9 ± 1.2	2.7 ± 1.1	2.6 ± 1.1	2.3 ± 1.0
t值	2.530	2.573	2.228	2.236	2.127	1.335	0.988
P值	0.013	0.012	0.029	0.028	0.037	0.186	0.326

VAS: 视觉模拟量表评分。

表 3 两组患者不同时间段舒芬太尼用量和电子镇痛泵按压次数比较 (mean ± SD, n = 40)

分组	术中	舒芬太尼用量(μg)		电子镇痛泵按压次数		术后首次按压电子镇痛泵时间(min)
		术后0-12 h	术后12-24 h	术后0-12 h	术后12-24 h	
观察组	13.1 ± 9.6	36.8 ± 8.6	43.1 ± 9.5	1.5 ± 1.1	2.0 ± 1.6	168.3 ± 33.6
对照组	19.3 ± 11.0	49.6 ± 11.3	51.2 ± 13.5	4.5 ± 2.3	4.6 ± 3.0	196.2 ± 40.5
t值	2.686	5.701	3.103	7.442	4.836	3.353
P值	0.009	<0.001	0.003	<0.001	<0.001	0.001

3 讨论

结肠不仅是人体重要的消化器官,还有丰富的神经丛。结肠手术对患者的创伤较大,术后容易产生切口的疼痛,并且在术后12 h内最严重,然后逐渐减轻,常持续到术后3 d左右。术后严重的切口疼痛不仅影响患者的生活质量,引起各种不便,导致满意度下降,还减慢了术后康复进程,延长了住院时间,增加了患者的医疗负担。因此,对结肠手术患者进行有效的术后镇痛非常重要。目前临床上常用的术后镇痛方法包括经硬膜外间隙自控镇痛(patient controlled epidural analgesia, PCEA)和PCIA两种模式。PCEA的术后镇痛效果较令人满意,且比较稳定,但对穿刺的技术要求较高,风险较大,容易引起不良反应,如穿刺并发症、尿潴留、血压大幅波动、局麻药引起的神经损伤等,并且应用范围较窄,合并冠心病等心血管疾病的患者常因近期服用抗凝药而不能进行硬膜外穿刺,无法进行PCEA。PCIA的操作较为简单,对技术要求较低,应用范围也较广,但由于每个患者对镇痛药的敏感性不同,故应用效果有较大差异,并且因镇痛药使用剂量较大,

较容易出现恶心呕吐、认知功能障碍、呼吸抑制等并发症^[1]。

腹部的皮肤和肌肉的感觉神经主要来自T6-L1的前支,其经过侧腹壁、腹外斜肌、腹内斜肌,在腹内斜肌和腹横肌之间的神经筋膜层到达前腹壁。TAPB就是将局麻药物注入该筋膜平面来阻断痛觉经由前腹壁感觉神经的传入,降低了术后腹部的疼痛感。TAPB属于外周区域神经阻滞方法,不仅有效避免了中枢疼痛敏感化的形成,抑制了机体的应激反应,提高了患者对疼痛的耐受程度,并且减少了中枢用药带来的不良反应发生风险,对血流动力学和呼吸的影响较小,安全可靠^[2]。但是TAPB也有局限性,传统的TAPB是根据解剖定位,以穿刺针穿过腹外斜肌和腹内斜肌的突破感作为定位标志,阻滞效果与操作者的经验和患者的个体差异有关,并且盲目进行穿刺容易导致刺破器官、将局麻药注入血管,引起相应的不良反应,故传统TAPB的组织成功率较低,穿刺风险也较高。近年来,随着影像技术的发展,影像设备与临床操作的配合越来越多,由于皮下脂肪为低回声,肌肉之间的筋膜平面为高回声带,

肌肉介于低回声和高回声之间, 因此, 通过超声扫描可准确判断穿刺针到达的位置, 这大大降低了因穿刺导致的并发症风险. 并且在超声的实时成像下, 操作者可观察到局麻药的扩散情况, 表现为无回声, 故有助于提高成功率.

近年来国内外的术者均开始研究TAPB, 其应用范围也越来越高^[3-6]. Hebbard等^[7]的研究认为超声引导下TAPB可有效阻滞剑突至耻骨联合之间的感觉, 适合于上腹部手术, 术后镇痛效果较明显. 杨莉^[8]对40例经腹胃癌手术患者均实行了超声引导下TAPB, 发现注射40 mL 0.375%布比卡因的TM组的术中和术后镇痛药物用量均显著低于注射等量生理盐水的M组, 超声引导下TAPB明显提高了患者对镇痛效果的满意度. 国外亦有多项研究^[9-11]认为TAPB的阻滞平面为T7-L1, 可有效缓解下腹部手术带来的疼痛, 且持续时间可达到6 h, 具有可靠持久的镇痛效果. 王国湘等^[12]将60例全麻下行腹腔镜卵巢囊肿剥除术患者随机分为两组, 全部患者均进行超声引导下双侧TAPB, 注射40 mL 0.375%罗帕卡因的T组的术后各时间点的咳嗽VAS评分、镇痛泵按压次数、首次按压时间等均显著低于注射生理盐水组, 提示超声引导下TAPB可显著缓解妇科手术的术后疼痛, 降低镇痛药的用量, 安全有效. 在结肠方面, 国外有随机、对照研究^[13]证实超声引导下TAPB可有效降低腹腔镜结肠手术的术后疼痛感, 促进术后康复. 何建华等^[14]将32例全麻下行结直肠癌手术患者随机分为R组(注射12-15 mL的0.375%罗哌卡因)和S组(注射等量生理盐水), 结果提示与S组相比, R组的血流动力学更平稳, 镇痛效果更好, 术后镇痛泵按压次数明显减少. 朴光天^[15]的研究同样证实乙状结肠癌手术前进行超声引导下TAPB可有效稳定切皮时的血压和心率、降低术后VAS评分, 且无严重不良反应, 安全可靠. 本研究全部患者均在超声引导下TAPB, 注入30 mL的0.25%罗哌卡因的观察组的切皮后3 min和手术结束时的SBP、DBP、HR均显著低于注入等量生理盐水的对照组($P<0.05$), 生命体征更加稳定. 观察组术后24 h内的VAS评分、术中、术后各时间段的舒芬太尼用量、电子镇痛泵按压次数、首次按压时间均显著低于对照组($P<0.05$), 可见超声引导下TAPB可阻断痛觉的传导, 显著降低术后的疼痛感. 观

察组患者的术后首次排气时间、首次排便时间、进行普食时间、住院时间等术后肠道康复指标均显著少于对照组($P<0.05$)患者术后疼痛感的降低也有助于患者的康复, 减少住院时间. 不良反应方面, 全部患者均无明显的不良反应, 仅出现轻度的恶心、呕吐, 观察组的不良反应发生率为7.5%, 显著低于对照组的25.0%($P<0.05$).

总之, 在结肠手术前进行过影像设备引导下TAPB时穿刺定位更加准确, 减少了术中生命体征的波动, 有效缓解了术后的疼痛感, 促进了术后的康复, 安全可靠, 值得临床推广.

■名词解释

腹横肌平面阻滞(TAPB): 是指通过侧腹壁的腹内斜肌和腹横肌之间的神经筋膜层注射局麻药来阻滞支配正中腹壁的神经, 以此缓解患者腹部的疼痛感.

4 参考文献

- 高志屹, 程斌. 超声引导下腹横肌平面阻滞用于下腹部手术术后镇痛的效果. 临床麻醉学杂志 2014; 30: 1190-1192
- Gasanova I, Grant E, Way M, Rosero EB, Joshi GP. Ultrasound-guided transversus abdominal plane block with multimodal analgesia for pain management after total abdominal hysterectomy. *Arch Gynecol Obstet* 2013; 288: 105-111 [PMID: 23291970 DOI: 10.1007/s00404-012-2698-3]
- Gharaei H, Imani F, Almasi F, Solimani M. The effect of ultrasound-guided TAPB on pain management after total abdominal hysterectomy. *Korean J Pain* 2013; 26: 374-378 [PMID: 24156004 DOI: 10.3344/kjp.2013.26.4.374]
- Sinha A, Jayaraman L, Punhani D. Efficacy of ultrasound-guided transversus abdominis plane block after laparoscopic bariatric surgery: a double blind, randomized, controlled study. *Obes Surg* 2013; 23: 548-553 [PMID: 23361468 DOI: 10.1007/s11695-012-0819-5]
- Wu Y, Liu F, Tang H, Wang Q, Chen L, Wu H, Zhang X, Miao J, Zhu M, Hu C, Goldsworthy M, You J, Xu X. The analgesic efficacy of subcostal transversus abdominis plane block compared with thoracic epidural analgesia and intravenous opioid analgesia after radical gastrectomy. *Anesth Analg* 2013; 117: 507-513 [PMID: 23744953 DOI: 10.1213/ANE.0b013e318297fcee]
- Albrecht E, Kirkham KR, Endersby RV, Chan VW, Jackson T, Okrainec A, Penner T, Jin R, Brull R. Ultrasound-guided transversus abdominis plane (TAP) block for laparoscopic gastric-bypass surgery: a prospective randomized controlled double-blinded trial. *Obes Surg* 2013; 23: 1309-1314 [PMID: 23591549 DOI: 10.1007/s11695-013-0958-3]
- Hebbard PD, Barrington MJ, Vasey C. Ultrasound-guided continuous oblique subcostal transversus abdominis plane blockade: description of anatomy and clinical technique. *Reg Anesth Pain Med* 2010; 35: 436-441 [PMID: 20830871 DOI: 10.1097/AAP.0b013e3181e66702]
- 杨莉. 超声引导肋缘下多点腹横肌平面阻滞对经腹胃癌手术的临床疗效. 吉林: 吉林大学, 2014
- McDonnell JG, O'Donnell BD, Farrell T, Gough N, Tuite D, Power C, Laffey JG. Transversus abdominis plane block: a cadaveric and radiological evaluation.

■同行评价

本研究内容真实,
有一定的可读性.

- 10 Murouchi T, Yamauchi M, Gi E, Takada Y, Mizuguchi A, Yamakage M, Fujimiya M. [Ultrasound-guided subcostal and mid-axillary transversus abdominis plane block: a cadaveric study of the spread of injectate]. *Masui* 2013; 62: 60-63 [PMID: 23431895]
- 11 Milan ZB, Duncan B, Rewari V, Kocarev M, Collin R. Subcostal transversus abdominis plane block for postoperative analgesia in liver transplant recipients. *Transplant Proc* 2011; 43: 2687-2690 [PMID: 21911147 DOI: 10.1016/j.transproceed.2011.06.059]
- 12 王国湘, 朱建刚. 腹横肌平面阻滞用于腹腔镜卵巢囊肿切除术的术后镇痛. *重庆医学* 2014; 43: 2362-2364
- 13 Walter CJ, Maxwell-Armstrong C, Pinkney TD, Conaghan PJ, Bedford N, Gornall CB, Acheson AG. A randomised controlled trial of the efficacy of ultrasound-guided transversus abdominis plane (TAP) block in laparoscopic colorectal surgery. *Surg Endosc* 2013; 27: 2366-2372 [PMID: 23389068 DOI: 10.1007/s00464-013-2791-0]
- 14 何建华, 马曙光, 顾连兵, 黄凤伦. 超声引导腹横肌平面阻滞在结直肠癌手术中的应用. *临床麻醉学杂志* 2010; 26: 1070-1072
- 15 朴光天. 腹横肌平面阻滞乙状结肠癌开腹手术镇痛效果分析. *基层医学论坛* 2014; 18: 2883-2885

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



快速康复外科在结直肠癌患者中的应用

才保加, 张成武, 王晓龙, 游先强, 王祥盛, 王吉哲

才保加, 张成武, 王晓龙, 游先强, 王祥盛, 王吉哲, 青海大学附属医院胃肠外科 青海省西宁市 810000

才保加, 副主任医师, 主要从事胃肠肿瘤外科的工作。

青海大学附属医院中青年科研基金资助项目, No. 2010-151

作者贡献分布: 才保加对此文所作贡献较大; 此课题由才保加、张成武及王晓龙设计; 研究过程由游先强、王祥盛及王吉哲操作完成; 本论文写作由才保加、游先强及王祥盛完成。

通讯作者: 张成武, 教授, 主任医师, 810000, 青海省西宁市城西区同仁路29号, 青海大学附属医院胃肠外科。

xtoof@sina.com

电话: 0971-6230803

收稿日期: 2015-05-12 修回日期: 2015-06-08

接受日期: 2015-06-15 在线出版日期: 2015-07-18

Application of fast track surgery in colorectal cancer patients

Bao-Jia Cai, Cheng-Wu Zhang, Xiao-Long Wang, Xian-Qiang You, Xiang-Sheng Wang, Ji-Zhe Wang

Bao-Jia Cai, Cheng-Wu Zhang, Xiao-Long Wang, Xian-Qiang You, Xiang-Sheng Wang, Ji-Zhe Wang, Department of Gastrointestinal Surgery, Qinghai University Affiliated Hospital, Xining 810000, Qinghai Province, China

Supported by: Fund for Middle-aged and Young Scientists of Qinghai University Affiliated Hospital, No. 2010-151

Correspondence to: Cheng-Wu Zhang, Professor, Chief Physician, Department of Gastrointestinal Surgery, Qinghai University Affiliated Hospital, 29 Tongren Road, Chengxi District, Xining 810000, Qinghai Province, China. xtoof@sina.com

Received: 2015-05-12 Revised: 2015-06-08

Accepted: 2015-06-15 Published online: 2015-07-18

Abstract

AIM: To examine whether fast track surgery (FTS) has advantages over traditional scheme in the treatment of colorectal cancer in terms of efficacy and cost.

METHODS: We selected 60 patients with colorectal cancer treated at Department of Gastrointestinal Surgery of the Affiliated Hospital of Qinghai University from January 2013 to December 2013. These patients were randomly divided into an observation group and a control group. The observation group received FTS program, while the control group received conventional therapy. The time to first flatus, postoperative hospital stay, total hospital days, total cost of hospitalization and complications were compared for the two groups.

RESULTS: The time to first flatus was significantly shorter in the observation group than in the control group ($P = 0.000$). Postoperative hospital stay and total hospital stay were also significantly shorter in the observation group ($P = 0.000, 0.002$). Hospital cost was significantly lower in the observation group ($P = 0.013$). There was no significant difference in complications between the two groups ($P = 0.306$).

CONCLUSION: Treating patients with colorectal cancer by FTS can accelerate postoperative recovery, shorten hospital stay and postoperative hospital stay, and reduce medical costs, without increasing the incidence of complications.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colorectal cancer; Fast track surgery; Conventional therapy

Cai BJ, Zhang CW, Wang XL, You XQ, Wang XS, Wang JZ. Application of fast track surgery in colorectal

■背景资料

在结直肠癌治疗当中, 无论经典的开放术式和腔镜技术都面临一个问题, 那就是术后的康复, 随着术后康复成为制约医疗质量的瓶颈。在国际上一种叫快速康复外科(fast track surgery, FTS)的理念应运而生, 使患者术后住院时间, 住院总时间及住院费用等显著缩短, 极大改善了患者术后康复速度, 使传统的外科临床治疗模式发生重大改变。

■同行评议者

齐向秀, 讲师, 主管护师, 护士长, 中国医科大学附属盛京医院外科

■ 研究背景

FTS理念在国外已运用在多种手术中证实安全有效. 近年来在国内如南京军区总医院等也对进行了行之有效的研究, 取得理想效果. 但国内外在高原地区应用FTS方案研究还比较少, 并且部分医护人员及患者家属对FTS理念不能完全接受致使该方案在临床中执行相对困难.

cancer patients. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(20): 3315-3320 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3315.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i20.3315>

摘要

目的: 对比应用快速康复外科(fast track surgery, FTS)治疗方案和传统治疗方案的结直肠癌患者在医疗效率指标和费用方面进行对照研究.

方法: 对2013-01/2013-12在青海大学附属医院胃肠外科收治的经肠镜病理诊断确诊为结直肠癌60例患者, 随机分组, 30例应用FTS方案为FTS组, 30例应用常规治疗方案为对照组, 比较两组患者的恢复胃肠排气时间, 术后住院天数、总住院天数、住院总费用和并发症.

结果: FTS组患者术后恢复胃肠排气时间明显低于对照组($P = 0.000$). FTS组患者术后住院天数明显短于对照组($P = 0.000$). FTS组患者住院天数亦明显短于对照组($P = 0.002$). FTS组患者住院费用也远低于对照组($P = 0.013$). 两组患者并发症的发生率差异无统计学意义($P = 0.306$).

结论: 结直肠癌患者经FTS方案治疗, 加速术后康复, 缩短术后住院时间及总住院时间, 减少医疗费用产生, 并不增加肺部感染, 切口感染, 泌尿系感染等并发症的发生.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 结直肠癌; 快速康复外科; 传统疗法

核心提示: 结直肠癌患者经快速康复外科(fast track surgery)方案治疗, 可加速术后康复, 缩短住院时间, 减少医疗费用, 增加患者舒适度.

才保加, 张成武, 王晓龙, 游先强, 王祥盛, 王吉哲. 快速康复外科在结直肠癌患者中的应用. 世界华人消化杂志 2015; 23(20): 3315-3320 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3315.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i20.3315>

0 引言

目前结直肠癌为现代社会常见的消化系统恶性肿瘤. 在欧美国家发病率较高, 住院发病原因主要与高脂饮食有关, 我国进入社会飞速发展的过程, 人民的生活水平逐步提高, 不良的饮

食习惯如高脂肪, 高热量的食品摄入过多, 其发病率也逐年上升. 我国目前结直肠癌发病率有以下特点: 结直肠癌发病率随年龄而增长, 中老年人是发病的高危人群, 并有年轻化的趋势. 由于结直肠癌患者早期发病临床表现不典型往往表现为: 排便习惯的改变, 大便性状的改变, 隐匿的腹痛等, 往往发现病期较晚, 而直肠癌术后5年生存率与病理分期密切相关.

结直肠癌目前的治疗手段主要有手术治疗、化学药物治疗、放射治疗、生物基因治疗等, 外科手术治疗目前仍是治疗结直肠癌的重要方法. 外科治疗术式经过上百年的发展, 已形成经典的开放术式, 微创腔镜技术蓬勃发展. 无论经典的开放术式还是腔镜技术都面临一个问题, 那就是术后的康复, 怎样才能使患者获益最大, 术后康复成为制约医疗质量的瓶颈. 在国际上一种叫快速康复外科(fast track surgery, FTS)的理念应运而生, 使患者术后住院时间, 住院总时间及住院费用等显著缩短, 极大改善了患者术后康复速度, 传统的外科临床治疗模式发生重大改变.

FTS的理念包括在术前、术中及术后应用各种已证实有效的手段目的以减少手术应激, 加速患者术后的康复. 他是多种学科, 多种治疗方法协同结果, 目前许多措施已在临床应用. FTS理念在国外已运用在多种手术中证实安全有效. 近年来在国内如: 南京军区总医院等也对其进行了行之有效的研究, 取得理想效果. 我国平原地区将FTS理念应用于结直肠癌治疗过程中, 显著缩短了住院时间, 促进了术后胃肠道功能恢复, 降低了医疗成本^[1].

FTS理念应用到结直肠癌患者术后康复中平原地区的研究已证实行之有效. 国内外在高原地区应用FTS方案研究还比较少, 本研究选取地处高原地区结直肠癌根治切除手术的患者, 采用FTS方案与传统围手术期处理相比较, 观察其安全性、有效性及经济性.

1 材料和方法

1.1 材料 病例入选条件: 术前经肠镜活检证实为结直肠癌患者; 择期手术患者; 未行术前新辅助放化疗; 术式选择开腹行结直肠癌根治术患者; 无电解质紊乱; 肾功, 肝功能正常. 排除条件: 姑息性手术; 急诊手术; 有完全性肠梗阻; 联合脏器切除; 结直肠癌根治术失败及术

前心、肺、肝等器官功能异常严重; 拒绝FTS理念治疗. 对2013-01/2013-12在青海大学附属医院胃肠外科收治符合上述条件的结直肠癌患者60例, 其中男31例, 女29例; 年龄在36-80岁, 平均 65.1 ± 9.4 岁. 将入选患者随机分组, 30例应用FTS方案为FTS组, 30例应用常规治疗方案为对照组.

1.2 方法

1.2.1 FTS组治疗: 术前: (1)术前健康教育: 介绍快速康复理念, 与患者沟通并取得理解; (2)功能锻炼: 心肺功能锻炼如肺功能的锻炼吹气球, 心功能锻炼爬楼梯等; (3)胃肠道的准备: 术前24 h不再禁食水, 不再行机械性肠道准备, 而是口服乳果糖或应用开塞露促进排便; (4)术前12 h口服10%葡萄糖注射液1000 mL, 术前6 h禁食, 术前2 h口服10%葡萄糖注射液500 mL而后禁水; (5)无需留置胃肠减压管.

术中: (1)注意保暖, 维持手术室温度在 27°C - 30°C , 手术被褥提前预热, 应用温水冲洗腹腔; (2)使用短效全麻药品, 联合硬膜外麻醉减少全身麻醉药品的使用; (3)控制液体输注量; (4)在满足手术野的情况下, 缩小手术切口, 不过度暴露; (5)合理放置腹腔引流管, 手术野渗出少, 吻合满意的, 不放置腹腔引流管.

术后: (1)满意有效的镇痛: 患者应用自控镇痛泵(PCA)或口服环氧化酶抑制剂(COX); (2)麻醉清醒8 h后即可少量饮水, 逐步由流质饮食变为半流质饮食, 以患者无恶心、呕吐和腹胀为限; (3)术后1 d督促并指导患者下床活动, 逐步增加下床活动的频率与强度; (4)术后48 h内拔除导尿管; (5)术后禁食期间严格控制补液, 防止摄入过多, 患者恢复饮食后, 停止补液; (6)常规应用红外治疗仪照射切口.

1.2.2 传统对照组治疗: 术前常规机械性肠道准备(口服导泻剂和灌肠), 禁食24 h, 禁水12 h, 首日留置胃肠减压管. 术中保温无特殊手段. 手术切口根据探查, 选择手术切口长度, 常规留置腹管. 术后镇痛应用PCA, 使用阿片类止痛药. 拔除胃管待患者肛门排气后, 开始饮水. 根据患者意愿下床运动. 静脉输注量维持在2500-3500 mL/d. 术后切口无常规应用红外治疗仪照射切口.

1.2.3 出院标准: (1)术后疼痛能有效地控制, 镇痛药物必要时口服; (2)经口进食能满足自身生理需求, 无需静脉给药; (3)患者行走不受限制;

(4)患者同意出院.

1.2.4 观察项目: 患者术后恢复胃肠排气时间, 总住院天数, 术后住院天数, 住院费用, 并发症等(表1).

统计学处理 运用SPSS17.0统计软件对数据进行统计学分析. 对计量资料的描述以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 采用 t 检验进行差异性分析; 并发症的发生率采用四格表资料 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 一般情况 FTS组与对照组患者的年龄, 性别, 手术方式等差异无统计学意义($P > 0.05$)(表2).

2.2 术后首次排气时间、术前往院时间、术后住院时间、住院费用比较 与对照组患者相比, FTS组患者术后恢复胃肠排气时间明显低于对照组($2.0 \text{ d} \pm 0.7 \text{ d}$ vs $4.1 \text{ d} \pm 1.8 \text{ d}$, $P = 0.000$); FTS组与对照组术前往院天数差异并无统计学意义($13.0 \text{ d} \pm 4.0 \text{ d}$ vs $13.0 \text{ d} \pm 4.3 \text{ d}$, $P = 1.000$), 术后住院天数较传统对照组明显缩短($12.1 \text{ d} \pm 1.9 \text{ d}$ vs $16.1 \text{ d} \pm 4.0 \text{ d}$, $P = 0.000$), 总住院天数亦明显短于对照组($25.2 \text{ d} \pm 3.8 \text{ d}$ vs $29.0 \text{ d} \pm 5.9 \text{ d}$, $P = 0.002$). FTS组患者住院费用也远低于对照组($45503.2 \text{ 元} \pm 1397.8 \text{ 元}$ vs $49726.8 \text{ 元} \pm 874.1 \text{ 元}$, $P = 0.013$).

2.3 并发症 FTS组与对照组在并发症的发生率对比发现并不增加并发症的发生几率[1(3%) vs 3(10%), $P = 0.306$]. FTS组仅发生1例切口渗液; 对照组发生切口裂开, 肺部感染, 泌尿系感染各1例. 两组术后均无吻合口瘘, 死亡发生.

3 讨论

FTS以降低手术患者的生理或心理创伤应激, 使患者获得尽早的康复, 而采用有循证医学证据的围手术期处理的一系列优化措施^[2]. 近年来, FTS的理念日益受到我国临床的重视, 使手术患者的康复过程得到了加速^[3]. FTS理念应用在结直肠癌患者中, 可以观察到患者术后肠麻痹持续时间明显缩短, 胃肠功能恢复提前, 术后住院时间缩短2-5 d^[4]. 本研究地处高原, 观察到两组患者术后平均首次排气时间由4 d缩短到2 d. 平均总住院天数由29 d缩短到25 d, 差异非常显著. 在术前往院时间无统计学差异的情况下, 术后住院天数, FTS组比传统组缩短了4 d. FTS组患者住院期间医疗花费亦比传统组

■ 相关报道

江志伟等指出快速康复计划的基本概念是通过多模式控制围手术期的病理生理变化, 很好地改善手术患者的预后. 所以可以相信此技术的一些原则与方法, 最终将被整合到所有的手术患者中.

应用要点

本文章对FTS在高原地区结直肠癌患者的术后康复中有一定的指导意义, 并且可以将该方案扩展应用于其他手术患者的术后康复.

表 1 两组具体治疗方案对比

时间	对照组	FTS组
术前		
相关康复教育	无	有
肠道准备	常规进行	不常规进行
术前禁食	整夜禁食	手术前夜(20:00)口服10%葡萄糖1000 mL, 术前3 h(6:00)口服500 mL
放置鼻胃减压管	常规放置	不常规放置
术中		
手术切口处理	上腹正中左侧绕脐; 关腹时丝线间断缝合, 需要拆线	不影响显露的小伤口; 可吸收缝线皮内缝合; 不需要拆线
腹腔引流	常规放置	不常规放置; 关腹前在术野喷洒医用生物蛋白胶
术中保温	不进行	术中保温
输液控制	不控制	严格控制, 防止过多
术后		
术后镇痛	自控式静脉止痛(PAC), 使用阿片类止痛药	PCA+口服非甾体抗炎药, 减少阿片类止痛药
早期饮水及进食	否(等待肠道通气后)	是(手术2 d开始)
短程使用抗生素	否(术后使用3-6 d)	是(仅手术3 d内使用)
早期拔除尿管	否(使用3-4 d)	是(术后24 h)
早期下床活动	否(卧床3-4 d)	是(手术后第1天)

FTS: 快速康复外科.

表 2 快速康复组与传统组患者的一般资料 (n = 30)

患者资料	FTS组	对照组	P值
年龄(岁)	63.4 ± 11.0	66.8 ± 7.2	1.210
性别(男/女)	13/17	18/12	0.196
手术方式[n(%)]			
右半结肠切除	4(13)	4(13)	1.000
左半结肠切除	2(7)	0(0)	0.150
乙状结肠切除	3(10)	4(13)	0.688
直肠癌前切除	16(53)	15(50)	0.796
腹会阴联合切除	5(17)	7(24)	0.519

FTS: 快速康复外科.

节省约4000元, 减轻患者经济负担.

结直肠癌患者围手术期实施传统治疗方案, 包括术前常规机械性肠道准备(口服泻剂和灌肠), 禁食24 h, 禁水12 h, 手术当日留置胃管等措施, 目的是减少术中肠道内容物过多从而污染腹腔, 减少感染发生几率, 预防吻合口瘘的发生. 最近有文献报道, 机械性肠道准备不但给患者带来痛苦, 而且能导致机体内环境紊乱和肠道菌群的移位, 增加术后肠吻合口瘘发生的风险和术后感染几率的发生, 结直肠癌患者术后并无获益^[5-7]. 术前留置胃管传统上

认为能使患者术后出现腹胀, 呕吐, 减少吻合口瘘发生率降低. 但Cheatham等^[8]研究后认为, 不放置胃管并不能影响术后肠功能恢复, 不但未增加吻合口瘘发生的几率, 而且可使患者术后减少误吸, 肺不张, 肺部感染和术后发热的几率. 留置胃管会增加患者的不适, 加剧恐惧心理, 影响患者术后的早期运动, 早期进食. 传统思想认为尽早的进食会增加恶心, 呕吐, 加重腹胀, 以至于增加肠吻合口瘘的风险. 术后尽早经口进食与术后恶心, 呕吐增多的发生没有关联, 而且没有增加吻合口瘘的发生几率, 研究^[9-12]已予以证实. 经观察发现, 早期的进食能促进胃肠功能的恢复, 缓解腹胀, 增加患者营养状况, 提高患者抵抗力, 降低了感染风险的发生. 传统经验认为, 术后患者就要卧床休息, 不早期的下床, 貌似有助于患者的康复, 但相关研究发现, 术后卧床不及早行肢体功能康复锻炼可增加血栓形成, 增加肺部感染和胰岛素抵抗的风险, 减弱组织氧合作用和肌肉强度, 其后结果就是肺功能损伤, 肌肉萎缩和机体功能失调^[13,14]. 因此, 术后早期下床康复锻炼可改善胃肠功能, 促进胃肠蠕动, 减少深静脉血栓, 肺部感染并发症的发生. 吻合口瘘的发生与术

前营养状况, 肠吻合的血供, 手术者的手术技巧等有关联^[11,15], 本次研究中, 手术由同一组人员共同实施, FTS组与传统组均未发生吻合口瘘. 应用FTS方案缓解了围手术期患者的应激状态, 加速了机体各系统功能康复, 降低感染风险, 减少了肠外营养的治疗. 目前, 认为术后持续T8-9硬膜外麻醉, 不但是术后镇痛最有效的手段, 而且可减少阿片类药物的应用量, 减少了患者对阿片类药物的成瘾性, 促进机体康复^[16].

任何新技术的发展都不是一帆风顺的, FTS目前发展存在制约的因素主要表现在: (1)FTS技术没有统一的实施标准, 没有统一临床路径, 一些理念与现存的医护模式相冲突, FTS在国内临床应用推广达不到令人满意的效果, 即使欧美率先提出该理念的国家, 开展该项业务的中心也很少; (2)传统理念不能突破, 患者不接受术后早期活动, 早期进食, 担心会产生并发症; (3)再次入院问题, FTS比传统治疗提前出院, 出了并发症怎么才能快速入院. 所以就要建立一套行之有效的出院随访机制. 21世纪是微创的世纪, FTS理念很好的顺应了时代的发展^[17], 虽然FTS发展还处于谷底, 但是随着人们认知水平的提高, 对生活质量要求的提高, 就会得到极大的发展. 近期国内肿瘤患者营养支持治疗的会议中, 参会专家达成共识, 外科围手术期的处理加入了部分FTS的手段.

应用FTS治疗理念, 更好的保障医疗安全, 提高患者舒适度, 缩短住院时间, 降低医疗费用, 提高患者的医从性, 缓解社会矛盾, 节约稀缺的医疗资源, 提高了卫生资源的合理利用率.

本研究表明: (1)在高原地区结直肠癌患者中应用FTS理念是行之有效的, 术后胃肠功能恢复时间显著缩短, 显著降低了术后及总住院天数, 显著降低了医疗费用; (2)在高原地区应用FTS理念, 同时并不增加术后并发症的发生率; (3)高原地区结直肠癌治疗过程应用快速康复理念中优于传统治疗理念, 同时使医患沟通交流更加顺畅, 提高了患者的医从性, 缓解了医患矛盾发生率, 能更好地服务于临床.

4 参考文献

- 1 莫晓东, 江志伟, 汪志明, 赵鑫, 刁艳青, 何长生. 胃癌患者应用加速康复外科的对照研究. 肠外与肠内营养 2008; 15: 218-220, 224
- 2 Wilmore DW. From Cuthbertson to fast-track surgery: 70 years of progress in reducing stress

in surgical patients. *Ann Surg* 2002; 236: 643-648 [PMID: 12409671 DOI: 10.1097/0000658-200211000-00015]

- 3 江志伟, 李宁, 黎介寿. 加速康复外科的概念及临床意义. 中国实用外科杂志 2007; 27: 131-133
- 4 Kehlet H, Büchler MW, Beart RW, Billingham RP, Williamson R. Care after colonic operation--is it evidence-based? Results from a multinational survey in Europe and the United States. *J Am Coll Surg* 2006; 202: 45-54 [PMID: 16377496 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2005.08.006]
- 5 Henriksen MG, Jensen MB, Hansen HV, Jespersen TW, Hessov I. Enforced mobilization, early oral feeding, and balanced analgesia improve convalescence after colorectal surgery. *Nutrition* 2002; 18: 147-152 [PMID: 11844646 DOI: 10.1016/S0899-9007(01)00748-1]
- 6 Makhija R. Meta-analysis of randomized clinical trials of colorectal surgery with or without mechanical bowel preparation (*Br J Surg* 2004; 91: 1125-1130). *Br J Surg* 2004; 91: 1528 [PMID: 15499641 DOI: 10.1002/bjs.4651]
- 7 Goldstone AR, Kennedy N, Metcalfe M. Randomized clinical trial of mechanical bowel preparation versus no preparation before elective left-sided colorectal surgery (*Br J Surg* 2004; 92: 409-414). *Br J Surg* 2005; 92: 1046 [PMID: 16034805 DOI: 10.1002/bjs.4900]
- 8 Cheatham ML, Chapman WC, Key SP, Sawyers JL. A meta-analysis of selective versus routine nasogastric decompression after elective laparotomy. *Ann Surg* 1995; 221: 469-476; discussion 476-478 [PMID: 7748028 DOI: 10.1097/0000658-199505000-00004]
- 9 Stewart BT, Woods RJ, Collopy BT, Fink RJ, Mackay JR, Keck JO. Early feeding after elective open colorectal resections: a prospective randomized trial. *Aust N Z J Surg* 1998; 68: 125-128 [PMID: 9494004 DOI: 10.1111/j.1445-2197.1998.tb04721.x]
- 10 de Aguilar-Nascimento JE, Göelzer J. [Early feeding after intestinal anastomoses: risks or benefits?]. *Rev Assoc Med Bras* 2002; 48: 348-352 [PMID: 12563465]
- 11 Correia MI, da Silva RG. The impact of early nutrition on metabolic response and postoperative ileus. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2004; 7: 577-583 [PMID: 15295279 DOI: 10.1097/00075197-200409000-00011]
- 12 Senagore AJ, Kilbride MJ, Luchtefeld MA, MacKeigan JM, Davis AT, Moore JD. Superior nitrogen balance after laparoscopic-assisted colectomy. *Ann Surg* 1995; 221: 171-175 [PMID: 7857144 DOI: 10.1097/0000658-199502000-00007]
- 13 Fearon KC, Ljungqvist O, Von Meyenfeldt M, Revhaug A, Dejong CH, Lassen K, Nygren J, Hausel J, Soop M, Andersen J, Kehlet H. Enhanced recovery after surgery: a consensus review of clinical care for patients undergoing colonic resection. *Clin Nutr* 2005; 24: 466-477 [PMID: 15896435 DOI: 10.1016/j.clnu.2005.02.002]
- 14 Kaboli P, Henderson MC, White RH. DVT prophylaxis and anticoagulation in the surgical patient. *Med Clin North Am* 2003; 87: 77-110, viii [PMID: 12575885 DOI: 10.1016/S0025-7125(02)00144-X]
- 15 Kehlet H. Multimodal approach to control postoperative pathophysiology and rehabilitation. *Br J Anaesth* 1997; 78: 606-617 [PMID: 9175983 DOI: 10.1093/bja/78.5.606]
- 16 Correia MI, Waitzberg DL. The impact of malnutrition on morbidity, mortality, length of hospital stay and costs evaluated through

■名词解释

快速康复外科 (FTS): 一般包括以下几个重要内容: (1)术前患者教育; (2)更好的麻醉、止痛及外科技术以减少手术应激反应、疼痛及不适反应; (3)强化术后康复治疗, 包括早期下床活动及早期肠内营养.

■同行评价

本文学术思路和价值较好, 不是最新, 但值得研究.

- 17 Ballantyne JC, Carr DB, deFerranti S, Suarez T, Lau J, Chalmers TC, Angelillo IF, Mosteller F. The a multivariate model analysis. *Clin Nutr* 2003; 22: 235-239 [PMID: 12765661 DOI: 10.1016/S0261-5614(02)00215-7]

comparative effects of postoperative analgesic therapies on pulmonary outcome: cumulative meta-analyses of randomized, controlled trials. *Anesth Analg* 1998; 86: 598-612 [PMID: 9495424 DOI: 10.1213/00000539-199803000-00032]

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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码号. 如马连生^[1]报告……, 潘伯荣等^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]. 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.

同伴支持教育对直肠癌造口患者术后延续护理效果的影响

刘玉莹, 耿云平, 房芳, 马学霞

刘玉莹, 耿云平, 房芳, 马学霞, 南阳市中心医院CT影像科
河南省南阳市 473000

刘玉莹, 主管护师, 主要从事护理研究。

作者贡献分布: 本文主要由刘玉莹、耿云平、房芳及马学霞
共同写作完成。

通讯作者: 刘玉莹, 主管护师, 473000, 河南省南阳市工农路
312号, 南阳市中心医院CT影像科. liuyuyin@yeah.net
电话: 0377-61660570

收稿日期: 2015-04-16 修回日期: 2015-05-05

接受日期: 2015-05-08 在线出版日期: 2015-07-18

Influence of peer support education on clinical effects of postoperative continued nursing care in rectal cancer patients after colostomy

Yu-Ying Liu, Yun-Ping Geng, Fang Fang, Xue-Xia Ma

Yu-Ying Liu, Yun-Ping Geng, Fang Fang, Xue-Xia Ma,
Department of CT Imaging, Nanyang Central Hospital,
Nanyang 473000, He'nan Province, China

Correspondence to: Yu-Ying Liu, Nurse-in-Charge,
Department of CT Imaging, Nanyang Central Hospital,
312 Gongnong Road, Nanyang 473000, He'nan Province,
China. liuyuyinl@yeah.net

Received: 2015-04-16 Revised: 2015-05-05

Accepted: 2015-05-08 Published online: 2015-07-18

Abstract

AIM: To evaluate the influence of peer support education on the clinical effects of postoperative continued nursing care in rectal cancer patients after colostomy.

METHODS: Ninety patients with rectal cancer after colostomy who were treated from October 2013 to January 2015 at our hospital were randomly divided into a research group and a control group, with 45 patients in each group. The control group received routine

health education, and the research group additionally received peer support education for 1 mo on the basis of routine health education. The patient's health and quality of life, psychological status and related indicators were compared for the two groups.

RESULTS: Health promoting lifestyle scores were significantly improved after nursing intervention in both groups ($P < 0.05$), and the improvement was more significant in the research group ($P < 0.05$). After intervention, the Self-rating Anxiety Scale (SAS) and Self-rating Depression Scale (SDS) scores were significantly lower in the research group than in the control group ($P < 0.05$). After nursing intervention for 1 mo, self-management self-efficacy scores at discharge were significantly increased in both groups ($P < 0.05$), and the increase was more significant in the research group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Peer support education can significantly improve health promoting lifestyle score and self-management self-efficacy scores, and relieve anxiety, depression and negative emotions in rectal cancer after colostomy.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Peer support education; Colorectal cancer colostomy; Continue nursing; Effect

Liu YY, Geng YP, Fang F, Ma XX. Influence of peer support education on clinical effects of postoperative continued nursing care in rectal cancer patients after colostomy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(20): 3321-3325 URL: <http://www.wjgnet.com>

■背景资料

直肠癌是一种患病率仅次于胃癌的常见消化系统恶性肿瘤, 现今临床上外科手术治疗是直肠癌综合治疗的主要方法, 其中50%-60%的直肠癌患者需要进行永久性肠造口的手术。我国肠造口患者常因为术后排便方式的改变, 出现焦虑、失眠、社交障碍、严重抑郁等负性情绪, 影响了患者的康复效果。患者在社区面对疾病时, 同伴支持在防止互助关系僵化和保护患者方面被认为是很有潜力的, 对患者的术后延续护理具有很大的帮助。

■同行评议者

廖培娇, 副主任
护理师, 中山大学
附属第一医院

■研究前沿

直肠癌造口患者是健康领域的弱势群体,也是支持系统需重点关注的群体。随着人们健康理念的改进,患者及家属对生存质量越来越重视。

com/1009-3079/23/3321.asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i20.3321>

摘要

目的: 研究同伴支持教育对直肠癌造口患者术后延续护理效果的影响。

方法: 选择2013-10/2015-01在南阳市中心医院收治的直肠癌造口术后患者90例,将患者随机分为研究组和对照组,各45例。对照组按常规进行健康教育,研究组在常规健康教育基础上实行同伴支持教育,干预1 mo。具体方法如下。(1)同伴教育者的选择和培训,建立患者和医务人员的桥梁,并及时反馈患者的健康行为改变的依从性;(2)同伴教育活动的实施:对造口患者进行针对性同伴支持教育。由同伴支持教育干预小组成员制定健康教育工作计划、确定健康教育形式、评价指标等,并记录患者的健康生活质量及心理状况等相关指标。

结果: 两组护理干预后健康促进生活方式评分较干预前均显著提高($P<0.05$),干预后研究组较对照组的健康促进生活方式评分明显提高($P<0.05$)。干预后研究组患者的焦虑自评量表(Self-rating Anxiety Scale, SAS)、抑郁自评量表(Self-rating Depression Scale, SDS)评分明显低于对照组患者($P<0.05$)。两组护理干预1 mo后自我管理效能感评分较出院时均显著提高($P<0.05$),干预后研究组较对照组的评分明显提高($P<0.05$)。

结论: 同伴支持教育可以显著提高直肠癌造口患者术后的健康促进生活方式评分和患者自我管理效能感评分,并且可以缓解术后患者出现的焦虑、抑郁等负面情绪,对患者的术后延续护理效果具有很好的辅助效果。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 同伴支持教育; 直肠癌造口; 术后延续护理; 效果

核心提示: 同伴支持教育可以显著提高直肠癌造口患者术后的健康促进生活方式评分和患者自我管理效能感评分,并且可以缓解术后患者出现的焦虑、抑郁等负面情绪,对患者的术后延续护理效果具有很好的辅助效果,值得在临床上广泛应用。

刘玉莹, 耿云平, 房芳, 马学霞. 同伴支持教育对直肠癌造口患

者术后延续护理效果的影响. 世界华人消化杂志 2015; 23(20): 3321-3325 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3321.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i20.3321>

0 引言

直肠癌是一种患病率仅次于胃癌的常见消化系统恶性肿瘤^[1]。现今临床上外科手术治疗是直肠癌综合治疗的主要方法,其中50%-60%的直肠癌患者需要进行永久性肠造口的手术^[2]。我国肠造口患者常因为术后排便方式的改变,出现焦虑、失眠、社交障碍、严重抑郁等负面情绪,影响了患者的康复效果^[3]。患者在社区面对疾病时,同伴支持在防止互助关系僵化和保护患者方面被认为是很有潜力的,对患者的术后延续护理具有很大的帮助^[4]。本研究主要探讨同伴支持教育对直肠癌造口患者术后延续护理效果的影响,现具体报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选择2013-10/2015-01在南阳市中心医院收治的直肠癌造口术后患者90例,年龄39-76岁,平均56.5岁±2.6岁。将患者随机分为研究组和对照组,各45例。纳入标准:(1)所有患者接受过手术治疗,且未发生转移的直肠癌造口术后患者;(2)患者对本次研究知情,且愿意签署知情同意书。排除标准:(1)家族遗传病及严重慢性疾病;(2)患者有精神疾病或精神病史。两组患者在性别、年龄以及临床表现等方面相比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 教育方式: 对照组按常规进行健康教育,研究组在常规健康教育基础上实行同伴支持教育,干预1 mo。具体方法如下。(1)同伴教育者的选择和培训:建立同伴支持教育干预小组并对同伴教育者进行培训。临床医生和责任护士负责同伴支持教育的决策、组织和监督,包括建立患者个人资料、负责门诊随访和咨询等,保证工作的顺利开展;社区医生和社区护士负责电话随访、入户随访、组织小组活动、动机访谈等;社会工作者和志愿者主要在入户随访和小组活动中与患者沟通、交流,建立患者和医务人员的桥梁,并及时反馈患者的健康行为改变的依从性;心理咨询师主要针对患者出现的心理障碍,如抑郁、焦虑、自杀倾向、失眠等给予专业的心理咨询和危机干预,协助患

■相关报道

有报道采用症状自评量表(SCL-90)各因子评分与国内健康人常模进行比较判断患者心理健康状况及随访调查(定期随访及电话随访),比较两组在心理健康状况、自我正确护理造口能力和规律排便方面有无差异。

表 1 两组护理干预后健康促进生活方式评分比较 (mean ± SD, n = 45, 分)

指标	对照组		研究组	
	干预前	干预后	干预前	干预后
自我实现	19.85 ± 1.19	23.91 ± 2.01 ^a	20.11 ± 1.03	31.82 ± 4.21 ^{ac}
健康责任	16.38 ± 1.43	19.01 ± 1.84 ^a	16.83 ± 1.41	25.12 ± 3.22 ^{ac}
运动	17.10 ± 1.59	19.87 ± 2.11 ^a	17.29 ± 1.45	26.58 ± 3.21 ^{ac}
营养	17.83 ± 1.51	20.75 ± 1.19 ^a	17.64 ± 1.63	27.82 ± 3.01 ^{ac}
人际关系	20.87 ± 1.32	25.81 ± 3.01 ^a	20.63 ± 1.23	34.13 ± 2.34 ^{ac}
应对压力	18.54 ± 2.19	23.97 ± 2.94 ^a	18.27 ± 2.01	33.07 ± 4.21 ^{ac}
总分	110.57 ± 9.23	133.32 ± 13.1 ^a	110.77 ± 8.76	178.54 ± 20.2 ^{ac}

^a $P < 0.05$ vs 同组干预前; ^c $P < 0.05$ vs 对照组干预后。

表 2 干预后两组患者的SAS、SDS评分变化比较 (mean ± SD, n = 45, 分)

分组	SDS	SAS
对照组	52.15 ± 12.06	47.82 ± 9.09
研究组	42.18 ± 10.23	39.10 ± 11.15
t值	2.274	2.175
P值	0.035	0.041

SAS: 焦虑自评量表; SDS: 抑郁自评量表。

者解决生活问题、疾病相关的各类心理问题;

(2)同伴教育活动的实施: 同伴教育活动以小组为单位进行由同伴支持教育干预小组成员制定健康教育工作计划, 确定健康教育形式(座谈会、知识讲座、社区活动等), 评价指标等, 并记录患者的健康生活质量及心理状况等相关指标。

1.2.2 观察指标及判定标准: (1)健康促进生活方式状况: 采用健康促进生活方式量表(Health-promoting Lifestyle Profile II, HPLP-II), 包含自我实现、健康责任、运动、营养、人际关系、应对压力等6个维度, 共计52个条目, 分值52-208分, 得分越高表明患者的生活质量越高; (2)对比患者治疗前后的焦虑和抑郁状况: 采用焦虑自评量表(Self-rating Anxiety Scale, SAS)及抑郁自评量表(Self-rating Depression Scale, SDS)^[4]进行评价。其中, <50分为无焦虑和无抑郁; 50-60分为轻度焦虑(轻度抑郁); 61-70分为中度焦虑(中度抑郁); >70分为重度焦虑(重度抑郁); (3)患者的造口护理知识评价: 中文版癌症自我管理效能感量表, 即健康促进策略量表。该量表包括正性态度、缓解压力和自我决策3个维度, 以Likert 5级评分

法进行评分, 得分越高说明自我管理效能水平越高, 对自我管理越有信心。

统计学处理 采用统计学软件SPSS16.0对本次研究进行统计学分析, 计量资料采用 t 检验, 计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组护理干预后健康促进生活方式评分比较 两组护理干预后健康促进生活方式评分较干预前均显著提高($P < 0.05$), 干预后研究组较对照组的健康促进生活方式评分明显提高($P < 0.05$), 差异具有统计学意义, 说明同伴支持教育护理较常规护理干预提高患者生活质量的效果更显著(表1)。

2.2 干预后两组患者的SAS、SDS评分变化比较 干预后研究组患者的SAS、SDS评分明显低于对照组患者($P < 0.05$), 说明同伴支持教育较常规的护理模式对患者的焦虑、抑郁等不良情绪有更好的缓解作用(表2)。

2.3 两组患者自我管理效能感评分的比较 两组护理干预1 mo后自我管理效能感评分较出院时均显著提高($P < 0.05$), 干预后研究组较对照组的评分明显提高($P < 0.05$), 差异具有统计学意义, 说明同伴支持教育护理较常规护理干预对提高患者的自我管理效能感的效果更显著(表3)。

3 讨论

由于直肠癌造口改变了生理排便方式, 使排便不能自主控制、排便无规律, 影响了患者的生活质量, 对患者生理、心理和精神造成了严重的冲击^[5]。直肠癌造口患者是健康领域的弱势

应用要点

本研究表明同伴支持教育可以显著提高直肠癌造口患者术后的健康促进生活方式评分和患者自我管理效能感评分, 并且可以缓解术后患者出现的焦虑、抑郁等负面情绪, 对患者的术后延续护理效果具有很好的辅助效果, 为临床上直肠癌造口术的患者提供了一种很好的护理方式, 值得在临床中推广。

■名词解释

自我管理效能感: 指个体对自己是否有能力完成某一行为所进行的推测与判断;
直肠癌造口: 肠子的一段在腹部适当的位置上被拉出并反转, 然后缝于腹壁, 最后便会形成一个有开口、乳头部的肠黏膜, 医学上称为肠造口, 俗称“人工肛门”。

表 3 两组患者自我管理效能感评分的比较 (mean ± SD, n = 45, 分)

指标	对照组		研究组	
	出院时	干预1 mo后	出院时	干预1 mo后
正性态度	28.58 ± 4.02	31.26 ± 4.82 ^a	27.98 ± 4.13	33.27 ± 5.84 ^{ac}
自我决策	5.17 ± 2.48	6.13 ± 2.83 ^a	5.03 ± 2.38	7.85 ± 3.83 ^{ac}
缓解压力	18.29 ± 4.93	19.94 ± 6.22 ^a	17.98 ± 4.21	24.34 ± 5.12 ^{ac}
总分	52.04 ± 11.43	57.33 ± 13.87 ^a	50.99 ± 10.72	65.46 ± 14.79 ^{ac}

^aP<0.05 vs 同组出院时; ^cP<0.05 vs 对照组干预1 mo后。

群体, 也是支持系统需重点关注的群体。随着人们健康理念的改进, 患者及家属对生存质量越来越重视, 其支持来源不能仅仅局限于医疗机构的医护人员或志愿者, 加强社会支持也非常重要^[6]。同伴支持是基于自我帮助、社会正义、人权和康复运动的活动, 包括团体自助、同行专家和同伴支持者3种形式, 可以作为专家教育的一种替代或补充^[7]。同伴支持者常常被患者视为行为榜样, 带给患者的好处不仅利于个人成长, 也使双方能保持乐观的康复心态和行动, 既增加了患者疾病参与的积极性, 又加强了疾病抗争的毅力^[8]。

本研究结果显示, 两组护理干预后健康促进生活方式评分较干预前均显著提高($P<0.05$), 干预后研究组较对照组的健康促进生活方式评分明显提高($P<0.05$), 与前人的研究^[9]结果类似, 这说明同伴支持教育护理较常规护理干预提高患者生活质量的效果更显著。有研究^[10]发现, 同伴支持教育的作用是共享问题, 通过角色建模, 增强了被教育者的认同感和激励态度, 其支持作用已被广泛接受。本研究结果显示, 两组护理干预1 mo后自我管理效能感评分较出院时均显著提高($P<0.05$), 干预后研究组较对照组的评分明显提高($P<0.05$), 与前人研究^[11]结果类似, 说明同伴支持教育护理较常规护理干预对提高患者的自我管理效能感的效果更显著。这表明了所有同伴教育项目的价值在于被教育者通过具有许多概念化经验的同伴教育产生自我认知, 从而引发自身的潜力^[12]。同伴支持教育以平等为原则, 改变了以往护士“填鸭式”的传统灌注教育^[13], 强调经专业人士、同伴支持者、患者及家属之间的协同作用, 以提高患者疾病自我管理意识和促进其健康生活方式形成。患者在经过直肠癌造口手术后, 由于排泄方式的改变, 会

对患者的心理造成很大的负性影响, 患者术后易出现焦虑、抑郁等不良情绪, 严重影响了患者术后延续护理的效果^[14]。本研究结果显示, 干预后研究组患者的SAS、SDS评分明显低于对照组患者($P<0.05$), 说明同伴支持教育较常规的护理模式对患者的焦虑、抑郁等不良情绪有更好的缓解作用。这与前人的研究^[15]结果类似, 表明了同伴支持教育对患者术后心理情绪的缓解及心态的调整具有很好的调节作用, 对患者术后延续护理的疗效具有很大的帮助和提升。

总之, 同伴支持教育可以显著提高直肠癌造口患者术后的健康促进生活方式评分和患者自我管理效能感评分, 并且可以缓解术后患者出现的焦虑、抑郁等负性情绪, 对患者的术后延续护理效果具有很好的辅助效果, 值得在临床上广泛应用。

4 参考文献

- 1 汪苗, 朱小丽, 汪翠云, 李远珍, 肖国华. 直肠癌造口患者的心理控制源、生命质量和应对方式. 中国心理卫生杂志 2013; 27: 750-753
- 2 Koshiyama A, Ichibangase T, Imai K. Comprehensive fluorogenic derivatization-liquid chromatography/tandem mass spectrometry proteomic analysis of colorectal cancer cell to identify biomarker candidate. Biomed Chromatogr 2013; 27: 440-450 [PMID: 22991145 DOI: 10.1002/bmc.2811]
- 3 梁莉莉, 杜晓芸, 吴晓霞. 全方位干预护理对直肠癌造口患者生活质量的影响. 医学信息 2014; 27: 322-322
- 4 贾春雨, 陈燕. 延续护理干预对直肠癌造口术后病人焦虑状态的影响. 临床和实验医学杂志 2012; 11: 940-941
- 5 Greuter MJ, Xu XM, Lew JB, Dekker E, Kuipers EJ, Canfell K, Meijer GA, Coupé VM. Modeling the Adenoma and Serrated pathway to Colorectal Cancer (ASCCA). Risk Anal 2014; 34: 889-910 [PMID: 24172539 DOI: 10.1111/risa.12137]
- 6 高云峰, 董明. 直肠癌前切除术术后吻合口漏的危险因素. 世界华人消化杂志 2010; 18: 803-807
- 7 闫文静, 武学军, 李江. 同伴支持教育对出院后糖尿

- 病患者自我效能管理和血糖控制的影响. 实用医院临床杂志 2014; 11: 205-206
- 8 贾春雨, 梁涛. 延续护理对直肠癌造口患者康复期抑郁程度的影响. 中华现代护理杂志 2012; 18: 2502-2504
- 9 Li WW, Lam WW, Au AH, Ye M, Law WL, Poon J, Kwong A, Suen D, Tsang J, Girgis A, Fielding R. Interpreting differences in patterns of supportive care needs between patients with breast cancer and patients with colorectal cancer. *Psychooncology* 2013; 22: 792-798 [PMID: 22419560 DOI: 10.1002/pon.3068]
- 10 王立妍, 庞晓丽. 基于现代健康观的直肠癌造口病人出院后干预效果评价. 护理研究 2014; 28: 698-699
- 11 Damania D, Subramanian H, Backman V, Anderson EC, Wong MH, McCarty OJ, Phillips KG. Network signatures of nuclear and cytoplasmic density alterations in a model of pre and postmetastatic colorectal cancer. *J Biomed Opt* 2014; 19: 16016 [PMID: 24441943 DOI: 10.1117/1.JBO.19.1.016016]
- 12 熊超亮, 黄缘. p14ARF基因甲基化及蛋白表达在直肠癌中的作用. 世界华人消化杂志 2010; 18: 786-790
- 13 Wesselmann S, Winter A, Ferencz J, Seufferlein T, Post S. Documented quality of care in certified colorectal cancer centers in Germany: German Cancer Society benchmarking report for 2013. *Int J Colorectal Dis* 2014; 29: 511-518 [PMID: 24584335 DOI: 10.1007/s00384-014-1842-x]
- 14 Hanly P, Céilleachair AÓ, Skally M, O'Leary E, Kapur K, Fitzpatrick P, Staines A, Sharp L. How much does it cost to care for survivors of colorectal cancer? Caregiver's time, travel and out-of-pocket costs. *Support Care Cancer* 2013; 21: 2583-2592 [PMID: 23649879 DOI: 10.1007/s00520-013-1834-3]
- 15 Chen DL, Wang DS, Wu WJ, Zeng ZL, Luo HY, Qiu MZ, Ren C, Zhang DS, Wang ZQ, Wang FH, Li YH, Kang TB, Xu RH. Overexpression of paxillin induced by miR-137 suppression promotes tumor progression and metastasis in colorectal cancer. *Carcinogenesis* 2013; 34: 803-811 [PMID: 23275153 DOI: 10.1093/carcin/bgs400]

同符评价

本研究出发点新颖, 观察指标明确, 对以后该病的治疗具有较强的指导意义。

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



益生菌增效治疗幽门螺杆菌感染的Meta分析再评价

周本刚, 肖政, 汪成琼, 刘梅, 李仕宇, 陈安海

■背景资料

目前临床上幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)的根除面临两大难题: 抗生素的耐药导致*H. pylori*的根除率下降及抗生素的联合大量应用导致不良反应的发生, 近年来大量研究发现益生菌可提高*H. pylori*的根除率, 降低其抗生素相关性不良反应的发生。

周本刚, 刘梅, 李仕宇, 陈安海, 遵义医学院附属医院消化内科 贵州省遵义市 563003

肖政, 汪成琼, 遵义医学院循证医学中心 循证医学教育部网上合作研究中心遵义医学院分中心 贵州省遵义市 563003

周本刚, 在读硕士, 主要从事幽门螺杆菌与胃肠疾病的研究。

贵州省科技厅社会发展公共基金资助项目, No. 黔科合SY字[2011]3056号

作者贡献分布: 本课题由周本刚、肖政及陈安海设计; 周本刚与汪成琼负责文献检索、筛选; 资料提取与整理由周本刚、刘梅及李仕宇完成; 论文写作由周本刚完成, 陈安海审核。

通讯作者: 陈安海, 教授, 硕士生导师, 563003, 贵州省遵义市大连路149号, 遵义医学院附属医院消化内科。

490027214@qq.com

电话: 0852-8608155

收稿日期: 2015-04-18 修回日期: 2015-05-22

接受日期: 2015-06-10 在线出版日期: 2015-07-18

Probiotics as adjunctive therapy for *Helicobacter pylori* infection: An overview of meta-analyses

Ben-Gang Zhou, Zheng Xiao, Cheng-Qiong Wang, Mei Liu, Shi-Yu Li, An-Hai Chen

Ben-Gang Zhou, Mei Liu, Shi-Yu Li, An-Hai Chen, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China
 Zheng Xiao, Cheng-Qiong Wang, Evidence-Based Medicine Center, Zunyi Medical College; MOE Virtual Research Center of Evidence-Based Medicine at Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China
 Supported by: the Social Development Foundation of Guizhou Province, No. SY[2011]3056

Correspondence to: An-Hai Chen, Professor, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, 149 Dalian Road, Zunyi 563003, Guizhou Province, China. 490027214@qq.com

Received: 2015-04-18 Revised: 2015-05-22

Accepted: 2015-06-10 Published online: 2015-07-18

Abstract

AIM: To evaluate the relevant systematic reviews/

meta-analyses that focused on probiotics as adjunctive therapy for *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection.

METHODS: The systematic reviews/meta-analyses on probiotics as adjunctive therapy for *H. pylori* infection were searched in CBM, CNKI, Wanfang database, VIP Database, the Cochrane library, PubMed and Embase from inception to October 2014. Two reviewers screened the literature according to the inclusion criteria and extracted the data. The Overview Quality Assessment Questionnaire (OQAQ) was used to evaluate the quality of the included studies, and the GRADE system was used to evaluate the quality of evidence.

RESULTS: A total of 11 relevant meta-analyses were included, all of which evaluated the rate of *H. pylori* eradication and incidence of overall side effects (three evaluated the anti-*H. pylori* therapy-related side effects in detail). The mean OQAQ score was 3.82. Based on the GRADE system, the evidence quality was generally low.

CONCLUSION: Probiotics as adjunctive therapy for *H. pylori* infection have certain advantages, however, the overall quality of meta-analyses is poor, and the evidence level is low. Physicians should make an evidence-based decision according to the real condition.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Probiotics; *Helicobacter pylori*; Systematic review/meta-analysis; Overview of reviews; OQAQ; GRADE system

■同行评议者

刘纯杰, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院生物工程研究所

Zhou BG, Xiao Z, Wang CQ, Liu M, Li SY, Chen AH. Probiotics as adjunctive therapy for *Helicobacter pylori* infection: An overview of meta-analyses. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(20): 3326-3336 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3326.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i20.3326>

摘要

目的: 对益生菌增效治疗幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染的系统评价/Meta分析进行再评价研究。

方法: 计算机检索CBM、CNKI、Wanfang Data、VIP Data、the Cochrane library、PubMed、Embase数据库, 收集关于益生菌增效治疗*H. pylori*感染的系统评价/Meta分析文章, 检索时间均从建库至2014-10。由两位研究者按照纳入排除标准独立筛选文献、提取资料后, 采用OQAQ(Overview Quality Assessment of Questionnaire)量表评价纳入研究质量, 并采用GRADE(Grade of Recommendation, Assessment, Development, and Evaluation)系统进行证据质量分级。

结果: 共纳入11个相关Meta分析, 11个研究均评价了益生菌增效治疗*H. pylori*的根除率及总不良反应发生率, 其中3个研究详细评价了抗*H. pylori*具体不良反应发生率, OQAQ平均得分3.82分。GRADE系统的证据质量评价结果显示证据质量等级普遍较低。

结论: 当前益生菌增效治疗*H. pylori*感染具有一定的优势, 但Meta分析的总体质量较差, 证据水平较低, 临床医生应根据实际情况进行循证决策。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 益生菌; 幽门螺杆菌; 系统评价/Meta分析; 系统评价再评价; OQAQ; GRADE系统

核心提示: 当前益生菌增效治疗幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*)感染有一定的优势, 建议根据益生菌的种类选择、治疗剂量、疗程及如何与其他药物合用等进一步开展大样本高质量的临床研究, 以期临床实践提供高质量的证据。

周本刚, 肖政, 汪成琼, 刘梅, 李仕宇, 陈安海. 益生菌增效治疗幽门螺杆菌感染的Meta分析再评价. *世界华人消化杂志* 2015; 23(20): 3326-3336 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3326.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i20.3326>

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是一种定植于胃黏膜内的微需氧型的革兰阴性杆菌^[1]。目前已公认*H. pylori*与慢性胃炎、消化性溃疡、胃癌及胃黏膜相关性淋巴组织淋巴瘤密切相关^[2], 世界卫生组织已把*H. pylori*列为I类致癌因子^[3]。近年来由于抗生素的不合理应用, *H. pylori*对常用抗生素的耐药性越来越高, 以致目前推荐的*H. pylori*根除方案-传统三联疗法, 根除率在70%左右, 而*H. pylori*作为感染性疾病, 其根除率应高于90%^[4]; 即使是含铋剂的四联疗法、序贯疗法、左氧氟沙星三联疗法或伴同疗法仍无法获得100%的根除率^[2]。此外, 抗生素的联合大量应用可导致肠道正常菌群失调, 出现腹胀、恶心、腹泻及便秘等一系列不良反应^[5], 给临床治疗带来一定困难。因此, 如何提高*H. pylori*的根除率, 降低其不良反应的发生率, 是广大临床医师最关注的问题。近年来, 益生菌制剂的广泛应用为*H. pylori*的根除提供了新的思路。

益生菌(probiotic)是指适量给予对宿主健康有益的一些活的微生物^[6]。常见的菌株包括: 乳酸菌属、芽孢杆菌属、非常驻菌属; 根据所含菌种数可分为多联活菌制剂和单菌制剂^[5]。近年来国内外已公开发表多篇关于益生菌增效治疗*H. pylori*感染的系统评价/Meta分析文章, 但因纳入的研究质量各异, 尚缺乏再评价研究。本研究旨在系统检索当前可得最佳证据, 循证评价益生菌增效治疗*H. pylori*感染的系统评价/Meta分析的方法学质量及其对结果的影响, 并运用GRADE(Grade of Recommendation, Assessment, Development, and Evaluation)系统对主要结局指标进行证据质量分级, 以期临床医师合理选择最佳临床方案提供参考依据。

1 材料和方法

1.1 材料 系统检索CBM、CNKI、Wanfang Data、VIP Data、the Cochrane library、PubMed、Embase数据库, 中文检索词为: 幽门螺杆菌、益生菌、乳酸菌、双歧杆菌、酵母菌、乳球菌、链球菌、肠球菌、微生态制剂、系统评价、系统综述、Meta分析、荟萃分析、循证分析、循证评价; 英文检索词为: *Helicobacter pylori*、*Hp*、*H. pylori*、*Campylobacter pyloridis*、*probiotic*、*probiotics*、*Lactobacillus*、*Lactococcus*、*Bifidobacterium*、*yeast*、*yogurt*、

■ 研究前沿

近年来有关益生菌增效治疗*H. pylori*感染的原始研究和系统评价/Meta分析文章层出不穷, 然而, 由于纳入研究的方法学质量和局限性, 尚缺乏再评价研究。

■ 相关报道

系统评价/Meta分析被公认为评价临床疗效、制订临床指南和规范的基石, 而系统评价再评价则从更高层面对系统评价证据进行综合, 所含信息量更大, 临床适用性更强; GRADE(Grade of Recommendation, Assessment, Development, and Evaluation)系统是2000年建立的用于评价证据质量和推荐等级的系统, 已被WHO、Cochrane协作网等一批著名机构的所采用, 杨克虎及曾宪涛等已发表了多篇文章, 详细地介绍了系统评价再评价及GRADE系统及软件的发展和运用。

Saccharomyces、*Streptococcus*、*Enterococcus*、meta-analysis、systematic review; 根据不同的数据库特点, 采取主题检索与自由词检索结合的方式, 检索时间均为建库至2014-10, 无语种限制。本研究不包括尚未公开发表的文献。

1.2 方法

1.2.1 纳入标准: (1)研究对象: *H. pylori*感染需要根除的患者; (2)研究设计类型: Meta分析、系统评价; (3)结局指标: *H. pylori*根除率, 抗*H. pylori*相关性总不良反应发生率, 具体不良反应(腹泻、恶心、呕吐、上腹痛等)发生率; (4)干预措施: 试验组单独采用益生菌或益生菌联合与对照组相同的疗法, 对照组采用常规疗法(三联疗法、四联疗法、序贯疗法、单药等)或空白对照; (5)若2篇文献的结果雷同, 选择研究较多、数据更为全面的文献。

1.2.2 排除标准: (1)会议摘要, 评论; (2)只能获取摘要, 无法获取全文; (3)除外被完全更新的文献(否则即使部分重叠也被纳入)。

1.2.3 文献筛选与资料提取: 由2名研究者根据纳入及排除标准独立浏览题目和摘要筛选文献, 必要时阅读全文取舍, 对符合标准的全文, 使用统一资料提取表提取数据, 提取完成后进行交叉核对, 如有争议则通过讨论解决或由第三方裁决。资料提取内容如下: 作者、出处、发表时间、研究人群、纳入研究的总数、试验组及对照组干预措施、试验组及对照组的事件发生数、*H. pylori*的根除率、总不良反应发生率、亚组分析结果等。只提取纳入研究中结局指标数据全面的资料。

1.2.4 文献质量和证据质量评价: 由2名研究者使用OQAQ(Overview Quality Assessment of Questionnaire)量表^[7-9]独立评价SR/Meta分析的方法学质量, 不一致时找第三方协商或裁定。OQAQ量表共有9个方面10个条目, 前9个条目被评为是(报告并正确使用), 部分或不清楚(报告不全或部分正确)和否(没有报告或不正确), 第10个条目是对整个文献质量进行打分, 评价者根据前面9个问题的情况给1-7分, 1分代表该系统评价不符合标准, 7分代表该系统评价完全符合标准。若前9项有1个以上条目回答为“不能确定”, 则表明该系统评价存在“小的缺陷”; 若条目2、4、6、8中有回答为“否”者, 则说明存在“大的缺陷”。一般有明显缺陷者, 其综合评分为1分, 大的缺陷评为3分, 有

小的缺陷者评分为5分, 7分代表无缺陷, ≥ 5 分表示仅有极小或小缺陷(Good), 3-4分表示大缺陷(Poor), ≤ 2 分表示极大缺陷(Very Poor)。应用GRADE系统^[10]对系统评价/Meta分析的单个结局指标进行证据质量分级。证据质量分级如下: (1)高质量(进一步研究不可能改变该疗效评估结果的可信度); (2)中等质量(进一步研究很可能影响该疗效评估结果的可信度, 且可能改变该评估结果); (3)低质量(进一步研究极有可能影响该疗效评估结果的可信度, 且该评估结果很可能改变); (4)极低质量(任何疗效评估结果都很不确定)。证据质量评定采用GRADEpro 3.6.1软件^[11]由2名研究者同时进行, 出现意见分歧时通过协商解决。

统计学处理 (1)统一采用RR及其95%CI(或P值)表示结果效应的大小, 若Meta分析中为OR值, 则通过GRADEpro 3.6.1软件转换成RR值; (2)若SR/Meta分析中由于异质性检验选择模型错误, 则运用RevMan5.3软件进行校正, $I^2 \leq 50\%$, $P > 0.1$ 时采用固定效应模型(fixed effects model, FEM), $P \leq 0.1$, $I^2 > 50\%$ 时采用随机效应模型(random effects model, REM), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 文献检索结果 共检索文献149篇, 阅读题目排除重复文献44篇, 阅读摘要: 排除会议摘要4篇, 无关文献53篇, 普通综述26篇, 剩下文献22篇, 进一步查阅全文, 排除不符合标准文献11篇, 最终纳入11篇Meta分析^[12-22], 文献筛选流程如图1。

2.2 纳入研究的基本特征 本研究纳入2007-2014年间Meta分析文献共11篇, 中文文献5篇^[15,17,18,21,22], 英文文献6篇^[12-14,16,19,20], 其中发表地区为中国的有9篇^[12,14,15,17-22], 约占总数的80.0%。研究人群来源于亚洲、欧洲、南美洲, 纳入的人群中包括儿童和成人, 治疗对象包括初次治疗和复治(补救治疗)患者, 在11个研究中, 有8项研究^[12,14,16-18,20-22]纳入随机对照试验(randomized controlled trial, RCT), 有1项^[19]研究纳入平行对照试验, 有2项^[13,15]纳入的为RCT或半RCT。11个研究均报道了*H. pylori*的根除率和治疗过程中总不良反应的发生率。有4个研究^[14,16,17,21]评价了益生菌联合三联疗法(TT)根除*H. pylori*感染疗效, 有5个研究^[13,14,16,19,20]评价了某种类型的益生菌联

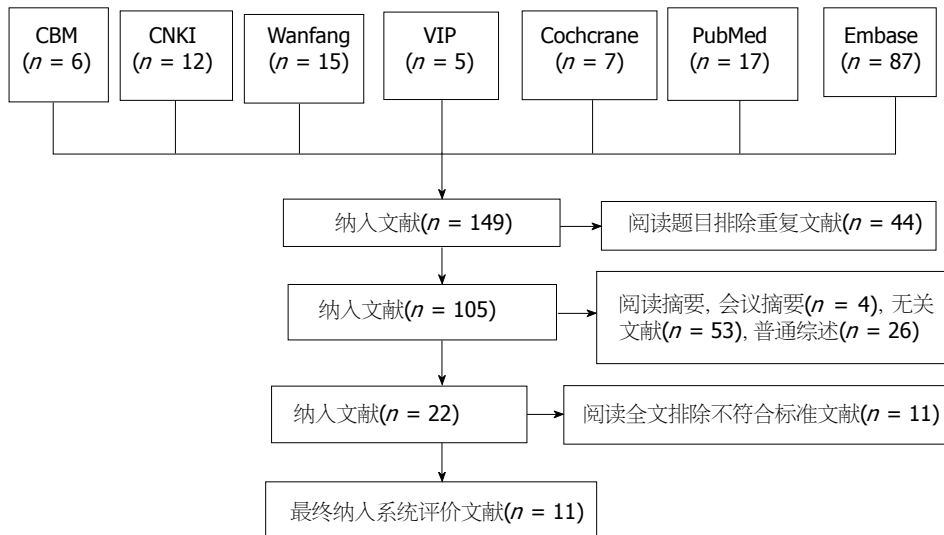


图1 文献检索及筛选结果

表1 纳入研究基本特征

纳入研究	发表时间	发表国家	纳入RCT数	研究对象		干预措施		结局指标	质量
				病例数	研究人群	试验组	对照组		
Tong等 ^[12]	2007	中国	14	1671	A、E、SA	P+TT或QT	TT或QT	(1)(2)	4
Sachdeva等 ^[13]	2009	印度	10 ^a	963	A、E、SA	FMP, FMP+TT或QT	TT或QT或none	(1)(2)	4
Zou等 ^[14]	2009	中国	8	766	E	P(LB)+TT	TT	(1)(2)	5
龚芳红等 ^[15]	2009	中国	15 ^a	1572	A	P, P+TT或QT	TT或QT	(1)(2)	1
Szajewska等 ^[16]	2010	波兰	5	1307	A、E	P(SB)+TT	TT	(1)(2)	5
李生等 ^[17]	2012	中国	15	1816	A、E、SA	P+TT	TT	(1)(2)	2
徐舒佳 ^[18]	2012	中国	25	3628	A、E、SA	P+others	others	(1)(2)	2
Wang等 ^[19]	2013	中国	10 ^b	1469	A、E、SA	P(LB+BB)+TT或ST或QT	TT或ST或QT	(1)(2)	5
Zheng等 ^[20]	2013	中国	9	1163	A、E、SA	P(LB)+TT或ST	TT或ST	(1)(2)	6
刘鹏鸿等 ^[21]	2014	中国	12	2480	A、E	P+TT	TT	(1)(2)	2
谢春红等 ^[22]	2014	中国	11	769	A、E、SA ¹	P+TT或ST	TT或ST	(1)(2)	6

^aRCT或半RCT; ^b平行对照试验; ¹人群年龄为小于18岁的儿童, 其他研究人群年龄不限. (1)*H. pylori*的根除率; (2)不良反应的发生率(包含总不良反应的发生率和或具体不良反应的发生率). 质量: OQAQ评分结果(详见表2). 三联疗法: PPI+两种抗生素; 四联疗法: 铋剂+PPI+两种抗生素; 序贯疗法: 前5 d使用PPI+阿莫西林, 后5 d使用PPI+克拉霉素+甲硝唑; PPI是指奥美拉唑、埃索美拉唑、雷贝拉唑、兰索拉唑或泮托拉唑中的1种, 两种抗生素是指常规抗*H. pylori*药物阿莫西林、克拉霉素、甲硝唑、左氧氟沙星、替硝唑等中的2种. RCT: 随机对照试验; A: Asia(亚洲); E: Europe(欧洲); SA: South America(南美洲); P: 益生菌; TT: 三联疗法; ST: 序贯疗法; QT: 四联疗法; others: 其他方案(不含益生菌的方案, 具体不详); SB: 布拉氏酵母菌; LB: 乳酸菌; BB: 双歧杆菌; FMP: 益生菌发酵奶.

合三联、四联或序贯疗法的疗效, 具体信息详如表1.

2.3 纳入研究的质量评价 11个研究的总体质量较差, OQAQ评分在1-6分之间, 其平均得分为3.82. 5个研究存在小的缺陷(≥ 5 分), 方法学质量为“Good”; 2个研究存在大缺陷(3-4分), 方法学质量为“Poor”; 4个研究存在极大缺陷(≤ 2 分), 方法学质量为“Very poor”. 有3个研究^[12,16,18]计算模型选择错误, 但在更正模型后

未改变原结局指标的方向. 详细评分如表2.

2.4 再评价结果

2.4.1 *H. pylori*的根除率: 11个Meta分析均评价了益生菌增效治疗*H. pylori*感染的根除率, 各研究结果均显示益生菌治疗组能有效提高*H. pylori*的根除率(表3). 有5个研究^[13,14,16,19,20]明确了益生菌类型, 研究结果显示益生菌发酵奶(FMP)、乳酸菌(LB)、布拉氏酵母菌(SB)等在根除*H. pylori*有一定的疗效, 这5个

■ 创新盘点

近年来国内外已公开发表多篇关于益生菌增效治疗*H. pylori*感染的系统评价/Meta分析文章, 但因纳入的研究质量各异, 且多数研究未对研究结果进行证据评价, 本研究除了运用OQAQ(Overview Quality Assessment of Questionnaire)量表循证评价此类研究的方法学质量, 同时运用GRADE系统对主要结局指标进行证据质量分级, 提供了比较全面、详细的表格信息, 可为临床医师合理选择最佳临床方案提供参考依据.

应用要点

益生菌增效治疗 *H. pylori* 感染具有一定的优势, 但Meta分析的总体质量较差, 证据水平较低, 临床医生应根据实际情况进行循证决策。

表 2 用OQAQ量表评价纳入研究的质量

纳入研究	发表时间	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	Q7	Q8	Q9	Q10	缺陷	质量
Tong等 ^[12]	2007	Y	Y	Y	Y	Y	P	Y	P1	Y	4	Major	Poor
Sachdeva等 ^[13]	2009	Y	Y	Y	C	Y	P	Y	Y	Y	4	Major	Poor
Zou等 ^[14]	2009	Y	Y	Y	Y	Y	P	Y	Y	Y	5	Minor	Good
龚芳红等 ^[15]	2009	Y	N	Y	N	N	N	Y	Y	Y	1	Extensive	Very Poor
Szajewska等 ^[16]	2010	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	P ¹	Y	5	Minor	Good
李生等 ^[17]	2012	Y	N	Y	Y	Y	P	Y	Y	Y	2	Extensive	Very Poor
徐舒佳 ^[18]	2012	Y	Y	Y	N	Y	Y	Y	P ¹	Y	2	Extensive	Very Poor
Wang等 ^[19]	2013	Y	Y	Y	Y	Y	P	Y	Y	Y	5	Minor	Good
Zheng等 ^[20]	2013	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	6	Minor	Good
刘鹏鸿等 ^[21]	2014	Y	N	Y	C	Y	P	Y	Y	Y	2	Extensive	Very Poor
谢春红等 ^[22]	2014	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	6	Minor	Good
合计/均值 ²		Y = 11 N = 3	Y = 8/ N = 3	Y = 11 N = 3	Y = 7/ C = 2/ N = 2	Y = 10/ N = 1	Y = 4/ N = 1/ P = 6	Y = 11 N = 1/ P = 6	Y = 8/ P = 3	Y = 11	3.82 ²	Good(5)/Poor(2)/ Very Poor(4)	

¹计算模型选用错误; ²Q10总体评分的平均值。Y = Yes; N = No; P = Partially; C = Cannot tell; Q1: 是否报告了文献检索方法; Q2: 文献策略的是否恰当、全面; Q3: 是否报告纳入排除标准; Q4: 是否避免了纳入研究的选择偏倚; Q5: 是否报告用于评价纳入研究真实性的标准; Q6: 对纳入研究的质量评价是否全面、恰当; Q7: 是否报告了纳入研究的数据合并方法; Q8: 纳入研究的结局指标合并是否恰当; Q9: SR的结论是否得到了报告数据的支持; Q10: SR的总体科学质量如何。

研究的方法学质量较高, 但受到原始研究质量的影响, Zou等^[14]的研究GRADE证据等级为“低级”, 其他4个研究为“中级”。Tong等^[12]的研究中评价了初治和复治患者*H. pylori*的根除率, Meta分析结果显示, 按意向性治疗分析(intention-to-treat analysis, ITT), 益生菌增效治疗组较未联合益生菌组能有效提高初治患者*H. pylori*的根除率(RR = 1.13, 95%CI: 1.07-1.18, *P* = 0.0002), 也能提高复治患者的根除率(RR = 1.17, 95%CI: 1.03-1.24, *P* = 0.0002)。龚芳红等^[15]研究评价了联合运用益生菌制剂和单独使用益生菌制剂与常规疗法相比治疗*H. pylori*的疗效, 研究结果显示, 与对照组相比, 联合应用益生菌制剂可以提高抗*H. pylori*感染治疗中的清除率(RR = 1.03, 95%CI: 1.07-1.11, *P* = 0.003), 单独应用益生菌制剂清除*H. pylori*感染差异无统计学意义(RR = 0.95, 95%CI: 0.74-1.09, *P* = 0.60), 但这2个研究的方法学质量较低, 且存在研究的局限性(隐藏和盲法的缺失), 不精确性(样本量较小)及发表性偏倚等降级因素, GRADE证据等级为“极低级”。谢春红等^[22]是一项关于儿童初

治患者研究, 经Meta分析发现, 与单用三联疗法或序贯疗法相比, 按ITT分析, 益生菌联合三联疗法或序贯疗法能有效提高*H. pylori*的根除率(RR = 1.20, 95%CI: 1.10-1.30, *P* < 0.0001), 该研究OQAQ评分为6分, 方法学质量较高, 且GRADE证据等级为“高级”, 提示在儿童初治患者中, 益生菌联合三联疗法或序贯疗法在提高*H. pylori*的根除率方面具有积极的作用。

2.4.2 总不良反应的发生率: 11个Meta分析均评价了在抗*H. pylori*治疗过程中总不良反应的发生率(表3)。有8个研究^[12,15-19,21,22]结果均显示相比不含益生菌常规疗法, 益生菌联合治疗组能有效降低总不良反应的发生率; 有3个研究^[13,14,20]结果显示, 益生菌试验组与对照组(不含益生菌的常规疗法)间差异无统计学意义。徐舒佳^[18]的研究在计算总不良反应的发生率时, 在I² = 79%时作者错误选用FEM, 修正为REM后, 差异仍有统计学意义(RR = 0.56, 95%CI: 0.43-0.74, *P* < 0.0001)。由于纳入原始研究的局限性(隐藏和盲法的缺失), 不精确性(样本量较小)及不一致性等降级因素的存在, GRADE证据等级为“低级”或“极低级”。

表 3 单个结局指标的GRADE系统证据质量分级

纳入研究	发表时间	<i>H. pylori</i> 的根除率(关键结局)			总不良反应发生率(重要结局)		
		总病例数	结果	GRADE分级	总病例数	结果	GRADE分级
Tong等 ^[12]	2007	1074 ^a	↑	中级 ¹	625	↓	低级 ^{1,4}
		208 ^b		极低级 ^{1,2,5}			
Sachdeva等 ^[13]	2009	943	↑	中级 ¹	719	?	极低级 ^{1,4}
Zou等 ^[14]	2009	766	↑	低级 ^{1,4}	459	?	极低级 ^{1,2,4}
龚芳红等 ^[15]	2009	1572 ^c	↑	极低级 ^{1,5}	536	↓	极低级 ^{1,4,5}
		138 ^d	?	极低级 ^{1,4,5}			
Szajewska等 ^[16]	2010	915	↑	中级 ¹	1305	↓	低级 ^{1,2}
李生等 ^[17]	2012	1805	↑	低级 ^{1,5}	1464	↓	极低级 ^{1,2,5}
徐舒佳 ^[18]	2012	3236	↑	中级 ¹	3057	↓	低级 ^{1,2}
Wang等 ^[19]	2013	1409	↑	中级 ¹	978	↓	低级 ^{1,4}
Zheng等 ^[20]	2013	1163	↑	中级 ¹	739	?	低级 ^{1,4}
刘鹏鸿等 ^[21]	2014	2480	↑	中级 ¹	2336	↓	低级 ^{1,2}
谢春红等 ^[22]	2014	769	↑	高级	600	↓	低级 ^{2,4}

^a初治患者; ^b复治患者(补救治疗); ^c益生菌单独使用及联合治疗组; ^d单独使用益生菌; ↑代表提高; ↓代表降低; ?代表无统计学差异(不确定)。GRADE降级因素: ¹研究的局限性; ²不一致性; ³间接性; ⁴不精确性; ⁵发表偏倚。

名词解释

系统评价再评价(overviews of reviews): 是全面收集同一疾病或同一健康问题的治疗、病因、诊断和预后等方面的相关系统评价进行再评价的一种综合研究方法; 益生菌(probiotic): 是指适量给予对宿主健康有益的一些活的微生物。常见的菌株包括: 乳酸菌属, 芽孢杆菌属, 非常驻菌属; 根据所含菌种数可分为多联活菌制剂和单菌制剂。

2.4.3 *H. pylori*的根除率(亚组特征): (1)乳酸菌的种类分层: Zou等^[14]的研究将乳酸菌分为3个亚组: 干酪乳杆菌, 嗜酸乳杆菌, 罗伊乳杆菌(表4), 研究人群来源于欧洲, 经Meta分析结果显示, 嗜酸乳杆菌联合三联疗法较单独三联疗法可提高*H. pylori*的根除率(RR = 1.14, 95%CI: 1.06-1.18), 但由于存在研究的局限性, 纳入的样本量较小, 不符合最优样本量(optimal information size, OIS)标准, 存在不精确性, GRADE证据质量为“低级”; 干酪乳杆菌、罗伊乳杆菌联合三联疗法较对照组差异无统计学意义, GRADE证据等级分别为“低级”和“极低级”; (2)益生菌的种类分层: 徐舒佳^[18]的研究将益生菌分5个亚组: 益生菌混合制剂、乳酸菌、酵母菌、克劳氏芽孢杆菌、酪酸梭菌组(表4), 研究人群主要来源于亚洲、欧洲, 部分来源于南美洲, 研究结果显示, 益生菌混合制剂、乳酸菌、酵母菌联合治疗组可有效提高*H. pylori*的根除率, 但该研究的OQAQ评分为2分, 方法学质量较低, 鉴于纳入原始研究的局限性, GRADE证据等级为“中级”。克劳氏芽孢杆菌、酪酸梭菌联合治疗组由于纳入的原始研究样本量较小, 可能存在发表性偏倚, GRADE证据等级为“极低级”; (3)按益生菌疗程分组: 徐舒佳^[18]的研究将纳入的24个RCT按益

生菌疗程分为≤2 wk和>2 wk 2组(表4), 经Meta分析发现, 益生菌疗程≤2 wk(RR = 1.15, 95%CI: 1.09-1.20)和>2 wk(RR = 1.13, 95%CI: 1.08-1.17)均能有效提高*H. pylori*的根除率, 结果提示益生菌2 wk疗程的效果显著, 而延长治疗时间并不增加疗效。由于受纳入原始研究局限性的影响, GRADE证据等级为“中级”; (4)按纳入前患者有无症状分组: Zou等^[14]的研究将来源于欧洲的人群分为有症状组与无症状组(表4), 经Meta分析发现, 与单纯三联疗法相比, 有症状组的乳酸菌联合三联疗法组可有效提高*H. pylori*的根除率(RR = 1.16, 95%CI: 1.09-1.21), 而无症状组显示试验组与对照组差异无统计学意义, 提示乳酸菌联合三联疗法可提高有症状组的*H. pylori*的根除率, 但由于受纳入原始研究的局限性影响, GRADE证据等级为“中级”; (5)按患者年龄分组: 徐舒佳^[18]的研究结果显示, 与对照组相比, 益生菌联合治疗组能有效提高*H. pylori*的根除率, 与年龄无关(表4)。鉴于纳入原始研究的局限性, GRADE证据等级为“中级”。

2.4.4 抗*H. pylori*相关具体不良反应发生率: 如表5所示, 有3个研究^[12,14,16]详细评价了益生菌对治疗过程中具体不良反应的影响, 研究人群主要来源于亚洲、欧洲, 与对照组相比, Tong等^[12]研究结果显示益生菌可降低腹泻、

同行评价

近年来,在医学研究领域里的系统评价/Meta分析的文献数量逐年增多,对这类文献中相关同一类别的多个系统评价/Meta分析进行方法学质量和报告质量再评价和综合分析,可以为读者提供更加全面、综合、准确的信息,同时对于指导临床实践和规范Meta分析有较好的帮助。

表 4 H. pylori的根除率(关键结局)GRADE证据质量分级

亚组分类	纳入研究	发表时间	亚组特征	研究人群	总病例数	描述性比较风险		RR(95%CI)	GRADE 分级
						对照风险 ^a (不用P药) (每千人)	干预风险 (用P药) (每千人)		
乳酸菌	Zou等 ^[14]	2009	干酪乳杆菌	E	368	713	791(706–862)	1.11(0.99–1.21)	低级 ^{1,4}
	Zou等 ^[14]	2009	嗜酸乳杆菌	E	365	821	936(871–969)	1.14(1.06–1.18)	低级 ^{1,4}
	Zou等 ^[14]	2009	罗伊乳杆菌	E	33	625	994(219–819)	1.59(0.35–1.31)	极低级 ^{1,4,5}
益生菌种类	徐舒佳 ^[18]	2012	混合制剂	A, E, SA	1165	725	826(783–870)	1.14(1.08–1.2)	中级 ¹
	徐舒佳 ^[18]	2012	乳酸菌	A, E	797	775	883(837–914)	1.14(1.08–1.18)	中级 ¹
	徐舒佳 ^[18]	2012	酵母菌	A, E	875	708	800(751–850)	1.13(1.06–1.2)	中级 ¹
	徐舒佳 ^[18]	2012	克劳氏芽孢菌	A, E	302	600	690(582–780)	1.15(0.97–1.3)	极低级 ^{1,4,5}
	徐舒佳 ^[18]	2012	酪酸梭菌	A	97	880	933(774–986)	1.06(0.88–1.12)	极低级 ^{1,4,5}
益生菌疗程	徐舒佳 ^[18]	2012	≤2 wk	A, E	1397	707	813(771–849)	1.15(1.09–1.2)	中级 ¹
	徐舒佳 ^[18]	2012	>2 wk	A, E, SA	1839	742	838(801–868)	1.13(1.08–1.17)	中级 ¹
纳入前	Zou等 ^[14]	2009	有症状组	E	484	775	899(844–937)	1.16(1.09–1.21)	中级 ¹
有无症状	Zou等 ^[14]	2009	无症状组	E	222	775	806(682–883)	1.04(0.88–1.14)	低级 ^{1,4}
年龄	徐舒佳 ^[18]	2012	儿童组	A, E, SA	455	662	77(695–847)	1.17(1.05–1.28)	中级 ¹
	徐舒佳 ^[18]	2012	成人组	A, E	2781	738	83(804–856)	1.13(1.09–1.16)	中级 ¹

对照风险^a: 各研究对照组的危险中位数, 干预风险(及其95% CI)基于对照组中的对照风险及干预的相对效应(及其95% CI)。GRADE降级因素: ¹研究的局限性; ²不一致性; ³间接性; ⁴不精确性; ⁵发表偏倚。A: Asia(亚洲); E: Europe(欧洲); SA: South America(南美洲); P: 益生菌; RR: 相对危险度; CI: 可信区间。

表 5 抗H. pylori相关具体不良反应发生率GRADE证据质量分级

不良反应类型	纳入研究	发表时间	研究人群	总病例数	描述性比较风险		RR(95%CI)	GRADE 分级
					对照风险 ^a (不用P药) (每千人)	干预风险 (用P药) (每千人)		
腹泻(I)	Tong等 ^[12]	2007	A, E	997	161	61(40–90)	0.38(0.25–0.56)	低级 ^{1,4}
	Zou等 ^[14]	2009	E	375	187	51(24–49)	0.27(0.13–0.53)	低级 ^{1,4}
	Szajewska等 ^[16]	2010	A, E	1215	122	57(39–84)	0.47(0.32–0.69)	低级 ^{1,4}
上腹痛(II)	Tong等 ^[12]	2007	E	608	230	157(104–226)	0.68(0.45–0.98)	低级 ^{1,4}
	Szajewska等 ^[16]	2010	A, E	826	99	62(27–140)	0.62(0.27–1.41)	低级 ^{1,4}
恶心(N)	Tong等 ^[12]	2007	E	608	252	164(113–229)	0.65(0.45–0.91)	低级 ^{1,4}
	Szajewska等 ^[16]	2010	A, E	826	56	31(16–60)	0.56(0.29–1.08)	低级 ^{1,4}
味觉紊乱(N)	Tong等 ^[12]	2007	E	419	460	224(124–419)	0.53(0.27–0.91)	极低级 ^{1,2,4}
	Zou等 ^[14]	2009	E	225	315	94(47–176)	0.3(0.15–0.56)	低级 ^{1,4}
	Szajewska等 ^[16]	2010	A, E	1215	60	43(21–89)	0.72(0.35–1.48)	低级 ^{1,4}
上腹胀气/饱胀(N)	Zou等 ^[14]	2009	E	222	405	219(134–336)	0.54(0.33–0.83)	低级 ^{1,4}
	Szajewska等 ^[16]	2010	A, E	165	232	218(123–382)	0.94(0.53–1.65)	低级 ^{4,5}

对照风险^a: 各研究对照组的危险中位数, 干预风险(及其95% CI)基于对照组中的对照风险及干预的相对效应(及其95% CI)。GRADE降级因素: ¹研究的局限性; ²不一致性; ³间接性; ⁴不精确性; ⁵发表偏倚。I: 重要结局; N: 非重要结局; A: Asia(亚洲); E: Europe(欧洲); SA: South America(南美洲); P: 益生菌; RR: 相对危险度; CI: 可信区间;

上腹痛、恶心、味觉紊乱/口干的发生率, Zou等^[14]研究结果显示乳酸菌可有效降低腹泻、味觉紊乱/口干、上腹胀气/饱胀的发生率, Szajewska等^[16]研究结果显示, 布拉氏酵母菌可降低腹泻的发生率, 但在上腹痛、恶心、味觉紊乱、上腹胀气/饱胀上, 两组间差异无统计学意义。其中Tong等^[12]纳入的5个原始研究^[23–27]中“味觉紊乱的发生率”, Szajewska等^[16]研究中

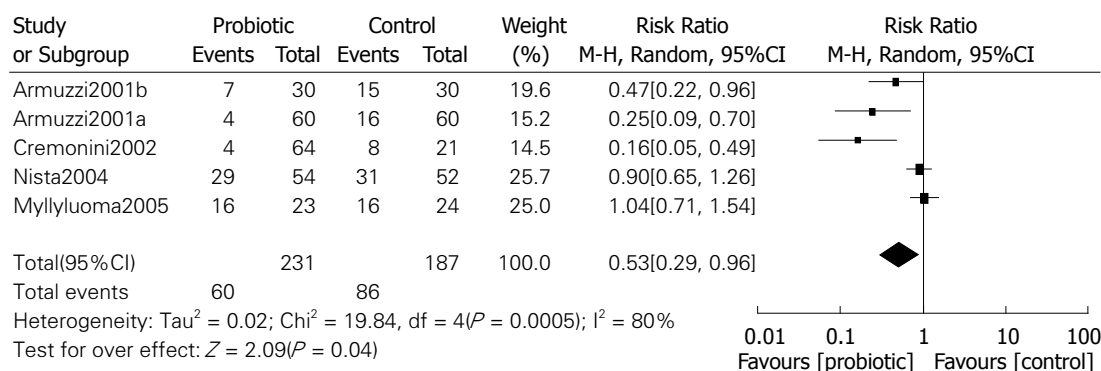


图2 益生菌治疗组与对照组味觉紊乱发生率森林图。

“腹泻(4个原始研究^[25,28-30])、味觉紊乱(4个原始研究^[25,28-30])、恶心(3个原始研究^[25,29,30])、上腹胀气/饱胀的发生率(2个原始研究^[25,29])”等结局指标计算模型选用错误, 纠正计算模型后未改变原结局指标方向(图2, 3)。然而, 由于纳入原始研究的局限性, 不精确性(样本量较小)等降级因素, GRADE证据等级为“低级”或“极低级”。

3 讨论

近年来, 随着微生态医学的兴起, 益生菌制剂在临床中得到了广泛的应用, 尤其在胃肠疾病中应用引起关注。然而, 益生菌防治*H. pylori*感染的机制尚未完全阐明, 目前研究证明, 益生菌可能通过以下几种机制防治*H. pylori*感染^[5,31-34]: (1)产生抑制或杀灭*H. pylori*的物质: 体外试验及动物实验研究证明益生菌可通过产生脂肪酸、细菌素、乳酸、过氧化氢等抑制或杀灭*H. pylori*; (2)竞争性抑制*H. pylori*的定植: 某些益生菌可定植于胃内, 与*H. pylori*竞争黏附于胃黏膜结合位点, 从而竞争性的抑制*H. pylori*的黏附; (3)抑制*H. pylori*感染后的炎症反应: 研究证明乳酸杆菌可抑制*H. pylori*所致的白介素-8分泌, 从而降低胃黏膜的炎症反应; (4)减少不良反应, 提高患者的依从性: 益生菌通过改善肠道菌群失调, 降低抗菌药物所致的腹泻、便秘等不良反应, 提高患者的依从性, 从而提高*H. pylori*的根除率。系统评价/Meta分析被公认为评价临床疗效、制订临床指南和规范的基石, 特别是国际Cochrane协作网生产的系统评价, 因其严格的管理和质量保障系统, 生产的系统评价和Meta分析真实、可信^[35]。系统评价再评价(overviews of reviews)是全面收集同一疾病或同一健康问题

的治疗、病因、诊断和预后等方面的相关系统评价进行再评价的一种综合研究方法, 他从更高层面对系统评价证据进行综合, 所含信息量更大, 临床适用性更强^[36]。本文比较全面的收集了关于益生菌增效治疗*H. pylori*感染的循证医学证据。

本次研究结果显示: (1)在根除率方面: 与常规疗法(三联疗法、四联疗法、序贯疗法等)相比, 益生菌增效治疗可提高初治患者*H. pylori*的根除率, 对复治患者也有一定的积极作用; 含乳酸菌、双歧杆菌、布拉氏酵母菌的益生菌在*H. pylori*的根除率上差异不明显; 益生菌2 wk疗程效果显著, 而延长治疗时间并不增加疗效; 单独益生菌治疗*H. pylori*感染可能有一定的积极作用; 在提高*H. pylori*的根除率上对纳入前有症状的患者明显, 但与年龄无关; 由于益生菌种类、剂量、疗程均不限, 因此上述结果有待进一步研究证实; (2)在不良反应方面: 益生菌可降低抗*H. pylori*治疗过程中的总不良反应发生率, 尤其是腹泻的发生率, 对上腹痛、恶心、味觉紊乱也有一定的积极作用, 但仍需进一步研究提供证据。

本文纳入11个Meta分析中的人群主要来源于亚洲、欧洲、南美洲, 人群适用范围较广。然而, 本研究采用GRADE系统对其结局指标进行证据质量分级, 仅谢春红等^[22]研究在*H. pylori*的根除率上为“高级”, 其他研究的GRADE证据分级为“中级”、“低级”或“极低级”, 这主要是由于纳入原始研究的局限性(盲法和隐藏的缺失), 不精确性(样本量较小)及可能存在发表性偏倚等降级因素, 故仍需进一步开展大样本高质量的RCT来证实。

本研究的局限性: (1)本研究纳入的11个Meta分析中原始研究有重叠, 对结果有一定的

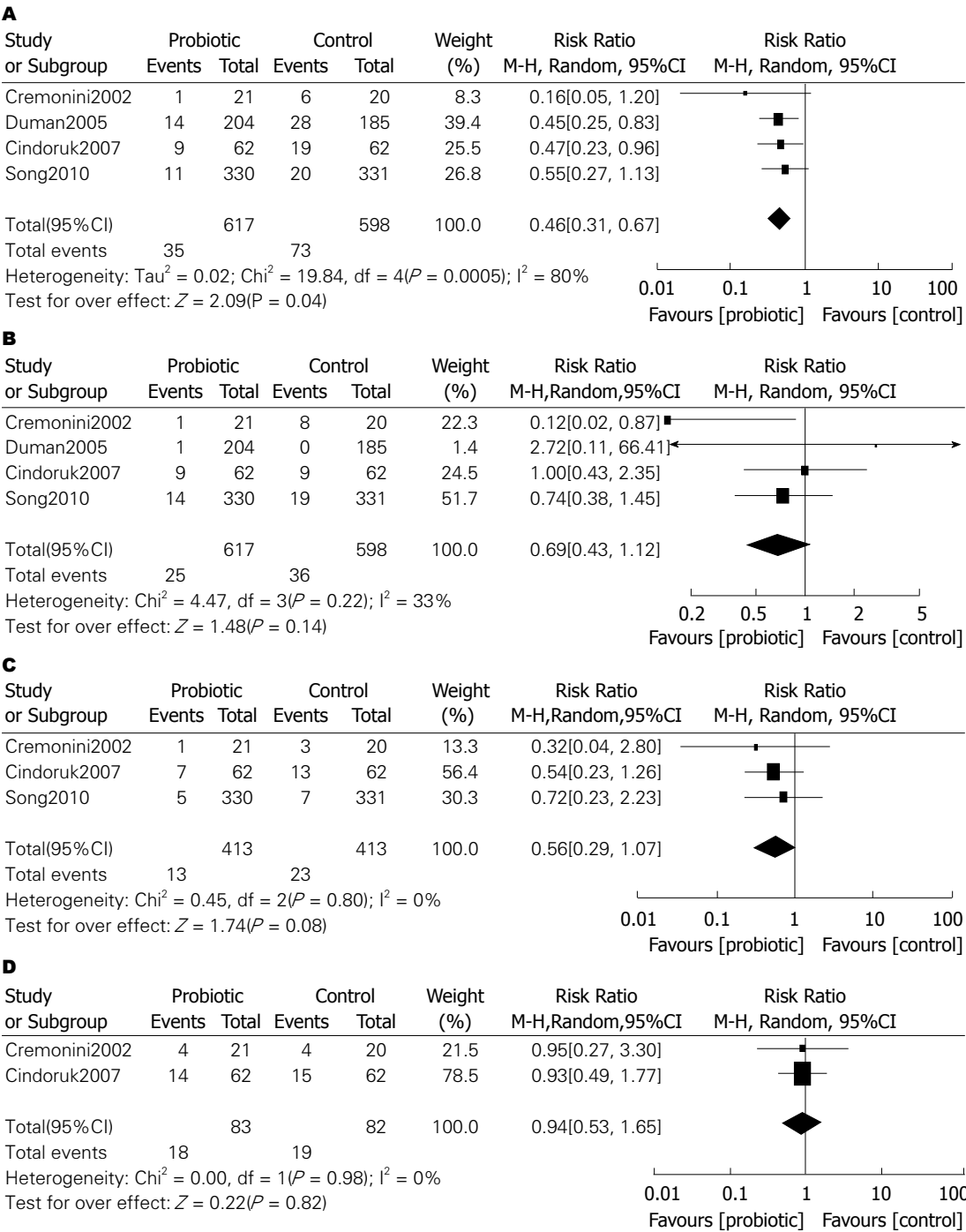


图 3 布拉氏酵母菌治疗组与对照组不良反应发生率森林图. A: 腹泻; B: 味觉紊乱/口干; C: 恶心; D: 上腹胀气/饱胀.

影响; (2)本研究纳入的Meta分析OQAQ平均分为3.82分, 存在大的缺陷, 总体质量较差, 除Zheng等^[20]、谢春红等^[22]2项研究质量较高外, 其他文献普遍存在文献检索不够全面系统, 对纳入的研究可能存在选择偏倚, 对原始研究的质量评价不恰当、数据合并不合理等问题, 使研究的可信性下降; (3)本研究无Cochrane系统评价, Cochrane系统评价被认为是最高级别的证据, 非Cochrane系统评价的制作质量可能不

及Cochrane系统评价, 这使得研究结果的可靠性及真实性降低; (4)本研究仅纳入已发表的文献, 未检索尚未公开发表的文献, 可能存在发表偏倚.

总之, 本研究显示益生菌增效治疗*H. pylori*感染有一定的优势, 但基于原始研究的质量和GRADE分级, 建议临床医师根据临床实践情况进行循证决策. 在临床研究方面, 建议根据益生菌的种类选择、治疗剂量、疗程及如何

与其他药物合用等进一步开展大样本高质量的RCT来证实; 在系统评价方面, 建议研究者最好运用国际Cochrane协作网提供的严格方案来生产系统评价/Meta分析, 以期得出更可靠的结论, 从而更好的指导临床实践。

4 参考文献

- Dunn BE, Cohen H, Blaser MJ. Helicobacter pylori. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10: 720-741 [PMID: 9336670]
- Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Atherton J, Axon AT, Bazzoli F, Gensini GF, Gisbert JP, Graham DY, Rokkas T, El-Omar EM, Kuipers EJ. Management of Helicobacter pylori infection--the Maastricht IV/ Florence Consensus Report. *Gut* 2012; 61: 646-664 [PMID: 22491499 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-302084]
- Fuccio L, Zagari RM, Minardi ME, Bazzoli F. Systematic review: Helicobacter pylori eradication for the prevention of gastric cancer. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25: 133-141 [PMID: 17229238 DOI: 10.1111/j.1365-2036]
- Graham DY, Lu H, Yamaoka Y. A report card to grade Helicobacter pylori therapy. *Helicobacter* 2007; 12: 275-278 [PMID: 17669098 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2007.00518.x]
- 陈云华, 汪春莲, 谢云. 幽门螺杆菌致病机制及益生菌防治作用的研究进展. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 2690-2697
- Reid G, Jass J, Sebulsky MT, McCormick JK. Potential uses of probiotics in clinical practice. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16: 658-672 [PMID: 14557292 DOI: 10.1128/CMR.16.4.658-672.2003]
- Oxman AD. Checklists for review articles. *BMJ* 1994; 309: 648-651 [PMID: 8086990 DOI: 10.1136/bmj.309.6955.648]
- Oxman AD, Guyatt GH. Validation of an index of the quality of review articles. *J Clin Epidemiol* 1991; 44: 1271-1278 [PMID: 1834807 DOI: 10.1016/0895-4356(91)90160-B]
- 王应强, 罗倩倩, 李幼平, 邓绍林, 李向莲, 韦诗友. 对射频消融术与肝切除手术治疗小肝癌系统评价/Meta分析的方法学质量再评价. *中国循证医学杂志* 2014; 14: 561-574
- 曾宪涛, 冷卫东, 李胜, 郭毅, 王朴. 如何理解及应用GRADE系统. *中国循证医学杂志* 2011; 11: 985-990
- 曾宪涛, 田国祥, 牛玉明, 孙竹, 李胜, 冷卫东. GRADE profiler软件的使用简介. *中国循证心血管医学杂志* 2011; 3: 390-392
- Tong JL, Ran ZH, Shen J, Zhang CX, Xiao SD. Meta-analysis: the effect of supplementation with probiotics on eradication rates and adverse events during Helicobacter pylori eradication therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25: 155-168 [PMID: 17229240 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2006.03179.x]
- Sachdeva A, Nagpal J. Effect of fermented milk-based probiotic preparations on Helicobacter pylori eradication: a systematic review and meta-analysis of randomized-controlled trials. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2009; 21: 45-53 [PMID: 19060631 DOI: 10.1097/MEG.0b013e32830d0eff]
- Zou J, Dong J, Yu X. Meta-analysis: Lactobacillus containing quadruple therapy versus standard triple first-line therapy for Helicobacter pylori eradication. *Helicobacter* 2009; 14: 97-107 [PMID: 19751434 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2009.00716.x]
- 龚芳红, 贺松, 张德纯, 郭亚楠. 国内益生菌制剂清除幽门螺杆菌感染临床疗效的meta分析. *中国微生态学杂志* 2009; 21: 817-821
- Szajewska H, Horvath A, Piwowarczyk A. Meta-analysis: the effects of Saccharomyces boulardii supplementation on Helicobacter pylori eradication rates and side effects during treatment. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 32: 1069-1079 [PMID: 21039671 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04457.x]
- 李生, 丁百静, 杨勇. 微生态制剂联合标准三联疗法根除幽门螺杆菌感染meta分析. *中国微生态学杂志* 2012; 24: 334-338
- 徐舒佳. 益生菌联合疗法根除幽门螺杆菌的荟萃分析. 杭州: 浙江大学, 2012
- Wang ZH, Gao QY, Fang JY. Meta-analysis of the efficacy and safety of Lactobacillus-containing and Bifidobacterium-containing probiotic compound preparation in Helicobacter pylori eradication therapy. *J Clin Gastroenterol* 2013; 47: 25-32 [PMID: 23090045 DOI: 10.1097/MCG.0b013e318266f6cf]
- Zheng X, Lyu L, Mei Z. Lactobacillus-containing probiotic supplementation increases Helicobacter pylori eradication rate: evidence from a meta-analysis. *Rev Esp Enferm Dig* 2013; 105: 445-453 [PMID: 24274441 DOI: 10.4321/S1130-01082013000800002]
- 刘鹏鸿, 霍丽娟. 益生菌联合三联疗法根除幽门螺杆菌的Meta分析. *中华实验和临床感染病杂志: 电子版* 2014; 8: 379-383
- 谢春红, 王可霞, 陈道荣. 益生菌增效治疗儿童幽门螺杆菌感染的有效性及安全性的meta分析. *重庆医科大学学报* 2014; 40: 134-140
- Armuzzi A, Cremonini F, Bartolozzi F, Canducci F, Candelli M, Ojetti V, Cammarota G, Anti M, De Lorenzo A, Pola P, Gasbarrini G, Gasbarrini A. The effect of oral administration of Lactobacillus GG on antibiotic-associated gastrointestinal side-effects during Helicobacter pylori eradication therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15: 163-169 [PMID: 11148433 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2001.00923.x]
- Armuzzi A, Cremonini F, Ojetti V, Bartolozzi F, Canducci F, Candelli M, Santarelli L, Cammarota G, De Lorenzo A, Pola P, Gasbarrini G, Gasbarrini A. Effect of Lactobacillus GG supplementation on antibiotic-associated gastrointestinal side effects during Helicobacter pylori eradication therapy: a pilot study. *Digestion* 2001; 63: 1-7 [PMID: 11173893 DOI: 10.1159/000051865]
- Cremonini F, Di Caro S, Covino M, Armuzzi A, Gabrielli M, Santarelli L, Nista EC, Cammarota G, Gasbarrini G, Gasbarrini A. Effect of different probiotic preparations on anti-helicobacter pylori therapy-related side effects: a parallel group, triple blind, placebo-controlled study. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2744-2749 [PMID: 12425542 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2002.07063.x]
- Nista EC, Candelli M, Cremonini F, Cazzato IA, Zocco MA, Franceschi F, Cammarota G, Gasbarrini G, Gasbarrini A. Bacillus clausii therapy to reduce side-effects of anti-Helicobacter pylori treatment: randomized, double-blind, placebo controlled trial. *Aliment Pharmacol*

- Ther* 2004; 20: 1181-1188 [PMID: 15569121 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2004.02274.x]
- 27 Myllyluoma E, Veijola L, Ahlroos T, Tynkkynen S, Kankuri E, Vapaatalo H, Rautelin H, Korpela R. Probiotic supplementation improves tolerance to *Helicobacter pylori* eradication therapy--a placebo-controlled, double-blind randomized pilot study. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 21: 1263-1272 [PMID: 15882248 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2005.02448.x]
- 28 Duman DG, Bor S, Ozütemiz O, Sahin T, Oğuz D, Iştan F, Vural T, Sandkci M, Işksal F, Simşek I, Soytürk M, Arslan S, Sivri B, Soykan I, Temizkan A, Beşşık F, Kaymakoglu S, Kalayc C. Efficacy and safety of *Saccharomyces boulardii* in prevention of antibiotic-associated diarrhoea due to *Helicobacter pylori* eradication. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005; 17: 1357-1361 [PMID: 16292090 DOI: 10.1097/00042737-200512000-00015]
- 29 Cindoruk M, Erkan G, Karakan T, Dursun A, Unal S. Efficacy and safety of *Saccharomyces boulardii* in the 14-day triple anti-*Helicobacter pylori* therapy: a prospective randomized placebo-controlled double-blind study. *Helicobacter* 2007; 12: 309-316 [PMID: 17669103 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2007.00516.x]
- 30 Song MJ, Park DI, Park JH, Kim HJ, Cho YK, Sohn CI, Jeon WK, Kim BI. The effect of probiotics and mucoprotective agents on PPI-based triple therapy for eradication of *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 2010; 15: 206-213 [PMID: 20557362 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2010.00751.x]
- 31 赵维俊, 吕嘉彬. 益生菌制剂在肠病治疗中的应用进展. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 1389-1393
- 32 葛荣娣, 郑青. 益生菌治疗幽门螺杆菌感染的研究进展. *胃肠病学* 2012; 17: 686-688
- 33 Gotteland M, Brunser O, Cruchet S. Systematic review: are probiotics useful in controlling gastric colonization by *Helicobacter pylori*? *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 23: 1077-1086 [PMID: 16611267 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2006.02868.x]
- 34 何晨熙, 刘改芳. 益生菌在根除幽门螺杆菌治疗中的作用. *胃肠病学和肝病学杂志* 2014; 23: 839-842
- 35 李静, 李幼平. 不断完善与发展的Cochrane系统评价. *中国循证医学杂志* 2008; 8: 742-743
- 36 杨克虎, 刘雅莉, 袁金秋, 蒋怀礼. 发展和完善中的系统评价再评价. *中国循证儿科杂志* 2011; 6: 54-57

编辑: 韦元涛 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, 创刊于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507位专家组成, 分布在中国29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》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》和《Abstracts Journals》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

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

■ 《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, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

■《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》和《Abstracts Journals》收录。

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, 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^H,*H. pylori*不能写成HP,*T*_{1/2}不能写成tl/2或T_{1/2},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),*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*_{max},*C*_{max},*Vd*,*T*_{1/2},*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。

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 × 10¹²/L,WBC数用1 × 10⁹/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、CO₂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 × 10⁻³ g与5 × 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值的文句中,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% CO₂, 50 mL/L CO₂;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 = 45×10^{-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 χ^2 ; (4)样本的相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (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±标准差表示为mean±SD,平均数±标准误为mean±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 ± 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mean±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 g ± 420.8 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 kg ± 0.4 kg,过多的位数并无意义。又如8.4 cm ± 0.27 cm,其SD/3 = 0.09 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 → 23.5 → 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≤100,百分数到个位;101≤分母≤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

■ 《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: wjcd@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。

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: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

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、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/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^[1]报告……,潘伯荣等^[2-5]认为……;PCR方法敏感性高^[6-7]。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。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/lcyj.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, 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出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

<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。

2015年国内国际会议预告

2015-01-15/17
 2015年胃肠道癌症研讨会(GCS)
 会议地点: 美国
 联系方式: <http://gicasymp.org/>

2015-02-05/07
 欧洲癌症研究协会大会(EACR)
 会议地点: 德国
 联系方式: <http://www.eacr.org/radiationbiology2015/>

2015-03-12/15
 2015年第24届亚太肝病研究协会肝病大会(APASL)
 会议地点: 土耳其
 联系方式: <http://apasl.info/about>

2015-03-11/13
 2015年欧洲神经内分泌肿瘤学会第12届年度会议(ENETS)
 活动地点: 西班牙
 联系方式: <http://www.aihcc.com>

2015-06-08/21
 2015年第5届亚太肝胆胰腺协会双年会(A-PHPBA)
 会议地点: 新加坡
 联系方式: <http://aphpba2015.com/>

2015-03-25/28
 2015年第68届肿瘤外科学会年会(SSOACS)
 会议地点: 美国
 联系方式: <http://www.aihcc.com>

2015-04-17/19
 2015中国超声医学学术大会(CCUM)
 会议地点: 中国
 联系方式: <http://www.cuda.org.cn>

2015-04-18/22
 2015年美国癌症研究协会大会(AACR)
 会议地点: 美国
 联系方式: <http://www.aacr.org/Pages/Home.aspx>

2015-04-22/25
 第6届欧洲肿瘤介入大会(ECIO)
 会议地点: 法国
 联系方式: <http://www.ecio.org/>

2015-04-22/26
 2015年第50届欧洲肝病研究协年会(EASL)
 会议地点: 奥地利
 联系方式: <http://www.easl.eu/>

2015-05-06/09
 2015年世界肿瘤介入大会(WCIO)
 会议地点: 美国
 联系方式: <http://www.io-central.org/>

2015-05-07/08
 欧洲胃肠镜协会大会(ESGE)
 会议地点: 荷兰
 联系方式: <http://www.esge.com/>

2015-05-16/19
 美国消化疾病周(DDW)
 会议地点: 美国
 联系方式: <http://www.ddw.org/>

2015-05-29/06-02
 2015年美国临床肿瘤协会年会(ASCO)
 会议地点: 美国
 联系方式: <http://am.asco.org/>

2015-06-26/28
 2015年世界病毒性肝炎峰会(ISVHLD)
 会议地点: 德国
 联系方式: <http://www.isvhld2015.org/>

2015-07-01/04
 第17届世界胃肠癌大会(WGIC)
 会议地点: 西班牙
 联系方式: <http://worldgicancer.com>

2015-09-25/29
 第18届欧洲癌症大会(ECCO)
 会议地点: 奥地利
 联系方式: <http://www.ecco-org.eu/>

2015-09-25/29
 第40届欧洲临床肿瘤协会年会(ESMO)
 会议地点: 奥地利
 联系方式: <http://www.esmo.org/>

2015-09-28/10-02
 世界胃肠病组织大会(AGW/WGO)
 会议地点: 澳大利亚
 联系方式: <http://www.worldgastroenterology.org/>

2015-10-18/21
 第57届美国放射肿瘤协会大会(ASTRO)
 会议地点: 美国
 联系方式: <https://www.astro.org/>

2015-10-24/28
 第23届欧洲联合胃肠病学周(UEG)
 会议地点: 西班牙
 联系方式: <http://www.ueg.eu/>

2015-12-03/06
 亚太消化病周(APDW)
 会议地点: 台湾
 联系方式: <http://www.apdwcongress.org/>

安力彬 教授
大连大学护理学院

柏愚 副教授
中国人民解放军第二军医大学长海医院消化内科

程斌 教授
华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科

程英升 教授
上海交通大学附属第六人民医院放射科

崔清波 副高职
哈尔滨医科大学附属第二医院儿外科

单信芝 副主任护师
青岛大学附属医院消化内科

江建新 主任医师
湖北省肿瘤医院肝胆胰腺外科

姜慧卿 教授
河北医科大学第二医院消化科

兰英华 副教授
哈尔滨医科大学附属第一医院感染科

李华山 主任医师
中国中医科学院广安门医院

李连红 主任护师
大连医科大学附属第一医院

李瑜元 教授
广州市第一人民医院

梁力建 教授
中山大学附属第一医院

刘丽江 教授
江汉大学医学院

刘长征 副教授
中国医学科学院基础医学研究所

吕宾 教授
浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)

彭亮 副教授
中山大学附属第三医院感染科

孙学英 教授
哈尔滨医科大学第一附属医院

唐世刚 教授
湖南省人民医院

唐文富 教授
四川大学华西医院中西医结合科

唐旭东 主任医师
中国中医科学院西苑医院

王春英 副主任护师
山东省肿瘤医院

王俊平 教授
山西省人民医院消化科

王忠裕 教授
大连医科大学附属一院

肖恩华 教授
中南大学湘雅二医院

徐建明 主任医师
中国人民解放军军事医学科学院附属医院(解放军307医院)

于珮 主任医师
天津医科大学代谢病医院

张敏 副主任护师
山东大学齐鲁医院消化内镜中心

郑素军 副教授
首都医科大学附属北京佑安医院人工肝中心

周晓武 副主任医师
中国人民解放军空军总医院

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士:

我们谨此郑重通知:依据文献计量学的原理和方法,经研究人员对相关文献的检索、统计和分析,以及学科专家评审,贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系,列出了73个学科的核心期刊表,并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括:题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作,是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动,研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊(光盘版)电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究,进一步改进了核心期刊评价方法,使之更趋科学合理,力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标,选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种,统计到的文献数量共计221177余万篇次,涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审,从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是,该研究成果只是一种参考工具书,主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考,例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等,不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会
代章:

2012年1月





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
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

