

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

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2015 年 10 月 8 日 第 23 卷 第 28 期 (Volume 23 Number 28)



28/2015

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

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

编辑委员会

2015-01-01/2017-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》编辑委员会成员，由506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26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

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
度必光教授
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
陈凛教授
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
崔云甫教授
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

王刚副研究员
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
马赞副教授
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
侯凤刚副教授
江建新副主任医师
姜义红教授
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
张侗主任医师
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
韦键主管护师
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10月8日 第23卷 第28期 (总第504期)

述评

4457 结直肠CT仿真内窥镜的应用现状

张宗明, 温智勇, 康枫

4464 结直肠癌免疫治疗的研究及前景展望

刘芳芳

4473 肠促胰素研究的新视野

张露, 高凌, 毕会民

基础研究

4482 慢病毒-HBx表达载体的构建及其在人正常肝细胞系Chang liver的稳定表达

鲁琰, 朱明月, 张雪儿, 李伟, 董栩, 陈彬, 林波, 郭峻莉, 李孟森

4490 AFAP-1L2通过PI3K/Akt通路影响胰腺癌细胞增殖及凋亡

刘博, 戚诚, 刘学臣, 赵晓东

临床研究

4499 分化抑制因子在肝癌化疗疗效检验中的应用

禹梅, 马玉梅, 陈花莲, 刘婕, 方晓蕾

4507 一种检测肝螺旋杆菌套式PCR方法的建立及临床应用

秦和平, 毕丽红, 韦碧柳, 潘信义, 叶安丽, 易平

文献综述

4515 反流性食管炎大鼠模型造模方法简述

程正义, 张娇, 王风云, 唐旭东, 李保双

4522 骨髓间充质干细胞在肝硬化治疗中的研究进展

王磊, 李宗帅, 张海蓉

4529 急性胰腺炎并发门静脉系统血栓形成的研究进展

李爽, 张桂信, 尚东

4536 正加速度暴露对大鼠肠道屏障影响的研究进展

邱杰, 唐合兰, 颜伟, 葛淑静, 杨春敏

研究快报

- 4542 小柴胡汤对肝郁脾虚型FD大鼠Ghrelin和胃排空的影响
钟欢, 郁保生, 邹旭峰, 戴维, 刘未艾, 葛君芸, 刘密, 常小荣

临床经验

- 4548 磁共振扩散加权成像应用于食管癌的最佳b值选择及放疗疗效评价
刘辉, 时高峰, 许茜, 李如讯, 贾丽涛, 邵娴
- 4553 IL-12诱导的CIK细胞联合化疗治疗食管癌的疗效及对患者免疫功能的影响
瞿伟丰, 张卫民, 丁小云
- 4558 急诊内镜在急性非静脉曲张性上消化道出血治疗的应用
杜绍山, 孙树申, 宋燕峰, 郝术安
- 4563 残胃癌再次手术根治性的相关因素
陈长义, 余培东
- 4568 中药直肠滴入联合西药对婴儿肝炎综合征患儿血生化指标的影响
李宁, 张博
- 4574 LTCBDE手术治疗继发性肝外胆管结石的临床效果
程利民, 刘洋, 孙志德, 刘淑敏, 张学军
- 4579 一种中药五类新药对肠易激综合症的疗效
陈国雁, 刘琦
- 4585 内镜下治疗结肠息肉的安全性及有效性
雍和礼, 张丽
- 4589 不同疗程伴同疗法与含铋剂四联疗法根除幽门螺杆菌的疗效
杨雷, 郝玮玮, 李娅, 徐峰
- 4595 肥胖性2型糖尿病患者的微创袖状胃切除手术效果
秦凤

病例报告

- 4602 食管颗粒细胞瘤ESD切除1例并国内文献回顾
王龙, 曹杰, 代海萍, 辛毅
- 4606 非直接侵犯性胃转移癌的多层螺旋CT特征: 5例病例报告并文献复习
杨丽, 时高峰, 周涛, 王光大, 李扬

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 - II 志谢世界华人消化杂志编委

消 息

- 4472 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
4489 《世界华人消化杂志》外文字符标准
4514 《世界华人消化杂志》参考文献要求
4528 《世界华人消化杂志》栏目设置
4535 《世界华人消化杂志》修回稿须知
4562 《世界华人消化杂志》消化护理学领域征稿启事
4573 《世界华人消化杂志》正文要求
4594 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

封面故事

《世界华人消化杂志》主编, 张宗明, 教授, 主任医师, 博士生导师, 100073, 北京市丰台区太平桥西里甲1号, 首都医科大学北京电力医院普外科. 从事普通外科工作30年, 对普外科各种疾病的诊断和治疗具有丰富经验, 专长于肝胆胰脾外科. 在美国科学院院报(PNAS)、中华医学杂志英文版(CMJ)、世界华人消化杂志等期刊发表学术论文130多篇. 参编全国高等医学院校五、七、八年制《外科学》教材、《黄家驷外科学》等专著14部. 主持完成国家自然科学基金、教育部《跨世纪优秀人才培养计划》、首都医学发展科研基金等10多项科研基金. 兼任教育部科学技术委员会生物与医学学部、中华医学会外科学分会胆道外科学组、北京医学会外科学分会、广东医学会肝胆胰外科学分会等18个学术组织的委员,《中华消化外科杂志》等12种期刊编委.

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 于明茜; 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 2015-10-08

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, 福建医科大学附属协和医院消化内科

姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑部

郭鹏, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

手机: 13901166126

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc

8226 Regency Drive, Pleasanton,

CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

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

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

特别声明

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

定价

每期90.67元 全年36期3264.00元

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有

Contents

Volume 23 Number 28 October 8, 2015

EDITORIAL

- 4457 Application of CT virtual endoscopy in diagnosis of colorectal diseases

Zhang ZM, Wen ZY, Kang F

- 4464 Colorectal cancer immunotherapy: Current clinical studies and prospect of clinical application

Liu FF

- 4473 New perspectives of incretin research

Zhang L, Gao L, Bi HM

BASIC RESEARCH

- 4482 Construction of a lentiviral expression vector of HBx and its stable expression in human Chang liver cell line

Lu Y, Zhu MY, Zhang XE, Li W, Dong X, Chen Y, Lin B, Guo JL, Li MS

- 4490 AFAP-1L2 influences proliferation and apoptosis of pancreatic cancer cells via PI3K/Akt pathway

Liu B, Qi C, Liu XC, Zhao XD

CLINICAL RESEARCH

- 4499 Application of inhibitors of differentiation 2 and 3 for evaluation of chemotherapy efficacy in liver cancer

Yu M, Ma YM, Chen HL, Liu J, Fang XL

- 4507 Development and clinical application of a nested-PCR assay for
- Helicobacter hepaticus*
- detection

Qin HP, Bi LH, Wei BL, Pan XY, Ye AL, Yi P

REVIEW

- 4515 Rat models of reflux esophagitis

Cheng ZY, Zhang J, Wang FY, Tang XD, Li BS

- 4522 Bone marrow mesenchymal stem cells for treatment of liver cirrhosis

Wang L, Li ZS, Zhang HR

- 4529 Portal venous system thrombosis complicating acute pancreatitis

Li S, Zhang GX, Shang D

- 4536 Effect of positive acceleration exposure on gut barrier in rats

Qiu J, Tang HL, Yan W, Ge SJ, Yang CM

RAPID COMMUNICATION

- 4542 Effect of Xiaochaihu decoction on expression of Ghrelin and gastrointestinal motility in functional dyspepsia rats with syndrome of liver stagnation and spleen deficiency

Zhong H, Yu BS, Zou XF, Dai W, Liu WA, Ge JY, Liu M, Chang XR

CLINICAL PRACTICE

- 4548 Optimization of b-value in diffusion-weighted imaging for evaluation of radiotherapy efficacy in esophageal cancer
Liu H, Shi GF, Xu Q, Li RX, Jia LT, Shao X
- 4553 IL-12 induced CIK cells combined with chemotherapy improve immune function and efficacy in patients with esophageal carcinoma
Qu WF, Zhang WM, Ding XY
- 4558 Efficacy of emergency endoscopy in treatment of acute non-variceal upper gastrointestinal bleeding
Du SS, Sun SS, Song YF, Hao SA
- 4563 Risk factors for radical reoperation in patients with remnant gastric cancer
Chen CY, Yu PD
- 4568 Effect of Chinese medicine rectal instillation therapy combined with Western medicine on blood biochemical parameters in patients with cholestatic infant hepatitis syndrome
Li N, Zhang B
- 4574 Clinical effects of laparoscopic common bile duct exploration vs laparoscopic common bile duct exploration plus T-tube drainage in treatment of secondary extrahepatic bile duct stones
Cheng LM, Liu Y, Sun ZD, Liu SM, Zhang XJ
- 4579 Clinical effects of Dingguiyou capsule in irritable bowel syndrome
Chen GY, Liu Q
- 4585 Safety and effectiveness of endoscopic therapy in patients with colonic polyps
Yong HL, Zhang L
- 4589 Efficacy of different courses of concomitant therapy and bismuth containing quadruple therapy for eradication of *Helicobacter pylori*
Yang L, Hao WW, Li Y, Xu F
- 4595 Clinical effects of laparoscopic sleeve gastrectomy in obese patients with type 2 diabetes mellitus
Qin F

CASE REPORT

- 4602 Endoscopic submucosal dissection excision for esophageal granular cell tumor: A case report and literature review
Wang L, Cao J, Dai HP, Xin Y
- 4606 Gastric metastases not resulting from direct invasion: Report of 5 cases and review of the literature
Yang L, Shi GF, Zhou T, Wang GD, Li Y

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 23 Number 28 October 8, 2015

APPENDIX

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

ACKNOWLEDGMENT

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

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Zong-Ming Zhang, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, Beijing Electric Power Hospital, Capital Medical University, Jia 1, Taipingqiaoxili, Fengtai District, Beijing 100073, China

Indexed/Abstracted by

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

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Xiang Li* Review Editor: *Jin-Li Yan, Zhen-Zhen Du* Electronic Editor: *Jin-Li Yan*
English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Ming-Xi Yu* 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 October 8, 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.

结直肠CT仿真内窥镜的应用现状

张宗明, 温智勇, 康 枫

张宗明, 首都医科大学北京电力医院普外科 北京市 100073
温智勇, 康枫, 首都医科大学北京电力医院放射科 北京市 100073

张宗明, 教授, 主任医师, 博士生导师, 主要从事肝胆胰外科疾病的临床和基础研究。

国家电网公司科技基金资助项目, No.

SGHB0000AJJS1400182

作者贡献分布: 本文由张宗明、温智勇及康枫撰写; 选题、设计和审校由张宗明完成。

通讯作者: 张宗明, 教授, 主任医师, 博士生导师, 100073, 北京市丰台区太平桥西里甲1号, 首都医科大学北京电力医院普外科. zhangzongming@mail.tsinghua.edu.cn

电话: 010-63503046

收稿日期: 2015-04-28 修回日期: 2015-05-19

接受日期: 2015-06-01 在线出版日期: 2015-10-08

Application of CT virtual endoscopy in diagnosis of colorectal diseases

Zong-Ming Zhang, Zhi-Yong Wen, Feng Kang

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

Zhi-Yong Wen, Feng Kang, Department of Radiology, Beijing Electric Power Hospital, Capital Medical University, Beijing 100073, China

Supported by: The Science and Technology Project of State Grid Corporation of China, No. SGHB0000AJJS1400182

Correspondence to: Zong-Ming Zhang, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, Beijing Electric Power Hospital, Capital Medical University, Jia 1, Taipingqiaoxili, Fengtai District, Beijing 100073, China. zhangzongming@mail.tsinghua.edu.cn

Received: 2015-04-28 Revised: 2015-05-19

Accepted: 2015-06-01 Published online: 2015-10-08

Abstract

Colorectal diseases are a group of common diseases. In recent years, extensive attention has been paid to the application of computed

tomography virtual endoscopy (CTVE) in the diagnosis of colorectal diseases. Through the literature search, combined with the author's experience, we explore the technical principle, bowel preparation and inspection method of CTVE, making a summary of the value of CTVE in the diagnosis of colorectal diseases. CTVE can fully observe morphological characteristics of colorectal cancer, polyps, and inflammatory disease. CTVE can not only determine the lesion location, shape, and size, but also confirm the extent of invasion into the colorectal wall, surrounding tissue and distant metastasis. However, the main limitation is that the detected lesion cannot be biopsied or treated during CTVE. Therefore, CTVE is a new, rapid, convenient, safe, non-invasive, and effective method for colorectal examination, which can be used for screening of colorectal diseases.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colorectal diseases; CT virtual endoscopy; Conventional colonoscopy

Zhang ZM, Wen ZY, Kang F. Application of CT virtual endoscopy in diagnosis of colorectal diseases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(28): 4457-4463 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4457.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i28.4457>

摘要

结直肠疾病是一种常见疾病, CT仿真内窥镜(computed tomography virtual endoscopy, CTVE)在结直肠疾病诊断中的应用近年受到广泛重视。本文通过文献检索, 结合作者

■背景资料

传统的纤维结肠镜作为目前诊断结直肠疾病的主要侵入性检查方法, 因无法观察结直肠腔外结构、不能了解远处转移情况、有一定的痛苦和结肠穿孔风险而受限。CT仿真内窥镜(computed tomography virtual endoscopy, CTVE)不仅可以模拟纤维结肠镜的检查方式, 而且可以观察结直肠病变的大小、浸润范围、周边组织关系及远处转移情况, 因此作为诊断结直肠疾病的一种非侵入性影像学检查新技术、新方法, 近年受到广泛重视。

■同行评议者

李革, 副教授, 延边大学附属医院

■ 研发前沿

CTVE在结直肠疾病诊断中的应用近年受到广泛重视,通过文献检索,结合作者的应用经验和体会,探讨CTVE的技术原理、检查方法,总结CTVE对结直肠疾病的诊断价值。

的应用经验和体会,探讨CTVE的技术原理、肠道准备和检查方法,总结CTVE对结直肠疾病的诊断价值,结果发现CTVE可以全面观察结直肠肿瘤、息肉、炎症等病变的形态特征,不仅可以显示结直肠病变的部位、形态、大小,而且可以明确结直肠癌的肠壁受侵范围、周边组织关系及远处转移情况,但也存在着发现病变后不能活检或治疗的局限性。因此,CTVE被认为是一种快速、方便、安全、无创、有效的结直肠检查新方法,可作为结、直肠疾病的筛查手段和普查方法加以推广应用。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 结直肠疾病; CT仿真内窥镜; 纤维结肠镜

核心提示: CT仿真内窥镜(computed tomography virtual endoscopy)作为诊断结直肠疾病的一种非侵入性影像学检查新技术、新方法,不仅可以显示结直肠病变的部位、形态、大小,而且可以明确结直肠癌的肠壁受侵范围、周边组织关系及远处转移情况,可作为结、直肠疾病的筛查手段和普查方法加以推广应用。

张宗明, 温智勇, 康枫. 结直肠CT仿真内窥镜的应用现状. 世界华人消化杂志. 2015; 23(28): 4457-4463 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4457.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i28.4457>

0 引言

结直肠癌是一种常见恶性肿瘤,是男性第三、女性第二高发的癌症,新近报道2012年全球估计有超过140万新发和69.39万死亡的结直肠癌病例^[1]。传统的纤维结肠镜作为目前诊断结直肠疾病的主要检查方法,不仅是一种侵入性检查方法,而且无法观察结直肠腔外结构、不能了解远处转移情况,并且有一定的痛苦、漏诊、甚至结肠穿孔风险^[2-5]。CT仿真内窥镜(computed tomography virtual endoscopy, CTVE),自1994年由美国放射学专家Vining等^[6]首次报道以来,作为诊断结直肠疾病的一种非侵入性影像学检查新技术、新方法,迅速受到广泛重视。近年来,国内外有关报道^[7-16]逐渐增多。本文对CTVE在结直肠疾病诊断中的应用现状做一述评,以期进一步提高其诊断效果。

1 CTVE技术

1.1 技术原理 CTVE是将先进的计算机虚拟现

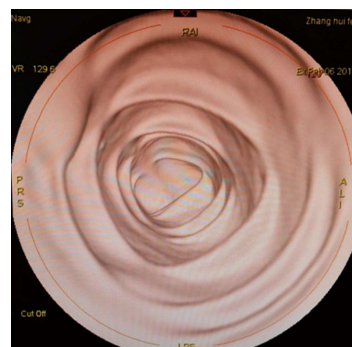


图1 CT仿真内窥镜显示结肠腔内表面. CT: 计算机断层扫描。

实技术与CT影像学结合而产生的一种无创检查新技术,是通过CT对患者腹盆腔进行连续扫描后,利用计算机软件对扫描图像进行下述4种图像后处理^[17-20],从而非常逼真地重建出类似传统纤维结肠镜所见的结直肠腔内结构及病变图像。该技术不仅可以模拟纤维结肠镜的检查方式,而且可以观察结直肠病变的大小、浸润范围、周边组织关系及远处转移情况。

1.1.1 CT仿真结肠镜(computed tomography virtual colonoscopy, CTVC): 应用Navigator软件,调整Navigator观察光标至所需检查的肠管,并旋转方向光标获得所需观察方向,沿管腔轴向观察以发现病变。从直肠至盲肠、从盲肠到直肠对可疑病变进行双向观察,可获得类似纤维结肠镜观察的三维图像(图1),显示病变的近侧面、远侧面、正面和斜面,有利于病变的综合分析。

1.1.2 多平面重建(multiplanar reformation, MPR): 应用Navigator软件,以病变肠段为中心,逐层进行冠状、矢状及任意角度的二维图像重建,可显示病变段肠腔内、外及肠壁的结构(图2),有助于CTVE病变的精确定位。MPR图像不仅可以清楚显示病变肠段的肠壁浸润增厚程度以及附壁小粪块、黏液囊肿等病变的密度差,有利于病变与非病变的鉴别,而且可以清楚显示病变肠段的肠壁周围侵犯范围和程度。

1.1.3 表面遮盖显示(shaded surface display, SSD): 应用Surface软件对结直肠分布的全部区域行SSD图像重建,获得病变肠段的图像,再行局部放大和多角度旋转,可以充分显示病灶。应用SSD图像切割软件将病变对侧肠壁切除,自肠管内观察病变,所见类似纤维结肠镜下表现,可直观反映病变肠段的狭窄情况(图3A)。

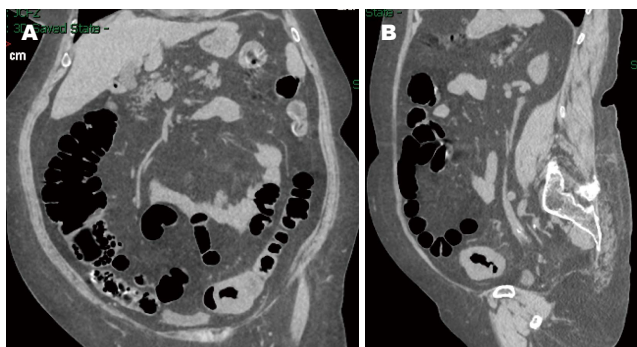


图 2 多平面重建. A: 冠状面重建; B: 矢状面重建.

■ 相关报道

CTVE自1994年由美国放射学专家Vining等首次报道以来, 作为诊断结直肠疾病的一种非侵入性影像学检查新技术、新方法, 近年来国内外有关报道逐渐增多. 本文对CTVE在结直肠疾病诊断中的应用现状做一述评, 以期进一步提高其诊断效果.

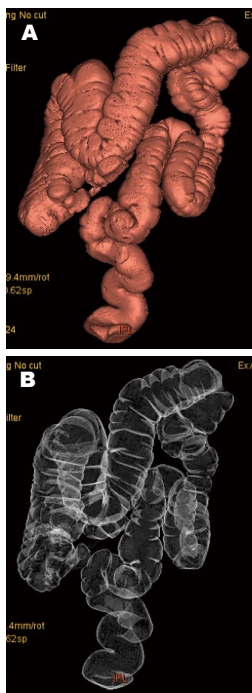


图 3 全结肠图像. A: 表面遮盖重建; B: 透明重建.

1.1.4 透明显示(Ray Sum): 在SSD图像基础上, 应用Ray Sum软件, 进一步获得病变肠段的Ray Sum图像, 使肠腔透明, 以观察病变肠段的腔内和肠壁情况(图3B), 对病变肠段肿瘤隆起或凹陷的轮廓, 以及肿瘤生长范围、病灶两端肠腔形态显示较佳.

1.2 检查方法

1.2.1 肠道准备: CTVE检查前2 d无渣饮食, 检查前1 d流汁饮食, 检查前12 h、4 h分别口服复方聚乙二醇电解质散溶液1000 mL或磷酸钠盐45 mL(加水至800 mL)^[21-24], 检查当天空腹. CTVE检查成功与否与肠道准备密切相关.

1.2.2 肠道低张: 肠蠕动会产生运动伪影, 为了抑制肠蠕动, 降低肠管壁张力, 如无禁忌证, 应使用低张药物. 通常在扫描前10 min肌注东莨菪碱10 mg, 以充分扩张肠管, 减少肠蠕动造成的干扰.

1.2.3 检查体位: 患者仰卧, 经肛门注入适量的气体1000-2000 mL(根据患者的耐受程度而定), 通过CT扫描先获取定位像观察肠腔内充气是否满意, 若充气不满意, 可追加气体. 多选用空气或CO₂, CO₂可减少肠痉挛的发生率, 但二者的图像无明显差别. 现主张采用仰卧位与俯卧位相结合的方法进行检查, 并根据对比剂和病变所在部位的不同, 选择适当的体位进行扫描^[25].

1.2.4 扫描技术: 以目前常用的DISCOVERY HD750 64层螺旋CT为例, 采用管电压140 kV, 管电流800 mA, 层厚0.625 mm, 重建间隔0.625 mm, 高图像质量扫描模式, 螺距0.984, 矩阵512×512, 对腹盆腔进行连续扫描.

2 CTVE应用

2.1 结直肠肿瘤

2.1.1 结直肠肿瘤诊断: CTVE对结直肠肿瘤诊断有较高的敏感性, 良性病变的形态规则、表面光滑, 恶性病变则形态不规则、表面凹凸不平^[10-12,26].

CTVE在显示结直肠病变的部位、形态和范围方面有着独特作用, 不仅可以显示肠腔不规则狭窄、单发或多发结节样隆起及菜花样病变, 还可多视角、整体观察病变, 结合CT扫描后的MPR、SSD和Ray Sum图像, 可了解有无肠壁增厚、淋巴结肿大、肠旁脂肪间隙或盆壁侵犯等外侵征象. 诸多报道^[19,27,28]指出CTVE对结直肠癌的检出率为100%、定位准确率100%; MPR能直观反映癌肿处肠壁及肠周受侵状况, 对癌肿肠周受侵判断正确率达100%; SSD有助于鉴别假阳性; Ray Sum在显示癌肿的长度上占优势, 判断正确率达100%. 因此可根据CTVE显示的结直肠病变的形态(图4)、浸润范围、周围淋巴结肿大、腹腔内脏器转移等恶性肿瘤的间接征象, 作出结直肠

■ 创新盘点

本文通过文献检索, 结合作者的应用经验和体会, 全面总结了CTVE的技术原理、肠道准备、检查方法、诊断价值、主要优点和不足, 有利于指导临床推广应用。

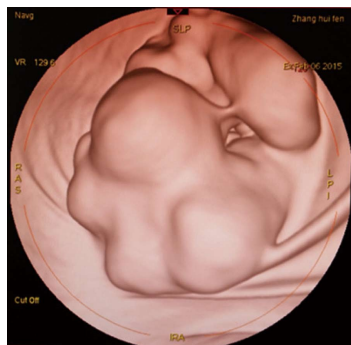


图 4 CT仿真内窥镜显示结肠癌. CT: 计算机断层扫描.

癌的诊断.

CTVE作为结直肠肿瘤诊断的一种新检查手段, 与传统的纤维结肠镜、钡灌肠相比, 其优势在于: (1)适用范围广泛, 尤其适用于高龄体弱、心肺功能不全、脑血管病变后遗症行动不便的患者, 以及急性肠梗阻或其他原因不能耐受传统检查的患者; (2)提供肿瘤的大小、浸润范围、周边组织关系及远处转移情况资料; (3)无创伤. 其不足在于: (1)不能显示病变真实颜色、质地; (2)不能直接接触病变获取病理资料; (3)扁平病变不容易检出.

2.1.2 结直肠癌的TNM分期: CTVE可清晰显示结直肠癌的原发灶、局部淋巴结和远处转移, 因此可对结直肠癌进行比较准确的术前肿瘤-淋巴结-转移(tumor-node-metastasis, TNM)分期, 其判断标准是: (1)T1-2期: 肠壁增厚 >0.5 cm, 癌灶局限于肠壁内层且明显强化, 外缘光整, 外周脂肪可清晰显示, 肠腔没有明显的狭窄; T3期: 肠壁增厚 >0.5 cm, 癌灶侵犯到肠壁外层, 可见肠壁外缘不光滑, 且可见到肠腔狭窄、凹凸不平或呈结节状向外突; T4期: 癌灶侵犯范围为突出到肠壁外层, 可见到肠壁增厚变形明显或肠腔狭窄, 外周脂肪密度增高, 可见到条索状高密度影, 且侵犯到邻近的组织、器官; (2)N0: 可视区域的淋巴结不可见, 或可见到淋巴结肿大但强化不明显; N1: 可视区域淋巴结(直径 ≥ 8 mm), 呈现明显强化; (3)远处转移: M0: 未发现有远处转移; M1: 有远处转移的证据, 如发现有转移到肝、肺或盆腹腔等转移灶. 有报道^[29]多层螺旋CT及其CTVE对结肠癌T、N、M及TNM分期的准确率分别为91.23%、84.21%、98.25%和70.17%. 另有报道^[16]CTVE对结直肠癌的T、N、M分期的准确率分别为96.9%、79.3%、100%.

CTVE作为结直肠癌术前TNM分期的一种新手段, 与传统的纤维结肠镜、钡灌肠相比, 尽管纤维结肠镜、钡灌肠对结直肠癌的诊断很有帮助, 但因其只能观察肠腔情况, 不能判断肿瘤浸润程度, 不能了解肠腔外及其周围情况, 因此不能准确地进行结直肠癌分期; 与传统的CT扫描图像直肠癌分期^[30](I期: 肠腔内息肉样肿块, 肠壁不增厚; II期: 肠壁增厚 >0.5 cm, 肿瘤未浸及周围组织; IIIA期: 肿瘤侵及周围组织, 未扩展至盆腔侧壁; IIIB期: 肿瘤扩展至盆腔侧壁; IV期: 盆腔肿瘤和远处转移)相比, CTVE可提供与国际抗癌联盟(Union for International Cancer Control, UICC)制定的病理学TNM分期基本一致的术前TNM分期^[29], 且术前TNM分期对于判断手术指征、制订手术方案及术后综合治疗措施均具有指导价值.

2.1.3 结直肠肿瘤性梗阻: 传统纤维结肠镜检查被认为是诊断结肠癌的金标准, 但纤维结肠镜无法通过高度狭窄的肠腔, 如果结直肠肿瘤造成肠道梗阻, 纤维结肠镜就无能为力了. CTVE是利用气体成像, 可显示气体能够通过的任何部位, 既不受肠腔梗阻或狭窄的严格限制, 又能观察结直肠肿瘤的近、远端, 同时也能观察全结肠腔内、腔外及其周围病变, 因此对梗阻性结直肠肿瘤的检测和定位也是CTVC的一大优势. 早在2000年就有报道^[31], 对因梗阻性病变无法进行结肠镜检查的病例, CTVC可清晰显示病灶的形态、范围及其远端情况. 新近有报道^[19]指出约10%的结直肠癌为多发癌, 而梗阻性结直肠癌有1.5%-9.0%同时合并第2处结肠癌, 27%-55%同时合并多发息肉, 应用CTVC全面评估整个结肠情况就显得更加重要了.

2.2 结直肠息肉 结直肠息肉是一种常见的结、直肠疾病, 可单发或多发, 息肉的恶变几率与息肉的大小、位置、数量及是否有蒂等因素密切相关. 息肉越大, 数目越多, 恶变的几率就越大. CTVE检查时, 一方面, 结直肠充气扩张, 肠壁充分舒展, 皱襞平坦, 并有气体形成的强烈对比, 使小息肉易于暴露(图5); 另一方面, CTVE能以任意切入点、任意视角观察和显示息肉的形态, 且能同时观察肠壁、肠外结构以及发现肠外病变. 有报道^[32]指出CTVE对 ≥ 10 mm的结直肠息肉的敏感性为100%, 6-9 mm的为83.3%, ≤ 5 mm的为51.3%. 由于结肠息肉直径 >10 mm有潜在恶变的可能(恶变率约10%),

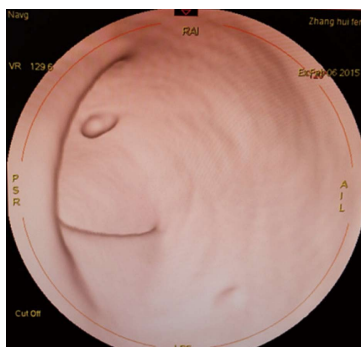


图 5 CT仿真内窥镜显示结肠息肉. CT: 计算机断层扫描.

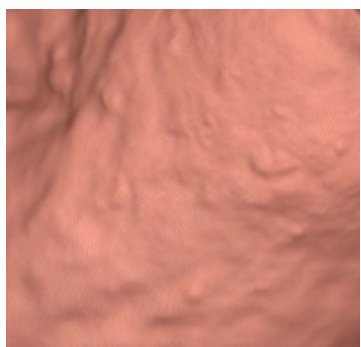


图 6 CT仿真内窥镜显示结肠黏膜不光滑、呈颗粒状. CT: 计算机断层扫描.

而直径<5 mm的结肠息肉恶变率不到0.1%, 所以CTVE为结直肠癌高危人群的普查提供一种有效的新途径^[33-35].

相比之下, 尽管纤维结肠镜可直接观察结肠黏膜或上皮病变, 但由于易受肠黏膜皱襞的遮挡和视角限制, 且不能观察肠壁和肠外结构, 因此其对结直肠的完整观察和肠壁侵犯情况的确定受到限制.

2.3 炎症性肠病 炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一组慢性、反复发作性肠道非特异炎症性疾病, 主要包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD). 临床诊断主要依靠纤维结肠镜检查, 但因部分患者不能耐受、肠腔重度狭窄等原因不能完成检查, 且随着检查次数增多, 出现穿孔等并发症的几率逐渐增加.

CTVE检查时, 结直肠充气扩张, 肠壁充分舒展, 皱襞平坦, 对于观察和判断结直肠黏膜形态、肠壁厚度、肠壁僵硬、结肠袋情况很有帮助. CTVE可通过显示结直肠壁的增厚、强化来诊断结直肠炎症, 有报道^[36]指出结肠壁增厚超过5 mm提示结肠炎性疾病存在. 另有报道^[37]提示肠壁黏膜强化、肠壁强化与IBD

病变活动有一定关系, 肠壁黏膜强化、肠壁不均匀强化提示IBD处于活动期, 而肠壁黏膜无强化、肠壁均匀强化则意味着IBD处于非活动期.

与腹部增强CT相比, CTVE对IBD具有更高的检出率, 结肠壁增厚伴强化是诊断IBD的最敏感征象. 诊断IBD的最特异征象是同时具备结肠黏膜不光滑、呈颗粒状和结肠袋消失. 有报道^[38]指出以肠壁增厚和强化诊断IBD的敏感度高达80.62%; 以结肠黏膜不光滑、呈颗粒状征象(图6)为指标诊断IBD的特异度为94.40%, 以结肠袋消失为指标的特异度为91.74%, 二者结合的特异度为97.20%. 但CTVE不能显示IBD病变的早期表现, 也不能显示黏膜的真实颜色、充血、水肿、微小溃疡及黏膜下血管情况等, 因而对IBD检测存在一定的局限性.

3 CTVE应用前景

3.1 CTVE的优点 CTVE将CT影像和软件技术结合, 不仅可以模拟传统纤维结肠镜检查的方式, 而且可以观察结直肠肿瘤的大小、浸润范围、周边组织关系及远处转移情况, 尤其是当结直肠癌发生梗阻致使纤维结肠镜通过困难或不能通过时, 或患者年老体弱不能耐受纤维结肠镜检查时, CTVE就显得更加至关重要. 除此之外, 由于CTVE检查时结直肠充气扩张, 肠壁充分舒展, 皱襞平坦, 因此可作为非侵入性手段, 用于结直肠息肉、炎症的动态观察和诊断, 并且在敏感性、特异性、安全性和患者可接受性等多方面具有一定的优势^[39-41].

3.2 CTVE的不足 CTVE不能显示结直肠病变的真实颜色, 不能发现充血、水肿等炎症早期改变; 扁平病变不容易检出; 发现结直肠病变后不能进行活检或息肉切除治疗; 结直肠肠腔内的粪块、未完全张开的肠皱襞时, 可产生假阳性结果; 结直肠小息肉被肠液覆盖时, 可产生假阴性结果. 由于CT空间分辨率与密度分辨率的局限性, CTVE尚难以诊断T2期以下的结直肠肿瘤, 目前还不能替代传统纤维结肠镜检查^[42-45].

3.3 CTVE展望 CTVE作为诊断结直肠疾病的一种非侵入性影像学检查新技术、新方法, 自1994年问世以来, 经过二十多年的发展, 尤其是近几年的快速发展, 已经展现出显著的技术优势, 并为广大结直肠疾病患者带来无痛、安

应用要点

CTVE作为传统纤维结肠镜检查的一种有效补充手段和潜在替代技术, 具有十分重要的临床应用价值和广阔的发展前景.

名词解释

CT仿真内窥镜(CTVE): 是将先进的计算机虚拟现实技术与CT影像学结合而产生的一种无创检查新技术, 是通过CT对患者腹盆腔进行连续扫描后, 利用计算机软件对扫描图像进行后处理, 从而非常逼真地重建出类似传统纤维内窥镜所见的结直肠腔内结构及病变图像。

全、易接受的良好社会效益。随着CTVE扫描前准备、扫描技术及诊断水平的进一步提高, CTVE技术的不足有望逐步解决。因此, CTVE作为传统纤维结肠镜检查的一种有效补充手段和潜在替代技术, 具有十分重要的临床应用价值和广阔的发展前景^[46-50]。

4 结论

CTVE不仅可以显示结直肠病变的部位、形态、大小, 而且可以明确结直肠癌的肠壁受侵范围、周边组织关系及远处转移情况, 是一种快速、方便、安全、无创、有效的结直肠检查新方法, 可作为结、直肠疾病的筛查手段和普查方法加以推广应用。

5 参考文献

- 1 Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2015; 65: 87-108 [PMID: 25651787 DOI: 10.3322/caac.21262]
- 2 Barret M, Boustiere C, Canard JM, Arpurt JP, Bernardini D, Bulois P, Chaussade S, Heresbach D, Joly I, Lapuelle J, Laugier R, Lesur G, Pienkowski P, Ponchon T, Pujol B, Richard-Molard B, Robaszekiewicz M, Systchenko R, Abbas F, Schott-Pethelaz AM, Cellier C. Factors associated with adenoma detection rate and diagnosis of polyps and colorectal cancer during colonoscopy in France: results of a prospective, nationwide survey. *PLoS One* 2013; 8: e68947 [PMID: 23874822 DOI: 10.1371/journal.pone.0068947]
- 3 Young PE, Womeldorph CM. Colonoscopy for colorectal cancer screening. *J Cancer* 2013; 4: 217-226 [PMID: 23459594 DOI: 10.7150/jca.5829]
- 4 Winawer SJ, Zauber AG, Ho MN, O'Brien MJ, Gottlieb LS, Sternberg SS, Wayne JD, Schapiro M, Bond JH, Panish JF. Prevention of colorectal cancer by colonoscopic polypectomy. The National Polyp Study Workgroup. *N Engl J Med* 1993; 329: 1977-1981 [PMID: 8247072 DOI: 10.1056/NEJM199312303292701]
- 5 Zauber AG, Winawer SJ, O'Brien MJ, Lansdorp-Vogelaar I, van Ballegooijen M, Hankey BF, Shi W, Bond JH, Schapiro M, Panish JF, Stewart ET, Wayne JD. Colonoscopic polypectomy and long-term prevention of colorectal-cancer deaths. *N Engl J Med* 2012; 366: 687-696 [PMID: 22356322 DOI: 10.1056/NEJMoa1100370]
- 6 Vining DJ, Gelfand DW. Non-invasive colonoscopy using helical CT scanning. 3D reconstruction and virtual reality. Syllabus of the 23rd Annual Meeting Society of gastrointestinal Radiologists, Maui, Hawaii, February 13-18, 1994
- 7 高玲, 张武彪, 唐菁菁, 沈广澍. 螺旋CT仿真内窥镜对梗阻性结肠占位诊断的临床意义. *中国医学前沿杂志(电子版)* 2015; 7: 109-111
- 8 赵亚波, 王波, 刘卫军. 低剂量扫描在CT仿真内窥镜中的应用进展. *实用医技杂志* 2015; 22: 392-394
- 9 He Q, Rao T, Guan YS. Virtual gastrointestinal

- colonoscopy in combination with large bowel endoscopy: clinical application. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 13820-13832 [PMID: 25320519 DOI: 10.3748/wjg.v20.i38.13820]
- 10 郑柏军, 王轶博. 64层螺旋CT仿真内窥镜检查结、直肠病变的临床价值分析. *医学影像学杂志* 2014; 24: 667-670
 - 11 李静秋, 艾松涛. 多层螺旋CT仿真内镜与结肠镜检查技术在发现结肠肿瘤的应用价值对比. *中国CT和MRI杂志* 2014; 12: 86-88
 - 12 骆全湘. 64排螺旋CT低剂量扫描对结肠癌诊断及分期的价值. *中国CT和MRI杂志* 2014; 12: 75-78
 - 13 Kekelidze M, D'Errico L, Pansini M, Tyndall A, Hohmann J. Colorectal cancer: current imaging methods and future perspectives for the diagnosis, staging and therapeutic response evaluation. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 8502-8514 [PMID: 24379567 DOI: 10.3748/wjg.v19.i46.8502]
 - 14 张凤全, 郑新, 韩雪. 螺旋CT仿真结肠内窥镜检查前的准备与操作方法. *中国医学装备* 2013; 10: 78-80
 - 15 刘英峰, 李忠国, 刘长春, 蔡成仕, 赵瑞华. 多层螺旋CT仿真内镜在结肠癌诊断中的临床应用. *中华临床医师杂志(电子版)* 2013; 7: 6129-6130
 - 16 曾令延, 魏文洲. 64层螺旋CT仿真内窥镜在结肠癌的检测和术前分期中的作用. *医学影像学杂志* 2013; 23: 268-271
 - 17 李琼华, 王波, 曾文彦, 赵亚波, 刘卫军. 128层螺旋CT重建技术在结肠肿瘤中的诊断价值. *基层医学论坛* 2014; 18: 1307-1308
 - 18 张淑倩, 叶玉芳, 李东辉, 周汝明, 王连庆, 刘蓉辉, 孙吉林. CT结肠造影二维和三维图像评价结肠病变的优势与不足. *中国组织工程研究与临床康复* 2011; 15: 679-682
 - 19 阮建萍, 田净丽. 多层螺旋CT仿真内镜在结肠病变中的应用. *中国伤残医学* 2011; 19: 94-96
 - 20 郭青, 徐香玖, 黄刚. 多层螺旋CT后处理技术在结肠癌诊断中的应用研究. *甘肃医药* 2009; 28: 251-253
 - 21 黄榕, 彭阳, 周桂芳, 肖敏. 复方聚乙二醇电解质散在内镜检查肠道准备中的应用价值. *现代消化及介入诊疗* 2013; 18: 47-49
 - 22 许欣欣, 赵清平, 徐巧莲. 磷酸钠盐用于老年患者结肠镜检查前肠道准备的研究. *临床合理用药* 2013; 6: 23-24
 - 23 苏茜, 尚炳英, 赵彦铭, 王山山. 不同肠道清洁方法在炫速双源CT仿真结肠内窥镜患者中的应用. *齐鲁护理杂志* 2013; 19: 100-101
 - 24 刘威英, 冯春琴, 沈维红, 陈晶. 3种不同肠道准备方法在64层螺旋CT仿真结肠镜中的应用与护理. *安徽医学* 2011; 32: 1185-1187
 - 25 袁会军, 赵娅莉, 余建国, 闫立民. 不同体位下的(CTVE)检查对结、直肠疾病诊断结果影响的研究分析. *现代医用影像学* 2011; 20: 340-343
 - 26 方明, 冯磊, 王学淳. 16层螺旋CT仿真结肠镜的临床应用价值探讨. *医学影像学杂志* 2009; 19: 435-437
 - 27 庄晓泉, 林惠岚, 李玉民. 大肠癌术前CT仿真结肠镜检查的意义. *中国普通外科杂志* 2011; 20: 1047-1049
 - 28 胡达海, 孙君翔, 张园. 多层螺旋CT多模式图像重建对结肠、直肠癌的诊断价值. *中国医药指南* 2014; 12: 116-117
 - 29 王金屏. 螺旋CT在结肠癌术前诊断和分期中的价值分析. *中国医药导报* 2012; 9: 117-119
 - 30 王克有, 李杰, 蒋宏传, 游凯涛. CT仿真结肠镜在大肠癌诊断中的应用29例报告. *中华普通外科杂志* 1999; 14: 305-306
 - 31 Miao YM, Amin Z, Healy J, Burn P, Murugan N, Westaby D, Allen-Mersh TG. A prospective

- single centre study comparing computed tomography pneumocolon against colonoscopy in the detection of colorectal neoplasms. *Gut* 2000; 47: 832-837 [PMID: 11076883 DOI: 10.1136/gut.47.6.832]
- 32 Oto A. Virtual endoscopy. *Eur J Radiol* 2002; 42: 231-239 [PMID: 12044701 DOI: 10.1016/S0720-048X(02)00032-3]
- 33 Iannaccone R, Laghi A, Catalano C, Brink JA, Mangiapane F, Trenna S, Piacentini F, Passariello R. Detection of colorectal lesions: lower-dose multi-detector row helical CT colonography compared with conventional colonoscopy. *Radiology* 2003; 229: 775-781 [PMID: 14657315 DOI: 10.1148/radiol.2293021399]
- 34 张立卫, 王刚. CT仿真内镜技术在胃肠道疾病诊断中的应用进展. *中国微创外科杂志* 2008; 8: 1090-1092
- 35 宋超, 王世平, 赵敏, 刘再强, 张明标, 杨芳. 多层螺旋CT对结、直肠息肉检查的临床应用. *昆明医学院学报* 2012; 33: 70-73
- 36 Röttgen R, Schröder RJ, Lorenz M, Herbel A, Fischbach F, Herzog H, Lopez-Häninnen E, Gutberlet M, Hoffmann K, Helmig K, Felix R. [CT-colonography with the 16-slice CT for the diagnostic evaluation of colorectal neoplasms and inflammatory colon diseases]. *Rofo* 2003; 175: 1384-1391 [PMID: 14556108]
- 37 Choi D, Jin Lee S, Ah Cho Y, Lim HK, Hoon Kim S, Jae Lee W, Hoon Lim J, Park H, Rae Lee Y. Bowel wall thickening in patients with Crohn's disease: CT patterns and correlation with inflammatory activity. *Clin Radiol* 2003; 58: 68-74 [PMID: 12565208 DOI: 10.1053/crad.2002.1068]
- 38 朱雪娥, 王继琛, 汪洋. CT仿真结肠镜与腹部增强CT对炎症性肠病的对照研究. *中国医学影像技术* 2011; 27: 1850-1854
- 39 刘林祥, 刘玉金, 陈克敏. CT、MR仿真结肠镜研究进展. *泰山医学院学报* 2005; 26: 71-74
- 40 Pickhardt PJ, Kim DH, Meiners RJ, Wyatt KS, Hanson ME, Barlow DS, Cullen PA, Remtulla RA, Cash BD. Colorectal and extracolonic cancers detected at screening CT colonography in 10,286 asymptomatic adults. *Radiology* 2010; 255: 83-88 [PMID: 20308446 DOI: 10.1148/radiol.09090939]
- 41 Sabanli M, Balasingam A, Bailey W, Eglinton T, Hider P, Frizelle FA. Computed tomographic colonography in the diagnosis of colorectal cancer. *Br J Surg* 2010; 97: 1291-1294 [PMID: 20602504 DOI: 10.1002/bjs.7098]
- 42 唐文, 钱铭辉. CT仿真结肠镜的图像特点、存在的问题和解决方法. *国外医学临床放射学分册* 2002; 25: 319-320
- 43 包佳琪, 赵磊, 白智刚. CT结肠造影评价结直肠癌: 技术特征的描述与比较. *世界华人消化杂志* 2014; 22: 4878-4883
- 44 Thoufeeq M. Virtual colonoscopy is unlikely to reduce the need for optical colonoscopy. *J Gastrointest Liver Dis* 2013; 22: 109 [PMID: 23539401]
- 45 Benson M, Pier J, Kraft S, Kim D, Pickhardt P, Weiss J, Gopal D, Reichelderfer M, Pfau P. Optical colonoscopy and virtual colonoscopy numbers after initiation of a CT colonography program: long term data. *J Gastrointest Liver Dis* 2012; 21: 391-395 [PMID: 23256122]
- 46 Martín-López JE, Beltrán-Calvo C, Rodríguez-López R, Molina-López T. Comparison of the accuracy of CT colonography and colonoscopy in the diagnosis of colorectal cancer. *Colorectal Dis* 2014; 16: O82-O89 [PMID: 24299052 DOI: 10.1111/codi.12506]
- 47 Plumb AA, Halligan S, Pendsé DA, Taylor SA, Mallett S. Sensitivity and specificity of CT colonography for the detection of colonic neoplasia after positive faecal occult blood testing: systematic review and meta-analysis. *Eur Radiol* 2014; 24: 1049-1058 [PMID: 24519111 DOI: 10.1007/s00330-014-3106-0]
- 48 Pickhardt PJ, Hassan C, Halligan S, Marmo R. Colorectal cancer: CT colonography and colonoscopy for detection--systematic review and meta-analysis. *Radiology* 2011; 259: 393-405 [PMID: 21415247 DOI: 10.1148/radiol.11101887]
- 49 Laghi A. Computed tomography colonography in 2014: an update on technique and indications. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 16858-16867 [PMID: 25492999 DOI: 10.3748/wjg.v20.i45.16858]
- 50 Kierszenbaum ML, von Atzingen AC, Tiferes DA, Alvim MV, Lopes Filho Gde J, Matos D, D'Ippolito G. CT colonography: the value of this method in the view of specialists. *Radiol Bras* 2014; 47: 135-140 [PMID: 25741069 DOI: 10.1590/0100-3984.2013.1837]

同行评价

本文选题具有很好的现实意义, 有一定的科学性和先进性, 对临床有重要指导意义, 是一篇具有可读性的好文章。

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



结直肠癌免疫治疗的研究及前景展望

刘芳芳

■背景资料

结直肠癌是最常见的消化系统恶性肿瘤之一。患者术后5年总体存活率不高。常规手术切除加术后放、化疗很难达到彻底清除残留肿瘤细胞的目的。近年,肿瘤免疫治疗已成为继手术、放疗和化疗之后的第四大肿瘤治疗方式。本文主要介绍了免疫治疗在结直肠癌中的研究和应用。

刘芳芳, 北京大学人民医院病理科 北京市 100044
刘芳芳, 副主任医师, 主要从事消化系统炎症性与肿瘤性疾病的基础及临床研究。
北京市自然科学基金资助项目, No. 7122195
作者贡献分布: 本文由刘芳芳独立完成。
通讯作者: 刘芳芳, 副主任医师, 100044, 北京市西城区西直门南大街11号, 北京大学人民医院病理科。
liufangfang@pkuph.edu.cn
电话: 010-88325547
收稿日期: 2015-05-12 修回日期: 2015-06-12
接受日期: 2015-06-19 在线出版日期: 2015-10-08

Colorectal cancer immunotherapy: Current clinical studies and prospect of clinical application

Fang-Fang Liu

Fang-Fang Liu, Department of Pathology, People's Hospital of Peking University, Beijing 100044, China
Supported by: Natural Science Foundation of Beijing, No. 7122195
Correspondence to: Fang-Fang Liu, Associate Chief Physician, Department of Pathology, People's Hospital of Peking University, 11 Xizhimen South Street, Xicheng District, Beijing 100044, China. liufangfang@pkuph.edu.cn
Received: 2015-05-12 Revised: 2015-06-12
Accepted: 2015-06-19 Published online: 2015-10-08

Abstract

Colorectal cancer is a type of malignant gastrointestinal cancer with a high incidence rate. Current treatments, mostly surgery and chemotherapy, have not improved the 5-year survival rate of the patients significantly. About one-third of patients died of metastatic colorectal cancer eventually. Cancer immunotherapy has received more and more attention in recent years and become a hot research topic. Immunotherapy includes a

variety of methods with an aim at improving the patient's own immune system and anti-tumor ability to control and kill tumor cells by the use of modern bio-technology. It has become the fourth form of cancer treatment after surgery, radiotherapy and chemotherapy. This paper expounds the types of tumor immunotherapy, their applications in colorectal cancer, and the advantages and disadvantages of different methods of immunotherapy. In particular, we discuss the relationship between inflammation microenvironment and immunotherapy, and the relationship between chemotherapy, radiation and immunotherapy in colorectal cancer. Immunotherapy may become an important component of individualized treatment for colorectal cancer in the near future.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Immunotherapy; Colorectal cancer; Inflammation; Chemoradiotherapy; Progress

Liu FF. Colorectal cancer immunotherapy: Current clinical studies and prospect of clinical application. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(28): 4464-4472
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4464.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i28.4464>

摘要

结直肠癌是发病率高的消化系统恶性肿瘤。手术加放化疗, 一直以来未能显著提高患者术后5年生存率, 约1/3的患者最终死于结直肠癌远处转移。肿瘤免疫治疗近年来越来越受到广泛关注, 已成为研究热点。免疫治疗运用现代生物高科技技术, 主要通过提高患者自身机体免疫系统的抗肿瘤能力来控制

■同行评议者

王良静, 副主任医师, 研究员, 浙江大学医学院附属第二医院消化内科

杀伤肿瘤细胞,成为继手术、放疗和化疗之后的第4种肿瘤治疗模式.本文系统阐述了肿瘤免疫治疗的类型及不同类型在结直肠癌中的应用进展情况,指出不同免疫治疗方法的优势和缺点,特别讨论了结直肠癌炎症微环境、放疗和化疗与免疫治疗的关系.免疫治疗在不久的将来有可能成为结直肠癌个体化治疗的重要方式.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 免疫治疗; 结直肠癌; 炎症; 放化疗; 进展

核心提示: 本文系统阐述了肿瘤免疫治疗的类型及不同类型在结直肠癌中的研究、应用进展情况,指出不同免疫治疗方法的优势和缺点以及免疫治疗效果相关的问题.免疫治疗在不久的将来有可能成为结直肠癌个体化治疗的重要方式.

刘芳芳. 结直肠癌免疫治疗的研究及前景展望. 世界华人消化杂志 2015; 23(28): 4464-4472 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4464.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i28.4464>

0 引言

结直肠癌是临床上最常见的消化系统恶性肿瘤之一.近20-30年来,结直肠癌的发病率和死亡率是在世界多数国家和地区上升最快的肿瘤之一,已成为全球第3位最常见的癌症,患者术后5年总体存活率不高:北美61%、日本57%及中国32%^[1].手术切除虽然是结直肠癌最主要的治疗手段,但约有30%的患者术后2-3年后因发生远处转移而死亡,显然,常规手术切除方法难以治愈结直肠癌,术后放、化疗也很难达到彻底清除残留肿瘤细胞的目的,据报道^[2,3],化疗对于结直肠癌远处转移疗效甚微或无疗效.另外,反复的手术+放、化疗不仅严重影响患者的生活质量,也易引起肿瘤耐药.

免疫治疗是近年来临床研究关注的热点,特别是在美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)2010年通过Provenge自体细胞免疫疗法治疗转移性去势难治性前列腺癌以后,这是首个获批准的治疗性肿瘤疫苗.2011-03-26 FDA再次批准ipilimumab上市,用于治疗晚期的黑色素瘤^[4,5].美国《科学》(Science)杂志将肿瘤免疫疗法作为2013年值得关注的六大科学领域之一.免疫治疗是以增

强肿瘤细胞免疫原性及机体对肿瘤抗原的识别和递呈能力,从而提高机体抗肿瘤免疫能力的疗法.该治疗方法帮助清除患者体内残存的肿瘤细胞,可作为预防肿瘤复发与转移的策略,也可在术前用于减瘤,或在每一疗程化疗的间歇期实施,帮助消除化疗耐药肿瘤细胞,提高生存期,改善患者的生存质量和预后,为结直肠癌的临床治疗开辟了新的有效途径.肿瘤的免疫治疗根据是否主动促进机体抗肿瘤免疫应答分为两种机制:主动免疫治疗和被动免疫治疗.

1 被动免疫治疗

被动免疫治疗不是刺激患者自身免疫系统主动对疾病发生反应,而是指通过给机体输注外源的免疫效应物质,如外源性抗体、致敏淋巴细胞或其产物来获得特异性的免疫能力,发挥治疗肿瘤的作用.其优点是效应快,一经输入,可立即获得免疫力;缺点是维持时间短.被动免疫治疗主要包括输注抗体、杀伤性细胞和细胞因子等.

1.1 抗体的导向治疗 主要是利用高度特异性的抗体作为载体,将具有细胞毒作用的杀伤因子集中运到肿瘤病灶,杀伤肿瘤细胞.常用杀伤因子有:放射性核素(¹³¹I)、抗肿瘤药物(氨甲蝶呤、阿霉素)、毒素(蓖麻毒素、白喉毒素、绿脓杆菌外毒素等).其中放射性核素标记方便,易显像和定位定量检测,应用较多.

目前制备的单抗多是针对肿瘤相关抗原的,而不同个体或同一个体不同组织来源的某些类型肿瘤相关抗原存在质和量的差异.此外,由于多为鼠源单抗,应用于人体后会产生抗鼠源单抗的抗体,不仅影响其疗效发挥也可能发生超敏反应.基因工程抗体特异性较高、且穿透力强,在未来有可能发挥更大的作用.在结直肠癌中未见有效应用报道.

1.2 过继性细胞免疫治疗 肿瘤过继免疫疗法(adoptive cell transfer therapy, ACT)是将自身或异体的抗肿瘤效应细胞的前体细胞,在体外采用白介素-2(interleukin-2, IL-2)、抗CD3单抗,特异性多肽等激活剂进行诱导、活化和扩增,恢复患者自身T细胞溶解细胞的抗肿瘤活力,然后转输给肿瘤患者,使其在患者体内发挥抗肿瘤作用.这种策略是充分利用T细胞高度特异性靶向性的优点.常见的免疫效应细胞有:细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic lymphocyte,

■ 研究前沿

免疫治疗是近年来临床研究关注的热点.美国《科学》(Science)杂志将肿瘤免疫疗法作为2013年值得关注的六大科学领域之一.2010年后,我国一些单位已开始将免疫治疗应用于临床,但免疫疗法的方式较多,在应用过程中仍有一些亟待研究和解决的问题.

■ 相关报道

美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)2010年通过Provenge自体细胞免疫疗法治疗转移性去势难治性前列腺癌,这是首个获批准的治疗性肿瘤疫苗。2011-03-26 FDA再次批准ipilimumab上市,用于治疗晚期的黑色素瘤。免疫治疗已进入了一个崭新的时代。免疫治疗必将在结直肠癌综合治疗中发挥越来越大的作用,也必将带来生命科学领域的巨大飞跃,对提高患者生存质量具有实际意义。

CTL)、自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)、巨噬细胞、淋巴因子激活的杀伤细胞(lymphokine activated killer cells, LAK)和肿瘤浸润性淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte, TIL)等。LAK细胞不需抗原致敏且无主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)限制性。ACT疗法的淋巴细胞主要来源于自体肿瘤细胞,即TIL。TIL是从实体肿瘤组织中分离得到的,经体外IL-2培养后可获得比LAK细胞具有更强杀伤活性的细胞。CTL是TIL细胞的主要成分^[6]。这些细胞早在十年前就被认识到是肿瘤特异性细胞,但一直被肿瘤微环境所抑制^[7,8]。ACT疗法通过选择高反应性T细胞群并激活他们,克服了抑制T细胞活性的自身耐受机制^[9]。这种方法在转移性黑色素瘤中已经显示出早期的显著的成功^[8,10]。细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine-induced killer, CIK)是一种CD3⁺CD56⁺的淋巴细胞。对癌细胞具有一定的杀伤作用。近年来国内将CIK细胞治疗视作肿瘤过继细胞免疫治疗的首选方案,被中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会列为第三类医疗技术。国外早在1999年曾有临床实验显示CIK对于结直肠癌的治疗是一种安全、有前途的治疗方式^[11]。实际上除了中国外,国际上大多数国家都还没正式开展在结直肠癌临床上使用CIK进行治疗。其效果还有待大宗数据进一步证实。但是,ACT疗法也有一些缺点,包括高成本,潜在免疫记忆的缺乏。这是因为转输过程仅活化了效应细胞,活化的效应细胞只能在患者体内短暂存活。1-4 mo后常需要再扩增细胞。此外,从几个早期试验数据显示,ACT疗法也存在严重的不良事件的潜在风险。结直肠癌中的TILs数量少,最近的多数试验都集中在使用设计的T细胞。Parkhurst等^[12]在结肠癌进行了I期临床试验,采用改良的人类T细胞表达一种高亲和力癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)-特异性鼠TCR, 3例转移性结肠癌患者采用这些设计的T细胞进行治疗后血清CEA水平降低,观察到其中一个患者客观的临床反应。然而,所有的患者都发生了严重的短暂的结肠炎。因此,ACT疗法尚未能证明在结直肠癌患者治疗上的安全性和有效性,今后的研究需将有选择性地消灭癌细胞,保留正常组织不受影响。

1.3 细胞因子疗法 细胞因子是由免疫细胞及

其相关细胞产生的一类调节细胞功能的高活性、多功能的小分子蛋白质的总称,其抗肿瘤作用表现为直接干扰肿瘤细胞生长,通过激活机体免疫系统杀伤肿瘤细胞,抑制肿瘤细胞转移。对胃肠道恶性肿瘤确有抑制或杀伤作用的细胞因子包括IL(IL-2、IL-4、IL-12等)、干扰素(interferon, IFN)(IFN- γ 、IFN- α 等)及粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)等。在胃肠道肿瘤的治疗中各种细胞因子与化疗联合,甚至与基因工程结合都已得到研究和应用。

1.4 基因疗法 多数情况下,基因治疗是通过病毒或非病毒介导的方法输送基因,包括引入外源性DNA导入宿主细胞。其原理是克隆某些可用于肿瘤治疗的目的基因,将目的基因在体外转染受体细胞,然后回输体内,或直接将目的基因体内注射,使其在体内表达。输送的基因可编码直接针对特定致癌蛋白的抗体。该领域目前的努力方向在于基因靶向传输,使基因仅在机体目标区域被激活。端粒酶是负责永生细胞的酶,对癌细胞特异,具有很好的潜能来瞄准靶细胞^[13]。目前发展的疫苗倾向于使机体免疫系统攻击表达端粒酶的癌细胞。常用的抗肿瘤基因治疗目的基因有:细胞因子基因、肿瘤抗原基因、MHC基因、协同刺激分子基因、肿瘤自杀基因、肿瘤抑癌基因等。肿瘤基因疗法正从实验进入临床阶段,目前还没有结直肠癌基因治疗的临床试验报道。

2 主动免疫治疗

主动免疫治疗是利用抗原刺激,使机体自身产生抗体的方法,可通过疾病病原体本身或通过免疫接种(使用已杀死的或弱化的疫苗或类毒素)产生。免疫力须经一定的潜伏期才会出现,但可长久甚至终生保持。研究关注的肿瘤疫苗(全肿瘤细胞疫苗、蛋白和多肽疫苗以及核酸疫苗等),是通过提取肿瘤抗原进行免疫接种,促进机体产生抗肿瘤特异性免疫应答。主动免疫治疗包括非特异性主动免疫治疗和特异性主动免疫治疗。

2.1 非特异性主动免疫治疗 非特异性主动免疫治疗是指应用一些免疫调节剂通过非特异性地增强机体的免疫功能,激活机体的抗肿瘤免疫应答,以达到治疗肿瘤的目的。在非特异性主动免疫治疗中,常用各种细菌菌苗,包括卡

介苗(bacillus calmette-guerin, BCG)、短小棒状杆菌菌苗等;另外还有免疫因子,如转移因子、免疫核糖核酸等。

2.2 特异性主动免疫治疗 特异性主动免疫治疗是指给机体输入具有抗原性的肿瘤疫苗,刺激机体产生自身的抗肿瘤免疫机制,以达到治疗肿瘤、预防肿瘤转移和复发的目的。肿瘤抗原疫苗主要分为细胞疫苗(肿瘤细胞或细胞裂解物、树突状细胞疫苗等)、分子疫苗(肿瘤抗原多肽、DNA疫苗等)、载体疫苗(编码肿瘤抗原的重组病毒载体等)、单抗疫苗、抗独特型抗体疫苗、基因修饰疫苗等。目前全肿瘤细胞疫苗、抗原多肽疫苗、树突状细胞疫苗及基因疫苗都已在实验室取得了一定的成功。

2.2.1 细胞疫苗: (1)全肿瘤细胞疫苗:是指将自身或异体同种肿瘤细胞,经过物理因素(照射、高温)、化学因素(酶解)以及生物因素(病毒感染、基因转移等)的处理,改变或消除其致瘤性,保留其免疫原性,常与佐剂(卡介苗等)联合应用,对肿瘤治疗有一定疗效。全肿瘤细胞疫苗是以肿瘤细胞为基础的早期细胞疫苗的一种形式。最早用作癌症疫苗来诱导细胞毒性抗肿瘤免疫反应。优点是疫苗的材料容易获得,不需要在治疗前进行肿瘤抗原鉴定并可以保证相关抗原被包含在疫苗中。然而迄今为止,证实其疗效有限。在结直肠癌,自体肿瘤细胞加卡介苗疫苗随机III期临床试验在412例II期和III期患者中进行,以确定手术切除加疫苗是否比单纯手术切除更有效,但研究显示,没有显著的生存或无病生存获益^[14]。使用全肿瘤疫苗的另一个问题是,在自体全肿瘤疫苗内只有一小部分的蛋白质是针对癌细胞特异的,大多数主要的抗原都是与正常细胞共享的,从而稀释了全肿瘤疫苗的抗原量,同时供给刺激自体免疫反应的抗原。此外,全肿瘤疫苗通常免疫原性差。因此,临床试验证明通过全肿瘤疫苗产生的免疫应答常常不足以使患者获益^[15]; (2)树突状细胞疫苗:树突状细胞(dendritic cell, DC)是目前发现的功能最强大的抗原提呈细胞,能激活静息T细胞,使其增殖,产生抗原特异性细胞毒性T淋巴细胞,从而发挥抗肿瘤免疫效应。DC疫苗主要可分为肿瘤抗原负载的DC疫苗和基因修饰的DC疫苗2大类。许多抗原致敏DC的临床试验已经完成不同类型肿瘤的试验,未发现明确的不良反应,最近的试验已初见成效^[16]。

美国FDA批准DC疫苗Sipuleucel-T,提示DC疫苗在结直肠癌也可有进一步的研究行为。肿瘤抗原负载的DC疫苗包括肿瘤抗原多肽、肿瘤抗原蛋白和肿瘤细胞裂解产物等,在临床研究中用于治疗结直肠癌^[17-20]。CEA是被多数结直肠癌表达的肿瘤相关抗原,有利用DC负载CEA肽疫苗^[21],或CEA表达载体的研究^[18],在这些I期临床试验中,大多数接种的结直肠癌患者证明了具有CEA特异性T细胞应答的诱导发生^[22]。但目前尚没有DC疫苗提高生存率的报道。本研究组目前正在进行DC负载PLAC1/CP1多肽疫苗的结直肠癌动物模型免疫治疗效果的研究工作^[23]。

2.2.2 分子疫苗: (1)肽疫苗:是由一个或多个短的或长的氨基酸序列作为肿瘤抗原,也能结合某些疫苗佐剂。肽疫苗具有易合成,安全性好,可操作性强,能有效地诱导T细胞反应等优点。肽疫苗是全蛋白或是从肿瘤特异性蛋白产生的蛋白质的片段。肽疫苗通过使用由肿瘤细胞表达的抗原而具有更特异的抗肿瘤反应的潜力。在结直肠癌,多个肿瘤相关抗原已被鉴定应用于疫苗并获得了不同程度的成功。通常所用的肽是MHC I类限制性,是可由CD8⁺细胞毒性T细胞识别的MHC。例如,在一个II期临床试验,β-hCG肽疫苗在77例结直肠癌患者中诱导56例患者产生抗血β-hCG抗体^[24]。重要的是,抗β-hCG抗体诱导与较长的总体存活相关。然而,大多数的试验都未能证明此相关性。由于下调某些抗原和MHC I类分子,肽疫苗有其限制性,包括有缺陷的CD8⁺ CTL^[25],晚期癌症患者受损的DC功能^[26],和抑制性肿瘤微环境,其中有免疫抑制细胞如调节性T细胞和活化的巨噬细胞存在^[27]。已有的肽疫苗功效较低,目前试图提高应对肽疫苗反应的策略都集中在增加对肽疫苗反应的T细胞数目方面。其中一个策略是使用较大的肽以增加肽表位的数目,可以提高对给定的抗原作出反应的T细胞数量。在I/II期试验中,10例结直肠癌患者接种两次一组由10个重叠的P53合成的长肽(synthetic long peptide, P53-SLP)^[28]。P53特异性CD4⁺和CD8⁺ T细胞应答中10例患者观察到9例有反应,6例测试患者保持P53的特异性T细胞反应至少6 mo。新试验的尝试也集中在提供更有效的辅助剂方面,如细胞因子。随访P53-特异性疫苗联合α干扰素的I/II期试验中发现

■创新盘点

尽管免疫治疗是近年研究的热点,但免疫治疗包括的方法、方式较多,名词概念较多。本文对免疫治疗不同类型的概念及其作用分别论述,同时指出每种疗法的优点和不足,特别关注了他们在结直肠癌中的应用情况。此外,与其他免疫治疗综述不同,本文还倾力介绍了与免疫治疗密切相关的炎症性病变和调节性T细胞的作用以及放疗与免疫治疗的关系。提示读者,仅仅了解免疫治疗是不够的,还要关注影响免疫治疗的相关问题。

应用要点

本文便于读者了解免疫治疗的概念, 分类及在结直肠癌中的研究应用状况。对于在结直肠癌中选择应用不同方式的免疫治疗具有指导意义。文中对影响免疫治疗的相关问题做了说明和分析, 帮助读者更好的找到运用免疫治疗的途径。对于提高治疗效果, 提高结直肠癌患者生存质量具有实际意义。

结直肠癌患者血液循环中有提高的 γ -干扰素产生的细胞数量^[29]。可利用的肿瘤特异性抗原少也限制了结直肠癌的肽疫苗的应用。已知的大多数肿瘤睾丸(cancer-testis, CT)抗原在结直肠癌肿瘤组织中表达较低^[30], 在结直肠癌患者临床试验中涉及的抗原, 如MUC1、CEA、上皮细胞黏附分子等, 虽然诱导的免疫应答与临床预后指标相关, 但是总体的客观临床反应率不到1%^[31]。并且, 由于这些基因在正常组织中也有相当程度的表达, 其安全性还有待验证。因此, 鉴定出在大肠癌中高表达的肿瘤抗原, 是进行免疫治疗的关键。本研究组已于2008年在国际上首次鉴定和报告了新的结直肠癌肿瘤特异性抗原PLAC1/CP1^[32], 前期体外研究证明该抗原可诱导大癌患者外周血特异性免疫应答反应, 杀伤结直肠癌肿瘤细胞, 与结直肠癌患者生存率的提高相关, 是结直肠癌较理想的免疫治疗靶基因, 已经鉴定了四段PLAC1/CP1 HLA-A*0201限制性CD8⁺ T淋巴细胞多肽表位, 解决了单一多肽靶点进行免疫治疗效果不佳的问题, 进一步的动物研究实验正在进行中; (2)DNA疫苗: 是指人工克隆一段编码肿瘤特异性抗原的DNA, 并通过质粒等方式注入机体, 使其在体内细胞中有效表达蛋白而成为肿瘤特异性抗原。这种抗原模仿了病毒蛋白等内源性抗原的递呈方式, 质粒载体没有免疫原性, 可以反复使用。具有安全、易生产和储存, 可诱导机体产生体液和细胞免疫的优点。DNA疫苗也有不足之处, 即较低的转染效率和较弱的免疫原性。仅有很少的结直肠癌临床I期试验研究, 没有监测到客观的临床获益情况^[33]。

2.2.3 病毒载体疫苗: 以病毒为载体与其他肿瘤抗原或多肽组成的重组病毒疫苗(如重组痘苗病毒)正在研制和I期临床试验中。病毒载体疫苗是一种增强免疫激活更有前途的方法, 是在病毒载体内用疫苗结合肿瘤抗原加共刺激分子, 常用的有扁豆病毒和腺病毒。一组研究发表了II期临床试验治疗转移性结直肠癌, 检测了联合疫苗和化疗的有效性, 使用表达CEA的非复制金丝雀痘病毒(canary-pox virus, ALVAC)和T细胞共刺激分子B7.1(ALVAC-CEA/B7.1)。在50%接受化疗和加强疫苗的患者中观察到抗CEA特异性T细胞应答, 观察到有40%的患者呈现客观的临床反应^[34,35], 目前的试验正在进行中, 试图通过用破伤风类毒素

传递该病毒来进一步增强反应, 未来的II期和III期临床研究将进一步鉴定对于结直肠癌治疗的有效性。

2.2.4 单克隆与多克隆抗体治疗: 单克隆抗体简称单抗(mAb), 指由一个识别单一抗原表位的B细胞克隆所分泌的特异性抗体, 与抗原高亲和力、高特异性的相互作用可抑制细胞增殖、促进细胞凋亡、改变免疫系统功能等。事实上, 早期单靶点的靶向药物在应用一段时间后, 肿瘤细胞通过突变等途径极易出现耐药, 这使得多靶点多克隆抗体药物的研制在近年成为热点。最近的研究显示, KRAS野生型结直肠癌患者从抗EGFR、Cetuximab和Panitumumab免疫治疗中有所获益^[36]。

3 炎症对结直肠癌免疫治疗的影响

一些仔细的病理医生在进行诊断工作时, 于HE切片中会观察到结直肠癌组织周边常常伴有炎症细胞的浸润, 但多数医生对于炎症反应的意义却未加关注。据研究, 炎症在肿瘤发生、发展、进展和转移的各个阶段都发挥着主导作用^[37]。肿瘤相关的炎症会引起免疫功能下降和使肿瘤免疫监视和免疫治疗失效^[38]。了解炎症的免疫调节机制并平衡之有利于提高肿瘤免疫。成功的免疫效应取决于先天的和获得性免疫的平衡。除了能提供一种效应反应外, 同源的获得性免疫细胞也介导组织特异性的趋化因子。该趋化因子可促进募集先天的免疫细胞到达癌症地点或其他伴有病理性损害的病变部位, 控制并产生其效应反应。这种潜在的信号机制的鉴定解释了先天性细胞和不同的静息细胞群, 感受器, 调节性T细胞以及B细胞之间的串扰, 有助于破译新的免疫调节网络, 将揭示新的适用于癌症治疗和预防的干预靶点^[39-41]。

4 调节性T细胞与肿瘤免疫

一直以来, 很多研究证明, 调节性T细胞(regulatory T cell, Treg)抑制机体免疫系统的抗肿瘤能力。Maeda等^[42]的研究显示, 奥沙利铂联合5-氟尿嘧啶和亚叶酸钙(FOLFOX)和伊立替康加5-氟尿嘧啶和亚叶酸钙(FOLFIRI)通过抑制Treg可增强抗肿瘤免疫。但近年一些研究^[43-45]包括在结直肠癌中的研究发现, 接受系统的化疗之前的结肠癌患者具有较高的肿瘤浸润Treg, 其整

体生存率、无进展生存率以及治疗相关的生存率均有意义的高于那些具有较少Foxp3⁺Treg浸润的患者。对这种矛盾研究结果的解释是, Treg有两种: nTreg和iTreg。两者具有不同的生物学特性。iTreg具有强大的免疫抑制功能, 抑制抗肿瘤免疫, 促进肿瘤的发生发展; 而nTreg的功能主要是维持外周免疫耐受, 抑制肿瘤相关的炎症反应。因此, iTreg是肿瘤免疫调控中发挥关键作用的免疫抑制细胞, 选择性去除iTreg是肿瘤免疫治疗的方向。幸运的是, 他们具有明显的表型和功能特征^[46,47]。本研究组正在进行Treg在结直肠癌抗PLA1/CP1肿瘤免疫应答中的作用研究。

5 免疫治疗与化疗、放疗

化疗剂具有免疫调节活性, 可增强肿瘤细胞疫苗的效力, 有利于过继性回输的肿瘤特异性T细胞的活性。单克隆抗体和化疗或肽疫苗之间的协同作用是基于诱导内源性细胞和体液免疫应答^[48]。化疗对肿瘤或宿主环境的直接影响, 如诱导肿瘤细胞死亡, 消除调节性T细胞, 和/或增强由CTL裂解的肿瘤细胞的敏感性, 解释了化疗可能增强免疫治疗的原因。另一方面, 免疫治疗可以直接调节肿瘤对化疗的敏感性。抗肿瘤单克隆抗体能提高肿瘤细胞对化疗药物的敏感性, 化疗后进行免疫治疗的患者比单纯化疗的患者已经收到较高的临床缓解率。从本质上说, 主动的特异性免疫治疗或被动的单克隆抗体或淋巴细胞免疫治疗与化疗联合应用对于癌症患者的治疗具有更大的潜力, 这需要在更大的控制和随机III期临床试验中确认^[49]。放疗可增效免疫治疗, 增强或拓宽肿瘤免疫反应。因为放疗诱导的肿瘤细胞可变表位, 使其对免疫介导的杀伤更为敏感^[50]。尽管确定的结论尚未得出, 但在结直肠癌, 放疗联合病毒的治疗研究中显示, 患者对免疫治疗具有敏感性^[51]。但也有学者认为, 免疫治疗应该在疾病的早期应用, 在患者的免疫系统遭到放疗、化疗和手术治疗干扰或破坏之前应用为宜。有研究显示, 特异性主动免疫治疗对晚期术后结直肠癌患者无明显疗效。本文认为, 免疫系统本身就存在个体差异。一般来讲, 具有较弱的免疫系统的机体更易患肿瘤, 但在有些病例中发现, 具有正常免疫系统的机体也患了癌症, 因为他们的免疫系统没有把癌细胞作为一种外源性物

质来识别, 或者这些癌细胞没有表达出他们不同于正常细胞的抗原。也有的时候, 免疫系统的确监测到了癌细胞的存在, 但由于免疫反应不够强而无法诱导这些细胞发生凋亡。癌细胞本身也可以释放免疫抑制物质来抑制免疫监视。作为放疗的结果, 肿瘤细胞可以发生突变, 那么, 针对肿瘤细胞表面的靶点抗原的治疗方案也应随之改变, 否则治疗可能是无效的。因此, 未来的癌症治疗要求综合的免疫学方法来预示免疫信号网络的详情, 设计出直接适用的新颖的抗癌策略。在结直肠癌中进行放疗结合免疫治疗的尝试是今后研究的方向。

6 结论

结直肠癌的发病率与死亡率正在逐年上升, 免疫治疗显示了一定的治疗效果, 有效地改善了结直肠癌的预后。但是目前取得突破性进展的肿瘤疫苗不多, 如何深入实现免疫治疗的个体化应用研究, 如何降低免疫抑制、改善免疫治疗联合方案, 筛选特异性强的肿瘤抗原作为靶点, 以及免疫治疗疗效的预测评估等这些问题仍然亟待解决。随着基础机制研究的不断深入以及临床试验的不断总结, 免疫治疗必将在结直肠癌综合治疗中发挥越来越大的作用, 必将带来生命科学领域的巨大飞跃, 对提高患者生存质量具有实际意义。

7 参考文献

- 1 Soerjomataram I, Lortet-Tieulent J, Parkin DM, Ferlay J, Mathers C, Forman D, Bray F. Global burden of cancer in 2008: a systematic analysis of disability-adjusted life-years in 12 world regions. *Lancet* 2012; 380: 1840-1850 [PMID: 23079588 DOI: 10.1016/S0140-6736(12)60919-2]
- 2 Gallagher DJ, Kemeny N. Metastatic colorectal cancer: from improved survival to potential cure. *Oncology* 2010; 78: 237-248 [PMID: 20523084 DOI: 10.1159/000315730]
- 3 Sharif S, O'Connell MJ, Yothers G, Lopa S, Wolmark N. FOLFOX and FLOX regimens for the adjuvant treatment of resected stage II and III colon cancer. *Cancer Invest* 2008; 26: 956-963 [PMID: 18798075 DOI: 10.1080/07357900802132550]
- 4 Callahan MK, Postow MA, Wolchok JD. Immunomodulatory therapy for melanoma: ipilimumab and beyond. *Clin Dermatol* 2013; 31: 191-199 [PMID: 23438382 DOI: 10.1016/j.clindermatol]
- 5 DeFrancesco L. Landmark approval for Dendreon's cancer vaccine. *Nat Biotechnol* 2010; 28: 531-532 [PMID: 20531312 DOI: 10.1038/nbt0610-531]
- 6 Kalos M, June CH. Adoptive T cell transfer for

同行评价

免疫治疗作为结直肠癌继手术、化疗和放疗之后的第4种治疗的选择, 是目前重要的研究方向之一。文章综述了该领域的最新研究进展, 具有一定的指导意义。

- cancer immunotherapy in the era of synthetic biology. *Immunity* 2013; 39: 49-60 [PMID: 23890063 DOI: 10.1016/j.immuni.2013.07.002]
- 7 Hanahan D, Coussens LM. Accessories to the crime: functions of cells recruited to the tumor microenvironment. *Cancer Cell* 2012; 21: 309-322 [PMID: 22439926 DOI: 10.1016/j.ccr.2012.02.022]
- 8 Dudley ME, Wunderlich JR, Robbins PF, Yang JC, Hwu P, Schwartzentruber DJ, Topalian SL, Sherry R, Restifo NP, Hubicki AM, Robinson MR, Raffeld M, Duray P, Seipp CA, Rogers-Freezer L, Morton KE, Mavroukakis SA, White DE, Rosenberg SA. Cancer regression and autoimmunity in patients after clonal repopulation with antitumor lymphocytes. *Science* 2002; 298: 850-854 [PMID: 12242449]
- 9 Restifo NP, Dudley ME, Rosenberg SA. Adoptive immunotherapy for cancer: harnessing the T cell response. *Nat Rev Immunol* 2012; 12: 269-281 [PMID: 22437939 DOI: 10.1038/nri3191]
- 10 Rosenberg SA, Yang JC, Sherry RM, Kammula US, Hughes MS, Phan GQ, Citrin DE, Restifo NP, Robbins PF, Wunderlich JR, Morton KE, Laurencot CM, Steinberg SM, White DE, Dudley ME. Durable complete responses in heavily pretreated patients with metastatic melanoma using T-cell transfer immunotherapy. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 4550-4557 [PMID: 21498393 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-0116]
- 11 Schmidt-Wolf IG, Finke S, Trojaneck B, Denkena A, Lefterova P, Schwella N, Heuft HG, Prange G, Korte M, Takeya M, Dorbic T, Neubauer A, Wittig B, Huhn D. Phase I clinical study applying autologous immunological effector cells transfected with the interleukin-2 gene in patients with metastatic renal cancer, colorectal cancer and lymphoma. *Br J Cancer* 1999; 81: 1009-1016 [PMID: 10576658]
- 12 Parkhurst MR, Yang JC, Langan RC, Dudley ME, Nathan DA, Feldman SA, Davis JL, Morgan RA, Merino MJ, Sherry RM, Hughes MS, Kammula US, Phan GQ, Lim RM, Wank SA, Restifo NP, Robbins PF, Laurencot CM, Rosenberg SA. T cells targeting carcinoembryonic antigen can mediate regression of metastatic colorectal cancer but induce severe transient colitis. *Mol Ther* 2011; 19: 620-626 [PMID: 21157437 DOI: 10.1038/mt.2010.272]
- 13 Mishra J, Drummond J, Quazi SH, Karanki SS, Shaw JJ, Chen B, Kumar N. Prospective of colon cancer treatments and scope for combinatorial approach to enhanced cancer cell apoptosis. *Crit Rev Oncol Hematol* 2013; 86: 232-250 [PMID: 23098684 DOI: 10.1016/j.critrevonc.2012.09.014]
- 14 Harris JE, Ryan L, Hoover HC, Stuart RK, Oken MM, Benson AB, Mansour E, Haller DG, Manola J, Hanna MG. Adjuvant active specific immunotherapy for stage II and III colon cancer with an autologous tumor cell vaccine: Eastern Cooperative Oncology Group Study E5283. *J Clin Oncol* 2000; 18: 148-157 [PMID: 10623705]
- 15 Klebanoff CA, Acquavella N, Yu Z, Restifo NP. Therapeutic cancer vaccines: are we there yet? *Immunol Rev* 2011; 239: 27-44 [PMID: 21198663 DOI: 10.1111/j.1600-065X.2010.00979.x]
- 16 Rosenblatt J, Avivi I, Vasir B, Uhl L, Munshi NC, Katz T, Dey BR, Somaiya P, Mills H, Campigotto F, Weller E, Joyce R, Levine JD, Tzachanis D, Richardson P, Laubach J, Raju N, Boussiotis V, Yuan YE, Bisharat L, Held V, Rowe J, Anderson K, Kufe D, Avigan D. Vaccination with dendritic cell/tumor fusions following autologous stem cell transplant induces immunologic and clinical responses in multiple myeloma patients. *Clin Cancer Res* 2013; 19: 3640-3648 [PMID: 23685836 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-0282]
- 17 Lesterhuis WJ, de Vries IJ, Aarntzen EA, de Boer A, Scharenborg NM, van de Rakt M, van Spronsen DJ, Preijers FW, Figdor CG, Adema GJ, Punt CJ. A pilot study on the immunogenicity of dendritic cell vaccination during adjuvant oxaliplatin/capecitabine chemotherapy in colon cancer patients. *Br J Cancer* 2010; 103: 1415-1421 [PMID: 20924373 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605935]
- 18 Morse MA, Niedzwiecki D, Marshall JL, Garrett C, Chang DZ, Aklilu M, Crocenzi TS, Cole DJ, Dessureault S, Hobeika AC, Osada T, Onaitis M, Clary BM, Hsu D, Devi GR, Bulusa A, Annecharico RP, Chadaram V, Clay TM, Lysterly HK. A randomized phase II study of immunization with dendritic cells modified with poxvectors encoding CEA and MUC1 compared with the same poxvectors plus GM-CSF for resected metastatic colorectal cancer. *Ann Surg* 2013; 258: 879-886 [PMID: 23657083 DOI: 10.1097/SLA.0b013e318292919e]
- 19 Barth RJ, Fisher DA, Wallace PK, Channon JY, Noelle RJ, Gui J, Ernstoff MS. A randomized trial of ex vivo CD40L activation of a dendritic cell vaccine in colorectal cancer patients: tumor-specific immune responses are associated with improved survival. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 5548-5556 [PMID: 20884622 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-10-2138]
- 20 Burgdorf SK, Fischer A, Myschetzky PS, Munksgaard SB, Zocca MB, Claesson MH, Rosenberg J. Clinical responses in patients with advanced colorectal cancer to a dendritic cell based vaccine. *Oncol Rep* 2008; 20: 1305-1311 [PMID: 19020707]
- 21 Lesterhuis WJ, de Vries IJ, Schuurhuis DH, Boullart AC, Jacobs JF, de Boer AJ, Scharenborg NM, Brouwer HM, van de Rakt MW, Figdor CG, Ruers TJ, Adema GJ, Punt CJ. Vaccination of colorectal cancer patients with CEA-loaded dendritic cells: antigen-specific T cell responses in DTH skin tests. *Ann Oncol* 2006; 17: 974-980 [PMID: 16600979]
- 22 Kantoff PW, Higano CS, Shore ND, Berger ER, Small EJ, Penson DF, Redfern CH, Ferrari AC, Dreicer R, Sims RB, Xu Y, Frohlich MW, Schellhammer PF. Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer. *N Engl J Med* 2010; 363: 411-422 [PMID: 20818862 DOI: 10.1056/NEJMoa1001294]
- 23 Liu F, Zhang H, Shen D, Wang S, Ye Y, Chen H, Pang X, Song Q, He P. Identification of two new HLA-A*0201-restricted cytotoxic T lymphocyte epitopes from colorectal carcinoma-associated antigen PLAC1/CP1. *J Gastroenterol* 2014; 49: 419-426 [PMID: 23604623 DOI: 10.1007/s00535-013-0811-4]
- 24 Moulton HM, Yoshihara PH, Mason DH, Iversen PL, Triozzi PL. Active specific immunotherapy with a beta-human chorionic gonadotropin

- peptide vaccine in patients with metastatic colorectal cancer: antibody response is associated with improved survival. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 2044-2051 [PMID: 12114402]
- 25 Buhрман JD, Slansky JE. Improving T cell responses to modified peptides in tumor vaccines. *Immunol Res* 2013; 55: 34-47 [PMID: 22936035 DOI: 10.1007/s12026-012-8348-9]
 - 26 Gajewski TF, Schreiber H, Fu YX. Innate and adaptive immune cells in the tumor microenvironment. *Nat Immunol* 2013; 14: 1014-1022 [PMID: 24048123 DOI: 10.1038/ni.2703]
 - 27 Shiao SL, Ganesan AP, Rugo HS, Coussens LM. Immune microenvironments in solid tumors: new targets for therapy. *Genes Dev* 2011; 25: 2559-2572 [PMID: 22190457]
 - 28 Speetjens FM, Kuppen PJ, Welters MJ, Essahsah F, Voet van den Brink AM, Lantrua MG, Valentijn AR, Oostendorp J, Fathens LM, Nijman HW, Drijfhout JW, van de Velde CJ, Melief CJ, van der Burg SH. Induction of p53-specific immunity by a p53 synthetic long peptide vaccine in patients treated for metastatic colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 1086-1095 [PMID: 19188184 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-2227]
 - 29 Zeestraten EC, Speetjens FM, Welters MJ, Saadatmand S, Stynebosch LF, Jongen R, Kapiteijn E, Gelderblom H, Nijman HW, Valentijn AR, Oostendorp J, Fathens LM, Drijfhout JW, van de Velde CJ, Kuppen PJ, van der Burg SH, Melief CJ. Addition of interferon- α to the p53-SLP ® vaccine results in increased production of interferon- γ in vaccinated colorectal cancer patients: a phase I/II clinical trial. *Int J Cancer* 2013; 132: 1581-1591 [PMID: 22948952 DOI: 10.1002/ijc.27819]
 - 30 Scanlan MJ, Simpson AJ, Old LJ. The cancer/testis genes: review, standardization, and commentary. *Cancer Immunol* 2004; 4: 1 [PMID: 14738373]
 - 31 Nagorsen D, Thiel E. Clinical and immunologic responses to active specific cancer vaccines in human colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 3064-3069 [PMID: 16707603]
 - 32 Liu FF, Dong XY, Pang XW, Xing Q, Wang HC, Zhang HG, Li Y, Yin YH, Fant M, Ye YJ, Shen DH, Zhang Y, Wang S, Chen WF. The specific immune response to tumor antigen CP1 and its correlation with improved survival in colon cancer patients. *Gastroenterology* 2008; 134: 998-1006 [PMID: 18395081 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.01.029]
 - 33 Conry RM, Curiel DT, Strong TV, Moore SE, Allen KO, Barlow DL, Shaw DR, LoBuglio AF. Safety and immunogenicity of a DNA vaccine encoding carcinoembryonic antigen and hepatitis B surface antigen in colorectal carcinoma patients. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 2782-2787 [PMID: 12231517]
 - 34 Kaufman HL, Lenz HJ, Marshall J, Singh D, Garrett C, Cripps C, Moore M, von Mehren M, Dalfen R, Heim WJ, Conry RM, Urba WJ, Benson AB, Yu M, Caterini J, Kim-Schulze S, Debenedette M, Salha D, Vogel T, Elias I, Berinstein NL. Combination chemotherapy and ALVAC-CEA/B7.1 vaccine in patients with metastatic colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 4843-4849 [PMID: 18676757 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-0276]
 - 35 Hörig H, Lee DS, Konkright W, Divito J, Hasson H, LaMare M, Rivera A, Park D, Tine J, Guito K, Tsang KW, Schlom J, Kaufman HL. Phase I clinical trial of a recombinant canarypoxvirus (ALVAC) vaccine expressing human carcinoembryonic antigen and the B7.1 co-stimulatory molecule. *Cancer Immunol Immunother* 2000; 49: 504-514 [PMID: 11092617]
 - 36 Jiang Z, Li C, Li F, Wang X. EGFR gene copy number as a prognostic marker in colorectal cancer patients treated with cetuximab or panitumumab: a systematic review and meta analysis. *PLoS One* 2013; 8: e56205 [PMID: 23441167 DOI: 10.1371/journal.pone.0056205]
 - 37 Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell* 2010; 140: 883-899 [PMID: 20303878 DOI: 10.1016/j.cell.2010.01.025]
 - 38 Soudja SM, Wehbe M, Mas A, Chasson L, de Tenbossche CP, Huijbers I, Van den Eynde B, Schmitt-Verhulst AM. Tumor-initiated inflammation overrides protective adaptive immunity in an induced melanoma model in mice. *Cancer Res* 2010; 70: 3515-3525 [PMID: 20406967 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-4354]
 - 39 Shanker A, Marincola FM. Cooperativity of adaptive and innate immunity: implications for cancer therapy. *Cancer Immunol Immunother* 2011; 60: 1061-1074 [PMID: 21656157 DOI: 10.1007/s00262-011-1053-z]
 - 40 Banchereau J, Briere F, Caux C, Davoust J, Lebecque S, Liu YJ, Pulendran B, Palucka K. Immunobiology of dendritic cells. *Annu Rev Immunol* 2000; 18: 767-811 [PMID: 10837075]
 - 41 Apetoh L, Ghiringhelli F, Tesniere A, Obeid M, Ortiz C, Criollo A, Mignot G, Maiuri MC, Ullrich E, Saulnier P, Yang H, Amigorena S, Ryffel B, Barrat FJ, Saftig P, Levi F, Lidereau R, Nogues C, Mira JP, Chompret A, Joulin V, Clavel-Chapelon F, Bourhis J, André F, Delaloge S, Tursz T, Kroemer G, Zitvogel L. Toll-like receptor 4-dependent contribution of the immune system to anticancer chemotherapy and radiotherapy. *Nat Med* 2007; 13: 1050-1059 [PMID: 17704786]
 - 42 Maeda K, Hazama S, Tokuno K, Kan S, Maeda Y, Watanabe Y, Kamei R, Shindo Y, Maeda N, Yoshimura K, Yoshino S, Oka M. Impact of chemotherapy for colorectal cancer on regulatory T-cells and tumor immunity. *Anticancer Res* 2011; 31: 4569-4574 [PMID: 22199332]
 - 43 Vlad C, Kubelac P, Fetica B, Vlad D, Irimie A, Achimas-Cadariu P. The prognostic value of FOXP3+ T regulatory cells in colorectal cancer. *J BUON* 2015; 20: 114-119 [PMID: 25778305]
 - 44 Nakagawa K, Tanaka K, Homma Y, Nojiri K, Kumamoto T, Takeda K, Endo I. Low infiltration of peritumoral regulatory T cells predicts worse outcome following resection of colorectal liver metastases. *Ann Surg Oncol* 2015; 22: 180-186 [PMID: 25120248 DOI: 10.1245/s10434-014-3974-1]
 - 45 Ladoire S, Martin F, Ghiringhelli F. Prognostic role of FOXP3+ regulatory T cells infiltrating human carcinomas: the paradox of colorectal cancer. *Cancer Immunol Immunother* 2011; 60: 909-918 [PMID: 21644034 DOI: 10.1007/s00262-011-1046-y]
 - 46 Bergmann C, Strauss L, Wang Y, Szczepanski MJ, Lang S, Johnson JT, Whiteside TL. T regulatory type 1 cells in squamous cell carcinoma of the head and neck: mechanisms of suppression

- and expansion in advanced disease. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 3706-3715 [PMID: 18559587 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-5126]
- 47 Lan Q, Fan H, Quesniaux V, Ryffel B, Liu Z, Zheng SG. Induced Foxp3(+) regulatory T cells: a potential new weapon to treat autoimmune and inflammatory diseases? *J Mol Cell Biol* 2012; 4: 22-28 [PMID: 22107826 DOI: 10.1093/jmcb/mjr039]
- 48 Baxevas CN, Perez SA, Papamichail M. Combinatorial treatments including vaccines, chemotherapy and monoclonal antibodies for cancer therapy. *Cancer Immunol Immunother* 2009; 58: 317-324 [PMID: 18704409 DOI: 10.1007/s00262-008-0576-4]
- 49 Zhang T, Herlyn D. Combination of active specific immunotherapy or adoptive antibody or lymphocyte immunotherapy with chemotherapy in the treatment of cancer. *Cancer Immunol Immunother* 2009; 58: 475-492 [PMID: 18925393 DOI: 10.1007/s00262-008-0598-y]
- 50 Ferrara TA, Hodge JW, Gulley JL. Combining radiation and immunotherapy for synergistic antitumor therapy. *Curr Opin Mol Ther* 2009; 11: 37-42 [PMID: 19169958]
- 51 Kiewe P, Wojtke S, Thiel E, Nagorsen D. Antiviral cellular immunity in colorectal cancer patients. *Hum Immunol* 2009; 70: 85-88 [PMID: 19133306 DOI: 10.1016/j.humimm.2008.12.004]

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506位胃肠病学和肝病学专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病学领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

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

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

《世界华人消化杂志》的目标是出版高质量的胃肠病学和肝病学领域的专家评论及临床实践和基础研究相结合具有实践意义的文章, 为内科学、外科学、感染病学、中医药学、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。

肠促胰素研究的新视野

张露, 高凌, 毕会民

张露, 高凌, 毕会民, 武汉大学人民医院内分泌科 湖北省武汉市 430060

高凌, 副教授, 副主任医师, 主要从事肠道激素和2型糖尿病、肥胖发病机制的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81170767

中华医学会糖尿病研究基金资助项目, No. 13060906481

作者贡献分布: 本文由高凌构思设计; 张露撰写; 毕会民提出修改建议; 高凌审核。

通讯作者: 高凌, 副教授, 副主任医师, 430060, 湖北省武汉市武昌区解放路238号, 武汉大学人民医院内分泌科。

ling.gao@whu.edu.cn

电话: 027-88041911 传真: 027-88042292

收稿日期: 2015-04-27 修回日期: 2015-06-12

接受日期: 2015-06-19 在线出版日期: 2015-10-08

New perspectives of incretin research

Lu Zhang, Ling Gao, Hui-Min Bi

Lu Zhang, Ling Gao, Hui-Min Bi, Department of Endocrinology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81170767; Diabetes Research Fund of Chinese Medical Society, No. 13060906481

Correspondence to: Ling Gao, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Endocrinology, Renmin Hospital of Wuhan University, 238 Jiefang Road, Wuchang District, Wuhan 430060, Hubei Province, China. ling.gao@whu.edu.cn

Received: 2015-04-27 Revised: 2015-06-12

Accepted: 2015-06-19 Published online: 2015-10-08

Abstract

Incretins are a group of hormones released into the blood stream by gastrointestinal cells after food stimulation, including glucagon like peptide and glucose-dependent insulintropic polypeptide (GIP), which can promote insulin secretion and regulate blood sugar. GLP-1 is secreted by intestinal L cells, and fulfills its function through the specific GLP-1 receptor

(GLP-1R). GLP-1R is widely distributed in the pancreas and non-pancreatic tissues such as central nervous system, gastrointestinal tract, cardiovascular system, lungs, and kidneys. In recent years, GLP-1 drugs have been used for the treatment of diabetes, but it has attracted more interest because of its beneficiary effects on β cell function, weight reduction, endothelial function, and Alzheimer's disease. This article will review the recent progress in research of GLP-1 with regards to its synthesis and secretion, its effects on taste and Alzheimer's disease, and its relationship with other gastrointestinal hormones, with an aim to illuminate the future clinical use and research of GLP-1.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Incretin; Gustatory; Appetite; Adipose factor; Obesity; Alzheimer's disease

Zhang L, Gao L, Bi HM. New perspectives of incretin research. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(28): 4473-4481 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4473.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i28.4473>

摘要

肠促胰素是肠道细胞受食物刺激分泌并释放入血, 包括胰高糖素样多肽1(glucagon like peptide-1, GLP-1)、葡萄糖依赖性促胰岛素多肽(glucose-dependent insulintropic polypeptide)等, 能促进胰岛素分泌并调节血糖。GLP-1为小肠L细胞分泌, 并通过特异性的GLP-1受体(glucagon like peptide-1 receptor, GLP-1R)介导发挥生物学作用。而

背景资料

肠促胰素目前已应用于临床2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)的治疗。近来大量研究证实胰高糖素样多肽1(glucagon like peptide-1, GLP-1)与心血管系统、中枢神经系统神经元的保护和再生、学习记忆和骨吸收等生理功能均相关, 尤其是其对体质量、味觉、中枢神经系统等影响将是未来研究新方向。

同行评议者

徐庆, 教授, 桂林医学院药理教研室

■ 研发前沿

在口腔及胃肠道都存在味觉受体, 味觉受体可介导GLP-1的分泌. 实验证明GLP-1可改变小鼠味觉敏感性, 从而影响了食物摄入. 这可能是解决肥胖及相关代谢疾病新的切入点. GLP-1在中枢神经系统作用及其与其他激素相关性, 都使其具有广泛的研究价值和临床应用前景.

GLP-1R广泛分布于胰腺及胰腺外组织中包括中枢神经系统、胃肠道系统、心血管系统、肺、肾等组织器官. 近年来, GLP-1类药物除了用于糖尿病患者的降糖治疗, 因其在保护 β 细胞, 降低体质量, 改善内皮细胞功能, 预防老年性痴呆均有一定的作用, 而备受关注. 本文将从GLP-1的合成分泌、对味觉、阿茨海默病的影响、与其他胃肠道激素关系对其进行阐述, 为GLP-1更广泛的用于临床和未来的研发提供参考.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肠促胰岛素; 味觉; 食欲; 脂肪因子; 肥胖; 阿茨海默病

核心提示: 胰高糖素样多肽1(glucagon like peptide-1, GLP-1)是由肠道分泌的一种激素, 其受体广泛分布于胰腺及胰腺外组织. 近年来GLP-1类药物已应用于糖尿病的降糖治疗, 本文系统的阐述了GLP-1的合成分泌、对味觉、阿茨海默病的影响以及与其他胃肠道激素的关系.

张露, 高凌, 毕会民. 肠促胰岛素研究的新视野. 世界华人消化杂志 2015; 23(28): 4473-4481 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4473.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i28.4473>

0 引言

20世纪初, 人们发现营养物质可以刺激肠道分泌一种促进胰岛素分泌降低血糖的激素, 后将其命名为“肠促胰岛素”. 1964年, Elrick等^[1]就发现, 在血糖变化水平相同的情况下, 口服葡萄糖比静脉葡萄糖可引起更多的胰岛素分泌, 这种现象即为“肠促胰岛素效应”. 人体内主要有两种肠促胰岛素: 葡萄糖依赖性促胰岛素多肽(glucose-dependent insulintropic polypeptide, GIP)和胰高糖素样多肽1(glucagon like peptide-1, GLP-1). GIP作为一个葡萄糖依赖性的胰岛素释放肽, 是最先被发现的肠促胰岛素, 由十二指肠和空肠近端的K细胞分泌. 因其在2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)患者体内水平正常或者升高, 且对胰腺 α 、 β 细胞作用有限而限制了其临床运用. 而肠道L细胞分泌的GLP-1, 在T2DM患者中水平下降. 由于其对胰岛细胞有双重调节(促进 β 细胞胰岛素分泌和抑制 α 细胞分泌胰高血糖素分泌), 并具有保护 β 细胞功能、抑制食欲等独特作用, 目

前已应用于临床T2DM特别是肥胖的糖尿病患者的治疗. 另外, 由于GLP-1R分布广泛, GLP-1对胃肠道、心血管、肝脏、中枢等胰外的组织和器官也有靶向作用. 除了促进胰岛素分泌, 调节血糖水平以外, 还与调节食欲、减轻体质量、中枢神经系统神经元的保护和再生、学习记忆和骨吸收等多种生理功能相关^[2]. 近来, GLP-1的神经保护作用以及对味觉变化的影响等新的研究方向成为大家关注的热点. 国内外大量流行病学研究表明T2DM是阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)的危险因素之一, AD脑内存在胰岛素抵抗状态或者胰岛素信号传导异常, 故而有人认为AD是一种中枢性的糖尿病^[3]. 已有研究^[4]证实, 在中枢神经系统, GLP-1可通过增加中枢胰岛素敏感性而发挥神经保护作用改善学习记忆能力. 另外实验研究^[5,6]证明, GLP-1和GLP-1R可在口腔生产表达, 可能通过与G蛋白偶联受体120(G protein coupled receptor 120, GPR120)、CD36等一系列因子作用改变味觉敏感性从而影响食物偏好和体质量.

1 GLP-1及其受体特点

1.1 GLP-1及其受体 在营养物质的刺激下回肠和结肠的肠上皮L细胞分泌GLP-1, GLP-1由人的2号常染色体长臂胰高血糖素原基因编码再经修饰加工而成, 由30个氨基酸多肽组成. GLP-1半衰期极短, 从肠道分泌入血后在1-2 min内即可被二肽基肽酶IV降解. 早期研究已证实, GLP-1存在于肠道远端小肠和全结肠的L细胞中. 在小鼠的胃小凹和胃壁细胞都有GLP-1R的表达^[2]. GLP-1R是由463个氨基酸组成的G蛋白偶联受体, 广泛存在于各器官组织中, 除了胃肠道、胰腺组织外, 还包括大脑、心脏、血管、肾、肺、外周神经系统等. 另有实验证明GLP-1R也存在于小鼠和人类口腔中^[5,6]. GLP-1通过与广泛分布于全身各器官组织的GLP-1R作用来发挥各胰腺内或胰腺外作用.

1.2 GLP-1及其受体在中枢神经系统的分布 国内外大量文献报道, 在中枢神经系统也可以分泌GLP-1. GLP-1通过与中枢GLP-1R结合发挥一系列生理作用. GLP-1及其受体在大脑各部位浓度不同, GLP-1与GLP-1R结合后发挥的作用也不尽相同. 目前已知, 位于第四脑室边缘的孤束核尾部神经细胞是中枢神经系统内唯一

能产生GLP-1的细胞. 这些细胞纤维发射至前脑, 通过免疫组织化学技术显示GLP-1免疫阳性细胞主要分布在下丘脑室旁核和背侧核^[7,8]. 对啮齿类动物实验研究发现, GLP-1在脑干和下丘脑高度表达, 在额叶、颞叶等部位呈低表达. 另外在下丘脑孤束核、脑干以及一些小的神经核团上发现有表达GLP-1前体的细胞, 且其翻译后加工处理过程与肠道GLP-1类似^[9]. 研究^[7]表明, GLP-1 R主要表达于脑干、穹隆下器官、下丘脑、大脑脚间核、下橄榄体和孤束核等区域的神经细胞. 在下丘脑GLP-1R主要分布于孤束核、最后区、弓状核、室旁核、背内侧核和视上核等部位. 应用免疫组织化学技术标记发现, 下丘脑GLP-1受体免疫阳性的神经纤维束主要来源于孤束核神经细胞的胞体, 其传出神经主要受下丘脑室旁核和背侧核支配^[8]. GLP-1R在孤束核及弓状核表达, 说明GLP-1在中枢可能参与调节摄食行为^[10,11]. 尽管其具体机制尚未完全阐明, 但大量研究证实中枢GLP-1对血糖、食欲甚至心血管系统均可发挥调节作用.

2 GLP-1与味觉的关系

2.1 GLP-1与味觉受体通路 在营养物质的刺激下肠道内的肠上皮分泌GLP-1. 作为开放性内分泌细胞, 肠道L细胞分泌GLP-1的机制除了受肠道系统神经调节^[12]以外, 还涉及如SGLT1、GPRs、cAMP、Ca²⁺等多种信号通路^[13-17]. 除口腔外, 胃肠道、胰腺细胞也存在味觉受体系统, 胃肠道的味觉感受机制可能与葡萄糖依赖的GLP-1的分泌有关^[18-22]. 味觉是生物最基本的生理感觉之一. 人和动物利用味觉来识别食物性质、影响食物的摄入和偏好、控制食欲. 通常我们所说的味觉由酸、甜、苦、咸、鲜5种基本味觉组成. 各种味觉物质通过与味觉细胞受体作用, 再经细胞内信号转导、神经传递等将味觉信号传至大脑进行整合分析, 最终产生味觉. 在哺乳动物目前已知有两大味觉受体基因家族: 味觉受体第一家族(taste receptor family 1 member, T1Rs)和T2Rs^[23,24]. 其中T1Rs家族可分为T1R1、T1R2、T1R3三个基因子集, 都属于G蛋白偶联受体超家族, 且分别以异源二聚体的形式结合, T1R1和T1R3结合共表达成为鲜味受体, T1R2和T1R3结合形成甜味受体. T2Rs则

属于苦味受体. 味觉受体不仅仅存在于口腔, 也存在于肠道系统^[18-21]. Jang等^[19]从mRNA和蛋白质水平证明小鼠小肠黏膜上存在T1R2和T1R3的二聚体所表达的甜味受体. Wu等^[20]在实验中用苯甲地那铵和苯基硫脲(苦味剂)刺激STC-1细胞时, 胞内Ca²⁺浓度迅速上升, 证明苦味受体T2Rs在肠道内可选择性表达. Bezençon等^[21]还证实了T1R1/T1R3共表达的鲜味受体相关因子在肠道内的表达. 另外在肠道内还发现了与苦、甜、鲜味受体转导途径相关的信号分子如: α-味觉素(α-gustducin)、磷脂酶C-β2(phospholipase C-β2, PLC-β2)和瞬时受体势离子通道M5(transient receptor potential cation channel subfamily M member 5, TRPM5)等^[22]. 胃肠道内味觉受体及其下游信号分子的存在提示了进食后味觉物质对肠道内味觉受体的激活可能与肠道内激素分泌相关. 研究^[19]表明, 在T1R3和α-gustducin缺陷的小鼠, 其葡萄糖依赖的GLP-1的释放也有缺陷. 甜味受体和苦味受体激动剂可刺激在体外培养的肠道内分泌细胞分泌GLP-1, 且甜味受体阻断剂可阻断这一作用. 尽管近来实验表明在人类和动物, 肠道内内分泌细胞对GLP-2的释放依赖于甜味受体^[25,26], 但体内研究^[27,28]显示, 人工甜味剂并不增加小鼠或人体内GLP-1的分泌. 因此, 在胃肠道中葡萄糖刺激L细胞分泌GLP-1与味觉受体通道的具体关系尚不明确.

2.2 GLP-1在口腔味蕾的表达 GLP-1由胰升血糖素原在肠道L细胞加工而来. 胰升血糖素原经翻译后在由激素原转化酶1/3(prohormone convertase1/3, PC1/3)或PC2介导加工. 在肠道细胞中主要表达酶PC1/3, 胰升血糖素原在肠道经加工后产物是GLP-1、GLP-2和胃酸分泌调节肽; 而在胰腺α细胞中主要含酶PC2, 故胰升血糖素原在胰腺α细胞主要产物为胰升血糖素^[29]. 由于胃肠道与口腔中存在GLP-1与味觉受体T1R3、α-gustducin等相似的分子结构基础, 因此有人推测GLP-1在口腔可能也有类似的分泌机制. Shin等^[5]、Feng等^[30]通过免疫组织化学、生化等方法检测到GLP-1存在于哺乳动物的味蕾上. 在小鼠轮廓乳头, 可观察到免疫阳性GLP-1存在两种类型的味觉受体细胞系: T1R3和α-gustducin. 在肠道T1R3可介导甜味依赖的肠道L细胞GLP-1的释放, 而在小鼠味蕾细胞中免疫阳性GLP-1与T1R3的共表达

■ 相关报道

Shin等通过对比观察GLP-1R基因敲除小鼠与正常小鼠对不同浓度的各种促味剂的反应, 得出GLP-1可保持和增加小鼠对甜味的敏感性, 并可降低对鲜味的敏感性. 口腔GLP-1信号通路可能通过影响CD36等影响膳食脂质的摄入. GLP-1可以通过改善胰岛素抵抗、降低星形胶质细胞和小胶质细胞的数量以及减少β淀粉样蛋白斑块干预阿尔茨海默病的发展.

■ 创新盘点

本文将重点放在肠促胰岛素降糖以外的作用上, 有益于更全面系统的了解肠促胰岛素的作用. 详述GLP-1影响味觉食欲、改善中枢胰岛素抵抗等方面的作用.

提示GLP-1在甜味和鲜味的识别功能中发挥着一定的作用. 同样, 在GLP-1免疫阳性的细胞中可观察到生产GLP-1所需的酶PC1/3的存在. 另外, 在GLP-1阳性的口腔味蕾细胞紧邻的味蕾传入神经纤维中, 也发现了GLP-1R的存在^[5]. 这一系列发现说明了GLP-1通路在口腔对味觉的传导系统及味觉功能可能发挥着一定的作用. GLP-1在肠道分泌入血后半衰期极短, 立刻被二肽基肽酶IV降解, 在口腔味蕾细胞的实验观察中并未检测到二肽基肽酶IV的存在^[5]. 这些结果均提示了GLP-1在口腔通过与其受体作用而影响味觉的可能性.

2.3 GLP-1对味觉敏感性的作用 GLP-1作为一种抑食欲, 可通过作用于中枢, 经过各种信号分子通路抑制食欲. 另外抑制胃排空等作用也可间接影响食欲. 但是GLP-1有否通过影响味觉来改变食欲尚不清楚. Shin等^[5]通过对比观察GLP-1R基因敲除小鼠与正常小鼠对不同浓度的各种促味剂的反应, 得出GLP-1可保持和增加小鼠对甜味的敏感性, 并可降低对鲜味的敏感性. 由此可推测, GLP-1通过不同的方式作用于甜味和鲜味的味觉传导. GLP-1对其他味觉是否存在影响仍然需要进一步研究证实. 不过, 最近已有研究^[31]证明, 口腔GLP-1信号通路可能通过影响CD36等影响膳食脂质的摄入, GLP-1R(-/-)小鼠较正常小鼠不能品尝出较低浓度的脂肪酸, 这说明了GLP-1对脂质敏感性的作用. 过度摄入膳食脂肪与肥胖等疾病息息相关. 而饮食中的脂肪往往容易上瘾, 动物对脂质的偏爱非常常见. Smith等^[32]通过对13株小鼠进行研究测试证明了大鼠和小鼠对脂质的偏好, 另外也证明了嗅觉和口腔的躯体感觉并非导致脂质偏好的主要因素. 研究^[33]表明, 舌感受脂类可能与GPR120、糖蛋白样受体CD36有关. GPR120属于GPR家族, 为多不饱和脂肪酸受体, 在小鼠和人类的小肠和结肠的内分泌细胞中大量表达, 其与脂肪酸诱导肠道GLP-1的释放有关. 长链脂肪酸(long chain fatty acids, LCFAs)可与GPR120结合使胞内Ca²⁺增加, 是GPR120可参与食物脂质识别的证据之一^[33]. 研究^[6,31]发现GPR120 mRNA及蛋白表达于大鼠和小鼠轮廓乳头和菌状乳头味蕾细胞中, 在非味觉感受区上皮无表达. Hirasawa等^[33]研究发现LCFAs可以增加野生小鼠的甜味敏感性, 而对GLP-1R基因敲除小鼠则没有影响,

且通过免疫标记发现GPR120和GLP-1共表达于大量味蕾细胞中. 这提示脂质可能通过与长链脂肪酸受体GPR120结合进而增加GLP-1的释放从而影响甜味敏感性.

Ozdener等^[6]发现在高脂饮食喂养的肥胖小鼠口腔, 灰叶酸(GPR120配体)可刺激口腔GLP-1释放增加, 而亚油酸(CD36配体)则不引起GLP-1水平变化. 这进一步证明了GPR120可影响口腔GLP-1的释放. CD36被认为是脂质味觉受体. CD36存在于味蕾的一些神经感受细胞的顶端; 在轮廓乳头中有特别高的表达^[34]. CD36基因完全失活的小鼠对长链脂肪酸的自发偏爱也消失^[34]. 已有研究^[35]报道, 在小鼠的口腔舌轮廓乳头上, CD36作为对脂质敏感的受体, 在进食过程中其水平会下降, 而这可能是导致小鼠在摄食过程中对脂含量丰富食物饱腹感增加食欲逐渐下降的原因. 为探讨口腔CD36与GLP-1在影响脂质摄入中的关联, 通过蛋白免疫印迹的方法检测小鼠禁食整夜后再进食时轮廓乳头CD36的水平, 发现GLP-1R(-/-)小鼠CD36水平并无变化, 而正常小鼠CD36水平下降^[31]. 这说明口腔GLP-1信号通路影响CD36水平的变化. 但实验对比研究CD36(-/-)小鼠与正常小鼠, 发现口腔GLP-1水平并不受CD36的影响^[31]. 通过以上阐述, 我们可以推测在口腔中, 脂肪物质可通过与GPR120结合进而影响GLP-1的释放, 而GLP-1信号通路又可以通过影响脂质传感器CD36的水平影响口腔脂质敏感性, 从而影响机体对甜食及脂含量高的食物的偏好和摄入.

3 GLP-1与阿尔茨海默病

阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)是一种以认知障碍、记忆受损、人格改变、情感障碍等为特征的慢性进行性中枢神经系统退行性疾病. AD的主要病理改变包括神经细胞间β淀粉样蛋白(β-amyloid, Aβ)沉积构成的老年斑、过度磷酸化的Tau和神经丝蛋白形成的神经纤维缠结(neurofibril tangle, NET)、神经元丢失等^[36]. AD的具体发病机制并不明确, 但大量流行病学研究^[37]显示, T2DM作为危险因素可使AD和血管性痴呆病风险增加2-5倍. GLP-1作为糖尿病的治疗药物, 同样也被大量应用于神经退行性疾病的研究中. GLP-1可通过与中枢内GLP-1R结合, 发挥神经保护作用, 改善

认知功能. 胰岛素抵抗是T2DM发生的主要原因之一, 而AD患者脑内也有胰岛素抵抗的情况. 在中枢神经系统, 胰岛素受体广泛分布于脑组织神经元及神经胶质细胞, 最主要集中在主导学习记忆和认知功能的嗅球、下丘脑、海马、大脑皮层、小脑. 与外周胰岛素相比中枢胰岛素作用更为丰富, 包括调节神经细胞的能量代谢平衡、维持神经增殖发育、调节神经递质的释放等^[38]. AD患者脑内存在胰岛素和胰岛素样生长因子利用障碍, 导致胰岛素受体对胰岛素的敏感性降低以及胰岛素信号异常, 最终影响大脑对葡萄糖的利用, 往下发展则可能发展为神经退行性疾病. de la Monte等^[39]研究证实, AD患者A β 沉积和神经细胞骨架损伤与脑内胰岛素及胰岛素样生长因子调控基因异常密切相关. 另外, 因为葡萄糖利用障碍最终影响能量代谢, 可致使氧化应激的异常发生, 产生过量活性氧基团(reactive oxygen species, ROS)导致炎症、DNA损伤、线粒体功能障碍, 诱导细胞凋亡的发生^[40]. GLP-1可以通过改善胰岛素抵抗、降低星形胶质细胞和小胶质细胞的数量以及减少A β 斑块干预AD的发展^[41]. Tau蛋白过度磷酸化, 导致神经纤维缠结是AD的病理改变之一, GLP-1还可通过改善胰岛素信号通路中蛋白激酶Akt、糖原合成酶激酶3(glycogen synthase kinase 3, GSK3)等激酶的活性影响Tau蛋白磷酸化. 研究^[42]证明GLP-1及其类似物可降低脑内Tau蛋白的过度磷酸化, 提高AD模型的学习记忆能力. 另有报道, GLP-1可通过PI3K-AKT途径调节GLUT的转位, GLUT作为胰岛素敏感分子对中枢内葡萄糖的转运至关重要^[43], GLP-1可通过调节GLUT影响脑内葡萄糖从神经细胞外转运入神经元内, 从而维持脑内血糖水平. 糖尿病与AD的相关性及GLP-1一系列直接或间接的神经保护作用使其成为治疗神经退行性疾病的研究热点.

4 GLP-1与胃肠道激素

4.1 GLP-1在胃肠道的分泌

肠道L细胞分泌GLP-1是一种电生理活动, 其释放有赖于营养物质的刺激, 还可能受肠道菌群的影响. 体外研究证实, 肠道葡萄糖转运可诱导动作电位产生及钙离子内流, 最终促进GLP-1的释放. 激活小肠上部刷状缘的钠-葡萄糖协同转运蛋白

1(sodium-glucose co-transporter 1, SGLT1)可引起钠离子内流、细胞膜去极化、钙离子通道开放, 最终导致钙离子在细胞内的聚集, 促使GLP-1和GIP的分泌^[13]. 体外实验中, 应用SGLT1抑制剂可抑制葡萄糖介导的GLP-1和GIP的分泌^[44]. Powell等^[45]研究发现, 给SGLT1基因敲除小鼠喂糖, 发现血浆GLP-1水平升高. 这可能是由于SGLT1缺乏, 小肠上部对葡萄糖吸收作用减弱, 葡萄糖来到小肠末端, 通过其他信号通路刺激小肠末端L细胞分泌GLP-1增多. 另外如前所诉, 葡萄糖介导GLP-1的释放也可能是通过味觉受体通路的介导. 脂类物质可通过多种机制促进肠促胰岛素的分泌, 大量研究表明, 小肠内分泌细胞上表达有多种脂肪酸受体, 如GPR家族, 包括GPR40、GPR41、GPR43、GPR120等. GPR120在人和小鼠肠道内分泌细胞及STC-1细胞系均表达, 激活GPR120可促进GLP-1的分泌. 缺乏GPR43的小鼠在短链脂肪酸的刺激下, 血浆GLP-1水平无明显变化^[46]. 此外已大量证实, 给予高脂饮食的小鼠其肠道脂肪酸受体表达水平会发生变化, 而相关肠促胰岛素水平也发生变化. 以上可说明, 肠道GLP-1的分泌释放与脂类物质有关. 相对于葡萄糖和脂类而言, 蛋白质促进肠促胰岛素分泌的作用较弱. 研究发现, L-谷氨酰胺能刺激GLP-1释放. 这可能是因为L-谷氨酰胺能利用介导氨基酸吸收过程中的产电效应, 使细胞膜去极化, 另外还可能通过GPR提高胞内cAMP浓度. 除营养物质外, 一些非营养物质也可以介导GLP-1的分泌.

4.2 GLP-1与各胃肠激素的关系

胃肠道激素种类繁多, 生理作用也互有交叉, 正因为他们散在分布于肠道各部位由不同细胞产生和分泌, 理清胃肠各激素之间的关系一直以来都是难以攻克的难题. 随着实验检测技术的不断成熟, 相关的研究和报告也越来越多. 同属肠促胰岛素的GIP, 他的发现早于GLP-1. GIP的主要生理功能是促进 β 细胞分泌胰岛素, 抑制胃排空. GIP在T2DM患者体内过度分泌, 但其促胰岛素分泌的作用却显著降低, 这也是T2DM发病机制的重要因素之一. GIP由哺乳动物十二指肠和空肠黏膜的K细胞分泌, 分泌入血后立即被二肽基肽酶IV降解. 已知GLP-1由肠道L细胞分泌, 在小肠中段L细胞和K细胞存在约30%的重叠^[47], 而研究^[48]发现, 在 β 细胞内GLP-1与

应用要点

本文详述GLP-1及其受体分布特点及相关作用功能, 对未来肠促胰岛素的研究提供了方向, 对攻克肥胖及相关代谢疾病、阿茨海默病等临床无法解决的难题提供了一定的思路及理论根据.

同行评价

文章总体描述了GLP-1及其受体的特点, 及其与味觉、疾病方面的关系, 大致描述了GLP-1的作用机制和特点, 较好的概括了目前GLP-1在这一类领域的研究前沿。

GIP共用相同的信号转导通路, 由此推测L细胞和K细胞之间存在类似旁分泌的作用。GIP可剂量依赖刺激GLP-1的分泌, 其作用机制可能与蛋白激酶A的介导有关^[49]。GLP-1的释放除了依赖于肠道营养物质的刺激外, 还受神经系统的影响。进食后, 在营养物质刺激下分泌的GIP通过迷走神经传入神经刺激中枢下丘脑, 再由迷走神经传出神经刺激肠神经元细胞释放胃泌素释放肽和乙酰胆碱, 最终引起GLP-1的释放增加。肠-脑轴在食欲调节中发挥着重要作用, 胃肠道激素可通过肠-脑轴产生厌食或促食作用。GLP-1作为一种厌食肽, 有抑制食欲的作用。在胃肠道激素中, 抑食欲肽还包括胃泌酸调节素(oxyntomodulin, OXM)和肽YY(peptide-YY, PYY)。同样由胃肠道L细胞分泌的PYY和OXM也具有减少摄食的作用。PYY在摄食后分泌, 其作用主要是调节下一餐进食的时间和分量。大量实验发现, 长期给予PYY可减少食欲降低体质量, 而缺乏PYY的小鼠则多有不同程度的肥胖。OXM与GLP-1起源相同, 为同种基因不同片段的翻译产物, 且具有同一受体, 但其对GLP-1受体亲和力远低于GLP-1。OXM在摄食过程中释放入血, 与摄入食物热卡成正比, 通过降低循环中Ghrelin来降低体质量^[50]。Ghrelin由胃底和胃体黏膜的X/A细胞合成的, 是目前所知唯一的促食欲肽。Ghrelin是人体生长激素促分泌素受体的配体, 可通过与受体结合促进生长激素的释放^[51]。啮齿类动物的研究^[52]发现Ghrelin在餐前升高餐后降低, 注射Ghrelin可刺激动物快速进食, 长期注射能导致肥胖。在神经系统的摄食中枢, Ghrelin能减弱瘦素(Leptin)对NPY、AgRP神经元的抑制效应, 促进促食欲神经肽NPY、AgRP的表达和产生, 从而促进摄食^[53]。近来一系列研究^[54,55]表明, Ghrelin可通过调节信号转导通路抑制胰岛素的分泌。GLP-1可能通过刺激胰岛素分泌抑制Ghrelin水平。经过胃旁路手术治疗后的肥胖患者, 其循环中各脑肠肽激素水平的变化与体质量的变化相关, 术后抑食欲肽PYY、GLP-1、OXM升高, 而促食欲肽Ghrelin降低, 这可能是减质量成功的机制之一^[56]。另外, nesfatin-1作为一种新发现的抑制食欲因子, 他与GLP-1的关系也是大家关注的焦点。在T2DM患者, nesfatin-1水平显著低于正常人及1型患者^[57]。在小鼠和大鼠的β细胞中, nesfatin-1前体与胰岛素共存。肥胖T2DM

患者应用艾塞那肽后, nesfatin-1水平会上升。GLP-1与nesfatin-1在抑制食欲及调节血糖作用中具体关系目前仍不明确。研究GLP-1与各脑肠肽在对食欲体质量的作用及机制上的关系对治疗肥胖等相关疾病意义重大。

5 结论

GLP-1作为肠促胰岛素治疗糖尿病的作用已被世界认可。其对于胃肠道、肝脏、心血管、中枢神经系统、学习记忆认知等方面的作用也是近年来大家研究的热点。除了应用于糖尿病的治疗外, 同样令人期待的就是将其用于肥胖症治疗的潜力。肥胖是临床诸多疾病的危险因素。GLP-1在口腔通过一系列机制和信号通路影响小鼠对甜味及脂质的偏好, 这可能是造成肥胖及其他食源性疾病的原因之一。因此, 探讨GLP-1对味觉和食物摄入的影响及机制至关重要, 这可能成为GLP-1治疗肥胖等代谢疾病的切入点。其次, AD作为一种机制并不明确的神经退行性疾病, 迫切的需要有效治疗药物的出现。鉴于T2DM与AD的相关性, GLP-1通过改善脑内胰岛素抵抗、胰岛素信号及糖代谢影响神经元及神经细胞的增殖、修复、再生、分化及凋亡发挥神经保护作用, 使其对AD同样具有一定的临床应用价值。

此外, 各种动物实验及体内体外研究仍在致力于挖掘GLP-1新的作用和价值, 比如GLP-1受体激动剂艾塞那肽通过调节葡萄糖转运蛋白改善肝脂肪变性及纤维化; 通过抑制酶的激活延缓前列腺癌细胞的生长; GLP-1可改善肺阻塞疾病的肺功能; GLP-1对成骨细胞及脂肪细胞的调节; GLP-1与肠道SGLT1的相互关系等。虽然目前GLP-1非糖尿病应用的诸多数据并不明确, 但大量的动物实验结果说明其潜力不容忽视。总之, GLP-1作为脑肠肽、胃肠肽以及一种神经递质, 在各个系统各器官组织均有研究价值, 关于这些方面的研究也将有力的推进GLP-1及其类似物和受体激动剂的临床应用进程。

6 参考文献

- 1 Elrick H, Stimmler L, Hlad CJ, Arai Y. Plasma insulin response to oral and intravenous glucose administration. *J Clin Endocrinol Metab* 1964; 24: 1076-1082 [PMID: 14228531 DOI: 10.1210/jcem-24-10-1076]
- 2 Baggio LL, Drucker DJ. Biology of incretins: GLP-1

- and GIP. *Gastroenterology* 2007; 132: 2131-2157 [PMID: 17498508 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.03.054]
- 3 de la Monte SM, Wands JR. Alzheimer's disease is type 3 diabetes-evidence reviewed. *J Diabetes Sci Technol* 2008; 2: 1101-1113 [PMID: 19885299]
- 4 Porter DW, Kerr BD, Flatt PR, Holscher C, Gault VA. Four weeks administration of Liraglutide improves memory and learning as well as glycaemic control in mice with high fat dietary-induced obesity and insulin resistance. *Diabetes Obes Metab* 2010; 12: 891-899 [PMID: 20920042 DOI: 10.1111/j.1463-1326.2010.01259.x]
- 5 Shin YK, Martin B, Golden E, Dotson CD, Maudsley S, Kim W, Jang HJ, Mattson MP, Drucker DJ, Egan JM, Munger SD. Modulation of taste sensitivity by GLP-1 signaling. *J Neurochem* 2008; 106: 455-463 [PMID: 18397368 DOI: 10.1111/j.1471-4159.2008.05397.x]
- 6 Ozdener MH, Subramaniam S, Sundaresan S, Sery O, Hashimoto T, Asakawa Y, Besnard P, Abumrad NA, Khan NA. CD36- and GPR120-mediated Ca²⁺ signaling in human taste bud cells mediates differential responses to fatty acids and is altered in obese mice. *Gastroenterology* 2014; 146: 995-1005 [PMID: 24412488 DOI: 10.1053/j.gastro.2014.01.006]
- 7 Vrang N, Hansen M, Larsen PJ, Tang-Christensen M. Characterization of brainstem preproglucagon projections to the paraventricular and dorsomedial hypothalamic nuclei. *Brain Res* 2007; 1149: 118-126 [PMID: 17433266 DOI: 10.1016/j.brainres.2007.02.043]
- 8 Tauchi M, Zhang R, D'Alessio DA, Stern JE, Herman JP. Distribution of glucagon-like peptide-1 immunoreactivity in the hypothalamic paraventricular and supraoptic nuclei. *J Chem Neuroanat* 2008; 36: 144-149 [PMID: 18773953 DOI: 10.1016/j.jchemneu.2008.07.009]
- 9 Llewellyn-Smith IJ, Reimann F, Gribble FM, Trapp S. Preproglucagon neurons project widely to autonomic control areas in the mouse brain. *Neuroscience* 2011; 180: 111-121 [PMID: 21329743 DOI: 10.1016/j.neuroscience.2011.02.023]
- 10 Sandoval DA, Bagnol D, Woods SC, D'Alessio DA, Seeley RJ. Arcuate glucagon-like peptide 1 receptors regulate glucose homeostasis but not food intake. *Diabetes* 2008; 57: 2046-2054 [PMID: 18487451 DOI: 10.2337/db07-1824]
- 11 Scott MM, Williams KW, Rossi J, Lee CE, Elmquist JK. Leptin receptor expression in hindbrain Glp-1 neurons regulates food intake and energy balance in mice. *J Clin Invest* 2011; 121: 2413-2421 [PMID: 21606595 DOI: 10.1172/JCI43703]
- 12 Holst JJ. The physiology of glucagon-like peptide 1. *Physiol Rev* 2007; 87: 1409-1439 [PMID: 17928588 DOI: 10.1152/physrev.00034.2006]
- 13 Gorboulev V, Schürmann A, Vallon V, Kipp H, Jaschke A, Klessen D, Friedrich A, Scherneck S, Rieg T, Cunard R, Veyhl-Wichmann M, Srinivasan A, Balen D, Breljak D, Rexhepaj R, Parker HE, Gribble FM, Reimann F, Lang F, Wiese S, Sabolic I, Sendtner M, Koepsell H. Na⁺-D-glucose cotransporter SGLT1 is pivotal for intestinal glucose absorption and glucose-dependent incretin secretion. *Diabetes* 2012; 61: 187-196 [PMID: 22124465 DOI: 10.2337/db11-1029]
- 14 Lan H, Vassileva G, Corona A, Liu L, Baker H, Golovko A, Abbondanzo SJ, Hu W, Yang S, Ning Y, Del Vecchio RA, Poulet F, Lavery M, Gustafson EL, Hedrick JA, Kowalski TJ. GPR119 is required for physiological regulation of glucagon-like peptide-1 secretion but not for metabolic homeostasis. *J Endocrinol* 2009; 201: 219-230 [PMID: 19282326 DOI: 10.1677/JOE-08-0453]
- 15 Tanaka T, Yano T, Adachi T, Koshimizu TA, Hirasawa A, Tsujimoto G. Cloning and characterization of the rat free fatty acid receptor GPR120: in vivo effect of the natural ligand on GLP-1 secretion and proliferation of pancreatic beta cells. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2008; 377: 515-522 [PMID: 18320172 DOI: 10.1007/s00210-007-0250-y]
- 16 Edfalk S, Steneberg P, Edlund H. Gpr40 is expressed in enteroendocrine cells and mediates free fatty acid stimulation of incretin secretion. *Diabetes* 2008; 57: 2280-2287 [PMID: 18519800 DOI: 10.2337/db08-0307]
- 17 Tolhurst G, Zheng Y, Parker HE, Habib AM, Reimann F, Gribble FM. Glutamine triggers and potentiates glucagon-like peptide-1 secretion by raising cytosolic Ca²⁺ and cAMP. *Endocrinology* 2011; 152: 405-413 [PMID: 21209017 DOI: 10.1210/en.2010-0956]
- 18 Dyer J, Salmon KS, Zibrik L, Shirazi-Beechey SP. Expression of sweet taste receptors of the T1R family in the intestinal tract and enteroendocrine cells. *Biochem Soc Trans* 2005; 33: 302-305 [PMID: 15667333 DOI: 10.1042/BST0330302]
- 19 Jang HJ, Kokrashvili Z, Theodorakis MJ, Carlson OD, Kim BJ, Zhou J, Kim HH, Xu X, Chan SL, Juhaszova M, Bernier M, Mosinger B, Margolskee RF, Egan JM. Gut-expressed gustducin and taste receptors regulate secretion of glucagon-like peptide-1. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 15069-15074 [PMID: 17724330 DOI: 10.1073/pnas.0706890104]
- 20 Wu SV, Chen MC, Rozengurt E. Genomic organization, expression, and function of bitter taste receptors (T2R) in mouse and rat. *Physiol Genomics* 2005; 22: 139-149 [PMID: 15886333 DOI: 10.1152/physiolgenomics.00030.2005]
- 21 Bezençon C, le Coutre J, Damak S. Taste-signaling proteins are coexpressed in solitary intestinal epithelial cells. *Chem Senses* 2007; 32: 41-49 [PMID: 17030556 DOI: 10.1093/chemse/bjl034]
- 22 Young RL. Sensing via intestinal sweet taste pathways. *Front Neurosci* 2011; 5: 23 [PMID: 21519398 DOI: 10.3389/fnins.2011.00023]
- 23 Bachmanov AA, Beauchamp GK. Taste receptor genes. *Annu Rev Nutr* 2007; 27: 389-414 [PMID: 17444812 DOI: 10.1146/annurev.nutr.26.061505.111329]
- 24 Suzuki T. Cellular mechanisms in taste buds. *Bull Tokyo Dent Coll* 2007; 48: 151-161 [PMID: 18360101]
- 25 Daly K, Al-Rammahi M, Arora DK, Moran AW, Proudman CJ, Ninomiya Y, Shirazi-Beechey SP. Expression of sweet receptor components in equine small intestine: relevance to intestinal glucose transport. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2012; 303: R199-R208 [PMID: 22552794 DOI: 10.1152/ajpregu.00031.2012]
- 26 Sato S, Hokari R, Kurihara C, Sato H, Narimatsu K, Hozumi H, Ueda T, Higashiyama M, Okada Y, Watanabe C, Komoto S, Tomita K, Kawaguchi A,

- Nagao S, Miura S. Dietary lipids and sweeteners regulate glucagon-like peptide-2 secretion. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2013; 304: G708-G714 [PMID: 23370677 DOI: 10.1152/ajpgi.00282.2012]
- 27 Fujita Y, Wideman RD, Speck M, Asadi A, King DS, Webber TD, Haneda M, Kieffer TJ. Incretin release from gut is acutely enhanced by sugar but not by sweeteners in vivo. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009; 296: E473-E479 [PMID: 19106249 DOI: 10.1152/ajpendo.90636.2008]
- 28 Ma J, Bellon M, Wishart JM, Young R, Blackshaw LA, Jones KL, Horowitz M, Rayner CK. Effect of the artificial sweetener, sucralose, on gastric emptying and incretin hormone release in healthy subjects. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009; 296: G735-G739 [PMID: 19221011 DOI: 10.1152/ajpgi.90708.2008]
- 29 Vrang N, Larsen PJ. Preproglucagon derived peptides GLP-1, GLP-2 and oxyntomodulin in the CNS: role of peripherally secreted and centrally produced peptides. *Prog Neurobiol* 2010; 92: 442-462 [PMID: 20638440 DOI: 10.1016/j.pneurobio.2010.07.003]
- 30 Feng XH, Liu XM, Zhou LH, Wang J, Liu GD. Expression of glucagon-like peptide-1 in the taste buds of rat circumvallate papillae. *Acta Histochem* 2008; 110: 151-154 [PMID: 18054375 DOI: 10.1016/j.acthis.2007.10.005]
- 31 Martin C, Passilly-Degrace P, Chevrot M, Ancel D, Sparks SM, Drucker DJ, Besnard P. Lipid-mediated release of GLP-1 by mouse taste buds from circumvallate papillae: putative involvement of GPR120 and impact on taste sensitivity. *J Lipid Res* 2012; 53: 2256-2265 [PMID: 22904345 DOI: 10.1194/jlr.M025874]
- 32 Smith JC. Orosensory factors in fat detection. In: Montmayeur JP, le Coutre J, editors. *Fat detection: Taste, texture, and post ingestive effects*. Boca Raton (FL), 2010
- 33 Hirasawa A, Tsumaya K, Awaji T, Katsuma S, Adachi T, Yamada M, Sugimoto Y, Miyazaki S, Tsujimoto G. Free fatty acids regulate gut incretin glucagon-like peptide-1 secretion through GPR120. *Nat Med* 2005; 11: 90-94 [PMID: 15619630 DOI: 10.1038/nm1168]
- 34 Laugerette F, Passilly-Degrace P, Patris B, Niot I, Febbraio M, Montmayeur JP, Besnard P. CD36 involvement in orosensory detection of dietary lipids, spontaneous fat preference, and digestive secretions. *J Clin Invest* 2005; 115: 3177-3184 [PMID: 16276419 DOI: 10.1172/JCI25299]
- 35 Martin C, Passilly-Degrace P, Gaillard D, Merlin JF, Chevrot M, Besnard P. The lipid-sensor candidates CD36 and GPR120 are differentially regulated by dietary lipids in mouse taste buds: impact on spontaneous fat preference. *PLoS One* 2011; 6: e24014 [PMID: 21901153 DOI: 10.1371/journal.pone.0024014]
- 36 Takata K, Kitamura Y, Taniguchi T. [Pathological changes induced by amyloid- β in Alzheimer's disease]. *Yakugaku Zasshi* 2011; 131: 3-11 [PMID: 21212607]
- 37 Xu WL, von Strauss E, Qiu CX, Winblad B, Fratiglioni L. Uncontrolled diabetes increases the risk of Alzheimer's disease: a population-based cohort study. *Diabetologia* 2009; 52: 1031-1039 [PMID: 19280172 DOI: 10.1007/s00125-009-1323-x]
- 38 Craft S, Watson GS. Insulin and neurodegenerative disease: shared and specific mechanisms. *Lancet Neurol* 2004; 3: 169-178 [PMID: 14980532 DOI: 10.1016/S1474-4422(04)00681-7]
- 39 de la Monte SM. Brain insulin resistance and deficiency as therapeutic targets in Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* 2012; 9: 35-66 [PMID: 22329651]
- 40 Padurariu M, Ciobica A, Hritcu L, Stoica B, Bild W, Stefanescu C. Changes of some oxidative stress markers in the serum of patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 2010; 469: 6-10 [PMID: 19914330 DOI: 10.1016/j.neulet.2009.11.033]
- 41 Long-Smith CM, Manning S, McClean PL, Coakley MF, O'Halloran DJ, Holscher C, O'Neill C. The diabetes drug liraglutide ameliorates aberrant insulin receptor localisation and signalling in parallel with decreasing both amyloid- β plaque and glial pathology in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neuromolecular Med* 2013; 15: 102-114 [PMID: 23011726 DOI: 10.1007/s12017-012-8199-5]
- 42 Li L, Zhang ZF, Holscher C, Gao C, Jiang YH, Liu YZ. (Val8) glucagon-like peptide-1 prevents tau hyperphosphorylation, impairment of spatial learning and ultra-structural cellular damage induced by streptozotocin in rat brains. *Eur J Pharmacol* 2012; 674: 280-286 [PMID: 22115895 DOI: 10.1016/j.ejphar.2011.11.005]
- 43 Harkavyi A, Whitton PS. Glucagon-like peptide 1 receptor stimulation as a means of neuroprotection. *Br J Pharmacol* 2010; 159: 495-501 [PMID: 20128800 DOI: 10.1111/j.1476-5381.2009.00486.x]
- 44 Parker HE, Adriaenssens A, Rogers G, Richards P, Koepsell H, Reimann F, Gribble FM. Predominant role of active versus facilitative glucose transport for glucagon-like peptide-1 secretion. *Diabetologia* 2012; 55: 2445-2455 [PMID: 22638549 DOI: 10.1007/s00125-012-2585-2]
- 45 Powell DR, Smith M, Greer J, Harris A, Zhao S, DaCosta C, Mseeh F, Shadoan MK, Sands A, Zambrowicz B, Ding ZM. LX4211 increases serum glucagon-like peptide 1 and peptide YY levels by reducing sodium/glucose cotransporter 1 (SGLT1)-mediated absorption of intestinal glucose. *J Pharmacol Exp Ther* 2013; 345: 250-259 [PMID: 23487174 DOI: 10.1124/jpet.113.203364]
- 46 Tolhurst G, Heffron H, Lam YS, Parker HE, Habib AM, Diakogiannaki E, Cameron J, Grosse J, Reimann F, Gribble FM. Short-chain fatty acids stimulate glucagon-like peptide-1 secretion via the G-protein-coupled receptor FFAR2. *Diabetes* 2012; 61: 364-371 [PMID: 22190648 DOI: 10.2337/db11-1019]
- 47 Damholt AB, Kofod H, Buchan AM. Immunocytochemical evidence for a paracrine interaction between GIP and GLP-1-producing cells in canine small intestine. *Cell Tissue Res* 1999; 298: 287-293 [PMID: 10571117]
- 48 Gallwitz B, Witt M, Morys-Wortmann C, Fölsch UR, Schmidt WE. GLP-1/GIP chimeric peptides define the structural requirements for specific ligand-receptor interaction of GLP-1. *Regul Pept* 1996; 63: 17-22 [PMID: 8795084]

- 49 Damholt AB, Buchan AM, Kofod H. Glucagon-like-peptide-1 secretion from canine L-cells is increased by glucose-dependent-insulinotropic peptide but unaffected by glucose. *Endocrinology* 1998; 139: 2085-2091 [PMID: 9528997 DOI: 10.1210/endo.139.4.5921]
- 50 Patterson M, Murphy KG, Patel SR, Patel NA, Greenwood HC, Cooke JH, Campbell D, Bewick GA, Ghatei MA, Bloom SR. Hypothalamic injection of oxyntomodulin suppresses circulating ghrelin-like immunoreactivity. *Endocrinology* 2009; 150: 3513-3520 [PMID: 19359390 DOI: 10.1210/en.2008-0796]
- 51 Beiras-Fernandez A, Kreth S, Weis F, Ledderose C, Pöttinger T, Dieguez C, Beiras A, Reichart B. Altered myocardial expression of ghrelin and its receptor (GHSR-1a) in patients with severe heart failure. *Peptides* 2010; 31: 2222-2228 [PMID: 20804798 DOI: 10.1016/j.peptides.2010.08.019]
- 52 Tschöp M, Smiley DL, Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 2000; 407: 908-913 [PMID: 11057670 DOI: 10.1038/35038090]
- 53 Konturek SJ, Konturek JW, Pawlik T, Brzozowski T. Brain-gut axis and its role in the control of food intake. *J Physiol Pharmacol* 2004; 55: 137-154 [PMID: 15082874]
- 54 Wang Y, Nishi M, Doi A, Shono T, Furukawa Y, Shimada T, Furuta H, Sasaki H, Nanjo K. Ghrelin inhibits insulin secretion through the AMPK-UCP2 pathway in beta cells. *FEBS Lett* 2010; 584: 1503-1508 [PMID: 20206170 DOI: 10.1016/j.febslet.2010.02.069]
- 55 Dezaki K, Damdindorj B, Sone H, Dyachok O, Tengholm A, Gylfe E, Kurashina T, Yoshida M, Kakei M, Yada T. Ghrelin attenuates cAMP-PKA signaling to evoke insulinostatic cascade in islet β -cells. *Diabetes* 2011; 60: 2315-2324 [PMID: 21788571 DOI: 10.2337/db11-0368]
- 56 Furnes MW, Tømmerås K, Arum CJ, Zhao CM, Chen D. Gastric bypass surgery causes body weight loss without reducing food intake in rats. *Obes Surg* 2008; 18: 415-422 [PMID: 18247101 DOI: 10.1007/s11695-007-9392-8]
- 57 Li QC, Wang HY, Chen X, Guan HZ, Jiang ZY. Fasting plasma levels of nesfatin-1 in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus and the nutrient-related fluctuation of nesfatin-1 level in normal humans. *Regul Pept* 2010; 159: 72-77 [PMID: 19896982 DOI: 10.1016/j.regpep.2009.11.003]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



慢病毒-HBx表达载体的构建及其在人正常肝细胞系 Chang liver 的稳定表达

鲁 琰, 朱明月, 张雪儿, 李 伟, 董 棚, 陈 彬, 林 波, 郭峻莉, 李孟森

背景资料

乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 感染是导致肝癌发生的重要原因, HBV 主要通过乙型肝炎病毒X蛋白 (hepatitis B virus x, HBx) 发挥促进肝细胞恶性转化的作用。但是 HBx 如何诱导肝细胞恶性转化, 目前并不完全清楚。所以建立携带表达 HBx 的载体的正常细胞系, 是研究 HBx 诱导肝细胞恶性转化的有利工具。正常肝细胞转染表达 HBx 的载体后, 不仅能观察对肝细胞恶性相关基因的表达, 而且也能研究 HBx 诱导肝细胞恶性转化过程中的基因表达的时序性, 对预警 HBV 相关肝癌的发生具有重要的学术价值。

鲁琰, 朱明月, 李伟, 董棚, 陈彬, 林波, 郭峻莉, 李孟森, 海南医学院分子生物学重点实验室 海南省肿瘤发生与干预重点实验室 海南省海口市 571199
 张雪儿, 海南医学院2013级临床医学本科班 海南省海口市 571199
 李孟森, 海南医学院肿瘤研究所 海南省海口市 570102
 鲁琰, 研究实习生, 主要从事肿瘤分子生物学方面的研究。
 国家自然科学基金资助项目, Nos. 81560450, 81360307, 81260306, 81160261, 31060164
 海南省社会发展专项基金资助项目, No. 2015SF03
 海南省重点科技基金资助项目, No. DZXM20110038
 海南医学院培育基金资助项目, No. HY2013-19
 海南医学院大学生创新计划基金资助项目, No. HYCX2014031
 作者贡献分布: 鲁琰与朱明月负责慢病毒-HBx表达载体的构建、蛋白表达的检测, 研究数据的分析及论文撰写; 张雪儿负责细胞的培养和蛋白质提取; 李伟、董棚及陈彬负责表达载体转染和表达的检测; 林波负责测序与分析; 郭峻莉与李孟森负责研究内容的设计、研究数据的分析以及论文的撰写与审校。
 通讯作者: 李孟森, 研究员, 571199, 海南省海口市学院路3号, 海南医学院, 海南省肿瘤发生和干预重点实验室。
 mengsenli@163.com
 收稿日期: 2015-06-27 修回日期: 2015-08-18
 接受日期: 2015-08-31 在线出版日期: 2015-10-08

Construction of a lentiviral expression vector of HBx and its stable expression in human Chang liver cell line

Yan Lu, Ming-Yue Zhu, Xue-Er Zhang, Wei Li, Xu Dong, Yi Chen, Bo Lin, Jun-Li Guo, Meng-Sen Li

Yan Lu, Ming-Yue Zhu, Wei Li, Xu Dong, Yi Chen, Bo Lin, Jun-Li Guo, Meng-Sen Li, Hainan Medical College Key Laboratory of Molecular Biology; Hainan Provincial Key Laboratory of Carcinogenesis and Intervention, Haikou 571199, Hainan Province, China
 Xue-Er Zhang, Undergraduate School of Clinical Medicine, Hainan Medical College, Haikou 571199, Hainan Province, China
 Meng-Sen Li, Institute of Tumor Research, Hainan Medical College, Haikou 570102, Hainan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81560450, 81360307, 81260306, 81160261 and 31060164; Key Program of Science and Technology of Hainan Province, No. DZXM20110038; the Fund of Hainan Provincial Society Development, No. 2015SF03; the Incubation Foundation of Hainan Medical College, No. HY2013-19; the Undergraduate Student Innovation Project of Hainan Medical College, No. HYCX2014031
 Correspondence to: Meng-Sen Li, Professor, Hainan Provincial Key Laboratory of Carcinogenesis and Intervention, Hainan Medical College, 3 Xueyuan Road, Longhua District, Haikou 571199, Hainan Province, China. mengsenli@163.com
 Received: 2015-06-27 Revised: 2015-08-18
 Accepted: 2015-08-31 Published online: 2015-10-08

Abstract

AIM: To construct a lentiviral expression vector carrying the hepatitis B virus x (HBx) gene and to test its expression in the human Chang liver cell line.

METHODS: The HBx gene was amplified from plasmid pcDNA3.1-HBx by PCR. The purified HBx gene fragment was inserted into the pEB-3xflag-GP-Puro lentiviral vector, and the inserted fragment was identified by PCR, restriction endonuclease digestion and DNA sequencing. The recombinant vector was then transfected into Chang liver cells. Puromycin was applied to screen stable cell clones, and the expression of HBx in Chang liver cells was examined by immunofluorescence and Western blot.

RESULTS: Restriction enzyme digestion and DNA sequencing showed that the HBx gene had been successfully subcloned into the pEB-3xflag-GP-Puro vector. The titer of purified recombinant lentivirus was 1×10^8 TU/mL.

同行评议者

高国全, 教授, 中山大学中山医学院生物化学教研室; 高英堂, 研究员, 天津市第三中心医院

HBx was produced after transfection with the recombinant lentivirus vector and screening with puromycin. Stable expression of HBx protein was present in Chang liver-HBx cells.

CONCLUSION: The Chang liver-HBx cell line that can stably express the HBx gene has been successfully generated; this model cell may be applied to study the role of HBx in the malignant transformation of liver cells.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hepatitis B virus X protein; Chang liver cell; Lentiviral vector

Lu Y, Zhu MY, Zhang XE, Li W, Dong X, Chen Y, Lin B, Guo JL, Li MS. Construction of a lentiviral expression vector of HBx and its stable expression in human Chang liver cell line. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(28): 4482-4489 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4482.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i28.4482>

摘要

目的: 构建乙型肝炎病毒X基因(hepatitis B virus x, HBx)慢病毒表达载体, 建立稳定表达HBx蛋白的人正常肝细胞系Chang liver-HBx。

方法: 应用聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)方法从质粒中扩增HBx基因, 并克隆到慢病毒pEB-3xflag-GP-Puro载体上, 经PCR、酶切和测序鉴定正确后经慢病毒包装感染人肝细胞Chang liver, 再用嘌呤霉素筛选出稳定表达HBx蛋白的细胞株, 最后用免疫荧光和Western blot技术检测HBx蛋白的表达。

结果: 酶切鉴定和基因测序证实HBx基因成功克隆到慢病毒表达载体上, 重组慢病毒经包装纯化后获得滴度为 1×10^8 TU/mL, 用包装好的重组慢病毒感染人肝细胞Chang liver, 经嘌呤霉素筛选获得单克隆细胞株Chang liver-HBx, 利用免疫荧光和Western blot技术检测发现细胞株Chang liver-HBx可稳定表达HBx蛋白。

结论: 成功构建了HBx的重组慢病毒表达载体, 获得了稳定表达HBx的Chang liver细胞系Chang liver-HBx, 为进一步研究HBx诱导正常肝细胞恶性转化提供细胞模型。

© 2015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X蛋白; Chang liver细胞; 慢病毒载体

核心提示: 乙型肝炎病毒X(hepatitis B virus x, HBx)是诱导肝细胞恶性转化的关键分子。研究发现HBx能激活生长信号, 或抑制P53的转录调节功能, 促进肝细胞的恶性转化。本研究成功构建pEB-GFP-HBx载体, 并成功转染Chang Liver细胞, 为研究HBx诱导肝细胞恶性转化建立了细胞模型。

鲁琰, 朱明月, 张雪儿, 李伟, 董翔, 陈彬, 林波, 郭峻莉, 李孟森. 慢病毒-HBx表达载体的构建及其在人正常肝细胞系Chang liver的稳定表达. *世界华人消化杂志* 2015; 23(28): 4482-4489 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4482.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i28.4482>

0 引言

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)的慢性感染是促进原发性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)形成的主要诱因, 其相关性高达80%^[1]. HBV是嗜肝DNA病毒科中正类嗜肝DNA病毒属的一员, 基因组全长约3.2 kb, 有4个开放阅读框架, 即包膜(S)、核心(C)、多聚酶(P)、X基因区^[2]. 由X基因编码的HBx蛋白由154个氨基酸残基组成, 分子量约为17.5 kDa. 目前, 大部分研究^[3]表明HBx蛋白可以在慢性肝炎患者体内产生, HBx本身不能直接与双链DNA结合, 而是通过蛋白质与蛋白质之间的相互作用来行使功能^[4,5]. 肝癌的基本特征是肝细胞的调节紊乱, 造成调节细胞生长因子和诱导细胞死亡因素之间的失衡. 近年来, 越来越多的证据表明HBx可以与肝细胞核内外的大量蛋白质分子发生作用^[6,7], 来调节肝细胞的增殖和凋亡, 造成肝细胞的调节紊乱和增殖异常, 最终导致肝细胞的恶性转化和浸润转移. 但是, HBx蛋白的生物学特性与原发性肝癌发生的具体关系目前尚不清楚. 所以构建稳定表达HBx蛋白的细胞模型显得非常必要, 本研究尝试构建HBx的慢病毒表达载体, 并将载体转染到人正常肝细胞Chang liver中筛选出稳定表达HBx的细胞株, 这将为进一步研究HBx的生物学功能和致病机制提供细胞模型。

1 材料和方法

1.1 材料 人肝细胞Chang liver购自中国科学院上海细胞库; 限制性内切酶、DNA连接酶、

■ 研究前沿

研究HBx诱导肝癌发生的机制是防治肝癌的热点和重点问题. 尽管研究已经发现HBV通过HBx的作用促进肝细胞恶性转化, 但是HBx通过怎样的机制促进肝细胞恶性转化, 目前并不清楚, 如何预警HBV相关肝癌发生是亟待解决的问题。

相关报道

大量研究已经证明HBx是HBV感染后促进肝癌发生的关键因子, HBx通过优先诱导甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)表达激活磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B(phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase B)信号途径诱导肝细胞恶性转化, HBx也能通过抑制p53的转化活性促进AFP的表达, 导致肝细胞的恶性生长。这些研究结果提示, HBx诱导肝细胞恶性转化可能通过激活AFP基因的表达, 显示HBx诱导AFP表达在肝细胞的恶性转化过程中发挥重要的作用。

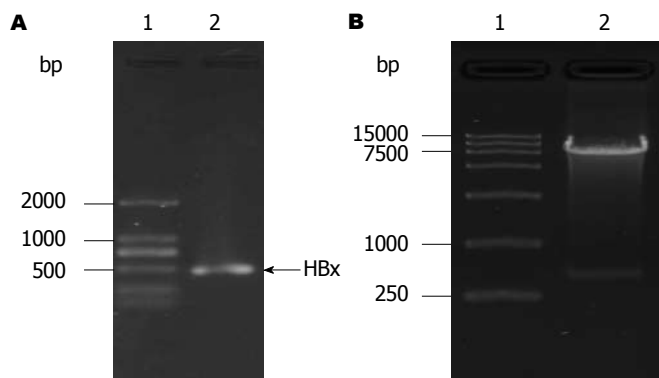


图1 从pcDNA3.1-HBx质粒中用PCR扩增得到的HBx基因和酶切鉴定。A: 从质粒pcDNA3.1-HBx中扩增HBx基因。1: Marker DL2000; 2: HBx的PCR产物(箭头显示HBx的PCR产物的DNA位置)。B: 重组慢病毒载体的酶切鉴定。1: Marker DL15000; 2: 酶切产物。HBx基因; 乙型肝炎病毒X基因。

DNA marker均购自Takara公司; PCR产物纯化试剂盒、质粒抽提试剂盒购自上海生工生物技术有限公司; 慢病毒表达系统由广州辉骏生物技术有限公司提供; DMEM培养基、胰酶消化液购自Gibico公司; 胎牛血清购自北京四季青生物技术有限公司; 嘌呤霉素购自Sigma公司; 特异性鼠抗人HBx抗体购自美国Abcam公司; β -actin抗体和马抗小鼠的IgG抗体购自美国Santa Cruz公司。

1.2 方法

1.2.1 HBx基因的获取: 从质粒pcDNA3.1-HBx(本实验室保存)中扩增HBx基因, 上游引物为5'-GATTCTAGAATGGCTGCTAGGCTGTGCTG-3', 内含Xba I 酶切位点; 下游引物为5'-GAGGAATTCGGCAGAGGTGAAAAAGTTGCATGG-3', 内含EcoR I 酶切位点。

1.2.2 重组质粒的构建和鉴定: 上述PCR扩增的目的基因片段和慢病毒载体pEB-3xflag-GP-Puro经限制性内切酶Xba I、EcoR I 双酶切过夜后, 用T4连接酶16℃连接过夜, 连接产物转化到感受态细胞大肠杆菌XL1-BLUE, 用含有氨苄青霉素的LB平板筛选出阳性克隆, 扩大培养后提取质粒, 进行PCR扩增和酶切鉴定, 将上述两种方法鉴定正确的质粒送中美泰和生物技术有限公司(中国广州)测序。

1.2.3 慢病毒包装和滴度测定: 预先准备生长汇合度为70%-80%的293T细胞, 次日将连接载体pEB-GFP-HBx与转染试剂Fitran混合, 转染293T细胞, 并用DMEM培养基培养。在转染后48 h和72 h分别收集上清, 3000 r/min 4℃离心10 min, 取上清用0.45 μ m微孔滤器过滤。并用5×PEG8000溶液浓缩慢病毒颗粒。

以每孔 1×10^4 个细胞的浓度将293T细胞铺入96孔板, 24 h后将浓缩后的慢病毒按梯度稀释, 依次加入细胞培养孔中。培养96 h后观察荧光表达情况, 数出最大稀释倍数孔中含有荧光细胞的个数; 病毒原液的滴度值(TU/mL) = 荧光细胞个数/稀释后的病毒实际体积。

1.2.4 重组慢病毒转染正常人肝脏Chang liver细胞系并筛选稳定表达株: 按照常规方法培养正常人肝脏Chang liver细胞, 并在转染前用胰酶消化液处理细胞重新传入细胞培养瓶中; 24 h后向细胞中加入200 μ L重组慢病毒颗粒。感染4 h后更换培养液, 并用不含目的基因的空载体作为对照。

在感染96 h后在荧光显微镜下观察到绿色荧光, 加入终浓度为10 μ g/mL的嘌呤霉素, 筛选稳定表达的细胞株。挑取嘌呤霉素抗性的单细胞克隆于96孔板、24孔板、6孔板逐级扩大培养, 经过14 d后建立稳定表达HBx的Chang liver细胞系。

1.2.5 免疫荧光检测HBx基因的表达: 盖玻片经清洗灭菌后放置于6孔板中, 将稳定转染HBx基因的Chang liver细胞株(命名为Chang liver-HBx细胞)加入6孔板中, 每孔 2×10^4 个细胞。24 h后用4%的多聚甲醛固定细胞30 min, PBS清洗3次后加入5%的BSA封闭液封闭1 h, 在盖玻片上滴加HBx抗体(1:200稀释, Abcam, USA)4℃过夜。次日, 将盖玻片在PBS中清洗3次, 将其放在载玻片上滴加Alexa Fluor-594标记的荧光二抗(1:200稀释, Abcam, USA), 37℃避光杂交1 h。用PBS清洗3次后封片。用激光共聚焦显微镜观察标记结果并拍照。

1.2.6 Western blot技术检测HBx蛋白: 分别收集

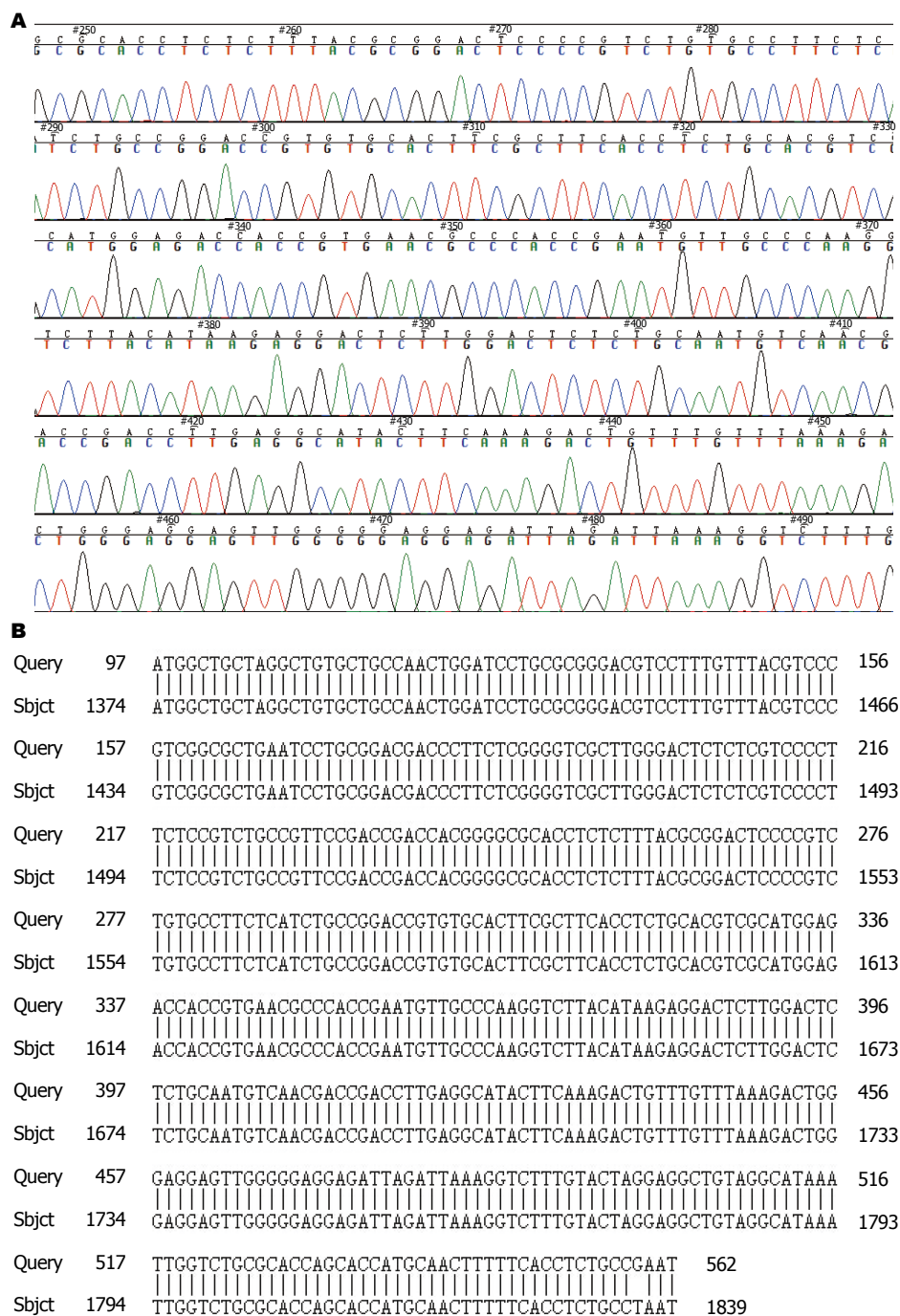


图 2 重组载体部分测序图及BLAST比对结果。A: 重组载体的HBx测序图(部分); B: 基因库中的HBx序列与测序结果进行BLAST比对。HBx: 乙型肝炎病毒X。

稳定转染HBx基因的Chang liver-HBx细胞、转染空载体的Chang liver-EGFP细胞以及野生型细胞Chang liver, 提取细胞总蛋白并用Bradford法进行蛋白定量。根据蛋白浓度每孔上样50 μg蛋白, 用15%的SDS-PAGE凝胶电泳, 转膜, 加入特异性鼠抗人HBx抗体(1:1000稀释, Abcam, USA)和β-actin抗体(1:1000稀释, Santa Cruz, USA)一抗4℃杂交过夜。再用辣根过氧化物酶标记的二抗37℃杂交2 h。应用发

光显影法检测HBx和内参β-actin的表达。

2 结果

2.1 HBx基因的获得、重组质粒的构建和鉴定
设计引物从质粒pcDNA3.1-HBx中扩增HBx基因, PCR扩增产物经琼脂糖凝胶电泳可见特异性扩增条带, 大小490 bp, 与预期的HBx基因长度相符, 如箭头所示(图1A)。PCR扩增的HBx基因连接到慢病毒载体后转化感受态细胞, 经抗

创新点

本文对成功构建慢病毒-HBx表达载体及其在人正常肝细胞系Chang Liver的表达做了详细的阐述, 从载体构建、转染效果、序列测定以及载体的表达等系统观察pEB-GFP-HBx载体构建的准确性, 表达的稳定性的, 有利于后续研究HBx诱导肝细胞恶性转化的机制。

应用要点

本文成功构建能在人正常肝细胞表达的HBx载体, 不仅能建立在正常肝细胞表达HBx分子的细胞模型, 而且也能为进一步研究HBx促进肝细胞恶性转化的机制打下坚实的基础。

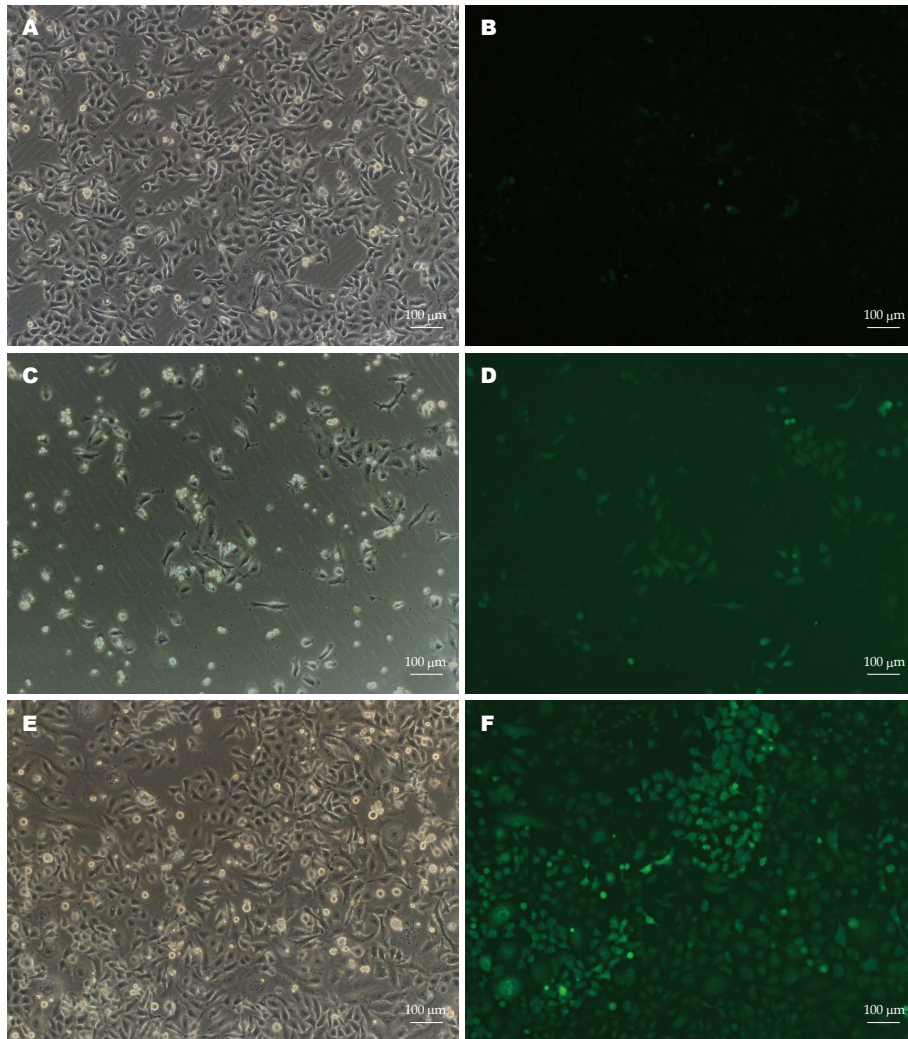


图3 慢病毒感染的Chang liver细胞。A: 感染慢病毒96 h可见光下观察细胞; B: 感染慢病毒96 h荧光下观察细胞($\times 200$); C: 加入嘌呤霉素24 h可见光下观察细胞; D: 加入嘌呤霉素24 h荧光下观察细胞($\times 200$); E: 嘌呤霉素筛选的第14 d可见光下观察细胞; F: 嘌呤霉素筛选的第14 d荧光下观察细胞($\times 200$)。

生素筛选得到的单克隆菌落并进行扩大培养。运用质粒提取试剂盒提取质粒后进行双酶切鉴定, 结果在预期位置观察到特异性条带(图1B)。阳性克隆通过测序, GenBank数据库比对, 与目标序列一致(图2)。证明慢病毒载体pEB-GFP-HBx构建成功, 大量包装后得到慢病毒滴度为 1×10^8 TU/mL。

2.2 重组慢病毒转染细胞与筛选 将构建的慢病毒载体pEB-GFP-HBx和阴性对照载体pEB-GFP转染Chang liver细胞, 在转染后的96 h在倒置荧光显微镜下观察到部分细胞中有绿色荧光蛋白表达(图3A, B)。加入嘌呤霉素24 h后部分细胞开始死亡(图3C, D)。筛选14 d后单克隆细胞株中几乎每个细胞都表达绿色荧光(图3E, F)。

2.3 免疫荧光和Western blot技术检测HBx蛋白

的表达 运用免疫荧光技术在共聚焦显微镜下观察, 发现稳定转染了慢病毒载体的细胞株呈现HBx阳性, 同时HBx蛋白主要位于胞浆, 红色所显示的是HBx的表达和在细胞存在的位置(图4)。野生型Chang liver细胞和转染了空载体的细胞株未见HBx表达。Western blot的实验结果同样证实HBx稳转细胞株中有HBx表达(图5)。

3 讨论

肝癌是世界上常见的五大恶性肿瘤之一, 在癌症死亡率中居第3位, 目前肝癌的发病率在全球范围内呈上升趋势^[8,9]。据统计, 每年死于肝病的人为30万左右, 其中约有11万人死于肝癌^[10]。肝癌具有多血管、恶性程度高、生长速度快、转移范围广和复发率高等特点, 给临床

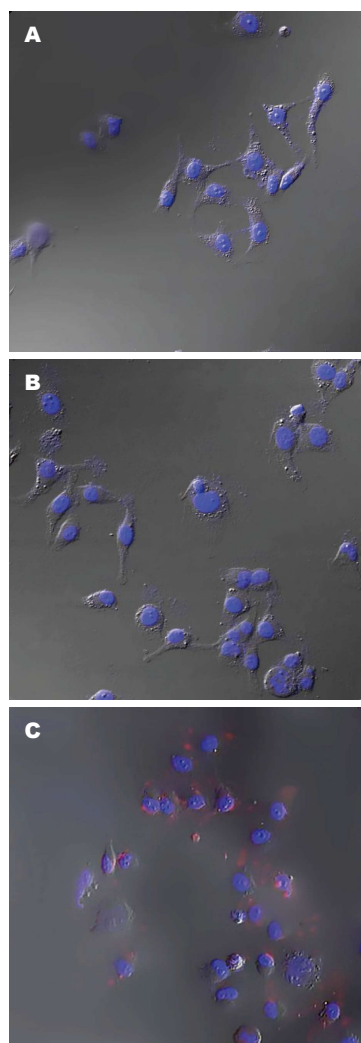


图 4 免疫荧光法鉴定细胞株Chang liver-HBx中HBx的表达. A: 野生型Chang liver细胞; B: 转染空载体的Chang liver细胞; C: Chang liver-HBx细胞. HBx: 乙型肝炎病毒X.

治疗带来了非常大的困难.

慢性HBV感染是肝癌发病的主要原因^[11,12], 尽管肝癌发生的确切机制尚不清楚, 但已有证据表明HBx蛋白在肝癌的发病过程中发挥了重要作用^[13-15]. HBx基因是HBV基因组中的一个多功能反式激活因子, 是HBV重要的功能基因, 他在肝癌细胞中的整合率高达70%左右^[16,17]. HBx基因是HBV感染、复制、发病和可能致癌的重要基因, 其表达的蛋白质是一种具有多种功能的病毒调节因子, 在慢性HBV感染的过程中起到举足轻重的作用. HBx蛋白可作为反式作用因子激活多种信号转导途径, 如磷脂酰肌醇激酶(phosphatidylinositol 3 kinase)、肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system)、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase)、肉瘤基因

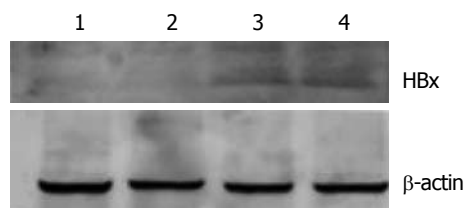


图 5 Western blot鉴定细胞株Chang liver-HBx中HBx蛋白的表达. 1:野生型Chang liver细胞总蛋白; 2: 细胞Chang liver-EGFP筛选后培养2 mo后的总蛋白; 3: Chang liver-HBx细胞筛选第14天的总蛋白; 4: Chang liver-HBx细胞筛选后培养2 mo后的总蛋白. HBx蛋白: 乙型肝炎病毒X蛋白.

■名词解释

嘌呤霉素筛选: 构建的慢病毒表达HBx的载体中, 含有抗嘌呤霉素作用的靶基因, 用嘌呤霉素作用于细胞后, 含有表达载体的细胞能存活下来, 而没有转染表达载体的细胞会凋亡, 通过筛选可获得稳定表达HBx的细胞系.

(sarcoma gene, *src*)、核因子-κB(nuclear factor-κB)^[18-22]等, HBx还能通过抑制p53的转录活性促进甲胎蛋白(alpha fetoprotein)的表达^[23,24], 从而影响细胞增殖、凋亡和周期、参与肝细胞的恶性转化和癌变. 但是, 对于其具体的作用机制目前还不十分明确. 因此, 进一步研究HBx的功能及在肝癌细胞中的作用, 将有助于理解HBV影响肝癌发生发展的机制, 为HBV相关性肝癌的预防和治疗提供线索.

随着分子生物学的发展, 应用基因转导技术研究HBx对肝细胞的恶性生物学行为的影响成为可能. 在既往研究报道中^[25,26], 已有许多成功建立长期稳定表达HBx的肝癌细胞株但这些研究大都利用脂质体转染的方法, 然后进行稳定表达株的细胞筛选. 这种方法虽然操作简单, 但是筛选时阳性率较低, 难以获得长期稳定表达的细胞株. 在本研究中我们首先构建HBx的慢病毒表达载体, 然后利用慢病毒载体稳定转染Chang liver细胞, 构建HBx的稳转细胞系Chang liver-HBx. 经检测发现在转染慢病毒载体后, 在筛选的第14天便可筛选获得稳定表达株, 效率远高于脂质体筛选的方法. 筛选出的稳定表达株在2 mo后均有较高的表达水平, 说明我们获得了稳定表达HBx的肝细胞系Chang liver-HBx. 实现HBx分子在正常肝细胞Chang liver中的稳定性表达, 为后续研究HBx在细胞增殖、凋亡、肿瘤细胞恶性转化、肿瘤细胞耐药等方面提供一个细胞模型, 同时慢病毒表达系统是目前基因治疗的主要手段^[27], 本研究利用慢病毒载体在正常肝细胞Chang liver中稳定表达HBx的方法, 能够建立稳定表达HBx的模型细胞, 为研究HBx在肝细胞内发挥的作用打下基础, 同时该技术的建立或许能够为将

同行评价

本研究通过构建HBx的慢病毒表达载体并转染Chang liver细胞, 采用免疫荧光和Western blot技术验证HBx蛋白表达, 最终获得稳定表达HBx的Chang liver细胞系, 为进一步研究HBx诱导正常肝细胞恶性转化提供了一个较好的研究工具或模型, 具有一定的研究价值。

来研究肝癌的基因治疗提供借鉴和指导。

参考文献

- 1 Jain S, Singhal S, Lee P, Xu R. Molecular genetics of hepatocellular neoplasia. *Am J Transl Res* 2010; 2: 105-118 [PMID: 20182587]
- 2 Lee YI, Hwang JM, Im JH, Lee YI, Kim NS, Kim DG, Yu DY, Moon HB, Park SK. Human hepatitis B virus-X protein alters mitochondrial function and physiology in human liver cells. *J Biol Chem* 2004; 279: 15460-15471 [PMID: 14724286 DOI: 10.1074/jbc.M309280200]
- 3 Henkler F, Hoare J, Waseem N, Goldin RD, McGarvey MJ, Koshy R, King IA. Intracellular localization of the hepatitis B virus HBx protein. *J Gen Virol* 2001; 82: 871-882 [PMID: 11257193]
- 4 Deroubaix A, Osseman Q, Cassany A, Bégu D, Ragues J, Kassab S, Lainé S, Kann M. Expression of viral polymerase and phosphorylation of core protein determine core and capsid localization of the human hepatitis B virus. *J Gen Virol* 2015; 96: 183-195 [PMID: 25274856 DOI: 10.1099/vir.0.064816-0]
- 5 Yano M, Ohkoshi S, Aoki YH, Takahashi H, Kurita S, Yamazaki K, Suzuki K, Yamagiwa S, Sanpei A, Fujimaki S, Wakai T, Kudo SE, Matsuda Y, Aoyagi Y. Hepatitis B virus X induces cell proliferation in the hepatocarcinogenesis via up-regulation of cytoplasmic p21 expression. *Liver Int* 2013; 33: 1218-1229 [PMID: 23590292 DOI: 10.1111/liv.12176]
- 6 Zhang Z, Torii N, Furusaka A, Malayaman N, Hu Z, Liang TJ. Structural and functional characterization of interaction between hepatitis B virus X protein and the proteasome complex. *J Biol Chem* 2000; 275: 15157-15165 [PMID: 10748218 DOI: 10.1074/jbc.M910378199]
- 7 Huang WC, Chen WS, Chen YJ, Wang LY, Hsu SC, Chen CC, Hung MC. Hepatitis B virus X protein induces IKK α nuclear translocation via Akt-dependent phosphorylation to promote the motility of hepatocarcinoma cells. *J Cell Physiol* 2012; 227: 1446-1454 [PMID: 21618535 DOI: 10.1002/jcp.22860]
- 8 Sherman M. Hepatocellular carcinoma: epidemiology, surveillance, and diagnosis. *Semin Liver Dis* 2010; 30: 3-16 [PMID: 20175029 DOI: 10.1016/j.cld.2005.03.001]
- 9 Yu SJ, Kim YJ. Hepatitis B viral load affects prognosis of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 12039-12044 [PMID: 25232241 DOI: 10.3748/wjg.v20.i34.12039]
- 10 Lee JH, Han KH, Lee JM, Park JH, Kim HS. Impact of hepatitis B virus (HBV) x gene mutations on hepatocellular carcinoma development in chronic HBV infection. *Clin Vaccine Immunol* 2011; 18: 914-921 [PMID: 21490166 DOI: 10.1128/CVI.00474-10]
- 11 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]
- 12 Liu CJ, Kao JH. Hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma: epidemiology and pathogenic role of viral factors. *J Chin Med Assoc* 2007; 70: 141-145 [PMID: 17475593 DOI: 10.1016/S1726-4901(09)70346-6]
- 13 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]
- 14 Sun Q, Wang Y, Zhang Y, Liu F, Cheng X, Hou N, Zhao X, Yang X. Expression profiling reveals dysregulation of cellular cytoskeletal genes in HBx-induced hepatocarcinogenesis. *Cancer Biol Ther* 2007; 6: 668-674 [PMID: 17873514 DOI: 10.4161/cbt.6.5.3955]
- 15 Yang SL, Pan XL, Xiong ZF, Wei B, Yao HY. The influence of hepatitis B virus X protein on the clock genes in liver cells and its significance. *Chinese-German J Clin Oncol* 2011; 10: 468-471 [DOI: 10.1007/s10330-011-0826-3]
- 16 Feitelson MA, Lee J. Hepatitis B virus integration, fragile sites, and hepatocarcinogenesis. *Cancer Lett* 2007; 252: 157-170 [PMID: 17188425 DOI: 10.1016/j.canlet.2006.11.010]
- 17 Block TM, Mehta AS, Fimmel CJ, Jordan R. Molecular viral oncology of hepatocellular carcinoma. *Oncogene* 2003; 22: 5093-5107 [PMID: 12910247 DOI: 10.1038/sj.onc.1206557]
- 18 Arbuthnot P, Capovilla A, Kew M. Putative role of hepatitis B virus X protein in hepatocarcinogenesis: effects on apoptosis, DNA repair, mitogen-activated protein kinase and JAK/STAT pathways. *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15: 357-368 [PMID: 10824878 DOI: 10.1046/j.1440-1746.2000.02069.x]
- 19 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]
- 20 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]
- 21 Ye H, Zhang C, Wang BJ, Tan XH, Zhang WP, Teng Y, Yang X. Synergistic function of Kras mutation and HBx in initiation and progression of hepatocellular carcinoma in mice. *Oncogene* 2014; 33: 5133-5138 [PMID: 24213574 DOI: 10.1038/onc.2013.468]
- 22 Zhu M, Guo J, Li W, Xia H, Lu Y, Dong X, Chen Y, Xie X, Fu S, Li M. HBx induced AFP receptor expressed to activate PI3K/AKT signal to promote expression of Src in liver cells and hepatoma cells. *BMC Cancer* 2015; 15: 362 [PMID: 25943101 DOI: 10.1186/s12885-015-1384-9]
- 23 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]
- 24 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]

- 25 Fiedler N, Quant E, Fink L, Sun J, Schuster R, Gerlich WH, Schaefer S. Differential effects on apoptosis induction in hepatocyte lines by stable expression of hepatitis B virus X protein. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 4673-4682 [PMID: 16937438 DOI: 10.3748/wjg.v12.i29.4673]
- 26 Misra KP, Mukherji A, Kumar V. The conserved amino-terminal region (amino acids 1-20) of the hepatitis B virus X protein shows a transrepression function. *Virus Res* 2004; 105: 157-165 [PMID: 15351489]
- 27 Liu KC, Lin BS, Gao AD, Ma HY, Zhao M, Zhang R, Yan HH, Yi XF, Lin SJ, Que JW, Lan XP. Integrase-deficient lentivirus: opportunities and challenges for human gene therapy. *Curr Gene Ther* 2014; 14: 352-364 [PMID: 25174579]

编辑: 于明茜 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, T_{1/2}不能写成tl/2或T_{1/2}, V_{max}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.

AFAP-1L2通过PI3K/Akt通路影响胰腺癌细胞增殖及凋亡

刘 博, 戚 诚, 刘学臣, 赵晓东

■背景资料

胰腺癌恶性程度高, 以发展快、浸润及转移发生早为特点, 手术、放疗、化疗及靶向治疗均不能达到满意生存率。肌动蛋白丝相关蛋白1相似蛋白1 (actin filament-associated protein 1-like 2, AFAP-1L2) 是一种新型的接头蛋白, 有研究认为其在胰腺导管腺癌中为高表达, 但在胰腺癌细胞中的表达情况、对胰腺癌细胞增殖及凋亡等恶性行为的调控机制的研究并不深入, 本研究对AFAP-1L2对胰腺癌离体细胞增殖及凋亡进行了检测, 并探讨可能的作用机制。

刘博, 戚诚, 赵晓东, 河北医科大学第二医院肿瘤外科 河北省石家庄市 050000

刘学臣, 河北医科大学第二医院消化内科 河北省石家庄市 050000

刘博, 主治医师, 主要从事消化系统恶性肿瘤的基础与临床研究。
 作者贡献分布: 刘博与戚诚对此文所作贡献均等; 此课题由刘博、刘学臣、戚诚及赵晓东设计; 研究过程由刘博、刘学臣及戚诚操作完成; 数据分析由刘博、刘学臣及赵晓东完成; 本论文写作由刘博与刘学臣完成。

通讯作者: 赵晓东, 教授, 050000, 河北省石家庄市和平西路215号, 河北医科大学第二医院肿瘤外科。larrygh@aliyun.com
 电话: 0311-66003919

收稿日期: 2015-08-14 修回日期: 2015-09-03

接受日期: 2015-09-11 在线出版日期: 2015-10-08

AFAP-1L2 influences proliferation and apoptosis of pancreatic cancer cells via PI3K/Akt pathway

Bo Liu, Cheng Qi, Xue-Chen Liu, Xiao-Dong Zhao

Bo Liu, Cheng Qi, Xiao-Dong Zhao, Department of Oncological Surgery, the Second Hospital, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China
 Xue-Chen Liu, Department of Gastroenterology, the Second Hospital, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Correspondence to: Xiao-Dong Zhao, Professor, Department of Oncological Surgery, the Second Hospital, Hebei Medical University, 215 Heping Western Road, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. larrygh@aliyun.com

Received: 2015-08-14 Revised: 2015-09-03

Accepted: 2015-09-11 Published online: 2015-10-08

Abstract

AIM: To investigate the expression of actin filament-associated protein 1-like 2 (AFAP-1L2) in different pancreatic cancer cell lines, the effect of AFAP-1L2 on cell proliferation, cell cycle and apoptosis, and the possible mechanism.

METHODS: Western blot and real-time quantitative PCR (qRT-PCR) were used to detect the AFAP-1L2 protein and mRNA expression in PANC-1, MiaPaCa-2, Colo-357, BXP-3, SW1990 and CFPAC-1 cell lines (having different differentiation degrees). siAFAP-1L2 plasmid was constructed and transfected into MiaPaCa-2 cell to downregulate the expression of AFAP-1L2. Proteins of the phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase B (PI3K/Akt) pathway were detected by Western blot and qRT-PCR after siAFAP-1L2 transfection. Proliferation was detected by MTT assay. Cell cycle and apoptosis were detected by flow cytometry.

RESULTS: Western blot and qRT-PCR analyses showed that AFAP-1L2 was correlated with differentiation degree, and the expression was higher in cell lines with low differentiation than in those with moderate or high differentiation. PI3KCA protein expression in the siAFAP-1L2 group was lower than that in the MOCK and siRNA control groups ($F = 20.16$, $P = 0.0022$). α -Akt mRNA expression in the siAFAP-1L2 group was higher than that in the MOCK and siRNA control groups ($F = 7.719$, $P = 0.0219$); α -pAkt protein expression in the siAFAP-1L2 group was lower than that in MOCK and siRNA control groups ($F = 5.507$, $P = 0.0439$). PI3KCA mRNA expression in the siAFAP-1L2 group was lower than that in the AFAP-1L2 and siRNA control groups ($F = 20.16$, $P = 0.0022$). α -Akt mRNA expression in the siAFAP-1L2 group was higher than that in the MOCK and siRNA control groups ($F = 6.068$, $P = 0.0362$); α -pAkt mRNA expression in the siAFAP-1L2 group was lower than that in the MOCK and siRNA control groups ($F = 10.33$, $P = 0.0114$).

■同行评议者

刘亮, 副主任医师, 复旦大学胰腺癌研究所; 复旦大学附属肿瘤医院胰腺肝胆外科

MTT assay showed that the proliferation of MiaPaCa-2 cells at 48 h, 72 h, and 96 h was inhibited after siAFAP-1L2 transfection ($F = 3.924, P < 0.05; F = 6.812, P < 0.01; F = 7.003, P < 0.01$). Flow cytometry showed that cells in G1 phase were increased, but those in G2 and S phases were decreased ($F = 4.87, 5.26, 4.94, P < 0.05$ for all). The apoptosis rate of MiaPaCa-2 cell was increased after siAFAP-1L2 transfection ($F = 7.231, P < 0.01$).

CONCLUSION: AFAP-1L2 expression is associated with cell differentiation. AFAP-1L2 modulates cell proliferation, cell cycle and apoptosis via the PI3K/Akt pathway. AFAP-1L2 is a target candidate for pancreatic cancer therapy.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Cell differentiation; Actin filament-associated protein 1-like 2; Pancreatic cancer; Proliferation; Apoptosis

Liu B, Qi C, Liu XC, Zhao XD. AFAP-1L2 influences proliferation and apoptosis of pancreatic cancer cells via PI3K/Akt pathway. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(28): 4490-4498 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4490.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i28.4490>

摘要

目的: 检测肌动蛋白丝相关蛋白1相似蛋白(actin filament-associated protein 1-like 2, AFAP-1L2)在不同分化程度胰腺癌细胞株中的表达, 并观察其对下游磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶(phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)通路调控作用及对胰腺癌细胞的增殖、周期及凋亡的影响。

方法: 以Western blot及实时定量PCR检测(real-time quantitative PCR, qRT-PCR)法对不同分化程度胰腺癌细胞系PANC-1、MiaPaCa-2、Colo-357、BXPC-3、SW1990及CFPAC-1中AFAP-1L2表达进行检测; 构建靶向AFAP-1L2的干扰质粒siAFAP-1L2, 转染MiaPaCa-2细胞, 以Western blot及qRT-PCR法检测AFAP-1L2下调后PI3K/Akt通路蛋白及mRNA变化; 四甲基偶氮唑盐微量酶反应比色法(methyl-thiazolyl-tetrazolium, MTT)法检测转染后MiaPaCa-2细胞增殖; 流式细胞术检测细胞周期及凋亡。

结果: Western blot及qRT-PCR法显示, AFAP-

1L2蛋白及mRNA表达水平在低分化胰腺癌细胞系中表达水平高于中分化及高分化细胞系。siAFAP-1L2转染后磷脂酰肌醇3激酶 α 亚单位(PI3KCA)蛋白在siAFAP-1L2组的表达量明显低于AFAP-1L2组及小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA) control组($F = 9.280, P = 0.0139$), α 蛋白激酶(α -Akt)在siAFAP-1L2细胞的表达量高于MOCK细胞及siRNA control细胞($F = 7.719, P = 0.0219$), 磷酸化 α 蛋白激酶(α -pAkt)在siAFAP-1L2细胞的表达量低于MOCK细胞及siRNA control细胞($F = 5.507, P = 0.0439$)。PI3KCA mRNA在siAFAP-1L2组的表达量明显低于AFAP-1L2组及siRNA control组($F = 20.16, P = 0.0022$), α -Akt mRNA在siAFAP-1L2细胞的表达量高于MOCK细胞及siRNA control细胞($F = 6.068, P = 0.0362$), α -pAkt mRNA在siAFAP-1L2细胞的表达量低于MOCK细胞及siRNA control细胞($F = 10.33, P = 0.0114$)。MTT检测显示, 在48、72及96 h siAFAP-1L2干扰后MiaPaCa-2细胞增殖能力下降($F = 3.924, P < 0.05; F = 6.812, P < 0.01; F = 7.003, P < 0.01$)。流式细胞检测显示, siAFAP-1L2干扰后G₁期细胞比例增高, G₂及S期比例减少($F = 4.87, F = 5.26, F = 4.94$, 均 $P < 0.05$), siAFAP-1L2干扰后MiaPaCa-2细胞凋亡率增高($F = 7.231, P < 0.01$)。

结论: 在分化程度低的胰腺癌细胞中AFAP-1L2表达较高, AFAP-1L2通过PI3K/Akt通路影响胰腺癌细胞增殖、细胞周期及凋亡, 可作为胰腺癌治疗新的靶向候选基因。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 细胞分化; 肌动蛋白丝相关蛋白1相似蛋白2; 胰腺癌; 增殖; 凋亡

核心提示: 本研究在分子生物学水平研究不同分化程度胰腺癌细胞系中肌动蛋白丝相关蛋白1相似蛋白(actin filament-associated protein 1-like 2, AFAP-1L2)表达, 并采用小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)干扰AFAP-1L2表达, 检测AFAP-1L2对下游磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶(phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase)通路的调控作用, 从而影响胰腺癌细胞增殖、细胞周期及凋亡, 探讨其机制。

刘博, 戚诚, 刘学臣, 赵晓东. AFAP-1L2通过PI3K/Akt通路影响胰腺癌细胞增殖及凋亡. *世界华人消化杂志* 2015; 23(28): 4490-4498 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4490.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i28.4490>

■研究前沿

对胰腺癌预后评估的靶基因的检测及治疗靶点的探索是胰腺癌靶向治疗的研究热点, 深入探讨靶基因对胰腺癌细胞的调控机制是目前研究的重点, 对治疗靶点的筛查手段及应用于临床的有效性和意义是亟待解决的问题。

■ 相关报道

在手术切除的胰腺导管腺癌标本及癌旁组织中AFAP-1L2表达的检测显示, AFAP-1L2在胰腺导管腺癌组织中表达明显高于癌旁组织, 并与胰腺癌TNM分期、直径、淋巴结转移及分化程度具有相关性, AFAP-1L2表达上调提示胰腺癌不良预后, 可以作为胰腺癌预后的独立预测因素. AFAP-1L2可能通过调控下游磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B(phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)信号通路对胃癌、结肠癌及肺癌等恶性肿瘤细胞增殖及凋亡等恶性行为产生作用, AFAP-1L2的直接作用机制可能是通过调控 α -Akt磷酸化影响PI3K/Akt通路活性.

0 引言

胰腺癌发病率与病死率在世界范围内呈现明显上升趋势, 作为预后最差的消化系统恶性肿瘤之一, 对胰腺癌发病机制研究深入展开, 对有效的治疗方法寻求也是各研究中心目标^[1,2]. 靶基因筛选和治疗靶点选择是研究热点, 也可能成为未来胰腺癌治疗提高生存率的方法^[3]. 肌动蛋白丝相关蛋白1相似蛋白(actin filament-associated protein 1-like 2, AFAP-1L2)是一种接头蛋白, 有研究显示其在甲状腺癌、胃癌、肺癌等恶性肿瘤中表达升高, 与这些肿瘤的恶性行为具有相关性^[4-6]. 有研究^[7]显示, AFAP-1L2在胰腺导管腺癌组织中为高表达并与临床病理指标具有相关性, AFAP-1L2高表达提示胰腺导管腺癌的不良预后, 可以作为评价胰腺癌预后的独立预测因素. 本研究在分子生物学水平进一步研究不同分化程度胰腺癌细胞系中AFAP-1L2表达, 并采用小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)干扰AFAP-1L2表达, 检测AFAP-1L2对下游磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B(phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)通路的调控作用及对胰腺癌细胞增殖、细胞周期及凋亡的影响, 并探讨其机制.

1 材料和方法

1.1 材料 人胰腺癌细胞系PANC-1、MiaPaCa-2、Colo-357、BXPC-3、SW1990及CFPAC-1均购自中科院上海细胞库, 采用1640培养基条件下的贴壁细胞培养法. AFAP-1L2山羊多克隆抗体(sc-138089), α -Akt鼠单克隆抗体(sc-377457)、 α -pAkt鼠单克隆抗体(sc52940)购自美国Santa Cruz公司. PI3KCA兔单克隆抗体(SAB5500163)购自美国SIGMA公司. DAB显色试剂盒购自大连宝生物公司, BCA定量及ECL发光试剂盒购自南京凯基生物公司. TRIzol、逆转录及扩增试剂盒购自日本Takara公司. miRNA提取分离试剂盒、LipofectamineTM2000、RPIM 1640、TRIzol购自美国Sigma公司. 引物由北京生工生物工程有限公司进行设计并合成(表1). MTT试剂盒购自美国Invitrogen公司, All-in-OneTMqPCR Mix试剂盒、Annexin V-FITC/PI试剂盒购自美国GeneCopoeia公司. siAFAP-1L2及siRNA control质粒购自美国Addgene

公司.

1.2 方法

1.2.1 Western blot: 对各个细胞系细胞应用PBS洗涤3次, 离心后弃去上清液, 加入细胞裂解液提取各细胞株总蛋白的提取, 进行BCA法蛋白定量, 取60 μ g蛋白加上样缓冲剂进行上样, 采用12%十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺进行凝胶电泳分离, 转移至PVDF膜. 用含有5%脱脂奶粉的TBST缓冲液室温条件下封闭1.5 h, 加入一抗, 4 $^{\circ}$ C条件下孵育过夜. TBST溶液洗膜3次后加入二抗, 37 $^{\circ}$ C孵育1 h, TBST溶液清洗3次, 采用化学发光(ECL)凝胶显像仪进行显像, 软件应用QuantityOne进行灰度值分析.

1.2.2 实时定量PCR检测(real-time quantitative PCR, qRT-PCR): 按照RNA分离试剂盒和TRIzol试剂盒说明书的要求步骤进行细胞株RNA的提取及纯化, 按照逆转录和扩增试剂盒说明书要求步骤进行逆转录及扩增. DEPC水调零, 取1.5 μ L样品RNA采用全波长紫外/可见光扫描分光光度计进行总RNA纯度检测, 在 $A_{260/280}$ 为1.8-2.0, 纯度较高, 无DNA及蛋白质等污染. 取RNA样品1 μ L采用1%琼脂凝胶电泳20 min, EB染色15 min, 凝胶成像系统下观察显示5、18及28s RNA条带均完整, 总RNA抽取完整. 以各组细胞cDNA作为模板, 每组均设立3个复孔, 反应体系: 2 \times All-in-One qPCR Mix 10 μ L, 45 \times Syber Green 2 μ L, Primer F 1 μ L, Primer R 1 μ L, cDNA 2 μ L, ddH₂O 4 μ L. 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 2 min; 95 $^{\circ}$ C 2 min; 95 $^{\circ}$ C 20 s; 60 $^{\circ}$ C 30 s; 75 $^{\circ}$ C 30 s(45个循环), 采用 $\Delta\Delta$ Ct法比较不同组别基因表达差异.

1.2.3 siAFAP-1L2及siRNA control转染MiaPaCa-2细胞: 选取AFAP-1L2表达量相对较高的MiaPaCa-2细胞系分为3组: 无干预组即MOCK组、siAFAP-1L2转染组即siAFAP-1L2组及空载对照组即siRNA control组. 选取对数期生长并且24 h内融合达75%-95%的细胞按照LipofectamineTM2000说明书步骤进行转染, 转染48 h后采用Western blot及qRT-PCR法对AFAP-1L2蛋白及mRNA表达水平进行检测, 评价转染效率.

1.2.4 四甲基偶氮唑盐微量酶反应比色法(methyl-thiazolyl-tetrazolium, MTT): 取各组对数期生长MiaPaCa-2细胞制成单细胞悬液, 依

表 1 qRT-PCR引物序列

qRT-PCR引物	序列
AFAP-1L2	5'-CCGGACGTAACGACTGCATCCG-3'
	5'-GCCCAGTTCGUUCGUGCCACG-3'
GADPH	5'-GCCGATCCGTAACGCTACGGCGC-3'
	5'-CCGGACGTTTCGACGGCTCCG-3'
siAFAP-1L2	5'-CGGCCGACTTCCTAGGCCCTCCG-3'
	5'-GGCCACGTCCACGGTCCACGC-3'
siRNA control	5'-CGTTACCGCTCCGCAACCCGCC-3'
	5'-CGGGCCTTCCGACTTGCCGCCG-3'
PI3KCA	5'-CCCGGACCGTCGAACGTTCCGG-3'
	5'-ACGGTCCTTGCCCGACCCGG-3'
α -Akt	5'-GGCTACCGTACTCCGTCACC-3'
	5'-GCCCATGCGTGCACGGCGCGG-3'
α -pAkt	5'-GCTCCACTGGCCGGAACCTCGG-3'
	5'-CGGACTCGGGCTACCGGCCGC-3'

创新点

对于调控胰腺癌恶性行为靶基因的筛查一直以来是研究的热点,但对于AFAP-1L2的研究只停留在组织学水平,本研究第一次对AFAP-1L2在胰腺癌中细胞水平及分子生物学水平进行了检测,并观察了其对于胰腺癌细胞增殖、细胞周期及凋亡的作用,下调AFAP-1L2表达后对PI3K/Akt信号通路的影响,探讨了其机制。

照MTT试剂盒操作说明书,以 1×10^4 细胞/孔密度接种到96孔细胞培养板,并设3个复孔,进行常规步骤培养24、48、72、96 h后,每孔内加入5 mg/mL浓度MTT液5 μ L, 37 $^{\circ}$ C继续进行温育4 h,弃上清后每孔加入DMSO液150 μ L,水平振荡溶解结晶,酶联免疫检测仪比色设定为490 nm波长,测定各孔吸光度,实验重复3次取平均值,进行生长曲线绘制。

1.2.5 流式细胞仪检测细胞周期及凋亡:取转染48 h后的MiaPaCa-2细胞转移至EP管进行消化,1 mL预冷的PBS液洗涤3次后加入1 mL预冷70%乙醇在4 $^{\circ}$ C条件下进行固定12 h。1000 g离心5 min后弃上清,1 mL预冷PBS液洗涤3次。样品采用PBS重悬,加入0.5%PI染色液25 μ L及10 mg/mL RNase A10 μ L, 4 $^{\circ}$ C避光温浴30 min后用迈瑞BriCyte E6流式细胞仪检测细胞周期。取转染48 h后的MiaPaCa-2细胞消化为单细胞悬液,按照Annexin V-FITC/PI试剂盒操作说明步骤进行凋亡检测,每个样本采集为10000事件,计算凋亡细胞百分比,重复3次试验取平均值。

统计学处理 采用GraphPad Prism6.0软件进行统计分析,作图,计量资料采用mean \pm SD表示,组间比较采用t检验,率的比较采用 χ^2 检验,多组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同分化程度胰腺癌细胞株中AFAP-1L2蛋白及mRNA表达 Western blot显示,AFAP-

1L2蛋白在PANC-1、MiaPaCa-2、Colo-357、BXPC-3、SW1990及CFPAC-1六株不同分化程度的胰腺癌细胞株^[8-10]中表达水平不同($F = 5.193$, $P = 0.021$),在低分化胰腺癌细胞株(PANC-1、MiaPaCa-2)中表达水平高于中分化(Colo-357、BXPC-3)及高分化(SW1990、CFPAC-1)细胞株。在中分化胰腺癌细胞株(Colo-357、BXPC-3)AFAP-1L2蛋白表达高于高分化(SW1990、CFPAC-1)细胞株(表2,图1A, B)。

qRT-PCR显示AFAP-1L2 mRNA在PANC-1、MiaPaCa-2、Colo-357、BXPC-3、SW1990及CFPAC-1六株不同分化程度胰腺癌细胞株表达水平不同($F = 6.314$, $P = 0.017$),在低分化胰腺癌细胞株(PANC-1、MiaPaCa-2)中表达水平高于中分化(Colo-357、BXPC-3)及高分化(SW1990、CFPAC-1)细胞株;在中分化胰腺癌细胞株(Colo-357、BXPC-3)AFAP-1L2蛋白表达高于高分化(SW1990、CFPAC-1)细胞株(表2,图1C)。

2.2 转染效率检测 Western blot显示siAFAP-1L2转染MiaPaCa-2细胞AFAP-1L2表达条带明显淡于siRNA control组及AFAP-1L2组,差异有显著性($F = 5.837$, $P < 0.05$)(图1D, E)。

qRT-PCR显示, siAFAP-1L2转染后AFAP-1L2组AFAP-1L2 mRNA表达明显低于siRNA control组及AFAP-1L2组,差异有显著性($F = 7.188$, $P < 0.05$),沉默效率约为60%-70%(图1F)。

2.3 siAFAP-1L2转染后PI3K/Akt通路在蛋

应用要点

在本实验基础上通过在体动物实验观察AFAP-1L2对胰腺癌恶性行为的作用, 并进一步明确其作用机制及是否有其他信号通路参与其作用, 为胰腺癌的预测、预后判断及靶向治疗提供候选基因。

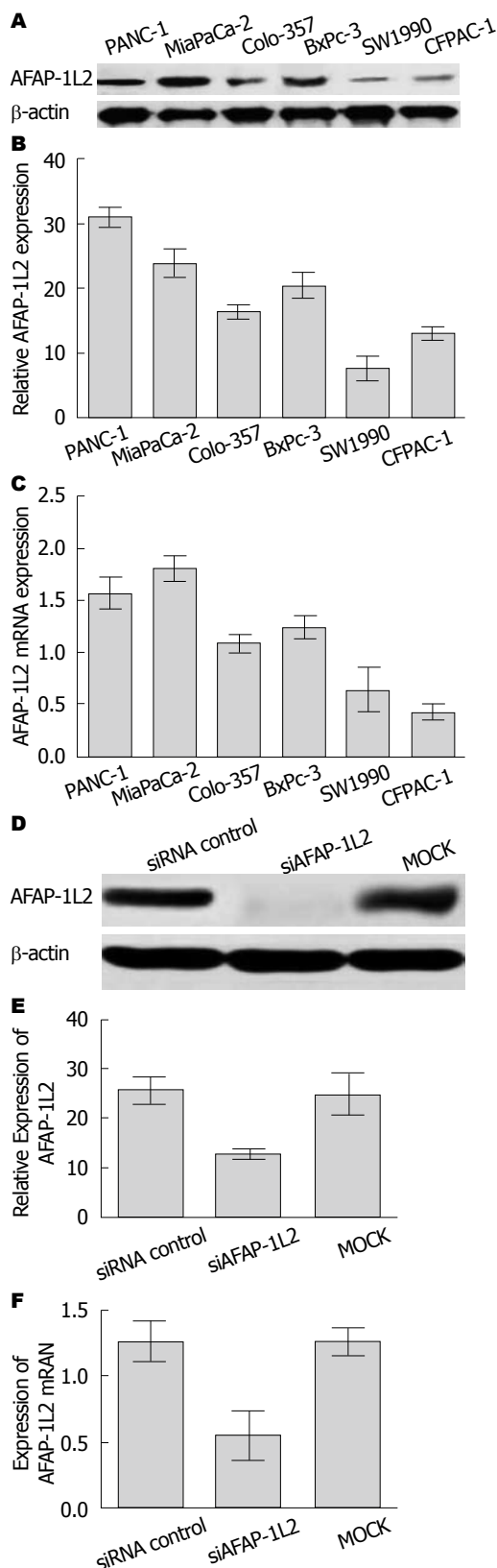


图 1 AFAP-1L2在各胰腺癌细胞株中的表达及转染效率检测。A: Western blot检测AFAP-1L2蛋白在不同胰腺癌细胞株中表达; B: AFAP-1L2蛋白在不同胰腺癌细胞株中表达的灰度值; C: qRT-PCR检测AFAP-1L2 mRNA在不同胰腺癌细胞株中表达; D: Western blot检测转染后AFAP-1L2蛋白在MiaPaCa-2细胞中表达; E: AFAP-1L2蛋白在MiaPaCa-2细胞中表达的灰度值; F: qRT-PCR检测转染后AFAP-1L2 mRNA在MiaPaCa-2细胞中表达。

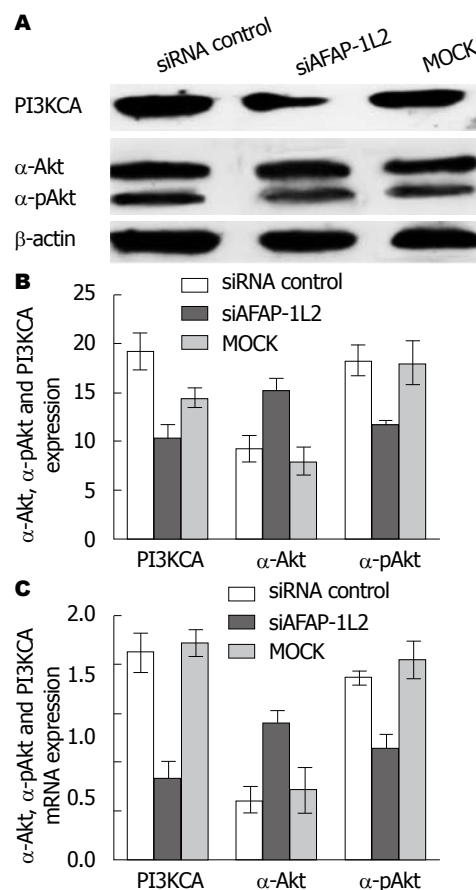


图 2 siAFAP-1L2转染后PI3KCA、α-Akt及在蛋白水平及mRNA水平的表达。A: Western blot图; B: Western blot对应蛋白表达的灰度值; C: qRT-PCR检测mRNA表达。AFAP-1L2: 肌动蛋白丝相关蛋白1相似蛋白。

白水平及mRNA水平的表达 Western blot显示, PI3KCA蛋白在siAFAP-1L2组的表达量明显低于AFAP-1L2组及siRNA control组($F = 9.280$, $P = 0.0139$), α-Akt在siAFAP-1L2细胞的表达量高于MOCK细胞及siRNA control细胞($F = 7.719$, $P = 0.0219$), α-pAkt在siAFAP-1L2细胞的表达量低于MOCK细胞及siRNA control细胞($F = 5.507$, $P = 0.0439$)(图2A, B); qRT-PCR结果显示, PI3KCA mRNA在siAFAP-1L2组的表达量明显低于AFAP-1L2组及siRNA control组($F = 20.16$, $P = 0.0022$), α-Akt在siAFAP-1L2细胞的表达量高于MOCK细胞及siRNA control细胞($F = 6.068$, $P = 0.0362$), α-pAkt在siAFAP-1L2细胞的表达量低于MOCK细胞及siRNA control细胞($F = 10.33$, $P = 0.0114$)(图2C)。

2.4 MTT检测细胞增殖 MTT检测显示, siAFAP-1L2组细胞增殖率在48 h($37.31\% \pm 11.62\%$ vs $47.70\% \pm 7.48\%$, $47.32\% \pm 10.64\%$), 72 h($50.34\% \pm 0.61\%$ vs $73.72\% \pm$

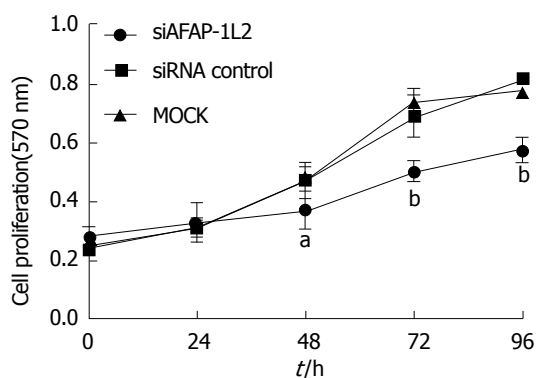


图3 MTT检测转染后MiaPaCa-2细胞增殖。^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ vs siRNA control组及MOCK组。

8.17%, 69.27.43%±12.53%)和96 h(57.73%±7.62% vs 78.01%±3.26%, 81.77%±0.65%)均低于MOCK组及siRNA control组, MiaPaCa-2细胞增殖能力下降, 差异均具有显著性($F=3.924$, $P<0.05$; $F=6.812$, $P<0.01$; $F=7.003$, $P<0.01$)(图3)。

2.5 流式细胞术检测细胞周期 流式细胞检测显示, 转染siAFAP-1L2后G₁期细胞比例增高, G₂及S期比例减少, 与siRNA control组及MOCK组相比, 差异具有显著性($F=4.87$, $F=5.26$, $F=4.94$, 均 $P<0.05$)(表3)。

2.6 流式细胞术检测细胞凋亡 siRNA control、siAFAP-1L2及MOCK各组凋亡率分别为5.67%、38.16%及7.32%, siAFAP-1L2干扰后MiaPaCa-2细胞凋亡率增高, 差异具有显著性($F=7.231$, $P<0.01$)(图4)。

3 讨论

胰腺癌恶性程度高, 以发现晚, 发展快, 浸润及转移发生早为特点^[11], 以手术为主导, 联合放疗、化疗及靶向治疗的现有治疗方式对患者生存期及生存率的改善难和提高以令人满意^[12,13]。AFAP-1L2结构与肌动蛋白丝相关蛋白(AFAP)相似, 是一种新型的接头蛋白, 也被称为XB130^[14]。AFAP-1L2在甲状腺癌、食道癌及胃癌等恶性肿瘤中具有促进肿瘤生长及转移等作用^[15,16]。Zhang等^[7]研究发现, AFAP-1L2在胰腺导管腺癌腺癌组织中为高表达, 预示着胰腺癌的不良预后, 可作为胰腺导管腺癌预后的独立预测因素。本研究在分子生物学水平进一步对AFAP-1L2表达及对胰腺癌细胞分化、增殖、周期及凋亡等功能的影响进行了检测, 并探讨其可能机制。

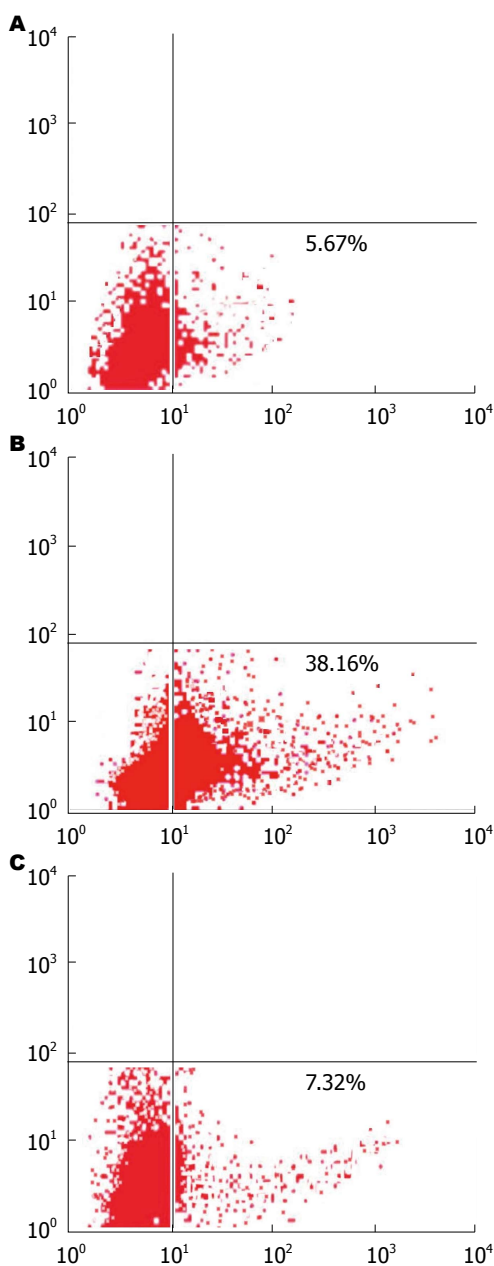


图4 流式细胞术检测siAFAP-1L2转染后MiaPaCa-2细胞凋亡。A: siRNA control细胞凋亡; B: siAFAP-1L2细胞凋亡; C: MOCK细胞凋亡。

PI3K/Akt信号通路在肝癌、乳腺癌及肺癌等恶性肿瘤的发生发展中起重要作用, 对恶性肿瘤细胞的增殖、转移及浸润等生物学行为具有促进作用^[17,18], 对恶性肿瘤细胞凋亡有抑制作用^[19]。PI3KCA及α-Akt是PI3K/Akt信号通路中的重要蛋白, α-Akt磷酸化为α-pAkt后PI3K/Akt通路被激活, 从而发挥促癌活性^[20]。Lodyga等^[21]研究显示, PI3K/Akt信号通路是AFAP-1L2下游的靶基因, 通过对α-Akt磷酸化调控调节PI3K/Akt通路活性。

本研究显示, AFAP-1L2蛋白及mRNA在

名词解释

肿瘤细胞分化程度: 指肿瘤细胞接近于正常细胞的程度。高分化指肿瘤细胞分化接近相应的正常发源组织, 恶性程度相对较低; 而低分化或未分化指细胞分化程度与相应的正常发源组织区别极大, 肿瘤恶性程度相对较大。二者之间为“中分化”。肿瘤分化程度, 分为3个病理等级, 级别越高表示细胞分化程度越差。G₁, 即高分化, 细胞分化程度较好。G₂, 即中分化, 细胞分化程度居中。G₃, 即低分化, 细胞分化程度较差。

同行评价

本研究检测了不同分化程度胰腺癌细胞株中AFAP-1L2的表达,观察了AFAP-1L2下调后胰腺癌细胞增殖、细胞周期及凋亡变化,并对AFAP-1L2下调后PI3K/Akt信号通路相关蛋白变化进行了检测,得出AFAP-1L2可能通过PI3K/Akt通路调控胰腺癌细胞增殖、细胞周期及凋亡的结论.实验设计合理,结果切实可靠,对胰腺癌预测及治疗靶基因的筛查有一定价值.

表 2 不同分化程度胰腺癌细胞株中AFAP-1L2蛋白及mRNA表达

不同癌细胞株	Colo-357		BXPC-3		SW1990		CFPAC-1	
	t值	P值	t值	P值	t值	P值	t值	P值
蛋白表达								
PANC-1	3.182	0.0335	1.208	0.2934	5.689	0.0047	4.638	0.0098
MiaPaCa-2	7.910	0.0014	4.283	0.0128	9.627	0.0070	9.909	0.0006
Colo-357					3.999	0.0161	2.317	0.0814
BXPC-3					4.727	0.0091	3.443	0.0262
mRNA表达								
PANC-1	2.698	0.0542	1.727	0.1592	3.507	0.0025	6.567	0.0028
MiaPaCa-2	4.671	0.0095	3.365	0.0282	4.683	0.0094	9.259	0.0008
Colo-357					1.918	0.1276	5.434	0.0056
BXPC-3					2.447	0.0706	5.761	0.0045

表 3 siAFAP-1L2干扰前后细胞周期对比 (mean ± SD, %)

分组	G ₁ 期	G ₂ 期	S期
MOCK	75.36 ± 1.48	8.27 ± 1.07	14.11 ± 1.31
siAFAP-1L2	82.06 ± 2.14	7.19 ± 1.28	8.52 ± 1.13
siRNA Control	73.19 ± 2.02	8.86 ± 1.51	156.00 ± 2.21
F值	4.870	5.260	4.940
P值	0.041	0.021	0.032

不同分化程度的六株胰腺癌细胞中均有表达,AFAP-1L2在低分化胰腺癌细胞中表达水平高于中分化及高分化细胞系. AFAP-1L2可能参与胰腺癌细胞的分化过程,从而影响胰腺癌的恶性程度,有研究^[6,16]显示,在胃癌中,AFAP-1L2对参与胃癌细胞的分化过程,并调控其增殖及浸润等恶性行为,预示着胃癌的不良预后. Snyder等^[22]研究发现,AFAP家族另一成员AFAP1L1通过与非受体酪氨酸激酶N端的SH3区域结合对皮质肌动蛋白功能进行调控,从而使细胞转移及侵袭能力增强,AFAP-1L2可能与其有相同的作用机制. 对AFAP-1L2表达进行干扰下调后,PI3K/Akt信号通路中主要的基因*PI3KCA*在蛋白水平及mRNA水平均下降,α-Akt升高,而α-pAkt下降. AFAP-1L2对PI3K/Akt信号通路具有调控作用,通过促进α-Akt的磷酸化而激活该信号通路,影响胰腺癌的恶性行为. Shiozaki等^[23]研究认为,AFAP-1L2对下游信号通路PI3K/Akt的调控促进α-Akt的磷酸化,从而该通路进一步磷酸化下游酪氨酸及色氨酸残基,对细胞周期、恶性增殖及侵袭等恶性行为产生影响. 本研究显示,AFAP-1L2下调后MiaPaCa-2细胞增殖能力下

降, G₁期细胞比例增高, G₂及S期比例减少, 细胞凋亡率增高. 对AFAP-1L2表达进行干扰降低了胰腺癌细胞的增殖能力并促进其停留在G₁期细胞增多, 凋亡率升高, 这说明促癌信号通路PI3K/Akt可能受到抑制, 磷酸化的α-Akt降低, 从而胰腺癌细胞的增殖能力减弱, 凋亡数量增加. Zheng等^[24]研究也认为PI3K/Akt信号通路被抑制后, 胰腺癌细胞的增殖能力减弱, 凋亡数量增加并增加了肿瘤细胞对厄洛替尼化疗的敏感性. Won等^[25]认为, 细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)通路与PI3K信号通路之间存在交叉调节效应, 但AFAP-1L2是否对ERK信号通路具有调控作用, 尚不明确. Zhong等^[26]认为, PI3K与丝裂原细胞外信号调节激酶(mitogen extracellular signal regulated kinase, MEK)信号通路在胰腺癌恶性行为中具有协同效应, 增强了胰腺癌浸润及转移能力. 胰腺癌的发生及发展过程是多基因的作用结果, AFAP-1L2对SRE/AP-1和CXCR4-SDF-1α等多条信号通路也可能具有调控作用, 需进一步深入研究^[27,28]. 通过对靶基因的筛查, 早期发现肿瘤病灶并进行手术切除是治愈胰腺癌的最主要手段^[29,30],

而对于不能手术切除的胰腺癌及姑息治疗病例, 针对靶基因的靶向治疗可能是未来提高胰腺癌生存率的治疗策略^[31]. AFAP-1L2作为一种新发现的接头蛋白在胰腺癌转移及浸润等恶性行为中的作用需进一步实验检测.

总之, AFAP-1L2通过对PI3K/Akt通路的调控作用从而影响胰腺癌细胞的增殖及凋亡等恶性行为, AFAP-1L2可能成为胰腺癌治疗的靶基因.

4 参考文献

- 1 Wada K, Takaori K, Traverso LW. Screening for Pancreatic Cancer. *Surg Clin North Am* 2015; 95: 1041-1052 [PMID: 26315522 DOI: 10.1016/j.suc.2015.05.010]
- 2 Liu SX, Xia ZS, Zhong YQ. Gene therapy in pancreatic cancer. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 13343-13368 [PMID: 25309069 DOI: 10.3748/wjg.v20.i37.13343]
- 3 Tanase CP, Neagu AI, Necula LG, Mambet C, Enciu AM, Calenic B, Cruceru ML, Albulescu R. Cancer stem cells: involvement in pancreatic cancer pathogenesis and perspectives on cancer therapeutics. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 10790-10801 [PMID: 25152582 DOI: 10.3748/wjg.v20.i31.10790]
- 4 Takeshita H, Shiozaki A, Bai XH, Iitaka D, Kim H, Yang BB, Keshavjee S, Liu M. XB130, a new adaptor protein, regulates expression of tumor suppressive microRNAs in cancer cells. *PLoS One* 2013; 8: e59057 [PMID: 23527086 DOI: 10.1371/journal.pone.0059057]
- 5 Shiozaki A, Kosuga T, Ichikawa D, Komatsu S, Fujiwara H, Okamoto K, Iitaka D, Nakashima S, Shimizu H, Ishimoto T, Kitagawa M, Nakou Y, Kishimoto M, Liu M, Otsuji E. XB130 as an independent prognostic factor in human esophageal squamous cell carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2013; 20: 3140-3150 [PMID: 22805860 DOI: 10.1245/s10434-012-2474-4]
- 6 Shi M, Zheng D, Sun L, Wang L, Lin L, Wu Y, Zhou M, Liao W, Liao Y, Zuo Q, Liao W. XB130 promotes proliferation and invasion of gastric cancer cells. *J Transl Med* 2014; 12: 1 [PMID: 24387290 DOI: 10.1186/1479-5876-12-1]
- 7 Zhang J, Jiang X, Zhang J. Prognostic significance of XB130 expression in surgically resected pancreatic ductal adenocarcinoma. *World J Surg Oncol* 2014; 12: 49 [PMID: 24581082 DOI: 10.1186/1477-7819-12-49]
- 8 Sheng W, Dong M, Zhou J, Li X, Liu Q, Dong Q, Li F. Cooperation among Numb, MDM2 and p53 in the development and progression of pancreatic cancer. *Cell Tissue Res* 2013; 354: 521-532 [PMID: 23881403 DOI: 10.1007/s00441-013-1679-6]
- 9 Ji H, Lu HW, Li YM, Lu L, Wang JL, Zhang YF, Shang H. Twist promotes invasion and cisplatin resistance in pancreatic cancer cells through growth differentiation factor 15. *Mol Med Rep* 2015; 12: 3841-3848 [PMID: 26018318 DOI: 10.3892/mmr.2015.3867]
- 10 Kiss K, Baghy K, Spisák S, Szanyi S, Tulassay Z, Zalatnai A, Löhr JM, Jesenofsky R, Kovalszky I, Firneisz G. Chronic hyperglycemia induces trans-differentiation of human pancreatic stellate cells and enhances the malignant molecular communication with human pancreatic cancer cells. *PLoS One* 2015; 10: e0128059 [PMID: 26010611 DOI: 10.1371/journal.pone.0128059]
- 11 Chakraborty S, Baine MJ, Sasson AR, Batra SK. Current status of molecular markers for early detection of sporadic pancreatic cancer. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1815: 44-64 [PMID: 20888394 DOI: 10.1016/j.bbcan.2010.09.002]
- 12 Frakes JM, Strom T, Springett GM, Hoffe SE, Balducci L, Hodul P, Malafa MP, Shridhar R. Resected pancreatic cancer outcomes in the elderly. *J Geriatr Oncol* 2015; 6: 127-132 [PMID: 25555451 DOI: 10.1016/j.jgo.2014.11.005]
- 13 Sole CV, Calvo FA, Atahualpa F, Berlin A, Herranz R, Gonzalez-Bayon L, García-Sabrido JL. Role of radiotherapy in the chemotherapy-containing multidisciplinary management of patients with resected pancreatic adenocarcinoma. *Strahlenther Onkol* 2015; 191: 17-25 [PMID: 25293727 DOI: 10.1007/s00066-014-0759-1]
- 14 Shiozaki A, Liu M. Roles of XB130, a novel adaptor protein, in cancer. *J Clin Bioinforma* 2011; 1: 10 [PMID: 21884627 DOI: 10.1186/2043-9113-1-10]
- 15 Shiozaki A, Lodyga M, Bai XH, Nadesalingam J, Oyaizu T, Winer D, Asa SL, Keshavjee S, Liu M. XB130, a novel adaptor protein, promotes thyroid tumor growth. *Am J Pathol* 2011; 178: 391-401 [PMID: 21224076 DOI: 10.1016/j.ajpath.2010.11.024]
- 16 Shi M, Huang W, Lin L, Zheng D, Zuo Q, Wang L, Wang N, Wu Y, Liao Y, Liao W. Silencing of XB130 is associated with both the prognosis and chemosensitivity of gastric cancer. *PLoS One* 2012; 7: e41660 [PMID: 22927913 DOI: 10.1371/journal.pone.0041660]
- 17 Chiang KC, Chen HY, Hsu SY, Pang JH, Wang SY, Hsu JT, Yeh TS, Chen LW, Kuo SF, Sun CC, Lee JM, Yeh CN, Juang HH. PTEN insufficiency modulates ER+ breast cancer cell cycle progression and increases cell growth in vitro and in vivo. *Drug Des Devel Ther* 2015; 9: 4631-4638 [PMID: 26316702 DOI: 10.2147/DDDT.S86184]
- 18 Feng R, Ye J, Zhou C, Qi L, Fu Z, Yan B, Liang Z, Li R, Zhai W. Calreticulin down-regulation inhibits the cell growth, invasion and cell cycle progression of human hepatocellular carcinoma cells. *Diagn Pathol* 2015; 10: 149 [PMID: 26307067 DOI: 10.1186/s13000-015-0382-1]
- 19 Bai XH, Cho HR, Moodley S, Liu M. XB130-A Novel Adaptor Protein: Gene, Function, and Roles in Tumorigenesis. *Scientifica (Cairo)* 2014; 2014: 903014 [PMID: 24995146 DOI: 10.1155/2014/903014]
- 20 Fang Y, Yi J, Lizhi L, Qiucheng C. Rho GDP dissociation inhibitor beta promotes cell proliferation and invasion by modulating the AKT pathway in hepatocellular carcinoma. *DNA Cell Biol* 2014; 33: 781-786 [PMID: 25180836 DOI: 10.1089/dna.2014.2545]
- 21 Lodyga M, De Falco V, Bai XH, Kapus A, Melillo RM, Santoro M, Liu M. XB130, a tissue-specific

- adaptor protein that couples the RET/PTC oncogenic kinase to PI 3-kinase pathway. *Oncogene* 2009; 28: 937-949 [PMID: 19060924 DOI: 10.1038/onc.2008.447]
- 22 Snyder BN, Cho Y, Qian Y, Coad JE, Flynn DC, Cunnick JM. AFAP1L1 is a novel adaptor protein of the AFAP family that interacts with cortactin and localizes to invadosomes. *Eur J Cell Biol* 2011; 90: 376-389 [PMID: 21333378 DOI: 10.1016/j.jecb.2010.11.016]
- 23 Shiozaki A, Shen-Tu G, Bai X, Iitaka D, De Falco V, Santoro M, Keshavjee S, Liu M. XB130 mediates cancer cell proliferation and survival through multiple signaling events downstream of Akt. *PLoS One* 2012; 7: e43646 [PMID: 22928011 DOI: 10.1371/journal.pone.0043646]
- 24 Zheng YT, Yang HY, Li T, Zhao B, Shao TF, Xiang XQ, Cai WM. Amiloride sensitizes human pancreatic cancer cells to erlotinib in vitro through inhibition of the PI3K/AKT signaling pathway. *Acta Pharmacol Sin* 2015; 36: 614-626 [PMID: 25864651 DOI: 10.1038/aps.2015.4]
- 25 Won JK, Yang HW, Shin SY, Lee JH, Heo WD, Cho KH. The crossregulation between ERK and PI3K signaling pathways determines the tumoricidal efficacy of MEK inhibitor. *J Mol Cell Biol* 2012; 4: 153-163 [PMID: 22561840 DOI: 10.1093/jmcb/mjs021]
- 26 Zhong H, Sanchez C, Spitzner D, Plambeck-Suess S, Gibbs J, Hawkins WG, Denardo D, Gao F, Pufahl RA, Lockhart AC, Xu M, Linehan D, Weber J, Wang-Gillam A. Correction: Synergistic Effects of Concurrent Blockade of PI3K and MEK Pathways in Pancreatic Cancer Preclinical Models. *PLoS One* 2015; 10: e0127365 [PMID: 25915396 DOI: 10.1371/journal.pone.0127365]
- 27 Beloribi-Djefallia S, Siret C, Lombardo D. Exosomal lipids induce human pancreatic tumoral MiaPaCa-2 cells resistance through the CXCR4-SDF-1 α signaling axis. *Oncoscience* 2015; 2: 15-30 [PMID: 25821841]
- 28 Han B, Xiao H, Xu J, Lodyga M, Bai XH, Jin T, Liu M. Actin filament associated protein mediates c-Src related SRE/AP-1 transcriptional activation. *FEBS Lett* 2011; 585: 471-477 [PMID: 21236256 DOI: 10.1016/j.febslet.2011.01.014]
- 29 Okano K, Suzuki Y. Strategies for early detection of resectable pancreatic cancer. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 11230-11240 [PMID: 25170207 DOI: 10.3748/wjg.v20.i32.11230]
- 30 Kong X, Li L, Li Z, Xie K. Targeted destruction of the orchestration of the pancreatic stroma and tumor cells in pancreatic cancer cases: molecular basis for therapeutic implications. *Cytokine Growth Factor Rev* 2012; 23: 343-356 [PMID: 22749856 DOI: 10.1016/j.cytogfr.2012.06.006]
- 31 Tang SC, Chen YC. Novel therapeutic targets for pancreatic cancer. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 10825-10844 [PMID: 25152585 DOI: 10.3748/wjg.v20.i31.10825]

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利



分化抑制因子在肝癌化疗疗效检验中的应用

禹梅, 马玉梅, 陈花莲, 刘婕, 方晓蕾

禹梅, 刘婕, 方晓蕾, 安康市中心医院输血科 陕西省安康市 725000

马玉梅, 西安市北方医院检验科 陕西省西安市 710043

陈花莲, 渭南市妇幼保健院检验科 陕西省渭南市 714000

禹梅, 副主任检验师, 主要从事临床输血的研究。

作者贡献分布: 禹梅、马玉梅、陈花莲及刘婕参与本研究设计和检验; 禹梅参与本研究基础实验研究; 方晓蕾提供实验研究经费和实验设计。

通讯作者: 方晓蕾, 主管检验师, 725000, 陕西省安康市汉滨区金洲南路85号, 安康市中心医院输血科。

yf15274807936@163.com

电话: 0915-3284074

收稿日期: 2015-05-20 修回日期: 2015-07-25

接受日期: 2015-09-07 在线出版日期: 2015-10-08

Application of inhibitors of differentiation 2 and 3 for evaluation of chemotherapy efficacy in liver cancer

Mei Yu, Yu-Mei Ma, Hua-Lian Chen, Jie Liu, Xiao-Lei Fang

Mei Yu, Jie Liu, Xiao-Lei Fang, Department of Blood Transfusion, Center Hospital of Ankang City, Ankang 725000, Shaanxi Province, China

Yu-Mei Ma, Department of Clinical Laboratory, Xi'an North Hospital, Xi'an 710043, Shaanxi Province, China

Hua-Lian Chen, Department of Clinical Laboratory, Weinan Maternity and Child Care, Weinan 714000, Shaanxi Province, China

Correspondence to: Xiao-Lei Fang, Senior Lab Technician, Department of Blood Transfusion, Center Hospital of Ankang City, 85 Jinzhou South Road, Hanbin District, Ankang 725000, Shaanxi Province, China. yf15274807936@163.com

Received: 2015-05-20 Revised: 2015-07-25

Accepted: 2015-09-07 Published online: 2015-10-08

Abstract

AIM: To explore the influence of surgery alone and in combination with postoperative adjuvant chemotherapy on tumor markers,

inhibitor of differentiation 2 (ID2), ID3 and survival time in patients with liver cancer, analyze the influence of ID2 and ID3 on the invasion and metastasis of liver cancer, and explore the feasibility of detection of ID2 and ID3 expression in evaluating efficacy of postoperative adjuvant chemotherapy.

METHODS: This was a 1:1 matched case-control study. ELISA was used to detect the levels of tumor markers, ID2 and ID3 in the serum of patients. Western blot was used to detect the protein expression levels of ID2 and ID3 in tumor tissues and adjacent tissues. Transwell assay was used to detect the invasion and metastasis of liver cancer cells. The correlation between the content of AFP and the expression levels of ID2 and ID3 was statistically analyzed.

RESULTS: The tumor markers CEA, CA50, AFP, and CA242 as well as ID2 and ID3 in the serum decreased significantly and the survival time was longer in patients receiving surgery with postoperative adjuvant chemotherapy when compared with patients receiving surgery alone ($P < 0.05$). The protein expression levels of ID2 and ID3 were decreased in the adjacent normal tissues compared with the liver cancer tissues ($P < 0.05$). Transwell analysis indicated that ID2 and ID3 knockdown inhibited the invasion and metastasis ability of HepG2 cells while overexpression of ID2 and ID3 promoted the invasion and metastasis of HepG2 cells ($P < 0.05$). There was a positive correlation between the content of AFP and the expression levels of ID2 and ID3 ($r_{ID2} = 0.881$, $r_{ID3} = 0.928$, $P < 0.05$).

CONCLUSION: ID2 and ID3 have similar effects

背景资料

分化抑制因子又称DNA结合抑制因子, 是一类广泛表达的转录调控因子, 属于螺旋-环-螺旋转录因子家族成员之一, 细胞分化抑制因子(differentiation inhibitory factor, ID)在细胞周期调控中发挥重要作用, 其细胞表达模式及其调控机制具有多样性和复杂性。一般认为, ID基因家族成员的行为与致癌基因相似。

同行评议者

邓安梅, 教授, 主任医师, 中国人民解放军第二军医大学长海医院实验诊断科

■ 研究前沿

肝癌可分为原发性和继发性两大类。原发性肝脏恶性肿瘤起源于肝脏的上皮或间叶组织, 是我国高发的, 危害极大的恶性肿瘤。对于癌症早期的检验诊断学的研究对于患者生存率和生活质量的提高具有重要作用, 目前研究主要是集中在肝癌血清标志物的检测, 例如: 血清甲胎蛋白; γ -谷氨酰转肽酶及其同功酶、异常凝血酶原、碱性磷酸酶、乳酸脱氢酶同功酶等水平的检测。有报道提示, 分化抑制因子与肿瘤有密切相关, 因此, 本文的研究从分化抑制因子和肿瘤的相关性入手。

to liver tumor markers, and the increased expression of ID2 and ID3 indicates greater invasion and metastasis ability of HepG2 cells and shorter survival time in patients with liver cancer. ID2 and ID3 expression might be used for clinical evaluation of efficacy of postoperative adjuvant chemotherapy.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Inhibitor of differentiation 2; Inhibitor of differentiation 3; Liver cancer; Postoperative adjuvant chemotherapy; Tumor markers; mRNA expression level; Invasion and metastasis; Correlation

Yu M, Ma YM, Chen HL, Liu J, Fang XL. Application of inhibitors of differentiation 2 and 3 for evaluation of chemotherapy efficacy in liver cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(28): 4499-4506 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4499.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i28.4499>

摘要

目的: 通过探究肝癌单纯手术和手术后辅助化疗对于患者血清肿瘤标志物、细胞分化抑制因子2(differentiation inhibitory factor 2, ID2)、ID3、生存时间的影响, 分析ID2、ID3表达与肝癌患者血清中重要肿瘤标志物甲胎蛋白(α -fetoprotein, AFP)的相关性以及ID2、ID3对肝癌侵袭转移力的影响, 从而阐明分化抑制因子表达水平检测在评价肝癌术后辅助化疗效果的可行性。

方法: 采用1:1病例对照研究方法, 采用ELISA方法检测患者血清中肿瘤标志物、ID2、ID3含量; 采用Western blot方法检测ID2、ID3的蛋白表达水平; 采用Transwell法检测ID2、ID3对肿瘤侵袭转移力的影响; 采用SPSS软件分析ID2、ID3表达量与血清中肿瘤标志物AFP含量的相关性。

结果: 术后给予辅助化疗的患者血清中肿瘤标志物癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)、糖链抗原50(carbohydrate antigen 50, CA50)、AFP、CA242含量明显低于单纯手术组患者($P<0.05$), 生存时间明显长于单纯手术患者($P<0.05$), 血清中ID2、ID3的表达水平均低于单纯手术患者($P<0.05$), 肿瘤组织中ID2、ID3的蛋白表达水平高于癌旁组织($P<0.05$), 血清肿瘤标志物AFP的与ID2、ID3基因表达量呈正相关($r_{ID2} = 0.881$, $r_{ID3} = 0.928$, $P<0.05$)。在细胞水平沉默ID2、ID3可以削弱肿瘤的侵袭转移能力, 过表达

ID2、ID3可以增强肿瘤的侵袭转移能力($P<0.05$)。

结论: ID2、ID3与肝癌肿瘤标志物有类似作用, 其表达上调提示肿瘤的侵袭转移能力增强, 患者生存时间缩短, 这可为临床上评价肝癌术后辅助化疗效果提供新的参考依据。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 分化抑制因子2; 分化抑制因子3; 肝癌; 辅助化疗; 肿瘤标志物; 信使RNA水平; 侵袭和转移; 相关性

核心提示: 细胞分化抑制因子2(differentiation inhibitory factor 2, ID2)、ID3表达的上调或下调提示肿瘤的侵袭转移能力以及患者生存时间的改变, 对于预测肿瘤细胞的浸润转移有重要意义。

禹梅, 马玉梅, 陈花莲, 刘婕, 方晓蕾. 分化抑制因子在肝癌化疗疗效检验中的应用. *世界华人消化杂志* 2015; 23(28): 4499-4506 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4499.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i28.4499>

0 引言

肝癌可分为原发性和继发性两大类。原发性肝脏恶性肿瘤起源于肝脏的上皮或间叶组织, 是我国高发的, 危害极大的恶性肿瘤; 继发性或称转移性肝癌系指全身多个器官起源的恶性肿瘤侵犯至肝脏。一般多见于胃、胆道、胰腺、结直肠、卵巢、子宫、肺、乳腺等器官恶性肿瘤的肝转移, 与原发肝癌相比较较为少见^[1-3]。流行病学及实验研究^[4-6]资料表明, 乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)和丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染、黄曲霉素、饮水污染、酒精、肝硬化、性激素、亚硝胺类物质、微量元素等都与肝癌发病相关。继发性肝癌(转移性肝癌)可通过不同途径, 如随血液、淋巴液转移或直接浸润肝脏而形成疾病。

原发性肝癌的实验室检验项目一般有肝癌血清标志物的检测, 例如: 血清甲胎蛋白; γ -谷氨酰转肽酶及其同功酶、异常凝血酶原、碱性磷酸酶、乳酸脱氢酶同功酶等水平的检测; 癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)高有助于肝转移癌的诊断^[7-10]。手术是治疗肝癌

的首选, 也是最有效的方法. 手术方法有根治性肝切除, 姑息性肝切除等. 患者手术后属于术后康复期. 在康复期的治疗上也是尤为重要的. 因为存在的复发和转移几率是很高的, 术后残余的癌细胞会不定时的向各部位转移. 所以术后要加强巩固以防止他的复发和转移, 所以化疗是术后较为有效的治疗办法^[11-13]. 化疗疗效的评价也是肝癌患者临床一项重要的监测指标.

分化抑制因子又称DNA结合抑制因子, 是一类广泛表达的转录调控因子, 属于螺旋-环-螺旋转录因子家族成员之一, 细胞分化抑制因子(differentiation inhibitory factor, ID)在细胞周期调控中发挥重要作用, 其细胞表达模式及其调控机制具有多样性和复杂性. 一般认为, ID基因家族成员的行为与致癌基因相似^[14]. 某些ID基因的过度表达可延迟细胞衰老, 与肿瘤的发生及其严重程度有关联^[15].

本研究通过探究肝癌单纯手术和手术后辅助化疗对于患者血清肿瘤标志物、ID2、ID3、生存时间的影响, 并检测肿瘤组织以及癌旁组织分化抑制因子ID2、ID3的mRNA表达水平, 分析ID2、ID3表达与肝癌患者血清中重要肿瘤标志物AFP的相关性以及ID2、ID3对肝癌侵袭转移力的影响, 从而阐明分化抑制因子ID2、ID3表达水平检测在评价肝癌术后辅助化疗效果的参考价值.

1 材料和方法

1.1 材料 (1)随机选取2008-01-01/2009-01-01西安市北方医院、安康市中心医院、渭南市妇幼保健院收治的进行单纯手术治疗的早期肝癌患者30例(平均年龄 45.25 ± 3.75 岁), 以及2008-01-01/2009-01-01安康市中心医院收治的进行手术治疗并在术后接受辅助化疗的患者30例(平均年龄 46.38 ± 2.24 岁); (2)根据医学伦理学原则, 研究前应对研究对象及其家属进行告知和讲解, 确保所有研究对象充分了解相关信息, 并签署知情同意书; (3)对于病例进行随访, 随访时间为10年, 每年1次. ELISA检测试剂盒, 上海邦奕生物科技有限公司; ID2、ID3抗体, Anti-Rabbit二抗抗体, 人肝癌细胞株HepG2、HDMEM培养基、胎牛血清, 上海拜力生物科技有限公司; BD Matrigel基质胶, 上海慧颖生物科技有限公司; 结晶紫染色试剂, 上海研生生化试剂有限公司; CULTEX[®] LTC

全自动Transwell细胞培养系统, 北京佰乐良成科技有限公司; Simon Western blot自动分析仪, 北京佰乐良成科技有限公司; ID2、ID3干扰腺病毒、过表达病毒载体构建, 上海生博生物医药科技有限公司.

1.2 方法

1.2.1 标本采集与保存: 所有实验对象在手术后化疗4个疗程(一个疗程2 d)后的清晨10:00点抽取空腹肘静脉血5 mL(实验前10 h禁食), 装于有肝素抗凝的离心管中, 混匀, 离心(5000 r/min \times 10 min), 收集上层血清, 一部分用于ELISA检测肿瘤标志物; 另一部分用于血清中ID2、ID3的水平检测. 在手术中, 分别钳取距癌灶2 cm的肿瘤组织以及癌旁组织, 经常规处理后, 一部分进行病理组织学观察, 一部分冻存于-80 °C保存待用.

1.2.2 ELISA检测术前、术后血清中肿瘤标志物CEA、糖链抗原50(carbohydrate antigen 50, CA50)、AFP、CA242以及分化抑制因子ID2、ID3的含量: 将不同浓度的标准品各0.1 mL依次加入一排7孔中, 加入稀释的待检测样品0.1 mL, 置于37 °C孵育90 min, 甩去酶标板中的液体. 将准备好的抗体工作液按每孔0.1 mL依次加入, 置于37 °C孵育60 min 用PBS洗涤3次, 每次浸泡1 min左右; 将准备好的ABC工作液按每孔0.1 mL依次加入, 置于37 °C孵育30 min, 用PBS洗涤, 5次; 按每孔90 μ L依次加入TMB显色液, 置于37 °C避光反应15-20 min; 按每孔100 μ L依次加入TMB终止液, 此时蓝色立刻转为黄色, 用酶标仪在450 nm处测定吸光度^[16].

1.2.3 组织中分化抑制因子ID2、ID3的蛋白水平检测: 测定组织中待测蛋白样品的浓度, 为确保每个蛋白样品上样体积的一致, 采用碧云天生产的BCA工作液对样品中的蛋白进行定量. 在样品中加入适量碧云天生产的5 \times SDS-PAGE蛋白上样缓冲液. 沸水浴中3 min后上样, 电泳(80 V电压30 min, 100 V电压60 min), 电转膜仪转膜(200 mA 90 min), 用5%脱脂牛奶封闭, 随后于摇床上孵育一抗1 h, 4 °C冰箱过夜, 第2天继续孵育一抗1 h, 洗膜, 3次, 5 min/次, 孵育二抗, 2 h, 洗膜3次, 10 min/次. 用自动显影仪显影, 并分析条带灰度^[17].

1.2.4 病毒转染: 将50 MOI的ID2、ID3干扰腺病毒加入含2%胎牛血清、无双抗的培养皿中(细胞密度 2.5×10^5 个/mL), 转染6 h后, 换含

■ 相关报道

ID分子在细胞周期调控中发挥重要作用, 其细胞表达模式及其调控机制具有多样性和复杂性. 一般认为, ID基因家族成员的行为与致癌基因相似, 某些ID基因的过度表达可延迟细胞衰老, 与肿瘤的发生及其严重程度有关联.

■ 创新点

本研究通过采用相关性分析, Western blot半定量分析以及肿瘤侵袭转移能力分析等方法学, 证明分化抑制因子ID2、ID3与肝癌肿瘤标志物有类似作用, 其表达上调提示肿瘤的侵袭转移能力增强, 患者生存时间缩短, 在预测肿瘤细胞的浸润转移方面有重要意义, 为临床提供了新的肿瘤预测点。

表 1 两组患者术前、术后血清中肿瘤标志物、ID2、ID3含量的比较 (mean ± SD)

检测项目	单纯手术组		术后化疗组		
	手术前	手术后	手术前	手术后	化疗后
CEA(ng/mL)	26.37 ± 2.17	6.25 ± 1.14 ^a	23.26 ± 1.99	6.32 ± 1.79 ^c	3.34 ± 1.08 ^e
CA50(U/mL)	116.76 ± 20.92	87.96 ± 25.42 ^a	122.83 ± 21.65	85.24 ± 24.21 ^c	65.62 ± 22.77 ^e
AFP(ng/mL)	50.37 ± 1.55	18.24 ± 2.56 ^a	57.79 ± 2.24	19.61 ± 1.04 ^c	13.74 ± 3.38 ^e
CA242(U/mL)	107.36 ± 21.55	80.25 ± 20.14 ^a	96.25 ± 14.87	83.09 ± 17.75 ^c	46.76 ± 19.49 ^e
ID2(pg/mL)	880.44 ± 32.16	520.23 ± 19.86 ^a	859.21 ± 29.88	525.11 ± 31.78 ^c	470.26 ± 30.57 ^e
ID3(pg/mL)	677.27 ± 23.25	495.76 ± 25.44 ^a	653.21 ± 25.42	500.09 ± 27.34 ^c	420.22 ± 31.25 ^e

^a*P*<0.05 vs 单纯手术组手术前; ^c*P*<0.05 vs 术后化疗组手术前; ^e*P*<0.05 vs 术后化疗组手术后。ID: 细胞分化抑制因子; CEA: 癌胚抗原; CA: 糖链抗原; AFP: 甲胎蛋白。

10%胎牛血清和1 mL双抗的培养基培养48 h; 将100 MOI ID2、ID3过表达腺病毒加入含2%胎牛血清、无双抗的培养皿中(细胞密度 2.5×10^5 个/mL), 转染6 h后, 换含10%胎牛血清和1 mL双抗的培养基培养48 h^[18]。

1.2.5 Transwell检测分化抑制因子ID2、ID3对肝癌细胞(HepG2)侵袭转移力的影响: 构建ID2、ID3干扰腺病毒(ID2、ID3 sh-RNA), 以及ID2、ID3的过表达腺病毒(Ad-ID2、ID3), 采用肝癌细胞株HepG2进行实验。将实验分为3个组别, 分别为: GFP组、ID2 sh-RNA组、Ad-ID2组; GFP组、ID3 sh-RNA组、Ad-ID3组。转染病毒48 h后, 进行Transwel实验。Matrigel胶预冷为液态, 在冰上将无血清培养基与Matrigel胶1:8混合稀释, 混匀后按每孔加入Transwell小室中。在室温条件下风干5 h。每孔加入100 μL无血清培养基水化基底膜, 在37℃温箱中放置30 min。调整细胞密度为 2.5×10^5 个/mL, 取200 μL加入小室内, 底部培养室内加入500 μL含20%FBS的高糖完全培养基。在37℃、50 mL/L CO₂条件培养36 h。弃去小室内液体, 用棉棒擦掉小室底部内面细胞, 将小室侵入950 mL/L乙醇固定5 min, 加入4 g/L结晶紫200 μL染色10 min。计算每个视野细胞平均数^[19]。

统计学处理 采用SPSS19.0统计软件分析, 计量数据以mean±SD示, 计数资料采用χ²检验, 计量资料采用*t*检验。以*P*<0.05表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者临床一般资料的分析 对两组患者临床一般资料的分析结果显示, 单纯手术组30

例, 男女比例为2.78:1, 术前病程为3.58 mo±0.66 mo; 手术后辅助化疗组30例, 男女比例为2.62:1, 术前病程为3.25 mo±0.71 mo; 两组患者在男女比例、平均年龄、术前病程方面差异均无明显的统计学意义(*P*>0.05)。

2.2 两组患者术前术后、术后化疗组患者化疗前后血清中肿瘤标志物、分化抑制因子ID2、ID3的含量以及患者生存时间比较 由ELISA结果可知, 两组患者术前和术后CEA、CA50、AFP、CA242、ID2、ID3含量无明显统计学差异(*P*>0.05); 与单纯手术治疗组相比, 术后辅助化疗组血清中肿瘤标志物CEA、CA50、AFP、CA242含量明显降低(*P*<0.05), 血清中分化抑制因子ID2、ID3的含量明显降低(*P*<0.05), 术后未化疗组患者平均生存时间为4.41年±2.86年, 术后化疗组患者平均生存时间明显延长, 为6.62年±1.23年(*P*<0.05)(表1)。

2.3 血清中分化抑制因子ID2、ID3的表达与肿瘤标志物AFP含量的相关性分析 ELISA结果显示, 血清中分化抑制因子ID2与ID3的表达与肿瘤标志物AFP含量呈正相关($r_{ID2} = 0.881$, *P*<0.05; $r_{ID3} = 0.928$, *P*<0.05)(图1)。

2.4 患者肝癌组织以及癌旁组织中分化抑制因子ID2、ID3的蛋白水平检测 Western blot结果显示, 肿瘤组织中ID2、ID3蛋白表达的灰度密度明显高于癌旁组织, 提示肿瘤组织中ID2、ID3蛋白表达水平高于癌旁组(*P*<0.05)(图2)。

2.5 Transwell检测分化抑制因子ID2、ID3对肝癌细胞(HepG2)侵袭转移力的影响 实验结果表明, GFP组细胞穿膜数为45.2个/mL±3.4个/mL, 干扰ID2组细胞穿膜数为33.7个/mL±1.3个/mL、干扰ID3基因表达组细胞穿膜数为37.4个/mL±0.9个/mL, 说明干扰ID2、ID3后,

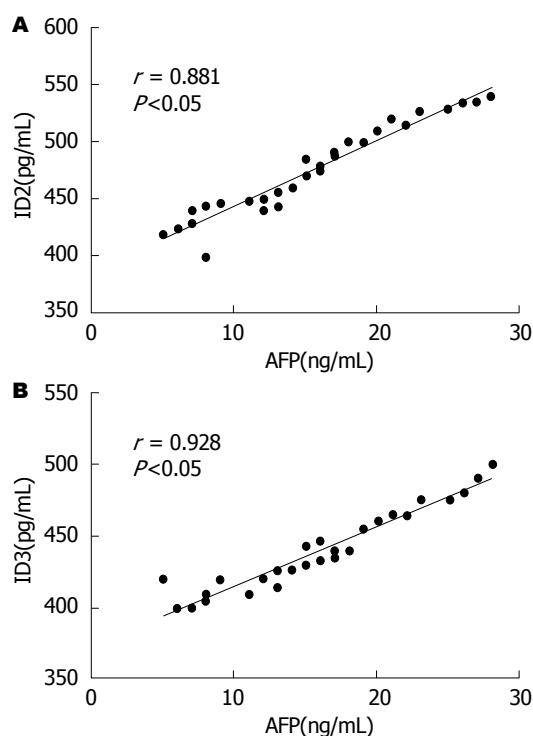


图 1 血清中分化抑制因子ID2、ID3的表达与肿瘤标志物AFP含量的相关性分析. A: 血清中分化抑制因子ID2的表达与肿瘤标志物AFP含量的相关性; B: 血清中分化抑制因子ID3的表达与肿瘤标志物AFP含量的相关性. AFP: 甲胎蛋白; ID: 细胞分化抑制因子.

胃癌细胞的侵袭、转移能力减弱($P < 0.05$); 过表达GFP组细胞穿膜数为 $42.6 \text{ 个/mL} \pm 3.3 \text{ 个/mL}$, 过表达ID2组细胞穿膜数为 $50.4 \text{ 个/mL} \pm 1.2 \text{ 个/mL}$ 、过表达ID3基因表达组细胞穿膜数为 $49.8 \text{ 个/mL} \pm 1.5 \text{ 个/mL}$ (图3).

3 讨论

早期肝癌常症状无特异性, 中晚期肝癌的症状则较多, 常见的临床表现有肝区疼痛、腹胀、纳差、乏力、消瘦, 进行性肝大或上腹部包块等; 部分患者有低热、黄疸、腹泻、上消化道出血; 肝癌破裂后出现急腹症表现等. 也有症状不明显或仅表现为转移灶的症状^[20-22].

原发性肝癌的实验室检测指标主要有肝癌血清标志物的检测、血液酶学、超声检查、CT检查、MRI检查、选择性腹腔动脉或肝动脉造影检查、肝穿刺行针吸细胞学检查等^[23-25]. 大多数继发性肝癌患者肿瘤标志物在正常范围内, 但少数来自胃、食管、胰腺及卵巢的肝转移癌则可有AFP的升高. 有症状者多伴有ALP、GGT升高. 癌胚抗原CEA升高有助于肝转移癌的诊断^[26-29]. 由此可见, 对肝癌血清

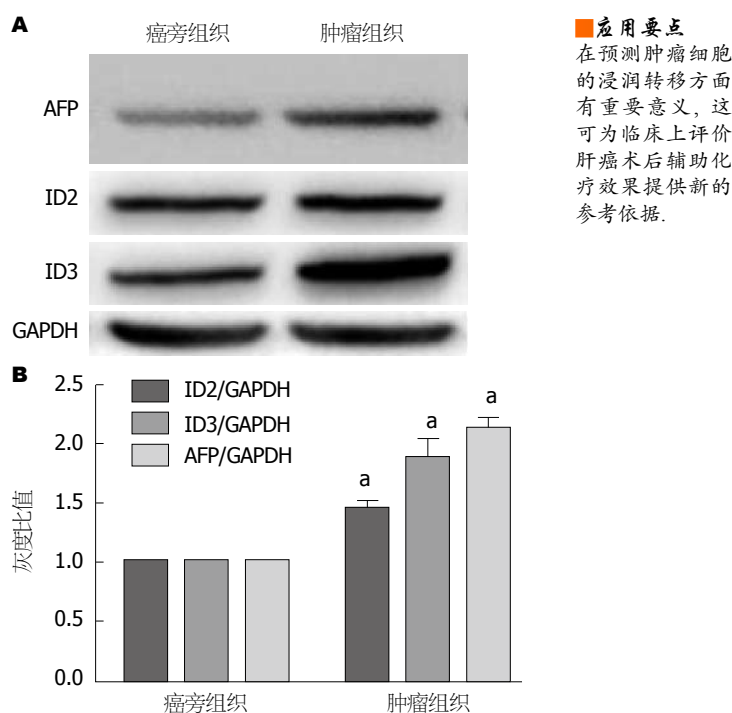


图 2 患者肝癌组织以及癌旁组织中AFP、分化抑制因子ID2、ID3的蛋白水平检测. A: Western blot检测患者肝癌组织和癌旁组织中分化抑制因子ID2、ID3及AFP的蛋白水平; B: 蛋白的相对表达量. $^*P < 0.05$ vs 癌旁组织. AFP: 甲胎蛋白; ID: 细胞分化抑制因子.

标志物的检测是确诊、复查的一个重要的指标^[30,31].

本研究探究肝癌单纯手术和手术后辅助化疗对于患者血清肿瘤标志物、ID2、ID3、生存时间的影响, 并检测肿瘤组织以及癌旁组织分化抑制因子ID2、ID3的mRNA表达水平, 分析ID2、ID3表达与肝癌患者血清中重要肿瘤标志物AFP的相关性以及ID2、ID3对肝癌侵袭转移力的影响, 为评价肝癌术后辅助化疗效果提供一个重要的标志物.

研究结果显示, 术后给予辅助化疗的患者血清中肿瘤标志物CEA、CA50、AFP、CA242含量明显低于单纯手术组患者($P < 0.05$); 术后辅助化疗患者的生存时间明显长于单纯手术患者($P < 0.05$); 术后辅助化疗患者血清中ID2、ID3的表达水平均低于单纯手术患者($P < 0.05$); 肿瘤组织中ID2、ID3的蛋白表达水平高于癌旁组织($P < 0.05$); 患者血清肿瘤标志物AFP的与ID2、ID3基因表达量呈正相关($r_{ID2} = 0.881$, $r_{ID3} = 0.928$, $P < 0.05$); 在细胞水平沉默ID2、ID3可以削弱肿瘤的侵袭转移能力, 过表达ID2、ID3可以增强肿瘤的侵袭转移能力($P < 0.05$). 过去有报道称ID基因家族成员的行

应用要点

在预测肿瘤细胞的浸润转移方面具有重要意义, 这可为临床上评价肝癌术后辅助化疗效果提供新的参考依据.

■名词解释

分化抑制因子: DNA结合抑制因子, 是一类广泛表达的转录调控因子, 属于螺旋-环-螺旋转录因子家族成员之一, ID分子在细胞周期调控中发挥重要作用。

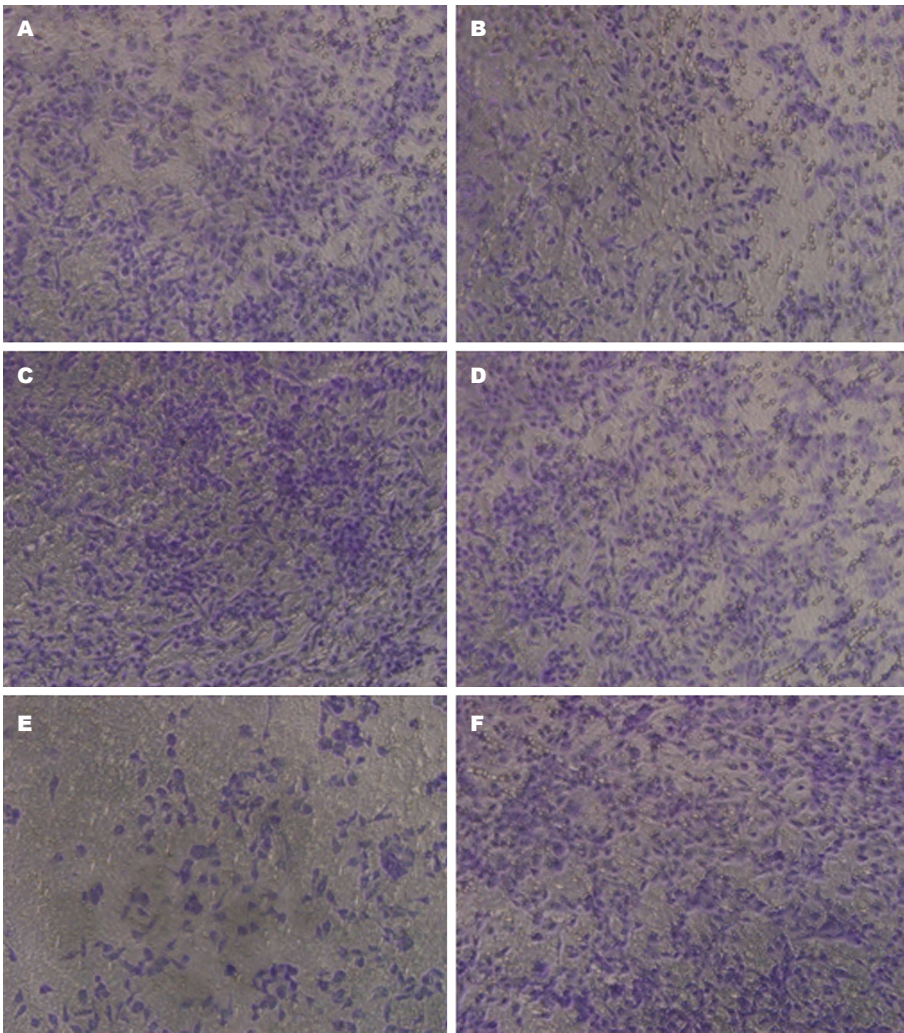


图 3 Transwell检测分化抑制因子ID2、ID3对肝癌细胞(HepG2)侵袭转移力的影响(结晶紫染色×200)。A、D: 转染GFP阴性对照对肝癌细胞侵袭转移的影响; B: 转染ID2干扰病毒对肝癌细胞侵袭转移的影响; C: 转染ID2过表达病毒对肝癌细胞侵袭转移的影响; E: 转染ID3干扰病毒对肝癌细胞侵袭转移的影响; F: 转染ID2过表达病毒对肝癌细胞侵袭转移的影响。ID: 细胞分化抑制因子。

为与致癌基因相似^[14,31]。某些ID基因的过度表达可延迟细胞衰老, 与肿瘤的发生及其严重程度有关联, 而我们的研究结果证实, 分化抑制因子ID2、ID3与肝癌肿瘤标志物有类似作用, ID2、ID3的升高说明肿瘤细胞的侵袭转移能力提高, ID2、ID3水平的下降说明肿瘤细胞侵袭转移能力的下降。

本研究在预测肿瘤细胞的浸润转移方面有重要意义, 这可为临床上评价肝癌术后辅助化疗效果提供了新的参考依据。

4 参考文献

1 Tsang CM, Cheung KC, Cheung YC, Man K, Lui VW, Tsao SW, Feng Y. Berberine suppresses Id-1 expression and inhibits the growth and development of lung metastases in hepatocellular carcinoma. *Biochim Biophys Acta* 2015; 1852: 541-551

2 [PMID: 25496992 DOI: 10.1016/j.bbdis.2014.12.004] Nittka S, Krueger MA, Shively JE, Boll H, Brockmann MA, Doyon F, Pichler BJ, Neumaier M. Radioimmunoimaging of liver metastases with PET using a 64Cu-labeled CEA antibody in transgenic mice. *PLoS One* 2014; 9: e106921 [PMID: 25226518 DOI: 10.1371/journal.pone.0106921]

3 Vandewynckel YP, Laukens D, Bogaerts E, Paridaens A, Van den Bussche A, Verhelst X, Van Steenkiste C, Descamps B, Vanhove C, Libbrecht L, De Rycke R, Lambrecht BN, Geerts A, Janssens S, Van Vlierberghe H. Modulation of the unfolded protein response impedes tumor cell adaptation to proteotoxic stress: a PERK for hepatocellular carcinoma therapy. *Hepatol Int* 2015; 9: 93-104 [PMID: 25598862 DOI: 10.1007/s12072-014-9582-0]

4 Sham JG, Kievit FM, Grierson JR, Chiarelli PA, Miyaoka RS, Zhang M, Yeung RS, Minoshima S, Park JO. Glypican-3-targeting F(ab')₂ for 89Zr PET of hepatocellular carcinoma. *J Nucl Med* 2014; 55: 2032-2037 [PMID: 25359880 DOI: 10.2967/jnumed.114.145102]

- 5 Zhao ZM, Jin Y, Gan Y, Zhu Y, Chen TY, Wang JB, Sun Y, Cao ZG, Qian GS, Tu H. Novel approach to identifying the hepatitis B virus pre-S deletions associated with hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 13573-13581 [PMID: 25309088 DOI: 10.3748/wjg.v20.i37.13573]
- 6 Vandewynckel YP, Laukens D, Geerts A, Vanhove C, Descamps B, Colle I, Devisscher L, Bogaerts E, Paridaens A, Verhelst X, Van Steenkiste C, Libbrecht L, Lambrecht BN, Janssens S, Van Vlierberghe H. Therapeutic effects of artesunate in hepatocellular carcinoma: repurposing an ancient antimalarial agent. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2014; 26: 861-870 [PMID: 24987823 DOI: 10.1097/MEG.0000000000000066]
- 7 Wang G, Zhuo Z, Xia H, Zhang Y, He Y, Tan W, Gao Y. Investigation into the impact of diagnostic ultrasound with microbubbles on the capillary permeability of rat hepatomas. *Ultrasound Med Biol* 2013; 39: 628-637 [PMID: 23415284 DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2012.11.004]
- 8 Knoop K, Schwenk N, Dolp P, Willhauck MJ, Zischek C, Zach C, Hacker M, Göke B, Wagner E, Nelson PJ, Spitzweg C. Stromal targeting of sodium iodide symporter using mesenchymal stem cells allows enhanced imaging and therapy of hepatocellular carcinoma. *Hum Gene Ther* 2013; 24: 306-316 [PMID: 23402366 DOI: 10.1089/hum.2012.104]
- 9 Grünwald GK, Klutz K, Willhauck MJ, Schwenk N, Senekowitsch-Schmidtke R, Schwaiger M, Zach C, Göke B, Holm PS, Spitzweg C. Sodium iodide symporter (NIS)-mediated radiotherapy of hepatocellular cancer using a conditionally replicating adenovirus. *Gene Ther* 2013; 20: 625-633 [PMID: 23038026 DOI: 10.1038/gt.2012.79]
- 10 Lesmana LA, Gani RA, Hasan I, Waspodo A, Boedi P, Luwisa MS, Ganggaiswari A. Influence of the sorafenib patients assistance program on treatment compliance and overall survival of unresectable hepatocellular carcinoma patients. *Acta Med Indones* 2012; 44: 228-232 [PMID: 22983078]
- 11 Zhang H, Cai H, Lu X, Muzik O, Peng F. Positron emission tomography of human hepatocellular carcinoma xenografts in mice using copper (II)-64 chloride as a tracer with copper (II)-64 chloride. *Acad Radiol* 2011; 18: 1561-1568 [PMID: 22055798 DOI: 10.1016/j.acra.2011.08.006]
- 12 Arita J, Takahashi M, Hata S, Shindoh J, Beck Y, Sugawara Y, Hasegawa K, Kokudo N. Usefulness of contrast-enhanced intraoperative ultrasound using Sonazoid in patients with hepatocellular carcinoma. *Ann Surg* 2011; 254: 992-999 [PMID: 21694582 DOI: 10.1097/SLA.0b013e31822518be]
- 13 Golcher H, Brunner TB, Witzigmann H, Marti L, Bechstein WO, Bruns C, Jungnickel H, Schreiber S, Grabenbauer GG, Meyer T, Merkel S, Fietkau R, Hohenberger W. Neoadjuvant chemoradiation therapy with gemcitabine/cisplatin and surgery versus immediate surgery in resectable pancreatic cancer: results of the first prospective randomized phase II trial. *Strahlenther Onkol* 2015; 191: 7-16 [PMID: 25252602 DOI: 10.1007/s00066-014-0737-7]
- 14 Kanda M, Fujii T, Suenaga M, Takami H, Inokawa Y, Yamada S, Kobayashi D, Tanaka C, Sugimoto H, Nomoto S, Fujiwara M, Kodera Y. Pancreatoduodenectomy with portal vein resection is feasible and potentially beneficial for elderly patients with pancreatic cancer. *Pancreas* 2014; 43: 951-958 [PMID: 24717827 DOI: 10.1097/MPA.0000000000000136]
- 15 Bachellier P, Rosso E, Fuchshuber P, Addeo P, David P, Oussoultzoglou E, Lucescu I. Use of a temporary intraoperative mesentericoportal shunt for pancreatic resection for locally advanced pancreatic cancer with portal vein occlusion and portal hypertension. *Surgery* 2014; 155: 449-456 [PMID: 24462078 DOI: 10.1016/j.surg.2013.09.003]
- 16 Valle JW, Palmer D, Jackson R, Cox T, Neoptolemos JP, Ghaneh P, Rawcliffe CL, Bassi C, Stocken DD, Cunningham D, O'Reilly D, Goldstein D, Robinson BA, Karapetis C, Scarfe A, Lacaine F, Sand J, Izbicki JR, Mayerle J, Dervenis C, Oláh A, Butturini G, Lind PA, Middleton MR, Anthony A, Sumpter K, Carter R, Büchler MW. Optimal duration and timing of adjuvant chemotherapy after definitive surgery for ductal adenocarcinoma of the pancreas: ongoing lessons from the ESPAC-3 study. *J Clin Oncol* 2014; 32: 504-512 [PMID: 24419109 DOI: 10.1200/JCO.2013.50.7657]
- 17 Ishida J, Matsumoto I, Shinzeki M, Asari S, Goto T, Tanaka M, Yamashita H, Kido M, Ajiki T, Fukumoto T, Ku Y. [A case of metachronous pancreatic cancer that developed 4 years after initial pancreatectomy]. *Gan To Kagaku Ryoho* 2013; 40: 1893-1896 [PMID: 24393957]
- 18 Murakami S, Ajiki T, Shinozaki K, Yoshida Y, Ohtsubo I, Okazaki T, Goto T, Asari S, Shinzeki M, Kido M, Matsumoto I, Fukumoto T, Ku Y. [A case of initially unresectable gallbladder cancer with surgical resection after chemotherapy with gemcitabine]. *Gan To Kagaku Ryoho* 2013; 40: 1744-1746 [PMID: 24393908]
- 19 Merkow RP, Bilimoria KY, Tomlinson JS, Paruch JL, Fleming JB, Talamonti MS, Ko CY, Bentrem DJ. Postoperative complications reduce adjuvant chemotherapy use in resectable pancreatic cancer. *Ann Surg* 2014; 260: 372-377 [PMID: 24374509 DOI: 10.1097/SLA.0000000000000378]
- 20 Gangl O, Sahora K, Kornprat P, Margreiter C, Primavesi F, Bareck E, Schindl M, Längle F, Öfner D, Mischinger HJ, Pratschke J, Gnant M, Függer R. Preparing for prospective clinical trials: a national initiative of an excellence registry for consecutive pancreatic cancer resections. *World J Surg* 2014; 38: 456-462 [PMID: 24121365]
- 21 Hotz B, Erben U, Arndt M, Buhr HJ, Hotz HG. Taurolidine induces epithelial-mesenchymal transition via up-regulation of the transcription factor Snail in human pancreatic cancer cell lines. *Int J Colorectal Dis* 2014; 29: 1339-1348 [PMID: 25179425 DOI: 10.1007/s00384-014-1998-4]
- 22 Knab LM, Ebine K, Chow CR, Raza SS, Sahai V, Patel AP, Kumar K, Bentrem DJ, Grippo PJ, Munshi HG. Snail cooperates with Kras G12D in vivo to increase stem cell factor and enhance mast cell infiltration. *Mol Cancer Res* 2014; 12: 1440-1448 [PMID: 24944064 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-14-0111]
- 23 Chen J, Xu H, Zou X, Wang J, Zhu Y, Chen H, Shen B,

■同行评价

本文利用ELISA、Western blot以及Transwell技术检测了术后化疗与单纯手术疗法对肝患者血清中癌多种指标的影响,分析了ID2、ID3表达与肝癌标志物AFP之间的相关性以及ID2、ID3对肝癌侵袭转移力的影响,揭示了分化抑制因子ID2、ID3在评价肝癌术后辅助化疗效果方面有一定的参考价值。

- Deng X, Zhou A, Chin YE, Rauscher FJ, Peng C, Hou Z. Snail recruits Ring1B to mediate transcriptional repression and cell migration in pancreatic cancer cells. *Cancer Res* 2014; 74: 4353-4363 [PMID: 24903147 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0181]
- 24 Cheng ZX, Wang DW, Liu T, Liu WX, Xia WB, Xu J, Zhang YH, Qu YK, Guo LQ, Ding L, Hou J, Zhong ZH. Effects of the HIF-1 α and NF- κ B loop on epithelial-mesenchymal transition and chemoresistance induced by hypoxia in pancreatic cancer cells. *Oncol Rep* 2014; 31: 1891-1898 [PMID: 24535079 DOI: 10.3892/or.2014.3022]
- 25 Li Y, Wang H, Sun T, Chen J, Guo L, Shen H, Du Z, Zhou Y. Biological characteristics of a new human glioma cell line transformed into A2B5(+) stem cells. *Mol Cancer* 2015; 14: 75 [PMID: 25879429 DOI: 10.1186/s12943-015-0343-z]
- 26 Shi QY, Zhang SJ, Liu L, Chen QS, Yu LN, Zhang FJ, Yan M. Sevoflurane promotes the expansion of glioma stem cells through activation of hypoxia-inducible factors in vitro. *Br J Anaesth* 2015; 114: 825-830 [PMID: 25492570 DOI: 10.1093/bja/aeu402]
- 27 Zhang S, Xie R, Zhao T, Yang X, Han L, Ye F, Lei T, Wan F. Neural stem cells preferentially migrate to glioma stem cells and reduce their stemness phenotypes. *Int J Oncol* 2014; 45: 1989-1996 [PMID: 25176161 DOI: 10.3892/ijo.2014.2629]
- 28 Li Q, Qiao G, Ma J, Li Y. Downregulation of VEGF expression attenuates malignant biological behavior of C6 glioma stem cells. *Int J Oncol* 2014; 44: 1581-1588 [PMID: 24627040 DOI: 10.3892/ijo.2014.2331]
- 29 Liu Z, Jiang Z, Huang J, Huang S, Li Y, Sheng F, Yu S, Yu S, Liu X. Mesenchymal stem cells show little tropism for the resting and differentiated cancer stem cell-like glioma cells. *Int J Oncol* 2014; 44: 1223-1232 [PMID: 24481670 DOI: 10.3892/ijo.2014.2284]
- 30 Yang X, Cui W, Yu S, Xu C, Chen G, Gu A, Li T, Cui Y, Zhang X, Bian X. A synthetic dl-nordihydroguaiaretic acid (Nordy), inhibits angiogenesis, invasion and proliferation of glioma stem cells within a zebrafish xenotransplantation model. *PLoS One* 2014; 9: e85759 [PMID: 24454929 DOI: 10.1371/journal.pone.0085759]
- 31 Shin JH, Lee YS, Hong YK, Kang CS. Correlation between the prognostic value and the expression of the stem cell marker CD133 and isocitrate dehydrogenase1 in glioblastomas. *J Neurooncol* 2013; 115: 333-341 [PMID: 24129546 DOI: 10.1007/s11060-013-1234-z]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



一种检测肝螺旋杆菌套式PCR方法的建立及临床应用

秦和平, 毕丽红, 韦碧柳, 潘信义, 叶安丽, 易平

秦和平, 韦碧柳, 潘信义, 叶安丽, 柳州市人民医院医疗保健部 广西壮族自治区柳州市 545006

毕丽红, 南方医科大学南方医院消化内科 广东省广州市 510515

易平, 柳州市人民医院消化内科 广西壮族自治区柳州市 545006

秦和平, 主治医师, 主要从事螺旋杆菌的研究。

广西省卫生厅基金资助项目, No. Z2013651

作者贡献分布: 本文由易平设计; 秦和平负责引物的设计、实验操作、数据分析及论文撰写; 毕丽红负责部分实验操作及数据分析; 韦碧柳、潘信义及叶安丽负责部分文献查找与论文写作。

通讯作者: 易平, 主任医师, 545006, 广西壮族自治区柳州市文昌路8号, 柳州市人民医院消化内科。yipinglz@126.com
 电话: 0772-2663532

收稿日期: 2015-07-16 修回日期: 2015-09-04

接受日期: 2015-09-11 在线出版日期: 2015-10-08

Development and clinical application of a nested-PCR assay for *Helicobacter hepaticus* detection

He-Ping Qin, Li-Hong Bi, Bi-Liu Wei, Xin-Yi Pan, An-Li Ye, Ping Yi

He-Ping Qin, Bi-Liu Wei, Xin-Yi Pan, An-Li Ye, Department of Health Care, Liuzhou People's Hospital, Liuzhou 545006, Guangxi Province, China

Li-Hong Bi, Department of Gastroenterology, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China

Ping Yi, Department of Gastroenterology, Liuzhou People's Hospital, Liuzhou 545006, Guangxi Province, China

Supported by: Fund of Health Department of Guangxi Province, No. Z2013651

Correspondence to: Ping Yi, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Liuzhou People's Hospital, 8 Wenchang Road, Liuzhou 545006, Guangxi Province, China. yipinglz@126.com

Received: 2015-07-16 Revised: 2015-09-04

Accepted: 2015-09-11 Published online: 2015-10-08

Abstract

AIM: To develop a nested-PCR assay for the

detection of *Helicobacter hepaticus* (*H. hepaticus*) with a high sensitivity and specificity and to analyze its clinical application.

METHODS: The nested primers were designed based on the sequences of 16S rRNA gene of nine subtypes of *H. hepaticus*. After optimizing reaction condition, the sensitivity and specificity of the assay were examined using simulated feces and bile samples, related bacteria, mouse infection model and clinical inpatients samples.

RESULTS: The detection limit for *H. hepaticus* strain in simulated feces and bile samples was 10^2 CFU/mL. No specific PCR product was detected with DNA from *Helicobacter pylori*, *Helicobacter bilis*, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *H. hepaticus* was successfully detected in the liver, caecum and feces of experimentally infected mice. Moreover, *H. hepaticus* was successfully detected in the gallbladder bile, gallbladder mucosa and fecal samples from two of ten patients with cholelithiasis. PCR methods, medical intervention, sample type and management may all influence the detection.

CONCLUSION: Due to the high sensitivity and specificity of the PCR assay, it may be used to detect *H. hepaticus* infection. *H. hepaticus* may be associated with the pathogenesis of human cholelithiasis. PCR methods, medical intervention, sample type and management may all influence the detection of clinical samples.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

背景资料

目前, 国内关于肝螺旋杆菌的临床研究比较少, 原因在于缺乏有效的检测方法及临床应用的研究。

同行评议者

吴军, 研究员, 中国人民解放军军事医学科学院生物工程研究所

■ 研发前沿

目前国内外关于肝螺旋杆菌的研究处于低谷期。研究的方向大致分为两方面: (1) 动物及动物模型的研究; (2) 关于人类致病性的研究 (主要是细胞系基础上的研究, 临床标本比较少, 多为个例) 及流行病学调查研究。

Key Words: *Helicobacter hepaticus*; Nested PCR assay; 16S rRNA; Clinical application

Qin HP, Bi LH, Wei BL, Pan XY, Ye AL, Yi P. Development and clinical application of a nested-PCR assay for *Helicobacter hepaticus* detection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(28): 4507-4514 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4507.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i28.4507>

摘要

目的: 建立一种敏感性高、特异性强的检测肝螺旋杆菌(*Helicobacter hepaticus*, *H. hepaticus*)的套式PCR方法并对其临床应用进行探讨。

方法: 本研究基于9种*H. hepaticus*亚种的16S rRNA基因设计筛选出1套套式引物(2条内引物、2条外引物), 优化反应条件后, 通过模拟粪便和胆汁标本、相关细菌、动物模型标本和临床标本的检测对该套式PCR方法的敏感性、特异性进行评估。

结果: 在模拟粪便和胆汁标本中, 该方法检测*H. hepaticus*的最低检出浓度达到 10^2 CFU/mL。幽门螺杆菌、胆螺杆菌、空肠弯曲菌、大肠埃希菌、粪肠球菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌检测结果均为阴性。本研究建立了3例感染肝螺旋杆菌的SPF级Balb/c小鼠模型。该方法在3例模型的粪便和盲肠标本及2例模型的肝脏标本中检测出*H. hepaticus*。10例胆石病患者中, 该法在2例患者的胆囊胆汁、胆囊黏膜和粪便标本中检测出有*H. hepaticus*。临床标本的检测中, PCR检测方法、医疗干预和标本的类型及处理可能都会影响检测的结果。

结论: 本研究建立的套式PCR方法, 敏感性高、特异性强, 可以用于小鼠和人的*H. hepaticus*感染。*H. hepaticus*感染可能和胆石病有关。PCR检测方法、医疗干预和标本的类型及处理可能都会影响临床标本的检测结果。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝螺旋杆菌; 套式PCR; 16S rRNA; 临床应用

核心提示: 本文的创新有3点: (1) 建立了一条不断建立PCR新方法的途径(综合利用RDP数据库、DNAMAN8.0、Primer Premier 6.0和OLIGOU7.0软件设计引物、动物模型及临床标本检测该方法); (2) 建立了一种新的检测肝螺旋

杆菌的套式PCR方法; (3) 对该法的临床应用进行了初步研究。

秦和平, 毕丽红, 韦碧柳, 潘信义, 叶安丽, 易平. 一种检测肝螺旋杆菌套式PCR方法的建立及临床应用. *世界华人消化杂志* 2015; 23(28): 4507-4514 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4507.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i28.4507>

0 引言

1994年, Fox等^[1]在有慢性活动性肝炎的SCID/NCr小鼠肝组织中发现并鉴定了一种肠肝螺旋杆菌-肝螺旋杆菌(*Helicobacter hepaticus*, *H. hepaticus*)。此后, 在大鼠、豚鼠、兔及犬中也检测出了*H. hepaticus*^[2,3]。他的感染会因影响动物实验的结果。1998年以后Fox等^[4-8]的研究发现, *H. hepaticus*和人类的胆石病、慢性胆囊炎、肝病可能相关, 可能是一种重要的人兽共患病病原菌。但是, *H. hepaticus*是苛养菌, 难于从人体标本分离培养。目前, PCR检测及测序因其简便和可靠, 是公认的检测*H. hepaticus*的金标准^[1]。2009年, Poynter等^[9]把含有*H. hepaticus*不同拷贝数的9份阳性标本和1份阴性标本分别送去全世界6个实验室, 结果有3个实验室检测全部为阴性, 分析原因可能和引物有关。国内也有专家也对*H. hepaticus*的PCR检测方法进行了许多的研究^[10,11], 但我们应用到临床标本的检测中不是很理想。目前, 核糖体数据库RDP(<http://rdp.cme.msu.edu/>)提供了9种*H. hepaticus*亚种的16S rRNA。本研究基于此建立一种检测*H. hepaticus*高敏感性和特异性的套式PCR方法, 并探讨其在临床标本检测中的应用。

1 材料和方法

1.1 材料 *H. hepaticus*(ATCC51448)、幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)ATCC43504、胆螺旋杆菌(*Helicobacter bilis*, *H. bilis*)ATCC43879、空肠弯曲菌(*Campylobacter jejuni*, *C. jejuni*)、大肠埃希菌(*Escherichia coli*, *E. coli*)、粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*, *E. faecalis*)、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*, *P. aeruginosa*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*)来自南方医院消化内科。

动物试验: 我们选取3只SPF级的Balb/c小鼠经胃灌入200 μ L含有*H. hepaticus*的磷酸

表 1 9种肝螺旋杆菌亚种的16SrRNA

Strain	RDP No.	16S rRNA index No.
<i>Helicobacter hepaticus</i> ; ATCC51449	S000628343	AE017125
<i>Helicobacter hepaticus</i> ; ATCC51448	S000390965	AF302103
<i>Helicobacter hepaticus</i> ; FRED1	S000435927	L39122
<i>Helicobacter hepaticus</i> ; Hh-1	S000334524	U07573
<i>Helicobacter hepaticus</i> (T); Hh-2	S000334525	U07574
<i>Helicobacter hepaticus</i> ; Hh-3	S000334526	U07575
<i>Helicobacter hepaticus</i> ; MIT 96-284	S000573920	AY631952
<i>Helicobacter hepaticus</i> ; MIT 96-1809	S000573919	AY631950
<i>Helicobacter hepaticus</i>	S000089425	AJ007931

表 2 引物序列及反应条件

Primer	Sequences(5'→3')	Product size(bp)	Reaction condition		
			Denaturation	Annealing	Extension
Outer forward	ATCAGCCTATGTCCTATCAG	935	94.0 °C 30 s	57.0 °C 30 s	72.0 °C 5 min
Outer reverse	CTCACCTTCCTCCTCTT				
Inner forward	AGCGTTACTCGGAATCAC	300	94.0 °C 30 s	56.0 °C 30 s	72.0 °C 3 min
Inner reverse	GACAAGCAAGGCAACAAC				

■ 相关报道

Fox是肝螺旋杆菌的发现和命名者,从上世纪90年代开始20余年间陆续发表了一系列的文章,反映了肝螺旋杆菌的发展历程。

盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)液(10^7 - 10^9 CFU/只),建立感染*H. hepaticus*的动物模型后处死(1-6 wk),取其肝脏、盲肠及粪便标本^[12]。造模前,我们提前收集Balb/c小鼠粪便标本,用文献[4,13]中检测方法(C97-C05、C97-C98)明确没有*H. hepaticus*的感染。整个过程经过了南方医科大学动物管理及使用委员会的同意。

本研究纳入10例因胆石症拟行胆囊切除术的患者,患者近4 wk未服用以下药物: H2组胺受体阻断剂、抗生素、质子泵抑制剂、铋剂。术前留取粪便标本,术后取胆囊胆汁、胆囊黏膜标本,均保存于-80 °C冰箱内。用于胆汁模拟标本检测的胆汁检测*H. hepaticus*为阴性。-80 °C保存1位健康人类粪便标本用于模拟粪便标本。健康人指无胆石病、胆囊炎、胆囊癌、肝炎及肝癌,检测粪便标本*H. hepaticus*阴性。

1.2 方法 用DNAMAN8.0序列分析比对9种*H. hepaticus*亚种的16S rRNA(表1),确定保守区和可变区。Primer Premier6.0(引物设计软件)设计引物,OLIGOU7.0分析、评估,选取最优引物。*H. hepaticus*、*H. bilis*和*C. jejuni*菌株密集划线接种在空肠弯曲菌选择性琼脂培养基,添加5%-10%冻融脱纤维羊血,微需氧

条件下(50 mL/L O₂、850 mL/L N₂和100 mL/L CO₂)37 °C培养3-7 d。*H. pylori*菌株进行密集划线接种在布氏琼脂培养基上,微需氧条件下(50 mL/L O₂、850 mL/L N₂和100 mL/L CO₂)37 °C培养3-7 d。其余细菌在哥伦比亚培养基中37 °C过夜培养。

细菌基因组DNA的提取使用Qiagen RNA/DNA Mini Kit(Qiagen Inc.),粪便、胆汁及组织DNA的提取使用QIAamp DNA Stool Mini Kit(Qiagen Inc.)。PCR扩增引物(如表2所示)由华大基因公司合成。两轮反应的预变性条件均为94 °C 3 min,终止反应条件均为72 °C 7 min。第一轮反应: PCR反应体系为50 μL, 2×Premix Taq 25 μL, 上、下游引物各1 μL(0.2 mmol/L),模板5 μL,无菌去离子水补足至50 μL, 30个循环;第二轮反应: PCR反应体系为50 μL, 2×Premix Taq 25 μL, 上、下游引物各1 μL(0.2 mmol/L),第一步PCR产物稀释100倍后取1 μL作为模板,无菌去离子水补足至50 μL, 30个循环,最后PCR产物琼脂糖凝胶电泳。PCR产物测序由华大基因公司负责(美国ABI的3730XL测序分析仪, Bigdye V3.1 Mix kit, POP7测序胶, PCR产物原液经柱纯化后单向测序)。为避免假阳性和假阴性条带,我们从提取DNA到PCR扩增都设置阳性对照(*H. hepaticus*)和阴性对照(双蒸水)。

创新盘点

国内高正琴教授关于肝螺旋杆菌检测方法的研究有2篇文章, 主要是基于对动物的检疫检验为目的. 本研究不同于高正琴教授研究成果的地方在于: (1)建立了一种系统设计肝螺旋杆菌PCR检测方法的途径; (2)临床应用的研究.

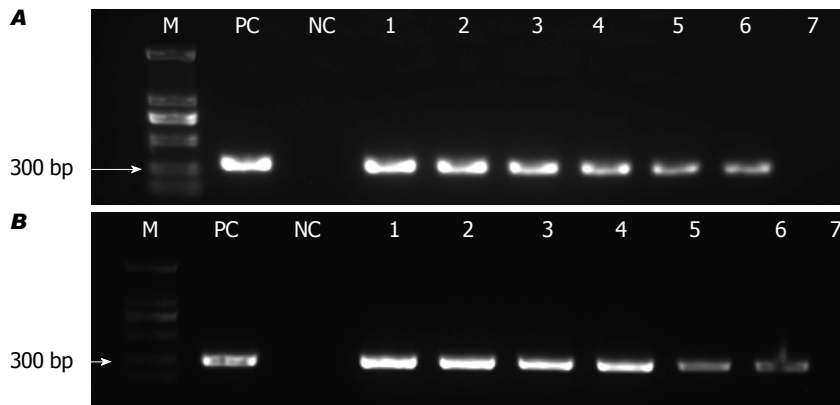


图1 粪便和胆汁模拟标本检测. A: 粪便模拟标本中套式PCR法最低检出浓度的检测; B: 胆汁模拟标本中套式PCR法最低检出浓度的检测. M: Omega Marker DL 2000; 1-7: 分别代表菌液浓度为 10^7 、 10^6 、 10^5 、 10^4 、 10^3 、 10^2 、 10 CFU/mL. PC: 阳性对照; NC: 阴性对照. 两者最低检出浓度相同, 都为 10^2 CFU/mL.

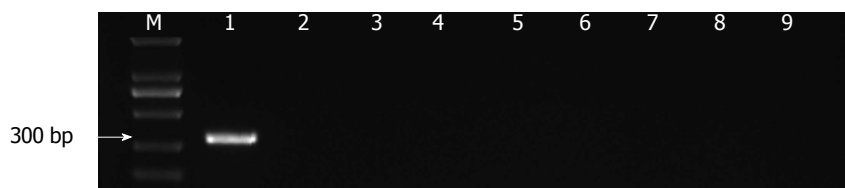


图2 特异性检测. M: Omega Marker DL 2000; 1: 肝螺旋杆菌; 2: 幽门螺旋杆菌; 3: 胆螺旋杆菌; 4: 空肠弯曲菌; 5: 大肠杆菌; 6: 粪肠球菌; 7: 铜绿假单胞菌; 8: 金黄色葡萄球菌; 9: 阴性对照.

模拟粪便和胆汁标本的最低检出浓度检测使用比浊仪调整菌液至0.5麦氏单位, 约相当于 1.5×10^8 CFU/mL, 用无菌PBS进行稀释, 称取健康人粪便0.2 g/管或胆汁200 mL/管, 加入0.7 mL PBS, 加入各稀释度的菌液0.1 mL混匀, 制备成一定的菌悬液模拟标本, 最终菌液浓度分别为 10^7 、 10^6 、 10^5 、 10^4 、 10^3 、 10^2 、 10 CFU/mL, 上述的各稀释度与粪便或胆胆汁标本混匀1000 r/min离心10 min(有些胆汁标本里有泥沙样结石也需离心去除), 把上清液转入另一个离心管中, 12000 r/min离心10 min, 离心后弃上清, 用试剂盒提取DNA, 用建立好的套式PCR方法检测各稀释度的标本.

2 结果

2.1 最低检出浓度检测和特异性检测 以10倍梯度稀释制备的粪便模拟标本, 提取DNA后用套式引物PCR扩增, 可以检测的最低菌液浓度为 10^2 CFU/mL(图1A). 为了检测不同人体标本是否影响PCR扩增, 同时以10倍梯度稀释制备的胆汁模拟标本, 提取DNA后进行PCR扩增, 可以检测的最低菌液浓度也为 10^2 CFU/mL(图1B). 特异性检测中, 含有*H. hepaticus* DNA的反应管可见阳性条带, 其他含有*H. pylori*、*H. bilis*、

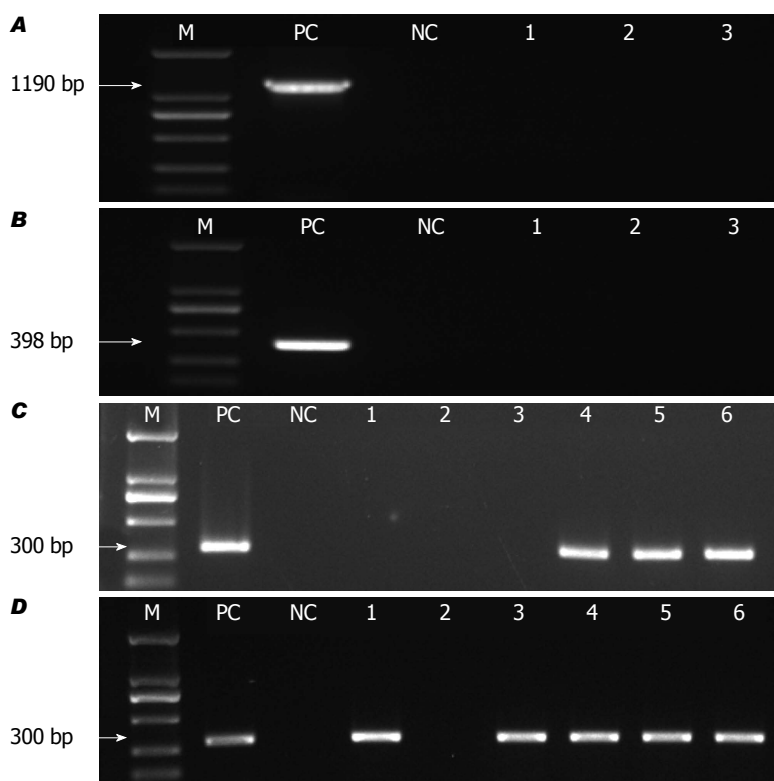
空肠弯曲菌、大肠埃希菌、粪肠球菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌DNA的反应管以及阴性对照管均为阴性(图2).

2.2 动物模型检测 3只SPF级Balb/c小鼠造模前粪便标本用3种PCR方法(C97/C05PCR法、C97-C98PCR法和套式PCR法)均未检测到特异条带(图3A-C), 造模后3只小鼠粪使用套式引物均检测到约300 bp的特异条带, 测序后比对应为*H. hepaticus*的16S rDNA部分片段(图3C). 3只SPF级Balb/c小鼠造模后, 2例肝脏标本和3例盲肠标本用套式引物检测到约300 bp的特异条带, PCR产物测序后比对应为*H. hepaticus*的16S rDNA部分片段(图3D).

2.3 临床标本检测 本研究中用套式PCR法检测了10例胆石病患者的标本. 术前留取的粪便标本中有2例患者检测到了特异条带(图4C), 同时在这2例患者的手术标本胆囊胆汁(图4A)和胆囊黏膜(图4B)中也检测到了特异条带, PCR产物测序后比对应为*H. hepaticus*的16S rDNA部分片段.

3 讨论

早在1992年, Ward等^[14]就在美国国立癌症研究中心实验室的小鼠肝脏内发现了*H. hepaticus*.



应用要点

本文为*H. hepaticus*的临床研究提供了一个很好的平台并且总结了一些宝贵检测经验。

图3 Balb/c小鼠模型建立前后标本的检测。A: 1-3为造模前用C97/C05引物检测3只SPF级的Balb/c小鼠的粪便, 皆为阴性; B: 1-3为造模前用C97-C98检测3只SPF级的Balb/c小鼠的粪便, 皆为阴性; C: 1-3为3只Balb/c小鼠造模前粪便标本套式引物检测结果, 4-6为造模后3只小鼠粪便套式引物检测结果; D: 1-3为3只Balb/c小鼠造模后肝脏标本套式PCR检测结果, 4-6为造模后3只小鼠盲肠标本套式PCR检测结果。M: Omega Marker DL 2000; PC: 阳性对照; NC: 阴性对照。

1994年, FOX等^[1]发表文章正式确认这是一种新的螺杆菌。经过20年的研究, 目前发现*H. hepaticus*有9个亚种。他们可引起免疫功能健全的多品系的小鼠发生胆石病、慢性活动性肝炎、原发性肝癌^[15-18], 也可以诱导免疫功能缺陷品系小鼠的发生炎症性肠病^[19-23]。因此, *H. hepaticus*的感染对于动物实验的质量控制和一些动物实验模型的建立具有重要意义。而且, 多项研究^[5,24-26]发现在人体的胆汁、肝脏和肠道内也存在*H. hepaticus*。基于原代肝癌细胞系的研究^[8]也提示他能引起细胞系的炎症反应。因此, *H. hepaticus*和人胆囊炎、肝癌、肠炎的发生可能相关, 可能让我们对这些疾病的发生有新的认识。

*H. hepaticus*是苛养菌, 培养条件和设备要求高, 培养法敏感性差。血清学检查要在培养法基础上取得抗原, 而且多是基于多克隆抗体, 假阳性率高。PCR扩增及测序是目前检测*H. hepaticus*的金标准。16S rDNA因其序列高度保守, 长度适宜, 被大多数研究人员作为首选靶序列^[27]。23S rDNA也是重要的靶序列。此外, *H. hepaticus*的一些毒力基因, 如cdtB也是

常见的靶序列, 可用于致病性研究和辅助的鉴定检测^[28]。组织或体液标本提取的模板混有其他细菌和人类DNA, PCR检测的特异性和敏感性受到影响。我们也曾经使用高正琴等设计的引物来检测*H. hepaticus*。小鼠、大鼠各种标本的检测 results 和文献中^[10,11]一致, 但在应用于人临床标本中的*H. hepaticus*检测时, 结果不是很理想。国内黄燕等^[29,30]用PCR方法检测肝癌或其他肝肿瘤切片或新鲜标本中是否有*H. hepaticus*, 结果都为阴性。我们也曾经收集过10余例肝癌手术切除的肝脏标本进行PCR检测和螺杆菌的培养, 不管是肿瘤组织, 还是癌旁组织, 都未检测出*H. hepaticus*, 和国内专家的研究结果一致。我们在人体中检测到的第一例*H. hepaticus*是在胆石病患者的胆囊胆汁中, 随后在胆石病患者的胆囊黏膜中也检测出了*H. hepaticus*, 但在胆石中未检测出*H. hepaticus*。高正琴等^[11]也曾在一例肝硬化患者的腹水中检测到*H. hepaticus*和胆汁都是体液标本, 这提示我们体液标本更容易检测到*H. hepaticus*。但粪便标本的检测始终是阴性的, 直到我们应用套式PCR法。

■名词解释

16S rRNA: 本文从RDP数据库中得到的序列是16S rRNA, 是含有稀有碱基的, 设计的引物中最好不要含有稀有碱基; 16S rDNA: 是16S rRNA的编码序列, 也是PCR检测的靶序列. 因为是细菌, 不含有内含子, 所以16S rRNA和16S rDNA大小是一样的.

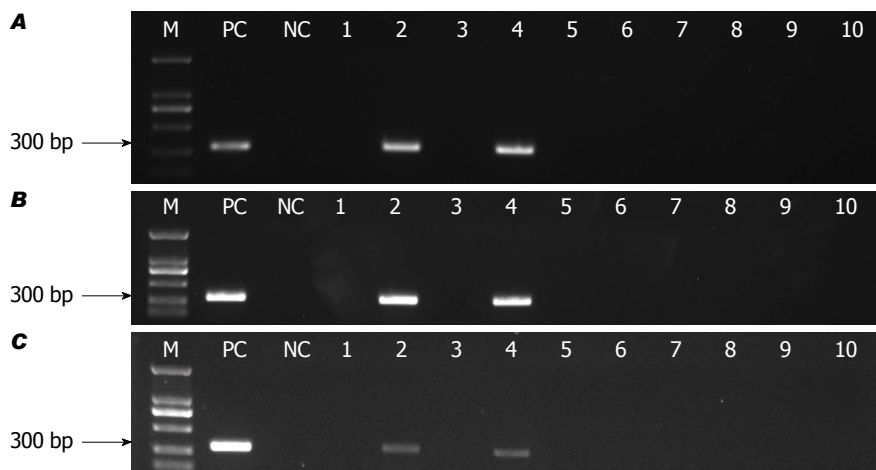


图4 胆石病患者3种临床标本检测. A: 10例患者胆囊胆汁标本检测结果; B: 10例患者胆囊黏膜标本检测结果; C: 10例患者粪便标本检测结果. M: Omega Marker DL 2000; PC: 阳性对照; NC: 阴性对照.

套式PCR由于进行两重特异性的PCR扩增, 特异性更强, 敏感性更高, 受到越来越多研究者的重视. 本文根据最新的数据库, 设计了一套新的套式PCR引物. 该引物不仅与同属同科的幽门螺旋杆菌、胆螺旋杆菌、空肠弯曲菌, 而且与常见的肠道定植菌大肠埃希菌、粪肠球菌和肠道致病菌铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌均无交叉反应, 特异性强. 模拟粪便标本的检测是在富含肠道细菌和少量人体DNA的复杂环境下, 最低检测浓度可达到 10^2 CFU/mL. 另外, 在感染*H. hepaticus*的3例SPF级的Balb/c小鼠模型中, 我们用套式PCR法在小鼠肝脏标本、盲肠及粪便标本中也能检测出*H. hepaticus*. Balb/c小鼠是*H. hepaticus*的自然宿主, 因此, 建立*H. hepaticus*模型的关键就是明确建模前小鼠未被感染*H. hepaticus*. 我们用了3种不同的PCR方法来检测备选小鼠的粪便标本, 以确定小鼠建模前未感染*H. hepaticus*. 图1结果提示对于套式PCR法来说, 不论粪便模拟标本, 还是胆汁模拟标本, 最低检测浓度都是 10^2 CFU/mL. 也就是说, 两种标本的复杂成分并没有影响该方法检测*H. hepaticus*的敏感性. 前期的实验中, 我们曾用普通PCR法检测过约30例胆石病患者的粪便标本, 没有检测到一例*H. hepaticus*感染. 因此, 我们推测PCR检测方法对不同标本的敏感性不一样.

我们用这种方法检测了10例胆石病患者的手术标本. 2例患者的胆囊胆汁、胆囊黏膜及粪便中检测出了*H. hepaticus*的存在, 提示*H. hepaticus*感染可能和胆石病有关. 另外, 结合一些前期的预实验, 我们还发现, 胆汁、胆囊黏

膜及粪便中检测*H. hepaticus*的难度不同: 胆汁标本最容易检出*H. hepaticus*; 粪便标本的检测更容易受到医疗干预因素和PCR方法的影响; 胆囊黏膜标本的检测难度居中. 胆汁中容易检测到*H. hepaticus*可能是因为胆汁的环境可能更利于*H. hepaticus*生长, 即使使用抗生素或其他药物, *H. hepaticus*仍能继续生存. 肠道有微生态系统, 不适于*H. hepaticus*生长, 一旦使用抗生素或其他药物, *H. hepaticus*可能就会被杀灭. 因此, 标本的类型会影响检测的结果. 在选择患者时, 我们设定了严格的纳入标准, 减少抗生素、质子泵抑制剂等对结果的影响. 小鼠等动物的各种标本之所以更容易检测到*H. hepaticus*, 和没有各种医疗因素的干预有很大关系. 关于免疫缺陷人群或长期使用免疫抑制剂的患者是否更容易感染*H. hepaticus*这个问题上, 我们也不能把免疫缺陷小鼠模型的结论简单推到人身上. 免疫力低下的患者不仅有利于*H. hepaticus*增殖, 也有利于其他细菌和微生物的增殖, 他们之间可能形成竞争, 除非在不利其他细菌而有利于*H. hepaticus*生长环境, 如胆汁才可能出现*H. hepaticus*的优势增殖. 临床标本的处理也非常重要, 胆囊黏膜标本在冻融两次以上后*H. hepaticus*就很难检出了, 因此我们尽量选择第一时间提取DNA模板. 通过以上研究, 我们认为, 套式PCR检测方法在人临床标本的检测中, 尤其是粪便标本的检测中可能更有优势. 另外, 医疗干预、标本的类型及处理都会影响到临床检测的结果. 我们希望通过我们的研究, 为*H. hepaticus*研究者提供一些有益的经验和方法. 也许, *H. hepaticus*和人疾病

的关系比我们现在看到的更为密切。

4 参考文献

- 1 Fox JG, Dewhirst FE, Tully JG, Paster BJ, Yan L, Taylor NS, Collins MJ, Gorelick PL, Ward JM. *Helicobacter hepaticus* sp. nov., a microaerophilic bacterium isolated from livers and intestinal mucosal scrapings from mice. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 1238-1245 [PMID: 8051250]
- 2 Ge Z, Feng Y, Woods SE, Fox JG. Spatial and temporal colonization dynamics of segmented filamentous bacteria is influenced by gender, age and experimental infection with *Helicobacter hepaticus* in Swiss Webster mice. *Microbes Infect* 2015; 17: 16-22 [PMID: 25448636 DOI: 10.1016/j.micinf.2014.10.005]
- 3 Goto K, Ohashi H, Takakura A, Itoh T. Current status of *Helicobacter* contamination of laboratory mice, rats, gerbils, and house musk shrews in Japan. *Curr Microbiol* 2000; 41: 161-166 [PMID: 10915200 DOI: 10.1007/s002840010111]
- 4 Fox JG, Dewhirst FE, Shen Z, Feng Y, Taylor NS, Paster BJ, Ericson RL, Lau CN, Correa P, Araya JC, Roa I. Hepatic *Helicobacter* species identified in bile and gallbladder tissue from Chileans with chronic cholecystitis. *Gastroenterology* 1998; 114: 755-763 [PMID: 9516396 DOI: 10.1016/S0016-5085(98)70589-X]
- 5 Ananieva O, Nilsson I, Vorobjova T, Uibo R, Wadström T. Immune responses to bile-tolerant *Helicobacter* species in patients with chronic liver diseases, a randomized population group, and healthy blood donors. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002; 9: 1160-1164 [PMID: 12414744 DOI: 10.1128/cdli.9.6.1160-1164.2002]
- 6 Nilsson I, Kornilovs'ka I, Lindgren S, Ljungh A, Wadström T. Increased prevalence of seropositivity for non-gastric *Helicobacter* species in patients with autoimmune liver disease. *J Med Microbiol* 2003; 52: 949-953 [PMID: 14532338 DOI: 10.1099/jmm.0.05344-0]
- 7 Yang J, Ji S, Zhang Y, Wang J. *Helicobacter hepaticus* infection in primary hepatocellular carcinoma tissue. *Singapore Med J* 2013; 54: 451-457 [PMID: 24005452 DOI: 10.11622/smedj.2013153]
- 8 Kleine M, Worbs T, Schrem H, Vondran FW, Kaltenborn A, Klempnauer J, Förster R, Josenhans C, Suerbaum S, Bektas H. *Helicobacter hepaticus* induces an inflammatory response in primary human hepatocytes. *PLoS One* 2014; 9: e99713 [PMID: 24932686 DOI: 10.1371/journal.pone.0099713]
- 9 Poynter S, Phipps JD, Naranjo-Pino A, Sanchez-Morgado JM. Difficulties in the molecular diagnosis of *Helicobacter* rodent infections. *Vet Microbiol* 2009; 134: 272-278 [PMID: 18834679 DOI: 10.1016/j.vetmic.2008.08.009]
- 10 高正琴, 张强, 贺争鸣, 邢进, 岳秉飞, 冯育芳. 肝螺杆菌多重PCR检测方法的建立及应用. 中国人兽共患病学报 2008; 891-895
- 11 高正琴, 邢进, 冯育芳, 岳秉飞, 贺争鸣. 肝螺杆菌 TaqMan MGB探针实时荧光定量PCR快速检测方法的建立及应用研究. 中华微生物学和免疫学杂志 2011; 31: 833-838
- 12 Jeong ES, Lee KS, Heo SH, Seo JH, Choi YK. Triplex PCR for the simultaneous detection of *Pseudomonas aeruginosa*, *Helicobacter hepaticus*, and *Salmonella typhimurium*. *Exp Anim* 2011; 60: 65-70 [PMID: 21325753 DOI: 10.1538/expanim.60.65]
- 13 Rocha M, Avenaud P, Ménard A, Le Bail B, Balabaud C, Bioulac-Sage P, de Magalhães Queiroz DM, Mégraud F. Association of *Helicobacter* species with hepatitis C cirrhosis with or without hepatocellular carcinoma. *Gut* 2005; 54: 396-401 [PMID: 15710989 DOI: 10.1136/gut.2004.042168]
- 14 Ward JM, Anver MR, Haines DC, Benveniste RE. Chronic active hepatitis in mice caused by *Helicobacter hepaticus*. *Am J Pathol* 1994; 145: 959-968 [PMID: 7943185]
- 15 Fox JG, Li X, Yan L, Cahill RJ, Hurley R, Lewis R, Murphy JC. Chronic proliferative hepatitis in A/JCr mice associated with persistent *Helicobacter hepaticus* infection: a model of *Helicobacter*-induced carcinogenesis. *Infect Immun* 1996; 64: 1548-1558 [PMID: 8613359]
- 16 Fox JG, Yan L, Shames B, Campbell J, Murphy JC, Li X. Persistent hepatitis and enterocolitis in germfree mice infected with *Helicobacter hepaticus*. *Infect Immun* 1996; 64: 3673-3681 [PMID: 8751916]
- 17 Maurer KJ, Ihrig MM, Rogers AB, Ng V, Bouchard G, Leonard MR, Carey MC, Fox JG. Identification of cholelithogenic enterohepatic *Helicobacter* species and their role in murine cholesterol gallstone formation. *Gastroenterology* 2005; 128: 1023-1033 [PMID: 15825083 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.01.008]
- 18 Ward JM, Fox JG, Anver MR, Haines DC, George CV, Collins MJ, Gorelick PL, Nagashima K, Gonda MA, Gilden RV. Chronic active hepatitis and associated liver tumors in mice caused by a persistent bacterial infection with a novel *Helicobacter* species. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86: 1222-1227 [PMID: 8040890]
- 19 Zhang L, Danon SJ, Grehan M, Chan V, Lee A, Mitchell H. Natural colonization with *Helicobacter* species and the development of inflammatory bowel disease in interleukin-10-deficient mice. *Helicobacter* 2005; 10: 223-230 [PMID: 15904480 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2005.00314.x]
- 20 Nagalingam NA, Robinson CJ, Bergin IL, Eaton KA, Huffnagle GB, Young VB. The effects of intestinal microbial community structure on disease manifestation in IL-10^{-/-} mice infected with *Helicobacter hepaticus*. *Microbiome* 2013; 1: 15 [PMID: 24450737 DOI: 10.1186/2049-2618-1-15]
- 21 Cook LC, Hillhouse AE, Myles MH, Lubahn DB, Bryda EC, Davis JW, Franklin CL. The role of estrogen signaling in a mouse model of inflammatory bowel disease: a *Helicobacter hepaticus* model. *PLoS One* 2014; 9: e94209 [PMID: 24709804 DOI: 10.1371/journal.pone.0094209]
- 22 Swennes AG, Sheh A, Parry NM, Muthupalani S, Lertpiriyapong K, García A, Fox JG. *Helicobacter hepaticus* infection promotes hepatitis and preneoplastic foci in farnesoid X receptor (FXR) deficient mice. *PLoS One* 2014; 9: e106764 [PMID: 25184625 DOI: 10.1371/journal.pone.0106764]
- 23 Morrison PJ, Bending D, Fouser LA, Wright

■同行评价

该研究建立了一种嵌套PCR检测 *H. hepaticus* 的方法, 并对方法的特异性、灵敏度等进行了研究. 研究结果可为该菌的检测和感染研究提供方法。

- JF, Stockinger B, Cooke A, Kullberg MC. Th17-cell plasticity in *Helicobacter hepaticus*-induced intestinal inflammation. *Mucosal Immunol* 2013; 6: 1143-1156 [PMID: 23462910 DOI: 10.1038/mi.2013.11]
- 24 蒋旗, 黄衍强, 黄赞松. 肝螺旋杆菌感染与原发肝癌相关性的研究进展. *世界华人消化杂志* 2014; 22: 1959-1965
- 25 Laharie D, Asencio C, Asselineau J, Bulois P, Bourreille A, Moreau J, Bonjean P, Lamarque D, Pariente A, Soulé JC, Charachon A, Coffin B, Perez P, Mégraud F, Zerbib F. Association between entero-hepatic *Helicobacter* species and Crohn's disease: a prospective cross-sectional study. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 30: 283-293 [PMID: 19438427 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2009.04034.x]
- 26 Hamada T, Yokota K, Ayada K, Hirai K, Kamada T, Haruma K, Chayama K, Oguma K. Detection of *Helicobacter hepaticus* in human bile samples of patients with biliary disease. *Helicobacter* 2009; 14: 545-551 [PMID: 19889072 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2009.00729.x]
- 27 Battles JK, Williamson JC, Pike KM, Gorelick PL, Ward JM, Gonda MA. Diagnostic assay for *Helicobacter hepaticus* based on nucleotide sequence of its 16S rRNA gene. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 1344-1347 [PMID: 7542270]
- 28 Moyaert H, Pasmans F, Ducatelle R, Haesebrouck F, Baele M. Evaluation of 16S rRNA gene-based PCR assays for genus-level identification of *Helicobacter* species. *J Clin Microbiol* 2008; 46: 1867-1869 [PMID: 18337392 DOI: 10.1128/JCM.00139-08]
- 29 黄燕, 范学工, 陈永平, 李宁, 汤立军. 肝癌组织中螺旋杆菌16S rRNA基因的检测. *世界华人消化杂志* 2002; 10: 877-882
- 30 黄燕, 范学工, 周建华, 李宁, 汤立军. 肝癌患者肝组织中螺旋杆菌感染的研究. *中国人兽共患病杂志* 2003; 19: 55-58, 74

编辑: 于明茜 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角码号.如马连生^[1]报告……,研究^[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.

反流性食管炎大鼠模型造模方法简述

程正义, 张 娇, 王凤云, 唐旭东, 李保双

程正义, 中国中医科学院研究生院 北京市 100700
张娇, 北京中医药大学研究生院 北京市 100029
王凤云, 唐旭东, 李保双, 中国中医科学院西苑医院消化科 北京市 100091

程正义, 主要从事消化系统疾病中医药防治的研究。

北京市科委科研基金资助项目, No. Z141100002214012

作者贡献分布: 论文写作由程正义与张娇共同完成; 王凤云修改; 唐旭东与李保双指导。

通讯作者: 唐旭东, 教授, 主任医师, 博士生导师, 100091, 北京市海淀区西苑操场1号, 中国中医科学院西苑医院消化科。
txdly@sina.com

电话: 010-62835001

收稿日期: 2015-04-21 修回日期: 2015-08-03

接受日期: 2015-08-10 在线出版日期: 2015-10-08

Rat models of reflux esophagitis

Zheng-Yi Cheng, Jiao Zhang, Feng-Yun Wang,
Xu-Dong Tang, Bao-Shuang Li

Zheng-Yi Cheng, Graduate School, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

Jiao Zhang, Graduate School, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Feng-Yun Wang, Xu-Dong Tang, Bao-Shuang Li, Department of Gastroenterology, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China

Supported by: the Scientific Research Foundation of Beijing Municipal Science and Technology Commission, No. Z141100002214012

Correspondence to: Xu-Dong Tang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, 1 Xiyuan Playground, Haidian District, Beijing 100091, China. txdly@sina.com

Received: 2015-04-21 Revised: 2015-08-03

Accepted: 2015-08-10 Published online: 2015-10-08

Abstract

Gastroesophageal reflux disease (GERD) refers to the reflux of gastric contents into the esophagus, which causes discomfort symptoms

and (or) a group of complications. GERD is a functional gastrointestinal disorder, which is clinically common and easy to recur. Reflux esophagitis (RE) is an important type of GERD. During the study of pathological and physiological changes of GERD and the development of drugs, animal models were used frequently. Due to the existence of organic changes in RE, it is easy to develop animal models of RE to study its pathogenesis, therefore there are more reports of animal models of RE in the study of GERD. Currently, there are two kinds of methods to develop animal models of RE; one is acute esophageal perfusion, and the other is surgical operation to cause the reflux of gastric contents. The surgical procedures to cause reflux of gastric contents into the esophagus in rats were divided into three types, namely, simple acid reflux, pure alkaline reflux and mixed-type reflux.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gastroesophageal reflux disease; Reflux esophagitis; Rats; Animal model

Cheng ZY, Zhang J, Wang FY, Tang XD, Li BS. Rat models of reflux esophagitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(28): 4515-4521 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4515.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i28.4515>

摘要

胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)是指胃内容物反流入食管而引起不适症状和/或并发症的一组疾病。GERD是一种临床常见的、容易复发的功能

■背景资料

胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)是一种临床常见的、容易复发的功能性胃肠病,有关GERD的研究逐年增多。作为研究GERD病理生理变化以及开发治疗性药物的手段,需要较多的用到实验动物模型。反流性食管炎(reflux diseases, RE)[或称糜烂性食管炎(erosive esophagitis, EE)]因其存在器质性病变,易于通过动物模型研究其发病机制,故而在有关GERD的动物实验报告中占据多数。目前研究GERD也多从RE入手。

■同行评议者

陈龙奇, 主任医师, 四川大学华西医院; 郑培永, 研究员, 上海中医药大学脾胃病研究所, 上海中医药大学附属龙华医院消化内科

■ 研发前沿

2003年新加坡共识中,与会专家同意非酸反流在RE的发病中起到重要作用,目前有关RE的研究逐渐侧重到混合反流引起的发病机制上来。目前亟待解决的问题之一是研究胆汁、肠液、胰液等反流物引起发病的比例。

性胃肠病。反流性食管炎(reflux esophagitis, RE)是GERD的一个重要的分型。作为研究GERD病理生理变化以及开发治疗性药物的手段,需要较多的用到实验动物模型。RE因其存在器质性病变,易于通过动物模型研究其发病机制,故而在有关GERD的动物实验报告中占据多数。RE动物模型的制备主要分为两种,一种是急性离体或在体食管灌注试验研究,另一种是慢性实验,通过胃肠道手术建立反流动物模型。RE大鼠模型制备主要包括单纯酸性反流、单纯碱性反流和酸碱混合反流3种术式。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃食管反流病; 反流性食管炎; 大鼠; 模型

核心提示: 反流性食管炎(reflux esophagitis, RE)是胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease)的一种重要分型,因其存在器质性病变,易于通过动物模型研究其发病机制,动物实验较多的用到大鼠。本文结合作者实际造模经验对以手术方法制备大鼠RE模型的3种不同方法做一陈述。

程正义, 张娟, 王凤云, 唐旭东, 李保双. 反流性食管炎大鼠模型造模方法简述. 世界华人消化杂志. 2015; 23(28): 4515-4521
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4515.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i28.4515>

0 引言

胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)是指胃内容物反流入食管而引起不适症状和/或并发症的一组疾病,包括食管内和食管外两类综合征。其出现的典型症状主要有烧心、反流(含酸味或仅酸水称反酸)等,可伴发食管外症状,如咳嗽、哮喘等。部分患者可无症状,但有反流性食管炎(reflux diseases, RE)[或称糜烂性食管炎(erosive esophagitis, EE)]和Barrett食管(Barrett's esophagus, BE)^[1]。临床上GERD可分为非糜烂性反流病(non-erosive reflux diseases, NERD)、RE和BE等3种类型^[2,3]。RE是指内镜下可见食管远段黏膜破损。是GERD的一种重要分型。

GERD是一种临床常见的、容易复发的功能性胃肠病。GERD的发病机制目前尚不十分明确,依GERD2003年新加坡共识^[4],与会专家同意动力和感觉异常以及非酸反流

在反流疾病中发挥致病作用,而幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染与否与GERD的发病之间并无必然联系。动力异常是指消化系动力障碍,在诸多引起消化系动力障碍的原因中,一过性食管下括约肌松弛(transient esophageal sphincter relaxation, TLESR)被认为是引起胃食管反流的主要原因^[5]。感觉异常则指的是神经精神异常可以通过影响食管运动、食管内脏敏感性、胃酸分泌以及其他行为特征引发或加重GERD。因此GERD的产生和发展被认为是一个涉及物理、化学、精神和神经等多方面因素的过程^[5]。

近年来关于GERD的研究逐渐增多。作为研究GERD病理生理变化以及开发治疗性药物的手段之一,实验动物模型也较多用于GERD的研究中。作为GERD的重要分型之一,RE因其存在器质性病变,易于通过动物模型研究其发病机制,故而在有关GERD的动物实验报告中占据多数。

目前RE动物模型的制备中,实验动物的选取主要是大鼠(包括SD大鼠和Wistar大鼠)、长耳大白兔及狗等。实验类型主要有两种,一种是离体或在体食管灌注试验研究,属急性实验,主要明确食管内反流液中的损伤因子及其作用机制,此类方法操作相对简单,动物成活率高,但由于灌注物与复杂的体内反流物不同,无法准确模拟疾病形成的自然病理过程;另一种是通过胃肠道手术建立反流动物模型的研究,属慢性实验,主要明确长期食管内反流的病理结局及其发病机制。胃肠道手术制备模型手术过程复杂,创伤较大且手术时间长,动物病死率较高,需熟练的手术操作技能和选择能耐受手术的动物,且某些模型术式需行全胃切除或胃旷置使消化系结构及生理功能严重受损,影响动物术后营养状态及生存质量^[6]。但是相比较在体或离体灌注,手术制备反流性疾病模型更加贴近反流疾病的自然病理过程。实验证实酸性反流、酸碱混合反流和单纯碱性反流均可引起食管炎的发生^[7,8]。本文试对以手术方法制备大鼠RE模型作一综述。

1 单纯酸性反流大鼠RE动物模型制备

1.1 破坏食管下括约肌

在引起消化系动力障碍的诸多因素中,一过性食管下括约肌(lower esophageal sphincter, LES)松弛被认为是引起

胃食管反流的主要原因。LES是食管下段近贲门处的特异性环形括约肌, 通过手术破坏LES, 可以导致食管下段压力降低, 从而导致食管下段功能失调, 引起胃内容物反流。故而在以手术方式制备单纯胃酸反流大鼠模型时, 学者们常采取以贲门肌切开术式建立反流模型。

1.1.1 LES切除: 1970年科学家通过行食管胃吻合术, 切除胃食管括约肌, 建立滑脱型食管裂孔疝, 制备了第1个GERD动物模型。这是当时应用最多的模型, 应用于大型动物狗的身上, 给了大鼠反流性疾病模型以启发^[5]。

1.1.2 植入支架扩张LES: 唐旭东等^[9]在实验的基础上探索建立一种新的实验性RE的动物模型, 提出贲门钢圈置入固定术, 即在大鼠胃底部胃大弯侧取一横向切口, 放入预先制作的钢丝圈(内径0.35 cm, 长0.5-0.6 cm)于大鼠贲门处, 用无创缝合线缝合固定。使用此种方法成功得到大鼠RE模型, 经病理切片观察, 食管黏膜出现炎症表现, 但病变程度较轻。

采用破坏LES或者胃食管结合部及其周围解剖组织的方法造成胃食管反流, 可以较好的研究单纯酸性反流引起GERD的机制, 也有利于评价抗反流手术方式。

1.2 幽门结扎术 幽门结扎术式出发点在于限制胃内容物的排空, 胃内压力增高, 从而使胃内容物反流入食管而引起食管病变, 有完全幽门结扎和不完全幽门结扎两种。

1.2.1 完全幽门结扎术: 制备单纯酸性反流大鼠RE模型可采取幽门结扎, 完全幽门结扎术法适用于短期RE的研究。如Wetscher等^[10]采取完全幽门结扎的方法制成RE模型, 造成了理想的酸性反流的RE模型, 此种方法反映的是急性的食管损害, 由于实验动物存活时间短、观察时间短, 并不能很好地反映食管长期的慢性损害的发展过程。许树长等^[11]参考Wetscher的方法, 复制了单纯胃酸反流的大鼠RE模型, 此种方法的造模大鼠难以持续喂养, 多在术后很快死亡的不足, 故学者多采用部分幽门结扎术建立慢性酸性RE动物模型。

1.2.2 部分幽门结扎术: Omura等^[12]通过在大鼠幽门部位放置一个18 Fr的Nelaton环, 并以丝线结扎前胃, 通过模拟胃排空障碍伴幽门狭窄, 从而导致胃酸反流入食管, 成功得到大鼠RE模型。Nahata等^[13]也采取上述前胃结扎和部分幽门结扎的方法, 成功复制了上述大鼠RE模型。

郑朝旭等^[14]在前胃结扎和部分幽门结扎的方法上做了探索, 并比较了不同管径的部分幽门结扎法对大鼠RE发病率、存活率等的影响。通过内支架支撑幽门及部分幽门及前胃结扎的方法, 即在距幽门1 cm处胃壁切开小孔, 置入内支架, 结扎幽门环, 将结扎线缝合固定于浆肌层, 抽出内支架后缝合胃切开处, 并且将前胃排空, 用丝线完全结扎前胃建立单纯胃酸反流的大鼠RE模型, 并且在此基础上比较不同管径(3.7 mm和2.9 mm), 在行前胃结扎、减少胃容量的基础上, 用大于大鼠幽门管径(3.7 mm)及小于幽门管径(2.9 mm)的两种内支架支撑行幽门结扎, 探讨幽门结扎内径大小对RE模型的存活率、食管炎发生率及营养状况的影响, 以便选择采用合适的结扎内径行幽门结扎建立大鼠RE模型。两组食管炎发生率差异无显著性意义, 但3.7 mm内支架组存活率高, 说明了应用3.7 mm管径内支架比2.9 mm管径结扎建立大鼠RE模型更安全, 而诱导RE的效果基本一致。实验结果提示, 选择合适的幽门结扎管径, 才能提高前胃结扎+部分幽门结扎法的大鼠RE炎症发生率和存活率。

邹方明^[15]也采取了不同幽门管径限制幽门舒张并在此基础上合并了结扎前胃以限制胃容量的方法制作了单纯酸性反流的RE模型。采用自制的分别为3.9、4.2和4.5内径的幽门夹, 将幽门夹置入大鼠幽门部位后, 将固定线另一端结扎2/3的胃底, 一方面可以限制幽门夹脱落和移位, 另一方面减小了胃容量。在比较了不同内径造成RE模型的效果后, 得出以4.2 mm直径幽门夹形成幽门不全梗阻、同时结扎2/3胃底形成的大鼠模型有较高的长期存活率及高RE发生率的结论, 这种术式创伤较小, 没有对消化管腔进行切开缝合, 操作比较简单。

总之, 我们认为部分幽门结扎术RE模型的造模方法, 可以成功的得到大鼠RE模型, 但是存在着幽门管径限制没有统一标准, 具体操作时有待于更细致的模型评价, 并且建议部分幽门结扎联合贲门肌切开或前胃部分结扎的方法, 以期更成功的得到RE模型。

1.2.3 部分幽门结扎+贲门肌切开术: 许树长等^[16]在研究了国外关于完全幽门结扎法制备RE模型后, 提出采取半幽门结扎+贲门肌切开术制备大鼠RE模型, 在与完全幽门结扎+贲门肌切开术比较后, 显示术后24、48、72 h大鼠

■ 相关报道

王瑞华和李兆申等分别采取了不同的造模方法制成了单纯酸性反流或酸碱混合性反流, 并且针对不同反流原因引起的疾病轻重及其发病机制进行了探索。

■ 创新盘点

本文以反流物的性质: 单纯胃酸、单纯碱性物、酸碱混合反流将不同的手术方法进行了分类, 方便研究者根据所要研究的不同方向选取不同的手术方法以制成不同性质反流物引起的不同病因的RE模型, 以进行更深一步的研究。

食管下段pH值两组之间无明显差异, 而半幽门结扎组的继续喂养的大鼠食管炎的病理表现继续存在, 提示可能得到大鼠的RE模型。于强等^[17]针对许树长的半幽门结扎法做出了改进, 采取了改良的方法固定了结扎幽门的管径, 即采取固定值限定了幽门舒缩活动的范围, 但是此实验方法仅仅观察了术后48 h大鼠的状态, 作者提出在病理、生理上符合RE的疾病标准。唐艳萍等^[18]又继续改进, 采取了从幽门外放置金属棒的方法进行结扎, 减少了从胃部穿刺入幽门的创伤。

针对上述造模方法持续不断改进, 目前我们看到国内许多学者^[19-25]在研究药物干预单纯酸性反流的食管炎时, 很多都采用上述造模方法, 目前来说, 部分幽门结扎法联合贲门肌切开是单纯胃酸反流的大鼠RE模型较常用的方法。

1.3 食管胃底吻合术 张亚肖^[26]、王仁峰^[27]在制作单纯酸性反流的大鼠RE模型时, 采用了新的设计, 采取将大鼠食管下段距胃食管交接部位0.5 cm处与胃大弯侧和胃底近食管下段处做切口行侧侧吻合, 得到了单酸性反流的大鼠RE模型, 但是在与酸碱混合反流术式比较时, 食管黏膜上皮凋亡的改变不如混合反流术式明显。

1.4 单纯胆汁反流 肝胆汁是一种弱碱性物质, 而经过胆囊内贮存后的胆汁呈现出弱酸性。由于手术制备大鼠RE模型是有创手术, 大鼠易出现术后感染, 成活率不高, 且考虑到单纯造成胆汁反流入食管的手术难度较大, 所以单纯胆汁反流的大鼠RE模型制备方法的文献较少见。但有往兔子食管内灌注胆汁、酸等物质以破坏食管黏膜的报道^[28]。

2 单纯碱性反流大鼠RE动物模型制备

在认识到十二指肠内容物反流对食管黏膜损伤的重要性之后, 有学者探讨建立单纯碱性反流模型, 研究十二指肠内容物对食管黏膜的作用。

2.1 单纯十二指肠液碱性反流 食管十二指肠吻合术通过将胃切除, 食管与十二指肠进行端侧吻合, 使十二指肠内容物直接进入食管, 从而得到单纯碱性反流物进入食管, 导致食管炎。Katada等^[29]通过食管十二指肠端侧吻合术建立十二指肠食管反流模型。通过术后观察, 显示十二指肠食管反流可引起伴有增生的食管损害。王瑞华等^[30]采取全胃切除+食管空肠吻

合的方法, 即切除胃, 封闭十二指肠近端, 显露Treitz韧带以下4 cm空肠, 将食管端侧缝合于空肠上, 得到单纯小肠液反流入食管的大鼠RE模型, 在与其他两组(保留胃部将食管与空肠吻合组以及保留胃部将食管与十二指肠吻合组)比较后得出结论显示十二指肠及小肠液体可造成食管黏膜损害, 但酸与胆汁共同反流对大鼠食管黏膜造成的损害更严重。而王雯等^[31]采用全胃切除+食管十二指肠吻合术, 在得到RE大鼠模型并与贲门成形+幽门结扎+胃空肠Roux-en-Y吻合术组和食管十二指肠端侧吻合术组比较之后, 得到的实验结果显示单纯十二指肠内容物反流较胃十二指肠混合反流对食管损伤更重。

2.2 单纯胰液碱性反流 近年来的研究结果越来越倾向于GERD, 尤其在RE的发病过程中, 非酸反流是一个非常重要的致病因素。多数学者认为胆汁是引起RE较为重要的原因, 因此有研究^[32]认为胰液反流对食管损伤的作用被忽视和低估, 有必要建立合理的动物模型研究单纯胰液反流对食管的损伤作用。

李达周等^[32]专门研究了单纯胰液反流对食管黏膜的损伤作用, 采用大鼠行全胃切除术+食管十二指肠端侧吻合术+胆管空肠吻合术的方法。作者在以往的全胃切除+食管十二指肠端侧吻合术式动物模型的基础上, 再把胆汁引向回肠, 使单纯胰液反流成为食管炎的主要致病因素。实验组均出现RE, 提示十二指肠内容物反流所致RE中胰液占据着重要的作用, 可能与胰液中含有大量的消化酶有关。Pera等^[33]通过不同术式建立模型, 发现单纯胆汁反流、单纯胰液反流及胆汁胰液混合反流的动物诱发食管癌模型中, 食管癌只出现于胰液反流组和胰液胆汁混合反流组, 而单纯胆汁反流组未出现, 他们认为对RE患者消除胰液和胆汁的反流可以抑制其从不典型增生向腺癌的发展, 这一点也说明胰液在RE的发生发展中起着重要作用^[34]。

3 酸碱混合反流大鼠RE动物模型制备

因食管、胃及肠道的病生理特性, 目前尚无十分肯定的证据证实GERD的发生就是单纯酸性反流或是单纯碱性反流造成, 所以酸碱混合反流的发病机制仍然是RE研究的重要方面。目前大鼠RE模型制备方式酸碱混合反流手术方式(术式)有如下几种。

3.1 食管空肠吻合术和/或食管十二指肠吻合术 酸碱混合反流手术方法采取保留胃, 通过使胃酸和肠液都能反流入食管从而得到混合反流的模型. 食管空肠吻合术与食管十二指肠吻合术这两种不同术式的区别主要在于反流吻合口距离胆管和胰腺开口的远近.

王瑞华等^[30]比较了两种术式, 第一种即食管空肠吻合, 将食管下端侧面吻合于Treitz氏韧带以下4 cm处, 以使胃酸与小肠液充分混合再反流入食管下段; 第二种即食管十二指肠吻合, 将食管下端端侧吻合于十二指肠胆管开口附近, 使胃酸和胆汁可反流入食管下段; 作者于术中保留了迷走神经和幽门, 避免了十二指肠液反流入胃引发胃炎而影响胃酸分泌, 保证了胃酸的持久分泌. 经过病理组织切片评估实验结果, 在与全胃切除食管空肠吻合的单纯碱性反流模型比较之后, 发现糜烂溃疡、鳞状上皮异型增生、RE和食管腺癌的发生方面, 保留全胃食管空肠吻合和保留全胃食管十二指肠吻合所导致的胃空肠食管反流、胃十二指肠食管反流高于后者, 提示酸碱混合反流对大鼠的黏膜损伤更严重. 王雯等^[34]通过断开大鼠食管下端将食管下端与十二指肠进行端侧吻合术制成大鼠RE模型, 通过与单纯胃液反流、单纯十二指肠内容物反流比较后, 得出胃液及十二指肠内容物反流无论单独或混合存在均能造成明显食管黏膜损伤, 且随时间延长而加重, 其中十二指肠内容物的作用更为强烈, 可能在GERD及其并发症的发生中具有重要意义. 程艳梅等^[35]、冯云霞等^[36]、时昭红等^[37,38]、崔含^[39]、陈杰等^[40]、于凤海等^[41]、李兆申等^[42]在相关研究中, 都成功的复制了食管十二指肠混合反流的模型, 这种模型在有关RE的混合反流的机制研究中较为常用.

汪涛等^[43]对胃十二指肠混合反流模型的手术方式进行了探索, 在将食管贲门处与胃断开, 将胃旷置, 食管下段吻合于十二指肠距幽门1 cm处侧壁的基础上, 针对端侧吻合手法分别采取了全层间断缝合组、全层间断+浆肌层包埋缝合组、全层间断密集缝合组3种手术方法, 比较RE的发生率及组织学改变, 3组均无显著性差异, 但是在比较主要死亡原因如吻合口瘘、梗阻、肺部及腹腔感染等原因时, 全层间断密集缝合组要优于另外两组, 得出结论提示全层间断密集缝合是模型最佳的吻合方式. 曹

丽霞等^[44]、梁新生等^[45]在汪涛建立方法的基础上, 又做了进一步的改进, 采取了“四壁四针”的全层间断吻合法, 缩短了手术时间, 降低了死亡率.

3.2 半或全结扎空肠法 借鉴结扎幽门的方法, Tugay等^[46]通过结扎Treitz韧带远端1 cm的空肠, 建立混合性反流模型, 但是因为术后24 h得到观察指标后就处死大鼠, 所以模型的成功与否仍有待商榷. 王志勇等^[47]采取了半结扎Treitz韧带远端1 cm的空肠肠管的方法, 又联合了贲门肌切开术制备混合反流的RE模型, 并进行了药物干预的探索. 程艳梅等^[48]、马淑颖等^[49]在相关研究中, 采取十二指肠半结扎术合并食管贲门肌切开术建立混合性RE大鼠模型, 并且将其用于RE的病理机制研究.

3.3 十二指肠胃食管混合反流+胆管结扎法 无胆汁的十二指肠液合并胃酸反流 关于RE的研究, 十二指肠胃食管反流(duodeno gastro esophageal reflux, DGER)的研究也是一个重要的方面. DGER与酸的关系上有两种观点, 一种认为反流物酸性降低可能加强未结合胆酸及胰蛋白酶的食管损伤作用, 另一观点却认为反流物pH升高时, 因无酸的协同, 十二指肠内容物对食管黏膜的损伤作用较轻, 单纯DGER可引起症状但常不会发生食管炎^[50]. 张茹等^[51]针对上述观点设计了DGER+胆管结扎造成无胆汁的十二指肠胃食管反流, 在于其他实验组比较之后, 得出不含胆汁的DGER所致食管损伤最轻的结论, 作者认为胆汁在造成食管黏膜损伤中起着较大的作用, 并且胆汁、胰液和胃液三者之间有着协同增强作用.

4 结论

GERD的病因目前尚不十分明确, 有关反流物的认识经历了一个从单纯胃酸、胃内容物到胃酸和十二指肠液酸碱混合的过程, 虽然非酸反流是引起GERD一个重要原因已经达成共识^[4], 但结合胃食管反流的病生理和临床表现, 以及采取抑酸治疗能够使部分胃食管反流患者症状得到改善来看, 酸碱混合反流仍然是GERD的重要发病机制.

以我们采取上述学者的食管十二指肠侧侧吻合术式和食管空肠侧侧吻合术式以造得大鼠RE模型的模型摸索经验来看, 在同批次同一个时间点取食管下段组织, 食管空肠侧侧吻

■名词解释

食管十二指肠(或空肠)端侧吻合: 将食管从贲门处剪断, 将食管的断端吻合于十二指肠(或空肠)的侧壁上, 此时可以选择将胃从幽门处切断将胃拿掉, 或者胃上口进行荷包包埋, 只是将胃旷置; 食管十二指肠侧侧吻合术: 不剪断食管和十二指肠的连接, 只是将十二指肠提到食管位置, 将食管和十二指肠侧壁剪开小口, 然后将两口吻合; Fr: 导管的单位, 原本是测量周长的单位, 是一位法国医生发明的, 为英文French的简写. 3 F = 3 mm 周长, 又因周长 = $3.14 \times \text{直径}$, 所以直径1 F \approx 0.33 mm.

同行评价

本文研究问题具有一定的实用性, 阐述的论点明确, 观点新颖, 对“反流性食管炎大鼠模型造模”研究的国内外现状基本清楚, 论据充分。

合术式(即将大鼠食管下段侧面吻合于距幽门约4-6 cm的空肠侧面)的食管黏膜肉眼观察出现了黏膜的破损和溃疡面, 食管皱襞增粗且不连续, 食管黏膜发白发绀或发红, 毛细血管增粗肉眼可见, 而食管十二指肠侧侧吻合术式的食管黏膜肉眼观察上述改变不明显, 仅有少数食管下段发红。行病理切片观察, 两种术式都可见食管下黏膜炎症改变, 即淋巴细胞和中性粒细胞等炎症细胞浸润。食管空肠侧侧吻合术式有较明显上皮缺损, 黏膜下组织水肿以及毛细血管扩张的表现。食管空肠侧侧吻合术式RE改变约出现在第3周, 第4周时黏膜破损溃疡改变明显; 食管十二指肠侧侧吻合术式约于第4周出现明显的炎症改变, 两种术式食管炎症均随时间延长而加重。

由模型探索经验食管空肠侧侧吻合术式炎症改变较重, 可推断酸碱混合反流是造成RE的重要原因, 其中反流物中的碱性物质胆汁、胰液的因素可能要重于胃酸和肠液, 这再一次证实新加坡共识非酸反流在反流性疾病中发挥重要的致病作用, 也是临床上抑酸治疗效果不好的RE患者的重要发病机制, 是RE发病机制的重要研究方向。

参考文献

- 1 李岩, 陈治水, 危北海. 胃食管反流病中西医结合诊疗共识意见(2010). 中国中西医结合杂志 2011; 31: 1550-1553
- 2 中华医学会主编. 临床诊疗指南: 消化系统疾病分册. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 21-22
- 3 Vakil N, van Zanten SV, Kahrilas P, Dent J, Jones R. [The Montreal definition and classification of gastroesophageal reflux disease: a global, evidence-based consensus paper]. *Z Gastroenterol* 2007; 45: 1125-1140 [PMID: 18027314 DOI: 10.1055/s-2007-963633]
- 4 张澍田, 于中麟. 亚太地区关于胃食管反流病的共识. 中华消化内镜杂志 2004; 21: 63-65
- 5 陈莹, 王锋, 许树长. 胃食管反流病动物模型的研究现状. 胃肠病学 2006; 11: 568-570
- 6 杨路亭. 慢性胃食管反流病动物模型制备与HO-1在食管和肺组织中的表达及作用机制研究. 石家庄: 河北医科大学, 2006
- 7 Vaezi MF, Richter JE. Synergism of acid and duodenogastroesophageal reflux in complicated Barrett's esophagus. *Surgery* 1995; 117: 699-704 [PMID: 7778033 DOI: 10.1016/S0039-6060(95)80015-8]
- 8 Fass R, Fennerty MB, Vakil N. Nonerosive reflux disease--current concepts and dilemmas. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 303-314 [PMID: 11232668]
- 9 唐旭东, 吴红梅, 王志斌, 邵燕, 胡宇驰. 大鼠实验性胃食管反流病RE模型的建立与探讨. 中国中医基础医学杂志 2004; 10: 79-80
- 10 Wetscher GJ, Perdakis G, Kretschmar DH, Stinson RG, Bagchi D, Redmond EJ, Adrian TE, Hinder RA. Esophagitis in Sprague-Dawley rats is mediated by free radicals. *Dig Dis Sci* 1995; 40: 1297-1305 [PMID: 7781451 DOI: 10.1007/BF02065542]
- 11 许树长, 胡运彪, 莫剑忠. 大鼠十二指肠胃食管反流性食管炎. 第四军医大学学报 2002; 23: 155-157
- 12 Omura N, Kashiwagi H, Chen G, Yano F, Suzuki Y, Aoki T. Effects of ecabet sodium on experimentally induced reflux esophagitis. *J Gastroenterol* 2000; 35: 504-509 [PMID: 10905357 DOI: 10.1007/s005350070072 DOI: 10.1007/s005350070072]
- 13 Nahata M, Muto S, Oridate N, Ohnishi S, Nakagawa K, Sadakane C, Saegusa Y, Hattori T, Asaka M, Takeda H. Impaired ghrelin signaling is associated with gastrointestinal dysmotility in rats with gastroesophageal reflux disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 303: G42-G53 [PMID: 22517773 DOI: 10.1152/ajpgi.00462.2011]
- 14 郑朝旭, 林伟斌, 余俊峰, 陈流华. 反流性食管炎大鼠模型的制备: 不同管径内支架支撑幽门及前胃结扎. 中国组织工程研究与临床康复 2010; 14: 3705-3708
- 15 邹方明. 慢性反流性食管炎大鼠模型的建立及5-羟色胺4受体激动剂的抗食管黏膜炎症作用. 福州: 福建医科大学, 2012
- 16 许树长, 戴军, 胡运彪, 莫剑忠, 施尧, 陈锡美, 萧树东. 实验性酸性反流性食管炎动物模型制备的研究. 中华消化杂志 1999; 19: 63-64
- 17 于强, 袁红霞, 崔乃强. 酸性反流性食管炎大鼠模型的改良制备. 中国中西医结合消化杂志 2002; 10: 74-75, 78
- 18 唐艳萍, 弓艳霞, 李淑红, 王瑞, 刘思邈, 李方儒, 魏玮. 复方白及糊对反流性食管炎模型大鼠食管黏膜的影响. 中医杂志 2011; 52: 1312-1315, 1321
- 19 赵艳, 霍永利, 冯玉彦. 化浊解毒方对浊毒内蕴型反流性食管炎大鼠的影响. 中国实验方剂学杂志 2014; 20: 182-185
- 20 李春婷, 沈水杰, 杜斌, 滑永志, 蒋凤荣, 印勇. 健脾疏肝方对反流性食管炎大鼠模型食管组织病理及PCNA的影响. 世界华人消化杂志 2007; 15: 733-736
- 21 查安生, 曹静. 健胃冲剂对反流性食管炎模型大鼠血清胃泌素和胃动素分泌的影响. 中国中西医结合消化杂志 2012; 20: 442-444
- 22 祁永福, 赵健雄, 王学习, 徐中, 许馨文, 王海林. 疏肝和胃降逆颗粒对反流性食管炎大鼠食管黏膜增生的影响. 时珍国医国药 2011; 22: 429-431
- 23 赵艳, 霍永利, 李博林. 化浊解毒方对反流性食管炎大鼠一氧化氮、血管活性肠肽及P物质的影响. 中医杂志 2015; 56: 607-610
- 24 向绍杰, 刘冉, 孟莉, 乔敏, 乔菊久, 李淼. 盐酸伊托必利临床常用剂量对大鼠酸性反流性食管炎模型的影响. 实验动物科学 2011; 28: 15-17
- 25 段飞, 魏明, 王小晓, 邵明义, 刘娟, 冯小艳, 连学雷. 奥瑞凝胶对反流性食管炎模型大鼠NOS及VIP表达的影响. 中药新药与临床药理 2013; 24: 544-547
- 26 张亚肖. 反流性食管炎和抗胃食管反流手术动物模型的建立与实验研究. 石家庄: 河北医科大学, 2006
- 27 王仁峰. 反流对食管黏膜细胞凋亡相关因子作用的实验研究. 石家庄: 河北医科大学, 2009
- 28 Johnson LF, Harmon JW. Experimental esophagitis in a rabbit model. Clinical relevance. *J Clin Gastroenterol* 1986; 8 Suppl 1: 26-44 [PMID: 3090135 DOI: 10.1097/00004836-198606001-00006]
- 29 Katada K, Yoshida N, Isozaki Y, Tomatsuri N, Ichikawa H, Naito Y, Okanoue T, Yoshikawa T.

- Prevention by rebamipide of acute reflux esophagitis in rats. *Dig Dis Sci* 2005; 50 Suppl 1: S97-S103 [PMID: 16184428 DOI: 10.1007/s10620-005-2813-4]
- 30 王瑞华, 欧阳钦, 陈曦, 李国栋, 向军英. 建立三种大鼠反流性食管炎模型的方法. *浙江大学学报(医学版)* 2009; 38: 297-304
 - 31 王雯, 李兆申, 许国铭, 王烈, 邹多武. 不同方式建成3种反流性食管炎模型. *解放军医学杂志* 2000; 25: 171-173
 - 32 李达周, 王雯, 张志坚, 王蓉, 卢嘉臻. 单纯胰液反流对食管黏膜损伤的实验研究. *实验动物科学* 2011; 28: 13-14, 17, 74
 - 33 Pera M, Trastek VF, Carpenter HA, Fernandez PL, Cardesa A, Mohr U, Pairolero PC. Influence of pancreatic and biliary reflux on the development of esophageal carcinoma. *Ann Thorac Surg* 1993; 55: 1386-1392; discussion 1392-1393 [PMID: 8512386]
 - 34 王雯, 许国铭, 李兆申, 邹多武, 朱爱勇, 于凤海. 胃及十二指肠液对食管黏膜损伤的实验研究. *中华消化杂志* 2000; 20: 20-22
 - 35 程艳梅, 朱生樑, 马淑颖, 王晓素, 方盛泉, 孙永顺, 张文静. 通降和胃方对大鼠混合反流性食管炎食管上皮的影响. *山西中医* 2005; 21: 46-48
 - 36 冯云霞, 时昭红, 张介眉, 郝建军, 陈洲, 张书. 调中颗粒对混合反流性食管炎大鼠食管黏膜3种胃肠激素的影响. *中国中西医结合消化杂志* 2007; 15: 369-372
 - 37 时昭红, 张介眉, 郝建军, 冯云霞, 陈洲. 调中颗粒对混合反流性食管炎大鼠的疗效. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 695-700
 - 38 时昭红, 苏文, 张介眉, 郝建军, 冯云霞, 陈洲. 调中颗粒对大鼠混合反流性食管炎的治疗作用及其机制. *中西医结合学报* 2008; 64: 366-371
 - 39 崔含. 基于气机升降理论研究旋覆代赭汤对反流性食管炎大鼠血清FT₄、TSH浓度影响. 天津: 天津医科大学, 2014
 - 40 陈杰, 王进海, 龚均, 汪涛, 程鹏. 药物干预治疗大鼠混合反流性食管炎的实验研究. *基础医学与临床* 2003; 23(Z1): 43-44
 - 41 于凤海, 王雯, 李兆申, 许国铭, 邹多武, 倪灿荣, 屠振兴, 龚燕芳. 一氧化氮及血管活性肠肽在实验性反流性食管炎发病机制中的作用. *第二军医大学学报* 2001; 22: 219-221
 - 42 李兆申, 王雯, 许国铭, 宛新建, 邹多武, 朱爱勇, 于凤海. 胃及十二指肠食管反流对致癌剂诱发大鼠食管肿瘤的影响. *第二军医大学学报* 2000; 21: 65-67, F004
 - 43 汪涛, 陈杰, 刘斌, 龚均. 反流性食管炎大鼠模型的建立. *陕西医学杂志* 2004; 33: 677-679
 - 44 曹丽霞, 袁红霞, 杨幼新, 代二庆, 赵强. 十二指肠胃食管反流动物模型的改进和完善. *天津中医药* 2009; 26: 134-136
 - 45 梁新生, 宋晨光, 袁红霞. 十二指肠胃食管反流动物模型的构建. *天津中医药* 2012; 29: 69-71
 - 46 Tugay M, Yildiz F, Utkan T, Müezzinoğlu B, Erden F, Gacar N, Ulak G. Esophagitis impairs esophageal smooth muscle reactivity in the rat model: an in vitro study. *Dig Dis Sci* 2003; 48: 2147-2152 [PMID: 14705820 DOI: 10.1023/B:DDA S.0000004518.98825.6c]
 - 47 王志勇, 许树长, 孔炫. 奥美拉唑联合超氧化物歧化酶治疗反流性食管炎的实验研究. *同济大学学报(医学版)* 2009; 30: 22-26, 57
 - 48 程艳梅, 刘春芳, 曹会杰, 张秀莲, 王高峰, 孙曼平, 朱生樑. 丁香降气方对反流性食管炎大鼠IL-8及其受体的影响. *上海中医药杂志* 2012; 46: 77-80
 - 49 马淑颖, 朱生樑, 程艳梅, 孙永顺, 张文静, 孙曼萍, 黄雨稼. 疏肝和胃方对混合反流性食管炎大鼠一氧化氮合酶和血管活性肠肽的影响. *山西中医* 2006; 22: 48-50
 - 50 王雯, 李兆申, 许国铭. 十二指肠胃食管反流的临床意义和检测. *国外医学: 内科学分册* 1999; 26: 347-349, 353
 - 51 张茹, 龚均, 史冉庚, 王涛, 王莉. 胆汁反流对大鼠食管黏膜炎症损伤和凋亡的作用. *四川大学学报(医学版)* 2006; 37: 750-753

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



骨髓间充质干细胞在肝硬化治疗中的研究进展

王磊, 李宗帅, 张海蓉

■背景资料

肝炎、肝硬化是消化科的常见病、多发病,其病情反复迁延,治疗效果不理想,患者承受巨大痛苦及经济负担。肝移植是目前最有效的治疗手段,但临床广泛应用存在困难。骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)具有多向分化潜能、易分离,且易于取材,未涉及伦理问题,遗传背景相对稳定,可在体外大量扩增,体内植入反应较弱,避免了移植的排斥反应。有望通过替代作用、免疫调节、旁分泌等作用来治疗肝硬化,成为肝病治疗的新希望。

王磊, 李宗帅, 张海蓉, 云南省消化疾病研究所 昆明医科大学第一附属医院消化内科 云南省昆明市 650032

王磊, 在读硕士, 主要从事肝病、肝硬化的研究。

作者贡献分布: 本文综述由王磊与李宗帅完成; 张海蓉审核。

通讯作者: 张海蓉, 教授, 主任医师, 650032, 云南省昆明市西昌路295号, 云南省消化疾病研究所, 昆明医科大学第一附属医院消化内科。zhr919@sina.com
电话: 0871-65316883

收稿日期: 2015-08-14 修回日期: 2015-09-03

接受日期: 2015-09-11 在线出版日期: 2015-10-08

Bone marrow mesenchymal stem cells for treatment of liver cirrhosis

Lei Wang, Zong-Shuai Li, Hai-Rong Zhang

Lei Wang, Zong-Shuai Li, Hai-Rong Zhang, Yunnan Institute of Digestive Diseases; Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Correspondence to: Hai-Rong Zhang, Professor, Chief Physician, Yunnan Institute of Digestive Diseases; Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, 295 Xichang Road, Kunming 650032, Yunnan Province, China. zhr919@sina.com

Received: 2015-08-14 Revised: 2015-09-03

Accepted: 2015-09-11 Published online: 2015-10-08

Abstract

Liver disease is a frequently occurring disease worldwide. In China, the incidence of hepatitis and liver cirrhosis is high, and has increased year by year. The progression of chronic liver disease can lead to upper gastrointestinal bleeding, liver cancer and other malignant diseases, posing a serious threat to the health and quality of life of patients. Before progression to liver cirrhosis, choosing an effective treatment

method can reverse the disease, improve the prognosis and reduce mortality. Bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) are the most popular seed cells in the development of new methods for treating cirrhosis. They can not only differentiate into hepatocytes *in vivo*, but also reduce the inflammatory response, inhibit cell apoptosis, improve liver function and so on. BMSCs are expected to be a new strategy for the treatment of liver cirrhosis and liver failure.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Bone marrow mesenchymal stem cells; Hepatic cirrhosis; Cell transplantation

Wang L, Li ZS, Zhang HR. Bone marrow mesenchymal stem cells for treatment of liver cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(28): 4522-4528 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4522.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i28.4522>

摘要

肝病是全球范围内的多发病。中国是肝炎、肝硬化疾病高发国家,并有逐年增加的趋势。随着慢性肝脏疾病病情进展,可诱发上消化道出血、肝癌等恶性疾患,对患者健康及生存质量造成严重威胁。故在病程转入肝硬化前,选择一种有效的治疗方法,可逆转病情、改善预后、降低病死率。近年来探索了多种治疗肝硬化的新方法,并取得了显著的效果,其中骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells)是目前研究最热门的种子细胞。他既能在体内微环境作用下分化为肝细胞,又能在受损肝组织内分泌细胞

■同行评议者

吴江峰, 教授, 三峡大学医学院形态学部

因子减轻炎症反应、抑制细胞凋亡、改善肝功能等, 有望成为治疗肝硬化、肝衰竭的新策略。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 骨髓间充质干细胞; 肝硬化; 细胞移植

核心提示: 大量实验表明骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)在未来肝硬化临床应用中拥有广阔的前景, 目前对BMSCs在肝硬化的治疗方面仍停留在基础研究, 但他既能在体内微环境作用下分化为肝细胞, 又能在受损肝组织内分泌细胞因子减轻炎症反应、抑制细胞凋亡、改善肝功能等, 有望成为治疗肝硬化、肝衰竭的新策略。

王磊, 李宗帅, 张海蓉. 骨髓间充质干细胞在肝硬化治疗中的研究进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(28): 4522-4528
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4522.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i28.4522>

0 引言

肝硬化是一种长期、慢性、反复、治疗效果欠佳的慢性疾病, 可引起多种机体的损害^[1], 给患者造成巨大痛苦和经济负担. 传统治疗手段难以从根本上修复肝脏的不可逆变化, 生物人工肝仅作为一种肝移植过渡手段^[2]. 肝脏原位移植至今仍是治疗各种终末期肝病的最有效方法, 但是由于供体来源不足、操作复杂、移植后免疫排斥、治疗费用昂贵等问题, 限制了临床肝移植的发展^[3]. 随着细胞移植技术的成熟, 干细胞移植有望从根本上治疗肝脏疾病, 为治疗慢性肝脏疾病带来希望. 其中骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)易分离, 遗传背景相对稳定, 可在体外大量扩增, 体内植入反应较弱, 避免了移植的排斥反应, 并且由于骨髓来源的间充质干细胞易于取材, 未涉及伦理, 而被广泛应用于实验研究^[4], 为临床等待接受肝移植的患者搭建很好的桥梁. 本文就BMSCs在肝硬化治疗中的最新临床进展做如下综述。

1 BMSCs治疗肝硬化的研究现状

BMSCs由Friedenstein在19世纪60年代首先报道^[5]. BMSCs是骨髓基质中主要的干细胞, 定居在骨髓及其他组织, 参与基质微环境的组成和造血功能的调控, 其表面抗原具有非专一性,

可表达间质细胞、内皮细胞和表皮细胞的标志分子, 其特性稳定, 连续传代培养和冷冻保存后仍具有多向分化潜能, 体外扩增容易. 另外, BMSCs还可以通过分泌多种细胞因子调节机体的免疫功能, 这些特性可能使其最先在细胞移植治疗中得以应用^[6-8]. Lin等^[9]证明骨髓源性BMSCs在体外可直接诱导分化成肝细胞, 并表达肝细胞相关的标志分子, 如内源性甲胎蛋白(alpha fetal protein, AFP)、白蛋白(albumin, ALB)、细胞角蛋白18(cytokeratin, CK18)等, 还可产生尿素和贮存糖原. 随着人们对BMSCs的认识不断加深, 发现BMSCs是成骨细胞, 软骨细胞、脂肪细胞、骨骼肌和心肌细胞祖细胞的潜在来源. 还能够分化成外胚层和内胚层细胞, 如神经元细胞、神经胶质细胞、角质形成细胞和肝细胞^[10]. BMSCs既有强大的自我更新和多向分化潜能, 又有取材方便、来源广泛和低免疫原性的特点, 因此, BMSCs移植在肝脏疾病治疗领域显示出良好的应用价值。

目前国内外大量临床试验均证实了BMSCs治疗肝硬化确切疗效. 王振常等^[11]对120例失代偿期肝硬化患者实施纯化自体BMSCs移植, 发现术后临床症状评分、血清ALB含量、Child A、B级患者手术后PTA均较术前明显改善. 苏毅等^[12]在BMSCs移植治疗乙型肝炎肝硬化的近期疗效中发现, 36例乙型肝炎肝硬化患者在内科治疗基础上, 采用自体BMSCs移植. 术后定期检测肝功能、肝脏超声及CT检查. 结果表明BMSCs移植后腹水消退, 肝功能明显改善. Yuan等^[13]在研究BMSCs移植对急性肝功能衰竭的影响时发现与未经治疗的对照组相比, BMSCs在移植后120、168 h, 试验组谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(alanine aminotransferase, AST)、半胱天冬酶-1(Caspase1)和白介素18(interleukin-18, IL-18)和mRNA水平均显著低于对照组, 表明BMSCs移植可改善肝功能, 抑制肝细胞凋亡及促进肝衰竭模型大鼠肝细胞增殖. 另外Abdel aziz等^[14]通过流式细胞仪检测BMSCs与肝癌细胞共培养后, 发现BMSCs可以增加肝癌细胞的凋亡率, 提示BMSCs还可能用于肝脏肿瘤的防治。

2 BMSCs治疗肝硬化可能的机制

2.1 替代作用 BMSCs可在肝脏受损时定向归

■ 研究前沿

目前BMSCs研究热点多集中于移植后BMSCs的追踪及其在体内发挥作用的分子及细胞机制, 以及对肝硬化的治疗作用. BMSCs的体外分离、培养、鉴定等技术的标准化, 移植方式、部位、最佳时机的选择以及移植细胞的最佳数量尚无确切定论, 治疗的安全性仍是目前亟待解决的问题, 急需更为深入的基础及临床研究作为技术支撑。

■ 相关报道

Kassis等报道了BMSCs可通过各种免疫调节机制来下调T淋巴细胞抑制免疫反应和旁分泌可溶性细胞因子来调节减轻肝纤维化。

巢到已经受损的肝脏组织,并在肝脏内定植,转化为肝细胞。Cho等^[15]报道,在正常小鼠肝、脾、肺中BMSCs分布无明显差异,但经四氯化碳处理后的肝脏归巢率是未处理对照组的2倍多,明显高于脾、肺归巢率,同时BMSCs可分化为成熟肝细胞和胆管细胞从而发挥部分肝细胞的功能。其中所涉及的机制有转分化和细胞融合。转分化即一种类型的分化细胞转变成另一种类型的分化细胞的现象。Quintana-Bustamante等^[16]利用绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)标记的BMSCs进行雌雄小鼠交叉移植,在受体肝脏内鉴定出双核/Y染色体⁺/GFP⁺功能性肝细胞。细胞融合即BMSCs与受损肝细胞发生融合形成过渡状态的嵌合细胞,随之发生减数分裂转化为含有正常数目染色体的肝实质细胞,但这方面的报道较少。

2.2 免疫调节 BMSCs不仅可以转化为肝脏细胞,并能够分泌多种免疫调节物质。我们知道肝硬化是肝脏对于各种急慢性刺激损伤的修复反应,这些刺激因素包括酒精、病毒感染、药物、毒物、胆汁淤积、寄生虫病和代谢性疾病。肝纤维化是肝脏损伤与慢性炎症进展的必然结果,是发展至肝硬化的必经阶段。任何病因所致的肝脏炎症均以炎性细胞的浸润为特征,浸润或迁移至肝内的免疫细胞除肝脏固有细胞如:枯否细胞和树突状细胞(dendritic cells, DC)^[17]外,还有单核细胞、巨噬细胞、和淋巴细胞[包括自然杀伤(natural killer cell, NK)细胞、NKT淋巴细胞、T淋巴细胞和B淋巴细胞]。这些细胞与肝实质细胞或肝非实质细胞相互作用,共同参与肝脏的炎症和纤维化形成与调节。Kassis等^[18]发现BMSCs可通过各种机制来下调T淋巴细胞和B淋巴细胞、自然杀伤细胞和抗原呈递细胞,并通过细胞-细胞相互作用和分泌可溶性因子来抑制免疫反应,减轻肝纤维化。张阳等^[19]进行了BMSCs的T淋巴细胞抑制试验,计算得T淋巴细胞增殖抑制率约为45%,提示BMSCs可抑制淋巴细胞免疫反应,降低移植植物抗宿主反应。Guo等^[20]研究发现肝硬化患者BMSCs移植可抑制外周血T淋巴细胞的增殖,上调CD4、CD25表达CD127等调节性T细胞(Treg)表达,并改善Treg/Th17失衡。Roord等^[21]发现BMSCs可上调CD4⁺、CD25⁺、FoxD3⁺细胞来抑制T细胞增殖,减轻炎症反应。Liu等^[22]也发现在肝纤维化时,肝内CD4⁺、

CD25⁺、FoxD3等调节性T细胞增加,而NK细胞减少。CD4⁺、CD25⁺、Foxp3⁺细胞是近年来公认的调节性T细胞亚群,是外周免疫耐受的维护者,他还可通过细胞间接触抑制或释放IL-10、TGF- β 等细胞因子来抑制效应T细胞增殖,防止机体免疫失控。IL-10基因敲除小鼠较野生型小鼠肝纤维化程度明显加重,也提示IL-10对肝纤维化起抑制作用^[23]。最近研究^[24]指出:BMSCs可以直接分泌或者促进肝细胞生长因子、表皮生长因子、基质细胞衍生因子、细胞内皮细胞生长因子、IL-1、IL-10等多种因子分泌而促进受损肝脏的修复,这说明输注的BMSCs可能通过分泌或上调IL-10等细胞因子来参与受者免疫紊乱的调整。杜静杰等^[25]研究发现BMSCs可以抑制T淋巴细胞活化,并通过减少炎症因子TNF- α 的释放抑制免疫应答。另外, BMSCs可通过自分泌及诱导T调节细胞产生并分泌免疫抑制因子IL-10、TGF- β 下调免疫反应,产生免疫耐受。白海等^[26]发现BMSCs及其上清液能抑制T淋巴细胞增殖反应,他可抑制T淋巴细胞 γ -干扰素的分泌,而对IL-4的分泌有一定的促进作用。已知 γ -干扰素是免疫正向调节因子,而IL-4则相反。通过改变T细胞自身分泌细胞因子的种类和含量来影响T细胞的增殖,这可能是BMSCs抑制T细胞增殖的机制。

2.3 旁分泌调节 肝硬化发生的中心环节是肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)的激活并向肌成纤维样细胞(myofibroblasts, MFs)转化,表达 α -平滑肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)。激活HSCs内多条分子信号通路从基因水平上就可以导致HSCs分子生物学特点发生改变从而诱导肝纤维化发生^[27,28]。抑制HSCs增殖或促进其凋亡、促进细胞外基质降解,是治愈肝纤维化的关键^[29]。BMSCs可有效对抗肝纤维化,因为他能抑制HSCs激活和/或促进其凋亡,减少细胞外基质的产生,调节宿主的免疫应答和基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)及其抑制剂(matrix metalloproteinase inhibitor, TIMPs)的体内平衡。这可能代表了BMSCs治疗肝脏疾病的一种分子机制。Chen等^[30]研究提示与单一HSCs培养及BMSCs、HSCs间接共培养相比,在BMSCs与HSCs直接共培养体系中, S期HSCs的数量明显降低, α -SMA的表达减少。这

表明BMSCs是通过细胞间的直接接触来影响HSCs的活化及增殖功能. Lin等^[31]建立BMSCs和HSCs体外共培养模型, 表明BMSCs分泌神经生长因子(nerve growth factor, NGF), 后者通过旁分泌途径调节HSCs凋亡. 林楠等^[32]研究发现BMSCs在体内可诱导HSCs的凋亡, 也与BMSCs旁分泌的NGF等有关. 史立君等^[33]发现BMSCs能够分泌NGF, 而活化的HSCs能够表达NGF受体p75, NGF与p75结合后促进了HSCs的凋亡, 从而起到抗肝脏纤维化的目的, 此可能为BMSCs抑制肝硬化的机制. BMSCs与HSCs共培养后, BMSCs旁分泌产生肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)、肝细胞生长因子激活酶(hepatocyte growth factor activated enzyme, HGFA), HGFA可使无活性的HGF转化为活性的HGF, 有活性的HGF可能通过抑制Rho信号通路从而抑制HSCs, 达到抗肝纤维化的目的^[34,35]. Pan等^[36]在最近提出Dlk-1是通过促进HSCs激活而造成肝纤维化的关键靶点. 在肝损伤发生后HSCs激活Dlk-1表达上调, 而BMSCs可以通过下调Dlk-1蛋白表达而抑制肝纤维化的发生. 众所周知Notch在介导的细胞内信号通路在调控多种细胞的生存、增殖和分化方面都起到关键作用. 最近研究^[29]发现BMSCs和HSCs在体外共培养时显著抑制了HSCs的增殖, 其内在分子机制是BMSCs可通过诱导HSCs表达Notch-1继而通过与PI3K/AKT信号通路对话, 下调AKT磷酸化而抑制HSCs增殖. 而Dlk-1对Notch信号通路有直接抑制作用^[37]. 当BMSCs作用于HSCs诱导Dlk-1下调, 而Dlk-1下调诱发Notch-1信号通路激活、表达增加从而抑制HSCs的增殖, 逆转肝纤维化的发生. 同时BMSCs分泌的TGF- β 、VEGF具有促进HSCs活化及凋亡的功能^[38,39], IL-10也能够抑制HSCs增殖, 促进HSCs凋亡^[40]. Wei等^[41]给诱导肝硬化大鼠施用的BMSCs后显示具有过表达的MMP-1, 且大鼠体质量、肝质量和血浆白蛋白较前增加, 而血浆丙氨酸转氨酶、总胆红素、透明质酸、层黏连蛋白和前胶原III的水平较前均有显著减少, 提示了BMSCs对肝纤维化的修复能力可以通过表达MMP-1而得到增强. Chang等^[42]研究表明移植的BMSCs高表达MMP-2、MMP-9, MMP-2能降解明胶和IV、V、VII、X型胶原, 积极参与肝硬化细胞外基质溶解, 控制肝纤维化的进展.

3 目前面临的问题

Peng等^[43]对527例由乙型肝炎引起的肝功能衰竭患者进行相同内科治疗, 其中53例进行自体BMSCs移植, 105例作为对照. BMSCs移植后2-3 wk内, 与对照组相比, 白蛋白、总胆红素、凝血酶原时间及MELD评分得到明显改善, 且无不良反应. 然而, 对BMSCs移植后192 wk的随访发现, 两组患者肝癌患病率或病死率无明显差别, 同时肝硬化患者行BMSCs移植后与无肝硬化患者肝癌患病率或病死率亦无明显差别. 而Baertschiger等^[3]曾将BMSCs移植到损伤的SD老鼠中发现BMSCs分化为肌成纤维细胞, 能够表达弹性蛋白和 α -SMA, 导致胶原的沉积. 说明在特定的环境下BMSCs有促纤维发生的潜能. 何瑶等^[44]也发现BMSCs可分化为肌成纤维细胞, 这在肝纤维化形成中起重要促进作用, 可见移植的远期效果和是否抑制肝纤维化进展仍需进一步研究. 虽然多项BMSCs移植治疗肝病患者的临床研究结果鼓舞人心, 但同时有许多相关问题亟需解决, 如: (1)如何进一步完善BMSCs的体外分离、培养、鉴定等技术, 确保其更好的向肝细胞定向分化和扩增; (2)在细胞因子等调控下BMSCs向肝细胞诱导分化的分子机制需进一步研究; (3)BMSCs直接移植和体外分化后移植的适应证及禁忌证; (4)移植方式、部位、最佳时机的选择以及移植细胞的最佳数量, 如何避免血管栓塞的发生等细胞移植问题有待进一步探讨; (5)需要建立一个有效的体内跟踪体系, 以便更好地观察BMSCs在体内的归巢和定位; (6)体内不同疾病状态下的微环境条件对BMSCs的迁移、定居、分化和功能的影响; (7)BMSCs移植的长期疗效和安全性还有待进一步观察. 目前在BMSCs分离方面, 密度梯度离心法纯度高、简便、对细胞活性未构成明显影响, 是使用最为广泛的分离方法. BMSCs移植主要有以下3种途径, 即经肝动脉、门静脉、外周静脉途径. 其中经肝动脉移植治疗效果优于其他两种途径, 并很快达到有效浓度, 且早期移植可较快阻止肝功能恶化, 从而达到较好的治疗效果. Cai等^[45]发现使用肝动脉移植途径BMSCs在肝脏含量较之其他实质器官高. 同时进行细胞标记持续追踪有望进一步了解其在体内发挥作用的方式. 并且通过更大的多中心研究来探讨BMSCs的长期疗效等.

■ 创新盘点

本文对BMSCs在肝硬化治疗中的研究进展进行了较为真实、清晰的总结, 较为全面、客观地反映了目前BMSCs在肝脏疾病中的应用中存在的问题, 可指导后续的相关动物实验和临床研究.

应用要点

BMSCs要较为成熟地用于临床治疗, 还有许多问题亟待解决, 本文对BMSCs在肝硬化治疗中的研究现状、相关机制、现有问题作综述, 可进一步指导动物实验和临床研究方向, 为临床等待接受肝移植的患者搭建很好的桥梁。

这些都需要进一步研究观察。

4 结论

BMSCs移植是近年来发现治疗肝硬化的新方法, 它具有: (1)创伤小、操作简单安全; (2)可重复移植, 且干细胞可冻存; (3)干细胞抗原性低于器官移植, 排斥反应弱; (4)植入干细胞能较快的发挥作用等优点。目前对BMSCs的研究仅仅是证实了他的存在、多向分化潜能和强大的增殖能力, 但对分化调控的机制以及分离方法和培养技术的标准化等问题都有待于进一步研究。同时在其他研究中也证实脐血干细胞^[46,47]、骨髓造血干细胞^[48]、脂肪间充质干细胞^[49]、外周血单核干细胞^[50]等在肝硬化干细胞移植的临床实践中获得良好效益。但他们也都有各自的优缺点, 究竟哪种干细胞更适合于移植治疗, 是否将各种细胞联合起来移植可以达到扬长避短的效果。此外还有一些相反的报道证实其促肝硬化作用。这些都需要我们切实做好基础研究工作。积极探索新方法来协助临床采取最佳治疗方案, 为肝病患者带来福音。

5 参考文献

- Wittenburg H, Tennert U, Berg T. [Complications of liver cirrhosis]. *Internist (Berl)* 2011; 52: 1061-1670; quiz 1071-1072 [PMID: 21611819 DOI: 10.1007/s00108-011-2853-0]
- Stadlbauer V, Jalan R. Acute liver failure: liver support therapies. *Curr Opin Crit Care* 2007; 13: 215-221 [PMID: 17327745 DOI: 10.1097/MCC.0b013e328052c4cc]
- Baertschiger RM, Serre-Beinier V, Morel P, Bosco D, Peyrou M, Clément S, Sgroi A, Kaelin A, Buhler LH, Gonelle-Gispert C. Fibrogenic potential of human multipotent mesenchymal stromal cells in injured liver. *PLoS One* 2009; 4: e6657 [PMID: 19684854 DOI: 10.1371/journal.pone.0006657]
- Qingqing M, Xin Z, Meizhong S. Bone marrow mesenchymal stem cells altered the immunoregulatory activities of hepatic natural killer cells. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2014; 38: 689-698 [PMID: 25241998 DOI: 10.1016/j.clinre.2014.06.001]
- Friedenstein AJ, Chailakhyan RK, Gerasimov UV. Bone marrow osteogenic stem cells: in vitro cultivation and transplantation in diffusion chambers. *Cell Tissue Kinet* 1987; 20: 263-272 [PMID: 3690622]
- Puglisi MA, Tesori V, Lattanzi W, Piscaglia AC, Gasbarrini GB, D'Ugo DM, Gasbarrini A. Therapeutic implications of mesenchymal stem cells in liver injury. *J Biomed Biotechnol* 2011; 2011: 860578 [PMID: 22228987 DOI: 10.1155/2011/860578]
- Pournasr B, Mohamadnejad M, Bagheri M, Aghdami N, Shahsavani M, Malekzadeh R, Baharvand H. In vitro differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells into hepatocyte-like cells. *Arch Iran Med* 2011; 14: 244-249 [PMID: 21726099 DOI: 0011144/AIM.004]
- Zhang QZ, Su WR, Shi SH, Wilder-Smith P, Xiang AP, Wong A, Nguyen AL, Kwon CW, Le AD. Human gingiva-derived mesenchymal stem cells elicit polarization of m2 macrophages and enhance cutaneous wound healing. *Stem Cells* 2010; 28: 1856-1868 [PMID: 20734355 DOI: 10.1002/stem.503]
- Lin N, Lin J, Bo L, Weidong P, Chen S, Xu R. Differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells into hepatocyte-like cells in an alginate scaffold. *Cell Prolif* 2010; 43: 427-434 [PMID: 20887549 DOI: 10.1111/j.1365-2184.2010.00692.x]
- Bajek A, Olkowska J, Drewna T. [Mesenchymal stem cells as a therapeutic tool in tissue and organ regeneration]. *Postepy Hig Med Dosw (Online)* 2011; 65: 124-132 [PMID: 21358000]
- 王振常, 黄贵华, 黄晶晶, 吕建林, 藩哲. 纯化自体骨髓干细胞经肝动脉移植的疗效及安全性分析失代偿期肝硬化. *胃肠病学与肝病学杂志* 2014; 23: 497-500
- 苏毅, 侯丽, 杨方万, 李传腾, 杨福秀. 自体骨髓干细胞移植治疗乙型肝炎肝硬化36例临床观察. *实用肝病杂志* 2013; 16: 267-268
- Yuan S, Jiang T, Sun L, Zheng R, Ahat N, Zhang Y. The role of bone marrow mesenchymal stem cells in the treatment of acute liver failure. *Biomed Res Int* 2013; 2013: 251846 [PMID: 24312909 DOI: 10.1155/2013/251846]
- Abdel aziz MT, El Asmar MF, Atta HM, Mahfouz S, Fouad HH, Roshdy NK, Rashed LA, Sabry D, Hassouna AA, Taha FM. Efficacy of mesenchymal stem cells in suppression of hepatocarcinogenesis in rats: possible role of Wnt signaling. *J Exp Clin Cancer Res* 2011; 30: 49 [PMID: 21545718 DOI: 10.1186/1756-9966-30-49]
- Cho KA, Ju SY, Cho SJ, Jung YJ, Woo SY, Seoh JY, Han HS, Ryu KH. Mesenchymal stem cells showed the highest potential for the regeneration of injured liver tissue compared with other subpopulations of the bone marrow. *Cell Biol Int* 2009; 33: 772-777 [PMID: 19427913 DOI: 10.1016/j.cellbi.2009.04.023]
- Quintana-Bustamante O, Alvarez-Barrientos A, Kofman AV, Fabregat I, Bueren JA, Theise ND, Segovia JC. Hematopoietic mobilization in mice increases the presence of bone marrow-derived hepatocytes via in vivo cell fusion. *Hepatology* 2006; 43: 108-116 [PMID: 16374873 DOI: 10.1002/hep.21005]
- Connolly MK, Bedrosian AS, Mallen-St Clair J, Mitchell AP, Ibrahim J, Stroud A, Pachter HL, Bar-Sagi D, Frey AB, Miller G. In liver fibrosis, dendritic cells govern hepatic inflammation in mice via TNF-alpha. *J Clin Invest* 2009; 119: 3213-3225 [PMID: 19855130 DOI: 10.1172/JCI37581]
- Kassis I, Vaknin-Dembinsky A, Karussis D. Bone marrow mesenchymal stem cells: agents of immunomodulation and neuroprotection. *Curr Stem Cell Res Ther* 2011; 6: 63-68 [PMID: 20955154]
- 张阳, 彭亮, 谢婵, 林炳亮, 黄仰魁, 谢俊强, 高志良, 罗光汉. 体外培养乙型肝炎患者骨髓间充质干细胞的生物安全性及其质量控制. *中华肝脏杂志* 2011; 19: 445-449
- Guo CH, Han LX, Wan MR, Deng GJ, Gan JH.

- Immunomodulatory effect of bone marrow mesenchymal stem cells on T lymphocytes in patients with decompensated liver cirrhosis. *Genet Mol Res* 2015; 14: 7039-7046 [PMID: 26125913 DOI: 10.4238/2015.June.26.13]
- 21 Roord ST, de Jager W, Boon L, Wulffraat N, Martens A, Prakken B, van Wijk F. Autologous bone marrow transplantation in autoimmune arthritis restores immune homeostasis through CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells. *Blood* 2008; 111: 5233-5241 [PMID: 18256318 DOI: 10.1182/blood-2007-12-128488]
 - 22 Liu X, Lou J, Chen Y, Duan Z. [Changes of regulatory T cells related to CCl4-induced liver fibrosis in mice]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2014; 22: 277-280 [PMID: 25173226 DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2014.04.008]
 - 23 Mentink-Kane MM, Cheever AW, Wilson MS, Madala SK, Beers LM, Ramalingam TR, Wynn TA. Accelerated and progressive and lethal liver fibrosis in mice that lack interleukin (IL)-10, IL-12p40, and IL-13Rα2. *Gastroenterology* 2011; 141: 2200-2209 [PMID: 21864478 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.08.008]
 - 24 Balber AE. Concise review: aldehyde dehydrogenase bright stem and progenitor cell populations from normal tissues: characteristics, activities, and emerging uses in regenerative medicine. *Stem Cells* 2011; 29: 570-575 [PMID: 21308868 DOI: 10.1002/stem.613]
 - 25 杜杰静, 宋红丽, 沈中阳, 郭瑞雪, 吴本娟, 付楠楠. 骨髓间充质干细胞体外诱导免疫调节机制的探讨. *天津医科大学学报* 2012; 18: 289-291
 - 26 白海, 吴冰, 王存邦, 马晓慧, 司志刚. 人骨髓间充质干细胞及条件培养液对异体T淋巴细胞分泌功能的影响. *中国组织工程研究* 2012; 16: 4204-4208
 - 27 Chen YX, Weng ZH, Zhang SL. Notch3 regulates the activation of hepatic stellate cells. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 1397-1403 [PMID: 22493555 DOI: 10.3748/wjg.v18.i12.1397]
 - 28 Seki N, Toh U, Kawaguchi K, Ninomiya M, Koketsu M, Watanabe K, Aoki M, Fujii T, Nakamura A, Akagi Y, Kusukawa J, Kage M, Shirouzu K, Yamana H. Tricin inhibits proliferation of human hepatic stellate cells in vitro by blocking tyrosine phosphorylation of PDGF receptor and its signaling pathways. *J Cell Biochem* 2012; 113: 2346-2355 [PMID: 22359269 DOI: 10.1002/jcb.24107]
 - 29 胡昆鹏, 刘波, 姚志成, 林继宗, 邓美海, 潘卫东, 林楠, 陈骋, 许瑞云. 骨髓间充质干细胞与肝星状细胞共培养后凋亡相关基因的改变. *中国组织工程学研究* 2014; 18: 4444-4449
 - 30 Chen S, Xu L, Lin N, Pan W, Hu K, Xu R. Activation of Notch1 signaling by marrow-derived mesenchymal stem cells through cell-cell contact inhibits proliferation of hepatic stellate cells. *Life Sci* 2011; 89: 975-981 [PMID: 22056375 DOI: 10.1016/j.lfs.2011.10.012]
 - 31 Lin N, Hu K, Chen S, Xie S, Tang Z, Lin J, Xu R. Nerve growth factor-mediated paracrine regulation of hepatic stellate cells by multipotent mesenchymal stromal cells. *Life Sci* 2009; 85: 291-295 [PMID: 19559033 DOI: 10.1016/j.lfs.2009.06.007]
 - 32 林楠, 谢树杰, 潘卫东, 胡昆鹏, 陈思, 崇雨田, 项鹏, 许瑞云. 大鼠骨髓间质干细胞体内诱导肝星状细胞的凋亡. *中国组织工程研究与临床康复* 2010; 14: 1759-1774
 - 33 史立军, 王菁华, 徐克达, 曹振远, 孙博, 王广友, 王丹丹, 孔庆飞, 李呼伦. 骨髓基质干细胞对大鼠肝纤维化细胞凋亡的影响. *中国生物制品学杂志* 2008; 21: 929-932
 - 34 Parekkadan B, van Poll D, Megeed Z, Kobayashi N, Tilles AW, Berthiaume F, Yarmush ML. Immunomodulation of activated hepatic stellate cells by mesenchymal stem cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 363: 247-252 [PMID: 17869217 DOI: 10.1016/j.bbrc.2007.05.150]
 - 35 韦柳萍, 覃山羽, 姜海行, 沈妍华, 孟云超. 大鼠骨髓间充质干细胞促进肝星状细胞凋亡的机制研究. *中华肝脏病杂志* 2014; 22: 223-227
 - 36 Pan RL, Wang P, Xiang LX, Shao JZ. Delta-like 1 serves as a new target and contributor to liver fibrosis down-regulated by mesenchymal stem cell transplantation. *J Biol Chem* 2011; 286: 12340-12348 [PMID: 21239501 DOI: 10.1074/jbc.M110.194498]
 - 37 Falix FA, Aronson DC, Lamers WH, Gaemers IC. Possible roles of DLK1 in the Notch pathway during development and disease. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1822: 988-995 [PMID: 22353464 DOI: 10.1016/j.bbdis.2012.02.003]
 - 38 Liu Y, Wang Z, Wang J, Lam W, Kwong S, Li F, Friedman SL, Zhou S, Ren Q, Xu Z, Wang X, Ji L, Tang S, Zhang H, Lui EL, Ye T. A histone deacetylase inhibitor, largazole, decreases liver fibrosis and angiogenesis by inhibiting transforming growth factor-β and vascular endothelial growth factor signalling. *Liver Int* 2013; 33: 504-515 [PMID: 23279742 DOI: 10.1111/liv.12034]
 - 39 Majumder S, Piguet AC, Dufour JF, Chatterjee S. Study of the cellular mechanism of Sunitinib mediated inactivation of activated hepatic stellate cells and its implications in angiogenesis. *Eur J Pharmacol* 2013; 705: 86-95 [PMID: 23454556 DOI: 10.1016/j.ejphar.2013.02.026]
 - 40 Chen YX, Huang YH, Zheng WD, Chen ZX, Zhang LJ, Wang XZ. Interleukin-10 gene modification attenuates hepatocyte activation of rat hepatic stellate cells in vitro. *Mol Med Rep* 2013; 7: 371-378 [PMID: 23232951 DOI: 10.3892/mmr.2012.1228]
 - 41 Wei X, Jiang M, Zeng W, Zheng S, Tang S, Du C. [Therapeutic effect of BMSCs with over-expressed MMP1 on liver fibrosis]. *Zhongnan Daxue Xuebao Yixueban* 2014; 39: 258-264 [PMID: 24748190 DOI: 10.11817/j.issn.1672-7347.2014.03.006]
 - 42 Chang YJ, Liu JW, Lin PC, Sun LY, Peng CW, Luo GH, Chen TM, Lee RP, Lin SZ, Harn HJ, Chiou TW. Mesenchymal stem cells facilitate recovery from chemically induced liver damage and decrease liver fibrosis. *Life Sci* 2009; 85: 517-525 [PMID: 19686763 DOI: 10.1016/j.lfs.2009.08.003]
 - 43 Peng L, Xie DY, Lin BL, Liu J, Zhu HP, Xie C, Zheng YB, Gao ZL. Autologous bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in liver failure patients caused by hepatitis B: short-term and long-term outcomes. *Hepatology* 2011; 54: 820-828 [PMID: 21608000 DOI: 10.1002/hep.24434]
 - 44 何瑶, 熊理守, 黄文生, 杨荣萍, 陈瑜君, 任明. 间充质干细胞在肝纤维化形成中的作用. *中国病理生理杂志* 2010; 26: 1593-1598
 - 45 Cai J, Zhang X, Wang X, Li C, Liu G. In vivo MR

■名词解释

骨髓间充质干细胞(BMSCs): 是骨髓基质干细胞, 对骨髓中的造血干细胞不仅有支持作用, 还能分泌多种生长因子来支持造血, 是干细胞家族的重要成员, 具有多向分化潜能、造血支持和促进干细胞植入、免疫调控和自我复制等特点, 体内或体外特定的诱导条件下, 可分化为多种组织细胞用于组织器官损伤修复。

■同行评价

将BMSCs用于肝硬化的治疗具有重要的现实意义. 本文通过研究现状、机制探讨和面临的问题对BMSCs在临床治疗肝硬化的可行性进行了较为系统的分析, 可以为读者提供帮助.

- 46 Zhang Z, Lin H, Shi M, Xu R, Fu J, Lv J, Chen L, Lv S, Li Y, Yu S, Geng H, Jin L, Lau GK, Wang FS. Human umbilical cord mesenchymal stem cells improve liver function and ascites in decompensated liver cirrhosis patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27 Suppl 2: 112-120 [PMID: 22320928 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.07024.x]
- 47 Ren H, Zhao Q, Cheng T, Lu S, Chen Z, Meng L, Zhu X, Yang S, Xing W, Xiao Y, Ren Q, Chi Y, Gu D, Yang R, Han ZC. No contribution of umbilical cord mesenchymal stromal cells to capillarization and venularization of hepatic sinusoids accompanied by hepatic differentiation in carbon tetrachloride-induced mouse liver fibrosis. *Cytotherapy* 2010; 12: 371-383 [PMID: 20184502 DOI: 10.3109/146532410.03596661]
- 48 Salama H, Zekri AR, Zern M, Bahnassy A, Loutfy S, Shalaby S, Vigen C, Burke W, Mostafa M, Medhat E, Alfi O, Hutteringer E. Autologous hematopoietic stem cell transplantation in 48 patients with end-stage chronic liver diseases. *Cell Transplant* 2010; 19: 1475-1486 [PMID: 20587151 DOI: 10.3727/096368910X514314]
- 49 Wang Y, Lian F, Li J, Fan W, Xu H, Yang X, Liang L, Chen W, Yang J. Adipose derived mesenchymal stem cells transplantation via portal vein improves microcirculation and ameliorates liver fibrosis induced by CCl₄ in rats. *J Transl Med* 2012; 10: 133 [PMID: 22735033 DOI: 10.1186/1479-5876-10-133]
- 50 Wang J, Zhou X, Cui L, Yan L, Liang J, Cheng X, Qiao L, Shi Y, Han Z, Cao Y, Han Y, Fan D. The significance of CD14⁺ monocytes in peripheral blood stem cells for the treatment of rat liver cirrhosis. *Cytotherapy* 2010; 12: 1022-1034 [PMID: 20849360 DOI: 10.3109/14653249.2010.515578]

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》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告, 会议纪要. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确.

急性胰腺炎并发门静脉系统血栓形成的研究进展

李爽, 张桂信, 尚东

李爽, 张桂信, 尚东, 大连医科大学附属第一医院普外科 辽宁省胆胰疾病中西医结合治疗中心 辽宁省大连市 116011

李爽, 在读博士, 主要从事胆胰疾病的微创治疗研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81373875

作者贡献分布: 本文综述由李爽完成; 张桂信与尚东审核。

通讯作者: 尚东, 教授, 主任医师, 116011, 辽宁省大连市西岗区中山路222号, 大连医科大学附属第一医院普外科。

tougao1971@163.com

电话: 0411-83635963

收稿日期: 2015-07-20 修回日期: 2015-09-09

接受日期: 2015-09-11 在线出版日期: 2015-10-08

Portal venous system thrombosis complicating acute pancreatitis

Shuang Li, Gui-Xin Zhang, Dong Shang

Shuang Li, Gui-Xin Zhang, Dong Shang, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University; Treatment Center of Traditional Chinese Medicine and Western Medicine for Pancreato-Biliary Diseases, Dalian 116011, Liaoning Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81373875

Correspondence to: Dong Shang, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, 222 Zhongshan Road, Xigang District, Dalian 116011, Liaoning Province, China. tougao1971@163.com

Received: 2015-07-20 Revised: 2015-09-09

Accepted: 2015-09-11 Published online: 2015-10-08

Abstract

Acute pancreatitis (AP) is an acute inflammatory disease of the pancreas characterized by local or systemic complications. Portal venous system thrombosis (PVT) is a relatively rare complication, which is often an incidental finding on contrast-enhanced computed tomography

(CECT) performed to assess symptoms or local complications. If clinicians focus on AP while ignoring PVT, it may have serious clinical consequences. Previous studies on PVT complicating pancreatitis focused principally on chronic pancreatitis (CP) patients. Only a few single-center studies have been reported in foreign countries, and there are rare studies in China. For PVT complicating AP, there is still controversy over whether to implement anticoagulation therapy or not, suggesting the lack of a standardized treatment. This paper aims to explore the characteristics and treatment of PVT complicating AP and reviews the literature with an aim to raise awareness of this complication.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Acute pancreatitis; Portal vein; Thrombosis; Anticoagulation therapy

Li S, Zhang GX, Shang D. Portal venous system thrombosis complicating acute pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(28): 4529-4535 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4529.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i28.4529>

摘要

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)的临床过程复杂多变, 伴有多种局部或全身并发症。门静脉系统血栓形成是其相对罕见的类型, 通常是在行增强计算机断层扫描(computed tomography, CT)评估胰腺坏死程度时偶然发现, 临床医生只注意AP的诊治, 而忽视门静脉系统血栓的形成, 以致延误病情。既往胰腺炎合并门静脉系统血栓的研究大多是

背景资料

门静脉系统血栓形成(portal venous system thrombosis, PVT)是急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)的相对罕见并发症。既往胰腺炎并发PVT多来自于慢性胰腺炎的研究, 针对AP研究较少, 其发病率尚不清楚, 而且在治疗方面, 没有一个广泛认可的治疗方案。

同行评议者

谭晓冬, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

■ 研究前沿

酒精性AP相对易并发PVT, 其确切机制尚不清楚。有的患者可以自发再通, 是否应用抗凝治疗仍有争议。

来自于慢性胰腺炎, 针对AP研究较少, 而且有文献报道其可以自发再通, 是否行抗凝治疗还存在争议, 缺少一个标准的治疗方案。本文旨在探讨AP并发门静脉系统血栓形成的临床特点及早期诊治方法, 提高临床医生对本病的认识, 为临床提供更好的诊治策略。

© 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; 门静脉; 血栓形成; 抗凝治疗

核心提示: 急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)并发门静脉系统血栓形成(portal venous system thrombosis)相对罕见, 常见于酒精性AP, 其发病基础是血管周围的直接炎症过程而不是血栓前状态和血液高凝状态。如果血栓是近期形成且没有出血倾向, 抗凝治疗是安全有效。

李爽, 张桂信, 尚东. 急性胰腺炎并发门静脉系统血栓形成的研究进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(28): 4529-4535
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4529.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i28.4529>

0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是外科常见急腹症, 是一种胰腺相关的炎症性疾病, 临床过程复杂多变, 其特点是在多种是始动因素下引起的胰腺消化酶异常激活, 对局部产生自我消化作用而引起。依据是否存在并发症和器官功能障碍持续时间, 2012年修订版亚特兰大分类标准将AP分为轻症、中重症、重症3种临床分型^[1]。大多数轻症AP临床过程轻微, 能够自愈, 但中重症及重症AP伴有多种并发症, 急性胰周液体积聚、胰腺假性囊肿、胰腺脓肿、胸腔积液、消化系漏等相对常见。门静脉系统血栓形成(portal venous system thrombosis, PVT)是相对罕见的类型, 是指门静脉、脾静脉、肠系膜上静脉的血栓形成, 单独或同时受累。由于大多数患者没有明显的临床症状或者被原有病情所掩盖, 通常是在行腹部增强CT评估胰腺坏死程度时偶然发现, 临床医生往往忽视PVT, 而只注重AP的诊治, 以致延误病情, 最终可导致肝脏衰竭、肠道缺血、脾功能亢进、食管胃底静脉曲张破裂出血等严重并发症, 甚至危及生命。既往胰腺炎并发PVT的研究大多是来自于慢性胰腺炎^[2,3], 针对AP研究较少, 而且是否行抗凝治疗还没有达成共识,

缺少一个标准的治疗方案。本文将就AP并发PVT的最新研究进展做一综述, 希望能够提高临床医生对这一并发症的认识, 为临床诊疗工作提供最佳的策略。

1 发病情况

目前针对AP并发PVT研究较少, 目前国外仅有几个单中心的研究, 发病率为1.8%-24.0%^[4-7]。由于缺乏大规模、多中心的研究, 其确切的发病率还不得而知, 但近年来发病率有逐年升高的趋势, 可能与AP诊治的规范化以及增强CT对诊断血栓形成的敏感性增高有关^[8], 尤以中重症和重症AP为主。Butler等^[9]发表的一项荟萃分析中, 胰腺炎合并脾静脉血栓形成的发病率为14.1%, 其中22.6%合并AP, 12.4%合并慢性胰腺炎。但是在我们国家, 还没有较为系统的研究, 往往以个案报道形式出现, 加上我们的诊疗实践中, 并未发现相当数量的患者, 可推知我国的发病率可能低于国外文献报道, 其原因可能如下: (1)Dörffel等^[10]报道PVT好发于酒精性AP, 而不是胆源性AP, 在欧美国家, 大量饮酒是AP的重要原因, 在男性中更为明显^[11], 而在我们国家, 酒精性胰腺炎所占的比例远低于国外, 可能是导致发病率低的一个原因; (2)多数AP患者易于明确诊断且临床过程轻微, 因此腹部增强CT不必作为常规检查^[12], 而且血栓形成早期的临床症状无特异性, 常常被AP症状所掩盖, 致使一部分患者未行此项检查而发生漏诊, 降低了报道发病率; (3)在2012年修订版亚特兰大分类标准发布之前, 对AP病情认识的不同, 病例入选标准不同, 有的是以中重症及重症AP为基础^[13], 所以国外文献报道的发病率较实际可能被估高。

2 病因和发病机制

门静脉系统容易形成血栓与其解剖特点密切相关, 其起止端均为毛细血管, 主干和较大的分支无瓣膜, 两侧压力差小, 血流速度相对缓慢, 多种局部或全身因素可导致血栓的形成^[14]。AP时腹腔内炎症可引起一过性的血栓前状态, 包括抗凝血酶III缺乏症、蛋白质C和S缺乏症^[15]。AP早期所并发的全身炎症反应综合征, 产生和释放多种炎症介质及细胞因子能够使毛细血管通透性增加, 大量血管内液体丢失在第三间隙, 引起胰周积液、腹腔积液、

胸腔积液, 是机体内液体异常分布和血液浓缩的重要原因^[16]。多种炎症细胞因子如白介素-1(interleukin-1, IL-1)、IL-6、IL-8及肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)可破坏功能完整的细胞, 发生桥联作用, 引起细胞聚集从而导致血浆黏度增加, 同时一氧化氮的过量释放可促使胰腺实质及胰腺周围血管扩张, 导致血流淤滞^[17,18]。同时白细胞过度激活产生大量氧自由基加速诱导血小板、白细胞的聚集^[19,20]。以上因素引起的血液高凝状态和血栓前状态, 既往被认为是导致AP早期门静脉系统血栓形成及加重的原因^[21]。

最新研究^[4,6,7,10]表明, AP并发PVT的主要原因是局部压迫和血管周围直接炎症过程, 而不是血栓前状态或血液高凝状态。多数患者伴有急性胰周液体聚集或胰腺坏死(伴或不伴感染), 考虑为局部积液或坏死组织对血管的直接损害, 血管痉挛、血管内膜受损、管壁增厚、管腔狭窄是导致血栓形成的主要原因。AP时易累及门静脉系统及分支, 这与胰腺和门静脉系统的解剖学关系有关。肠系膜上静脉和脾静脉在胰颈后方汇合为门静脉, 主要收集胰十二指肠上静脉、胃左静脉和胆囊静脉。脾静脉走行于胰腺背面, 主要收集胃短静脉、胰腺静脉、胃网膜左静脉和肠系膜下静脉。当局部积液或坏死组织存在时, 脾静脉是最常受累的血管。门静脉及其分支阻塞后, 可形成丰富的侧枝循环。脾静脉及门静脉远端阻塞后, 脾脏血液经胃短静脉逆流至胃底静脉网, 再经胃左、胃右静脉回流至肝脏, 引起胃黏膜下静脉扩张, 这是形成孤立性胃底静脉曲张的基础^[22]。肝炎后肝硬化引起肝内型门脉高压症, 主要表现为食管下段静脉曲张, 这是二者的不同之处^[23]。

3 临床表现

AP的临床表现和血栓形成的表现往往相混淆, 当AP引起多系统并发症时, 常常以其他合并症为主要表现, 而血栓形成的表现主要与栓子的部位、形成的缓急、受累的范围, 及有无侧枝循环等因素有关。少数表现为急性期, 起病突然, 腹痛剧烈, 很快出现肠坏死致腹膜炎等表现^[15]。大多数起病较缓和, 血栓多形成于门静脉系统主干, 呈不完全性阻塞, 当内脏静脉侧枝循环逐渐建立且管腔未完全阻塞时, 这时症状往往无特异性, 可仅有腹部不适、腹部胀痛、腹泻、

恶心、呕吐、低热、乏力等表现, 且易被AP症状所掩盖, 可持续数天或数周而不发生肠缺血坏死, 进入亚急性期。随着血栓的进展, 内脏静脉侧枝循环广泛建立, 形成门静脉海绵样变标志着进入慢性期, 此期多为门脉高压症表现, 腹水、脾大、食管胃底静脉曲张破裂出血等^[24]。

4 诊断

在PVT患者中, 可有肝功能的轻度异常、白细胞的非特异性增多, 当病情较重或合并脱水时, 表现出血液浓缩状态^[25,26]。但与AP合并存在时, 也会有上述异常, 因此常规实验室检查对诊断血栓形成的意义不大。可有蛋白质C、蛋白质S、抗凝血酶等的缺乏, 血清D-二聚体通常是升高的, 对判断血栓形成有重要意义^[27]。凝血因子V的Leiden点突变、凝血酶原G20210A突变是血栓形成的遗传易感因素^[28,29]。但最新文献报道, Rebours等^[28]对酒精性AP并发PVT的患者进行易栓症筛查, 发现胰腺局部炎症是血栓形成的主要因素, 而血栓形成倾向并不增加门静脉系统血栓形成的危险, 不推荐全面系统地易栓症筛查。静脉血栓的检出主要靠超声和影像学检查。

4.1 超声 彩色多普勒超声常作为首选, AP发展到门静脉系统栓塞需要一段时间, 开始时表现为静脉管壁增厚、管壁回声增强、管腔内径变小, 逐渐被实质性回声充填, 最后演变为门静脉系统栓塞^[30,31]。AP患者大多肠腔积气扩张, 彩超诊断血栓形成的灵敏度、特异度在66%-100%^[24]。近年来超声内镜的应用越来越普及, 超声内镜不仅能够清晰的显示胰腺实质和胰管的改变, 而且在评估门静脉系统通畅程度方面比经腹超声更加准确, 而且对食管旁和胃底的静脉曲张的诊断较为敏感^[32,33]。

4.2 增强CT 增强CT是最常用的手段, 既可以评估胰腺坏死的程度, 又可以对血管结构、管壁及邻近的肠系膜进行评估。静脉期或门脉期成像, 表现为管腔内斑点状、结节状或条柱状充盈缺损, 完全闭塞时由于管壁强化而血栓不强化表现为“双轨征”, 是确诊血栓的最可靠征象^[34]。CT血管造影(computerized tomography angiography, CTA)能够提供适当的解剖定位, 发现血管内和血管外的异常, 对小的壁内血栓和肠系膜水肿显影良好。CTA诊断PVT灵敏度、特异度可达到90%以上^[35]。

■ 相关报道

国外Rebours等对酒精性AP并发PVT患者进行易栓症筛查, 发现胰腺局部炎症是血栓形成的主要因素, 而不是血栓前状态和血液高凝状态, 不推荐全面系统地进行易栓症筛查。

■ 创新盘点

本文重点讨论了AP并发PVT的发病情况, 对我国发病率低进行了详细分析, 并且探讨了这一并发症最新诊治进展, 这类综述报告还未报道。

4.3 核磁共振成像 磁共振是诊断胰腺疾病及其周围血管走行最先进的手段, 表现为T1WI上血栓多呈高信号, 无动脉及门静脉血供, 无增强, 仅血栓周边出现增强^[36]。磁共振血管成像(magnetic resonance angiography, MRA)同CTA类似, 能够对门静脉系统血管的结构立体显示, 并能区分出是急性血栓还是慢性血栓。MRA诊断PVT的灵敏度、特异度几乎为100%^[26,37]。

5 治疗进展

5.1 针对急性胰腺炎的治疗 在治疗AP方面, 要重点突出早期补液治疗的重要性, 因为在AP早期并无器官功能衰竭及胰腺坏死, 而是以全身炎症反应综合征为特点, 产生和释放多种炎性介质及细胞因子, 引起级联效应, 导致过度的炎症反应, 血管内皮细胞通透性改变, 继而引发全身毛细血管渗漏综合征(systemic capillary leak syndrome, SCLS), 大量液体丢失于第三间隙, 此期主要表现为血流动力学改变, 因此早期补液治疗对改善患者预后具有重要意义^[38,39]。关于早期补液治疗作为有效的AP干预已经达成专家共识: 在最初12-24 h内, 密切监测的早期积极的补液对患者获益非常重要, 而入院48 h以后大量补液对患者预后几乎无影响。补液不足, 可导致血液黏滞度增加, 血流缓慢, 血液呈高凝状态, 组织缺氧可引起毛细血管内皮损伤, 从而导致血栓形成^[40]。大量快速静脉输液能够加速液体向第三间隙移动并加重全身水肿, 使腹腔压力进一步升高, 影响肺泡气体交换而加重呼吸功能不全和组织缺氧, 甚至导致腹腔室隔综合征(abdominal compartment syndrome, ACS)、急性呼吸衰竭和循环衰竭^[41]。因此, 应该遵循个体化的补液原则, 对患者的各项指标实时监测, 结合患者对治疗的反应及时调整补液量。

有文献报道^[7], AP合并门静脉系统血栓形成的自发再通率达到30%左右, 这可能与病情缓解及积液与坏死物质的吸收有关, 解除了局部的压迫和直接炎症作用, 使血栓消失, 血管再通, 穿刺引流可以缓解局部积液和坏死组织的对血管的压迫和直接炎症作用, 提示及时的穿刺引流胰周积液或坏死组织可能是预防并治疗的一个有效的方式。经皮穿刺引流和腹腔灌洗是常用的微创治疗手段, 优于开腹胰腺坏死组织清创术^[12]。

5.2 针对门静脉系统血栓的治疗 在AP病情缓解后, PVT可以自发再通^[7,42], 是否需要干预还存在争议, 缺少一个广泛认可的治疗方案来指导抗凝或溶栓治疗, 治疗上仍以个体化治疗策略为主^[43]。

在抗凝治疗方面, 低分子肝素皮下注射过渡到口服华法林是抗凝治疗的常用手段, 维持凝血酶原时间(prothrombin time, PT)在13-26 s, 国际标准化比值(international normalized ratio, INR)在2-3^[44]。Gonzalez等^[7]和Harris等^[4]报道抗凝治疗在血管再通方面没有统计学差异, 但是只要指征明确, 均提倡抗凝治疗, 并未增加出血风险。抗凝治疗的疗程一般为3-6 mo, 具体时间还要根据再通情况。欧洲肝血管疾病网络研究推荐, 早期抗凝治疗适用于非肝硬化及恶性肿瘤的急性门静脉血栓患者, 其再通率接近1/3^[45]。也有文献报道^[46], 抗凝治疗针对健康的肝脏或肝硬化的肝脏均是安全有效的。如果没有获得再通, 大部分患者将在随访中出现食管胃底静脉曲张^[47]。目前多主张如果血栓是近期形成的且没有出血倾向, 早期应用抗凝治疗安全有效, 而且不增加出血并发症的风险^[48,49]。

对于新发的血栓和抗凝无效的PVT, 溶栓是治疗急性PVT的另一种选择, 急性期溶栓治疗可以全身给药, 也可以经皮经肝穿刺门静脉插管溶栓、经颈静脉途径向门静脉分支穿刺置管溶栓、经肠系膜上动脉插管溶栓, 常用的药物是尿激酶和重组组织型纤溶酶原激活剂^[50,51]。对于机化的、难治性的、引起门静脉狭窄的血栓, 可以选择球囊成形术或支架介入^[52], 但是上述治疗在同时并发AP的患者中还未研究过。

对于因门静脉高压导致的食管胃底静脉曲张破裂出血患者, 经内镜静脉曲张硬化剂注射和套扎术的处理更为安全合理, 只有当内镜和非手术治疗无法处理的患者, 分流术才被选择。因为有较高的死亡率, 血栓摘除术目前临床不推荐应用^[15]。对于患者病情恶化, 腹膜炎加重的情况下才考虑手术治疗。脾切除术适用于因脾静脉受压或阻塞引起的门静脉高压症, 伴脾功能亢进或静脉曲张的消化系出血。有学者认为, 当胰腺炎合并脾静脉血栓时, 可以做预防性脾切除术, 但最近的研究表明, 其发生消化系出血的概率很低, 对于无症状的患者可以暂不行手术治疗^[3,35]。

6 结论

PVT是AP的一个相对罕见的并发症, 容易发生在酒精性AP患者中, 其发病基础是局部炎症, 而不是血栓前状态和血液高凝状态。腹部增强CT是重要的检查手段, 尤其对酒精性AP患者, 更要注意早期行腹部增强CT检查的重要性, 以免发生漏诊。治疗方面应注意AP早期的补液治疗, 穿刺引流胰周积液或坏死组织可能是预防并治疗血栓形成的一个有效方式, 但须指明明确。有的患者存在自发再通情况, 抗凝治疗对急性PVT有较好的治疗效果, 溶栓及手术治疗方面鲜有报道, 提出标准的治疗方案需要今后更加完善的大规模、多中心的研究。

7 参考文献

- 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]
- Agarwal AK, Raj Kumar K, Agarwal S, Singh S. Significance of splenic vein thrombosis in chronic pancreatitis. *Am J Surg* 2008; 196: 149-154 [PMID: 18585674 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2007.07.039]
- Heider TR, Azeem S, Galanko JA, Behrns KE. The natural history of pancreatitis-induced splenic vein thrombosis. *Ann Surg* 2004; 239: 876-880; discussion 880-882 [PMID: 15166967 DOI: 10.1097/01.sla.0000128685.74686.1e]
- Harris S, Nadkarni NA, Naina HV, Vege SS. Splanchnic vein thrombosis in acute pancreatitis: a single-center experience. *Pancreas* 2013; 42: 1251-1254 [PMID: 24152951 DOI: 10.1097/MPA.0b013e3182968ff5]
- Pribramska V, Vege SS, Trna J, Kamath PS, Chari ST. Natural history of splanchnic venous thrombosis in acute pancreatitis: A population-based study. *Gastroenterology* 2009; 136 Suppl 1: A-541 [DOI: 10.1016/S0016-5085(09)62486-0]
- Easler J, Muddana V, Furlan A, Dasyam A, Vippera K, Slivka A, Whitcomb DC, Papachristou GI, Yadav D. Portosplenomesenteric venous thrombosis in patients with acute pancreatitis is associated with pancreatic necrosis and usually has a benign course. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014; 12: 854-862 [PMID: 24161350 DOI: 10.1016/j.cgh.2013.09.068]
- Gonzalez HJ, Sahay SJ, Samadi B, Davidson BR, Rahman SH. Splanchnic vein thrombosis in severe acute pancreatitis: a 2-year, single-institution experience. *HPB (Oxford)* 2011; 13: 860-864 [PMID: 22081920 DOI: 10.1111/j.1477-2574.2011.00392.x]
- Trout AT, Elsayes KM, Ellis JH, Francis IR. Imaging of acute pancreatitis: prognostic value of computed tomographic findings. *J Comput Assist Tomogr* 2010; 34: 485-495 [PMID: 20657214 DOI: 10.1097/RCT.0b013e3181d344ca]
- Butler JR, Eckert GJ, Zyromski NJ, Leonardi MJ, Lillemo KD, Howard TJ. Natural history of pancreatitis-induced splenic vein thrombosis: a systematic review and meta-analysis of its incidence and rate of gastrointestinal bleeding. *HPB (Oxford)* 2011; 13: 839-845 [PMID: 22081918 DOI: 10.1111/j.1477-2574.2011.00375.x]
- Dörffel T, Wruck T, Rückert RI, Romaniuk P, Dörffel Q, Wermke W. Vascular complications in acute pancreatitis assessed by color duplex ultrasonography. *Pancreas* 2000; 21: 126-133 [PMID: 10975705]
- Stevenson K, Carter CR. Acute pancreatitis. *Surgery (Oxford)* 2013; 31: 295-303 [DOI: 10.1016/j.mpsur.2013.04.004]
- Tenner S, Baillie J, DeWitt J, Vege SS. American College of Gastroenterology guideline: management of acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 1400-1415; 1416 [PMID: 23896955 DOI: 10.1038/ajg.2013.218]
- Besselink MG. Splanchnic vein thrombosis complicating severe acute pancreatitis. *HPB (Oxford)* 2011; 13: 831-832 [PMID: 22081916 DOI: 10.1111/j.1477-2574.2011.00411.x]
- 郭俏, 徐杨. 急性感染性门静脉血栓形成的临床分析. *国际病理科学与临床杂志* 2013; 33: 300-304
- Ponziani FR, Zocco MA, Campanale C, Rinninella E, Tortora A, Di Maurizio L, Bombardieri G, De Cristofaro R, De Gaetano AM, Landolfi R, Gasbarrini A. Portal vein thrombosis: insight into physiopathology, diagnosis, and treatment. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 143-155 [PMID: 20066733 DOI: 10.3748/wjg.v16.i2.143]
- Zhang XP, Li ZJ, Zhang J. Inflammatory mediators and microcirculatory disturbance in acute pancreatitis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2009; 8: 351-357 [PMID: 19666402]
- El-Wahsh M. A case of portal vein thrombosis associated with acute cholecystitis/pancreatitis or coincidence. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2006; 5: 308-310 [PMID: 16698598]
- Zhang XP, Ye Q, Jiang XG, Ma ML, Zhu FB, Zhang RP, Cheng QH. Preparation method of an ideal model of multiple organ injury of rat with severe acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 4566-4573 [PMID: 17729407]
- Liras G, Carballo F. An impaired phagocytic function is associated with leucocyte activation in the early stages of severe acute pancreatitis. *Gut* 1996; 39: 39-42 [PMID: 8881806]
- Hackert T, Pfeil D, Hartwig W, Gebhard MM, Büchler MW, Werner J. Platelet function in acute experimental pancreatitis induced by ischaemia-reperfusion. *Br J Surg* 2005; 92: 724-728 [PMID: 15838900 DOI: 10.1002/bjs.4966]
- 孙文静, 陈东风. 胰腺炎导致门静脉系统血栓形成发病机制及其防治方法的探讨. *临床肝胆病杂志* 2010; 26: 484-486
- Wang L, Liu GJ, Chen YX, Dong HP, Wang LX. Sinistral portal hypertension: clinical features and surgical treatment of chronic splenic vein occlusion. *Med Princ Pract* 2012; 21: 20-23 [PMID: 22024761 DOI: 10.1159/000329888]
- Köklü S, Coban S, Yüksel O, Arhan M. Left-sided portal hypertension. *Dig Dis Sci* 2007; 52: 1141-1149 [PMID: 17385040 DOI: 10.1007/s10620-006-9307-x]

应用要点

本文系统的阐述了AP的这一局部并发症, 希望能够引起临床医生的重视, 注意早期应用增强CT检查, 并进行有效治疗。

■名词解释

门静脉系统血栓形成(PVT): 指门静脉、脾静脉、肠系膜上静脉的血栓形成, 单独或同时受累。门静脉系统血栓可造成门静脉阻塞, 引起门静脉压力增高、肠管淤血, 是导致门静脉高压的一个重要原因。

- 24 Chawla Y, Duseja A, Dhiman RK. Review article: the modern management of portal vein thrombosis. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 30: 881-894 [PMID: 19678814 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2009.04116.x]
- 25 Singal AK, Kamath PS, Tefferi A. Mesenteric venous thrombosis. *Mayo Clin Proc* 2013; 88: 285-294 [PMID: 23489453 DOI: 10.1016/j.mayocp.2013.01.012]
- 26 Harnik IG, Brandt LJ. Mesenteric venous thrombosis. *Vasc Med* 2010; 15: 407-418 [PMID: 20926500 DOI: 10.1177/1358863X10379673]
- 27 Kocher G, Himmelmann A. Portal vein thrombosis (PVT): a study of 20 non-cirrhotic cases. *Swiss Med Wkly* 2005; 135: 372-376 [PMID: 16106327]
- 28 Rebours V, Boudaoud L, Vullierme MP, Vidaud D, Condat B, Hentic O, Maire F, Hammel P, Ruszniewski P, Lévy P. Extrahepatic portal venous system thrombosis in recurrent acute and chronic alcoholic pancreatitis is caused by local inflammation and not thrombophilia. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1579-1585 [PMID: 22825367 DOI: 10.1038/ajg.2012.231]
- 29 Bertina RM, Koeleman BP, Koster T, Rosendaal FR, Dirven RJ, de Ronde H, van der Velden PA, Reitsma PH. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 1994; 369: 64-67 [PMID: 8164741]
- 30 Bradbury MS, Kavanagh PV, Bechtold RE, Chen MY, Ott DJ, Regan JD, Weber TM. Mesenteric venous thrombosis: diagnosis and noninvasive imaging. *Radiographics* 2002; 22: 527-541 [PMID: 12006685]
- 31 Parvey HR, Raval B, Sandler CM. Portal vein thrombosis: imaging findings. *AJR Am J Roentgenol* 1994; 162: 77-81 [PMID: 8273695]
- 32 Ginès A, Fernández-Esparrach G. Endoscopic ultrasonography for the evaluation of portal hypertension. *Clin Liver Dis* 2010; 14: 221-229 [PMID: 20682231 DOI: 10.1016/j.cld.2010.03.005]
- 33 汤茂春, 徐敏. 超声内镜在胰腺疾病诊断和介入治疗中的应用. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 994-999
- 34 Mortelé KJ, Mergo PJ, Taylor HM, Wiesner W, Cantisani V, Ernst MD, Kalantari BN, Ros PR. Peripancreatic vascular abnormalities complicating acute pancreatitis: contrast-enhanced helical CT findings. *Eur J Radiol* 2004; 52: 67-72 [PMID: 15380848 DOI: 10.1016/j.ejrad.2003.10.006]
- 35 Nadkarni NA, Khanna S, Vege SS. Splanchnic venous thrombosis and pancreatitis. *Pancreas* 2013; 42: 924-931 [PMID: 23587854 DOI: 10.1097/MPA.0b013e318287cd3d]
- 36 Tarantino L, Ambrosino P, Di Minno MN. Contrast-enhanced ultrasound in differentiating malignant from benign portal vein thrombosis in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 9457-9460 [PMID: 26327753 DOI: 10.3748/wjg.v21.i32.9457]
- 37 Cakmak O, Elmas N, Tamsel S, Demirpolat G, Sever A, Altunel E, Killi R. Role of contrast-enhanced 3D magnetic resonance portography in evaluating portal venous system compared with color Doppler ultrasonography. *Abdom Imaging* 2008; 33: 65-71 [PMID: 17440768 DOI: 10.1007/s00261-007-9229-x]
- 38 Lankisch PG, Apte M, Banks PA. Acute pancreatitis. *Lancet* 2015; 386: 85-96 [PMID: 25616312 DOI: 10.1016/s0140-6736(14)60649-8]
- 39 Mofidi R, Duff MD, Wigmore SJ, Madhavan KK, Garden OJ, Parks RW. Association between early systemic inflammatory response, severity of multiorgan dysfunction and death in acute pancreatitis. *Br J Surg* 2006; 93: 738-744 [PMID: 16671062 DOI: 10.1002/bjs.5290]
- 40 Warndorf MG, Kurtzman JT, Bartel MJ, Cox M, Mackenzie T, Robinson S, Burchard PR, Gordon SR, Gardner TB. Early fluid resuscitation reduces morbidity among patients with acute pancreatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011; 9: 705-709 [PMID: 21554987 DOI: 10.1016/j.cgh.2011.03.032]
- 41 An G, West MA. Abdominal compartment syndrome: a concise clinical review. *Crit Care Med* 2008; 36: 1304-1310 [PMID: 18379259 DOI: 10.1097/CCM.0b013e31816929f4]
- 42 Condat B, Pessione F, Helene Denninger M, Hillaire S, Valla D. Recent portal or mesenteric venous thrombosis: increased recognition and frequent recanalization on anticoagulant therapy. *Hepatology* 2000; 32: 466-470 [PMID: 10960436 DOI: 10.1053/jhep.2000.16597]
- 43 Riva N, Donadini MP, Dentali F, Squizzato A, Ageno W. Clinical approach to splanchnic vein thrombosis: risk factors and treatment. *Thromb Res* 2012; 130 Suppl 1: S1-S3 [PMID: 23026649 DOI: 10.1016/j.thromres.2012.08.259]
- 44 Keeling D, Baglin T, Tait C, Watson H, Perry D, Baglin C, Kitchen S, Makris M. Guidelines on oral anticoagulation with warfarin - fourth edition. *Br J Haematol* 2011; 154: 311-324 [PMID: 21671894 DOI: 10.1111/j.1365-2141.2011.08753.x]
- 45 Plessier A, Darwish-Murad S, Hernandez-Guerra M, Consigny Y, Fabris F, Trebicka J, Heller J, Morard I, Lasser L, Langlet P, Denninger MH, Vidaud D, Condat B, Hadengue A, Primignani M, Garcia-Pagan JC, Janssen HL, Valla D. Acute portal vein thrombosis unrelated to cirrhosis: a prospective multicenter follow-up study. *Hepatology* 2010; 51: 210-218 [PMID: 19821530 DOI: 10.1002/hep.23259]
- 46 Berzigotti A, García-Criado A, Darnell A, García-Pagán JC. Imaging in clinical decision-making for portal vein thrombosis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2014; 11: 308-316 [PMID: 24419395 DOI: 10.1038/nrgastro.2013.258]
- 47 Turnes J, García-Pagán JC, González M, Aracil C, Calleja JL, Ripoll C, Abalde JG, Bañares R, Villanueva C, Albillos A, Ayuso JR, Gilabert R, Bosch J. Portal hypertension-related complications after acute portal vein thrombosis: impact of early anticoagulation. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008; 6: 1412-1417 [PMID: 19081529 DOI: 10.1016/j.cgh.2008.07.031]
- 48 Harding DJ, Perera MT, Chen F, Olliff S, Tripathi D. Portal vein thrombosis in cirrhosis: Controversies and latest developments. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 6769-6784 [PMID: 26078553 DOI: 10.3748/wjg.v21.i22.6769]
- 49 Basit SA, Stone CD, Gish R. Portal vein thrombosis. *Clin Liver Dis* 2015; 19: 199-221 [PMID: 25454305 DOI: 10.1016/j.cld.2014.09.012]
- 50 周佳, 杨晋辉. 肝硬化非肿瘤性门静脉血栓的治疗进展. *世界华人消化杂志* 2015; 23: 735-740
- 51 Hall TC, Garcea G, Metcalfe M, Bilku D, Dennison

AR. Management of acute non-cirrhotic and non-malignant portal vein thrombosis: a systematic review. *World J Surg* 2011; 35: 2510-2520 [PMID: 21882035 DOI: 10.1007/s00268-011-1198-0]

52 Cao G, Ko GY, Sung KB, Yoon HK, Gwon DI, Kim

JH. Treatment of postoperative main portal vein and superior mesenteric vein thrombosis with balloon angioplasty and/or stent placement. *Acta Radiol* 2013; 54: 526-532 [PMID: 23463860 DOI: 10.1177/0284185113475917]

■同行评价

本文详细介绍AP并发PVT的发病情况、临床特点及诊治进展, 整体结果较好, 层次分明, 具有一定的科学性和创新性。

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 修回稿件件

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。

正加速度暴露对大鼠肠道屏障影响的研究进展

邱杰, 唐合兰, 颜伟, 葛淑静, 杨春敏

■背景资料

目前国内外已有很多研究证明正加速度暴露对飞行人员心脏、脑、肾脏、肺、胃、骨骼、肌肉等方面有显著影响, 如正加速度暴露可增加消化性溃疡的发病率并影响溃疡的愈合等, 但对于肠道影响的研究极少, 动物实验数据相对缺乏。

邱杰, 唐合兰, 颜伟, 葛淑静, 杨春敏, 中国人民解放军空军总医院东楼消化科 北京市 100142

邱杰, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 本文综述由邱杰、唐合兰、颜伟及葛淑静完成; 杨春敏审核。

通讯作者: 杨春敏, 教授, 主任医师, 100142, 北京市海淀区阜成路30号, 中国人民解放军空军总医院东楼消化科。
chunmyang9816@163.com

电话: 010-66928118

收稿日期: 2015-05-22 修回日期: 2015-08-19

接受日期: 2015-09-07 在线出版日期: 2015-10-08

Effect of positive acceleration exposure on gut barrier in rats

Jie Qiu, He-Lan Tang, Wei Yan, Shu-Jing Ge, Chun-Min Yang

Jie Qiu, He-Lan Tang, Wei Yan, Shu-Jing Ge, Chun-Min Yang, Department of Gastroenterology, East Building, General Hospital of Air Force of PLA, Beijing 100142, China
Correspondence to: Chun-Min Yang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, East Building, General Hospital of Air Force of PLA, 30 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100142, China. Chunmyang9816@163.com

Received: 2015-05-22 Revised: 2015-08-19

Accepted: 2015-09-07 Published online: 2015-10-08

Abstract

With the development of modern high-performance fighter aircrafts, the requirement of acceleration is growing faster and higher, which is far beyond the tolerance of the pilots. In the process of flight, exposure to positive acceleration (+Gz) is the most important threat to the tissues and organs of pilots. As we all know, the intestinal barrier is one of the significant barriers to prevent the endogenous pathogenic microorganisms and their toxins.

This article reviews the impact of +Gz exposure on the gut barrier with regards to the establishment of +Gz models, the detection of related parameters of the gut barrier, and the damage of +Gz to the intestine, with an aim to improve the basic research of the gastrointestinal system in aviation medicine, and the pilot's health and flight safety.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Positive acceleration; Gut barrier; Review

Qiu J, Tang HL, Yan W, Ge SJ, Yang CM. Effect of positive acceleration exposure on gut barrier in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(28): 4536-4541
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4536.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i28.4536>

摘要

现代高性能战斗机的发展特点是加速度增长快、加速度值高、持续时间长, 这远远超出了飞行员的承受能力。飞行过程中飞行员所承受的各种复杂载荷对自身各组织器官产生复杂影响, 其中正加速度(positive acceleration, +Gz)暴露对飞行员身体健康造成主要威胁。肠道屏障是机体防止内源性病原微生物及其毒素侵害的重要屏障。本文从地面+Gz模型的建立、肠道屏障相关指标的检测、+Gz对肠道的损伤机制等方面, 就+Gz暴露对肠道屏障影响的研究进展作一综述, 旨在进一步完善航空医学对于胃肠道系统方面的基础研究, 进而应用于临床, 以维护飞行员的身体健康, 提高飞行质量。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

■同行评议者

虞必光, 教授, 遵义医学院附属医院消化科; 杨贵波, 教授, 中国疾病预防控制中心性病艾滋病预防控制中心

关键词: 正加速度; 肠道屏障; 综述

核心提示: 加速度暴露可造成肠道不同程度的病理损伤, 本文主要对国内外有关正加速度暴露对肠道屏障的影响与机制的研究作一综述, 旨在进一步完善航空医学对于胃肠道系统方面的基础研究。

邱杰, 唐合兰, 颜伟, 葛淑静, 杨春敏. 正加速度暴露对大鼠肠道屏障影响的研究进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(28): 4536-4541 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4536.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i28.4536>

0 引言

肠道是机体与外界直接发生联系的组织之一。肠道不断遭受各种抗原刺激物(如食物蛋白、细菌及其降解产物等)的损伤, 所以肠道必须具有超强的抗损伤能力及阻碍各种有害物质进入机体的功能。肠道的这种屏障作用被称为肠道屏障^[1]。多种病因均可破坏肠道屏障功能, 导致肠道屏障功能障碍。随着现代高性能战斗机的不断发展, 对战斗机机动性的要求也越来越高, 这个过程中飞行员必须承受远远超出人类生理耐受力的加速度, 飞行员的健康受到了极大威胁。目前国内外有关正加速度(positive acceleration, +Gz)暴露对飞行人员心脏、脑、肾脏、肺、胃、骨骼、肌肉等方面的研究有很多^[2-11], 但对于肠道屏障方面的研究较少, 本文就国内外相关研究作一综述。

1 正加速度概念

飞行员在高空飞行时, 产生的向心加速度方向是由座舱底部到座舱盖, 同时飞行员也会受到与加速度方向相反的惯性离心力作用, 其方向由头端指向足, 航空医学中称此为+Gz。若正加速度作用时间超过1 s, 称为持续性正加速度^[12]。人体静止于地面时受到由足到头方向的地心引力, 对应惯性离心力方向则从头到足, 此时所受加速度为+1 Gz。人体可以承受的正常生理耐限为+4 Gz左右, 中高强度的加速度(+5~+7 Gz)将对机体产生轻度的损伤或应激反应, 而高强度加速度(>+7 Gz)作用于机体会导致明显的病理损伤。

2 地面模拟正加速度模型的建立

目前国内外学者多数利用动物离心机模拟加

速度暴露进行相关动物实验研究^[13-17]。动物离心机是在地面条件下模拟飞行时加速度的设备, G值增长率一般为0.5 G/s, 由计算机进行程序控制, 也可模拟出不同加速度值、增长率和作用时间。离心机转臂半径有1-2 m不等, 可根据需要调整转臂长度。实验时要用特制的固定装置承载实验动物, 将实验动物俯面固定于离心机转臂远端, 头朝向离心机轴心方向, 每只实验动物专用1个固定盒, 可根据实验条件使多只动物同时上机。实验时应特别注意以下几点: (1)环境宽敞。离心机应在宽敞环境下运行, 开启前清理周围物品, 避免碰撞, 损伤设备; (2)加速度方向准确。实验动物头端应朝向离心机轴心方向; (3)计时要准确。计时时间应在转速达到设定值时开始。

3 肠道屏障的组成

肠道屏障由机械屏障、生物屏障、化学屏障及免疫屏障组成。前三者属于肠黏膜非特异性免疫屏障, 后者为肠黏膜的特异性免疫屏障^[18]。其中机械屏障及免疫屏障为目前研究热点。

机械屏障由肠黏膜上皮细胞、上皮细胞侧面的细胞连接、上皮基膜及上皮表面的菌膜组成, 可防止肠腔的大分子物质向肠壁渗透、肠壁固有层的物质进入肠腔, 与肠黏膜通透性有关, 是肠道屏障的结构基础。肠黏膜上皮细胞包括潘式细胞、杯状细胞、吸收细胞, 上皮细胞参与紧密连接复合体的构成^[19]、细菌的吞噬、防御素及溶菌酶的分泌^[20]、肠黏膜表面黏液凝胶层的形成^[21]等。肠黏膜间的细胞连接包括紧密连接(tight junction)和黏着连接(adherens junction)。黏着连接主要作用是调节细胞间联系, 起细胞识别作用, 不直接参与屏障功能^[22]。紧密连接是维持肠道机械屏障的重要组成部分, 主要包括闭锁蛋白Occludin、Claudin家族和ZO-1、ZO-2等^[23]。

免疫屏障由肠相关淋巴组织(gut-associated lymphoid tissue, GALT)及肠黏膜表面的主要体液免疫成分-分泌性免疫球蛋白(secretory IgA, sIgA)组成, GALT包括派伊氏结、黏膜淋巴集合体、弥散黏膜淋巴组织以及免疫细胞, 其中免疫细胞包含上皮内淋巴细胞(intraepithelial lymphocyte, IEL)和固有层淋巴细胞(lamina propria lymphocyte, LPL)等^[24]。肠道免疫屏障对肠道黏膜表面的抗原具有摄

■ 研究前沿

飞行员在飞行过程中必须承受远远超出人类生理耐受力的加速度, 飞行员的健康受到了极大威胁, 如何做好飞行员肠道防护, 为飞行员保驾护航, 将成为航空航天医学研究热点。

■ 相关报道

赵锐等归纳概括了+Gz暴露可增加消化性溃疡的发病率并影响溃疡愈合的机制, 完善了航空医学胃肠道系统的研究。

取、处理、呈递作用, 是迄今为止动物和人类最重要的屏障之一^[25-27]。

生物屏障即肠道菌群, 包括肠道厌氧菌、需氧菌及兼性厌氧菌, 绝大多数为厌氧菌。厌氧菌紧贴于肠腔黏膜, 比较稳定, 称为膜菌群。其余细菌游离于肠腔内, 称为腔菌群^[28]。肠道菌群之间相互依赖、相互作用, 形成一个多层次的生物屏障, 共同维持肠道微生态的稳定。

化学屏障包括胃酸、胆汁、溶菌酶、黏多糖、水解酶等, 具有化学杀菌作用。

4 肠道屏障检测的相关指标

4.1 机械屏障 目前检测方法有很多: 肠黏膜通透性检测(乳果糖和甘露醇的比值法、核素探针法、聚合酶链反应技术检测外周血中DNA片段)、肠黏膜形态学检测(镜下观察肠黏膜形态结构的变化)、血液指标检测(血浆二胺氧化酶、D-乳酸定量)^[29-33]。限于实验条件及实验过程本身的可操作性, 肠黏膜形态学检测及血液指标检测应用更为广泛, 操作简便, 准确性高。

4.2 免疫屏障 目前常用的检测方法有: IEL计数; 固有层巨噬细胞表达水平的测定; sIgA表达水平的测定; 防御素水平测定等^[34-37]。

4.3 生物屏障 目前常用粪便细菌培养、粪便球杆菌比例检查等, 检测血液中肠源性细菌也可间接反映肠道屏障功能。

4.4 化学屏障 有关肠道化学屏障的检测研究较少, 肠道pH值检测、溶菌酶基因检测等可用于化学屏障的检测。

5 +Gz对肠黏膜屏障的影响

肠屏障功能障碍的定义为各种原因引起的肠黏膜损伤、萎缩, 肠通透性增加, 肠菌群失调, 从而导致细菌和/或内毒素移位, 形成肠源性内毒素血症, 并可诱发和/或加重全身炎症反应和多器官功能障碍^[38]。实验研究^[39]表明, 加速度刺激可影响肠道血流, 表现为肠系膜血管收缩, 微血管开放, 部分血管内空虚, 呈节段分离。另外加速度还可削弱肠道的内分泌功能, 影响肠道的运动、营养等^[40,41], 造成肠绒毛萎缩, 稀疏、低矮, 隐窝变浅, 形状不规则, 绒毛间排列杂乱, 大量炎性细胞浸润等不同程度的病理损伤, 破坏细胞间紧密连接, 使肠道通透性增加, 损伤肠黏膜机械屏障。加速度暴露下肠上皮细胞变性、坏死、脱落, 肠黏膜固有层

浆细胞数量和质量下降, B淋巴细胞分泌免疫球蛋白减少, 黏膜面sIgA含量的下降, 削弱肠黏膜免疫屏障^[42]。另外, 消化系发生的各种功能和形态学改变对肠道益生菌产生不利影响, 由于肠道蠕动变慢, 肠内腐败菌过度增殖, 乳酸菌生长受到抑制, 使肠道pH值升高, 同时大量病原微生物及毒素通过肠壁释放入血, 引起菌群移位, 肠道内环境紊乱, 微生态失调^[43], 肠道生物屏障、化学屏障均遭到破坏。总之, 加速度刺激下肠道各个屏障均受到不同程度的损伤, 使肠道自我保护能力下降, 造成肠道功能紊乱, 甚至可导致菌血症、全身炎症反应综合征等, 严重威胁着飞行员的身体健康及飞行质量。

6 加速度损伤肠黏膜屏障的机制

目前+Gz对肠黏膜屏障造成损伤的机制尚未阐明, 本文主要从机械屏障及免疫屏障两个方面作一分析汇总。

6.1 +Gz对肠道机械屏障的损伤

6.1.1 肠缺血-再灌注损伤: 缺血再灌注损伤是指各种原因导致组织器官缺血时, 引起细胞代谢障碍和组织结构出现破坏, 当血供恢复时, 组织及细胞损伤反而出现加重的现象^[44]。小肠对缺血再灌注损伤极为敏感。在飞行过程中, 飞行员受到惯性离心力的方向由头端指向足, 导致组织及血液的移位, 实验和临床研究都证明, 严重创伤和失血性休克患者体循环灌流恢复以后, 胃肠道等内脏器官仍处于低灌流状态^[45], 从而导致持续的高剂量+Gz暴露下飞行员胃肠黏膜出现缺血、缺氧^[46]等损伤。肠黏膜血流量减少引起肠上皮细胞内氧供量减少, 氧耗量增加, 当超过上皮细胞的代偿能力时, 细胞内即出现厌氧代谢、酸中毒、肠黏膜内pH减低, 从而导致肠上皮细胞损害^[47], 而当肠黏膜血流发生再灌注时, 一氧化氮生成增多, 高浓度一氧化氮会破坏细胞内支架, 使细胞间紧密连接松弛, 肠黏膜通透性增加; 同时, 激活的中性粒细胞释放大蛋白酶、氧自由基等, 与其他炎性介质结合, 损伤核酸及蛋白质, 进一步造成肠黏膜损伤^[48]。肠黏膜发生缺血再灌注损伤时的病理特征为: 广泛的上皮与绒毛分离, 上皮坏死, 固有层破坏, 出血及溃疡形成。以上种种损害性因素最终导致肠道机械屏障破坏, 通透性增高, 使大分子物质及细菌等得

以侵入体内。

6.1.2 肠源性内毒素血症: 高水平的+Gz刺激下, 飞行员处于应激状态, 肠道受到缺血、缺氧、感染等打击, 肠黏膜机械屏障受损, 肠道细菌大量繁殖, 并产生大量内毒素, 穿透受损肠壁进入血液循环, 形成肠源性内毒素血症^[49]。内毒素是革兰阴性菌胞壁的脂多糖部分, 其致病作用与脂质A有关。内毒素比细菌分子质量更小, 更易穿过肠黏膜屏障。内毒素一方面可刺激单核-巨噬细胞系统, 直接引起肠黏膜水肿、糜烂、溃疡和出血, 另一方面, 内毒素还是炎症级联反应最重要的触发剂, 可引起肿瘤坏死因子、血小板活化因子及白介素等多种炎症介质和细胞因子释放, 造成多种组织和器官损害, 形成恶性循环, 增加肠壁通透性, 进一步促使肠源性内毒素血症的发生^[50]。

6.1.3 肠黏膜营养缺乏: 谷氨酰胺(glutamine, Gln)是一种条件必需氨基酸, 不仅是肠黏膜细胞代谢活动的主要能源, 更是肠黏膜上皮的生长、修复和维持肠黏膜结构完整性所不可缺少的特殊氨基酸^[51]。文献[52-54]报道Gln能明显改善肠道血流量, 减轻缺血再灌注损伤, 增强肠道免疫功能。飞行员在应激状态下, 对Gln利用量增加, 使机体相对缺乏Gln。Gln的相对缺乏, 可使肠道绒毛上皮脱落、绒毛高度降低、黏膜萎缩、隐窝变浅, 毛细血管充血^[55], 进而使肠黏膜通透性增高, 机械屏障遭到破坏。

6.2 +Gz对肠道免疫屏障的损伤 肠黏膜免疫屏障以sIgA介导的体液免疫为主, 细胞毒性介导的细胞免疫为辅, 是机体防止感染的第一道防线。sIgA是体内分泌量最多的免疫球蛋白。肠道处于+Gz应激状态下, 除了肠黏膜缺血、缺氧及肠黏膜谷氨酰胺相对缺乏外, 还可从以下几方面影响肠黏膜免疫屏障。

6.2.1 糖皮质激素应激性升高: +Gz下致糖皮质激素应激性升高, 研究^[56,57]证明, 糖皮质激素可致固有层浆细胞数量下降, B淋巴细胞分泌sIgA量下降, 被sIgA包裹的革兰阴性杆菌数量减少, 进而影响肠黏膜免疫屏障。

6.2.2 肠道细菌微生态失衡: 近年来国内外很多文献报道了肠道微生物群对肠黏膜免疫系统的重要作用^[58-61]。肠道益生菌有免疫佐剂作用, 可活化肠黏膜相关淋巴组织, 使sIgA分泌量增加, 此外, 益生菌可增强肠道上皮细胞的功能及活性, 促使CD8⁺ T细胞的增加, 增强肠道的

免疫屏障。飞行员在飞行过程中, 肠道机械屏障受损, 肠道内微生物群平衡失调, 发生菌群移位, 进而影响肠道免疫屏障。

7 结论

+Gz暴露可从多方面对肠道屏障造成损伤, 肠道屏障受损, 不仅导致肠道消化吸收功能障碍, 严重者还会出现多器官功能障碍综合征。慢性胃肠病在飞行员中发病率及住院率都很高, 很大程度上影响了飞行员的飞行质量。业已证明+Gz暴露可增加消化性溃疡的发病率并影响溃疡的愈合^[62-64], 但+Gz暴露对于肠道影响的研究极少, 动物实验数据相对缺乏。就+Gz暴露对肠道屏障损伤的机制及如何减轻+Gz暴露对肠道屏障的损伤, 仍需不断探索, 进而指导临床, 为飞行员做好肠道防护, 提高飞行安全性。

8 参考文献

- 肖献忠. 病理生理学. 第2版. 高等教育出版社, 2008: 236
- MacKenzie WF, Burton RR, Butcher WI. Cardiac pathology associated with high sustained +Gz: II. Stress cardiomyopathy. *Aviat Space Environ Med* 1976; 47: 718-725 [PMID: 971157]
- 周瑛. Gz重复暴露对大鼠心室肌形态及Cx43蛋白的影响. 西安: 第四军医大学, 2007
- Wu B, Xie BS, You GX, Liu XH, Lu SQ, Huang WF. [Effects of +Gx load on energy metabolism of brain tissue in rats]. *Space Med Med Eng (Beijing)* 2002; 15: 406-409 [PMID: 12622074]
- Kotovskaya AR, Vil-Viliams IF. +Gx-tolerance following one-year real and simulated microgravity. *Physiologist* 1992; 35: S208-S209 [PMID: 1589507]
- 吴斌, 刘兴华, 阙广捍, 田向东, 赵德明, 姜世忠. 高Gx作用对猴肺脏的病理学影响. *航天医学与医学工程杂志* 2004; 17: 397-401
- Alikhani M, Khoo E, Alyami B, Raptis M, Salgueiro JM, Oliveira SM, Boskey A, Teixeira CC. Osteogenic effect of high-frequency acceleration on alveolar bone. *J Dent Res* 2012; 91: 413-419 [PMID: 22337699 DOI: 10.1177/0022034512438590]
- 史斌, 张洪义. 高正加速度对消化系统功能影响的研究进展. *解放军医学院学报* 2014; 35: 197-199
- 徐志鹏, 孙喜庆, 刘挺松, 吴斌, 张舒, 吴萍. 模拟飞船应急返回时高Gx对大鼠学习记忆功能的影响. *航天医学与医学工程* 2005; 18: 1-5
- 施生根, 汤楚华, 张建中, 牛忠英, 李冬. 高正加速度环境对猴翼外肌c-jun表达的影响. *中国组织工程研究与临床康复* 2007; 36: 7199-7202
- 佟文革, 姜丽萍, 姚萍, 吕士杰. 正、负加速度交替急性大鼠脑组织NO、NOS及血浆ET的含量变化. *西北国防医学杂志* 2003; 24: 325-327
- 耿喜臣, 颜桂定, 金朝. 航空加速度生理学的研究与应用. *航空军医* 2004; 32: 186-189
- Kim HS, Kim YW. Expression of phosphorylated extracellular signal-regulated kinase in rat kidneys exposed to high +Gz. *Bosn J Basic Med Sci* 2012; 12: 269-272 [PMID: 23198944]

■创新盘点

本文从地面+Gz模型的建立、肠道屏障相关指标的检测、正加速度对肠道的损伤机制等方面, 就+Gz暴露对肠道屏障影响的研究进展作一综述。

应用要点

飞行过程中, 可从保护肠黏膜屏障的角度出发, 降低飞行员胃肠疾病发病率, 为飞行员保驾护航。

- 14 Glaister DH, Jöbsis-VanderVliet FF. A near-infrared spectrophotometric method for studying brain O₂ sufficiency in man during +Gz acceleration. *Aviat Space Environ Med* 1988; 59: 199-207 [PMID: 2833216]
- 15 刘红巾, 蔡庆, 纪桂英, 姜建东, 占志, 朱美财. 不同持续高GZ作用下大鼠脑细胞凋亡及bcl-2、p53的表达. *中华航空航天医学杂志* 2000; 11: 141-144
- 16 邵颖颖. 正加速度暴露加重大鼠胃黏膜损伤的氧自由基机制及防治研究. 张家口: 河北北方学院, 2014
- 17 范勤, 陈英, 李静, 杨春敏. 正加速度暴露对大鼠应激性胃黏膜损伤和血浆EGF、CGRP的影响. *胃肠病学和肝病杂志* 2014; 23: 509-512
- 18 Bischoff SC, Barbara G, Buurman W, Ockhuizen T, Schulzke JD, Serino M, Tilg H, Watson A, Wells JM. Intestinal permeability--a new target for disease prevention and therapy. *BMC Gastroenterol* 2014; 14: 189 [PMID: 25407511 DOI: 10.1186/s12876-014-0189-7]
- 19 武金宝, 王继德, 张亚历. 肠黏膜屏障研究进展. *世界华人消化杂志* 2003; 11: 619-623
- 20 方文慧, 姚咏明, 施志国, 盛志勇. 肠源性防御素与肠道天然免疫. *解放军医学杂志* 2000; 25: 463-466
- 21 Mantis NJ, Cheung MC, Chintalacharuvu KR, Rey J, Corthésy B, Neutra MR. Selective adherence of IgA to murine Peyer's patch M cells: evidence for a novel IgA receptor. *J Immunol* 2002; 169: 1844-1851 [PMID: 12165508]
- 22 钮凌颖, 李宁. 肠上皮细胞的紧密连接与肠道疾病. *肠外与肠内营养* 2009; 16: 51-54
- 23 Costantini TW, Deree J, Loomis W, Putnam JG, Choi S, Baird A, Eliceiri BP, Bansal V, Coimbra R. Phosphodiesterase inhibition attenuates alterations to the tight junction proteins occludin and ZO-1 in immunostimulated Caco-2 intestinal monolayers. *Life Sci* 2009; 84: 18-22 [PMID: 18992758 DOI: 10.1016/j.lfs.2008.10.007]
- 24 谢天宇, 胡红莲, 高民. 肠黏膜免疫屏障及其保护措施. *动物营养学报* 2014; 26: 1157-1163
- 25 Macpherson AJ, McCoy KD, Johansen FE, Brandtzaeg P. The immune geography of IgA induction and function. *Mucosal Immunol* 2008; 1: 11-22 [PMID: 19079156 DOI: 10.1038/mi.2007.6]
- 26 赵允召, 李维勤, 王新波, 任建安, 黎介寿. 不同营养支持及手术应激对肠道黏膜免疫功能的影响. *肠外与肠内营养* 2003; 10: 131-133
- 27 刘文跃. 小儿急性肠梗阻肠黏膜免疫屏障损伤及细菌移位的研究. 太原: 山西医科大学, 2011
- 28 李钢. 肠黏膜屏障的现代概念. 第九届全国中西医结合普通外科学术交流会暨胆道胰腺疾病新进展学习班论文汇编, 2005
- 29 杨加玲, 顾明. 过度训练对大鼠小肠黏膜机械屏障的影响及谷氨酰胺的干预作用. *中国运动医学杂志* 2011; 30: 345-349
- 30 Clausen MR, Bonnén H, Tvede M, Mortensen PB. Colonic fermentation to short-chain fatty acids is decreased in antibiotic-associated diarrhea. *Gastroenterology* 1991; 101: 1497-1504 [PMID: 1955116]
- 31 Barboza Junior MS, Silva TM, Guerrant RL, Lima AA. Measurement of intestinal permeability using mannitol and lactulose in children with diarrheal diseases. *Braz J Med Biol Res* 1999; 32: 1499-1504 [PMID: 10585631]
- 32 李成林. 模拟失重大鼠肠黏膜机械屏障与免疫屏障的影响. 重庆: 第三军医大学, 2008
- 33 杨建荣, 宋怀宇, 姜春华, 陈秋虹, 黄钧, 黄云花, 梁列新, 邓永青. 高效液相色谱-蒸发光散射法测定人肠黏膜通透性的方法学及其临床应用研究. *广西医学* 2009; 31: 1751-1755
- 34 Lepidi H, Fenollar F, Gerolami R, Mege JL, Bonzi MF, Chappuis M, Sahel J, Raoult D. Whipple's disease: immunospecific and quantitative immunohistochemical study of intestinal biopsy specimens. *Hum Pathol* 2003; 34: 589-596 [PMID: 12827613]
- 35 Chen LW, Hsu CM, Huang JK, Chen JS, Chen SC. Effects of bombesin on gut mucosal immunity in rats after thermal injury. *J Formos Med Assoc* 2000; 99: 491-498 [PMID: 10925556]
- 36 李杭, 吴国豪, 陈吉. 胰高糖素样肽2对肠道缺血再灌注小鼠黏膜免疫变化的影响. *中华胃肠外科杂志* 2006; 9: 67-70
- 37 郭翠滨, 李明. 防御素与肠道疾病的关系. *广东药学院学报* 2014; 30: 788-791
- 38 Deitch EA, Xu D, Kaise VL. Role of the gut in the development of injury- and shock induced SIRS and MODS: the gut-lymph hypothesis, a review. *Front Biosci* 2006; 11: 520-528 [PMID: 16146750]
- 39 赵尊尧, 黄玉玺, 刘军鹰. 正加速度对兔眼球结膜、肠系膜、皮肤与软脑膜微循环影响及其意义. *航天医学与医学工程* 1990; 3: 184-186
- 40 Arnold R, Frank M, Simon B, Eissele R, Koop H. Adaptation and renewal of the endocrine stomach. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1992; 193: 20-27 [PMID: 1290054]
- 41 Tache Y. Brainstem neuropeptides and vagal protection of the gastric mucosal against injury: role of prostaglandins, nitric oxide and calcitonin-gene related peptide in capsaicin afferents. *Curr Med Chem* 2012; 19: 35-42 [PMID: 22300074 DOI: 10.2174/092986712803414097]
- 42 Kossmehl P, Shakibaei M, Cogoli A, Infanger M, Curcio F, Schönberger J, Eilles C, Bauer J, Pickenhahn H, Schulze-Tanzil G, Paul M, Grimm D. Weightlessness induced apoptosis in normal thyroid cells and papillary thyroid carcinoma cells via extrinsic and intrinsic pathways. *Endocrinology* 2003; 144: 4172-4179 [PMID: 12933692]
- 43 Nikawa T, Ishidoh K, Hirasaka K, Ishihara I, Ikemoto M, Kano M, Kominami E, Nonaka I, Ogawa T, Adams GR, Baldwin KM, Yasui N, Kishi K, Takeda S. Skeletal muscle gene expression in space-flown rats. *FASEB J* 2004; 18: 522-524 [PMID: 14715702]
- 44 王爱丽, 牛琼, 刘成霞, 贾兴芳, 连海峰. 谷氨酰胺对大鼠肠缺血再灌注损伤的作用. *中国病理生理杂志* 2014; 30: 1703-1707
- 45 Wang P, Hauptman JG, Chaudry IH. Hemorrhage produces depression in microvascular blood flow which persists despite fluid resuscitation. *Circ Shock* 1990; 32: 307-318 [PMID: 2289304]
- 46 陈璐. Gz暴露对大鼠实验性胃溃疡愈合的影响及机制研究. 合肥: 安徽医科大学, 2014
- 47 Taylor CT, Colgan SP. Hypoxia and gastrointestinal disease. *J Mol Med (Berl)* 2007; 85: 1295-1300 [PMID: 18026919 DOI: 10.1007/s00109-007-0277-z]
- 48 Mitsuoka H, Schmid-Schönbein GW. Mechanisms for blockade of in vivo activator production in the ischemic intestine and multi-organ failure. *Shock* 2000; 14: 522-527 [PMID: 11092684]
- 49 杨丽娜. 肠缺血再灌注损伤与肠源性细菌/内毒素移

- 位. 中国血液流变学杂志 2011; 21: 370-373
- 50 Cinel I, Avlan D, Cinel L, Polat G, Atici S, Mavioglu I, Serinol H, Aksoyek S, Oral U. Ischemic preconditioning reduces intestinal epithelial apoptosis in rats. *Shock* 2003; 19: 588-592 [PMID: 12785017 DOI: 10.1097/01.shk.0000055817.40894.84]
- 51 刘小雄. 谷氨酰胺对体外循环患者肠道保护作用的临床研究. 南昌: 南昌大学, 2006
- 52 余斌, 汪仕良, 黎鳌. 谷氨酰胺在烧伤早期肠道营养中作用机制及其效果研究. 第三军医大学学报 1994; 16: 22-25
- 53 Quan ZF, Yang C, Li N, Li JS. Effect of glutamine on change in early postoperative intestinal permeability and its relation to systemic inflammatory response. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1992-1994 [PMID: 15222054]
- 54 Tian J, Hao L, Chandra P, Jones DP, Williams IR, Gewirtz AT, Ziegler TR. Dietary glutamine and oral antibiotics each improve indexes of gut barrier function in rat short bowel syndrome. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009; 296: G348-G355 [PMID: 19095767 DOI: 10.1152/ajpgi.90233.2008]
- 55 Rao XP, Zhu LQ, Lian HH. [Protective effects of glutamine on the intestinal mucosal barrier in young rabbits under hemorrhagic shock]. *Zhongguo Dangdai Erke Zazhi* 2006; 8: 66-70 [PMID: 16522245]
- 56 钟世顺. 肠黏膜屏障功能障碍与双歧杆菌. 国外医学·生理·病理科学与临床分册 2003; 23: 432-435
- 57 戈娜, 袁慧. 肠道免疫屏障功能损伤的研究进展. 广东畜牧兽医科技 2008; 33: 9-11
- 58 Ouwehand A, Isolauri E, Salminen S. The role of the intestinal microflora for the development of the immune system in early childhood. *Eur J Nutr* 2002; 41 Suppl 1: I32-I37 [PMID: 12420114 DOI: 10.1007/s00394-002-1105-4]
- 59 李树鹏, 赵献军. 益生菌与机体免疫作用研究进展. 家畜生态 2004; 25: 134-138
- 60 Dogi CA, Galdeano CM, Perdígón G. Gut immune stimulation by non pathogenic Gram(+) and Gram(-) bacteria. Comparison with a probiotic strain. *Cytokine* 2008; 41: 223-231 [PMID: 18248820 DOI: 10.1016/j.cyto.2007.11.014]
- 61 de Moreno de LeBlanc A, Chaves S, Carmuega E, Weill R, Antoine J, Perdígón G. Effect of long-term continuous consumption of fermented milk containing probiotic bacteria on mucosal immunity and the activity of peritoneal macrophages. *Immunobiology* 2008; 213: 97-108 [PMID: 18241694 DOI: 10.1016/j.imbio.2007.07.002]
- 62 陈璐, 陈英, 范勤, 韩全利, 唐合兰, 李静, 杨春敏. 持续正加速度对实验性大鼠胃溃疡愈合质量的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1841-1846
- 63 赵锟, 杨春敏, 陈英, 李静, 唐合兰. 正加速度对大鼠实验性胃溃疡愈合质量影响的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22: 1359-1364
- 64 赵锟, 范勤, 陈英, 李静, 唐和兰, 贾敏, 王建昌, 杨春敏. 正加速度暴露对实验性胃溃疡大鼠胃黏膜血流的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22: 3947-3952

同行评价

本文主要综述了+Gz对肠道机械屏障、免疫屏障的影响,这方面的研究相对较少,对从事航空医学领域研究人员有一定的参考价值。

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



小柴胡汤对肝郁脾虚型FD大鼠Ghrelin和胃排空的影响

钟欢, 郁保生, 邹旭峰, 戴维, 刘未艾, 葛君芸, 刘密, 常小荣

■背景资料

在传统中医学理论体系中功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)属“胃痞”、“胃脘痛”的范畴。中医认为肝主疏泄, 条畅气机, 若情志不畅则肝失调达, 久则横逆犯脾, 肝木脾土失调则表现为胃脘部症状, 其发病机制与现代医学所述之脑肠轴有一定的相似之处, 而临床应用小柴胡汤治疗FD疗效独特。但由于作用机制研究较少使得临床推广应用受到极大限制, 因此, 探讨小柴胡汤治疗FD作用机制, 为临床推广应用提供有力的依据显得十分重要。

钟欢, 刘未艾, 葛君芸, 刘密, 常小荣, 湖南中医药大学针灸推拿学院 湖南省长沙市 410007
 郁保生, 邹旭峰, 戴维, 湖南中医药大学中医学学院 湖南省长沙市 410007

钟欢, 在读博士, 主要从事针灸治病机制的研究。

长沙市科技计划项目, No. K1308046-31

作者贡献分布: 钟欢与郁保生对此文所作贡献均等; 此课题由郁保生与常小荣设计; 研究过程由钟欢、邹旭峰、戴维、刘未艾及葛君芸共同完成; 数据分析由钟欢、刘未艾及刘密完成; 论文写作由钟欢与郁保生完成。

通讯作者: 郁保生, 教授, 410007, 湖南省长沙市岳麓区学士路300号含浦科教园, 湖南中医药大学中医学学院。

ybs1955@126.com

电话: 0731-88458217

收稿日期: 2015-07-27 修回日期: 2015-08-31

接受日期: 2015-09-08 在线出版日期: 2015-10-08

Effect of Xiaochaihu decoction on expression of Ghrelin and gastrointestinal motility in functional dyspepsia rats with syndrome of liver stagnation and spleen deficiency

Huan Zhong, Bao-Sheng Yu, Xu-Feng Zou, Wei Dai, Wei-Ai Liu, Jun-Yun Ge, Mi Liu, Xiao-Rong Chang

Huan Zhong, Wei-Ai Liu, Jun-Yun Ge, Mi Liu, Xiao-Rong Chang, College of Acu-moxibustion and Massage, Hu'nan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, Hu'nan Province, China

Bao-Sheng Yu, Xu-Feng Zou, Wei Dai, College of Traditional Chinese Medicine, Hu'nan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, Hu'nan Province, China

Supported by: Science and Technology Planning Project of Changsha, No. K1308046-31

Correspondence to: Bao-Sheng Yu, Professor, College of Traditional Chinese Medicine, Hu'nan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, 300 Xueshi Road, Science Park of Hanpu, Hu'nan Province, China. ybs1955@126.com

Received: 2015-07-27 Revised: 2015-08-31

Accepted: 2015-09-08 Published online: 2015-10-08

Abstract

AIM: To observe the influence of Xiaochaihu decoction on the expression of Ghrelin and gastrointestinal motility in functional dyspepsia (FD) rats with syndrome of liver stagnation and spleen deficiency and explore the possible mechanism for Xiaochaihu decoction to treat FD.

METHODS: Sixty SD rats were randomly divided into five groups: a blank group, a model group, a Xiaochaihu decoction group, a Xiaoyaosan group and a domperidone group, with 12 rats in each group. After 14 d of treatment, gastric emptying was measured, and the expression of Ghrelin in the hypothalamus, spinal cord, gastric antrum, and colon was detected by Western blot.

RESULTS: The gastric emptying rates in the Xiaochaihu decoction group, Xiaoyaosan group and domperidone group were significantly higher than that of the model group ($P < 0.01$), while the expression of Ghrelin was significantly higher than that of the model group ($P < 0.01$, $P < 0.05$, $P < 0.01$); there were also significant differences between the Xiaoyaosan group and Xiaochaihu group.

CONCLUSION: Xiaochaihu decoction, similar to domperidone, could promote the gastric emptying by increasing the expression of Ghrelin in the tissue; this might be one of the mechanisms of action of Xiaochaihu decoction in FD.

■同行评议者

牛英才, 研究员, 齐齐哈尔医学院医药科学研究所

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Xiaochaihu decoction; Functional Dyspepsia; Ghrelin; Gastric emptying; Liver stagnation and spleen deficiency model

Zhong H, Yu BS, Zou XF, Dai W, Liu WA, Ge JY, Liu M, Chang XR. Effect of Xiaochaihu decoction on expression of Ghrelin and gastrointestinal motility in functional dyspepsia rats with syndrome of liver stagnation and spleen deficiency. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(28): 4542-4547 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4542.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i28.4542>

摘要

目的: 观察小柴胡汤对肝郁脾虚型功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)模型大鼠脑、脊髓、胃肠组织中胃促生长素(Ghrelin)及胃排空的影响, 探讨小柴胡汤治疗FD的可能机制。

方法: 60只清洁级SD大鼠随机分为空白组、模型组、小柴胡汤组、逍遥散组和多潘立酮组5组, 每组12只, 分组治疗14 d后行胃排空实验并计算胃残留率, Western blot法检测下丘脑、脊髓、胃窦、结肠组织Ghrelin蛋白的表达。

结果: 小柴胡汤组、多潘立酮组胃残留率明显低于模型组($P<0.01$); 小柴胡汤组、逍遥散组、多潘立酮组下丘脑、脊髓、胃Ghrelin蛋白表达显著高于模型组; 3组间比较小柴胡汤组效果明显优于逍遥散组($P<0.01$), 但与多潘立酮组相比无显著差异。

结论: 小柴胡汤组能和多潘立酮组一样通过增加组织中Ghrelin蛋白的表达, 从而达到促进胃排空的作用, 这可能是小柴胡汤治疗肝郁脾虚型消化不良的可能机制之一。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 小柴胡汤; 功能性消化不良; 胃促生长素; 胃排空; 肝郁脾虚

核心提示: 本文通过分析发现小柴胡汤组能和多潘立酮组一样通过增加组织中胃促生长素(Ghrelin)蛋白的表达, 从而达到促进胃排空的作用。另外, 小柴胡汤可能存在着有别于中枢-外周的促胃排空的模式, 但具体机制尚需更深入的研究。

钟欢, 郁保生, 邹旭峰, 戴维, 刘未艾, 葛君芸, 刘密, 常小荣. 小柴胡汤对肝郁脾虚型FD大鼠Ghrelin和胃排空的影响. *世界华人消化杂志* 2015; 23(28): 4542-4547 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4542.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i28.4542>

0 引言

罗马III标准将功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)定义为存在一种或多种起源于胃或十二指肠区域的消化不良症状, 包括餐后饱胀感、上腹部疼痛、上腹部烧灼感等, 并且缺乏能解释这些症状的任何器质性、系统性或代谢性疾病的证据, FD表现复杂, 常为上述多种症状的重叠交叉, 且病情反复发作、缠绵难愈^[1,2]。现代研究^[3]发现, 精神心理因素是FD最重要的病因, 许多FD患者伴有不同程度的焦虑、抑郁等情绪障碍的表现。精神心理因素可引起患者特定区域的中枢神经系统功能紊乱, 进而影响肠神经系统引发胃肠道症状。在传统中医学理论体系中FD属“胃痞”、“胃脘痛”的范畴, 而临床辨证论治多以肝郁脾虚为主, 中医认为肝主疏泄, 条畅气机, 若情志不畅则肝失调达, 久则横逆犯脾, 肝木脾土失调则表现为胃肠道的症状, 与现代医学所述之脑肠轴有一定的相似之处^[4]。中医临床中对于肝郁脾虚型FD, 运用经方小柴胡汤有着独特的疗效, 然而运用基础实验来验证小柴胡汤治疗FD作用机制却少有报道, 极大限制了临床经方的应用, 因此运用基础实验对小柴胡汤治疗FD做一客观评价显得十分重要。本课题组在前期研究^[5,6]的基础上, 运用小柴胡汤干预肝郁脾虚型FD模型大鼠, 并和多潘立酮、逍遥散相对照, 旨在观察小柴胡汤对肝郁脾虚型FD大鼠各组织中胃促生长素(Ghrelin)蛋白表达及胃排空的影响。从而探讨小柴胡汤临床治疗FD的可能作用机制, 为临床扩大小柴胡汤的应用提供必要的参考依据。

1 材料和方法

1.1 材料 60只清洁级SD健康大鼠, 鼠龄3-4 mo, 雌雄均等, 体质量170-220 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)2014-0004。饲养温度20℃-25℃, 相对湿度50%-70%。

TS-92摇床购自其林贝尔; TGL-18R台式冷冻离心机购自深圳黑马; DYCZ-24EN电泳

■ 研究前沿

脑-肠轴功能异常是功能性胃肠病发病中的重要机制, 其研究集中在脑肠轴的相关物质表达, 并有一定的突破, 但是研究不够深入。以后研究可从分子生物学角度出发, 以揭示其病理生理机制。

■ 相关报道

蔡淦从中枢角度研究了肝郁证、脾虚证、肝郁脾虚证下丘脑、蓝斑CRF含量的变化, 并提示肝郁在现代医学主要表现在中枢神经系统有关情志中枢的功能改变, 脾虚则是胃肠功能的改变, 实质上就是脑肠轴之间的联系。苏茜研究了FD患者血浆中Ghrelin与胃肠动力之间的关系, 发现在以胃肠动力不足为主要症状的FD的患者中, Ghrelin起着重要的作用。而临床应用上, 陈亚平运用小柴胡汤治疗FD也显示出较好疗效。

■ 创新盘点

本文提出小柴胡汤治疗FD的作用机制可能是影响了脑肠轴中Ghrelin的变化,从而促进胃肠运动,另外可能的机制是小柴胡汤有直接促胃肠动力的外周机制,但还需进一步验证。

槽, DY CZ-40A转膜仪(北京六一); 164-5050电泳仪(Bio-rad); 兔Ghrelin抗体(Santa Cruz, 批号: SC-50297); 多潘立酮片(规格: 10 mg×30, 西安杨森制药有限公司, 生产批号: 120117119); 中药饮片(由湖南中医药大学第一附属医院饮片药房提供); 通过文献报道[7]方法制备小柴胡汤与逍遥散水煎剂。

1.2 方法

1.2.1 建模: 通过随机数字表将60只清洁级健康SD大鼠随机分为5组, 分别为空白组、模型组、小柴胡汤组、逍遥散组和多潘立酮组, 每组12只, 每组大鼠标记不同部位后分别放入5个鼠笼中。采用复合病因造模法(包括应激、疲劳、饮食失节)^[7], 另外为了加强肝郁脾虚模型的成功率, 特在复合病因造模法基础上加上夹尾30 min、摇晃5 min, 随机分组前将动物进行游泳时间测定, 筛选出游泳时间在10-20 min之间的大鼠60只。除空白组大鼠外, 其余各组大鼠每天8:00-11:00束缚于束缚盒内, 束缚过程中夹尾30 min、摇晃5 min, 以不损伤老鼠尾部皮肤为度, 造成应激状态; 束缚结束后采用温水游泳10 min, 水温保持在21℃-23℃, 造成疲劳状态。饮食失节采用隔日喂食(隔日禁食, 隔日足量给食)方法, 连续3 wk。空白组正常饲养, 不做任何处理; 模型组造模后按1 mL/100 g灌服生理盐水; 小柴胡汤组造模后, 按1 mL/100 g灌服生药浓度为2 g/mL的小柴胡汤水煎剂; 逍遥散组造模后, 按1 mL/100 g灌服生药浓度为2 g/mL的逍遥散水煎剂; 多潘立酮组造模后, 按1 mL/100 g灌服浓度为0.27 mg/mL的多潘立酮水溶液。实验进行14 d。

1.2.2 标本的采集与处理: 干预结束后, 所有大鼠禁食不禁水24 h, 用20%乌拉坦注射液腹腔麻醉(4 mL/kg), 麻醉后先暴露腹腔, 先进行胃排空测定和胃窦、结肠组织的采集, 随后开头、暴露脊柱, 分别取大鼠的下丘脑、脊髓组织, 用电子天平各称取100 mg, -80℃冰箱保存, Western blot检测各组织中Ghrelin蛋白的表达。

1.2.3 Western blot分析法: 分别检测大鼠下丘脑、脊髓、胃窦和结肠组织中Ghrelin蛋白的表达, 具体过程如下: 将待检测的组织洗净放入玻璃匀浆器内, 加入500 μL的预冷RIPA裂解液, 在冰上充分匀浆, 匀浆结束后转移至1.5 mL的离心管。置于4℃低温离心机内(12000 r/min离心5 min), 离心后上清液即为组织蛋白, 吸取

蛋白加入5×loading buffer沸水浴5 min, 接着进行SDS-PAGE稳压电泳(浓缩胶电压60 V, 分离胶120 V), 待溴酚蓝电泳至胶底部时终止电泳。再利用300 mA稳流湿转1 h使胶上的蛋白转移到PVDF膜上。用PBS溶液配制5%的脱脂奶粉为封闭液, 将膜浸入其中, 室温静置1 h, 用封闭液将一抗按比例稀释, 孵育一抗和膜, 4℃过夜, 孵育后, TBST洗3次, 15 min/次, 用封闭液按1:3000比例稀释二抗(二抗用HRP标记), 室温孵育50 min, 孵育后, TBST洗3次, 15 min/次。最后用ECL化学发光液与膜孵育3 min, 孵育结束后置于暗盒内与X胶片曝光数秒至数分钟, 胶片显影后冲洗保存。采用Image-Pro Plus 6.0图像分析软件, 记录每条蛋白电泳带的灰度值, 行相对定量分析。

1.2.4 胃排空的测定: 干预结束后, 将配制好的营养性半固体米糊按1 mL/100 g灌胃(营养性半固体米糊配制: 取250 mL蒸馏水, 加入10 g羧甲基纤维素钠, 随后加入8 g糖, 8 g淀粉, 16 g奶粉, 2 g活性炭末, 充分搅拌), 并记录每只大鼠半固体米糊的灌胃量。24 h内禁食不禁水, 取材时用20%乌拉坦注射液腹腔麻醉(10 mL/kg)。麻醉后立即打开腹腔, 将肠胃分离并结扎胃贲门和幽门部, 取胃, 滤纸吸干称质量(M1), 记录数值, 然后沿胃大弯剪开胃体, 用生理盐水冲洗胃部, 滤纸吸干, 称净质量(M2)。胃残留率计算为: 胃残留率(%) = [(M1-M2)/营养性半固体米糊的质量]×100%。

统计学处理 免疫印迹结果采用Quantity One图像分析软件分析, 所得数据用SPSS17.0软件进行分析。所有数据都进行正态分布性检验和方差齐性检验。当满足正态分布时, 采用ANOVA分析, 组间比较若方差齐时采用LSD检验, 方差不齐时用t检验; 数据不符合正态性分布时用秩和检验, 以P<0.05为有显著性差异。

2 结果

2.1 Ghrelin蛋白表达 各组大鼠下丘脑、脊髓、胃窦和结肠组织中Ghrelin蛋白表达如图1和表1所示。模型组大鼠各组织中Ghrelin蛋白表达明显低于空白组(P<0.01); 小柴胡汤组除了脊髓Ghrelin明显下降(P<0.05)外, 余者虽小于空白组, 但无明显差异; 逍遥散组与空白组比较Ghrelin蛋白表达明显下降(P<0.01); 多潘立酮组与空白组比较除脊髓Ghrelin蛋白表达无明显

表 1 各组大鼠不同组织中Ghrelin蛋白表达 (mean \pm SD, $n = 12$)

分组	下丘脑	脊髓	胃	结肠
空白组	0.89 \pm 0.04	0.66 \pm 0.03	1.03 \pm 0.05	0.57 \pm 0.03
模型组	0.49 \pm 0.03 ^b	0.44 \pm 0.06 ^b	0.63 \pm 0.01 ^b	0.41 \pm 0.02 ^b
小柴胡汤组	0.88 \pm 0.02 ^{a deg}	0.50 \pm 0.06 ^{de}	1.06 \pm 0.07 ^{a deg}	0.55 \pm 0.02 ^{ade}
逍遥散组	0.74 \pm 0.03 ^{bd}	0.47 \pm 0.02 ^{bd}	0.52 \pm 0.02 ^{bd}	0.42 \pm 0.06 ^b
多潘立酮组	0.79 \pm 0.07 ^{bd}	0.60 \pm 0.04 ^{ad}	0.92 \pm 0.04 ^{bd}	0.69 \pm 0.08 ^{ad}

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 空白组; ^d $P < 0.01$ vs 模型组; ^e $P < 0.05$ vs 逍遥散组; ^g $P < 0.05$ vs 多潘立酮组.

显差异外, 余者均表现为显著性差异($P < 0.01$). 小柴胡汤组、逍遥散组与多潘立酮组大鼠与模型组大鼠相比各组织中Ghrelin蛋白表达明显上升($P < 0.01$), 但逍遥散组结肠Ghrelin蛋白表达与之无明显差异($P > 0.05$). 小柴胡汤组与多潘立酮组组间比较无显著性差异.

2.2 各组大鼠胃排空功能 模型组大鼠胃内残留率与空白组相比明显升高($47.83\% \pm 11.75\%$ vs $36.25\% \pm 10.53\%$, $P < 0.01$); 而小柴胡汤组、多潘立酮组和逍遥散组大鼠胃内残留率($25.87\% \pm 11.14\%$ 、 $28.29\% \pm 14.73\%$ 、 $42.22\% \pm 18.81\%$)与模型组($47.83\% \pm 11.75\%$)相比明显下降($P < 0.05$). 但小柴胡汤组与多潘立酮组组间比较差异无显著性($P > 0.05$).

3 讨论

FD是功能性胃肠病中的一种^[8], FD的发病和种族、年龄、性别、地域有很大关系. 精神心理因素是FD致病因素中最重要的一方面, 但FD的诊断需要排除任何器质性疾病的因素如: 溃疡、肿瘤、感染等, 而在排除器质性疾病时胃镜检查幽门螺旋杆菌检测非常重要, 另外血液常规检测和体格检查也是排除器质性疾病的重要方法. FD尚无特异性的治疗方法, 多以对症治疗为主, 最近的指南^[2]指出FD的一线治疗以质子泵抑制剂和H2受体拮抗剂为主, 另外配合促动力药与运动、生活方式改变等方法, 旨在促进胃肠运动和减少胃酸的分泌. 而二线治疗则将植物性药物(中草药)作为FD的首要选择, 还将许多替代疗法纳入到功消的治疗当中. 由此可见中医治疗FD将发挥重要作用, 罗马III标准在论述功能性胃肠病时将胃肠动力障碍和感知、中枢神经、脑肠轴及肠神经网络系统联系起来, 明确了情志因素在功能性胃肠病发病中的作用, 并提出脑肠轴可能为两者

应用要点

该文通过对小柴胡汤治疗FD的机制探讨, 可以为临床扩大应用小柴胡汤治疗FD提供理论依据.

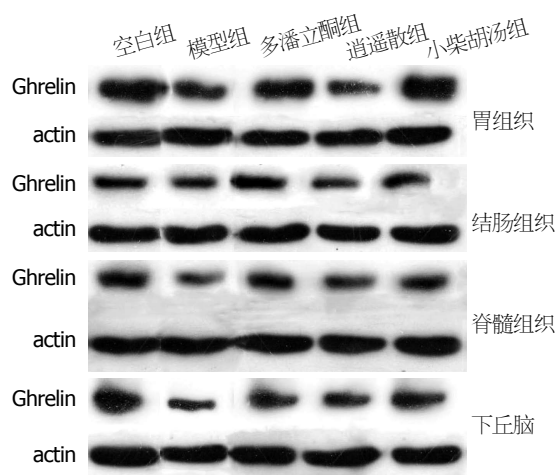


图 1 Western blot示小柴胡汤对FD大鼠各组织中Ghrelin含量的影响. FD: 功能性消化不良.

相关的原因^[1,9].

脑肠轴是指大脑中枢神经系统和胃肠道神经系统之间的神经通路联系, 脑与肠之间多种生理功能通过脑肠轴的双向神经通道而体现出来^[10,11]. 大脑神经系统接受来自外界的各种信息(包括情感、认知、躯体伤害等), 在脑内处理后通过脑肠肽反馈给靶器官. 脑肠肽使得脑与肠能够有着同步的效应, 相互影响. FD则是大脑内主管认知和情感的中枢对外界刺激的一种应激性反应, 短暂的情绪刺激使得机体处于生理应激状态, 而长期刺激则与神经内分泌系统、免疫系统和肠神经系统相作用, 从而引起胃肠道症状. 中医自古就将情志因素作为一个重要的致病因素^[12], FD则是情志致病的典型, 肝郁是中医最常见的情志病证, 肝主疏泄, 肝气郁结则致肝气横逆犯脾, 肝木乘脾土, 终而导致肝郁脾虚, 肝郁脾虚就其实质而言与FD在发病上十分相近, 都为不良情绪刺激影响了肝的疏泄条畅, 从而影响了脾升胃降的生理平衡, 肝郁在现代医学主要表现在中枢神经系

■名词解释

脑肠轴: 脑肠轴是指大脑中枢神经系统和胃肠道神经系统之间的神经通路联系, 脑与肠之间多种生理功能通过脑肠轴的双向神经通道而体现出来, 大脑神经系统接受来自外界的各种信息(包括情感、认知、躯体伤害等), 在脑内处理后通过脑肠肽反馈给靶器官, 脑肠肽使得脑与肠能够有着同步的效应, 相互影响。

统中有关情志中枢的功能改变, 脾虚则是胃肠功能的改变, 实质上就是脑肠轴之间的联系^[13], 其发病过程与现代医学FD发病相似。中医针对情志因素所致疾病也有很多有效方剂治疗, 最近的研究^[14]也从现代生物医学角度揭示了中医治疗功能性胃肠病的相关机制。FD患者的心理异常状态导致中枢神经系统丘脑、海马等区域的功能异常, 导致脑肠肽水平异常或功能异常, 从而影响胃肠的功能状态^[15,16]。

脑肠肽中Ghrelin是近年发现的一种既存在于脑, 同时也存在于胃肠道中的一种激素, 由下丘脑和胃肠道共同合成并释放^[17], Ghrelin能诱导生长激素的释放, 从而引起相应的生物学效应, 由于Ghrelin共同存在于脑和胃肠道, 因此机体通过Ghrelin将胃肠道与中枢联系起来, Ghrelin作为信号传递载体, Ghrelin在脑肠内的变化便实现了中枢对胃肠道的调控过程。研究^[18]表明, Ghrelin具有促进胃肠运动、保护胃肠黏膜、改善胃肠功能障碍等作用。苏茵等^[19]证实Ghrelin水平升高能增强餐中不适综合征患者的胃肠动力, 且Ghrelin水平与胃排空功能呈正相关, 说明Ghrelin有促胃肠运动的作用; 陈苏宁等^[20]检测了FD患者的胃肠道组织Ghrelin分泌水平, 发现FD患者胃肠道分泌细胞可能存在着Ghrelin分泌异常, 这也表明FD患者胃肠动力不足可能是Ghrelin分泌异常引起, 也说明Ghrelin的促胃肠运动的作用; Ariga等^[21]认为Ghrelin促胃肠运动的方式可能是通过加强胃窦幽门部运动的协调性, 从而加快胃排空; Kazemi等^[17]则比较了FD患者与健康人血清中Ghrelin的含量, 发现随着进食的时间推移, Ghrelin的含量发生着动态变化, 然而Ghrelin与疾病状态之间成正负相关则取决于不同的测定方法以及是否排除了基础Ghrelin含量。因此在以胃肠动力不足为主要症状的FD的患者中, 其可能发挥着重要的角色^[19]。另外, 本研究通过多病因造模法对大鼠进行造模, 成功复制了FD肝郁脾虚模型, 研究中模型组中Ghrelin含量显著低于正常组, 因而也证明了Ghrelin在FD中扮演着重要角色, 可能Ghrelin含量水平是FD患者胃肠动力障碍的关键原因。

《伤寒论》: “伤寒五六日, 中风, 往来寒热, 胸胁苦满, 默默不欲饮食, 心烦喜呕……小柴胡汤主之。”从原文看, 小柴胡汤主证默默不欲饮食, 心烦喜呕等症与FD有相似之处。少

阳为枢, 枢机不利则脾胃转枢失常, 因而小柴胡汤舒解少阳则脾升胃降矣。本研究以小柴胡汤、逍遥散、多潘立酮为干预方法, 分别与模型组对比, 测定其下丘脑、脊髓、胃、肠的Ghrelin含量, 发现小柴胡汤能明显改善造模后Ghrelin表达低下的状态, 且下丘脑改善情况要优于其余部位。这与国内多数报道相符^[22], 且能表明在小柴胡汤等在干预时先通过提高中枢部位的Ghrelin再发挥周围调节作用, 但具体机制还有待深入探讨。本实验结果还显示小柴胡汤组胃Ghrelin蛋白表达量高于正常组, 虽然没有统计学差异, 但是否表明小柴胡汤对胃动力的调节存在其他的有别于中枢-外周的调控方式, 小柴胡汤胃排空要强于正常组也证明了这一点。本研究证实中医方剂小柴胡汤、逍遥散和西药多潘立酮促进胃排空, 使胃肠吸收、运动功能障碍的方式一方面是通过增加中枢、外周组织中Ghrelin蛋白的表达来实现; 另一方面又通过有别于中枢-外周的机制来实现, 但具体机制还需进一步研究。

4 参考文献

- Grundey D, Al-Chaer ED, Aziz Q, Collins SM, Ke M, Taché Y, Wood JD. Fundamentals of neurogastroenterology: basic science. *Gastroenterology* 2006; 130: 1391-1411 [PMID: 16678554]
- Miwa H, Kusano M, Arisawa T, Oshima T, Kato M, Joh T, Suzuki H, Tominaga K, Nakada K, Nagahara A, Futagami S, Manabe N, Inui A, Haruma K, Higuchi K, Yakabi K, Hongo M, Uemura N, Kinoshita Y, Sugano K, Shimosegawa T. Evidence-based clinical practice guidelines for functional dyspepsia. *J Gastroenterol* 2015; 50: 125-139 [PMID: 25586651 DOI: 10.1007/s00535-014-1016-1]
- 章海凤, 刘未艾, 常小荣, 刘密, 张国山, 石佳. 隔药饼灸对功能性胃肠病肝郁脾虚模型大鼠结肠5-HT含量及中枢c-fos的影响. *中华中医药杂志* 2014; 29: 2915-2919
- 程秋实, 汪龙德, 刘俊宏, 毛兰芳. 中医药治疗功能性消化不良的研究进展. *中华中医药学刊* 2015; 33: 70-72
- 郁保生, 张国山, 石晓理, 晏桂华. 小柴胡汤对功能性消化不良大鼠血管活性肠肽、胃排空及小肠推进率的影响. *中国实验方剂学杂志* 2013; 19: 251-254
- 刘未艾, 郁保生, 常小荣, 刘密, 章海凤, 岳增辉. 隔药饼灸对功能性胃肠病肝郁脾虚模型大鼠胃肠激素及胃肠动力的影响. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 1002-1007
- 谢鸣, 杨卫红, 刘月. 小柴胡汤对高脂血症性模型大鼠的作用观察. *浙江中医药大学学报* 2010; 34: 54-55 57
- Grigor'ev KI. [The functional disorders of the gastrointestinal tract in newborns (the lecture)]. *Eksp Klin Gastroenterol* 2014; (1): 74-79 [PMID: 25518461]
- 刘未艾, 常小荣, 刘密, 张国山, 石佳, 章海凤. 隔药饼灸对功能性胃肠病肝郁脾虚模型大鼠胃促生长素与胃肠动力的影响. *中华中医药杂志* 2013; 28: 1560-1564

- 10 张洪领, 杨春敏. 功能性消化不良的脑肠轴机制研究进展. 实用医学杂志 2010; 26: 3265-3266
- 11 汪江波, 李峰. 脑肠轴与功能性消化不良的关系. 现代诊断与治疗 2013; 24: 3382-3384
- 12 陈亚平, 章浩军, 罗颖. 小柴胡汤加减治疗功能性消化不良临床观察. 中医药通报 2006; 5: 52-53
- 13 蔡淦, 张玉喜, 刘群, 雷云霞, 丛军, 张正利. 肝郁证、脾虚证、肝郁脾虚证下丘脑、蓝斑CRF含量变化研究. 上海中医药杂志 2006; 40: 1-3
- 14 陈嘉屿, 聂丹丽, 张方信, 吴红梅. 肝郁脾虚大鼠模型胃肠动力障碍的机制. 世界华人消化杂志 2001; 9: 106-107
- 15 Dicken BJ, Graham K, Hamilton SM, Andrews S, Lai R, Listgarten J, Jhangri GS, Saunders LD, Damaraju S, Cass C. Lymphovascular invasion is associated with poor survival in gastric cancer: an application of gene-expression and tissue array techniques. *Ann Surg* 2006; 243: 64-73 [PMID: 16371738]
- 16 Yamashita K, Park HL, Kim MS, Osada M, Tokumaru Y, Inoue H, Mori M, Sidransky D. PGP9.5 methylation in diffuse-type gastric cancer. *Cancer Res* 2006; 66: 3921-3927 [PMID: 16585221]
- 17 Kazemi M, Eshraghian A, Hamidpour L, Taghavi S. Changes in serum ghrelin level in relation to meal-time in patients with functional dyspepsia. *United European Gastroenterol J* 2015; 3: 11-16 [PMID: 25653854 DOI: 10.1177/2050640614563373]
- 18 蔡顺天, 王巍峰, 杨云生. ghrelin与功能性消化不良. 胃肠病学和肝病杂志 2011; 20: 579-582
- 19 苏茵, 朱一丹, 王新北, 刘广遐, 赵君宁, 梁国栋. 功能性消化不良患者血浆ghrelin变化及其与胃排空的关系. 胃肠病学 2011; 16: 286-289
- 20 陈苏宁, 礼海, 史业东. 胃痛消痞方对功能性消化不良大鼠血清及胃组织中Ghrelin、Leptin的影响. 世界华人消化杂志 2010; 18: 2800-2803
- 21 Ariga H, Nakade Y, Tsukamoto K, Imai K, Chen C, Mantyh C, Pappas TN, Takahashi T. Ghrelin accelerates gastric emptying via early manifestation of antro-pyloric coordination in conscious rats. *Regul Pept* 2008; 146: 112-116 [PMID: 17913258 DOI: 10.1016/j.regpep.2007.08.022]
- 22 付荣国, 袁浩铮, 王莉, 葛衡, 张军, 宁启兰, 张富军. 慢性肾功能不全大鼠下丘脑、胃肠道ghrelin及其受体表达变化. 南方医科大学学报 2011; 31: 96-99

同行评价

本文从中枢和外周两方面探讨了小柴胡汤治疗FD的作用机制, 为小柴胡汤临床应用提供了理论依据, 有一定的科学意义。

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利



磁共振扩散加权成像应用于食管癌的最佳b值选择及放疗疗效评价

刘辉, 时高峰, 许茜, 李如迅, 贾丽涛, 邵娴

■背景资料

目前评价食管癌放疗疗效的手段中多以形态学的改变为主, 但磁共振扩散加权成像(diffusion-weighted imaging, DWI)从形态学转变到功能代谢方面, b值作为重要参数如何选择对结果尤为重要。本研究探讨应用于食管癌的最佳b值, 并对放疗疗效进行评价。

刘辉, 时高峰, 许茜, 李如迅, 贾丽涛, 河北医科大学第四医院CT室 河北省石家庄市 050021
邵娴, 石家庄市第四医院麻醉科 河北省石家庄市 050021
刘辉, 主管技师, 主要从事磁共振成像技术方向的研究。
河北省2013年医学科学研究重点课题计划, No. 20130244
作者贡献分布: 此课题由刘辉与时高峰设计; 时高峰对课题中出现的问题进行指导; 研究过程由刘辉、许茜、李如迅及贾丽涛共同完成; 数据分析由刘辉与邵娴共同完成; 本论文写作由刘辉完成。
通讯作者: 邵娴, 主治医师, 050021, 河北省石家庄市中山路206号, 石家庄市第四医院麻醉科. liujiayi20080219@126.com
电话: 0311-86095716
收稿日期: 2015-07-06 修回日期: 2015-09-02
接受日期: 2015-09-08 在线出版日期: 2015-10-08

Optimization of b-value in diffusion-weighted imaging for evaluation of radiotherapy efficacy in esophageal cancer

Hui Liu, Gao-Feng Shi, Qian Xu, Ru-Xun Li, Li-Tao Jia, Xian Shao

Hui Liu, Gao-Feng Shi, Qian Xu, Ru-Xun Li, Li-Tao Jia, Department of CT Imaging, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050021, Hebei Province, China
Xian Shao, Department of Anesthesiology, the Fourth Hospital of Shijiazhuang, Shijiazhuang 050021, Hebei Province, China
Supported by: 2013 Medical Scientific Research Key Project of Hebei Province, No. 20130244
Correspondence to: Xian Shao, Attending Physician, Department of Anesthesiology, The Fourth Hospital of Shijiazhuang, 206 Zhongshan Road, Shijiazhuang 050021, Hebei Province, China. liujiayi20080219@126.com
Received: 2015-07-06 Revised: 2015-09-02
Accepted: 2015-09-08 Published online: 2015-10-08

■同行评议者

肖恩华, 教授, 中南大学湘雅二医院放射教研室

Abstract

AIM: To optimize the b-value in diffusion-

weighted imaging (DWI) for evaluation of radiotherapy in esophageal carcinoma.

METHODS: Eighty-eight patients with esophageal cancer treated by radiotherapy at Hebei Tumor Hospital were included. They received routine magnetic resonance imaging (MRI) and DWI scans one day before and after radiotherapy. Different b values (600, 800 and 1000 s/mm²) were used. The differences in signal to noise ratio (SNR) and apparent diffusion coefficient (ADC) values, as well as the tumor length before and after radiotherapy were compared between groups with different b values.

RESULTS: Before radiotherapy when the b values were 600, 800 and 1000 s/mm², the SNRs measured in DWI were 11.60 ± 1.50, 11.18 ± 1.75 and 7.15 ± 0.91, respectively; the ADC values were 1.66 × 10⁻³ ± 0.49 × 10⁻³, 1.55 × 10⁻³ ± 0.41 × 10⁻³ and 1.39 × 10⁻³ ± 0.33 × 10⁻³ mm²/s. After radiotherapy the ADC values were 2.48 × 10⁻³ ± 0.58 × 10⁻³, 2.16 × 10⁻³ ± 0.46 × 10⁻³ and 1.93 × 10⁻³ ± 0.35 × 10⁻³ mm²/s, respectively, which were significantly higher than the values before radiotherapy (*P* = 0.001). When using the images with the b value of 800 s/mm² to measure the tumor length, the length of the lesion was 5.43 cm ± 1.25 cm before radiotherapy and 2.17 cm ± 0.95 cm after radiotherapy, which had a significant difference (*P* = 0.001).

CONCLUSION: The ADC values after radiotherapy were significantly higher than those before radiotherapy. After radiotherapy, the tumor length was significantly decreased

compared with that before radiotherapy. The b value of 800 s/mm² is a preferred value for evaluating the efficacy of radiotherapy.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: DWI; Esophagus cancer; Radiotherapy; b value

Liu H, Shi GF, Xu Q, Li RX, Jia LT, Shao X. Optimization of b-value in diffusion-weighted imaging for evaluation of radiotherapy efficacy in esophageal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(28): 4548-4552 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4548.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i28.4548>

摘要

目的: 本研究探讨磁共振扩散加权成像(diffusion-weighted imaging, DWI)应用于食管癌的最佳b值选择, 并用该b值下的DWI来评价食管癌的放疗疗效。

方法: 回顾性分析河北肿瘤医院行放疗治疗的食管癌患者88例, 于放疗治疗前1 d及放疗治疗结束后1 d分别行磁共振常规扫描(magnetic resonance imaging)和DWI扫描, b值选择为600、800、1000 s/mm², 比较不同b值下DWI图像的信噪比(signal to noise ratio, SNR)、放疗前后的表观扩散系数值(apparent diffusion coefficient, ADC)及病灶长度的变化。

结果: 放疗治疗前b值为600、800和1000 s/mm²时, 所测得DWI图像的SNR值分别是11.60±1.50、11.18±1.75、7.15±0.91; 所测得ADC值分别为1.66×10⁻³±0.49×10⁻³、1.55×10⁻³±0.41×10⁻³、1.39×10⁻³±0.33×10⁻³ mm²/s; 在b值为600、800和1000 s/mm²时, 放疗后平均ADC值是2.48×10⁻³±0.58×10⁻³、2.16×10⁻³±0.46×10⁻³、1.93×10⁻³±0.35×10⁻³ mm²/s, 放疗后ADC值较放疗前明显升高($P=0.001$)。选择b值为800 s/mm²时的图像, 治疗前后肿瘤病灶长度比较有统计学意义(5.43 cm±1.25 cm vs 2.17 cm±0.95 cm, $P=0.001$)。

结论: 食管癌放疗治疗后ADC值较放疗治疗前显著升高; 食管癌放疗治疗后病灶的长度较放疗治疗前显著缩短; b值取800 s/mm²时所得到的DWI图像及ADC图更利于食管癌放疗治疗疗效的评价。

© 2015版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 磁共振扩散加权成像; 食管癌; 放射疗法; b值选择

核心提示: 本研究探讨了磁共振扩散加权成像(diffusion-weighted imaging, DWI)应用于食管癌的最佳b值选择。结果显示b值取800 s/mm²时所得到的DWI图像及表观扩散系数(apparent diffusion coefficient, ADC)图更利于食管癌放疗治疗疗效的评价。放疗治疗后较放疗治疗前ADC值显著升高, 病灶的长度显著缩短。

刘辉, 时高峰, 许茜, 李如讯, 贾丽涛, 邵娴. 磁共振扩散加权成像应用于食管癌的最佳b值选择及放疗疗效评价. *世界华人消化杂志* 2015; 23(28): 4548-4552 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4548.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i28.4548>

0 引言

食管癌是危害公众健康的一种常见的消化系统肿瘤, 具有很高的发病率和死亡率^[1]。放疗治疗是非手术治疗食管癌的有效手段^[2]。目前应用于评价食管癌放疗治疗疗效的手段很多, 其中磁共振扩散加权成像(diffusion-weighted imaging, DWI)使我们的视野从形态学转变到功能代谢方面, 是目前评价食管癌放疗治疗疗效的新思路。b值是DWI中的重要参数, 如何选择b值对成像的结果尤为重要。本研究探讨应用于食管癌DWI中的最佳b值, 并应用此b值所测得的各种数据对食管癌患者的放疗疗效进行评价。

1 材料和方法

1.1 材料 回顾性分析河北肿瘤医院行放疗治疗的食管癌患者88例, 食管癌患者的选取标准: (1)该组食管癌患者均行镜检病例证实; (2)该组食管癌患者行磁共振扫描(magnetic resonance imaging, MRI)前禁食并且体温在正常范围内; (3)该组食管癌患者在放疗治疗过程中未应用化疗药物。

该组患者分别于放疗治疗前1 d及放疗治疗结束后1 d行MRI和DWI。DWI的b值选择为0、600、800、1000 s/mm², 所有b值均在同一序列中同时完成。

1.2 方法

1.2.1 MRI检查前准备: MRI检查前1 d尽量嘱咐患者低渣饮食, 避免食入富含脂肪的食物, 尽量避免食入巧克力等易引起MRI信号改变的

■ 研究前沿

DWI作为功能成像的一种, 应用于肿瘤治疗疗效的评价有广泛的研究, 结果显示是一种评价疗效的有效手段。但是在食管癌方面的报道较少, 尤其最佳b值的选择研究较少, 是亟待研究的问题。

■ 相关报道

曾治民等的研究表明, DWI在肺癌的应用中, 当b值选取为600 s/mm²时所得到的图像最佳。张晓鹏等的研究表明, DWI在胃癌的应用中, 当b值选取为1000 s/mm²时所得到的图像最佳。

■创新亮点

本研究表明DWI中b值取800 s/mm²时所得到的DWI及表观扩散系数值(apparent diffusion coefficient, ADC)图更利于食管癌放射治疗疗效的评价。并且放射治疗后较放射治疗前ADC值显著升高, 病灶的长度显著缩短。

食物。检查前禁食、禁水4 h, 测量患者体温以保证在正常范围内。嘱咐患者勿做吞咽动作, 防止食管运动的伪影。进入扫描室前给患者讲解注意事项以及可能发生的情况, 并训练患者呼吸。检查并除去患者身上所有金属物品。患者取头先入仰卧位, 双手置于身体两侧。安放线圈并配以心电及呼吸监测设备。

1.2.2 MRI扫描序列: 半傅立叶单次激发快速自旋回波(HASTE)序列扫描冠状位: TR/TE = 1900 ms/90 ms; 翻转角150°; FOV380 mm×380 mm; 矩阵256×320; 层厚5 mm; 层间隔1 mm。二维扰相梯度回波FLASH2D横轴位扫描: TR/TE = 150 ms/3 ms; 翻转角70°; FOV360 mm×360 mm; 矩阵256×256; 激励次数为2次; 层厚4 mm; 层间隔0.8 mm。快速自旋回波TSE2D横轴位扫描: TR/TE = 1700 ms/70 ms; 翻转角140°; FOV360 mm×360 mm; 矩阵384×384; 激励次数为2次; 层厚4 mm; 层间隔1.8 mm。DWI横轴位扫描: TR/TE = 6800 ms/70 ms; FOV360 mm×360 mm; 矩阵128×128; 激励次数为8次; 层厚4 mm; 层间隔0 mm。同时采集4个不同的b值分别为0、600、800、1000 s/mm²。

1.2.3 放射治疗技术: 应用真空体模技术使患者保持固定体位, 嘱咐患者平静均匀呼吸, 将各种影像资料通过局域网络输入Pinnacle8.0c治疗计划系统进行计划设计, 由放射科医师与放疗科医师共同勾画大体肿瘤体积(gross tumor volume, GTV)、临床靶体积(clinical target volume, CTV)、计划靶体积(planning target volume, PTV)。勾画原则如下: GTV的勾画应考虑各种影像学检查结果, 比如食管钡餐造影、食管镜、食管CT及食管MRI图像。参照病变密度、信号强度、尤其DWI图像上表现为高信号的区域行靶区的勾画。靶区勾画中危险器官(organs at risk, OARs)的勾画尤为重要, 应该由经验丰富的临床医师协同物理技师共同完成。脊髓、心脏都属于危险器官, 选取的照射剂量不得超过规定的耐受量。单次靶区的照射剂量为180-200 cGy, 照射总次数27-35次, 5次/wk, 1次/d, 治疗过程中对患者出现的症状做相应处理, 放射治疗过程中未使用化疗药物。

1.2.4 表观扩散系数值的计算: 将两个不同b值的DWI放入后处理工作站生成表观扩散系数值(apparent diffusion coefficient, ADC)图。结合

常规MRI图像确定病变位置。在ADC图上选取肿瘤显示最佳的层面作为感兴趣区, 每个感兴趣区测量3次ADC值。不同b值所得到的ADC图上感兴趣区的选取尽量一致。ADC值的测量中应尽量避免血管、气体、骨骼、钙化以及肿瘤内的坏死成分, 力求所测得的ADC值真实的反应肿瘤的实性成分。

1.2.5 DWI信噪比及病变长度的测量: MRI图像的信噪比(signal to noise ratio, SNR)是指MRI的信号强度与背景随机噪声强度之间的比值。图像信号强度是指所选区域内信号强度的均值。图像噪声强度是指所选噪声区域内信号强度的标准差。分别于不同b值的DWI上, 选取相同病变区测量并计算图像SNR。将b值选取800 s/mm²所得DWI上食管高信号区域界定为肿瘤范围。在DWI轴位图像上, 根据肿瘤的层数来计算肿瘤的长度。并且比较食管癌放疗前后肿瘤长度的变化。

统计学处理 本文应用了统计分析软件SPSS19.0对相关数据进行分析。在对食管癌放射治疗前后ADC值以及长度的变化是否具有显著差异性的分析中, 用显著性差异法进行比较, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 不同b值下DWI的SNR 放射治疗前后食管癌DWI图像表现如图1所示。放射治疗前b值为600、800和1000 s/mm²时, 所测得扩散图像SNR值分别是11.60±1.50、11.18±1.75、7.15±0.91; b = 1000 s/mm²时DWI图像SNR较差。

2.2 放射治疗前后食管癌病灶ADC的变化 放疗前不同b值下所测量的病变ADC值, 随着b值的增加所测得的食管癌ADC值的变化范围逐渐变小。不同b值下放疗前后所测量的ADC值的比较, 放疗后ADC值较放疗前显著升高(表1)。

2.3 放射治疗前后食管癌病灶长度的变化 选择b值为800 s/mm²时的DWI, 治疗前肿瘤病灶长度为5.43 cm ± 1.25 cm, 治疗后肿瘤病灶长度为2.17 cm ± 0.95 cm, 治疗前后肿瘤长度有显著差异($P = 0.001$)。

3 讨论

DWI技术是通过监测细胞间隙水分子的扩散运动的变化, 反应组织结构信息、细胞密度

■应用要点

DWI可以作为一种评价食管癌放疗疗效的手段, 通过对照放疗前后食管癌病灶的ADC值及长度值, 可以早期对放疗疗效进行评价。并且将b值取800 s/mm²作为首选。

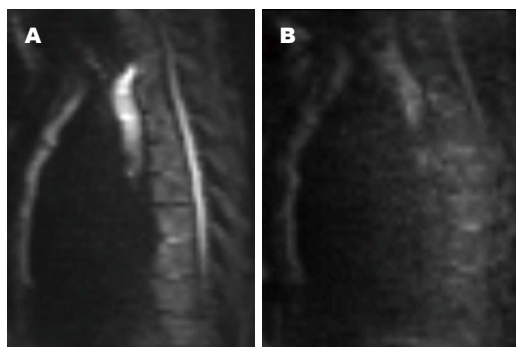


图1 放射治疗前后食管癌扩散加权图像表现. A: 食管癌放疗前表现; B: 食管癌放疗后表现.

表1 不同b值下放疗前后所测得的ADC值

ADC值 ($\text{mm}^2/\text{s} \times 10^{-3}$)	b值(s/mm^2)		
	600	800	1000
放疗前	1.66 ± 0.49	1.55 ± 0.41	1.39 ± 0.33
放疗后	2.48 ± 0.58	2.16 ± 0.46	1.93 ± 0.35
P值	0.0001	0.0001	0.0001

ADC: 表观扩散系数值.

信息, 进而评判组织的病理变化. 他将我们的视野从宏观带到了微观, 他能够早期的反应组织结构细微的变化. 利用这些特性, DWI可以做到早期发现疾病、诊断疾病并对治疗后的疗效做出早期评价. 韩书明等^[3]的研究表明, DWI技术在诊断骨转移瘤的敏感度为92%. 赵周社等^[4]的研究表明, DWI在前列腺癌和原发性肝癌的检出率要高于正电子发射断层扫描(positron emission tomography)和计算机断层扫描(computed tomography). 王瑞芳等^[5]的研究表明, DWI在外周带前列腺癌的早期诊断中有重要意义.

我们在应用DWI技术进行成像时发现多种因素会影响他的结果. 比如生理性的温度以及血流灌注等. 鉴于此我们常用ADC来定量评价扩散的结果. 扩散敏感因子称为b值, 他是ADC值测量中的关键参数. 他的大小影响组织内水分子扩散运动的检测. 选取小b值时, DWI主要反映组织灌注的变化, 未能反映出水分子真实的扩散状况. 刘玉品等^[6]的研究表明, DWI在肝脏的应用中, 当b值选取为100 s/mm^2 时所得到的图像受血流灌注以及T2穿透效应的影响较大, 所测得的ADC值不太真实. 随着b值的增加, 扩散的权重也随之增加, 但是DWI的信号也

会随之衰减. 李彩霞等^[7]的研究表明, DWI在骨肿瘤的应用中, 当b值选取为1500 s/mm^2 时所得到的图像的质量较差, 所测得的ADC值不太稳定.

不同的组织器官内水分子处的环境不同, 决定了组织器官内水分子扩散特点的差异. 因此没有哪一种b值适用于所有组织器官. 曾治民等^[8]的研究表明, DWI在肺癌的应用中, 当b值选取为600 s/mm^2 时所得到的图像最佳. 彭俊琴等^[9]的研究表明, DWI在小细胞肺癌及非小细胞肺癌的应用中, 当b值选取为600 s/mm^2 时所得到的图像最有价值. 张晓鹏等^[10]的研究表明, DWI在胃癌的应用中, 当b值选取为1000 s/mm^2 时所得到的图像最佳. 王萍等^[11]的研究表明, DWI在鉴别高级别胶质瘤瘤体、瘤周应用中, 当b值选取为3000 s/mm^2 时所得到的图像最适宜. 郭雪梅等^[12]的研究表明, DWI在前列腺的应用中, 当b值选取为800 s/mm^2 时, 所得到的图像最佳. 阳青松等^[13]的研究表明, 3T DWI在前列腺的应用中, 当b值选取为1500 s/mm^2 时, 所得到的图像具有最佳显示病灶的能力. 陈欣等^[14]的研究表明, DWI在乳腺的应用中, 当b值选取为800 s/mm^2 时, 所得到的图像最佳.

本研究发现当选取b值为1000 s/mm^2 时所得到的DWI的SNR较差. 当选取b值为600 s/mm^2 时所得到的ADC值的变化范围较大, 说明影响因素较多. 因此b值为600、1000 s/mm^2 所得到的图像均不适合作为评价食管癌放疗疗效的指标. b值为800 s/mm^2 所得到的DWI的SNR较高并且所测得ADC值较稳定, 可以作为评价食管癌放疗疗效的指标.

DWI在肿瘤方面的应用极为广泛. 肿瘤细胞较正常细胞密度增加, 并且形态表现为多形性, 这些都使细胞间隙内的水分子扩散受限, 因此在DWI上表现为高信号, 有利于肿瘤性病变的检出. 罗宁斌等^[15]的实验表明DWI在乳腺癌淋巴结转移的诊断中具有重要的价值. 张连华等^[16]的实验表明DWI在膀胱癌诊断的敏感度为92.3%、特异度为75.0%、准确度为90.4%. 陆军等^[17]的实验表明DWI技术应用于肺癌放疗前的靶区勾画, 能够明确判断出肿瘤勾画范围的占63.3%. 李莉等^[18]的实验表明DWI在恶性肿瘤诊断的敏感度为96.6%、特异度为53.5%, 准确度为88.1%. 本研究食管癌病变DWI图像上表现为高信号, 与相关研究相符.

肿瘤细胞在接受治疗后会凋亡、坏死. 组

■名词解释

扩散(diffusion): 分子热能激发而使分子发生一种微观、随机的平移运动并相互碰撞, 也称分子的热运动或布朗运动. 任何分子都存在扩散运动; b值: 或称扩散敏感系数, 指扩散成像技术中施加的扩散敏感梯度场参数. 在常用SE-EPI DWI序列中, $b\text{值} = \gamma^2 G^2 \delta^2 (\Delta - \delta/3)$.

同行评价

作者探讨应用于食管癌DWI的最佳b值, 并应用此b值所测得的各种数据对食管癌患者的放疗疗效进行评价。研究发现食管癌放疗治疗后ADC值较放疗前显著升高, b值取800 s/mm²时所得到的DWI及ADC图更利于食管癌放疗疗效的评价, 对临床应用有较好借鉴作用。

组织细胞密度减低, 细胞间隙增大, 水分子的扩散运动重新变得自由, 表现为DWI上信号较之前减低。基于此特性, DWI为评价肿瘤治疗的疗效提供了一种新的手段。微观的改变总是早于宏观的改变, 因此DWI可以作为一种早期评价肿瘤治疗疗效的手段。田霞等^[19]的研究表明, DWI在评价肺癌脑转移瘤放疗治疗的疗效应用中, 放疗治疗前后转移瘤实质区的ADC值存在显著差异, ADC值有助于肺癌脑转移瘤放疗疗效的评估。聂翔等^[20]的研究表明, DWI在评价鼻咽癌放疗治疗疗效的应用中, 放疗治疗前后鼻咽癌ADC值存在显著差异, 并且放疗治疗前ADC值与肿瘤体积消退百分比呈负相关, DWI能够早起预测肿瘤放疗治疗的效果。本研究发现, 食管癌放疗治疗后ADC值较放疗前显著升高, 食管癌放疗治疗后病灶的长度较放疗前显著缩短, 与相关研究相符。

总之, DWI对于食管癌的检出以及放疗疗效的评价有极大的临床应用价值。而且DWI避免了电离辐射的影响, 是一种值得大范围推广的技术。随着技术的不断进步, 相信DWI技术在食管癌的检出以及放疗疗效的评估方面会得到进一步的发展。

4 参考文献

- 中华医学会消化内镜学分会, 中国抗癌协会肿瘤内镜专业委员会. 中国早期食管癌筛查及内镜诊治专家共识意见. 胃肠病学 2015; 04: 220-240
- 孔雁, 高红梅. 食管癌放疗治疗10年生存分析及不同治疗方式的疗效比较. 肿瘤防治研究 2015; 42: 56-61
- 韩书明, 任进军, 赵宝宏, 郭志军, 张玉环, 王淑萍, 徐倩, 陈艳芳. 磁共振全身弥散技术诊断多发性骨转移瘤临床价值. 临床荟萃 2013; 28: 332-333
- 赵周社, 辛军, 郭启勇, 王爽, 陆喆. MRI弥散加权成像和PET/CT扫描在肿瘤检查应用的进展. 中国临床医学影像杂志 2010; 21: 413-418
- 王瑞芳, 任华, 廖威, 吴志远, 李真. MR弥散加权成像在外周带早期前列腺癌诊断中的应用研究. 武警后勤学院学报(医学版) 2013; 22: 529-531
- 刘玉品, 杨小庆. 肝占位病变扩散加权成像的图像质量评价. 实用放射学杂志 2006; 22: 962-966
- 李彩霞, 任仙, 任翠萍, 程敬亮, 李莹. MR扩散加权成像鉴别良恶性骨肿瘤及肿瘤样病变的价值. 实用放射学杂志 2012; 28: 1087-1091
- 曾治民, 廖琴, 蔡婧, 刘安文. 磁共振扩散加权成像及ADC值测量对非小细胞肺癌肺门纵膈淋巴结的鉴别诊断价值. 中国肿瘤临床 2012; 39: 706-710
- 彭俊琴, 汤日杰, 张海南, 周建伟. 高场MR扩散加权成像在小细胞肺癌及非小细胞肺癌鉴别诊断中的应用与b值优化. 实用医学杂志 2015; 31: 969-972
- 张晓鹏, 唐磊, 孙应实, 李洁, 曹崑. 胃癌MR扩散加权成像扩散敏感因子的选择及其常规序列的对照研究. 中华放射学杂志 2007; 41: 1339-1343
- 王萍, 翟昭华, 唐光才, 韩福刚, 舒健. 不同b值对瘤体及瘤周水肿扩散加权成像的影响. 放射学实践 2015; 30: 224-227
- 郭雪梅, 王霄英, 吴冰, 蒋学祥. 前列腺外周带癌扩散加权成像诊断标准. 中国医学影像技术 2009; 25: 1235-1238
- 阳青松, 王振, 陈玉坤, 陈录广, 马超, 高旭, 王燕, 余勇伟, 陆建平. 3-T MR扩散加权成像诊断前列腺癌最优b值研究. 第二军医大学学报 2015; 36: 402-406
- 陈欣, 闫锐, 康华峰, 郭佑民, 赵暹, 贺长安, 张毅力. 不同扩散梯度因子值的乳腺MR扩散加权成像对比研究. 中华放射学杂志 2009; 43: 356-359
- 罗宁斌, 苏丹柯, 刘丽东, 金观桥, 朱旭娜, 谢东. 弥散加权成像对乳腺癌腋窝淋巴结转移的诊断价值. 实用放射学杂志 2012; 28: 1549-1552, 1568
- 张连华, 朱寅杰, 薄杰, 刘东明, 黄翼然. 磁共振扩散加权成像在膀胱肿瘤诊断中的应用价值. 肿瘤 2012; 32: 1025-1029
- 陆军, 赵海涛, 朱勇, 石梅, 魏丽春, 薛莹. 磁共振成像在肺癌放疗肿瘤区确认中的价值. 医疗卫生装备 2010; 31: 76-77, 80
- 李莉, 任转琴, 陈涛, 张雷, 苟晓光, 李杨. 大范围扩散加权成像和全身一体化MRI在恶性肿瘤及全身转移诊断中的应用. 实用放射学杂志 2010; 26: 1661-1665
- 田霞, 陆紫薇, 孙琪, 谢道海. MRI在肺癌脑转移瘤诊断和放疗疗效判定中的价值. 中国血液流变学杂志 2012; 22: 152-155
- 聂翔, 李金高. 鼻咽癌磁共振扩散加权成像与放疗疗效的相关性研究. 实用癌症杂志 2011; 26: 627-629

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利



IL-12诱导的CIK细胞联合化疗治疗食管癌的疗效及对患者免疫功能的影响

瞿伟丰, 张卫民, 丁小云

瞿伟丰, 张卫民, 丁小云, 无锡市第三人民医院胸心外科
江苏省无锡市 214041

瞿伟丰, 主治医师, 主要从事胸心外科方面的研究。

作者贡献分布: 瞿伟丰主要负责论文研究的设计与论文写作;
张卫民负责资料收集; 丁小云负责文章的审核与论文写作指导。

通讯作者: 瞿伟丰, 主治医师, 214041, 江苏省无锡市北塘区
兴源北路585号, 无锡市第三人民医院胸心外科。

wangyunfang88@126.com

电话: 0510-82607391

收稿日期: 2015-08-05 修回日期: 2015-08-26

接受日期: 2015-09-11 在线出版日期: 2015-10-08

IL-12 induced CIK cells combined with chemotherapy improve immune function and efficacy in patients with esophageal carcinoma

Wei-Feng Qu, Wei-Min Zhang, Xiao-Yun Ding

Wei-Feng Qu, Wei-Min Zhang, Xiao-Yun Ding, Department
of Cardiothoracic Surgery, the Third People's Hospital of
Wuxi City, Wuxi 214041, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Wei-Feng Qu, Department of
Cardiothoracic Surgery, the Third People's Hospital of Wuxi
City, 585 Xingyuan North Road, Wuxi 214041, Jiangsu
Province, China. wangyunfang88@126.com

Received: 2015-08-05 Revised: 2015-08-26

Accepted: 2015-09-11 Published online: 2015-10-08

Abstract

AIM: To evaluate the clinical effects of interleukin-12 (IL-12) induced killer cytokine-induced (CIK) combined with chemotherapy in patients with esophageal carcinoma.

METHODS: Two hundred esophageal cancer patients treated at our hospital were randomly divided into a control group and a study group.

All patients were treated with autologous CIK cell infusion and oxaliplatin. The CIK cells of the control group were induced with IFN- γ , cd3mab, IL-2, and IL-1 in *in vitro* culture period, while those of the study group were induced with IL-12 IFN- γ , CD3mAb, IL-2, and IL-1. After treatment, the clinical effects, the expression of T lymphocyte subsets, the CIK phenotype distribution and killing activity of CIK were compared between the two groups.

RESULTS: The numbers of patients who achieved complete remission, partial remission and improvement in the study group were significantly more than those of the control group ($P < 0.05$); there was no significant difference in the number of patients with stable disease ($P > 0.05$); the number of patients with progressive disease was significantly more in the control group than in the study group ($P < 0.05$). After treatment, the percentages of peripheral blood CD3 $^{+}$, CD3 $^{+}$ CD8 $^{+}$, CD3 $^{+}$ CD16 $^{+}$ CD56 $^{+}$, and CD3 $^{+}$ CD16 $^{+}$ CD56 $^{+}$ T cells were significantly higher in the study group than in the control group ($P < 0.05$), while that of peripheral blood CD3 $^{+}$ CD4 $^{+}$ T cells and the CD3 $^{+}$ CD4 $^{+}$ /CD3 $^{+}$ CD8 $^{+}$ ratio were significantly lower in the study group ($P < 0.05$). The percentages of CD3 $^{+}$ CD4 $^{+}$ cells and CD3 $^{+}$ CD16 $^{+}$ CD56 $^{+}$ T cells and CD3 $^{+}$ CD4 $^{+}$ /CD3 $^{+}$ CD8 $^{+}$ ratio in CIK cells were significantly lower, and the percentage of CD3 $^{+}$ CD8 $^{+}$ T cells was significantly higher in the study group than in the control group ($P < 0.05$). The cytotoxic activity of CIK cells in the study group was also significantly higher than that of the control group.

■背景资料

多种细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine-induced killer, CIK)是一种既具有T细胞抗肿瘤活性又具有自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)非主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)限制性杀伤肿瘤特性的细胞。

■同行评议者

李焱, 副研究员, 中山大学肿瘤防治中心实验研究部

■ 相关报道

目前, 肿瘤的生物治疗是继手术、放疗和化疗以外的第四大肿瘤治疗手段, 它具有不良反应少, 杀伤作用强的特点。而通过化疗联合CIK细胞治疗食管癌则是这种新型治疗手段的一个具体表现。目前已经有不少患者在临床上接受这种新型的治疗手段。

CONCLUSION: IL-12 induced CIK cells combined with chemotherapy improve immune function and efficacy in patients with esophageal cancer.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Interleukin-12; CIK cells; Esophageal carcinoma

Qu WF, Zhang WM, Ding XY. IL-12 induced CIK cells combined with chemotherapy improve immune function and efficacy in patients with esophageal carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(28): 4553-4557 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4553.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i28.4553>

摘要

目的: 探讨白介素(interleukin, IL)-12诱导的细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine-induced killer, CIK)联合化疗治疗食管癌的疗效。

方法: 将无锡市第三人民医院收治的200例食管癌患者按照随机分组的方法分为对照组和研究组, 每组患者100例。两组患者均采用自体CIK细胞输注与奥沙利铂联合方案治疗, 自体CIK细胞在体外培养期间, 以干扰素- γ (interferon, IFN- γ)、白细胞分化抗原-3抗体(cluster of differentiation-3 mice antibody, CD3mAb)、IL-2、IL-1 α 作为诱导剂, 研究组患者自体CIK细胞在体外培养期间, 以IL-12、IFN- γ 、CD3mAb、IL-2、IL-1 α 作为诱导剂。在经过治疗后检测两组患者临床疗效, 外周血T细胞亚群表达情况和CIK体外培养期间的CIK表型分布情况和杀伤活性比较。

结果: 研究组患者治疗完全缓解、部分缓解以及治疗有效人数及所占比例显著高于对照组($P<0.05$), 稳定患者数两组患者无显著差异。治疗后疾病进展人数, 对照组患者显著高于研究组($P<0.05$)。治疗后研究组患者外周血CD3⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁺CD16⁺CD56⁺、CD3⁺CD16⁺CD56⁺T细胞所占比例显著高于对照组患者($P<0.05$); 研究组患者外周血CD3⁺CD4⁺T细胞所占比例和CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺显著低于对照组患者($P<0.05$)。研究组患者CIK细胞CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD16⁺CD56⁺T细胞所占比例及CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺显著低于对照组, 而CD3⁺CD8⁺T细胞所占比例则显著高于对照组患者($P<0.05$)。研究组患者CIK细胞在体外杀伤活性也显著高于对照组患者CIK细胞

($P<0.05$)。

结论: IL-12诱导的CIK细胞联合化疗对于食管癌疗效较好, 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: 白介素-12; CIK细胞; 食管癌

核心提示: 白介素(interleukin)-12体外诱导的细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine-induced killer, CIK)联合奥沙利铂、甲酰四氢叶酸和5-氟尿嘧啶化疗提高食管癌患者疗效主要是通过改变CIK细胞亚型, 从而提高CIK细胞杀伤活性, 调节患者外周血T细胞亚群而实现的。

瞿伟丰, 张卫民, 丁小云. IL-12诱导的CIK细胞联合化疗治疗食管癌的疗效及对患者免疫功能的影响. *世界华人消化杂志* 2015; 23(28): 4553-4557 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4553.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i28.4553>

0 引言

多种细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine-induced killer, CIK)是一种既具有T细胞抗肿瘤活性又具有自然杀伤细胞(natural killer cell)非主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)限制性杀伤肿瘤特性的细胞^[1,2]。使用CIK细胞治疗肿瘤具有快速、高效、不良反应小的优点, 因此这种疗法已经被利用在了临床上, 用于治疗食管癌。食管癌是一种发生率较高的消化系恶性肿瘤, 由于其临床表现较为隐秘, 难以发现, 因此在发现时病情多已经恶化, 患者往往失去了手术机会, 因此找到一种治疗效果好, 不良反应小的治疗方法显得特别重要。

1 材料和方法

1.1 材料 将2013-2014无锡市第三人民医院收治的200位食管癌患者按照随机分组的方法随机分为对照组和研究组, 每组患者100例。患者平均年龄56.3岁 \pm 7.5岁, 经病理学检查证实为食管鳞癌, 所有患者均为IV期。两组患者在年龄及病情分期上不存在显著差异($P>0.05$)。所有进入研究组患者无孕妇, 哺乳期妇女及其他严重疾病患者, 如严重的肝、肾、心脏、骨髓功能异常。所有患者在进入本研究组前均签署知情同意书, 表示愿意配合本研究的一切操作

■ 创新盘点

白介素(interleukin, IL)-12主要由活化的巨噬细胞和B细胞产生, 能刺激多种免疫细胞的增殖和杀伤作用, 是TH0细胞向TH1细胞方向分化过程中的必要因子。

及治疗. 本研究经过无锡市第三人民医院伦理委员会审核通过.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 两组患者在接受采集外周血提取CIK细胞后1 d, 接受化疗治疗. 化疗方法为第1天, 使用奥沙利铂130 mg/m²持续静脉滴注2 h, 第2-6天使用甲酰四氢叶酸200 mg/m², 5-氟尿嘧啶500 mg/m²静脉滴注4-6 h, 每21 d为1个周期, 共进行4个周期的化疗. 在化疗过程中常规使用昂丹司琼注射液止吐. 在两组患者在每次化疗中体外培养的CIK细胞培养时间达到14 d且细胞数量达到 5×10^9 以上后, 经过生物及免疫检测达到临床要求后即离心去除培养液, 用生理盐水洗涤2次, 然后利用100 mL含有2%人血白蛋白的生理盐水重悬, 输回患者体内^[3].

1.2.2 CIK细胞体外培养: 两组患者在每次接受化疗治疗前1 d, 采集外周血100 mL, 用于CIK细胞培养. 经过Ficoll密度梯度离心得到外周血单个核细胞, 然后用PBS洗涤, 用GTT-551无血清培养基重悬, 调整细胞浓度为 1×10^6 /mL. 对照组患者的CIK细胞在第1天加入干扰素- γ (interferon- γ)1000 U/mL, 在37℃、50 mL/L CO₂培养箱中培养24 h, 然后加入终浓度为50 ng/mL的CD3mAb, 500 U/mL的IL-2. 以后每2 d更换培养液, 培养液为含有IL-2 500 U/mL的无血清培养液. 研究组患者CIK细胞培养同对照组, 但是在培养第2天开始每天加入IL-12, 使得培养液内IL-12浓度为10 ng/mL. 所有细胞共培养14 d^[4].

1.2.3 疗效评定: 我们在治疗后评价疗效采用实体肿瘤疗效评价标准^[5]评定. 即完全缓解(complete remission, CR): 所有靶病灶小时, 全部病理淋巴结直径减少至 <10 mm. 部分缓解(partial remission, PR): 靶病灶直径之和较基线水平下降至少30%. 疾病进展(disease progression, PD): 所有靶病灶直径之和增加至少20%. 疾病稳定(disease stability, SD): 靶病灶增加程度未达到PD水平, 靶病灶直径减少程度未达到PR水平. CR+PR为客观缓解. 两组患者在接受治疗前和接受治疗结束1 wk后分别接受胃镜检查, 取食管黏膜组织行病理学活检, 并接受胸部计算机断层扫描(computed tomography, CT)检查, 若患者出现其他不适则增加行相应的检查, 如腹部不适则加做腹部CT、B超等检查来确定患者当时疾病分期状况.

1.2.4 细胞表现鉴定: 患者外周血T细胞亚群检测选择在患者每次进行回输治疗1 wk以后收集患者外周血, 检测患者外周血T细胞CD3⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁺CD16⁺CD56⁺、CD3⁺CD16⁺CD56⁺和CD3⁺CD4⁺T细胞数值及其所占比例. 患者CIK细胞亚群分布情况选择在患者CIK细胞体外培养14 d后, 检测其CIK细胞CD3⁺CD8⁺、CD3⁺CD16⁺CD56⁺和CD3⁺CD4⁺T细胞数量及所占比例. 检测方式为流式细胞分析, 方法参照文献^[6].

1.2.5 CIK细胞杀伤活性检测: CIK细胞体外杀伤活性检测方法也参照文献^[7], 取对数生长期的食管癌EC9706细胞, 将其细胞浓度调整分别至 5×10^4 /mL和 2.5×10^4 /mL, 加入96孔板中, 每孔100 μ L, 于37℃、50 mL/L CO₂细胞培养箱中培养24 h. 然后分别加入各组患者的已经在相应诱导环境下培养14 d的CIK细胞, 调整CIK细胞浓度为 1×10^6 /mL, 每孔加入CIK细胞100 μ L. 空白对照孔仅加入相同体积的培养基, 效应细胞对照孔仅加入CIK细胞不加入肿瘤细胞及10 μ L培养基, 共同孵育48 h. 48 h后各孔均加入浓度为5 mg/mL的MTT溶液20 μ L, 继续培养4 h, 弃去上清, 各孔加入DMSO 100 μ L, 与570 nm处测定吸光度, 计算杀伤率. 杀伤率 = $1 - (\text{实验孔吸光度} - \text{效应细胞对照孔吸光度}) / (\text{空白对照孔吸光度} \times 100\%)$ ^[8,9].

统计学处理 本研究所有研究数据均采用SPSS13.0软件进行统计学处理, 计量资料以mean \pm SD表示, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者治疗后疗效比较 研究组在经过治疗干预后达到完全缓解, 部分缓解和客观缓解比例显著高于对照组($P < 0.05$), 达到稳定比例两组患者无显著差异($P > 0.05$), 治疗后疾病进展比例显著少于对照组($P < 0.05$). 并且通过治疗后回访检查, 我们发现治疗后研究组患者中疾病分期依然处于IV期患者显著少于对照组($P < 0.05$), 而处于IIIa期和IIIb期患者显著多于对照组患者($P < 0.05$). 这说明, 经过IL-12体外诱导的CIK细胞对于食管癌患者的治疗效果较好, 并且可以有效地对IV期食管癌患者起到降期的作用(表1).

2.2 两组患者治疗后外周血T细胞亚群表达水平变化情况 经过不同的治疗方法干预, 研究

应用要点

使用CIK细胞治疗肿瘤具有快速、高效、不良反应小的优点, 因此这种疗法已经被利用在临床上治疗食管癌.

■名词解释

CIK细胞: 是将人外周血单个核细胞在体外用多种细胞因子共同培养一段时间后获得的一群异质细胞。由于该种细胞同时表达CD3⁺和CD56⁺两种膜蛋白分子,故又被称为NK细胞样T淋巴细胞,兼具T淋巴细胞强大的抗瘤活性和NK细胞的非MHC限制性杀瘤优点。

表 1 两组患者治疗后肿瘤分期及疗效比较

分组	对照组	研究组
治疗后分期		
IV期	90	57 ^a
IIIb期	7	23 ^a
IIIa期	3	20 ^a
CR	15	30 ^a
PR	20	38 ^a
SD	32	25
PD	33	7 ^a
CR+PR	35	68 ^a

^a*P*<0.05 vs 对照组。CR: 完全缓解; PR: 部分缓解; PD: 疾病进展; SD: 疾病稳定; CR+PR:客观缓解。

表 2 两组患者治疗后外周血T细胞亚群表达水平变化情况 (mean ± SD, %)

分组	对照组	研究组
CD3 ⁺	53.26 ± 6.22	65.98 ± 3.65 ^a
CD3 ⁺ CD4 ⁺	31.29 ± 9.28	21.26 ± 3.12 ^a
CD3 ⁺ CD8 ⁺	18.19 ± 2.36	35.32 ± 6.22 ^a
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	20.62 ± 6.23	35.36 ± 9.36 ^a
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	3.12 ± 1.06	8.65 ± 2.01 ^a
CD3 ⁺ CD4 ⁺ /CD3 ⁺ CD8 ⁺	1.72 ± 0.36	0.60 ± 0.12 ^a

^a*P*<0.05 vs 对照组。

组患者外周血T细胞亚群表达情况与对照组患者外周血T细胞亚群表达情况存在较大差异。研究组患者外周血CD3⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁺CD16⁺CD56⁺和CD3⁺CD16⁺CD56⁺ T细胞显著高于对照组(*P*<0.05), 而CD3⁺CD4⁺ T细胞和CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺显著低于对照组(*P*<0.05), 这说明经过IL-12体外诱导的CIK细胞回输结合化疗, 可以显著提高食管癌患者外周血CD3⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁺CD16⁺CD56⁺和CD3⁺CD16⁺CD56⁺ T细胞所占比例, 并降低CD3⁺CD4⁺ T细胞所占比例(表2)。

2.3 两组患者CIK细胞亚群表型情况 经过IL-12诱导后, 对照组患者CIK细胞中CD3⁺CD8⁺和CD3⁺CD16⁺CD56⁺ T细胞所占比例显著高于对照组(*P*<0.05), 而CD3⁺CD4⁺ T细胞和CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺则显著低于对照组(*P*<0.05), 这说明IL-12在体外诱导CIK细胞时使得CIK细胞中的CD3⁺CD8⁺和CD3⁺CD16⁺CD56⁺ T细胞所占比例升高, CD3⁺CD4⁺ T细胞所占比例下降(表3)。

2.4 两组患者CIK杀伤活性测定比较 经过IL-12

表 3 两组患者CIK细胞亚群表型情况 (mean ± SD, %)

分组	对照组	研究组
CD3 ⁺ CD4 ⁺	42.98 ± 3.55	19.26 ± 3.22 ^a
CD3 ⁺ CD8 ⁺	50.29 ± 12.28	73.26 ± 15.12 ^a
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	23.62 ± 6.36	12.36 ± 2.36 ^a
CD3 ⁺ CD4 ⁺ /CD3 ⁺ CD8 ⁺	0.85 ± 0.12	0.26 ± 0.09 ^a

^a*P*<0.05 vs 对照组。

诱导培养的研究组患者CIK细胞和未经过IL-12诱导培养的对照组患者CIK细胞的杀伤活性在效靶比40:1条件下分别为49.26 ± 8.26和32.16 ± 2.16, 研究组患者显著高于对照组(*P*<0.05), 在效靶比20:1条件下分别为25.36 ± 4.76和16.75 ± 3.65, 研究组患者显著高于对照组(*P*<0.05), 这说明IL-12体外诱导培养CIK细胞, 可以显著提高其杀伤活性。

3 讨论

近年来, 越来越多的研究^[10,11]证实, CIK细胞是一种具有强大杀瘤活性的细胞, 在治疗肿瘤方面具有很大的应用前景。目前, 肿瘤的生物治疗是继手术, 放疗和化疗以外的第四大肿瘤治疗手段, 它具有不良反应少, 杀瘤作用强的特点^[12,13]。而通过化疗联合CIK细胞治疗食管癌则是这种新型治疗手段的一个具体表现^[14,15]。目前已经有不少患者在临床上接受这种新型的治疗手段, 但是在CIK细胞体外诱导时究竟应该使用何种细胞因子诱导尚未达成共识, 因此, 我们的实验正是为了研究IL-12诱导的CIK细胞对于食管癌患者的疗效。

我们知道奥沙利铂对于肿瘤细胞的杀伤作用主要是依赖铂原子在肿瘤细胞的DNA中形成交联从而导致其复制和转录作用受到阻碍造成的, 而联合5-氟尿嘧啶, 可以通过5-氟尿嘧啶对于肿瘤细胞S期的特殊作用导致其合成收到抑制从而起到阻碍肿瘤细胞增殖的作用。而CIK细胞是一种具有强大的T细胞抗瘤活性的细胞。这种细胞还具有MHC限制性杀瘤作用, 因此其对于正常细胞杀伤和影响较小。联合化疗和CIK细胞的联合疗法可以起到对肿瘤细胞杀伤力更强而对于正常组织保护更好的作用。

我们在研究中发现使用加用IL-12诱导的CIK细胞联合奥沙利铂, 甲酰四氢叶酸和5-氟

尿嘧啶化疗的研究组患者治疗效果显著优于对照组患者。其完全缓解, 部分缓解和客观缓解的患者数量及其所占比例显著高于对照组 ($P<0.05$), 病情稳定患者数目及其所占比例在两组患者间无显著差异, 病情恶化患者数量及所占比例显著少于对照组患者 ($P<0.05$), 并且在经过治疗以后研究组患者在治疗结束以后患者疾病分期显著降期, IIIa和IIIb期患者显著多于对照组患者 ($P<0.05$)。

为了探究研究组的治疗效果显著优于对照组患者的原因, 我们接着做了下面的研究, 首先我们探究了再CIK细胞回输后两组患者的免疫细胞表型分布情况, 因此我们研究了两组患者外周血T细胞表型分布情况。我们发现, 经过两种不同的CIK细胞回输干预后, 两组患者外周血T细胞表型发生了极大的改变。研究组患者外周血T细胞CD3⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁺CD16⁺CD56⁺和CD3⁺CD16⁺CD56⁺ T细胞显著高于对照组 ($P<0.05$), 而CD3⁺CD4⁺ T细胞和CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺显著低于对照组 ($P<0.05$)。这提示, 经过IL-12诱导的CIK细胞回输到患者体内后可能是通过提高患者细胞免疫能力, 提高患者细胞毒性T细胞的比例, 来增加对于肿瘤细胞的杀伤作用。

为了探究IL-12对于CIK细胞本身的影响, 接下来我们研究了两组患者CIK细胞经过体外培养14 d后的杀伤活性和CIK细胞表型的变化情况。经过研究我们发现研究组患者CIK细胞中CD3⁺CD8⁺和CD3⁺CD16⁺CD56⁺ T细胞所占比例显著高于对照组 ($P<0.05$), 而CD3⁺CD4⁺ T细胞和CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺则显著低于对照组 ($P<0.05$)。而体外杀伤活性试验中发现在效靶比20:1和40:1状态下, 研究组CIK细胞杀伤活性都显著高于对照组 ($P<0.05$)。

因此我们可以认为IL-12体外诱导的CIK细胞联合奥沙利铂, 甲酰四氢叶酸和5-氟尿嘧

啶化疗提高食管癌患者疗效主要是通过改变CIK细胞亚型, 从而提高CIK细胞杀伤活性, 调节患者外周血T细胞亚群实现的。但是我们的研究还未从基因层面研究, 这是我们下一步的研究方向。

4 参考文献

- 1 黄志煜, 范云, 罗吕宏. 紫杉醇联合顺铂治疗晚期食管癌51例. 肿瘤学杂志 2008; 14: 387-388
- 2 杨莉, 付波. 复方苦参注射液联合同步放化疗治疗中晚期食管癌的临床观察. 中国医院用药评价与分析 2011; 11: 168-169
- 3 范哲, 温泉, 梁林株. 平消胶囊合并化疗治疗消化系统恶性肿瘤100例临床观察. 当代医学 2009; 16: 149-150
- 4 张富同, 李秀莉. 平消胶囊与放疗同步治疗中上段食管癌疗效的对比性研究. 河北中医 2010; 29: 786-787
- 5 杨光, 王彬, 何志洁. 自体CIK细胞治疗晚期恶性肿瘤的临床研究. 南京医科大学学报(自然科学版) 2009; 29: 1746-1747
- 6 关红梅. 自体细胞因子诱导的杀伤细胞CIK过继性免疫治疗恶性肿瘤的临床观察. 中国现代药物应用 2011; 15: 168-169
- 7 袁玉涛, 王志华, 秦莉. IL-24对细胞因子诱导的杀伤细胞的作用. 世界华人消化杂志 2007; 15: 548-553
- 8 陈玉珍, 陈开珠, 曾近静. 紫杉醇在肿瘤化疗治疗中的观察及护理. 齐鲁护理杂志 2009; 15: 249-250
- 9 蒋光耀. 食管癌外科的治疗进展. 重庆医学 2004; 33: 161-162
- 10 聂鑫, 刘侃峰, 滕少侠. CIK治疗恶性肿瘤的研究进展及临床应用现状. 中国实用医药 2007; 2: 106-107
- 11 张志凯, 祁岩超. 健康人和肿瘤患者CIK细胞的生物学特性. 中国热带医学 2009; 9: 253-255
- 12 刘桂举, 梅家转, 栗敏, 林宏伟. 李瑞君细胞因子诱导的杀伤细胞免疫表型及其对EC9706细胞杀伤活性的影响. 郑州大学学报(医学版) 2010; 45: 24-27
- 13 梅家转, 刘桂举, 李瑞君, 栗敏, 张晓娟. IL-15上调NKG2D表达对CIK细胞杀伤活性的增强效应. 肿瘤防治研究 2011; 38: 243-245
- 14 余莉华, 曾雅丽, 胡亮杉, 贺艳杰, 黄宇贤, 宋朝阳, 郭坤元. 支甲斑蝥素联合IL-12、IL-15处理增强PBMC对Raja细胞的杀伤效应. 中国肿瘤生物治疗杂志 2012; 19: 472-477
- 15 Jiang JT, Shen YP, Wu CP, Zhu YB, Wei WX, Chen LJ, Zheng X, Sun J, Lu BF, Zhang XG. Increasing the frequency of CIK cells adoptive immunotherapy may decrease risk of death in gastric cancer patients. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 6155-6162 [PMID: 21182234]

■同行评价

本研究中作者进行了IL-12诱导的CIK细胞联合奥沙利铂治疗晚期食管癌的疗效探讨, 结果显示IL-12诱导CIK实验组患者获得完全缓解、部分缓解以及治疗有效人数明显高于对照组, 实验组疗效优于对照组。作者并指出实验组CIK细胞的体外杀伤细胞活性也显著高于对照组。

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利



急诊内镜在急性非静脉曲张性上消化道出血治疗的应用

杜绍山, 孙树申, 宋燕峰, 郝术安

■背景资料

非静脉曲张性上消化道出血是消化系常见的临床急症。随着人们生活水平的提高、生活方式的改变及非甾体抗炎药物等的广泛应用, 其发病率正呈逐渐上升的趋势, 及时明确出血部位并给予积极治疗对其预后具有重要意义。近年来, 急诊内镜已成为诊疗非静脉曲张性上消化道出血(acute non variceal upper gastrointestinal bleeding, ANVUGIB)的首选方法, 可显著提高治愈率, 降低死亡率。

杜绍山, 孙树申, 宋燕峰, 郝术安, 天津市津南区咸水沽医院内科 天津市 300350

杜绍山, 主治医师, 主要从事肝脏相关疾病及消化系统疾病的相关研究。

作者贡献分布: 杜绍山与孙树申对此文所作贡献均等; 此课题的设计由杜绍山、孙树申完成; 病例采集由杜绍山、孙树申、宋燕峰及郝术安完成; 数据分析与文章起草由杜绍山完成; 文章修改与审阅由杜绍山与孙树申完成。

通讯作者: 孙树申, 主治医师, 300350, 天津市津南区津沽路120号, 天津市津南区咸水沽医院内科。sss1104@126.com
 电话: 022-28572707

收稿日期: 2015-07-14 修回日期: 2015-08-10

接受日期: 2015-08-20 在线出版日期: 2015-10-08

Efficacy of emergency endoscopy in treatment of acute non-variceal upper gastrointestinal bleeding

Shao-Shan Du, Shu-Shen Sun, Yan-Feng Song, Shu-An Hao

Shao-Shan Du, Shu-Shen Sun, Yan-Feng Song, Shu-An Hao, Department of Internal Medicine, Xianshuigu Hospital of Jinnan District, Tianjin 300350, China

Correspondence to: Shu-Shen Sun, Attending Physician, Department of Internal Medicine, Xianshuigu Hospital of Jinnan District, 120 Jingu Road, Jinnan District, Tianjin 300350, China. sss1104@126.com

Received: 2015-07-14 Revised: 2015-08-10

Accepted: 2015-08-20 Published online: 2015-10-08

Abstract

AIM: To evaluate the clinical effects of emergency endoscopy in the treatment of acute non-variceal upper gastrointestinal bleeding.

METHODS: A retrospective analysis was performed of 126 patients with acute non-variceal upper gastrointestinal bleeding who were treated by emergency endoscopy or elective

endoscopy at our hospital between March 2010 and September 2013. The causes of acute non-variceal upper gastrointestinal bleeding were analyzed. The rate of bleeding, the success rate of hemostasis, rebleeding rate, surgery rate and hospitalization time were compared in the two groups.

RESULTS: The most common cause of acute non-variceal upper gastrointestinal bleeding was peptic ulcer (44.4%), followed by acute gastric mucosal lesions (12.7%) and gastrointestinal cancer (11.9%). A total of 116 (126) cases of bleeding were detected, and the positive rate was 92.1%. The rate of bleeding was significantly higher in the emergency endoscopy group (97.1%) than in the elective endoscopy group (85.7%) ($P < 0.05$). The rebleeding rate (2.9%), surgical rate (1.5%) and hospitalization time were significantly lower in the emergency endoscopic group than in the elective endoscopy ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Emergency endoscopy is convenient, efficient, and less invasive, and is the preferred treatment for acute non-variceal upper gastrointestinal bleeding.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Upper gastrointestinal bleeding; Emergency endoscopy; Elective endoscopy; Treatment

Du SS, Sun SS, Song YF, Hao SA. Efficacy of emergency endoscopy in treatment of acute non-variceal upper gastrointestinal bleeding. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(28): 4558-4562 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4558.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i28.4558>

■同行评议者

林志辉, 教授, 福建省立医院消化内科

摘要

目的: 探讨急诊内镜对急性非静脉曲张性上消化道出血的治疗效果。

方法: 回顾性分析天津市咸水沽医院2010-03/2013-09收治的126例行急诊内镜及择期内镜诊疗急性非静脉曲张性上消化道出血患者的病例资料, 总结急性非静脉曲张性上消化道出血的病因, 分析比较两组的阳性检出率、止血成功率、再出血率、手术率及住院时间。

结果: 患者上消化道出血病因以消化系溃疡(44.4%)、急性胃黏膜病变(12.7%)和消化系肿瘤(11.9%)为主; 126例患者内镜下检出阳性病变116例, 阳性检出率92.1%, 其中急诊内镜组(97.1%)明显高于择期内镜组(85.7%), 两组阳性检出率差异有统计学意义($P < 0.05$); 急诊内镜组的再出血发生率(2.9%)、手术率(1.5%)、住院时间显著低于择期内镜组($P < 0.05$)。

结论: 急诊内镜治疗急性非静脉曲张性上消化道出血方便快捷、起效迅速、疗效确切、且创伤性小, 可明显改善患者预后, 是其首选诊疗方式。

© 2015版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 上消化道出血; 急诊内镜; 择期内镜; 治疗

核心提示: 本文研究显示急诊内镜(97.1%)的止血率高于择期内镜(87.5%), 且其再出血发生率、手术率、住院时间均明显低于择期内镜组, 提示急诊内镜可显著改善非静脉曲张性上消化道出血(acute non variceal upper gastrointestinal bleeding, ANVUGIB)患者的预后。急诊内镜一般在入院12-24 h进行, 对于急性大出血患者, 及时、尽早的内镜检查是十分必要的。

杜绍山, 孙树申, 宋燕峰, 郝术安. 急诊内镜在急性非静脉曲张性上消化道出血治疗的应用. 世界华人消化杂志 2015; 23(28): 4558-4562 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4558.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i28.4558>

0 引言

非静脉曲张性上消化道出血(acute non variceal upper gastrointestinal bleeding, ANVUGIB)是消化系常见的临床急症, 是指由Treitz韧带以上包括食道、胃、十二指肠、空肠、胆道及

胰腺等疾病所致的非静脉曲张性出血, 其中以消化系溃疡所致出血最为常见^[1,2]。随着人们生活水平的提高、生活方式的改变及非甾体抗炎药物等的广泛应用, 其发病率正呈逐渐上升的趋势, 及时明确出血部位并给予积极治疗对其预后具有重要意义。近年来, 随着内镜技术的普及, 急诊内镜已成为诊疗ANVUGIB的首选方法, 可显著提高治愈率, 降低死亡率^[3,4]。本研究回顾性分析了天津市咸水沽医院2010-03/2013-09收治的126例行急诊内镜及择期内镜诊疗ANVUGIB的患者, 旨在探讨急诊内镜的诊疗效果, 为更好的使用急诊内镜及选择内镜时机治疗ANVUGIB提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料 纳入天津市咸水沽医院2010-03/2013-09收治的急性非静脉曲张性上消化道出血患者126例, 其中, 男72例, 女54例, 平均年龄 42.3 ± 9.1 岁。所选患者临床表现主要为不同程度的呕血、黑便, 且经实验证实为上消化道出血, 既往无消化道出血病史; 排除其他原因所致出血者。按内镜手术时间分为急诊内镜组(入院24 h内行胃镜检查者, $n = 70$)和择期内镜组(入院 >24 h行胃镜检查者, $n = 56$)。两组患者在性别、年龄及饮食习惯等方面比较差异均无统计学意义($P > 0.05$), 具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 术前准备: 患者入院后嘱其禁食, 常规体格检查及心电图、血常规等检查, 建立静脉通道, 常规止血、补液、抑酸等治疗。对于有休克征象的患者予以迅速输血、扩容, 纠正休克, 维持生命体征。术前根据患者情况可给予肌注安定镇静及654-2解除痉挛。

1.2.2 操作: 采用OLYMPUS公司GIF-Q260J型胃镜。患者行胃镜检查时发现出血灶后, 先以1/万冰肾上腺素生理盐水反复冲洗, 同时吸除胃腔内积血, 尽可能清晰的显出血灶。根据出血灶情况适当选择镜下止血方式(如局部药物止血、注射止血、钛夹止血或联合应用止血等)。无活动性出血后退出胃镜。

1.2.3 术后处理: 内镜止血成功后, 常规留置胃管, 禁食水, 并继续给予抑酸、补液等基础治疗。密切监测患者生命体征, 通过观察大便色泽性状及检测血红蛋白水平变化等判断止血疗效。内镜治疗后仍发生呕血、大量黑便, 血红蛋白及血压持续下降者视为治疗无效, 积极

■ 研究前沿

本文总结了急诊内镜与择期内镜检查对急性非静脉曲张性上消化道出血患者病因诊断以及止血治疗效果的差异, 为临床及时采取内镜治疗急性非静脉曲张性上消化道出血提供必要的依据。

■ 相关报道

Klein总结了一套治疗急性非静脉曲张性上消化道出血的结构化方法, 包括早期评估, 早期血流动力学复苏, 24 h内行内镜止血治疗等, 可以有效提高患者的预后。龚好等人比较了急诊内镜下多种治疗方法的应用, 并采用多种方法联合应用, 取得了很好的治疗效果。

■ 创新盘点

本文收集了126例急性非静脉曲张性上消化道出血患者, 比较了急诊内镜与择期内镜的病因诊断及止血效果, 为临床选择合适的内镜时间及方式提供了更好的依据。

表 1 两组患者出血病因检出情况

病因	总检出率[n(%)]	急诊内镜组(n)	择期内镜组(n)
十二指肠溃疡	31(24.6)	18	13
胃溃疡	25(19.8)	11	14
急性胃黏膜病变	16(12.7)	11	5
肿瘤	15(11.9)	7	8
Mallory-Weiss 综合征	11(8.7)	8	3
吻合口溃疡	9(7.1)	5	4
胃息肉切除术后出血	5(4.0)	5	0
Dieulafoy病	4(3.2)	3	1
合计[n(%)]	116(92.1)	68(97.1)	48(85.7) ^a

^a $P<0.05$ vs 急诊内镜组。

转入外科进行手术治疗。

1.2.4 止血标准: 止血成功判定标准: 胃镜下无活动性出血; 患者生命体征平稳, 无呕血、黑便等表现; 粪便隐血试验阴性。再出血判断标准^[5]: 呕血、黑便停止后再次出现, 伴肠鸣音活跃; 红细胞、血红蛋白持续下降; 血压持续下降, 快速输液、输血后周围循环衰竭未见明显改善; 胃管引流液澄清后再次出现血性或咖啡色液体, 出现以上任一情况定义为再出血。

1.2.5 观察指标: 观察记录两组病因检出情况、止血成功率、输血率、再出血发生率、住院时间等情况。

统计学处理 采用SPSS17.0 统计软件分析, 计量资料以mean±SD表示, 采用 t 检验, 计数资料以率表示, 采用 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 126例患者内镜下检出阳性病变116例, 阳性检出率92.1%(116/126), 急诊内镜组68例(97.1%, 68/70), 择期内镜组48例(85.7%, 48/56), 两组阳性检出率差异有统计学意义($P<0.05$)。其中6例(4.8%)患者因新鲜出血、胃腔内血液残余较多等原因, 内镜下未能明确出血病灶, 转入外科手术, 其中急诊内镜组2例, 择期内镜组8例。116例内镜下检出病变患者以消化系溃疡、急性胃黏膜病变为主, 各病因检出情况如表1。

2.2 疗效评价 116例检出阳性病变者首次胃镜止血成功108例, 急诊内镜66例(66/68, 97.1%), 择期胃镜42例(42/48, 87.5%), 余患者

再次行胃镜予以止血, 两组止血成功率无明显统计学差异($P>0.05$)。再出血发生率急诊内镜(2.9%, 2/68)显著低于择期内镜组(16.7%, 8/48)($P<0.05$); 手术率(1.5%, 1/68)显著低于择期内镜组(12.5%, 6/48)($P<0.05$); 住院时间显著短于择期内镜组(7.9 ± 2.1 d vs 10.7 ± 1.9 d, $P<0.01$)。

3 讨论

急性非静脉曲张性上消化道出血是消化内科常见的危重症之一, 病情凶险, 不及时处理常会危及患者生命, 以往以手术治疗为主, 死亡率高。近年来, 关于上消化道出血的临床研究有较大进展, 尤其是内镜技术在临床的普及以及多种内镜下止血方法的开展, 使得ANVUGIB的手术率及死亡率显著降低^[6,7]。ANVUGIB患者主要临床表现为呕血和/或黑便症状, 其病因大多由上消化道的病变引起, 只有少数可能是胆胰疾病引起。本文通过内镜诊断ANVUGIB的病因, 研究结果显示, 内镜检出的阳性病变率为92.1%, 其中病变主要以消化系溃疡(44.4%)、急性胃黏膜病变(12.7%)、上消化道肿瘤(11.9%)最为常见, 另外病变的类型还包括Mallory-Weiss综合征、吻合口溃疡、胃息肉切除术后出血和Dieulafoy病。徐祖胜等^[8]的研究报道, 胃镜检查引起ANVUGIB的病因中消化性溃疡占首位, 其次为糜烂出血性胃炎、上消化道肿瘤, 其他原因引起的非静脉曲张性上消化道出血较少, 与本研究结果基本一致。李贵庆等^[9]收集分析的临床资料也显示, 十二指肠球部溃疡是ANVUGIB的首要病因。因此, 内镜越来越成为上消化道出血最有价值

的诊断手段, 其在多数情况下可明确病灶出血量、出血部位、出血病因以及是否仍有活动性出血等情况, 便于及时采取下一步治疗措施, 挽救生命。

对于ANVUGIB的内镜检查一般有急诊内镜(一般在入院12-24 h进行)及择期内镜(入院24 h后)检查, 正确的选择内镜检查时机并尽可能早的诊断出血原因是ANVUGIB诊断和治疗的关键。本研究结果显示, 急诊内镜组的病因检出率(97.1%)显著高于择期内镜组(85.7%), 该结果提示越早行内镜检查, ANVUGIB病因阳性检出率就越高。考虑一方面由于消化系黏膜血流较丰富且修复能力强, 某些较轻的急性胃黏膜病变48 h内经药物治疗后可修复而致无法发现出血原因^[10]; 另一方面对于某些出血较严重不易修复的病变, 长时间出血可致胃内血液量增大, 大量的血液淤积时导致内镜无法识别出血部位而不易检出; 此外, 急诊内镜检查可及早取病变组织活检行病理学检查以及时发现可疑恶性病灶, 相对而言择期内镜则可能延误早中期的消化系肿瘤诊断。急诊内镜一般在入院12-24 h进行, 对于急性大出血患者, 及时、尽早的内镜检查是十分必要的^[11]。

随着内镜的广泛普及, 目前急诊内镜治已成为治疗ANVUGIB的首选止血治疗方法, 其不仅可明确出血原因, 而且还可及时通过内镜的观察实施有效的止血治疗。本研究结果显示急诊内镜(97.1%)的止血率高于择期内镜(87.5%), 且其再出血发生率、手术率、住院时间均明显低于择期内镜组, 提示急诊内镜可显著改善ANVUGIB患者的预后。我们认为由于择期内镜未能检出部分已暂时修复或由于出血量大而看不清的出血点, 致其阳性检出率偏低, 而使患者输血率增高, 相应再出血发生率增高, 最终使患者住院时间延长, 住院费用增加, 并在一定程度影响患者预后, 该结果与以往研究报道^[12]一致。目前临床应用中有多种内镜下止血方法^[13], 一般包括局部喷洒药物、注射药物、电凝、微波和钛夹止血等。各种方法各有优势, 其中, 据临床研究报道^[14]钛夹止血可夹闭黏膜血管断端, 尤其对活动性喷射性的小动脉出血效果显著, 对暴露显露的血管出血止血疗效确切, 止血效果最佳。并且有研究报道^[1,15], 急诊内镜与内科保守治疗相比其止血有效率

显著增高, 再出血率及手术率显著降低, 而且多种内镜下止血方法联合应用可进一步提高ANVUGIB患者的止血成功率, 降低远期再出血率。

总之, 急诊内镜治疗急性上消化道出血方便快捷、起效迅速、疗效确切、且创伤性小, 可明显改善患者预后, 是ANVUGIB的首选诊疗方式。急诊内镜治疗的再出血率、手术率、住院时间、医疗费用等均明显低于择期内镜组及内科药物治疗组, 其阳性检出率明显高于择期内镜组。此外, 在内镜诊疗上消化道出血时, 正确选择内镜检查时机尤为重要。

4 参考文献

- 1 龚好, 仲敏, 陈怡, 朱长清. 急诊内镜在急性非静脉曲张性上消化道出血中的诊疗价值. 胃肠病学 2011; 16: 367-369
- 2 刘文平, 黄彩云. 国产奥美拉唑治疗急性非静脉曲张性上消化道出血的Meta分析. 中国循证医学杂志 2013; 13: 723-727
- 3 杨春明. 现代急诊外科学. 第1版. 北京: 人民军医出版社, 2001: 282-292
- 4 Kanwal F, Barkun A, Gralnek IM, Asch SM, Kuipers EJ, Bardou M, Sung J, Enns R, Agreus L, Armstrong D, Spiegel BM. Measuring quality of care in patients with nonvariceal upper gastrointestinal hemorrhage: development of an explicit quality indicator set. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 1710-1718 [PMID: 20686458 DOI: 10.1038/ajg.2010.180]
- 5 中国医师协会急诊医师分会. 急性上消化道出血急诊诊治专家共识. 中国急救杂志 2010; 30: 289-293
- 6 李闻, 钟尚志. 急诊内镜治疗非静脉曲张性上消化道出血. 中国消化内镜 2007; 1: 54-58
- 7 Klein A, Gralnek IM. Acute, nonvariceal upper gastrointestinal bleeding. *Curr Opin Crit Care* 2015; 21: 154-162 [PMID: 25692808 DOI: 10.1097/MCC.000000000000185]
- 8 徐祖胜, 冯亚东. 急性非静脉曲张性上消化道出血急诊内镜及临床因素分析. 南京医科大学学报(自然科学版) 2012; 32: 1417-1419
- 9 李贵庆, 丁岩冰, 吴健, 余金玲, 邓彬, 姚光怀, 王远志, 关媛. 急性非静脉曲张性上消化道出血临床特征分析. 胃肠病学与肝病学杂志 2012; 21: 847-850
- 10 张茹, 沈冰冰, 钱家鸣, 郭树彬. 急诊消化道出血的临床特征与诊治分析. 中华内科杂志 2010; 49: 38-41
- 11 Spiegel BM. Endoscopy for acute upper GI tract hemorrhage: sooner is better. *Gastrointest Endosc* 2009; 70: 236-239 [PMID: 19631802 DOI: 10.1016/j.gie.2008.12.053]
- 12 张林, 林旭. 急诊内镜治疗非静脉曲张性上消化道出血的临床效果观察. 中国当代医药 2012; 20: 47-48
- 13 Anjiki H, Kamisawa T, Sanaka M, Ishii T, Kuyama Y. Endoscopic hemostasis techniques for upper gastrointestinal hemorrhage: A review. *World J Gastrointest Endosc* 2010; 2: 54-60 [PMID: 21160691 DOI: 10.4253/wjge.v2.i2.54]
- 14 Kim DH, Kwon CI, Chung JG, Ko KH, Kim MD, Hong SP, Park PW. Endoscopic hemostasis with multiple hemoclips and an endoloop for

应用要点

本文总结了急诊内镜与择期内镜检查对急性非静脉曲张性上消化道出血患者病因诊断以及止血治疗效果的差异, 为临床及时采取内镜治疗急性非静脉曲张性上消化道出血提供必要的依据。

■同行评价

该文分析了文章总结了急诊内镜与择期内镜检查对急性非静脉曲张性上消化道出血患者病因诊断以及止血治疗效果的差异, 对临床有一定参考意义.

uncontrolled peptic ulcer bleeding. *Endoscopy* 2011; 43 Suppl 2 UCTN: E3-E4 [PMID: 21271528 DOI: 10.1055/s-0030-1255986]

15 蔡旭华, 李伟平, 刘江, 蒋海根, 张军. 急诊内镜诊治非静脉曲张性上消化道出血171例体会. *现代实用医学* 2011; 23: 67-68

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》消化护理学领域征稿启事

本刊讯 为了促进消化护理学领域的事业发展,《世界华人消化杂志》已成立消化护理学编辑委员会. 将主要报道消化护理学的基础研究, 临床研究, 临床护理实践和护理管理等原始和综述性文章.

《世界华人消化杂志》成立消化护理学编辑委员会, 由周谊霞副教授(http://www.wjgnet.com/1009-3079/edboard_706.htm)等77位专家组成, 分布在24个省市. 其中上海市11位, 陕西省8位, 山东省7位, 黑龙江省7位, 辽宁省6位, 北京市5位, 广东省5位, 河北省3位, 贵州省3位, 湖北省2位, 浙江省2位, 四川省2位, 福建省2位, 江苏省2位, 云南省2位, 新疆维吾尔自治区2位, 甘肃省1位, 海南省1位, 江西省1位, 山西省1位, 天津市1位, 安徽省1位, 河南省1位和吉林省1位. 均来自高等院校和附属医院, 其中主任护师16位, 教授1位, 副主任护师49位, 副教授4位, 主管护师7位.

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的一份学术刊物. 我们真心欢迎消化内科, 消化外科等领域从事护理学工作者积极宣传和踊跃投稿至《世界华人消化杂志》. 请在线投稿, 网址见: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>

《世界华人消化杂志》2014年收到自由投稿和约稿2192篇. 出版手稿937篇(42.7%), 退稿1220篇(55.7%). 邀请476位编委参与同行评议.

《世界华人消化杂志》被国际检索系统美国《化学文摘》(Chemical Abstracts, CA)、荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》收录.

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)编辑和出版. BPG主要从事43种国际性生物医学刊物的编辑和出版工作, 包括旗舰刊物《世界胃肠病学杂志(*World Journal of Gastroenterology, WJG*)》.(郭鹏)

残胃癌再次手术根治性的相关因素

陈长义, 余培东

陈长义, 宁夏回族自治区固原市医院普外科 宁夏回族自治区固原市 756000
余培东, 宁夏回族自治区固原市医院肿瘤外科 宁夏回族自治区固原市 756000

陈长义, 副主任医师, 主要从事肝胆胰胃肠疾病的研究。

作者贡献分布: 本文主要由陈长义与余培东共同写作完成。

通讯作者: 陈长义, 副主任医师, 756000, 宁夏回族自治区固原市文化路83号, 宁夏回族自治区固原市医院普外科。

ningxiachenchangyi@163.com

电话: 0954-2022131

收稿日期: 2015-06-17 修回日期: 2015-07-29

接受日期: 2015-08-10 在线出版日期: 2015-10-08

Risk factors for radical reoperation in patients with remnant gastric cancer

Chang-Yi Chen, Pei-Dong Yu

Chang-Yi Chen, Department of General Surgery, Ningxia Guyuan Hospital, Guyuan 756000, Ningxia Hui Autonomous Region, China

Pei-Dong Yu, Department of Tumor Surgery, Ningxia Guyuan Hospital, Guyuan 756000, Ningxia Hui Autonomous Region, China

Correspondence to: Chang-Yi Chen, Associate Chief Physician, Department of General Surgery, Ningxia Guyuan Hospital, 83 Wenhua Road, Guyuan 756000, Ningxia Hui Autonomous Region, China. ningxiachenchangyi@163.com

Received: 2015-06-17 Revised: 2015-07-29

Accepted: 2015-08-10 Published online: 2015-10-08

Abstract

AIM: To identify the risk factors for radical reoperation in patients with remnant gastric cancer.

METHODS: A retrospective analysis was performed of clinical data for 60 patients with recurrent gastric stump cancer who underwent a second surgery from January 2009 to January

2015 at Ningxia Guyuan Hospital. Risk factors for radical reoperation were identified.

RESULTS: Of 60 patients, 26 (43.33%) were treated by radical surgery, 16 (26.67%) were treated by palliative surgery, 15 (25.00%) by gastric bypass surgery and jejunostomy, and 3 (5.00%) did not underwent surgery. Univariate analysis showed that age, gastrointestinal reconstruction, TNM stage at initial surgery, N stage at initial surgery, lymph node dissection, symptomatic recurrence, interval between recurrence and the second surgery, time to recurrence, adjuvant chemotherapy, *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection, low stomach acid, and histology were significantly associated with a second radical surgery ($P < 0.05$). Multivariate Logistic regression analysis showed that age > 60 years, N stage at initial surgery, TNM stage at initial surgery, symptomatic relapse, *H. pylori* infection, histological type and low stomach acid were independent risk factors for a second radical surgery ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Age > 60 years, TMN stage III at initial surgery, N0 stage at initial surgery, symptomatic relapse, *H. pylori* infection, low acid and histological type are independent risk factors for a second radical surgery in patients with remnant gastric cancer.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Remnant gastric cancer; Reoperation; Radical surgery; Risk factors

Chen CY, Yu PD. Risk factors for radical reoperation

背景资料

胃癌是临床中常见的恶性肿瘤, 临床治疗胃癌的主要方案为手术切除, 但是胃癌术后患者体内的残胃可能会导致癌前病变, 因而患者需要进行残胃癌再次手术, 本研究对残胃癌再次手术根治性的相关因素进行了探究。

同行评议者

禹正杨, 副教授, 南华大学附属第一医院

■ 研究前沿

本研究对残胃癌再次手术根治性的相关因素进行了探究, 通过回顾性分析60例患者的临床资料和病理资料, 了解其相关因素。

in patients with remnant gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(28): 4563-4567 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4563.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i28.4563>

摘要

目的: 探究残胃癌再次手术根治性的相关因素, 以期能为后期临床治疗提供参考依据。

方法: 回顾性分析2009-01/2015-01宁夏回族自治区固原市医院普外科收治的因残胃再发癌接受二次手术的60例患者的临床资料。对残胃癌再次手术根治性的相关因素进行探究。

结果: 60例患者中有26(43.33%)例患者采用根治性残胃切除手术, 16(26.67%)例患者采用姑息性残胃切除手术, 15(25.00%)例患者采用空肠造瘘和短路术, 3(5.00%)例患者无法进行手术。单因素分析结果显示, 患者的年龄、消化系重建方式、初次手术TNM分期、初次手术N分期、淋巴结清扫范围、复发时有无症状、复发与二次手术间隔时间、复发时间、术后辅助化疗、幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染、低胃酸、组织学分化均与患者的二次手术根治性有一定的相关性($P<0.05$)。多因素Logistic回归分析结果显示, 患者的年龄 >60 岁、初次手术N分期、初次手术TNM分期、复发时有症状、*H. pylori*感染、组织学类型和低胃酸为残胃癌再次手术患者根治性的独立危险因素($P<0.05$)。

结论: 年龄 >60 岁、初次手术时TMN分期为Ⅲ期、初次手术时N分期为N0期、复发时有症状、发生*H. pylori*感染、低胃酸且组织学类型为腺癌的患者二次手术的根治率较低。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 残胃癌; 再次手术; 根治性手术; 相关因素

核心提示: 本研究通过回顾性分析患者的临床资料和病理资料, 对残胃癌再次手术根治性的相关因素进行单因素和多因素分析, 通过分析发现各因素对残胃癌再次手术都有一定的影响, 但年龄 >60 岁、初次手术时TMN分期为Ⅲ期、初次手术时N分期为N0期、复发时有症状、发生幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*)感染、低胃酸且组织学类型为腺癌的患者二次手

术的根治率不高, 需要在治疗时特别注意, 也为今后该病的治疗提供十分重要的指导意义。

陈长义, 余培东. 残胃癌再次手术根治性的相关因素. 世界华人消化杂志 2015; 23(28): 4563-4567 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4563.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i28.4563>

0 引言

胃癌是临床中常见的恶性肿瘤, 临床治疗胃癌的主要方案为手术切除, 但是胃癌术后患者体内的残胃可能会导致癌前病变^[1]。残胃再发癌是指胃癌患者在进行胃切除术后体内残留的胃组织发生与原发胃癌类型不同的病变, 残胃再发癌具有较高的恶性程度, 且根治性切除率低, 同时残胃再发癌的复发率和死亡率较高, 对患者的生活造成了严重的影响^[2]。临床上多给予残胃再发癌患者根治性切除手术治疗, 但是仅有少部分患者适合使用根治性切除手术治疗^[3]。为了对残胃再发癌的预防提供参考, 本文就残胃癌再次手术根治性的相关因素进行了探究。现分析报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 回顾性分析2009-01/2015-01宁夏回族自治区固原市医院普外科收治的因残胃再发癌接受二次手术的60例患者的临床资料。其中男46例, 女14例。年龄为42-84岁, 平均年龄为59.2岁 \pm 8.3岁。纳入标准: (1)所有患者均为胃癌术后患者; (2)所有患者均为胃癌术后5年内发生新类型残胃癌患者; (3)患者的临床资料和病理资料完整。排除标准: (1)合并免疫系统疾病或者慢性疾病的患者; (2)心、肾、肝、肺等器官有严重的功能障碍者。

1.2 方法 回顾性分析患者的临床资料和病理资料, 主要包括: 年龄、性别、肿瘤分化程度、肿瘤位置、手术方式、初次手术T分期、消化系重建方式、初次手术TNM分期、初次手术N分期、淋巴结清扫范围、淋巴结清扫数、复发时有无症状、复发与二次手术间隔时间、复发时间、术后辅助化疗、幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染、低胃酸、组织学分化。

统计学处理 采用SPSS19.0软件进行统计学分析, 计量结果采用单因素方差分析, 有统

■ 相关报道

关于残胃癌再次手术临床疗效的研究已经有较多的报道, 但是如何提高患者的预后是临床中的研究重点。本研究对残胃癌再次手术根治性的相关因素进行了探究。

表 1 影响患者二次手术根治性的单因素分析(n(%))

临床病理特征	n	根治性二次手术	χ^2 值	P值
年龄(岁)			4.236	0.046
≤60	30	13(43.33)		
>60	30	13(43.33)		
性别			3.437	0.057
男	46	20(43.47)		
女	14	6(42.85)		
初次手术特征				
肿瘤分化程度			3.297	0.064
高、中	14	8(57.14)		
低	46	18(39.13)		
肿瘤位置			3.312	0.061
上1/3	12	6(50.00)		
中1/3	18	8(44.44)		
下1/3	30	12(40.00)		
消化系重建方式			4.781	0.041
毕I式	33	11(33.33)		
毕II式	15	9(60.00)		
食管残癌吻合			3.256	0.069
手术方式	12	6(50.00)		
近端切除	13	6(46.15)		
远端切除	47	20(42.55)		
T分期			3.231	0.071
T1-T2	7	4(57.14)		
T3	20	10(50.00)		
T4	33	12(36.36)		
淋巴结清扫范围			5.383	0.036
D2以下	19	5(26.31)		
D2及以上	41	21(51.21)		
TNM分期			6.235	0.027
I-II	24	16(66.66)		
III	36	10(27.77)		
N分期			5.793	0.032
N0	22	15(68.18)		
N1	11	4(36.36)		
N2	17	4(23.52)		
N3	10	3(30.00)		
术后辅助化疗			5.078	0.039
有	10	3(30.00)		
无	50	23(46.00)		
淋巴结清扫数(枚)			3.198	0.073
<16	26	8(30.76)		
≥16	34	18(52.94)		
复发特征				
复发症状			5.687	0.033
有	38	11(28.94)		
无	22	15(68.18)		
复发时间(年)			4.379	0.045
<2	22	6(27.27)		
2-5	24	10(41.66)		
>5	14	10(71.42)		

复发与二次手术间隔时间(mo)			6.347	0.026
<2	38	22(57.89)		
≥2	22	4(18.18)		
<i>H. pylori</i> 感染			4.487	0.044
感染	33	20(60.60)		
正常	27	6(22.22)		
低胃酸			5.383	0.036
是	41	22(53.65)		
否	19	4(22.05)		
组织学类型			5.824	0.031
乳头状腺癌	13	7(53.84)		
管状腺癌	22	11(50.00)		
低分化腺癌	9	3(33.33)		
黏液腺癌	8	3(37.50)		
印戒细胞癌	4	1(25.00)		
未分化癌	4	1(25.00)		

应用要点

本研究通过回顾性分析患者的临床资料和病理资料,分析残胃癌再次手术根治性的相关因素,为临床护理提供参考依据,有效开展预见性护理,改善患者的预后,对今后该病的治疗有十分重要的指导意义。

计学意义的相关因素进行多因素Logistic回归分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 60例患者残胃癌再次手术的情况 研究结果显示,60例患者中有26(43.33%)例患者采用根治性残胃切除手术,16(26.67%)例患者采用姑息性残胃切除手术,15(25.00%)例患者采用空肠造瘘和短路术,3(5.00%)例患者无法进行手术。

2.2 影响患者二次手术根治性的单因素分析 单因素分析结果显示,年龄、消化系重建方式、初次手术TNM分期、初次手术N分期、淋巴结清扫范围、复发时有无症状、复发与二次手术间隔时间、复发时间、术后辅助化疗、*H. pylori*感染、低胃酸、组织学分化均与患者二次手术根治性有一定的相关性($P<0.05$)(表1)。

2.3 影响患者二次手术根治性的多因素Logistic回归分析 多因素Logistic回归分析结果显示,年龄>60岁、初次手术N分期、初次手术TNM分期、复发时有症状、*H. pylori*感染、组织学类型和低胃酸为残胃癌再次手术患者根治性的独立危险因素($P<0.05$)(表2)。

3 讨论

胃癌是临床中死亡率仅次于肺癌的恶性疾病,临床上多给予胃癌患者手术切除治疗,但是胃癌术后患者多发残胃再发癌^[4]。临床中对于残胃再发癌的概念并没有统一的规定,多数学者认为残胃再发癌是胃癌患者在胃癌术后5年内残胃复发的与原发性胃癌类型不同的病变。且对

■名词解释

印戒细胞癌：又称黏液细胞癌。它是一种含有大量黏液的癌细胞，由于细胞中充满了黏液，把细胞核挤向了细胞的一侧，使其外形酷似一枚戒指，故其得名。印戒细胞癌在临床上倾向于弥漫浸润，且常伴有明显的纤维化(硬化)，如果发现较迟，常易浸润全胃，使整个胃壁硬化，而呈“皮革胃”。

表 2 影响患者二次手术根治性的多因素Logistic回归分析

因素	Beta	SE	Wald	OR	P值	95%CI
年龄>60岁	0.552	0.245	5.047	1.737	0.024	2.397-4.184
初次手术N分期	1.259	0.540	5.417	3.522	0.019	2.025-3.987
消化系重建方式	0.429	0.227	3.585	1.537	0.058	0.740-1.863
初次手术TNM分期	1.301	0.346	14.111	3.673	0.001	2.017-4.812
复发时有症状	0.833	0.379	4.814	2.301	0.028	2.485-4.128
淋巴结清扫范围	0.243	0.269	0.820	1.276	0.365	0.358-1.895
H. pylori感染	0.689	0.340	4.096	1.993	0.042	2.593-3.717
复发与二次手术时间间隔	0.661	0.365	3.269	1.937	0.070	0.482-1.745
组织学类型	1.102	0.468	5.544	3.012	0.018	2.684-4.348
术后化疗	0.622	0.375	2.750	1.863	0.097	0.496-1.594
复发时间	0.583	0.435	1.799	1.793	0.179	0.396-1.659
低胃酸	1.079	0.501	4.630	2.942	0.031	2.492-4.095

于残胃再发癌的发病机制目前尚未明确，考虑可能与多种因素均有相关性^[5]。临床上多采用根治性切除手术治疗残胃再发癌，但是并不是所有患者均符合根治性切除手术的适应证，因此有部分学者指出在进行初次胃癌切除手术时应当确保手术的彻底性，若患者初次胃癌切除为根治性切除手术，发生残胃再发癌时采用根治性切除手术的几率就较大，能够延长患者的术后生存期^[6]。本文重点对残胃癌再次手术根治性的相关因素进行研究。

本文研究结果显示，年龄>60岁、初次手术时TMN分期为Ⅲ期、初次手术时N分期为N0期、复发时有症状、发生H. pylori感染、低胃酸且组织学类型为腺癌的患者二次手术根治率较低。胃癌发病的过程是一个积累的过程，胃癌的发生和死亡率随着年龄的增长表现为对数线性递增。高龄患者身体的各项机能均显著降低，因此受到各种刺激时身体病变的发生率显著升高^[7,8]。对于患者来说，原发胃癌的恶性程度越高胃癌切除术后患者的残胃再发癌发生率越高。虽然原发癌已经被切除，但是导致胃癌发生病变的因素还在，这些因素会作用于残胃，增大残胃癌变的发生率^[9,10]。同时患者胃癌术后出现残胃再发癌的早期症状时，能够及时确诊残胃再发癌，并及时进行治疗，采用根治性手术的几率较高。若患者发生残胃再发癌时未表现显著的早期症状，待复查时发现残胃发生癌变，此时多数为残胃再发癌晚期，采用根治性手术的几率较低^[11,12]。同时H. pylori不仅是胃癌发生的危险因素，同样也是残胃再发癌的危险因素。残胃的低胃酸状态为细菌的

侵袭提供了便利条件，也增大了残胃再发癌的发生率^[13]。因此胃癌患者在初次胃癌术后应当积极进行规范的复查，早发现、早诊断，避免措施最佳手术时机，提高残胃再发癌根治性切除手术的几率^[14]。有研究^[15]指出应当注意首次手术的彻底性，首次手术为根治性手术，患者残胃癌的发生率越低，但这一结论在本文中没有得出，需要进一步进行研究。同时在临床实践中我们发现一经证实患者的残胃或者吻合口局部复发，无论患者的复发病灶是否侵袭邻近脏器，此时均应当优先考虑对患者进行根治性切除手术治疗，努力提高患者生存时间^[16]。

总之，年龄>60岁、初次手术时TMN分期为Ⅲ期、初次手术时N分期为N0期、复发时有症状、发生H. pylori感染、低胃酸且组织学类型为腺癌的患者二次手术根治率较低。因此胃癌患者在初次胃癌切除手术后应当进行规范复查，一旦诊断为残胃再发癌，应当积极的进行二次手术治疗，帮助提高根治性切除率，延长生存期。

4 参考文献

1 张茂申, 毛伟征, 周岩冰, 李杨. 残胃癌的预后因素分析. 中华肿瘤杂志 2012; 34: 236-239

2 Nonaka S, Oda I, Makazu M, Haruyama S, Abe S, Suzuki H, Yoshinaga S, Nakajima T, Kushima R, Saito Y. Endoscopic submucosal dissection for early gastric cancer in the remnant stomach after gastrectomy. *Gastrointest Endosc* 2013; 78: 63-72 [PMID: 23566640 DOI: 10.1016/j.gie.2013.02.006]

3 Nozaki I, Hato S, Kobatake T, Ohta K, Kubo Y, Nishimura R, Kurita A. Incidence of metachronous gastric cancer in the remnant stomach after synchronous multiple cancer surgery. *Gastric Cancer* 2014; 17: 61-66 [PMID: 23624766 DOI:

- 10.1007/s10120-013-0261-y]
- 4 Takahashi H, Nara S, Ohigashi H, Sakamoto Y, Gotoh K, Esaki M, Yamada T, Shimada K, Yano M, Kosuge T, Ishikawa O. Is preservation of the remnant stomach safe during distal pancreatectomy in patients who have undergone distal gastrectomy? *World J Surg* 2013; 37: 430-436 [PMID: 23188537 DOI: 10.1007/s00268-012-1860-1]
- 5 Nagai E, Nakata K, Ohuchida K, Miyasaka Y, Shimizu S, Tanaka M. Laparoscopic total gastrectomy for remnant gastric cancer: feasibility study. *Surg Endosc* 2014; 28: 289-296 [PMID: 24013469 DOI: 10.1007/s00464-013-3186-y]
- 6 Shinohara T, Hanyu N, Tanaka Y, Murakami K, Watanabe A, Yanaga K. Totally laparoscopic complete resection of the remnant stomach for gastric cancer. *Langenbecks Arch Surg* 2013; 398: 341-345 [PMID: 22777535 DOI: 10.1007/s00423-012-0979-8]
- 7 李成林. 残胃癌患者预后影响因素分析. *山东医药* 2013; 53: 43-45
- 8 尹曙明, 张赣生, 马海芬, 黄一沁, 陈洁, 保志军, 于晓峰. 残胃癌患者的生命质量评价. *中华消化杂志* 2013; 33: 155-159
- 9 何玉明, 郑晓春, 张莹, 李少芳, 杨业勤. 残胃癌22例临床分析. *中国医师杂志* 2014; 16: 82-83
- 10 李清国, 王道荣, 汤劲松, 肖兆勇, 陈平. 残胃癌与初发胃癌外科治疗及预后的比较研究. *中华肿瘤防治杂志* 2012; 19: 622-624
- 11 廖志敏, 黄维江, 郑威, 胡磊, 庞一雄. 残胃代食管重建消化道治疗食管癌3例. *中华胸心血管外科杂志* 2015; 31: 110, 115
- 12 胡渊文, 苏法. 胃癌术后再发胃恶性间质瘤一例. *中华消化杂志* 2014; 34: 564-565
- 13 刘俊峰, 王福顺, 曹富民, 姜涛, 石志华, 刘新波, 刘磊, 李保庆. 食管癌和食管胃结合部癌术后复发与再发癌的手术疗效. *中华消化外科杂志* 2013; 12: 779-782
- 14 马振救, 张汝鹏, 王维佳, 王学军, 薛强, 梁寒. 残胃再发癌二次手术根治性的影响因素分析. *中华胃肠外科杂志* 2015; 18: 139-142
- 15 Nomura E, Lee SW, Tokuhara T, Nitta T, Kawai M, Uchiyama K. Functional outcomes according to the size of the gastric remnant and the type of reconstruction following distal gastrectomy for gastric cancer: an investigation including total gastrectomy. *Jpn J Clin Oncol* 2013; 43: 1195-1202 [PMID: 24065202 DOI: 10.1093/jjco/hyt141]
- 16 Sasaki K, Fujiwara Y, Kishi K, Motoori M, Yano M, Ohigashi H, Ohue M, Noura S, Maruhashi S, Takahashi H, Gotoh K, Shingai T, Yamamoto T, Tomita Y, Ishikawa O. Pathological findings of gastric mucosa in patients with gastric remnant cancer. *Hepatogastroenterology* 2014; 61: 251-254 [PMID: 24895831]

同行评价

本研究探究了残胃癌再次手术根治性的相关因素, 对以后的临床治疗具有较好的指导作用。

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



中药直肠滴入联合西药对婴儿肝炎综合征患儿血生化指标的影响

李宁, 张博

背景资料

婴儿肝炎综合征是一组以全身皮肤黄疸、肝功能异常、肝脏肿大为临床表现的疾病。对于本病的治疗尚无满意的治疗药物, 主要采用综合治疗, 效果不甚满意。本研究选用中药方剂直肠滴入联合西医常规治疗, 探讨其治疗淤胆型婴儿肝炎综合征的临床效果及可能的机制。

李宁, 河南中医学院基础医学院 河南省郑州市 450046
 张博, 河南中医学院第一附属医院儿科 河南省郑州市 450046

李宁, 讲师, 硕士, 主要从事中医基础研究。

河南省教育厅科学技术研究重点基金资助项目, No. 13A360559

作者贡献分布: 此课题由李宁与张博设计; 研究过程由李宁与张博操作完成; 数据分析由张博完成; 文章写作由李宁完成。

通讯作者: 李宁, 讲师, 450046, 河南省郑州市郑东新区金水路1号, 河南中医学院基础医学院。604541869@qq.com

收稿日期: 2015-07-07 修回日期: 2015-09-02

接受日期: 2015-09-11 在线出版日期: 2015-10-08

Effect of Chinese medicine rectal instillation therapy combined with Western medicine on blood biochemical parameters in patients with cholestatic infant hepatitis syndrome

Ning Li, Bo Zhang

Ning Li, Basic Medical College, He'nan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, He'nan Province, China

Bo Zhang, Department of Pediatrics, the First Affiliated Hospital, He'nan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, He'nan Province, China

Supported by: Science and Technology Research Key Project of Education Department of Henan Province, No. 13A360559

Correspondence to: Ning Li, Lecturer, Basic Medical College, He'nan College of Traditional Chinese Medicine, 1 Jinshui Road, Zhengdong District, Zhengzhou 450046, He'nan Province, China. 604541869@qq.com

Received: 2015-07-07 Revised: 2015-09-02

Accepted: 2015-09-11 Published online: 2015-10-08

Abstract

AIM: To observe the clinical effects of Chinese

medicine rectal instillation therapy combined with Western medicine in treating cholestatic infancy hepatitis syndrome and its effect on blood biochemical parameters.

METHODS: Eighty-three patients diagnosed with cholestatic infancy hepatitis syndrome were randomized into either a treatment group ($n = 42$) or a control group ($n = 41$). The control group was treated with Western medicine alone, and the treatment group was given traditional Chinese medicine rectal instillation therapy combined with Western medicine. The treatment lasted 6 weeks. After treatment, serum total bilirubin (TBIL), direct bilirubin (DBIL), alkaline phosphatase (ALP), alanine aminotransferase (ALT), total bile acid (TBA), gamma-glutamyl transpeptidase (GGT), CMV-IgM negative conversion rate, and liver size were compared between the two groups.

RESULTS: The effective rate and CMV-IgM negative conversion rate were significantly higher in the treatment group than in the control group ($P < 0.05$). After 6 wk of treatment, the levels of ALT, TBA, ALP, TBIL, DBIL and GGT in both groups improved significantly ($P < 0.05$), and were dramatically lower in the treatment group than in the control group ($P < 0.05$). The liver size in the treatment group was significantly decreased compared with the control group ($P < 0.05$). The time to jaundice disappearance was significantly shorter in the treatment group than in the control group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Chinese medicine rectal

同行评议者

毛德文, 教授, 主任医师, 广西中医药大学第一附属医院肝病科; 庄林, 主任医师, 昆明市第三人民医院肝病科

instillation therapy combined with Western medicine can reduce the levels of ALT, TBA, ALP, TBIL, DBIL and GGT, and improve the anti-CMV-IgM negative conversion rate in patients with cholestatic infant hepatitis syndrome.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Cholestatic infant hepatitis syndrome; Chinese medicine rectal instillation; Cytomegalovirus infection

Li N, Zhang B. Effect of Chinese medicine rectal instillation therapy combined with Western medicine on blood biochemical parameters in patients with cholestatic infant hepatitis syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(28): 4568-4573 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4568.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i28.4568>

摘要

目的: 观察肝炎综合征经验方汤剂直肠滴入联合西药治疗淤胆型婴儿肝炎综合征的临床疗效及对患儿相关指标的影响。

方法: 经诊治淤胆型婴儿肝炎综合征患者83例, 采用随机数字表法分为治疗组42例和对照组41例, 对照组患者给予西医常规治疗方案, 治疗组在对照组基础上给予中药直肠滴入, 每个疗程2 wk, 2组均进行3个疗程, 观察临床疗效、血生化指标包括血清丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、血清总胆汁酸(total bile acids, TBA)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、直接胆红素(direct bilirubin, DBIL)、谷氨酰转肽酶(gamma-glutamyl transpeptidase, GGT)及CMV-IgM转阴率, 肝脏大小等情况。

结果: 治疗组CMV-IgM转阴率、总有效率明显高于对照组($P<0.05$)。两组ALT、TBA、ALP、TBIL、DBIL及GGT均较治疗前明显降低($P<0.05$), 且治疗组较对照组下降水平更为显著, 具有显著性差异($P<0.05$)。两组肝脏较治疗前明显缩小($P<0.05$), 治疗后组间比较具有统计学意义($P<0.05$)。治疗组黄疸消退时间明显短于对照组, 具有显著性差异($P<0.05$)。

结论: 肝炎综合征经验方汤剂直肠滴入联合西药常规治疗降低婴儿肝炎综合征淤

胆型患者的ALT、TBA、ALP、TBIL、DBIL及GGT水平, 提高巨细胞病毒感染抗-CMVAgM阴转率。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 婴儿肝炎综合征; 中药直肠滴入; 巨细胞病毒感染

核心提示: 肝炎综合征经验方汤剂加减直肠滴入联合西药常规治疗淤胆型婴儿肝炎综合征, 可以降低患者的血清丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase)、血清总胆汁酸(total bile acids)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase)、总胆红素(total bilirubin)、直接胆红素(direct bilirubin)及谷氨酰转肽酶(gamma-glutamyl transpeptidase), 提高巨细胞病毒感染抗-CMVAgM阴转率。

李宁, 张博. 中药直肠滴入联合西药对婴儿肝炎综合征患儿血生化指标的影响. *世界华人消化杂志* 2015; 23(28): 4568-4573 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4568.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i28.4568>

0 引言

婴儿肝炎综合征是一组以全身皮肤黄疸、肝功能异常、肝脏肿大为临床表现的疾病。本病发病缓慢或病情隐匿, 常被家长忽略, 而造成错过最佳诊疗时机, 严重者可有肝衰竭或继发性感染, 导致死亡。淤胆型婴儿肝炎综合征是本病的主要类型, 是由胆红素淤积在毛细胆管内, 血液循环中结合胆红素升高, 长期失治则会肝内外胆管完全闭塞^[1]。对于本病的治疗尚无满意的治疗药物, 临床治疗极为困难, 且预后凶险。早期诊断及治疗对改善预后具有重要意义^[2]。对于本病的治疗主要采用综合治疗, 本研究根据《婴儿肝病综合征诊治修订方案》^[3]给予患儿补充营养、对症治疗及对因治疗等措施, 同时选用中药方剂直肠滴入, 本研究方剂根据著名中医儿科专家彭兆麟治疗婴儿肝炎综合征的经验方加减化裁而来, 观察治疗淤胆型婴儿肝炎综合征的临床效果。

1 材料和方法

1.1 材料 2009-05/2013-12河南中医学院第一附属医院诊治淤胆型婴儿肝炎综合征患者83例, 均符合文献[3]中婴儿肝炎综合征的诊断标准和《中医病症诊断疗效标准》^[4]中气血

■ 研究前沿

婴儿肝炎综合征以西医综合治疗为主, 但由于患者年龄, 给药方式不易被患者接受, 效果不甚满意。本研究探讨中药直肠滴入给药方式, 以期达到满意疗效。

■ 相关报道

有学者在对比婴儿肝合剂灌肠、婴儿肝合剂口服和西药常规治疗婴儿肝炎综合征疗效的研究中得出, 中西医结合疗法临床疗效优于单纯西药疗法, 且中药采用灌肠给药途径优于口服给药。

瘀滞型黄疸的诊断标准, 另外患儿同时具备以下4点: (1)肝脏质地变化或者肝脏 ≥ 2.0 cm; (2)患儿大便颜色呈浅黄色或白色; (3)血清丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)升高; (4)血清总胆红素(total bilirubin, TBIL)水平 ≥ 85.5 $\mu\text{mol/L}$, 且以直接胆红素增高为主要表现。排除其他系统疾病引起的黄疸和肝功能异常、先天肝胆解剖结构异常患者。所有患者均在本院检查随访。本组资料采用随机数字表法分为两组, 治疗组42例, 男25例, 女17例; 年龄26-137 d, 平均为72.35 d \pm 25.91 d; 病程为46.47 d \pm 12.03 d; 巨细胞病毒感染34例, 大便黄白32例, 大便灰白10例; 肝脏触诊右肋下肝大4.36 cm \pm 1.52 cm。对照组41例, 男26例, 女15例; 年龄32-144 d, 平均为76.13 d \pm 23.07 d; 病程为48.10 d \pm 14.97 d; 巨细胞病毒感染36例, 大便黄白34例, 大便灰白7例; 肝脏触诊右肋下肝大4.29 cm \pm 1.38 cm。两组患者基础资料具有临床可比性, 本研究患者家属知情同意, 且经医院伦理委员会通过。阿拓莫兰, 国药准字H19991068, 重庆药友制药有限责任公司; 肌苷, 武汉久安药业有限公司, 国药准字H42020898; 熊去氧胆酸片, 上海中西三维药业有限公司, 国药准字H31021950; 更昔洛韦葡萄糖注射液, 武汉福星生物药业有限公司, 国药准字H20052454。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 两组均给予西医治疗方案。阿拓莫兰50 mg/kg与肌苷25 mg/kg加入5%葡萄糖注射液50 mL中静脉滴注, 1次/d; 同时患者口服熊去氧胆酸片, 剂量为20 mg/(kg \cdot d), 2次/d。巨细胞病毒阳性患者同时给予更昔洛韦葡萄糖注射液, 剂量为5 mg/(kg \cdot d), 加入5%葡萄糖注射液50 mL中静脉滴注, 1次/d, 连续静脉滴注2 wk。患者同时给予ATP、能量合剂等营养支持。

治疗组在对照组基础上给予直肠滴入中药方剂, 方剂根据著名中医儿科专家彭兆麟治疗婴儿肝炎综合征的经验方加减化裁而来。方剂组成: 茵陈10 g, 虎杖、郁金、干姜、大黄、鳖甲、丹参、败酱草、红花、桃仁、白芍各6 g。由河南中医学院基础医学制剂室制成浓缩剂25 mL, 100 mL/袋, 1剂/d, 直肠滴入, 连续用14 d。1 mo患儿剂量减半。具体操作: 患儿取左侧卧位, 臀部抬高15-20 cm。药液加温至37 $^{\circ}\text{C}$ 左右, 经直肠滴入, 顺肛门缓慢插入25-30 cm,

速度为15滴/min。直肠滴入后静卧2-3 h。两组均2 wk为1个疗程, 连续观察6 wk。

1.2.2 观察指标: (1)于治疗前后采用酶偶联法检测ALT、3-a羟类固醇脱氢酶法检测血清总胆汁酸(total bile acids, TBA)、连续监测法测定碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、重氮盐法检测TBIL和直接胆红素(direct bilirubin, DBIL), 采用IFCC法测定谷氨酰转肽酶(gamma-glutamyl transpeptidase, GGT); (2)观察记录治疗前后肝脏大小及黄疸消退时间; (3)CMV-IgM转阴率, 于治疗前后采用电化学发光法(ECLIA)检测CMV-IgM。

1.2.3 疗效标准: 显效: 黄疸完全消退, 体征消失, 肝增大者回缩至正常或接近正常范围, 肝功能检查恢复至正常; 好转: 黄疸明显减轻, 体征减轻, 肝增大较治疗前缩小, 未恢复至正常范围, 肝功能检查部分指标恢复至正常; 无效: 黄疸未消退或加重, 体征无变化或加重, 肝脏大小、质地无变化或加重, 肝功能指标异常或加重。有效 = 显效+好转。

统计学处理 数据资料用SPSS16.0软件进行统计学分析和处理, 计量资料用mean \pm SD表示, 数据差异采用 t 检验, 计数资料以%表示和 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组治疗前后血生化指标变化比较 经过3个疗程的治疗, 两组血生化指标ALT、TBA、ALP、TBIL、DBIL及GGT均较治疗前明显降低($P<0.05$), 且治疗组较对照组下降水平更为显著, 具有显著性差异($P<0.05$, 表1)

2.2 两组肝脏大小及黄疸消退时间 两组肝脏较治疗前明显缩小($P<0.05$), 治疗后组间比较, 具有统计学意义。治疗组黄疸消退时间明显短于对照组, 具有显著性差异($P<0.05$)(表2)。

2.3 两组CMV-IgM转阴率 治疗组治疗前CMV-IgM阳性34例, 经过治疗后CMV-IgM阳性6例, CMV-IgM转阴率为82.35%; 对照组治疗前CMV-IgM阳性36例, 经过治疗后CMV-IgM阳性12例, CMV-IgM转阴率为55.56%。治疗组转阴率明显高于对照组($\chi^2=4.65$, $P<0.05$)。

2.4 两组临床疗效比较 治疗组显效15例, 好转23例, 无效4例, 总有效率为90.47%; 对照组显效8例, 好转21例, 无效12例, 总有效率为70.23%。两组总有效率经 χ^2 检验, 具有显著性

表 1 两组治疗前后血生化指标变化比较 (mean ± SD)

分组	治疗组(n = 42)		对照组(n = 41)		t值	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
ALT(U/L)	138.06 ± 32.14	31.64 ± 6.53 ^{ac}	136.59 ± 28.39	40.37 ± 9.19 ^c	0.220	4.998
TBA(U/L)	154.93 ± 31.81	89.76 ± 20.63 ^{ac}	156.71 ± 34.97	115.09 ± 26.87 ^c	0.243	4.824
ALP(U/L)	367.25 ± 41.13	89.47 ± 16.71 ^{ac}	365.78 ± 38.26	114.82 ± 30.37 ^c	0.168	4.726
TBIL(μmol/L)	151.31 ± 49.57	34.46 ± 9.07 ^{ac}	149.24 ± 53.94	47.17 ± 12.34 ^c	0.182	5.356
DBIL(μmol/L)	109.13 ± 26.53	13.62 ± 3.75 ^{ac}	112.42 ± 34.29	24.81 ± 5.16 ^c	0.489	11.513
GGT(U/L)	236.87 ± 52.08	71.36 ± 11.49 ^{ac}	231.69 ± 60.51	104.93 ± 21.31 ^c	0.418	8.962

^aP<0.05 vs 对照组; ^cP<0.05 vs 治疗前. ALT: 血清丙氨酸氨基转移酶; TBA: 血清总胆汁酸; ALP: 碱性磷酸酶; TBIL: 总胆红素; DBIL: 直接胆红素; GGT: 谷氨酰转肽酶.

表 2 两组肝脏大小及黄疸消退时间比较 (mean ± SD)

分组	n	肝脏大小(cm)		黄疸消退时间(d)
		治疗前	治疗后	
治疗组	42	4.36 ± 1.52	3.08 ± 1.02 ^{ac}	14.81 ± 4.92 ^a
对照组	41	4.29 ± 1.38	3.74 ± 0.87	21.05 ± 6.37
t值		0.219	3.618	5.001
P值		<0.05		<0.05

^aP<0.05 vs 对照组; ^cP<0.05 vs 治疗前.

差异($\chi^2 = 4.006, P < 0.05$).

3 讨论

淤胆型婴儿肝炎综合征是由于胆汁黏稠使胆管堵塞而致黄疸。现代医学认为, 婴儿肝炎综合征是由于婴儿出生时肝脏发育不成熟或受到病毒感染引起, 导致胆红素的转化和排泄功能异常, 引起胆道的部分阻塞。部分胆红素不能正常排泄而反流入血循环, 故血流内结合性胆红素增高, 产生病理性黄疸^[5]。祖国医学认为, 本病属于“胎疸”、“胎黄”范畴。是由于孕母感受湿热太盛, 传入胎儿而受热毒, 蕴结于脾胃, 导致脾胃运化失常, 脾气不升, 气机不畅, 肝失条达, 胃气不降, 胆汁排泄转化失常, 导致黄疸形成。患儿患病日久, 肝胆疏泄失常, 则气滞血瘀, 瘀积络脉, 肚腹胀满, 右胁下可触及包块^[6]。所以湿热、内瘀、内积是本病的主要病机, 病位则在肝、胆、脾、胃。如不尽早治疗, 会随着病情加重, 恶化为胆道闭锁, 给临床治疗带来极大困难。根据本病的病机, 采用疏肝利胆、清热利湿、消积化瘀的中药方剂, 方中茵陈、大黄、虎杖、郁金利胆退黄, 清利湿热; 白芍疏肝理气, 败酱草清热解毒, 干姜温

中散寒, 运脾化湿; 丹参、桃仁、红花活血化瘀; 鳖甲软坚散结共奏利胆退黄, 清利湿热, 消积化瘀的功效。

以往采用中药治疗多以汤剂口服为主, 本研究根据患儿生理特点和婴儿肝炎综合征的病理机制, 采用直肠滴入给药方式。婴儿肝炎综合征患儿血清持续高胆红素水平时, 患儿的肠蠕动减慢, 肝肠循环中胆红素增加^[7]。小儿直肠黏膜血管丰富, 直肠静脉、乙状结肠静脉与下腔静脉相连, 采用直肠滴入给药, 促进肠蠕动, 增强药物的吸收和提高生物利用率。同时增加肠道内胆红素排除体外的速率, 降低胆红素重吸收, 进一步促进黄疸消退, 减轻肝损害^[8]。采取臀部抬高位, 有利于药物与结肠黏膜的接触面积增大, 进一步增强药物的吸收。另外, 小儿脾胃虚弱, 且婴儿肝炎综合征患儿肠道菌群失调, 本研究采用苦寒药物相对较多, 口服会加重患儿的脾胃损伤, 不利于病情的尽早恢复。因此, 选择患儿容易接受、吸收好和提高生物利用度的药物是临床需要, 故本研究选择直肠滴入给药方式。

胆红素升高时监测黄疸程度的指标。婴儿肝炎综合征患儿肝内胆汁淤积, 当肝细胞受损

创新亮点

婴儿肝炎综合征以往采用中药治疗多以汤剂口服为主, 本研究根据患儿生理特点和婴儿肝炎综合征的病理机制, 采用直肠滴入给药方式。对于服用中药汤剂困难的婴幼儿采用中药汤剂治疗是一个重要的创新。

应用要点

通过观察肝炎综合征经验方汤剂加减直肠滴入联合西药常规治疗淤胆型婴儿肝炎综合征的疗效及对相关指标的影响, 为临床治疗婴儿肝炎综合征提供理论依据和新的治疗方法。

严重时, 胆红素的摄取、转运、排泄障碍, 均使结合胆红素水平上升。同时肝脏受损, 肝脏清除内毒素的能力下降, 内毒素进入体循环增多, 引起胆红素结合和排泄障碍。均可导致胆红素升高, 临床表现为黄疸^[9]。本研究结果显示, 中药直肠滴入组黄疸消退较西药组早, 肝脾肿大也较西药组有明显缩小, 且TBIL、DBIL水平下降较对照组显著。这与徐琛^[10]研究相符。

这主要考虑是在西药治疗的基础上, 中药方剂增强了利胆退黄的功效和改善气滞血瘀, 瘀滞络脉的情况。中药方剂中大黄、茵陈、虎杖、郁金均有利胆退黄的作用。动物实验研究^[11]显示, 给予淤胆型大鼠大黄干预时, 大黄对NOS有清除或抑制, 使体内NO水平降低, 促进肝细胞和胆管上皮细胞的修复和再生, 起到利胆退黄的作用。大黄的泻下作用可加快毒素从肠道排泄, 阻断胆红素的肝肠循环, 发挥退黄的作用。郁金具有活血行气, 利胆退黄的功效。动物实验研究^[12]表明, 郁金的水煎液可抑制家兔括约肌相位的收缩, 收缩胆囊平滑肌, 发挥利胆作用。

TBA是胆汁有机溶质的主要成分, TBA水平升高是肝细胞损伤和胆汁淤积的敏感指标。当肝细胞损伤或胆道阻塞时, 胆汁酸的代谢障碍, 加重肝损伤和胆道上皮细胞损伤, 引起胆汁排泄障碍, 进一步加重胆汁淤积, 两者互为因果, 恶性循环^[13]。婴儿肝炎综合征患者肝细胞肿胀, 胆汁淤积致血清中ALP水平上升, 可作为肝脏疾病的检查指标。ALT反映肝细胞损伤的程度, 当肝细胞损伤时, 肝细胞膜的通透性增加, ALT大量释放入血, 使血清ALT酶活性升高。GGT也是胆汁淤积的敏感指标。当胆汁排泄障碍时, 血清GGT增高^[14]。本研究结果显示, 两组在治疗前, ALT、TBA、ALP及GGT水平均升高, 经过治疗后治疗组ALT、TBA、ALP及GGT较对照组下降水平更为显著, 且具有显著性差异。说明中药方剂改善了患儿胆汁淤积, 减轻炎症损伤, 疏通或扩张了胆管。茵陈的有效成分二甲氧基香豆素、对羟基苯乙酮、咖啡酸有利胆、改善胆汁排泄障碍的作用。且水煎液可增加大鼠的胆汁流量, 尤其是胆红素和胆汁中固体物、胆酸的排出量^[15]。大黄的有效成分大黄酸、大黄素促进胆汁分泌, 扩张奥狄括约肌。同时

也可增加大鼠胆汁排泄。胆汁淤积减轻, 胆汁排泄增加, 故TBA、GGT水平下降。保肝的中药可通过减轻炎症损伤或改善微循环来发挥促进肝细胞的修复和再生, 使血清ALT和ALP水平下降。动物实验表明, 大黄可降低大鼠血清ALT和ALP水平, 机制可能与降低血清和胆汁中白介素-6(interleukin-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α)、丙二醛(malonic dialdehyde, MDA)水平, 提高超氧化物歧化酶水平来减轻肝损伤的程度。另外, 大黄中番泻甙可刺激大肠蠕动, 改善肝组织微循环, 疏通肝内毛细血管和胆管系统^[16]。虎杖苷可通过抑制ALT和MDA的升高, 其机制是通过抑制脂质过氧化及保护谷胱甘肽(glutathione)等巯基化合物而保护肝功能^[17]。丹参、红花、桃仁均具有活血化瘀的作用, 可改善肝脏营养及氧的供给, 促进肝细胞再生。另外, 鳖甲有抗肝纤维化, 败酱草、郁金和白芍也有养肝护肝功效。故ALT和ALP水平下降。

研究^[18]显示, 有48.1%-78.3%的婴儿肝炎综合征患儿有CMV感染证据, 本文有85.36%的患者有CMV感染, 略高于上述指标。CMV感染已成为婴儿肝炎综合征的首要致病因素。本组经过治疗, 抗-CMVAgM阴转率治疗组高于对照组, 这与方中的抗病毒药物疗效密不可分, 如虎杖、大黄、茵陈、败酱草等均具有抗病毒活性。

总之, 肝炎综合征经验方汤剂加减直肠滴入联合西药常规治疗降低婴儿肝炎综合征淤胆型患者的ALT、TBA、ALP、TBIL、DBIL及GGT水平, 提高巨细胞病毒感染抗-CMVAgM阴转率。

参考文献

- 何念海. 婴儿肝炎综合征实用. 肝病杂志 2013; 15: 484-486
- 邱波, 陈新霞, 杜鹃. 婴儿肝炎综合征104例病原学及合并症分析. 淮海医药 2015; 33: 152-153
- 朱启镨, 王晓红, 王建设. 婴儿肝病综合征诊治修订方案. 中华传染病杂志 2004; 22: 357
- 国家中医药管理局. 中医病症诊断疗效标准第1版. 南京: 南京大学出版社, 1994: 86
- 梁丽俊, 张兰, 陈国庆, 陆彪. 宁夏地区婴儿肝炎综合征165例病因及预后分析. 中国妇幼保健 2013; 24: 23
- 胡艳, 么远, 柳静, 裴胜. 裴学义治疗婴儿肝炎综合征经验. 中国中医药信息杂志 2012; 19: 87-87
- 任志刚, 周琳, 王伟林, 郑树森. 肠道微生态紊乱对肝脏疾病进展的促进作用. 中华消化杂志 2015; 35: 198-202
- 祁佩云. 中药直肠滴入治疗及护理方法进展. 中医外

- 治杂志 2012; 21: 50-51
- 9 胡娅, 刘丽. 新生儿黄疸胆红素和总胆汁酸测定的临床意义. 中国现代医生 2013; 51: 117-119
- 10 徐琛. 中西医结合治疗婴儿肝炎综合征胆淤型临床疗效观察. 武汉: 湖北中医学院, 2008
- 11 吕俊兰, 付珊珊, 郭静静, 刘永, 袁海龙, 肖小河. 大黄用于治疗大鼠实验性黄疸的日服用次数初步研究. 中国中药杂志 2012; 36: 3506-3510
- 12 王颖, 郭兰萍, 黄璐琦, 杨丰庆, 夏之宁. 姜黄, 莪术, 郁金的化学成分与药理作用研究进展. 中国药房 2013; 24: 3338-3342
- 13 卜劲松. 生化指标变化对婴儿肝炎综合征的临床诊断价值. 中国妇幼保健, 2012; 27: 5434-5435
- 14 苏荣, 李莉, 唐秀英. 婴儿肝炎综合征生化指标变化的临床价值. 宁夏医学杂志 2012; 34: 263-265
- 15 曹锦花. 茵陈的化学成分和药理作用研究进展. 沈阳药科大学学报 2013; 30: 489-494
- 16 傅兴圣, 陈菲, 刘训红, 许虎, 周逸芝. 大黄化学成分与药理作用研究新进展. 中国新药杂志 2011; 20: 1534-1538
- 17 黄海量. 中药虎杖药理作用研究进展. 西部中医药 2012; 25: 100-103
- 18 郑佳佳, 许红梅. 婴儿肝炎综合征感染病因学研究进展. 中华肝脏病杂志 2012; 20: 558-560

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利

■ 同行评价

肝炎综合征经验方汤剂加减直肠滴入联合西药常规治疗对于服用中药汤剂困难的婴幼儿采用中药汤剂治疗是一个重要的用数据说明的创新, 开创了在婴幼儿这个特殊群体的具体研究和应用, 做出了值得学习和借鉴的经验.



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.

LTCBDE手术治疗继发性肝外胆管结石的临床效果

程利民, 刘洋, 孙志德, 刘淑敏, 张学军

■背景资料

腹胆总管探查联合“T”管引流术是过去胆总管结石的主要治疗方式, 但是将胆总管进行切开后, 后期完整性将受到破坏, 有可能导致结石出现复发或是胆道狭窄, 胆道缝线也有可能引起胆道结石复发, “T”管引流术会导致机体丢失大量的胆汁而出现水电解质平衡紊乱以及消化功能障碍或是逆行性感染, 对患者的生活质量造成严重的影响。

程利民, 刘洋, 孙志德, 刘淑敏, 张学军, 承德医学院附属医院肝胆外科 河北省承德市 067000
程利民, 讲师, 主要从事肝胆外科的研究。
作者贡献分布: 本研究由程利民设计; 刘洋、孙志德、刘淑敏及张学军共同参与; 论文写作由程利民完成。
通讯作者: 程利民, 讲师, 067000, 河北省承德市南营子大街36号, 承德医学院附属医院肝胆外科。
chenglimin1972@163.com
收稿日期: 2015-06-25 修回日期: 2015-08-19
接受日期: 2015-09-11 在线出版日期: 2015-10-08

Clinical effects of laparoscopic common bile duct exploration vs laparoscopic common bile duct exploration plus T-tube drainage in treatment of secondary extrahepatic bile duct stones

Li-Min Cheng, Yang Liu, Zhi-De Sun, Shu-Min Liu, Xue-Jun Zhang

Li-Min Cheng, Yang Liu, Zhi-De Sun, Shu-Min Liu, Xue-Jun Zhang, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

Correspondence to: Li-Min Cheng, Lecturer, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Chengde Medical College, 36 Nanyingzi Street, Chengde 067000, Hebei Province, China. chenglimin1972@163.com

Received: 2015-06-25 Revised: 2015-08-19

Accepted: 2015-09-11 Published online: 2015-10-08

Abstract

AIM: To compare the clinical effects of laparoscopic transcystic common bile duct exploration (LTCBDE) and laparoscopic common bile duct exploration (LCBDE) plus T-tube drainage in the treatment of extrahepatic bile duct stones.

METHODS: Ninety patients with secondary extrahepatic bile duct stones treated from January 2012 to June 2014 at our hospital were divided into either an observation group or a control group, with 45 cases in each group. The observation group received LTCBDE, and the control group received LCBDE plus T-tube drainage. Operative time, intraoperative blood loss, hospitalization expenses, and postoperative complications were compared between the two groups.

RESULTS: The operative time was significantly longer in the observation group than in the control group, but intraoperative blood loss, postoperative hospital stay, postoperative rehydration, postoperative hospitalization expenses, and time to tube removal were significantly lower in the observation group than in the control group. The incidence rates of early and late complications were significantly lower in the observation group than in the control group (2.22% vs 13.33%, 0 vs 11.11%, $\chi^2 = 7.349$ and 5.281, respectively, $P < 0.05$).

CONCLUSION: As long as the surgical indications are properly selected, LTCBDE is minimally invasive and associated with less complications and faster postoperative recovery than LCBDE plus T-tube drainage in the treatment of secondary extrahepatic bile duct stones.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Laparoscopic; Cystic duct; Common bile duct; T-tube drainage

■同行评议者

陈海龙, 教授, 大连医科大学附属第一医院院办; 邱伟华, 主任医师, 上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科

Cheng LM, Liu Y, Sun ZD, Liu SM, Zhang XJ. Clinical effects of laparoscopic common bile duct exploration vs laparoscopic common bile duct exploration plus T-tube drainage in treatment of secondary extrahepatic bile duct stones. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(28): 4574-4578 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4574.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i28.4574>

摘要

目的: 分析并比较腹腔镜下经胆囊管胆总管探查取石术(laparoscopic transcystic common bile duct exploration, LTCBDE)与腹腔镜胆道探查“T”管引流术治疗继发性肝外胆管结石的临床效果。

方法: 选取2012-01/2014-06承德医学院附属医院收治的90例继发性肝外胆管结石患者, 根据不同的手术方式将其分为观察组以及对照组, 每组45例, 其中观察组给予LTCBDE治疗, 对照组给予腹腔镜胆道探查“T”管引流术(laparoscopic common bile duct exploration, LCBDE), 比较两组患者的手术时间、术中出血量、住院费用、以及术后并发症情况。

结果: 观察组的手术时间明显长于对照组, 但其术中出血量、术后住院时间、住院费用、术后补液量以及术后带管时间明显少于对照组, 观察组中术后近期并发症的发生率为2.22%(1/45), 远期并发症发生率为0, 对照组分别为13.33%(6/45)及11.11%(5/45), 组间比较有统计学差异($\chi^2 = 7.349$ 、 5.281 , $P < 0.05$)。

结论: 只要掌握好手术适应证, LTCBDE具有微创、并发症少、术后恢复快的特点, 值得临床推广应用。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 腹腔镜; 胆囊管; 胆总管结石; “T管”引流

核心提示: 本研究对腹腔镜下行经胆囊管胆总管探查取石术这一最新的手术方式进行了研究, 并与传统的胆囊管胆总管探查手术效果进行对比, 发现其在手术效果上具有更加明显的优势去, 且适应证更广。

程利民, 刘洋, 孙志德, 刘淑敏, 张学军. LTCBDE手术治疗继发性肝外胆管结石的临床效果. 世界华人消化杂志

2015; 23(28): 4574-4578 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4574.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i28.4574>

0 引言

开腹胆总管探查联合“T”管引流术是过去胆总管结石的主要治疗方式, 但是将胆总管进行切开后完整性将受到破坏, 有可能导致结石出现复发或是胆道狭窄, 胆道缝线也有可能引起胆道结石再发^[1], “T”管引流术后会导致机体丢失大量的胆汁而出现水电解质平衡紊乱以及消化功能障碍或是逆行性感染, 对患者的生活质量造成严重的影响^[2], 近些年来随着临床腹腔镜技术的不断发展, 腹腔镜下胆总管探查术逐渐成为临床的主流术式, 但是腹腔镜胆总管探查术(laparoscopic common bile duct exploration, LCBDE)仍然需要放置“T”管, 所以仍存在一定的并发症风险, 而有研究指出^[3]在腹腔镜下行经胆囊管胆总管探查取石术(laparoscopic transcystic common bile duct exploration, LTCBDE)是安全可行的, 本研究就两种手术方式应用于继发性胆总管结石的治疗效果作如下对比。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2012-01/2014-06承德医学院附属医院收治的90例继发性肝外胆管结石患者, 根据患者, 根据不同的手术方式将其分为观察组与对照组, 每组45例。其中观察组采用LTCBDE方法治疗, 对照组采用LCBDE方法治疗。观察组中男30例, 女15例, 年龄33-61岁, 平均年龄47.6岁 \pm 3.7岁, 结石8-10枚, 胆囊管直径8-16 mm, 平均13.4 mm \pm 2.7 mm; 对照组中男31例, 女14例, 年龄32-63岁, 平均年龄48.3岁 \pm 2.9岁, 结石8-10枚, 胆囊管直径7-17 mm, 平均14.1 mm \pm 3.2 mm。所有患者均出现不同程度的右上腹痛、寒战、发热、黄疸等症状, 术前B超、计算机断层扫描(computed tomography, CT)检查均提示胆管结石, 手术方式为患者自行选择, 术前已告知患者该手术方式可能出现的并发症以及术后恢复情况, 大概的住院费用, 两组患者在年龄、性别等基本资料比较无明显差异($P > 0.05$), 具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 手术方式: LTCBDE手术采用气管插管全

■ 研究前沿

近些年来随着临床腹腔镜技术的不断发展, 腹腔镜下胆总管探查术逐渐成为临床的主流术式, 但是腹腔镜胆总管探查术(laparoscopic common bile duct exploration, LCBDE)仍然需要放置“T”管, 所以仍存在一定的并发症风险。

■ 创新点

目前腹腔镜下治疗胆总管结石主要有腹腔镜下经胆囊管胆总管探查术以及腹腔镜胆道探查“T”管引流术两种手术方式, 而本研究就两种手术方式的效果作进一步对比。

身麻醉方式, 术中的患者体位、术者站位以及各Trocar位置、镜头防止孔位置与腹腔镜下胆囊切除手术相同, 术中先将胆囊三角充分暴露, 游离胆囊管以及胆囊动脉^[3], 明确胆囊管以及胆总管之间的关系, 使用2根可吸收夹将胆囊动脉夹闭, 用电凝切断, 胆囊壶腹部上采用1根可吸收夹将胆囊管夹闭, 以防术中胆汁以及结石流入腹腔, 将胆囊从胆囊床上逆行游离, 因胆囊出现炎症水肿或胆道梗阻将造成胆囊体积大于正常状态, 无法辨认解剖结构, 故将胆囊开窗后使用钝头弯剪、分离钳或是吸引器对其进行钝性分离, 暂时不将胆囊切除以便于牵引^[4], 在距离胆总管交集处约1 cm处将胆囊管的1/2周径剪开, 右侧肋缘下套管置入胆道镜并对胆总管以及肝总管进行探查, 若发现结石则使用套石篮将其取出, 若结石较大可采用弹道碎石后再取出, 再次对胆总管以及肝总管进行探查, 若无发现明显结石, 用可吸收夹于距离胆总管0.5-1.0 cm处将胆囊管夹闭, 最后将胆囊切除(寻找到胆囊, 并用钳夹提起, 使用纱布紧贴患者的胆囊内部和胆囊下方填入, 充分显露出患者的Winslow's孔和肝脏十二指肠韧带等, 充分暴露出患者的胆囊三角。如患者胆囊过大, 可以使用针将胆汁吸出再进行手术。微创分离患者胆囊壶腹下缘, 并剪开浆膜, 再分离患者的胆总管、肝总管。分离胆囊管7 mm左右, 结扎胆囊, 并稍微进行牵拉, 用V字形剪开胆囊管, 插入3-4 cm的硬膜外导管, 再进行结扎。如患者有需要可以进行造影。分离并暴露胆囊动脉的各个分支, 使用钳夹夹断。在胆囊板平面将肝胆囊床进行分离, 并切除胆囊。电凝止血)(图1A)。

LCBDE手术方式同样采用气管插管全身麻醉, 术前准备同观察组, 术中将胆总管游离并暴露出胆总管前壁, 在胆总管的前壁处纵形方向切开一个小口, 将胆道镜置入并对胆总管以及肝总管进行探查, 若发现结石则用套石篮取出, 若无明显结石, 则置入合适大小的“T”管后应用单股可吸收或不可吸收缝线将胆总管缝合(图1B)。

1.2.2 观察指标: 比较两组患者的手术时间、术中出血量、术后住院时间、住院费用、术后补液量以及术后带管时间, 观察两组患者的术后并发症情况。

统计学处理 结果应用SPSS19.0统计软件

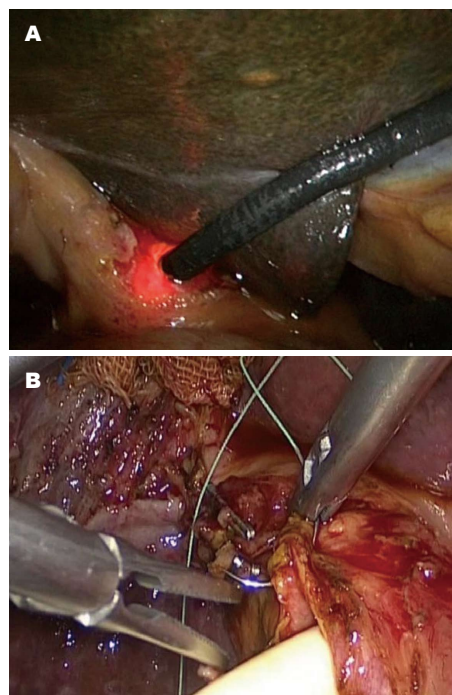


图1 手术治疗过程。A: LTCBDE术式; B: LCBDE术式。LTCBDE: 腹腔镜下行胆囊管胆总管探查取石术; LCBDE: 腹腔镜胆总管探查术。

予以统计。计量资料以mean±SD的形式表示, 采用t检验, 计数资料用相对数表示, 采用 χ^2 检验。检验标准设置为0.05, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者手术一般情况比较 观察组的手术时间明显长于对照组, 但其术中出血量、术后住院时间、住院费用、术后补液量以及术后带管时间明显少于对照组($P<0.05$, 表1)。

2.2 两组患者并发症比较 观察组中术后发生1例胰腺炎并发症, 近期并发症的发生率为2.22%(1/45), 远期并发症发生率为0, 对照组中出现2例胰腺炎、2例急性胆汁性腹膜炎、2例T管引流不畅, 并发症的发生率为13.33%(6/45), 远期并发症为11.11%(5/45), 组间比较有统计学差异($\chi^2 = 7.349, 5.281, P<0.05$)。

3 讨论

随着环境的变化以及人们生活方式的不断改变, 现在胆石症的发病率在不断升高之中, 有研究指出, 胆石症在成年人中的发病率达到了10%-25%^[5], 一经确诊为胆囊结石合并胆总管结石后需要尽早进行手术治疗, 若结石长期存在, 则容易引起胆囊出现癌变, 手术治疗胆囊

表 1 两组患者的手术一般情况比较

项目	观察组	对照组	t值	P值
手术时间(min)	122.68 ± 19.03	98.07 ± 12.45	5.287	<0.05
术中出血量(mL)	14.32 ± 3.77	18.14 ± 8.89	6.409	<0.05
术后住院时间(d)	3.05 ± 1.19	6.51 ± 1.24	11.572	<0.05
住院费用(元)	14579.82 ± 1471.42	16572.38 ± 1243.09	5.481	<0.05
术后补液量(mL)	5076.05 ± 844.63	7291.83 ± 766.44	7.842	<0.05
术后带管时间(d)	2.93 ± 0.85	70.11 ± 5.73	7.103	<0.05

■ 同行评价

本研究作为临床总结, 对临床医师有一定的参考价值。

结石的方法主要有传统开腹手术以及腹腔镜手术^[6], 传统的开腹手术虽然能够起到较为肯定的效果, 但是其创伤较大, 特别不适合合并症较多的老年患者, 对患者的生活质量产生严重的影响, 随着微创手术技术在临床上的不断应用, 腹腔镜手术在胆石症手术中也得到了越来越广泛的应用^[7], 目前腹腔镜下治疗胆总管结石主要有腹腔镜下经胆囊管胆总管探查术以及腹腔镜胆道探查“T”管引流术两种手术方式, 而本研究就两种手术方式的效果作进一步对比。

通过本次研究结果发现, 观察组术中出血量、术后住院时间、住院费用、术后补液量以及术后带管时间明显短于对照组, 组间比较差异均有统计学意义($P<0.05$), 这是由于腹腔镜下胆总管切开探查术后进行T管放置将对胆总管产生一定的损伤, 而LTCBDE手术方式不经过胆总管切口, 而是通过胆囊管这一自然通道进行操作, 能够提高治疗效果, 减少术后胆总管狭窄以及结石复发, 我们认为结石数量8-10枚、结石位于肝外胆管、胆囊管直径 >4 mm、结石直径 <10 mm, 是行腹腔镜胆囊管胆总管探查取石术的一个较为可行的治疗方法, 一般来说LTCBDE所要求的胆总管宽度为8-12 mm, 对于胆囊管的直径要求为4-5 mm, 且随着更纤细的胆道镜, 采取LTCBDE以及球囊扩张的方式, 对于胆囊管的要求已经降到了3 mm, 随着术者不断提高手术熟练度, 以及钬激光、等离子等碎石技术的应用, 结石的性状也不是唯一的限制, 既往有研究^[8]对结石过大或胆囊管狭窄患者采用胆囊管汇入部微切开方式行腹腔镜胆道探查术, 国外学者采用硬质胆道镜对直径2-14 mm的胆管结石均成功施行了LTCBDE手术, Noble等^[9]报道指出, 采用钬激光碎石技术, 通过LTCBDE技术完全能够将直径为10-20 mm的结石处理干净, 而一

般说来, 胆道镜能够通过胆囊管进行胆总管中, 即使探查失败仍能够通过LTCBDE或开腹手术来取出结石而不会导致额外的损伤, 且LTCBDE处理也能够避免因留置“T”管而引起的诸多并发症, 缩短患者的住院时间、减少住院费用, 同时术中多采用钝性分离能够避免电刀以及电凝对组织的切割作用, 减少术中出血, 避免术中凝固作用引起的胆管热损伤, 既往有研究^[10-13]指出, 胆管热效应会导致出现术后胆管小穿孔、胆漏以及术后数年出现的胆管狭窄, 且多数发病部位为高位胆管, 十分难以处理, 而本研究亦发现, 观察组的上述远期并发症的发生率明显低于对照组, 组间比较有明显差异($P<0.05$)。一般的继发性胆管结石都符合手术标准, 而且随着手术技术的不断熟练以及钬激光、等离子等碎石技术的不断更新, 对于结石的要求要越来越低。最近有报道^[14,15]指出, 利用钬激光碎石技术, 通过LTBCDE手术可以治疗直径10-20 mm大小的结石。

总之, LTCBDE治疗能够保证胆道系统的完整性, 只要掌握好手术适应证, 就能够起到微创的特性, 促进患者术后康复, 减少术后近期以及远期并发症, 值得临床推广应用。

4 参考文献

- 1 Rogers SJ, Cello JP, Horn JK, Siperstein AE, Schechter WP, Campbell AR, Mackersie RC, Rodas A, Kreuwel HT, Harris HW. Prospective randomized trial of LC+LCBDE vs ERCP/S+LC for common bile duct stone disease. *Arch Surg* 2010; 145: 28-33 [PMID: 20083751 DOI: 10.1001/archsurg.2009.226]
- 2 黄三雄, 吴育连, 唐成武, 王耀, 张良. 两种不同微创方法治疗老年胆囊结石合并胆总管结石的疗效对比. *中国老年学杂志* 2014; 11: 6930-6932
- 3 邹浩, 朱红, 张小文, 王琳, 李晓, 王琨, 王炳煌. 胆囊结石合并胆总管结石微创治疗方式的选择. *广东医学* 2011; 32: 1319-1321
- 4 荣育威, 张希全, 朱亮, 钟山, 崔佳佳. 经皮经肝穿刺多种介入技术联合治疗胆总管结石的疗效分析. *实用放射学杂志* 2014; 15: 2047-2049

- 5 Huang J, Zhu J. Spontaneously removed endobiliary J stent drainage after laparoscopic common bile duct exploration. *Surg Endosc* 2009; 23: 1398-1402 [PMID: 19263135 DOI: 10.1007/s00464-009-0368-8]
- 6 万春, 陈孝平. 兔肝细胞胆管上皮细胞对射频热效应的敏感性. *腹部外科* 2005; 18: 119-120
- 7 刘泽良. 腹腔镜下胆道镜经胆囊管行胆道探查取石术23例体会. *肝胆胰外科杂志* 2014; 26: 332-335
- 8 宋燕姣, 陈月秀, 杜丽萍. 13例双镜联合钬激光治疗胆总管嵌顿结石的手术配合与护理. *护理实践与研究* 2014; 33: 58-59
- 9 Noble H, Tranter S, Chesworth T, Norton S, Thompson M. A randomized, clinical trial to compare endoscopic sphincterotomy and subsequent laparoscopic cholecystectomy with primary laparoscopic bile duct exploration during cholecystectomy in higher risk patients with choledocholithiasis. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2009; 19: 713-720 [PMID: 19792866 DOI: 10.1089/lap.2008.0428]
- 10 Zhu QD, Tao CL, Zhou MT, Yu ZP, Shi HQ, Zhang QY. Primary closure versus T-tube drainage after common bile duct exploration for choledocholithiasis. *Langenbecks Arch Surg* 2011; 396: 53-62 [PMID: 20582601 DOI: 10.1007/s00423-010-0660-z]
- 11 Li MK, Tang CN, Lai EC. Managing concomitant gallbladder stones and common bile duct stones in the laparoscopic era: a systematic review. *Asian J Endosc Surg* 2011; 4: 53-58 [PMID: 22776221 DOI: 10.1111/j.1758-5910.2011.00073.x]
- 12 Varban O, Assimios D, Passman C, Westcott C. Video. Laparoscopic common bile duct exploration and holmium laser lithotripsy: a novel approach to the management of common bile duct stones. *Surg Endosc* 2010; 24: 1759-1764 [PMID: 20177943 DOI: 10.1007/s00464-009-0837-0]
- 13 代劲松, 邓志波, 颜登高. 胆管结石患者再次手术原因的多因素分析. *江汉大学学报(自然科学版)* 2013; 26: 92-95
- 14 王聪, 谷昊, 贺家勇, 赵晋明. 腹腔镜下经胆囊管胆道探查术与腹腔镜下胆道探查“T”管引流治疗继发性肝外胆管结石比较. *新疆医科大学学报* 2014; 21: 1318-1320, 1325
- 15 于聪慧, 梅建民, 余昌中, 姚军波, 杨荣华, 聂洪峰. 腹腔镜联合胆道镜治疗继发性胆道结石术后并发症分析. *中华肝胆外科杂志* 2011; 17: 732-734

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



一种中药五类新药对肠易激综合征的疗效

陈国雁, 刘琦

陈国雁, 刘琦, 上海市第七人民医院消化内科 上海市 200137
陈国雁, 主治医师, 主要从事胃肠道疾病的研究.
作者贡献分布: 本文由陈国雁与刘琦共同写作完成.
通讯作者: 陈国雁, 主治医师, 200137, 上海市浦东新区长岛路1066弄7号802, 上海市第七人民医院消化内科.
gyanchenc@163.com
收稿日期: 2015-06-13 修回日期: 2015-07-04
接受日期: 2015-09-07 在线出版日期: 2015-10-08

Clinical effects of Dingguiyou capsule in irritable bowel syndrome

Guo-Yan Chen, Qi Liu

Guo-Yan Chen, Qi Liu, Department of Gastroenterology, the Seventh People's Hospital of Shanghai, Shanghai 200137, China
Correspondence to: Guo-Yan Chen, Attending Physician, Department of Gastroenterology, the Seventh People's Hospital of Shanghai, 7-802, 1006 Changdao Road, Pudong New District, Shanghai 200137, China. gyanchenc@163.com
Received: 2015-06-13 Revised: 2015-07-04
Accepted: 2015-09-07 Published online: 2015-10-08

Abstract

AIM: To evaluate the clinical effects of Dingguiyou capsule in irritable bowel syndrome (IBS).

METHODS: Seventy-eight patients with IBS were randomly and equally divided into three groups: A, B and C. Group A was treated with low-dose Dingguiyou capsule, group B was treated with high-dose Dingguiyou capsule, and group C was treated with a placebo. The clinical effects, efficacy on relief of traditional Chinese medicine (TCM) syndrome, efficacy on relief of abdominal pain, time to pain reduction, time to

pain relief, total symptom score, TCM symptom score, and adverse reactions were compared for the three groups. The levels of calcitonin gene-related peptide (CGRP), P substance (SP), and cholecystokinin (CCK) were also compared.

RESULTS: The clinical effects, efficacy on relief of TCM syndrome, and efficacy on relief of abdominal were significantly better in groups A and B than in group C ($P < 0.05$). The time to pain reduction was longer in groups B and C than in group A ($P < 0.05$). There was no significant difference in the time to pain relief for the three groups ($P > 0.05$). The total symptom score and TCM symptom score were significantly higher in group B than in groups A and C ($P < 0.05$). There were no serious adverse events. The levels of CGRP, SP, and CCK after treatment were better in group B than in groups A and C.

CONCLUSION: Dingguiyou capsule has good clinical effects for patients with IBS, and it can improve the efficacy on relief of TCM syndrome, the efficacy on relief of abdominal pain, total symptom score, and TCM symptom score.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Dingguiyou capsule; Irritable bowel syndrome; Clinical effects

Chen GY, Liu Q. Clinical effects of Dingguiyou capsule in irritable bowel syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(28): 4579-4584 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4579.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i28.4579>

■背景资料

肠易激综合征 (irritable bowel syndrome, IBS) 是消化系统非器质性因素造成的一种功能性疾病. 关于IBS方面的研究较多, 包括白术芍药散治疗、针刺治疗、疏肝健脾法治疗等多种治疗方法, 临床疗效接近. 研究更为有效的治疗方法对于提高患者的生活质量具有重要意义.

■同行评议者

李晓波, 教授, 上海交通大学药学院; 王小众, 教授, 福建医科大学附属协和医院消化内科

■ 研究前沿

IBS主要表现为腹部不适、慢性间歇性排便习惯和大便性状改变。IBS多以女性群体为主要发病群体, 对患者的生活质量造成严重影响。研究有效的治疗措施对于改善IBS患者生活质量有着重要意义。

摘要

目的: 探讨中药五类新药(丁桂油软胶囊)治疗肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)的临床疗效。

方法: 随机抽取2012-01/2015-03上海市第七人民医院消化内科收治的78例IBS患者的临床资料。按照随机数字表法将患者分为A组、B组和C组, 每组例数为26例。A组患者采取低剂量丁桂油软胶囊治疗。B组患者采取高剂量丁桂油软胶囊治疗。C组患者采取丁桂油软胶囊安慰剂治疗。观察3组患者临床疗效、中医症状疗效、腹痛疗效、疼痛起效时间、疼痛缓解时间、症状总积分、中医症状积分、不良反应发生情况。观察患者降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)、P物质(P substance, SP)、胆囊收缩素(cholecystokinin, CCK)变化情况。

结果: A、B组临床总有效率、中医症状总有效率、腹痛总有效率显著高于C组($P<0.05$)。B组、C组疼痛起效时间显著优于A组($P<0.05$)。3组患者疼痛缓解时间比较, 差异无统计学意义。治疗后, B组症状总积分、中医症状积分均优于A组和C组($P<0.05$)。3组患者均未发生严重不良反应事件。治疗后, B组CGRP、SP、CCK阳性表达面积、平均光密度值、聚合光密度值均优于A组和C组($P<0.05$)。

结论: 丁桂油软胶囊治疗肠易激综合征临床疗效佳, 能够显著改善患者中医症状总疗效、腹痛总疗效、症状总积分、中医症状积分, 具有较高的临床推广价值。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 丁桂油软胶囊; 肠易激综合征; 临床疗效

核心提示: 本文研究结果表明, 患者采取丁桂油软胶囊治疗肠易激综合征(irritable bowel syndrome), 临床总有效率、中医症状总有效率、腹痛总有效率均较好, 而且高剂量的药物在疼痛起效时间方面较快, 能够快速起效。另外, 3组患者疼痛缓解时间比较, 差异无统计学意义。可见药物量的多少对疼痛缓解时间无显著影响。而高剂量的药物在症状总积分、中医症状积分方面, 效果较好。

陈国雁, 刘琦. 一种中药五类新药对肠易激综合征的疗效. 世界华人消化杂志 2015; 23(28): 4579-4584 URL: http://

0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是消化系非器质性因素造成的一种功能性疾病。关于IBS方面的研究较多, 包括白术芍药散治疗、针刺治疗、疏肝健脾法治疗等多种治疗方法, 各种治疗方法临床疗效接近。研究更为有效的治疗方法对于提高患者的生活质量具有重要意义。IBS主要表现为腹部不适、慢性间歇性排便习惯和大便性状改变^[1]。IBS多以女性群体为主要发病群体, 对患者的生活质量造成严重影响^[2]。研究有效的治疗措施对于改善IBS患者生活质量有着重要意义。关于丁桂油软胶囊治疗IBS方面的研究较少, 进一步证实其临床效果有较高的应用价值。上海市第七人民医院消化内科采取丁桂油软胶囊治疗该病症, 临床疗效较好。现将研究内容报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 随机抽取2012-01/2015-03上海市第七人民医院消化内科收治的78例IBS患者的临床资料。西医IBS诊断标准: 参照罗马II标准^[3]。(1)腹部不适或能够在排便后缓解;(2)腹部不适或伴大便频率异常;(3)腹部不适或伴大便性状异常。患者符合3项中的2项即可诊断为IBS。中医IBS诊断标准^[4]: 主要症状为脘腹疼痛, 遇寒加重; 次要症状为腹泻、便秘、嗝气、排便急迫、脉弦而紧。按照随机数字表法将患者分为A组、B组和C组, 每组例数为26例。3组患者的临床资料比较, 差异无统计学意义(表1), 具有可比性。丁桂油软胶囊为成都尚科药业有限公司生产, 0.4 g/粒, 批号051204; 丁桂油软胶囊安慰剂为成都尚科药业有限公司生产, 0.4g/粒, 批号051208。

1.2 方法

1.2.1 治疗: A组: 患者采取低剂量丁桂油软胶囊治疗。每天服用3次, 每次服用2粒, 口服。治疗时间为2 wk。B组: 患者采取高剂量丁桂油软胶囊治疗。每天服用3次, 每次服用3粒, 服用方法为口服。治疗时间为2 wk。C组: 患者采取丁桂油软胶囊安慰剂治疗。每天服用3次, 每次服用3粒, 服用方法为口服。治疗时间为2 wk。

1.2.2 观察指标: 观察3组患者临床疗效、中医

表 1 患者一般资料 ($n = 26$)

项目	A组	B组	C组	P值
性别				>0.05
男	12	11	13	
女	14	15	13	
平均年龄(岁)	40.51 ± 6.62	40.28 ± 6.13	41.27 ± 5.33	>0.05
平均病程(年)	4.29 ± 1.13	4.55 ± 1.63	4.51 ± 1.09	>0.05
病情程度				>0.05
轻度	14	13	13	
中度	10	11	10	
重度	2	2	3	
中医症状积分(分)	17.58 ± 4.33	17.30 ± 4.31	17.47 ± 4.25	>0.05
腹痛症状积分(分)	4.39 ± 1.88	4.28 ± 1.67	4.84 ± 1.66	>0.05

■ 相关报道

研究认为, 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)在IBS发病过程中, 有着重要的作用。5-HT是人体必需氨基酸色氨酸的代谢产物, 多数来源人体的肠道。5-HT参与了机体的许多生理过程, 在肠道中已经发现了5-HT的受体亚型。

症状疗效、腹痛疗效、疼痛起效时间、疼痛缓解时间、症状总积分、中医症状积分、不良反应发生情况。观察患者降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)、P物质(P substance, SP)、胆囊收缩素(cholecystokinin, CCK)含量变化情况。CGRP、SP、CCK含量测定: 取回盲部、乙状结肠标本, 常规固定、包埋、切片。严格按照免疫组织化学化步骤进行操作。免疫组织化学化试剂盒购自北京博奥森生物技术有限公司。

疼痛起效时间、疼痛缓解时间以患者主观感受进行判断。中医症状、体征、证候积分参考《中药新药临床研究指导原则》^[5]评分。

临床疗效^[6]: 分为显效、有效和无效, 以中医证候积分变化情况进行判断。中医临床症状、体征得到显著的改善、证候积分减少达70%及以上为显效; 中医临床症状、体征得到有效的改善、证候积分减少达30%及以上、不足70%为有效; 其他为无效。总有效率为显效率+有效率。

中医症状疗效^[7]: 分为痊愈、显效、有效和无效四种情况。中医临床症状消失、中医症状积分减少达90%及以上为痊愈; 中医临床症状显著改善、中医症状积分减少达70%及以上、不及90%为显效; 中医临床症状有所改善、中医症状积分减少达30%及以上、不及70%为有效; 其他为无效。总有效率为痊愈率+显效率+有效率。中医症状、体征、证候积分参考《中药新药临床研究指导原则》评分。

腹痛疗效^[8]: 腹痛采取通用的直观模拟标尺法(visual analogue scale, VAS)判断, 0-10分

别表示疼痛强度, 0表示不痛, 10表示极度疼痛, 1-3表示轻度疼痛, 4-6表示中度疼痛, 7-9表示重度疼痛。分为痊愈、显效、有效和无效4种情况。治疗疗程结束后, 患者疼痛评分0分为痊愈, 疼痛程度从重度转为轻度为显效, 从重度转为中度或从中度转为轻度为有效, 无改善为无效。

统计学处理 使用SPSS19.0统计和分析数据, 以mean±SD和百分率分别表示计量结果和计数结果, 使用t检验和 χ^2 检验, $P < 0.05$ 时表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 西医症状疗效、中医症状疗效、腹痛疗效比较 A组、B组临床西医症状疗效、中医症状疗效、腹痛疗效总有效率显著高于C组($P < 0.05$)(表2)。

2.2 疼痛起效时间、疼痛缓解时间比较 A组疼痛起效时间和缓解时间分别为6.79 min ± 2.11 min, 11.29 min ± 2.45 min; B组为3.49 min ± 1.22 min, 9.88 min ± 1.45 min; C组为5.69 min ± 2.88 min, 11.18 min ± 2.78 min。B组、C组疼痛起效时间显著优于A组($P < 0.05$)。B组疼痛起效时间显著较短。3组患者疼痛缓解时间比较, 差异无统计学意义。

2.3 症状总积分、中医症状积分比较 治疗前, 3组患者症状总积分、中医症状积分比较, 差异无统计学意义。治疗后, B组症状总积分、中医症状积分均优于A组和C组($P < 0.05$)(表3)。

2.4 患者CGRP、SP、CCK含量变化情况比较 治疗前, 3组患者CGRP阳性表达面积、平均光密度值、聚合光密度值比较, 差异无统计学意

应用要点

丁桂油软胶囊治
疗肠易激综合征
临床疗效佳, 能
够显著改善患者
中医症状总疗
效、腹痛总疗
效、症状总积
分、中医症状积
分, 具有较高的
临床推广价值。

表 2 患者临床疗效、中医症状疗效、腹痛疗效比较 n(%)

分组	临床疗效				中医症状疗效				腹痛疗效			
	显效	有效	无效	总有效	痊愈	显效	有效	无效	总有效	痊愈	显效	有效
A组	14(53.85)	10(38.46)	2(7.69)	24(92.31) ^a	4(15.38)	8(30.77)	10(38.46)	4(15.38)	22(84.62) ^a	4(15.38)	8(30.77)	10(38.46)
B组	16(61.54)	8(30.77)	2(7.69)	24(92.31) ^a	8(30.77)	8(30.77)	6(23.08)	4(15.38)	22(84.62) ^a	6(23.08)	12(46.15)	4(15.38)
C组	6(23.08)	10(38.46)	10(38.46)	16(61.54)	2(7.69)	2(7.69)	10(38.46)	12(46.15)	14(53.85)	2(7.69)	2(7.69)	10(38.46)

^aP<0.05 vs C组.

表 3 患者症状总积分、中医症状积分比较

分组	症状总积分		中医症状积分	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
A组	17.88 ± 4.66	8.29 ± 5.17 ^a	17.39 ± 4.78	8.19 ± 5.56 ^a
B组	18.38 ± 4.77	4.99 ± 1.46	17.79 ± 4.33	4.66 ± 1.59
C组	18.08 ± 2.33	9.18 ± 4.46 ^a	17.19 ± 3.31	8.55 ± 4.77 ^a

^aP<0.05 vs B组.

义. 治疗后, B组CGRP、CCK阳性表达面积、平均光密度值均低于A组和C组, B组SP阳性表达面积、平均光密度值高于A组和C组 ($P<0.05$)(表4).

2.5 不良反应发生情况比较 3组患者均发生严重不良反应事件. A组出现1例嗜睡, B组出现1例轻微腹泻, 1例嗜睡, C组1例嗜睡.

3 讨论

IBS是功能性疾病, 患者主要表现为腹部疼痛、大便性状改变等. 关于IBS的发病机制, 目前尚无确切的研究. 多数研究认为, 胃肠道动力异常、精神心理因素等是引起IBS的主要原因. 研究认为, 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)在IBS发病过程中, 有着重要的作用. 5-HT是人体必需氨基酸的代谢产物, 多数来源于肠道的. 5-HT参与了机体的许多生理过程, 在肠道中已经发现了5-HT的受体亚型^[9,10].

表 4 3组患者治疗前后CGRP、SP、CCK含量比较 (mean ± SD)

名称	分组	阳性表达面积(μm ²)		平均光密度值		聚合光密度值	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
CGRP	A组	175.28 ± 13.48	157.49 ± 11.11 ^a	0.26 ± 0.07	0.20 ± 0.09 ^a	50.24 ± 4.66	43.42 ± 7.59 ^a
	B组	174.69 ± 12.99	135.28 ± 12.44	0.27 ± 0.08	0.15 ± 0.44	51.33 ± 5.17	26.67 ± 7.44
	C组	175.24 ± 13.45	169.22 ± 13.45 ^a	0.25 ± 0.07	0.21 ± 0.08 ^a	50.22 ± 4.98	43.41 ± 8.66 ^a
SP	A组	126.34 ± 8.44	142.33 ± 9.25 ^a	0.14 ± 0.03	0.17 ± 0.02	18.32 ± 3.66	25.78 ± 6.45
	B组	125.91 ± 7.64	148.27 ± 9.33	0.14 ± 0.03	0.19 ± 0.04	18.74 ± 3.59	26.23 ± 8.41
	C组	126.48 ± 9.34	141.27 ± 8.33 ^a	0.14 ± 0.02	0.17 ± 0.02	19.01 ± 4.02	25.99 ± 5.48
CCK	A组	118.64 ± 9.25	114.37 ± 8.29 ^a	0.23 ± 0.05	0.19 ± 0.08 ^a	28.36 ± 5.22	23.25 ± 7.21 ^a
	B组	118.23 ± 8.97	105.29 ± 9.33	0.23 ± 0.04	0.15 ± 0.05	28.17 ± 5.41	16.86 ± 8.78
	C组	117.66 ± 8.33	113.25 ± 6.82 ^a	0.24 ± 0.06	0.19 ± 0.07 ^a	28.33 ± 6.02	24.18 ± 7.33 ^a

^aP<0.05 vs B组. CGRP: 降钙素基因相关肽; SP: P物质; CCK: 胆囊收缩素.

关于IBS的治疗,包括对症治疗和综合治疗^[11,12].中医在治疗IBS方面,疗效较好.上海市第七人民医院采取丁桂油软胶囊治疗IBS,效果较好.该药物的主要成分为丁香、肉桂.有着较好的温散寒邪、行气止痛的疗效.动物实验研究发现,丁桂油软胶囊能够推进小鼠小肠的运动功能,抑制小鼠小肠运动亢进情况.可以推测,丁桂油软胶囊能够镇痛、抗炎、调节机体的胃肠运动功能.

胃肠病学家从多个层面研究了IBS,是世界范围内的多发病,我国的发病率在0.8%-5.6%左右^[13,14].城市的发病率高于农村. IBS对患者的生活和工作造成严重影响.临床在治疗的时候,主要以安慰、饮食、心理治疗等为主要治疗方法,药物治疗则以改善患者胃肠道动力、减轻肠管扩张为目标.

中医研究认为,IBS属“腹痛”、“泄泻”、“便秘”、“滞下”等范畴,多因外邪入侵、情志失常所致.机体气机不畅、肝郁气滞,则容易发病^[15,16].治疗的时候,则以通气活血、调节情志为主要治疗措施.丁桂油软胶囊主要成分为丁香、肉桂.其中,丁香味辛、性温,可以温中降逆、补肾助阳,在治疗脾胃虚寒、食少吐泻等方面,应用较多.肉桂味辛、甘,可以补火助阳、散寒止痛、活血通经.常用于治疗宫冷、虚寒吐泻、心腹冷痛等病症.现代药理学研究认为^[17],丁香、肉桂可以镇痛、抗原、抗溃疡、抑制肠运动.本文研究结果表明,患者采取丁桂油软胶囊治疗IBS,临床总有效率、中医症状总有效率、腹痛总有效率均较好,而且高剂量的药物在疼痛起效时间方面较快,能够快速起效.另外,3组患者疼痛缓解时间比较,差异无统计学意义.可见药物量的多少对疼痛缓解时间无显著影响.而高剂量的药物在症状总积分、中医症状积分方面,效果较好.

总之,丁桂油软胶囊治疗肠易激综合征临床疗效佳,能够显著改善患者中医症状总疗效、腹痛总疗效、症状总积分、中医症状积分,具有较高的临床推广价值.

同行评价
本文内容具有实际意义,有较好的参考价值.

4 参考文献

- 1 谢文堂, 李茂清, 周三林, 张满, 彭志勇. 参苓白术散与艾灸对肠易激综合征患者血清脑肠肽的影响. 中国中医药信息杂志 2015; 22: 36-38
- 2 白雪琴, 周正华. 疏肝健脾法治疗腹泻型肠易激综合征研究进展. 江西中医药 2015; 44: 75-77
- 3 Thompson WG, Longstreth GF, Drossman DA, Heaton KW, Irvine EJ, Müller-Lissner SA. Functional bowel disorders and functional abdominal pain. *Gut* 1999; 45 Suppl 2: II43-II47 [PMID: 10457044]
- 4 高峰, 邵文全. 自拟通阳化气方加减治疗肠易激综合征疗效观察. 四川中医 2015; 33: 97-98
- 5 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 159-121
- 6 Yang B, Zhou X, Lan C. Changes of cytokine levels in a mouse model of post-infectious irritable bowel syndrome. *BMC Gastroenterol* 2015; 15: 43 [PMID: 25886744 DOI: 10.1186/s12876-015-0272-8]
- 7 张伟, 孙建华, 裴丽霞, 吴晓亮, 周俊灵, 陈璐. 中医药治疗肠易激综合征的系统评价/Meta分析的再评价. 世界华人消化杂志 2014; 22: 1747-1755
- 8 范芳芳, 张红, 赵生俊, 孙奇. 应用CONSORT标准评价中医药治疗肠易激综合征随机对照试验报告的质量. 中国医院药学杂志 2015; 35: 339-343
- 9 陈宏, 康密. 艾灸配合中成药治疗腹泻型肠易激综合征38例. 陕西中医学院学报 2014; 37: 44-46
- 10 宝贵花, 杨莎莎. 马来酸曲美布汀联合双歧三联活菌治疗肠易激综合征(IBS)的Meta分析. 青海医药杂志 2014; 44: 40-42
- 11 Yin Y, Zhong L, Wang JW, Zhao XY, Zhao WJ, Kuang HX. Tong Xie Yao Fang relieves irritable bowel syndrome in rats via mechanisms involving regulation of 5-hydroxytryptamine and substance P. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 4536-4546 [PMID: 25914462]
- 12 刘宁, 练海燕, 郭伟强, 潘美云. 复方枸橼酸阿罗维林治疗功能性腹痛综合征的疗效. 世界华人消化杂志 2014; 22: 2641-2644
- 13 彭浩, 姚真, 王晶晶, 蔡敏, 岳小强. 中医药治疗腹泻型肠易激综合征临床研究近况. 江西中医药大学学报 2014; 26: 94-97
- 14 李上云, 吴耀南. 中医药治疗便秘型肠易激综合征研究进展. 中医药通报 2014; 13: 64-66
- 15 袁建军, 朱晓继. 地衣芽孢杆菌活菌胶囊联合匹维溴铵治疗腹泻型肠易激综合征疗效观察. 深圳中西医结合杂志 2014; 24: 123-124
- 16 Flik CE, van Rood YR, de Wit NJ. Systematic review: knowledge and educational needs of patients with irritable bowel syndrome. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2015; 27: 367-371 [PMID: 25874506 DOI: 10.1097/MEG.0000000000000252]
- 17 卞立群, 陈婷, 唐旭东, 李振华, 李保双, 张引强, 王萍. 肠易激综合征中医药治疗模式分析. 环球中医药 2015; 8: 119-123

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



内镜下治疗结肠息肉的安全性及有效性

雍和礼, 张 丽

雍和礼, 张丽, 宁夏回族自治区固原市原州区人民医院消化内科 宁夏回族自治区固原市 756000

雍和礼, 副主任医师, 主要从事消化内科疾病的研究。

作者贡献分布: 本文主要由雍和礼与张丽共同写作完成。

通讯作者: 雍和礼, 副主任医师, 756000, 宁夏回族自治区固原市原州区文化东路41号, 宁夏回族自治区固原市原州区人民医院消化内科. yheliyong@163.com

收稿日期: 2015-06-30 修回日期: 2015-09-15

接受日期: 2015-09-18 在线出版日期: 2015-10-08

Safety and effectiveness of endoscopic therapy in patients with colonic polyps

He-Li Yong, Li Zhang

He-Li Yong, Li Zhang, Department of Gastroenterology, the People's Hospital of Yuanzhou District, Guyuan 756000, Ningxia Hui Autonomous Region, China

Correspondence to: He-Li Yong, Associate Chief Physician, 756000, Department of Gastroenterology, the People's Hospital of Yuanzhou District, 41 Wenhua East Road, Yuanzhou District, Guyuan 756000, Ningxia Hui Autonomous Region, China. yheliyong@163.com

Received: 2015-06-30 Revised: 2015-09-15

Accepted: 2015-09-18 Published online: 2015-10-08

Abstract

AIM: To evaluate the safety and effectiveness of endoscopic therapy in patients with colonic polyps.

METHODS: Ninety-six patients with colonic polyps were divided into a study group (50 cases) and a control group (46 cases) according to the treatment method. The control group was treated by surgical excision, and the study group was treated by endoscopic therapy. Hospital stays, costs, postoperative fasting time, and complications were compared for the two groups.

RESULTS: The bleeding volume in the study group was significantly lower than that in the control group ($P < 0.05$). The duration of bed rest was significantly shorter in the study group than in the control group ($P < 0.05$). The scores of anxiety and activity of daily living were significantly lower in the study group than in the control group ($P < 0.05$). The hospital stays, costs, and postoperative fasting time were significantly lower in the study group than in the control group ($27.88 \text{ h} \pm 4.69 \text{ h}$ vs $64.62 \text{ h} \pm 6.45 \text{ h}$, $2648.25 \text{ yuan} \pm 112.45 \text{ yuan}$ vs $6614.25 \text{ yuan} \pm 130.69 \text{ yuan}$, $32.69 \text{ h} \pm 6.66 \text{ h}$ vs $58.72 \text{ h} \pm 7.35 \text{ h}$, $P < 0.05$). The rate of complications was significantly lower in the study group than in the control group (6.00% vs 23.91% , $P < 0.05$).

CONCLUSION: Endoscopic therapy has good clinical effects for patients with colonic polyps, and it can reduce hospital stays, costs, postoperative fasting time, and complications.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Endoscopic therapy; Colonic polyps; Clinical effects

Yong HL, Zhang L. Safety and effectiveness of endoscopic therapy in patients with colonic polyps. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(28): 4585-4588
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4585.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i28.4585>

摘要

目的: 探讨内镜下治疗结肠息肉的临床疗效。

方法: 随机抽取2012-05/2015-03宁夏回族自治区固原市原州区人民医院消化内科收治

背景资料

随着社会的发展, 人们生活水平的提高, 结肠癌的发病率在不断增加, 结肠息肉是结肠癌前病变的常见病症。结肠息肉多通过结肠镜检查, 内镜技术可以改善患者创伤情况, 减少患者痛苦, 配合外科麻醉技术, 使得结肠息肉的治疗更加安全、有效。

同行评议者

何向辉, 教授, 天津医科大学总医院普通外科; 姜相君, 主任医师, 青岛市市立医院消化科

■应用要点

内镜下治疗结肠息肉临床疗效较好, 可有效缩短患者住院时间、手术花费、术后禁食时间, 而且患者术后并发症发生率较低, 值得临床推广。

的结肠息肉患者96例的临床资料。根据临床治疗方法将患者分为实验组和对照组, 实验组患者例数为50例, 对照组患者例数为46例。对照组患者采取手术切除治疗, 实验组患者采取内镜下切除治疗。观察两组患者住院时间、花费、术后禁食时间; 观察两组患者术后并发症发生情况和术中、术后相关情况。

结果: 术中, 实验组患者出血量显著低于对照组($P<0.05$)。术后, 实验组患者卧床时间显著低于对照组($P<0.05$), 焦虑和日常生活能力评分显著低于对照组($P<0.05$)。实验组患者住院时间、花费、术后禁食时间和术后并发症发生率均低于对照组(27.88 h \pm 4.69 h vs 64.62 h \pm 6.45 h, 2648.25元 \pm 112.45元 vs 6614.25元 \pm 130.69元, 32.69 h \pm 6.66 h vs 58.72 h \pm 7.35 h, 6.00% vs 23.91%, $P<0.05$)。

结论: 内镜下治疗结肠息肉临床疗效较好, 可有效缩短患者住院时间和术后禁食时间, 而且手术花费减少、患者术后并发症发生率较低, 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: 内镜; 结肠息肉; 疗效

核心提示: 本文对内镜下治疗结肠息肉的临床疗效进行研究, 发现实验组患者住院时间、花费、术后禁食时间和术后并发症发生率均低于对照组($P<0.05$), 有较好的临床价值。

雍和礼, 张丽. 内镜下治疗结肠息肉的安全性及有效性. 世界华人消化杂志 2015; 23(28): 4585-4588 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4585.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i28.4585>

0 引言

息肉指的是黏膜表面突出的一种赘生物, 分为炎症性息肉、增生性息肉、腺瘤等。一般将直径超过2 cm的息肉叫做大息肉。随着社会的发展, 人们生活水平的提高, 结肠癌的发病率在不断增加, 结肠息肉是结肠癌前病变的常见病症^[1]。内镜技术可以改善患者创伤情况, 减少患者痛苦, 配合外科麻醉技术, 使得结肠息肉的治疗更佳安全、有效。现将宁夏回族自治区固原市原州区人民医院消化内科在内镜下治疗结肠息肉方面的研究报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 随机抽取2012-05/2015-03宁夏回族自治区固原市原州区人民医院消化内科收治的结肠息肉患者96例的临床资料。根据临床治疗方法将患者分为实验组和对照组, 实验组患者例数为50例, 对照组患者例数为46例。实验组: 男31例, 女19例, 患者年龄为24-71岁, 平均年龄为45.31岁 \pm 6.13岁; 息肉数量: 单发息肉27例, 多发息肉23例; 息肉形态: 有蒂息肉20例, 亚蒂息肉15例, 无蒂息肉15例; 发生部位: 直结肠16例, 乙状结肠息肉21例, 降结肠7例, 横结肠6例。对照组: 男29例, 女17例, 患者年龄为24-70岁, 平均年龄为45.15岁 \pm 6.07岁; 息肉数量: 单发息肉25例, 多发息肉21例; 息肉形态: 有蒂息肉18例, 亚蒂息肉14例, 无蒂息肉14例; 发生部位: 直结肠15例, 乙状结肠息肉20例, 降结肠6例, 横结肠5例。两组患者的临床资料比较, 差异无统计学意义, 具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 术前进行常规检查, 确保患者适合手术, 手术前确保肠道清洁, 避免手术视野受到影响。手术前1 d服用流食, 手术当天大量饮水2000 mL为宜。服用常规解痉药物, 降低肠道蠕动, 适当营养补液。病理检查确定患者息肉大小、位置等, 根据息肉的不同情况确定合理方案。对于广基息肉采取活钳摘除, 亚蒂息肉采取圈套器切除, 细蒂息肉采取电凝电凝切除。对照组患者采取手术切除治疗, 实验组患者采取内镜下切除治疗。实验组: 根据息肉形态, 采取高频电息肉切除、尼龙绳套扎结核高频电息肉切除等方法, 对于术后有残蒂出血的情况, 采取钛夹止血。对照组: 开腹切除病变肠管。患者术后均禁食。做好生命体征观察工作。

1.2.2 观察指标: 观察两组患者住院时间、花费、术后禁食时间; 观察两组患者术后并发症发生情况; 观察两组患者术中、术后相关情况。

统计学处理 采用SPSS19.0统计软件进行统计分析, 计量资料结果用mean \pm SD表示, 治疗前后及组间比较用 t 检验, 计数资料以构成比表示, 用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者术中、术后相关情况 术中, 实验组患者出血量显著低于对照组($P<0.05$)。术后, 实验

同行评价
本研究设计合理, 选题实用, 有参考意义。

表 1 两组患者术中、术后相关情况比较

分组	n	出血量(mL)	卧床时间(d)	焦虑(分)	日常生活活动能力(分)
实验组	50	15.79 ± 4.33 ^a	2.22 ± 2.15 ^a	9.55 ± 1.22 ^a	20.33 ± 3.66
对照组	46	50.28 ± 5.33	6.22 ± 2.44	30.56 ± 4.88	51.24 ± 6.33

^a $P < 0.05$ vs 对照组.

表 2 两组患者术后并发症发生情况比较 n(%)

分组	n	出血	穿孔	感染	总发生
实验组	50	1(2.00) ^a	1(2.00) ^a	1(2.00) ^a	3(6.00)
对照组	46	3(6.52)	5(10.87)	3(6.52)	11(23.91)

^a $P < 0.05$ vs 对照组.

组患者卧床时间显著低于对照组($P < 0.05$), 焦虑和日常生活活动能力评分显著低于对照组($P < 0.05$)(表1).

2.2 住院时间、花费、术后禁食时间比较 实验组患者住院时间、花费、术后禁食时间均低于对照组(27.88 h ± 4.69 h vs 64.62 h ± 6.45 h, 2648.25元 ± 112.45元 vs 6614.25元 ± 130.69元, 32.69 h ± 6.66 h vs 58.72 h ± 7.35 h, $P < 0.05$), 差异有统计学意义.

2.3 并发症发生情况比较 患者主要并发症包括出血、穿孔、感染等. 实验组患者术后并发症发生率低于对照组, 差异有统计学意义(表2).

3 讨论

大肠组织发生癌变的几率和其组织分型、瘤体大小等有一定的联系. 患者息肉越大, 不典型程度越重, 发生癌变的几率越高^[2-4]. 另外, 息肉表面粗糙、糜烂等也有较高的癌变率. 临床早诊断、早治疗对于提高预后有着重要意义. 结肠息肉(colonic polyps)多通过结肠镜检查. 随着医学的发展, 染色、内镜窄带成像术(narrow band imaging, NBI)等均称为诊断结肠息肉的有效方法^[5-8]. 内镜技术的发展, 使得内镜下高频电凝切除术、尼龙圈套扎术、内镜下黏膜剥离术等均不断应用到结肠息肉的诊断和治疗方面^[9-12].

医学技术的发展带来了内镜技术的不断完善. 内镜作为一种辅助手段, 在结肠息肉的治疗方面发挥着重要作用. 传统的外科手术

对患者的创伤较大, 患者承受的痛苦多, 术后康复慢. 随着结肠镜的普及, 结肠息肉的检出率也在不断增加^[13-16]. 不同地区在结肠息肉的发病率方面, 有一定的差异. 当发现结肠息肉后, 要选择切除治疗. 一般可通过外科手术切除和内镜下切除. 结肠息肉临床表现为便血、腹痛、腹胀、便秘等. 该病症的主要形态分为山田 I 型、II 型、III型和IV型. 结肠息肉从病理类型上分为肿瘤性息肉和非肿瘤性息肉. 结肠肿瘤性息肉根据其组织学特征又可分为管状腺瘤、乳头状腺瘤、混合性腺瘤, 非肿瘤性息肉根据其组织学特征又可分为增生性息肉、炎性息肉、错构瘤性息肉等. 结肠息肉患者在发病早期, 没有特异性的临床标准. 在之前, 由于诊断技术不够完善, 患者在确诊时, 多已趋于病情晚期, 甚至癌变.

结肠息肉的内镜下诊断能够观察是否存在息肉. 随着医学技术的发展, 内镜检查结肠小息肉的准确率在不断提高. 主要采取的诊断方法包括色素内镜法、放大电子内镜、窄带成像技术等. 内镜下治疗结肠息肉的方法有多种, 包括药液注射、冷冻、微波等, 不同的方法有各自的优缺点. 本文研究结果显示, 实验组患者住院时间、花费、术后禁食时间均低于对照组($P < 0.05$). 实验组患者术后并发症发生率低于对照组($P < 0.05$).

同传统的外科手术治疗方比较, 内镜治疗有明显的优势. 传统的外科治疗, 手术创伤大, 时间长, 给患者造成的痛苦大. 内镜技术则经济、安全、患者易接受. 对于手术发生的并发

症, 如出血、穿孔等, 需要积极处理, 避免发生严重后果.

总之, 内镜下治疗结肠息肉临床疗效较好, 可有效缩短患者住院时间、手术花费、术后禁食时间, 而且患者术后并发症发生率较大, 值得临床推广.

4 参考文献

- 1 李攀, 张金卓, 闫国华. 内镜下金属支架置入术治疗结肠恶性梗阻伴肠腔渗漏1例. 临床荟萃 2015; 30: 338-339
- 2 朱林林, 王瑾, 刁燕, 甘涛. 结肠镜下息肉治疗时定位困难原因分析. 四川医学 2015; 36: 279-281
- 3 许昌芹, 张澍田. 上消化道黏膜下肿瘤内镜治疗进展. 中国内镜杂志 2015; 21: 279-283
- 4 许海霞, 岳妍. 胃息肉中西医研究进展. 湖南中医杂志 2015; 31: 171-173
- 5 Paritsky M, Pastukh N, Brodsky D, Isakovich N, Peretz A. Association of *Streptococcus bovis* presence in colonic content with advanced colonic lesion. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 5663-5667 [PMID: 25987793 DOI: 10.3748/wjg.v21.i18.5663]
- 6 高雪峰, 丁岩冰, 支杰华, 邓彬彬, 王远志, 许松欣. 金属钛夹在肠镜并发急性穿孔的应用. 临床荟萃 2015; 30: 434-435
- 7 Boga S, Koksar AR, Alkim H, Ergun M, Bayram M, Ozagari AA, Alkim C. Does anatomical distribution of colorectal polyps show a rightward shift? Analysis of 2,372 colorectal polyps in 1,558 patients from Turkey. *J Gastrointest Liver Dis* 2015; 24: 126-127 [PMID: 25822446]
- 8 杨斌, 李超, 朱华军, 程曦, 何友军, 胡欣. 结直肠疾病临床特点的趋势分析. 现代生物医学进展 2015; 15: 1483-1487
- 9 李龙飞, 马宏珍, 张哲华, 杨安全. 94例下消化道肿瘤内镜下黏膜切除术的临床分析. 内蒙古民族大学学报(自然科学版) 2015; 30: 77-79
- 10 刘三红, 王霞. 内镜下黏膜切除术治疗结肠无蒂息肉的临床应用. 广州医药 2014; 45: 34-35
- 11 崔光星, 刘冰熔. 坏死性胰腺炎的微创治疗进展. 胃肠病学和肝病学杂志 2014; 16: 1365-1368
- 12 许良璧, 项一宁. 胃肠道炎性纤维性息肉的内镜诊断与治疗. 世界华人消化杂志 2014; 22: 5550-5555
- 13 Crawford AB, Yang I, Wu RC, Moloo H, Boushey RP. Dynamic article: combined endoscopic-laparoscopic surgery for complex colonic polyps: postoperative outcomes and video demonstration of 3 key operative techniques. *Dis Colon Rectum* 2015; 58: 363-369 [PMID: 25664717 DOI: 10.1097/DCR.0000000000000311]
- 14 王薇, 付肖岩, 黄恒青. 麻醉肠镜在老年患者大肠息肉黏膜切除术中的应用. 胃肠病学和肝病学杂志 2014; 23: 1296-1298
- 15 罗显克, 唐雪媛, 谭建荣. 老年大肠息肉的临床、内镜与病理分析248例. 世界华人消化杂志 2013; 21: 714-718
- 16 高美丽, 陈吉, 崔宏, 王茂林, 王忠. 普通内镜结合窄带成像技术用于鉴别结直肠息肉良恶性的价值. 国际消化病杂志 2014; 34: 353-354

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



不同疗程伴同疗法与含铋剂四联疗法根除幽门螺杆菌的疗效

杨雷, 郝玮玮, 李娅, 徐峰

杨雷, 郝玮玮, 李娅, 徐峰, 郑州大学第一附属医院消化内科 河南省郑州市 450052

杨雷, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 本课题由杨雷与徐峰设计; 研究过程与统计分析由杨雷与李娅完成; 研究所用的材料由徐峰、李娅及郝玮玮提供; 论文写作由杨雷完成; 徐峰、郝玮玮及李娅审阅。

通讯作者: 徐峰, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 450052, 河南省郑州市建设东路1号, 郑州大学第一附属医院消化内科。281809449@qq.com

电话: 0371-66862082

收稿日期: 2015-08-16 修回日期: 2015-09-08

接受日期: 2015-09-21 在线出版日期: 2015-10-08

Efficacy of different courses of concomitant therapy and bismuth containing quadruple therapy for eradication of *Helicobacter pylori*

Lei Yang, Wei-Wei Hao, Ya Li, Feng Xu

Lei Yang, Wei-Wei Hao, Ya Li, Feng Xu, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Hen'an Province, China

Correspondence to: Feng Xu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe East Road, Zhengzhou 450052, He'nan Province, China. 281809449@qq.com

Received: 2015-08-16 Revised: 2015-09-08

Accepted: 2015-09-21 Published online: 2015-10-08

Abstract

AIM: To compare the efficacy and safety of different protocols for eradication of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*).

METHODS: We enrolled 282 consecutive patients with erosive gastritis or peptic ulcer

who tested positive in the ^{13}C breath assay at the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University between July 1, 2014 and July 1, 2015. All patients were randomly allocated to receive either esomeprazole enteric capsule 20 mg, clarithromycin 500 mg, amoxicillin 1000 mg and metronidazole 400 mg twice daily for 7 d (Group A), or esomeprazole enteric capsule 20 mg, clarithromycin 500 mg, amoxicillin 1000 mg and Bismuth potassium citrate capsules 220 mg twice daily for 7 d (Group B), or esomeprazole enteric capsules 20 mg, clarithromycin 500 mg, amoxicillin 1000 mg and metronidazole 400 mg twice daily for 14 d (Group C), or esomeprazole enteric capsules 20 mg, clarithromycin 500 mg, amoxicillin 1000 mg and bismuth potassium citrate capsules 220 mg twice daily for 14 d (Group D). The ^{13}C breath assay was reassessed at four weeks after the cessation of therapy.

RESULTS: Of 282 patients recruited in the study, the per protocol eradication rate was 84.06% in group A, 83.33% in group B, 94.12% in group C, and 97.91% in group D; the intention-to-treat eradication rate was 80.56% in group A, 78.57% in group B, 92.96% in group C, and 91.55% in group D. No significant differences in both per protocol and intention-to-treat eradication rates were found between groups A and B, or between groups C and D ($P > 0.05$ for all), but significant differences in both per protocol and intention-to-treat eradication rates were found between groups A and C, and between groups B and D ($P < 0.05$ for all). All groups did not differ statistically in terms of the incidence of adverse events and the rate

背景资料

随着幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)根除治疗的广泛开展, 其对抗生素的耐药率逐年上升, 并成为含质子泵抑制剂三联疗法根除率下降的主要原因。

同行评议者

陈国忠, 主任医师, 广西中医药大学第一附属医院消化内科; 徐灿, 副教授, 副主任医师, 上海市长海医院

■ 研发前沿

目前, 我国 *H. pylori* 感染率总体上仍然处于较高水平并且既往作为一线治疗方案的标准三联疗法的根除率逐年下降, 因此, 寻找和应用恰当的 *H. pylori* 根除方案, 以提高 *H. pylori* 根除率显得尤为重要。

of symptom amelioration ($P > 0.05$ for both).

CONCLUSION: Both 14-day concomitant therapy and bismuth containing quadruple therapy achieved higher eradication rates of *H. pylori* and higher safety and should be recommended as the first-line protocol for eradication of *H. pylori*.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Concomitant therapy; Bismuth containing quadruple therapy

Yang L, Hao WW, Li Y, Xu F. Efficacy of different courses of concomitant therapy and bismuth containing quadruple therapy for eradication of *Helicobacter pylori*. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(28): 4589-4594 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4589.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i28.4589>

摘要

目的: 观察不同疗程的伴同疗法与含铋剂四联疗法根除幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)的疗效和安全性。

方法: 随机选取2014-07-01/2015-07-01郑州大学第一附属医院消化内科门诊就诊, 行胃镜检查明确胃部疾病(慢性糜烂性胃炎或消化性溃疡)并行¹³C呼气试验检测阳性的282例患者, 按照就诊顺序, 分别采用4组治疗方案: A组: 埃索美拉唑镁肠溶片20 mg *bid*+克拉霉素片500 mg *bid*+阿莫西林胶囊1000 mg *bid*+甲硝唑片400 mg *bid*, 7 d; B组: 埃索美拉唑镁肠溶片20 mg *bid*+克拉霉素片500 mg *bid*+阿莫西林胶囊1000 mg *bid*+枸橼酸铋钾胶囊220 mg *bid*, 7 d; C组: 埃索美拉唑镁肠溶片20 mg *bid*+克拉霉素片500 mg *bid*+阿莫西林胶囊1000 mg *bid*+甲硝唑片400 mg *bid*, 14 d; D组: 埃索美拉唑镁肠溶片20 mg *bid*+克拉霉素片500 mg *bid*+阿莫西林胶囊1000 mg *bid*+枸橼酸铋钾胶囊220 mg *bid*, 14 d. 根除治疗结束后4 wk复查¹³C呼气试验。

结果: 本研究共纳入患者282例, 按符合方案(per-protocol, PP)分析A组*H. pylori*根除率为84.06%, B组为83.33%, C组为94.12%, D组为97.91%; 按意向性(intention to treat, ITT)分析A组为80.56%, B组为78.57%, C组为92.96%, D组为91.55%, 其中A组与B组、C组与D组的*H. pylori*根除率, 经PP分析及ITT分析差异均无统计学意义; A组与C组、B组与D组的

*H. pylori*根除率, 经PP分析及ITT分析差异均有统计学意义($P < 0.05$); 各组不良反应发生率及症状缓解率差异均无统计学意义。

结论: 伴同疗法和含铋剂四联疗法2 wk方案*H. pylori*根除率高、安全性良好且症状缓解率高, 可推荐为临床根除*H. pylori*的一线治疗方案。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 幽门螺杆菌; 伴同疗法; 铋剂四联疗

核心提示: 伴同疗法与铋剂四联疗法均有较好疗效, 且均为指南推荐的一线根除方案, 对比不同疗程的伴同疗法与含铋剂四联疗法根除*H. pylori*的研究发现, 2 wk方案*H. pylori*根除率高、安全性良好且症状缓解率高。

杨雷, 郝玮玮, 李娅, 徐峰. 不同疗程伴同疗法与含铋剂四联疗法根除幽门螺杆菌的疗效. 世界华人消化杂志 2015; 23(28): 4589-4594 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4589.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i28.4589>

0 引言

随着根除幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)根除治疗方案标准化的普及与抗生素的大量应用, 既往作为一线治疗方案的标准三联疗法的根除率已降到80%以下^[1], 标准三联疗法的疗程从7 d延长至10 d或14 d, 其根除率仅能提高约5%^[2]. 标准三联疗法已不适合作为广泛推荐的经验性一线治疗方案, 根除*H. pylori*的方案应随之调整. 马斯特里赫特IV/佛罗伦萨(Masstricht IV/Florence)共识意见明确提出, 在克拉霉素高耐药地区推荐含铋剂四联疗法作为一线治疗方案, 对于无铋剂区域推荐使用伴同疗法或序贯疗法^[3]. 经典的含铋剂四联疗法在*H. pylori*高耐药率背景下, 以其较高的根除率及安全性再次受到重视. 伴同疗法于1998年由德国与日本学者分别提出^[4,5], 近年来伴同疗法在国外研究^[6]中显示了较高的根除率及良好的安全性, 在我国, 除台湾地区外尚缺其使用经验和相关临床研究. 伴同疗法与铋剂四联疗法均有较好疗效, 且均为指南推荐的一线根除方案, 但两者随机对照研究目前国内外尚少开展, 面对抗生素耐药率不断上升的挑战, 有必要对两者进行系统性、大样本、横

■ 相关报道

伴同疗法和含铋剂四联疗法在国外研究中均取得了较好效果, 国内克拉霉素和甲硝唑耐药率高, 但不同地区差别较大, 目前我国尚缺乏两者大样本、多中心、结合药敏的随机研究, 其结论尚有待更多研究进行验证。

断面的研究. 本研究旨在观察对比不同疗程的伴同疗法与含铋剂四联疗法根除 *H. pylori* 的疗效、安全性及症状缓解率, 对其进行更加深入的研究分析.

1 材料和方法

1.1 材料 随机选取2014-07-01/2015-07-01于郑州大学第一附属医院消化内科门诊就诊, 行胃镜检查明确胃部疾病(慢性糜烂性胃炎或消化性溃疡)并行¹³C呼气试验检测阳性的282例患者, 胃镜检查均由技术娴熟且经验丰富的内镜医生完成. 本研究实际完成270例, 其中男性143例, 女性127例, 平均年龄45.72岁±12.3岁. 12例未完成病例中, 包括3例未按规定复查, 9例未按规定服药.

入选标准: (1)经胃镜检查诊断为慢性糜烂性胃炎或消化性溃疡患者; (2)¹³C呼气试验检测阳性; (3)年龄18-70岁, 男女不限; (4)既往未接受过 *H. pylori* 根除治疗; (5)均签署知情同意书. **排除标准:** (1)治疗前4 wk服用过抗生素及铋剂者或治疗前2 wk内服用过H₂受体拮抗剂及质子泵抑制剂者; (2)妊娠或哺乳期妇女; (3)对本研究所涉及药物过敏者; (4)恶性肿瘤病史; (5)同时患有严重的肝病、心脏病、肾病等.

方案用法: 根据我国第四届全国幽门螺杆菌感染处理共识报告^[2], (1)伴同疗法: 不含铋剂四联疗法的1种, 包括质子泵抑制剂(标准剂量)+克拉霉素+阿莫西林+甲硝唑或替硝唑; (2)铋剂四联疗法: 标准剂量铋剂+质子泵抑制剂(标准剂量)+2种抗生素(组成方案有4种: 阿莫西林+克拉霉素; 阿莫西林+左氧氟沙星; 阿莫西林+呋喃唑酮; 四环素+甲硝唑或呋喃唑酮). 本研究因与伴同疗法相比较, 故所选用的2种抗生素为克拉霉素+阿莫西林.

埃索美拉唑镁肠溶片, 规格: 20 mg/片, 阿斯利康有限公司; 克拉霉素片(克拉仙), 规格: 250 mg/片, 上海雅培制药有限公司; 阿莫西林胶囊, 规格: 0.5 g/粒, 珠海联邦制药有限公司; 甲硝唑片, 规格: 0.2 g/片, 宁波天衡制药有限公司; 枸橼酸铋钾胶囊, 规格: 110 mg(铋)/粒, 丽珠集团丽珠制药厂.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 282例患者依据随机化原则, 从随机数字表中选取282个随机数字, 按照就诊顺序, 分别采用4组治疗方案: A组: 埃索美拉唑镁肠

溶片20 mg *bid*+克拉霉素片500 mg *bid*+阿莫西林胶囊1000 mg *bid*+甲硝唑片400 mg *bid*, 7 d; B组: 埃索美拉唑镁肠溶片20 mg *bid*+克拉霉素片500 mg *bid*+阿莫西林胶囊1000 mg *bid*+枸橼酸铋钾胶囊220 mg *bid*, 7 d; C组: 埃索美拉唑镁肠溶片20 mg *bid*+克拉霉素片500 mg *bid*+阿莫西林胶囊1000 mg *bid*+甲硝唑片400 mg *bid*, 14 d; D组: 埃索美拉唑镁肠溶片20 mg *bid*+克拉霉素片500 mg *bid*+阿莫西林胶囊1000 mg *bid*+枸橼酸铋钾胶囊220 mg *bid*, 14 d.

1.2.2 观察指标: (1)*H. pylori*根除率: 根除治疗结束后4 wk复查¹³C呼气试验, ODB值>4.4为阳性, ODB值<3.6为阴性, 阴性者定为根除成功; (2)药物不良反应: 不良反应如纳差、味觉异常、头痛、皮疹、恶心、呕吐等; (3)症状改善情况: 将所有患者用药前及治疗结束后胃肠道症状的严重程度和发作频率进行对比(主要包括: 反酸、烧心、腹泻、腹痛、腹胀、嗝气、纳差及恶心等). 胃肠道症状严重程度分为无、轻度、中度和重度4个等级. 1级为无症状; 2级为轻度: 感觉稍有不舒适, 但可耐受; 3级为中度: 明显不适, 干扰日常生活; 4级为重度: 不能从事正常活动. 胃肠道症状发作频率分为3个等级, 1级为偶发: 每次持续数分钟即缓解, 不是每日均发生; 2级为常发: 每次持续数分钟缓解, 每日发生; 3级为频发: 每次持续数小时, 每日反复发生. 胃肠道症状改善情况: 无效(症状的严重程度和发作频率无改善或加重); 有效(症状严重程度、发作频率减轻1级及以上); 显效(治疗后胃肠道症状消失). 症状缓解率 = 有效率+显效率^[7].

统计学处理 应用SPSS 17.0统计软件进行统计学分析. 统计分析包括符合方案(per-protocol, PP)分析和意向性(intention to treat, ITT)分析. 对 *H. pylori* 根除率的分析采用 χ^2 检验对数据进行处理, $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 一般情况 本研究共入选患者282例, 实际完成270例, 其中男性143例, 女性127例, 平均年龄45.72岁±12.3岁. 12例未完成病例中, 包括3例未按规定复查, 9例未按规定服药. 4组患者的年龄、性别及疾病分布情况, 差异均无统计学意义(表1).

■ 创新盘点

不同疗程的伴同疗法和含铋剂四联疗法对 *H. pylori* 根除的影响, 国内尚少见随机对照试验研究. 本研究观察不同疗程伴同疗法与含铋剂四联疗法根除 *H. pylori* 的效果、安全性及症状缓解率, 评价其临床可行性及其优势.

应用要点

伴同疗法和含铋剂四联疗法2 wk方案*H. pylori*根除率高, 虽然伴同疗法应用3种抗生素, 含铋剂四联疗法应用铋剂, 但两方案短期内应用均显示了良好的安全性, 此2种治疗方案可能成为我国今后重要的经验性一线治疗方案。

表 1 4组患者一般资料

分组	男/女(<i>n</i>)	年龄(岁)	疾病(<i>n</i>)	
			慢性糜烂性胃炎	消化性溃疡
A组	35/34	44.95 ± 14.1	42	27
B组	34/32	45.76 ± 13.3	38	28
C组	35/33	46.86 ± 11.3	42	26
D组	39/28	45.07 ± 11.4	38	29

表 2 4组患者*H. pylori*根除率的比较及不良反应发生情况 (%)

分组	ITT根除率	PP根除率	不良反应发生率
A组	80.56(58/72)	84.06(58/69)	5.80(4/69)
B组	78.57(55/70)	83.33(55/66)	4.55(3/66)
C组	92.96(66/71)	94.12(66/68)	4.11(3/68)
D组	91.55(65/71)	97.91(65/67)	4.48(3/67)

H. pylori: 幽门螺杆菌; PP: 符合方案分析; ITT意向性分析。

表 3 4组患者治疗后症状缓解情况 (*n*)

分组	<i>n</i>	无效	有效	显效	症状缓解率(%)
A组	69	7	55	7	89.85
B组	66	6	54	6	90.91
C组	68	6	54	8	91.18
D组	67	4	58	5	94.03

2.2 *H. pylori*根除率 按PP分析A组*H. pylori*根除率为89.85%, B组为90.90%, C组为94.11%, D组为94.02%; 按ITT分析A组为86.11%, B组为85.71%, C组为90.14%, D组为88.73%, 其中A组与B组、C组与D组经PP分析 $P = 1.000$ 、 1.000 , 经ITT分析 $P = 0.837$ 、 1.000 , 差异均无统计学意义; A组和C组、B组和D组的根除率, 经PP分析 $P = 0.017$ 、 0.009 , 经ITT分析 $P = 0.047$ 、 0.035 , 差异均有统计学意义(表2)。

2.3 不良反应发生率 13例患者出现不良反应, 其中头痛1例、口苦2例、恶心5例、纳差2例、皮疹2例, 但反应均为轻中度不适, 在不停药及无特殊处理情况下, 患者均能耐受, 不影响治疗, 服药期间或治疗结束后症状自行消失。4组不良反应发生率分别为A组5.80%、B组4.55%、C组4.11%及D组4.48%, 4组间比较差异无统计学意义(表2)。

2.4 症状改善情况 各组症状缓解率均高于80%, 且各组间差异无统计学意义(表3)。

3 讨论

根除*H. pylori*对于消化性溃疡、*H. pylori*阳性慢性胃炎伴消化不良、胃黏膜相关组织淋巴瘤、慢性胃炎伴胃黏膜萎缩或糜烂、早期胃部肿瘤、不明原因缺铁性贫血及特发性血小板减少性紫癜等疾病的治疗有着重要意义^[8]。目前, 我国*H. pylori*感染率总体上仍然处于较高水平, 成人感染率高达40%-60%^[9], 随着抗生素的广泛使用, *H. pylori*对部分抗生素的耐药率逐年升高, 导致其根除率逐年下降^[10]。Masstrilcht IV共识指出, 克拉霉素耐药是导致标准三联疗法根除失败的最主要原因, 推荐根据克拉霉素地区耐药情况选择根除方案, 在克拉霉素耐药 $\geq 20\%$ 的地区, 不推荐选择含有克拉霉素的三联方案。我国克拉霉素耐药率高, 但不同地区差异较大, 郑州地区正处于此高耐药区域^[11]。因此, 寻找和应用恰当的*H. pylori*根除方案, 以提高*H. pylori*根除率显得尤为重要。

目前, 伴同疗法及含铋剂四联疗法在国内外

研究中均显示了较高的根除率。国外一项研究^[12]显示, 含埃索美拉唑的经典伴同疗法, *H. pylori*根除率可达到94.5%。Molina-Infante等^[13]研究显示, 克拉霉素敏感患者中, 伴同疗法根除率为95%, 即使耐药患者其根除率也达到94%, 研究结果表明克拉霉素耐药与否对伴同疗法的根除率无显著影响^[14]。此外, 国内外多数研究^[15]显示含铋剂四联疗法在初始治疗及补救治疗中均显示了良好的效果, 且在铋剂安全性Meta分析中表明, 在根除*H. pylori*治疗中, 含有铋剂与不含有铋剂治疗方案的不良反应相比, 含铋剂疗法仅有粪便黑色(铋剂颜色)差异, 提示短期内服用铋剂(1-2 wk)具有较高的安全性。因此, 我国2012年全国*H. pylori*共识会议和2012年欧洲Maastricht共识意见已经提出将含铋剂四联疗法以及伴同疗法推荐作为*H. pylori*根除治疗的一线方案。

本次研究结果显示, 伴同疗法与含铋剂四联疗法根除*H. pylori*的比较在7 d疗程中按PP分析及ITT分析, 其差异无统计学意义, 伴同疗法与铋剂四联疗法根除*H. pylori*的比较在14 d疗程中按PP分析及按ITT分析, 其差异无统计学意义; 伴同疗法7 d疗程与14 d疗程根除*H. pylori*的比较按PP分析及ITT分析, 其差异具有统计学意义, 14 d疗程根除率明显提高, 含铋剂四联疗法7 d疗程与14 d疗程根除*H. pylori*的比较按PP分析及ITT分析, 其差异具有统计学意义, 14 d疗程根除率明显提高。四组方案根除*H. pylori*的不良反应较轻、症状缓解率均较高, 各组间差异无统计学意义。伴同疗法与含铋剂四联疗法均能获得较高的*H. pylori*根除率, 随着疗程适当延长, 两者的根除率都明显提高, 提示缩短疗程达不到根除*H. pylori*的理想治疗效果, 适当的延长疗程可提高*H. pylori*根除率, 此结论与Essa等^[16]一致。因此, 临床上推荐10 d或14 d伴同疗法或含铋剂四联疗法。

总之, 我国仍处于*H. pylori*高感染、高耐药及低根治阶段, 总体形势严峻。伴同疗法和含铋剂四联疗法2 wk方案根除率高、安全性良好且症状缓解率高, 可能成为我国今后重要的经验性一线治疗方案, 值得重视和进一步研究。

4 参考文献

- 1 Graham DY, Fischbach L. Helicobacter pylori treatment in the era of increasing antibiotic

- 2 resistance. *Gut* 2010; 59: 1143-1153 [PMID: 20525969 DOI: 10.1136/gut.2009.192757]
- 3 中华医学会消化病学分会幽门螺杆菌学组. 第四届全国幽门螺杆菌感染处理共识报告. 中华内科杂志 2012; 51: 832-837
- 4 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]
- 5 Okada M, Oki K, Shirotani T, Seo M, Okabe N, Maeda K, Nishimura H, Ohkuma K, Oda K. A new quadruple therapy for the eradication of Helicobacter pylori. Effect of pretreatment with omeprazole on the cure rate. *J Gastroenterol* 1998; 33: 640-645 [PMID: 9773927]
- 6 Treiber G, Ammon S, Schneider E, Klotz U. Amoxicillin/metronidazole/omeprazole/clarithromycin: a new, short quadruple therapy for Helicobacter pylori eradication. *Helicobacter* 1998; 3: 54-58 [PMID: 9546119]
- 7 Wu DC, Hsu PI, Wu JY, Opekun AR, Kuo CH, Wu IC, Wang SS, Chen A, Hung WC, Graham DY. Sequential and concomitant therapy with four drugs is equally effective for eradication of H pylori infection. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010; 8: 36-41.e1 [PMID: 19804842 DOI: 10.1016/j.cgh.2009.09.030]
- 8 Zullo A, De Francesco V, Hassan C, Morini S, Vaira D. The sequential therapy regimen for Helicobacter pylori eradication: a pooled-data analysis. *Gut* 2007; 56: 1353-1357 [PMID: 17566020]
- 9 刘文忠, 谢勇, 成虹, 吕农华, 胡伏莲, 张万岱, 周丽雅, 陈烨, 曾志荣, 王崇文, 萧树东, 潘国宗, 胡品津. 第四次全国幽门螺杆菌感染处理共识报告. 中华消化杂志 2012; 10: 655-661
- 10 张万岱, 胡伏莲, 萧树东, 徐智民. 中国自然人群幽门螺杆菌感染的流行病学调查. 现代消化及介入诊疗 2010; 15: 265-270
- 11 McColl KE. Clinical practice. Helicobacter pylori infection. *N Engl J Med* 2010; 362: 1597-1604 [PMID: 20427808 DOI: 10.1056/NEJMcp1001110]
- 12 郑云鹏. 幽门螺杆菌的耐药性研究. 郑州: 郑州大学, 2007
- 13 Georgopoulos S, Papastergiou V, Xirouchakis E, Laudi F, Papantoniou N, Ligos P, Spiliadi C, Fragou P, Skorda L, Karatapanis S. Evaluation of a four-drug, three-antibiotic, nonbismuth-containing "concomitant" therapy as first-line Helicobacter pylori eradication regimen in Greece. *Helicobacter* 2012; 17: 49-53 [PMID: 22221616 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2011.00911.x]
- 14 Molina-Infante J, Pazos-Pacheco C, Vinagre-Rodriguez G, Perez-Gallardo B, Dueñas-Sadornil C, Hernandez-Alonso M, Gonzalez-Garcia G, Mateos-Rodriguez JM, Fernandez-Bermejo M, Gisbert JP. Nonbismuth quadruple (concomitant) therapy: empirical and tailored efficacy versus standard triple therapy for clarithromycin-susceptible Helicobacter pylori and versus sequential therapy for clarithromycin-resistant strains. *Helicobacter* 2012; 17: 269-276 [PMID: 22759326 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2012.00947.x]

■名词解释

符合方案(PP)分析: 不列入脱组或未完成治疗患者; 意向性(ITT)分析: 纳入全部入选者, 无论完成疗程与否。

■同行评价

本文具有较好的科学意义和临床应用价值, 具有一定的参考意义.

- S. *Helicobacter pylori* Eradication Therapies in the Era of Increasing Antibiotic Resistance: A Paradigm Shift to Improved Efficacy. *Gastroenterol Res Pract* 2012; 2012: 757926 [PMID: 22778723 DOI: 10.1155/2012/757926.Epub2012Jun19]
- 15 Malfertheiner P, Bazzoli F, Delchier JC, Celiński K, Giguère M, Rivière M, Mégraud F. *Helicobacter pylori* eradication with a capsule containing bismuth subcitrate potassium, metronidazole, and tetracycline given with omeprazole versus clarithromycin-based triple therapy: a randomised, open-label, non-inferiority, phase 3 trial. *Lancet* 2011; 377: 905-913 [PMID: 21345487 DOI: 10.1016/S0140-6736(11)60020-2]
- 16 Kadayifci A, Uygun A, Polat Z, Kantarcioğlu M, Kılıçlar G, Başer O, Özcan A, Emer O. Comparison of bismuth-containing quadruple and concomitant therapies as a first-line treatment option for *Helicobacter pylori*. *Turk J Gastroenterol* 2012; 23: 8-13 [PMID: 22505373]

编辑: 于明茜 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》2011年开始不再收取审稿费

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

肥胖性2型糖尿病患者的微创袖状胃切除手术效果

秦凤

秦凤, 青海大学附属医院内分泌科 青海省西宁市 810008
秦凤, 主治医师, 主要从事内分泌与代谢研究。

作者贡献分布: 本文主要由秦凤写作完成。

通讯作者: 秦凤, 主治医师, 810008, 青海省西宁市西川南路6号, 青海大学附属医院内分泌科。qinfeng9688@126.com
电话: 0971-6162000

收稿日期: 2015-03-02 修回日期: 2015-03-29

接受日期: 2015-04-02 在线出版日期: 2015-10-08

Clinical effects of laparoscopic sleeve gastrectomy in obese patients with type 2 diabetes mellitus

Feng Qin

Feng Qin, Department of Endocrinology, Affiliated Hospital of Qinghai University, Xi'ning 810008, Qinghai Province, China

Correspondence to: Feng Qin, Attending Physician, Department of Endocrinology, Affiliated Hospital of Qinghai University, 6 Xichuan South Road, Xi'ning 810008, Qinghai Province, China. qinfeng9688@126.com
Received: 2015-03-02 Revised: 2015-03-29
Accepted: 2015-04-02 Published online: 2015-10-08

Abstract

AIM: To assess the curative effect of laparoscopic sleeve gastrectomy (LSG) in obese patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM).

METHODS: The clinical data for 81 obese patients with T2DM who received LSG at Affiliated Hospital of Qinghai University from January 2010 and December 2013 were retrospectively analyzed. Body weight indexes, blood glucose indexes, and blood lipid indexes were measured and compared before and 1, 3, 6, 12 mo after operation. The improvement in all preoperative complications was observed.

RESULTS: LSG was successful in all cases. Postoperative complications occurred in 4 (4.9%) cases, including 3 cases of incision infection and 1 case of subphrenic infection, all of which recovered after symptomatic treatment. Body weight, body mass index (BMI), and waist and hip circumference at each postoperative time point were significantly lower than those before operation ($P < 0.05$). Waist to hip ratios at 3, 6, and 12 mo after operation were significant lower than that before operation ($P < 0.05$). All the above indexes gradually decreased over time, while excess weight loss (EWL) gradually increased over time ($P < 0.05$). For the blood glucose indexes, fasting plasma glucose (FPG), hemoglobin A1c (HbA1c), and homeostasis model assessment of insulin resistance index (HOMA-IR) at each time point after operation were significantly lower than those before operation ($P < 0.05$), and they all gradually decreased over time ($P < 0.05$). Insulin sensitivity index (IAI) at each time point after operation was significantly higher than that before operation ($P < 0.05$), and it gradually increased over time ($P < 0.05$). For the blood lipid indexes, triglyceride (TG), total cholesterol (TC), and low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) at each time point after operation were significantly lower than those before operation ($P < 0.05$), and they gradually decreased over time ($P < 0.05$). High density lipoprotein cholesterol (HDL-C) at each time point after operation was significantly higher than that before operation ($P < 0.05$), and it gradually increased over time ($P < 0.05$). At 12 mo after operation, all cases complicated with irregular menstruation, degenerative joint disease and sleep apnea hypopnea syndrome (SAHS) were cured or improved, only 2 (2.9%) cases of fatty

背景资料

随着人们生活水平的提高和饮食习惯的改变, 2型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 和肥胖症的发病率均呈逐渐上升的趋势, 两者常相互作用, 近年来减质量手术逐渐成为治疗肥胖性T2DM的常用方法之一, 其中腹腔镜袖状胃切除术(laparoscopic sleeve gastrectomy, LSG)因其创伤小、效果显著等优点, 逐渐受到临床的重视。

同行评议者

宁钧宇, 副研究员, 北京市疾病预防控制中心卫生毒理所

■ 研究前沿

减质量手术是近年来治疗肥胖性T2DM的常用方法,术式多种多样,效果也有一定差异,随着腹腔镜技术的快速发展,微创手术越来越受到临床的重视,由于肥胖和糖尿病两个疾病常合并存在,故现在手术的要求不仅能降低体质量,还能控制血糖。

liver and 1 (3.6%) case of hypertension were not improved.

CONCLUSION: LSG is a safe and effective treatment for obese patients with T2DM, which not only significantly reduces the body weight and blood glucose, and improves insulin resistance and lipid metabolism, but also has a significant effect on other preoperative complications.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Sleeve gastrectomy; Laparoscopic; Obesity; Type 2 diabetes mellitus

Qin F. Clinical effects of laparoscopic sleeve gastrectomy in obese patients with type 2 diabetes mellitus. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(28): 4595-4601 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4595.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i28.4595>

摘要

目的: 探讨腹腔镜袖状胃切除术(laparoscopic sleeve gastrectomy, LSG)对肥胖性2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)患者的疗效。

方法: 回顾性分析2010-01/2013-12期间在青海大学附属医院接受LSG的81例肥胖性T2DM患者的临床资料,记录全部患者的手术情况,比较患者术前和术后1、3、6、12 mo的体质量相关指标、血糖、血脂代谢指标的变化,并观察术后伴发疾病的改善情况。

结果: 全部患者均在腹腔镜下成功实施LSG手术,术后总共出现4例并发症(4.9%),包括3例切口感染和1例膈下感染,对症治疗后均痊愈。术后各时间点患者的体质量、身体质量指数(body mass index)、腰围和臀围均显著低于术前($P<0.05$),术后3、6、12 mo的腰臀比均显著低于术前($P<0.05$),且均随时间呈逐渐下降的趋势,而术后多余体质量减少率(excess weight loss)随时间逐渐上升($P<0.05$)。血糖代谢方面,术后各个时间点的空腹血糖(fasting plasma glucose)、糖化血红蛋白(hemoglobin A1c)、稳态模型评估的胰岛素抵抗指数(homeostasis model assessment of insulin resistance index)均显著低于术前($P<0.05$),且均随时间逐渐下降($P<0.05$),而术后各个时间点的胰岛素敏感性指数(insulin sensitivity index)均显

著高于术前($P<0.05$),且随时间逐渐上升($P<0.05$)。血脂代谢方面,术后各个时间点的甘油三酯(triglyceride)、总胆固醇(total cholesterol)和低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol)均显著下降($P<0.05$),且均随时间逐渐下降($P<0.05$),而术后各个时间点的高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol)均显著上升($P<0.05$),且随时间逐渐上升($P<0.05$)。至术后12 mo,所有伴发月经不调、退行性关节炎病和睡眠呼吸暂停综合征(sleep apnea hypopnea syndrome)的患者均治愈或改善,仅2例(2.9%)脂肪肝和1例(3.6%)高血压患者无效。

结论: LSG是一个安全有效的治疗肥胖性T2DM患者的术式,能显著降低体质量和血糖,改善胰岛素抵抗和血脂代谢,对其他伴发疾病亦有显著疗效,值得临床推广应用。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 袖状胃切除术; 腹腔镜; 肥胖; 2型糖尿病

核心提示: 回顾性分析2010-01/2013-12在青海大学附属医院接受腹腔镜袖状胃切除术(laparoscopic sleeve gastrectomy, LSG)的81例肥胖性2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)患者的临床资料,比较术前、术后相关指标,结果证实LSG是一个安全有效的治疗肥胖性T2DM患者的术式,值得临床应用。

秦凤. 肥胖性2型糖尿病患者的微创袖状胃切除手术效果. 世界华人消化杂志 2015; 23(28): 4595-4601 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4595.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i28.4595>

0 引言

随着人们生活水平的提高和饮食习惯的改变,2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)和肥胖症的发病率均呈逐渐上升的趋势,两者常相互作用,近年来减质量手术逐渐成为治疗肥胖性T2DM的常用方法之一,应用范围越来越广。随着微创技术的发展,腹腔镜袖状胃切除术(laparoscopic sleeve gastrectomy, LSG)是较常用的减质量手术之一。青海大学附属医院自2010-01/2013-12对81例肥胖性T2DM患者完成了LSG手术,效果令人满意,报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2010-01/2013-12于青海大学附属医院行LSG手术的81例肥胖型T2DM患者为研究对象。纳入标准: (1)术前身体质量指数(body mass index, BMI) $\geq 35 \text{ kg/m}^2$; (2)符合2010年美国糖尿病协会(American Diabetes Association, ADA)制定的糖尿病诊断标准(满足下列任何一个条件均可)^[1]: 空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG) $\geq 7.0 \text{ mmol/L}$; 随机血糖 $\geq 11.1 \text{ mmol/L}$; 口服葡萄糖耐量试验(oral glucose tolerance test, OGTT) 2 h的血糖 $\geq 11.1 \text{ mmol/L}$; 糖化血红蛋白(hemoglobin A1c, HbA1c) $\geq 6.5\%$; (3)单纯药物治疗1年以上效果不显或难以耐受内科治疗; (4)临床资料完整, 且均能配合进行随访, 时间超过12 mo。排除标准: (1)内分泌紊乱引起的单纯性肥胖; (2)1型糖尿病; (3)合并严重的心、肺、肝、肾等器官功能不全, 无法耐受手术; (4)有药物或酒精依赖症; (5)精神疾病或认知功能障碍。81例患者中男35例, 女46例, 年龄18-50岁, 平均31.8岁 ± 8.7 岁; 体质量89.7-173.4 kg, 平均118.64 kg ± 25.89 kg, 体质量指数(BMI)35.8-57.9 kg/m², 平均39.71 kg/m² ± 6.40 kg/m²; FPG 7.1-12.0 mmol/L, 平均8.76 mmol/L ± 1.83 mmol/L, HbA1c 6.7-9.6 mmol/L, 平均7.83 mmol/L ± 0.95 mmol/L, 术前新检出T2DM者21例, 有确切T2DM病史者60例, 病程4 mo-7.5年; 合并脂肪肝68例, 高血压28例, 月经不调22例, 退行性关节炎15例, 睡眠呼吸暂停综合征(sleep apnea hypopnea syndrome, SAHS)10例。所有患者均进行了详细的术前谈话, 介绍了LSG手术的步骤、优缺点等, 均自愿接受该手术, 签署知情同意书, 本研究已经过医院伦理委员会的批准。

1.2 方法

1.2.1 术前准备: 入院后详细询问病史, 完善血糖、血脂、甲状腺功能、垂体计算机断层扫描(computed tomography, CT)、上腹部CT、腹部B超、胃镜等相关检查, 并请消化内科、心内科、营养科、呼吸内科等相关科室进行会诊, 排除手术禁忌证, 共同探讨手术方案。

1.2.2 手术: 全部患者均由同一个手术团队完成LSG手术。首先让患者取仰卧位, 在脐上3 cm处建立观察孔, 在两侧的锁骨中线与肋缘交点下4 cm处建立主操作孔, 剑突下置入肝脏牵拉器, 对于过度肥胖导致显露困难者可视情

况增加1-2个辅助穿刺孔。然后用超声刀沿着胃大弯的血管弓进行游离, 向上到左侧的膈肌脚, 向下到幽门上4-6 cm, 同时彻底游离胃后壁及其血管。最后在39F支撑管的支撑下, 用腔镜下持续切割闭合器沿胃大弯的走行方向从幽门上4-6 cm持续切割至His角左侧1-2 cm处, 完整切除大弯侧的胃底和胃壁, 剩余容积约为100 mL的“管状胃”, 取出大弯侧胃进行切口的黏合, 并检查有无渗漏或出血, 置入胃管和引流管后逐层关腹。术后首日进入重症监护室(intensive care unit, ICU)进行监护治疗, 监测患者的血糖和血压, 排气后行造影检查, 确定无渗漏后拔除胃管, 引流管拔除标准为引流液 $<15 \text{ mL/d}$ 。

1.2.3 观察指标: 记录全部患者的手术时间、术中出血量、术后排气时间、住院时间及并发症等手术情况。出院后均进行门诊随访, 随访截止时间为2014-12, 记录患者术后1、3、6、12 mo的体质量、腰围、臀围、FPG、空腹胰岛素(fasting insulin, FINS)、HbA1c、甘油三酯(triglyceride, 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), 并计算BMI、多余体质量减少率(excess weight loss, EWL)、腰臀比、胰岛素敏感性指数(insulin sensitive index, IAI)、稳态模型评估的胰岛素抵抗指数(homeostasis model assessment of insulin resistance, HOMA-IR), 并观察患者术前并发症的改善情况。

1.2.4 疗效评价: 根据以下标准评价手术治疗T2DM的效果^[2]: (1)完全缓解: 术后不需要任何药物干预或饮食控制即可长期保持FPG $<7.0 \text{ mmol/L}$ 、随机血糖 $<11.1 \text{ mmol/L}$ 、OGTT 2 h的血糖 $<11.1 \text{ mmol/L}$ 、HbA1c $<6.5\%$; (2)部分缓解: 术后在降糖药物减量的情况下仍可将FPG和HbA1c控制在正常水平, 或两者高于正常但较术前下降(FPG下降 $\geq 1.39 \text{ mmol/L}$ 、HbA1c下降 $\geq 1.0\%$); (3)无效: 术后的FPG、HbA1c和降糖药物的使用均与术前相比无显著变化。根据以下标准评价术前相关伴发疾病的改善情况^[3]: (1)治愈: 相关指标在正常范围内, 无需使用相关药物进行控制; (2)改善: 相关指标较术前明显改善, 虽然需要药物进行控制, 但较术前已减量; (3)无效: 相关指标与术前相

■ 相关报道

Alqahtani等通过对108例肥胖者进行了LSG手术, 减质量效果突出, 且手术创伤小, 安全可靠。Abbatini等研究证实LSG手术可改善T2DM患者的血糖代谢状况, 控制血糖的效果与旁路手术相当。

■ 创新盘点

以往的研究多将LSG应用于肥胖者或T2DM患者,本研究将LSG应用于肥胖性T2DM患者,结果提示LSG手术不仅能显著降低体质量,还有助于血糖的控制,手术安全有效。

表 1 手术前后体质量相关指标变化 (mean ± SD)

项目	术前	术后1 mo	术后3 mo	术后6 mo	术后12 mo
体质量(kg)	122.74 ± 24.89	114.88 ± 24.31 ^a	105.93 ± 23.18 ^{ac}	87.70 ± 20.13 ^{ace}	76.95 ± 14.76 ^{aceg}
BMI(kg/m ²)	41.92 ± 6.58	37.05 ± 6.19 ^a	32.90 ± 6.02 ^{ac}	29.11 ± 5.51 ^{ace}	26.22 ± 4.08 ^{aceg}
腰围(cm)	125.19 ± 16.12	113.87 ± 14.53 ^a	104.09 ± 13.46 ^{ac}	94.75 ± 11.93 ^{ace}	87.39 ± 9.80 ^{aceg}
臀围(cm)	138.72 ± 18.05	132.84 ± 15.19 ^a	127.93 ± 13.81 ^{ac}	122.53 ± 12.26 ^{ace}	118.80 ± 9.92 ^{aceg}
腰臀比	0.89 ± 0.25	0.85 ± 0.30	0.81 ± 0.19 ^a	0.77 ± 0.21 ^a	0.72 ± 0.29 ^{ace}
EWL(%)	—	31.16 ± 12.35	54.41 ± 21.08 ^c	73.39 ± 24.33 ^{ce}	85.39 ± 22.90 ^{ceg}

^a*P*<0.05 vs 术前; ^c*P*<0.05 vs 术后1 mo; ^a*P*<0.05 vs 术后3 mo; ^a*P*<0.05 vs 术后6 mo. BMI: 体质量指数; EWL: 多余体质量减少率。

表 2 手术前后血糖代谢相关指标变化 (mean ± SD)

项目	术前	术后1 mo	术后3 mo	术后6 mo	术后12 mo
FPG(mmol/L)	8.33 ± 1.58	6.30 ± 0.63 ^a	5.35 ± 0.58 ^{ac}	5.23 ± 0.49 ^{ac}	5.06 ± 0.41 ^{aceg}
HbA1c(%)	8.25 ± 0.93	7.31 ± 0.55 ^a	5.78 ± 0.49 ^{ac}	5.34 ± 0.42 ^{ace}	5.16 ± 0.31 ^{aceg}
IAI	0.19 ± 0.12	0.25 ± 0.03 ^a	0.28 ± 0.02 ^{ac}	0.31 ± 0.02 ^{ace}	0.32 ± 0.01 ^{aceg}
HOMA-IR	8.45 ± 3.83	2.53 ± 0.81 ^a	1.59 ± 0.36 ^{ac}	1.15 ± 0.23 ^{ace}	1.01 ± 0.16 ^{aceg}

^a*P*<0.05 vs 术前; ^c*P*<0.05 vs 术后1 mo; ^a*P*<0.05 vs 术后3 mo; ^a*P*<0.05 vs 术后6 mo. FPG: 空腹血糖; HbA1c: 糖化血红蛋白; IAI: 胰岛素敏感性指数; HOMA-IR: 稳态模型评估的胰岛素抵抗指数。

比无显著变化。

统计学处理 所有资料均采用SPSS18.0统计学软件进行统计分析,计数资料采用 χ^2 检验,计量资料以mean±SD表示,两组比较用*t*检验,多组比较用方差分析,以*P*<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 手术情况 全部81例患者均在腹腔镜下成功实施LSG手术,平均手术时间为108.8 min±21.5 min,术中出血量63.8 mL±31.3 mL,术后排气时间1.3 d±0.7 d,总住院时间4.7 d±1.8 d。术后总共出现4例并发症,发生率为4.9%,包括切口感染3例,进行换药治疗后均痊愈;膈下感染1例,进行抗感染后痊愈。除此之外,未发生出血、吻合口狭窄、吻合口瘘等并发症。

2.2 手术前后体质量相关指标变化 与术前相比,术后各个时间点的体质量、BMI、腰围和臀围均显著下降(*P*<0.05),术后3、6、12 mo的腰臀比均显著低于术前(*P*<0.05),且均随时间呈逐渐下降的趋势,而术后EWL随时间逐渐上升(*P*<0.05)。至随访结束时,所有患者均未发生体质量过低的表现,亦无1例患者出现体质量回升(表1)。

2.3 手术前后血糖代谢相关指标变化 与术前相比,术后各个时间点的FPG、HbA1c、HOMA-IR均显著下降(*P*<0.05),且均随时间逐渐下降(*P*<0.05),而术后各个时间点的IAI均显著上升(*P*<0.05),且随时间逐渐上升(*P*<0.05)。至术后1年,所有患者中达到完全缓解72例(88.9%),其余9例(11.1%)患者达到部分缓解,其中7例患者需要口服降糖药物、2例患者需要注射胰岛素进行血糖的控制,但药量均较术前明显减少(表2)。

2.4 手术前后血脂代谢相关指标变化 与术前相比,术后各个时间点的TG、TC和LDL-C均显著下降(*P*<0.05),且均随时间逐渐下降(*P*<0.05),而术后各个时间点的HDL-C均显著上升(*P*<0.05),且随时间逐渐上升(*P*<0.05)(表3)。

2.5 术前伴发疾病的改善情况 至术后12 mo,所有伴发月经不调、退行性关节病和SAHS患者均治愈或改善,仅2例(2.9%)脂肪肝和1例(3.6%)高血压患者无效(表4)。

3 讨论

2011年国际糖尿病联盟(International Diabetes Federation, IDF)推荐对常规治疗效果较差的肥胖性T2DM患者可考虑进行减质量手术,尤其

表 3 手术前后血脂代谢相关指标变化 (mean ± SD, mmol/L)

项目	术前	术后1 mo	术后3 mo	术后6 mo	术后12 mo
TG	2.53 ± 1.46	1.80 ± 0.73 ^a	1.55 ± 0.42 ^{ac}	1.32 ± 0.36 ^{ace}	1.20 ± 0.31 ^{aceg}
TC	5.93 ± 1.76	5.37 ± 1.28 ^a	4.89 ± 0.71 ^{ac}	4.66 ± 0.59 ^{ace}	4.58 ± 0.42 ^{ace}
HDL-C	0.96 ± 0.22	1.08 ± 0.15 ^a	1.19 ± 0.12 ^{ac}	1.33 ± 0.11 ^{ace}	1.52 ± 0.16 ^{aceg}
LDL-C	3.92 ± 0.83	3.43 ± 0.76 ^a	2.97 ± 0.63 ^{ac}	2.72 ± 0.58 ^{ace}	2.51 ± 0.52 ^{aceg}

^a $P < 0.05$ vs 术前; ^c $P < 0.05$ vs 术后1 mo; ^a $P < 0.05$ vs 术后3 mo; ^c $P < 0.05$ vs 术后6 mo. TG: 甘油三酯; TC: 总胆固醇; HDL-C: 高密度脂蛋白胆固醇; LDL-C: 低密度脂蛋白胆固醇.

表 4 术前伴发疾病的改善情况 $n(\%)$

并发症	<i>n</i>	治愈	改善	无效
脂肪肝	68	35(51.5)	31(45.6)	2(2.9)
高血压	28	13(46.4)	14(50.0)	1(3.6)
月经不调	22	12(54.5)	10(45.5)	0(0.0)
退行性关节病	15	12(80.0)	3(20.0)	0(0.0)
SAHS	10	9(90.0)	1(10.0)	0(0.0)

SAHS: 睡眠呼吸暂停综合征.

适合于同时合并高血压和高血脂的患者^[4]. 近年来减质量手术的发展迅速, 应用范围越来越广, 总体疗效令人满意. 袖状胃切除术(sleeve gastrectomy, SG)最初仅作为腹腔镜旁路手术的一期手术, 目的是降低微创手术的风险. Basso等^[5]的研究报道SG具有手术简单、创伤较小、疗效显著的优点, 也能作为一个独立的减质量术式应用于临床. 随着微创技术的发展, LSG已逐渐取代传统的SG手术, 创伤更小, 术后恢复更快, 得到越来越多的术者的重视, 在减质量手术中应用也越来越多. 青海大学附属医院自开展LSG以来, 我们总结了以下手术体会: (1)紧靠胃壁游离并离断大弯侧血管, 并注意保护脾脏; (2)从幽门上4-6 cm开始持续切割胃, 术中注意保护幽门和贲门; (3)术中须完整切除胃底, 防止术后因胃底扩张导致体质量反弹; (4)在切割闭合过程中须保持对称的侧牵, 以降低术后狭窄的发生率, 并注意相邻切割线之间不要留有空隙, 以避免瘘的发生.

Alqahtani等^[6]通过对108例肥胖者进行了LSG手术, 减质量效果突出, 且手术创伤小, 安全可靠. 除了可治疗减肥外, 以往的多个研究^[7-9]均证实LSG手术可改善T2DM患者的血糖代谢状况, 控制血糖的效果与旁路手术相当. 本研究结果表明, 术后各时间点患者的体质量、

BMI、腰围和臀围均显著低于术前($P < 0.05$), 术后3、6、12 mo的腰臀比均显著低于术前($P < 0.05$), 且均随时间呈逐渐下降的趋势, 而术后EWL随时间逐渐上升($P < 0.05$). 故LSG手术的减质量效果十分突出, 术后1 mo开始体质量及相关指标均逐渐改善. 除了减质量外, 本研究还证实LSG具有降血糖和改善胰岛素抵抗的作用, 术后各个时间点的FPG、HbA1c、HOMA-IR均显著低于术前($P < 0.05$), 且均随时间逐渐下降($P < 0.05$), 而术后各个时间点的IAI均显著高于术前($P < 0.05$), 且随时间逐渐上升($P < 0.05$). 至术后1年, 没有出现无效的患者, 完全缓解率高达88.9%, 高于以往国内的报道^[1,2]. 与传统的胃旁路手术相比, LSG虽然完全切除胃底和大部分胃体, 但保留了幽门和迷走神经, 未破坏消化系的解剖关系, 亦未改变其生理状态, 故LSG的手术创伤更小, 安全性更高. Lee等^[10]报道SG的并发症发生率为7.4%, 显著低于胃肠旁路术的22.8%和胆胰分流术的48.2%. 本研究中术后并发症发生率为4.9%(4/81), 低于张坤杰^[3]报道的20.0%, 4例并发症包括3例切口感染和1例膈下感染, 均在对症治疗后痊愈出院, 未出现严重并发症及死亡, 并且远期并发症的发生风险低, 所有患者均未发生体质量过低和回升现象.

目前认为LSG作为一个减质量手术, 不仅减质量效果突出, 还能显著改善血糖代谢, 其具体机制尚未完全清楚, 可能与以下3个方面有关: (1)LSG完整切除了大弯侧的胃底和胃壁, 残留了约100 mL的“管状胃”, 胃容积的减少、残胃的物理限制作用可能是LSG达到减质量目的主要原因, 而血糖代谢紊乱和过度摄食密切相关, 饮食控制一直是糖尿病的治疗重点之一, 术后患者的日均摄入量明显减少, 处于“禁食”状态, 而这种“禁食”状

应用要点

本研究有较大的应用价值, 肥胖和T2DM常合并存在, 结果提示术后各时间点的体质量、体质量指数(body mass index)、腰围、臀围、空腹血糖(fasting plasma glucose)、糖化血红蛋白(hemoglobin A1c)、稳态模型评估的胰岛素抵抗指数(homeostasis model assessment of insulin resistance)等均随时间逐渐下降($P < 0.05$), 故LSG在降低体质量和血糖方面有明显效果, 且能改善术前合并疾病.

■名词解释

腹腔镜袖状胃切除术(LSG): 指在腹腔镜下进行袖状胃切除术, 术中完全切除胃底和大部分胃体, 但保留了幽门和迷走神经, 未破坏消化系的解剖关系, 亦未改变其生理状态。

态可迅速上调脂肪细胞膜和肌肉上的胰岛素受体, 从而达到提高胰岛素敏感性的作用, 故LSG可能通过限制饮食来改善血糖代谢; (2) 胃促生长素(ghrelin)是目前发现的唯一一个具有促食作用的胃肠道激素, 可显著促进生长激素的分泌, 正常情况下在空腹时机体的血浆ghrelin水平显著升高, 进食后迅速降低, ghrelin主要由胃底和胃体黏膜的X/A样细胞合成, LSG手术因切除胃底和大部分胃体, ghrelin的合成和分泌明显减少, 导致患者食欲显著降低, 也容易快速产生饱感, 从而减少摄入量, 达到减质量目的, 并且ghrelin可抑制脂联素这个胰岛素致敏激素的合成, 阻断肝胰岛素的信号传导, 抑制其分泌^[11]。因此, LSG术后ghrelin水平减少可增加糖诱导胰岛素释放的最大容量, 从而促进胰岛B细胞释放更多的胰岛素来适应肥胖的需要, 使血糖归于正常; (3) 有动物实验^[12]发现, SG术后患者血中胰高血糖素样肽-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1)和多肽YY(peptide YY, PYY)3-36的浓度会显著升高, 然后缓慢回降。GLP-1是与胰高血糖素高度同源的多肽激素, PYY属于胰多肽家族, PYY3-36是其血液循环的主要形式, 两者均由消化系统远端黏膜L细胞合成并分泌, 具有促进饱感产生、降低食欲的作用, 从而具有减质量作用。此外, GLP-1具有强大的促进胰岛素分泌的功能, 可刺激糖依赖性胰岛素的分泌, 上调胰岛B细胞的基因, 抑制B细胞的凋亡, 显著改善餐后血糖的控制效果, 并且还能通过抑制胃排空、抑制胰高血糖素分泌、恢复胰岛素的敏感性等途径达到降糖效果, 改善胰岛素抵抗。PYY不仅能通过控制食欲来降低血糖, 还通过改变胰岛内在细胞的比例来适应血糖浓度, 能促进胰岛素分泌。van den Hoek等^[13]还发现PYY能直接提高胰岛素敏感性。总之, LSG不仅能减少胃容积、限制进食, 还能通过调节胃肠激素的水平来达到减质量和降糖效果。

除了肥胖和高血糖外, 本研究还发现LSG还能对高血脂及其他相关伴发疾病有改善作用, 与Leonetti等^[14]的报道结果一致。术后各个时间点的TG、TC和LDL-C均显著低于术前($P<0.05$), 且均随时间逐渐下降($P<0.05$), 而术后各个时间点的HDL-C均显著高于术前($P<0.05$), 且随时间逐渐上升($P<0.05$)。至术后12 mo, 所有伴发月经不调、退行性关节炎和

SAHS患者均治愈或改善, 仅2例(2.9%)脂肪肝和1例(3.6%)高血压患者无效。目前认为高血压、高血脂和肥胖、高血糖密切相关, 均属于代谢综合征的组成部分^[15], LSG可能通过限制饮食、促进胰岛素分泌、提高胰岛素敏感性来改善血脂代谢和控制血压, 从而影响脂肪肝的发生、发展。肥胖不仅能影响血脂和血糖代谢, 还容易造成性激素分泌紊乱, 导致月经失调, 且容易因咽部松弛、腭垂肥大导致咽腔狭窄, 发生气道阻塞, 从而引起SAHS。而胰岛功能的改变、血糖紊乱亦可能影响卵巢的功能, 促进骨和关节的退行性变化。因此, LSG的良好减质量和降糖效果有助于女性患者调整其经期, 纠正月经不调, 还能对SAHS和退行性骨病有治疗作用。

总之, LSG是一个安全有效的治疗肥胖性T2DM患者的术式, 能显著降低体质量和血糖, 改善胰岛素抵抗和血脂代谢, 对其他伴发疾病亦有显著疗效, 值得临床推广应用。

4 参考文献

- 常绪生, 郑成竹, 王鑫, 卓光鑽, 丁丹, 郭翔, 印慨. 腹腔镜袖状胃切除术治疗肥胖性2型糖尿病的疗效分析. 中国胃肠外科杂志 2014; 17: 658-662
- 谢静, 张伟, 单成祥, 刘晟, 仇明. 腹腔镜袖状胃切除术治疗病态性肥胖合并2型糖尿病近期疗效分析. 现代生物医学进展 2014; 14: 870-872
- 张坤杰. 腹腔镜袖状胃切除术及腹腔镜改良简易型胃旁路术治疗病态肥胖症的疗效分析. 天津: 天津医科大学, 2012
- Dixon JB, Zimmet P, Alberti KG, Rubino F. Bariatric surgery: an IDF statement for obese Type 2 diabetes. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2011; 55: 367-382 [PMID: 22011853 DOI: 10.1590/S0004-27302011000600003]
- Basso N, Casella G, Rizzello M, Abbatini F, Soricelli E, Alessandri G, Maglio C, Fantini A. Laparoscopic sleeve gastrectomy as first stage or definitive intent in 300 consecutive cases. *Surg Endosc* 2011; 25: 444-449 [PMID: 20607564 DOI: 10.1007/s00464-010-1187-7]
- Alqahtani AR, Antonisamy B, Alamri H, Elahmedi M, Zimmerman VA. Laparoscopic sleeve gastrectomy in 108 obese children and adolescents aged 5 to 21 years. *Ann Surg* 2012; 256: 266-273 [PMID: 22504281 DOI: 10.1097/SLA.0b013e318251e92b]
- Srinivasa S, Hill LS, Sammour T, Hill AG, Babor R, Rahman H. Early and mid-term outcomes of single-stage laparoscopic sleeve gastrectomy. *Obes Surg* 2010; 20: 1484-1490 [PMID: 20820938 DOI: 10.1007/s11695-010-0267-z]
- Abbatini F, Rizzello M, Casella G, Alessandri G, Capoccia D, Leonetti F, Basso N. Long-term effects of laparoscopic sleeve gastrectomy, gastric bypass, and adjustable gastric banding on type 2 diabetes. *Surg Endosc* 2010; 24: 1005-1010 [PMID: 20820938 DOI: 10.1007/s11695-010-0267-z]

- 19866235 DOI: 10.1007/s00464-009-0715-9]
- 9 de Gordejuela AG, Pujol Gebelli J, García NV, Alsina EF, Medayo LS, Masdevall Noguera C. Is sleeve gastrectomy as effective as gastric bypass for remission of type 2 diabetes in morbidly obese patients? *Surg Obes Relat Dis* 2011; 7: 506-509 [PMID: 21411376 DOI: 10.1016/j.soard.2011.01.003]
- 10 Lee CM, Cirangle PT, Jossart GH. Vertical gastrectomy for morbid obesity in 216 patients: report of two-year results. *Surg Endosc* 2007; 21: 1810-1816 [PMID: 17356932 DOI: 10.1007/s00464-007-9276-y]
- 11 Wang Y, Liu J. Plasma ghrelin modulation in gastric band operation and sleeve gastrectomy. *Obes Surg* 2009; 19: 357-362 [PMID: 18841429 DOI: 10.1007/s11695-008-9688-3]
- 12 欧阳忠. 袖状胃切除术减肥与治疗2型糖尿病的作用机制研究. 武汉: 华中科技大学, 2010
- 13 van den Hoek AM, Heijboer AC, Voshol PJ, Havekes LM, Romijn JA, Corssmit EP, Pijl H. Chronic PYY3-36 treatment promotes fat oxidation and ameliorates insulin resistance in C57BL6 mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007; 292: E238-E245 [PMID: 16940471 DOI: 10.1152/ajpendo.00239.2006]
- 14 Leonetti F, Capoccia D, Coccia F, Casella G, Baglio G, Paradiso F, Abbatini F, Iossa A, Soricelli E, Basso N. Obesity, type 2 diabetes mellitus, and other comorbidities: a prospective cohort study of laparoscopic sleeve gastrectomy vs medical treatment. *Arch Surg* 2012; 147: 694-700 [PMID: 22508671 DOI: 10.1001/archsurg.2012.222]
- 15 肖铁刚, 何道同, 邢练军, 陈珺明, 季光, 王兵. 瘦素、脂联素和抵抗素对代谢综合征患者糖脂代谢和血压调控的影响. *世界华人消化杂志* 2014; 22: 3024-3029

同行评价

本文对青海大学附属医院81例接受LSG治疗肥胖性T2DM的患者1年期疗效进行评价, 显示LSG有效地改善了多项代谢异常相关体征, 具有一定的临床意义。

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利



食管颗粒细胞瘤ESD切除1例并国内文献回顾

王 龙, 曹 杰, 代海萍, 辛 毅

■背景资料

颗粒细胞瘤于1926年由Abrikossoff在舌部发现并首次报道,并在1931年又首次报道食管颗粒细胞瘤。此病罕见,我国仅有少量散发病例报道,缺乏对此疾病的详细描述和统一诊疗标准。

王龙, 曹杰, 代海萍, 辛毅, 安徽医科大学附属宿州医院(宿州市立医院)消化内科 安徽省宿州市 234000

王龙, 主治医师, 主要从事胃肠疾病研究。
作者贡献分布: 王龙负责收集资料及撰写; 曹杰与代海萍对文献进行调研整理; 辛毅负责文章审核。

通讯作者: 辛毅, 主任医师, 234000, 安徽省宿州市埇桥区汴河中路299号, 安徽医科大学附属宿州医院(宿州市立医院)消化内科。wanglong0557@qq.com
电话: 0557-3688537

收稿日期: 2015-06-24 修回日期: 2015-09-06

接受日期: 2015-09-11 在线出版日期: 2015-10-08

Endoscopic submucosal dissection excision for esophageal granular cell tumor: A case report and literature review

Long Wang, Jie Cao, Hai-Ping Dai, Yi Xin

Long Wang, Jie Cao, Hai-Ping Dai, Yi Xin, Department of Gastroenterology, Suzhou Municipal Hospital, Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Suzhou 234000, Anhui Province, China

Correspondence to: Yi Xin, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Suzhou Municipal Hospital, Affiliated Hospital of Anhui Medical University, 299 Bianhe Middle Road, Yongqiao District, Suzhou 234000, Anhui Province, China. wanglong0557@qq.com

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

Accepted: 2015-09-11 Published online: 2015-10-08

Abstract

Esophageal granular cell tumor is a rare disease. Here we report a typical case of esophageal granular cell tumor and review the relevant literature with regards to clinical symptoms, endoscopic manifestations, diagnostic method, nosogenesis, treatment and prognosis. The application of endoscopic ultrasonography is helpful to improve the diagnosis of the

disease, and pathology is the gold standard for the diagnosis of the disease. Generally, when tumor diameter is less than 2 cm and there is no muscular layer invasion, endoscopic mucosal resection (EMR) can be used. Considering a low potential of recurrence and malignancy, transparent cap assisted endoscopic submucosal dissection (ESD) has a higher safety.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Esophageal granular cell tumor; Endoscopic submucosal dissection; Literature review

Wang L, Cao J, Dai HP, Xin Y. Endoscopic submucosal dissection excision for esophageal granular cell tumor: A case report and literature review. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(28): 4602-4605 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4602.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i28.4602>

摘要

食管颗粒细胞瘤发病罕见, 本文通过对1例典型病例诊疗情况描述以及对国内相关文献检索和回顾, 进一步对此病的临床症状、镜下表现、诊断方法、发病机制、治疗、预后情况进行整理、总结和探讨。超声内镜的应用有助于提高此疾病的诊断率, 病理是确诊该疾病的金标准。一般认为直径<2 cm且未侵及肌层者可以采用内镜黏膜切除术(endoscopic mucosal resection), 考虑到少数复发和潜在恶性可能, 透明帽辅助内镜黏膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection)具有更高的安全性。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

■同行评议者

周力, 主任医师, 贵阳医学院附属医院消化内科

关键词: 食管颗粒细胞瘤; 内镜黏膜下剥离术; 文献回顾

核心提示: 食管颗粒细胞瘤发病罕见, 本文通过对一典型病例诊疗情况描述以及对国内相关文献检索和回顾, 进一步对此病的临床症状、镜下表现、诊断方法、发病机制、治疗、预后情况进行整理、总结和探讨, 以利于临床诊疗。

王龙, 曹杰, 代海萍, 辛毅. 食管颗粒细胞瘤ESD切除1例并国内文献回顾. 世界华人消化杂志 2015; 23(28): 4602-4605
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4602.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i28.4602>

0 引言

颗粒细胞瘤(granular cell tumor, GCT)一般认为是施万(Schwann)细胞或外周神经来源的新生物, 曾被称为颗粒性肌母细胞瘤(granular cell myoblastoma), 1926年由Abrikossoff在舌部发现并首次报道, 并在1931年又首次报道食管颗粒细胞瘤. 近年来通过免疫组织化学和电镜研究, 证明颗粒细胞瘤来源于神经鞘的施万细胞, 因其细胞质充满分布均匀的嗜酸性颗粒而命名. 免疫组织化学显示细胞质和细胞核外周神经标记S-100蛋白和糖分解烯醇酶(2-phospho-D-glycerate hydrolase, NSE)均阳性, 而肌源性、组织细胞源性及上皮源性等免疫组织化学标记阴性. 食管颗粒细胞瘤发病罕见, 临床上均为散发、个案病例报道. 本文报告1例患者, 男性, 29岁, 因反复上腹不适入院, 内镜检查提示距门齿35 cm处5-6点位见一淡黄色黏膜下隆起, 大小约0.7 cm×0.4 cm, 活检病理提示食管颗粒细胞瘤, 使用透明帽法内镜黏膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)切除肿物, 并对国内食管颗粒细胞瘤病例报道情况进行检索和回顾.

1 病例报告

患者, 男, 29岁, 工人. 系因“反复纳差伴上腹不适5年余, 加重1 wk”, 于2015-06-03就诊于安徽省宿州市立医院消化内科, 上腹不适呈阵发性, 并有反复进食不适及胸骨后不适感, 伴有明显焦虑. 2015-06-03电子胃镜示距门齿35 cm处5-6点位见一淡黄色黏膜下隆起, 大小约0.7 cm×0.4 cm, 表面黏膜光滑, 触之不滑动, 活检质硬. 胃镜病理示(食管)颗粒细

胞瘤, 免疫组织化学标记S100(3+), CD68(3+), Calretinin(-), SMA(-), Ki-67(-), α -抑制素(+). 大便常规、尿常规未见明显异常, 血常规示白细胞: $11.49 \times 10^9/L$, 中性粒细胞百分比: 76.61%, 肝肾功能、血糖、电解质、肿瘤标志物未见明显异常, 心电图、胸片、肝胆胰脾彩超未见明显异常. ^{14}C 呼气试验+, 2015-06-08超声内镜示食管黏膜下隆起(图1). 患者于2015-06-09行内镜下食管颗粒细胞瘤透明帽法ESD术, 以DU刀环周标记后, 予以亚甲蓝+肾上腺素+生理盐水黏膜下注射后, DU刀环周切开, 再次黏膜下注射, DU刀完整剥离病灶, 处理创面裸露血管, 切除组织再次送检, 术后抑制胃酸、补液对症治疗, 未见明显并发症, 治愈出院, 并嘱定期复查电子胃镜及随访.

2 讨论

1926年至1975年, 世界报道食管颗粒细胞瘤13例, 国内1990年前仅报道2例^[1], 截至2011年我国发现不足20例, 多为个案病例报道, 近年来由于内镜的广泛应用及病理检查的普及, 发现数量稍有增加, 但对于该疾病的症状、发病机制、良恶性鉴别以及治疗方法尚未形成统一共识. 我们通过对中国知网、万方数据库等进行检索和收集描述较为详细的国内病例报告, 剔除部分模糊数据, 综合相关报道并对数据进行整理后发现: 男性患者多见, 女性约占26.3%, 平均确诊时年龄44.2岁; 症状多为上腹不适、反酸、嗝气等非特异性症状, 瘤体大于1 cm多有进食哽咽、进食不适感, 瘤体小时症状不典型; 病程为数天到数年不等, 多数为1 mo左右; 个别无特殊症状为体检查出; 有3例报告中患者检出合并幽门螺旋杆菌感染, 1例报告中患者有明确的长期、大量饮酒吸烟史; 食管颗粒细胞瘤发病部位平均距门齿30.2 mm, 大小平均0.91 cm; 处置措施包括3例活检后随访观察、7例外科手术、4例ESD切除, 其余多为套扎、电凝电切、内镜黏膜切除术(endoscopic mucosal resection, EMR)等治疗, 无术后复发报道; 国内报告均为良性. 2013年, 江晨等^[2]报道1例胃颗粒细胞瘤合并食管鳞状细胞癌和神经鞘瘤, 2008年Saito等^[3]报道了食管颗粒细胞瘤合并鳞状细胞癌3例, 但是否同源性以及相关联合尚不十分明确.

据报道颗粒细胞瘤发生于消化系者仅占

■研究前沿

分析典型病例和回顾报告文献, 对该疾病的诊疗标准进行整理, 超声内镜的应用有助于提高此疾病的诊断率, 病理是确诊该疾病的金标准. 一般认为直径<2 cm且未侵及肌层者可以采用内镜黏膜切除术(endoscopic mucosal resection, EMR), 考虑到少数复发和潜在恶性可能, 透明帽辅助内镜黏膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)具有更高的安全性.

■相关报道

1926年至1975年, 世界报道食管颗粒细胞瘤13例, 国内1990年前仅报道2例, 截至2011年我国发现不足20例, 近年来由于内镜的广泛应用, 发现数量稍有增加, 但仍缺乏系统描述和统一诊疗标准.

■创新亮点

通过对典型病例描述以及对国内相关文献回顾, 对此病的临床症状、镜下表现、诊断方法、发病机制、治疗、预后情况进行整理、总结, 超声内镜有助于提高诊断率, 病理诊断仍是金标准, 考虑到少数复发和潜在恶性可能, ESD术具有更高的安全性。

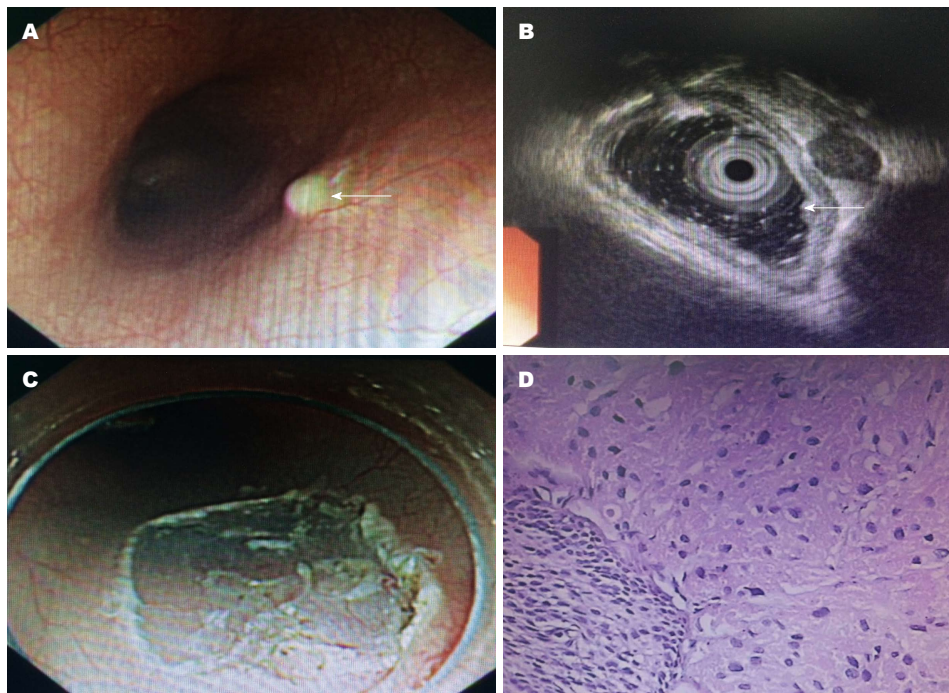


图1 患者病理检查及病理标本。A: 电子胃镜示距门齿35 cm处5-6点位见一淡黄色黏膜下隆起(箭头所指位置); B: 超声内镜示距门齿35 cm处5-6点位见一食管黏膜下隆起(箭头所指位置); C: 食管颗粒细胞瘤ESD术后创面处理情况; D: 食管颗粒细胞瘤病理标本。ESD: 内镜黏膜下剥离术。

8%-10%, 发生于食管的颗粒细胞瘤占2%, 且多位于食管中下段^[4]。食管颗粒细胞瘤一般较小, 且生长缓慢, 内镜下多呈黄色、灰白色结节状或无蒂的息肉状, 与食管常发的黏膜下平滑肌瘤和间质瘤无法鉴别, 临床常统称为食管隆起性病变。超声内镜检查对于诊断有一定帮助, 一般表现为低回声实质肿块, 起源于黏膜内层(即黏膜深层和黏膜下层); 有研究表明食管骨巨细胞瘤(giant cell tumour, GCT)和食管平滑肌瘤病灶的超声内镜图像灰度平均值均数分别为67.51和51.76, 通过比较超声内镜图像的灰度平均值可提高诊断率^[5]。病理是确诊该疾病的金标准, 但因为瘤体位于黏膜下, 建议深挖活检或行内镜下细针穿刺吸引细胞学检查确诊食管GCT^[6]。瘤体一般为实性、无包膜、质韧, 切面呈淡黄色或灰黄色。镜下见瘤细胞胞质丰富, 内含多量嗜双色或嗜酸性颗粒状物质, 紧密排列呈巢团状或片状、条索状, 瘤体大呈多边形, 其间由纤维组织分隔。细胞核小而一致, 圆形, 居中; 染色质呈固缩状或空泡状, 无异型性, 也无核分裂象; 坏死罕见或缺乏。免疫组织化学颗粒细胞瘤表达一些神经特异性标记和组织细胞标志物, 如S-100、NSE、髓磷脂蛋白(myelin basic protein, MBP)、CD68(KP-1)和CD57(Leu-7)等。

■应用要点

通过对少见病的描述和相关病例报告文献进行总结, 整理和探讨此疾病的特点和诊疗标准, 明确超声内镜和ESD术在诊疗过程中的价值, 以利于指导和规范临床诊疗活动。

在病理组织学上良性颗粒细胞瘤和恶性颗粒细胞瘤(malignant granular cell tumor, MGCT)存在一定重叠, MGCT很少见, 于1945年Ravich首次报道^[7], 约占1%-2%。Fanburg-Smith等^[8]提出MGCT的形态学诊断标准为: 肿瘤性坏死, 细胞形态为梭形细胞, 空泡状核及核仁增大明显, 核分裂象多(>2个/10HPF, 200倍), 高核质比和细胞多形性, 满足≥3个的形态诊断为MGCT, 满足1个或2个上述形态诊断为不典型性颗粒细胞瘤。国内王坚等^[9]建议将MGCT的核分裂计数标准修订为>5个/50HPF。Gamboa^[10]曾将MGCT分为Gamboa I型(临床恶性而组织学良性)和Gamboa II型(临床、组织学均为恶性)2组, 但发现2组的预后未见明显差异。如果肿瘤生长速度快、直径>5 cm、核分裂象>2个/10HPF、有肿瘤组织坏死特别是出现转移时, 提示为恶性颗粒细胞瘤; 鉴别诊断依然主要依靠病理, 主要与黄色瘤、平滑肌瘤、横纹肌瘤、神经鞘瘤、胃肠道间质瘤想鉴别, 但注意并发和共同存在的可能。

一般认为直径<2 cm且未侵及肌层者可以采用EMR进行治疗。直径≥2 cm ESD显得更为精确和安全, 术后随访8 mo至6年无复发, 效果比较理想。Canbay等^[11]观察到即使内镜下将食管颗粒细胞瘤完整摘除, 上述症状仍将继续存

在, 但测试各项运动功能指标均正常, 推测可能是因为颗粒细胞瘤源自于神经外胚层, 永久性地干扰了内脏的感觉系统; 考虑到少数复发和潜在恶性可能, 透明帽辅助ESD术具有更高的安全性。如瘤体过大或考虑恶性, 需进行手术完整切除, 必要时淋巴结清扫。

结合国内外文献回顾和报道, 食管颗粒细胞瘤多为良性, 但也有恶性肿瘤报道^[12,13], 参考其他部位MGCT, 如Ordóñez^[14]报道的41例MGCT, 虽经广泛切除, 但复发率高达59%, 且预后很差, 超50%发生转移, 肝、肺、骨是最常见的转移部位, 3年生存率仅为30%-50%, 对放化疗均不敏感且存在争议。对于良性食管颗粒细胞瘤术后亦有5%-10%的复发率^[15], 因此早期积极治疗和术后的密切追踪随访很重要。GCT可发生于任何部位和年龄段, 一般认为女性多于男性, 但食管颗粒细胞瘤男性明显多于女性, 是否与抽烟、饮酒、幽门螺旋杆菌感染、精神压力、饮食习惯等因素有关, 有待于进一步验证。

随着内镜检查的广泛应用, 食管颗粒细胞瘤的发现越来越多, 但良恶性的鉴别和治疗方案仍存在争议, 治疗方式选择也受医疗条件和病变特点的限制, 但早期诊断并积极治疗, 术后长时间的密切随访仍显得重要, 诊疗方面进一步达成共识仍需要更多的病历报道、追踪随访及探索。

3 参考文献

- 1 赵尔增, 袁群. 食管颗粒细胞瘤一例. 中华病理学杂志 2000; 29: 480
- 2 江晨, 杨彦华, 于建宪. 胃颗粒细胞瘤合并食管鳞状细胞癌和神经鞘瘤1例报道. 诊断病理学杂志 2013; 20: 366-367
- 3 Saito K, Kato H, Fukai Y, Kimura H, Miyazaki T, Kashiwabara K, Nakajima T, Kuwano H. Esophageal granular cell tumor covered by intramucosal squamous cell carcinoma: report of a case. *Surg Today* 2008; 38: 651-655 [PMID: 18612793 DOI: 10.1007/s00595-007-3694-2]
- 4 付万奎, 郭乔楠. 食管颗粒细胞瘤临床病理分析. 局解手术学杂志 2015; 24: 132-134
- 5 钱燕敏, 许国强, 陈洪潭, 滕晓东, 王丽君. 食管颗粒细胞瘤超声内镜图像的计算机分析研究. 中华消化杂志 2013; 33: 223-225
- 6 Prematilake IV, Piris J, Shah KA. Fine needle aspiration cytology of a granular cell tumour of the oesophagus. *Cytopathology* 2004; 15: 120-121 [PMID: 15056175 DOI: 10.1111/j.1365-2303.2004.00126.x]
- 7 Ravich A, Stout AP, Ravich RA. Malignant Granular Cell Myoblastoma Involving the Urinary Bladder. *Ann Surg* 1945; 121: 361-372 [PMID: 17858577 DOI: 10.1097/0000658-194503000-00010]
- 8 Fanburg-Smith JC, Meis-Kindblom JM, Fante R, Kindblom LG. Malignant granular cell tumor of soft tissue: diagnostic criteria and clinicopathologic correlation. *Am J Surg Pathol* 1998; 22: 779-794 [PMID: 9669341 DOI: 10.1097/00000478-199807000-00001]
- 9 王坚, 朱雄增, 张仁元. 恶性颗粒细胞瘤10例临床病理学观察及文献复习. 中华病理学杂志 2004; 33: 5-10
- 10 Gamboa LG. Malignant granular-cell myoblastoma. *AMA Arch Pathol* 1955; 60: 663-668 [PMID: 13268207]
- 11 Canbay A, Gieseler RK, Hoffmann P, Holtmann G, Rünzi M. Persistently altered visceral perception after resection of an esophageal granular cell myoblastoma: a therapeutic concept revisited. *Z Gastroenterol* 2003; 41: 917-920 [PMID: 13130329 DOI: 10.1055/s-2003-41826]
- 12 Loo CK, Santos LD, Killingsworth MC. Malignant oesophageal granular cell tumour: a case report. *Pathology* 2004; 36: 506-508 [PMID: 15370125 DOI: 10.1080/00313020412331282744]
- 13 Yoshizawa A, Ota H, Sakaguchi N, Kanai S, Nakayama J, Matsuzawa K, Tsuzuki S, Takada R, Miyazawa F, Kasahara H, Katsuyama T. Malignant granular cell tumor of the esophagus. *Virchows Arch* 2004; 444: 304-306 [PMID: 14745554 DOI: 10.1007/s00428-003-0957-1]
- 14 Ordóñez NG. Granular cell tumor: a review and update. *Adv Anat Pathol* 1999; 6: 186-203 [PMID: 10410172 DOI: 10.1097/00125480-199907000-00002]
- 15 王宁宁, 李异玲, 孙明军. 内镜下治疗食管颗粒细胞瘤一例. 中国医师进修杂志 2014; 37: 76-77

■名词解释

颗粒细胞瘤: 一般认为是施万(Schwann)细胞或外周神经来源的新生物, 1926年由Abrikossoff在舌部发现并首次报道, 发生于食管更为罕见, 在镜下常被误诊为平滑肌瘤或间质瘤, 临床症状缺乏特异性, 病理诊断为金标准, 有观察随访、电凝电切、套扎、EMR、ESD、手术等多种治疗方式, 缺乏统一标准。

■同行评价

食管颗粒细胞瘤近年报道有所增加, 超声内镜诊断、病理组织化学及内镜治疗的发展使大家对此疾病的认识有一定的提高, 但国内并无大宗报道, 仍需更为充足的临床资料及个案病例报道。

编辑: 于明茜 电编: 闫晋利



非直接侵犯性胃转移癌的多层螺旋CT特征: 5例病例报告并文献复习

杨 丽, 时高峰, 周 涛, 王光大, 李 扬

■背景资料

非直接侵犯性胃转移癌是一种少见的消化系统肿瘤, 缺乏特异的临床症状, 极易被忽视或误诊, 从而延误治疗。迄今为止, 国内外相关文献多为临床个案报道, 影像诊断经验不足。

杨丽, 时高峰, 王光大, 李扬, 河北医科大学第四医院CT室 河北省石家庄市 050011
周涛, 河北医科大学第四医院外科 河北省石家庄市 050011
杨丽, 副主任医师, 主要从事消化系统肿瘤的影像诊断研究。
2015年河北省医学科学研究重点课题计划基金资助项目, No. 20150359
作者贡献分布: 杨丽负责研究设计、影像分析及论文撰写; 时高峰参与影像分析; 周涛与王光大负责收集整理临床资料; 李扬参与论文撰写。
通讯作者: 时高峰, 教授, 050011, 河北省石家庄市健康路12号, 河北医科大学第四医院CT室. gaofengs62@sina.com
电话: 0311-86095248
收稿日期: 2015-08-03 修回日期: 2015-09-09
接受日期: 2015-09-11 在线出版日期: 2015-10-08

Gastric metastases not resulting from direct invasion: Report of 5 cases and review of the literature

Li Yang, Gao-Feng Shi, Tao Zhou, Guang-Da Wang, Yang Li

Li Yang, Gao-Feng Shi, Guang-Da Wang, Yang Li, Department of CT/MR Imaging, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei Province, China

Tao Zhou, Department of Surgery, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei Province, China

Supported by: 2015 Medical Scientific Research Key Project of Hebei Province, No. 20150359

Correspondence to: Gao-Feng Shi, Professor, Department of CT/MR Imaging, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, 12 Jiankang Road, Shijiazhuang 050011, Hebei Province, China. gaofengs62@sina.com

Received: 2015-08-03 Revised: 2015-09-09

Accepted: 2015-09-11 Published online: 2015-10-08

Abstract

Gastric metastases not resulting from direct

invasion are rare. Clinically, these patients present with nonspecific symptoms, which easily lead to missed diagnosis or misdiagnosis. MSCT findings of the disease may vary but often have characteristic features, different from those of gastric stromal tumors and primary gastric cancer. Thus, for cancer patients with gastrointestinal symptoms, medical imaging workers should improve the recognition and vigilance of the disease. Careful identification of the characteristic MSCT findings combined with the clinical history can help provide a suggestive diagnosis.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gastric tumor; Metastases; Computed tomography

Yang L, Shi GF, Zhou T, Wang GD, Li Y. Gastric metastases not resulting from direct invasion: Report of 5 cases and review of the literature. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(28): 4606-4610 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4606.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i28.4606>

摘要

非直接侵犯性胃转移癌是一种少见的胃肠道恶性肿瘤, 缺乏特异的临床症状, 极易被忽视或误诊。虽然其多层螺旋CT(multislice helical CT, MSCT)表现多样, 但具有一定的特征性, 可与胃间质瘤、原发性胃癌相鉴别。因此, 对伴有消化系统症状的恶性肿瘤患者, 影像医生应提高对本病的警惕和认识, 结合病史, 仔细识别其MSCT征象, 可提示诊断。

■同行评议者

龙学颖, 副主任医师, 中南大学湘雅医院

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胃肿瘤; 转移癌; 计算机断层扫描

核心提示: 非直接侵犯性胃转移癌的多层螺旋CT(multislice helical CT, MSCT)表现具有一定的特征性. 对伴有消化系统症状的恶性肿瘤患者, 影像医生应提高对本病的警惕和认识, 结合病史, 仔细识别其MSCT征象可提示诊断.

杨丽, 时高峰, 周涛, 王光大, 李扬. 非直接侵犯性胃转移癌的多层螺旋CT特征: 5例病例报告并文献复习. 世界华人消化杂志 2015; 23(28): 4606-4610 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4606.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i28.4606>

0 引言

胃转移癌是指癌细胞从原发部位经血管、淋巴管或其他途径侵袭至胃部继续生长, 形成与原发肿瘤相同类型的肿瘤, 是一种少见的胃肠道恶性肿瘤^[1-3], 提示原发肿瘤已进入晚期, 但因本病缺乏特异的临床症状, 极易被忽视或误诊, 从而延误治疗. 迄今为止, 国内外相关文献多为临床个案报道, 影像诊断经验不足. 我们检索了河北医科大学第四医院2010-01/2015-05诊断为胃恶性肿瘤的病例, 收集到5例经胃镜或手术病理证实为非直接侵犯性胃转移癌、且于治疗前接受过上腹部多层螺旋CT(multislice helical CT, MSCT)检查的患者资料, 包括: 肺癌2例、食管癌1例、乳腺癌1例、宫颈癌1例, 其中男性3例, 女性2例, 年龄30-68岁, 平均年龄51岁. 本文对上述5例患者的临床资料及MSCT图像进行回顾性分析报告, 复习文献, 探讨其MSCT特征, 以提高影像医生对本病的警惕与认识.

1 病例报告

病例1, 男, 44岁, 主因间断腹痛3 mo就诊. 既往: 右肺中叶小细胞肺癌切除术后1年. 胃镜: 胃大弯侧近底体交界处见一大约3 cm×4 cm溃疡性病损, 表面覆污秽, 周围黏膜充血水肿糜烂, 呈堤样隆起. 胃镜病理: CD56(+++), CK20(-), TTF-1(+++), 支持小细胞肺癌转移至胃. 同期发现肺转移, 遂行化疗, 未手术. 增强MSCT显示胃转移癌位于胃体大弯侧黏膜下, 密度均匀, 边界清楚, 呈局限溃疡型. 病变处线样强化的胃黏膜抬高, 顶部黏膜中断, 形成“火山口样”溃

疡, 与胃镜所见一致(图1A, C, E).

病例2, 男, 58岁, 主因胃部不适1 mo就诊. 既往: 左肺腺癌切除术后1年. 胃镜: 胃底前壁黏膜粗糙, 稍隆起, 充血水肿, 质脆. 胃镜病理: P63(+), CK7(+++), TTF-1(+++), CK17(-), 支持转移性低分化腺癌, 符合肺来源. 同期发现脑转移瘤, 遂行化疗, 未手术. 增强MSCT显示胃底黏膜下组织增多, 密度均匀, 边界不清, 呈弥漫浸润型, 线样强化的胃黏膜稍增厚, 未见中断, 与胃镜所见相一致(图1B, D, F).

病例3, 女, 30岁, 无消化系统症状, 既往: 宫颈癌放射治疗后4年, 复查正电子发射计算机断层显像(positron emission tomography-CT, PET-CT)时发现贲门胃底处核素异常浓聚. 胃镜: 贲门及胃底见溃疡浸润状新生物, 范围约5-6 cm, 界清. 胃镜病理: 低分化鳞癌. 遂行放射治疗, 未手术. 增强MSCT显示胃转移癌位于贲门胃底, 呈弥漫浸润型. 病变主体位于黏膜下, 密度不均匀, 突向胃腔外生长, 部分层面黏膜连续性中断, 溃疡形成. 胃周可见肿大淋巴结影(图2).

病例4, 男, 55岁, 主因进行性吞咽困难5 mo就诊. 胃镜: (食管)距门齿25-31 cm见一溃疡状新生物, 表面糜烂, 胃镜病理: 鳞癌. (胃体)距门齿45 cm胃小弯处见一不规则形溃疡, 约2.8 cm×1.9 cm, 胃镜病理: 黏膜水肿炎变, 少许鳞状细胞癌组织. 遂以“食管胃重复癌”行手术切除, 食管胃弓上吻合术. 术后病理: 食管低分化鳞状细胞癌侵及纤维膜. 胃壁内多灶性转移, 可见脉管瘤栓. 胃左淋巴结转移. 术前MSCT平扫显示胃体壁增厚, 胃小弯侧僵直, 密度均匀, 呈弥漫浸润型, 胃周可见肿大淋巴结影, 与胃镜所见病变局限不符, 病理证实为胃壁多灶性转移(图3).

病例5, 女, 68岁, 主因进食后呕吐1 mo就诊. 既往: 右侧乳腺浸润性小叶癌切除术后3年. 胃镜: 胃体见浸润状新生物, 胃黏膜皱襞粗大僵硬, 胃腔挛缩, 表面破溃不明显. 胃镜病理: 低分化腺癌. 遂以“原发性胃腺癌”行根治性全胃切除术, 食管-空肠Rouxen Y吻合术. 术后病理: 胃壁及周围软组织低分化腺癌浸润, 考虑乳腺源性. 免疫组织化学: CEA(-), CDX2(-), CK(+), ER(90%强阳性), PR(-), HER2(++). 1、2、4Sb、6、7、8组淋巴结转移. 术前增强

■ 研究前沿

关于非直接侵犯性胃转移癌的影像学研究较少, 如何通过影像学检查手段, 提示本病、指导临床给予及时正确的处置, 是临床实践中亟待解决的问题.

■ 相关报道

关于胃转移癌的文献报道多为临床个案报道, 且多偏重临床、病理及治疗, 其影像学文献报道少见. 在Green等、Glick等报道中简要归纳了胃转移癌的X线钡餐造影表现.

■创新盘点

本文回顾性分析5例经病理证实为非直接侵犯性胃转移癌患者的临床资料及多层螺旋CT(multislice helical CT, MSCT)影像, 分析病变部位、形态(参照Borrmann分型)、密度、强化形式、胃黏膜及胃周淋巴结情况, 并与胃镜和/或手术病理结果相对照, 探讨本病的MSCT特征。

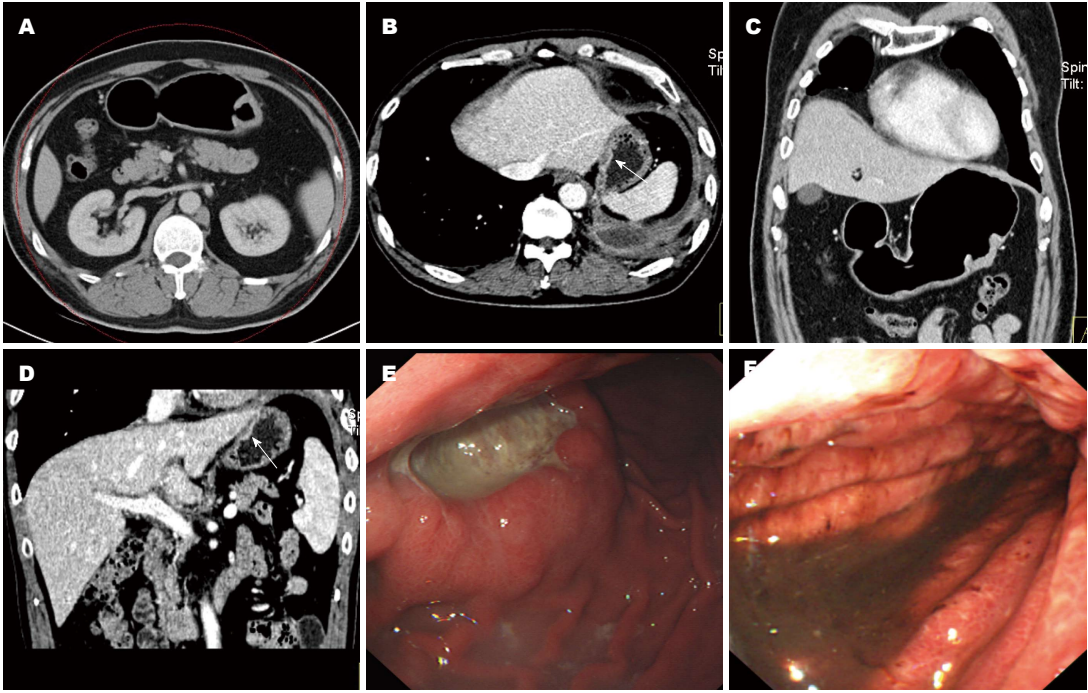


图 1 肺癌胃转移。A, B: 病例1, 2增强MSCT静脉期轴位图像; C, D: 病例1, 2增强MSCT静脉期冠状位MPR图像; E, F: 病例1, 2胃镜图像。MSCT: 多层螺旋CT; MPR: 多平面重建。

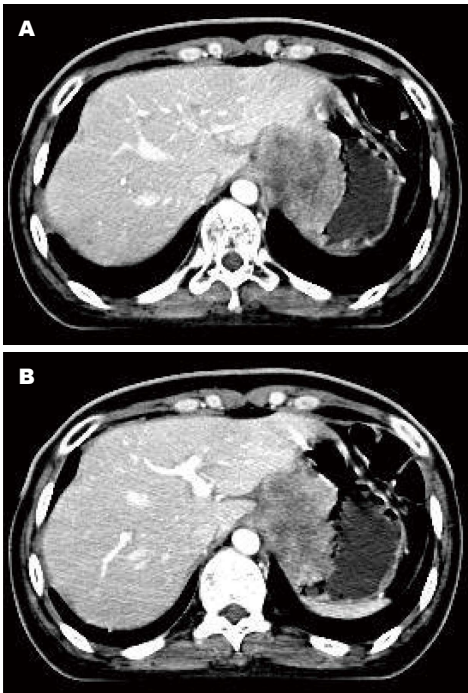


图 2 病例3, 女, 30岁, 宫颈癌胃转移。A, B: 不同层面增强MSCT静脉期轴位图像。MSCT: 多层螺旋CT。

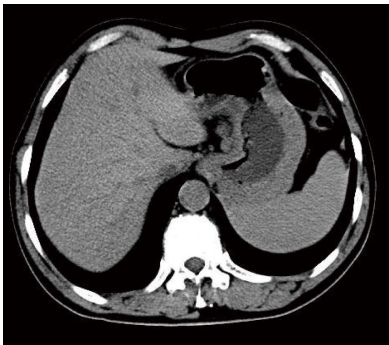


图 3 病例4, 男, 55岁, 食管癌胃转移。上腹部MSCT平扫图像。MSCT: 多层螺旋CT。

■应用要点

非直接侵犯性胃转移癌的MSCT表现多样, 易与胃间质瘤、原发性胃癌相混淆, 因此需要影像医师密切结合病史, 仔细识别其MSCT特征性表现。

MSCT显示胃转移癌位于胃体远端黏膜下, 胃壁弥漫性增厚, 呈弥漫浸润型, 大部分突向胃腔外生长, 密度均匀, 动脉期可见连续的线样强化的黏膜线, 静脉期病变呈均匀明显强化, 胃周可见肿大淋巴结影(图4)。

2 讨论

临床上, 毗邻器官肿瘤直接侵犯胃者并不罕见, 而非直接侵犯性胃转移癌更具研究价值, 国内外对胃转移癌的研究报道主要集中于此, 其转移途径主要为血管、淋巴管转移^[4]。在大多数的尸检病例报道中, 此类胃转移癌的发病率约为0.2%-0.7%, 原发肿瘤以恶性黑色素瘤(26%)、乳腺癌(8.2%-15%)、食管癌(6.2%)、肺癌(0.2%-0.5%)居多^[5,6]。恶性黑色素瘤、乳腺癌、肺癌的癌细胞多经血行播散至胃^[7,8], 亦有学者提出肺癌患者痰中的癌细胞可随吞咽种植转移至胃^[9], 本组2例肺癌患者同期发现其他器官转移灶, 考虑其转移机制与血行转移有关。食

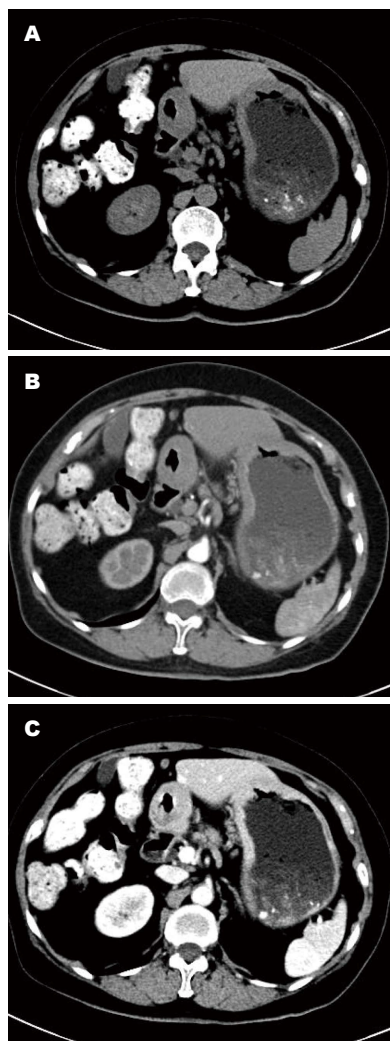


图 4 病例5, 女, 68岁, 乳腺癌胃转移。A: MSCT平扫轴位图像; B: 增强MSCT动脉期轴位图像; C: 增强MSCT静脉期轴位图像。MSCT: 多层螺旋CT。

管癌多经黏膜下丰富的淋巴管网播散至胃^[10]。

胃转移癌缺乏特异的临床表现, 很难与原发肿瘤治疗后的胃肠道不良反应或胃肠道原发肿瘤相鉴别, 诊断主要依靠病理组织学检查及原发肿瘤病史^[11]。其病理组织学特点为: 病变可单发或多发, 位于黏膜下, 多伴有溃疡, 但与正常胃黏膜间缺乏组织学过渡区^[5], 组织类型与原发肿瘤一致, 并具有原发肿瘤的特异性免疫组织化学表现。胃镜是发现病变和获取组织的主要手段, 但胃转移癌胃镜活检确诊率仅为15.6%, 误诊率较高^[12], 且不能准确评估病变范围及浸润深度, 这与胃镜仅能观察胃黏膜面, 对位于黏膜下的病变不易咬检到或取材较少有关^[8]。腹部MSCT检查是肿瘤患者的常规检查, 注射造影剂后可显示胃壁结构及壁外结构, 有利于判断病变部位、范围及其与胃黏膜的

关系。本组2例患者(病例3、病例5)胃镜仅显示浸润状新生物, MSCT可清晰显示病变主体位于黏膜下; 1例患者(病例4), 胃镜显示病变为局限溃疡型, MSCT显示为弥漫浸润型, 术后病理证实为多灶性转移, 与MSCT所见一致。

胃转移癌的MSCT表现多样, 与其病理改变密切相关。单发的<2 cm的病变表现为黏膜下孤立结节, 线样强化的胃黏膜完整连续; >3 cm者的典型表现为黏膜下肿块, 局部胃黏膜抬高, 多伴有顶部黏膜中断, 形成“火山口样”溃疡^[5,10], 其形成原因可能与癌细胞浸润胃黏膜或胃黏膜继发缺血坏死有关^[13,14]。本组中1例(病例1)表现为此种类型, 即局限溃疡型。此种表现的胃转移癌需与胃间质瘤相鉴别: 两者大体形态相似, 均位于胃黏膜下, 可伴有溃疡形成, 但间质瘤易发生坏死、出血及囊变, 本组胃转移癌病变密度均匀。此外, 胃间质瘤较少伴有胃周淋巴结肿大, 而本组中3例伴有胃周淋巴结肿大。多发的胃转移癌呈黏膜下广泛浸润, 皱襞增厚紊乱, 黏膜完整或伴有溃疡形成, MSCT表现为胃壁增厚, 黏膜线连续或中断, 即弥漫浸润型。此种表现与原发胃癌相似, 但仔细观察MSCT图像会发现胃转移癌以黏膜下组织增厚明显, 病变主体位于黏膜下, 突向胃腔外生长(病例3、病例5)。本组4例表现为此种类型, 2例黏膜完整, 1例黏膜不完整, 1例因行平扫无法评价胃黏膜情况。2例(病例4、病例5)术前临床误诊为原发胃癌。

总之, 胃转移癌是一种少见的消化系统肿瘤, 其MSCT表现具有一定的特征性。对伴有消化系统症状的恶性肿瘤患者, 影像医生应提高对本病的警惕和认识, 仔细识别MSCT征象并密切结合病史, 可提示诊断, 减少漏诊及误诊的发生, 以指导临床给予及时正确的处置。

■名词解释

胃转移癌: 癌细胞从原发部位经血管、淋巴管或其他途径侵袭至胃部继续生长, 形成与原发肿瘤相同类型的肿瘤, 是一种少见的胃肠道恶性肿瘤; 非直接侵犯性胃转移癌: 癌细胞从原发部位经血管、淋巴管侵袭至胃部的转移瘤, 不包括毗邻器官肿瘤直接侵犯胃者。

3 参考文献

- 1 Béchade D, Desramé J, Raynaud JJ, Eggenspieler P, Baranger B, Védrine L, Ceccaldi B, Algayres JP. [Hemorrhagic gastric metastasis of an ovarian carcinoma]. *Gastroenterol Clin Biol* 2005; 29: 1065-1066 [PMID: 16435521 DOI: 10.1016/S0399-8320(05)88196-5]
- 2 Wallace W, Mulholland K, Epanomeritakis E. Bleeding gastric varices--a rare complication of ovarian cancer. *Int J Clin Pract* 2005; 59: 119-120 [PMID: 15707476 DOI: 10.1111/j.1742-1241.2004.00138.x]
- 3 Taal BG, Peterse H, Boot H. Clinical presentation, endoscopic features, and treatment of gastric metastases from breast carcinoma. *Cancer* 2000;

■ 同行评价

该文收集5例经病理证实的胃转移癌患者的临床资料及MSCT影像, 回顾性分析总结了其MSCT表现并结合文献进行了分析。胃转移癌较为少见, 相关的文献报告偏少, 但将其与胃原发肿瘤鉴别对于临床处理仍有重要作用, 因此该文有一定的临床价值。

- 89: 2214-2221 [PMID: 11147591 DOI: 10.1002/1097-0142(20001201)89]
- 4 付世伟, 杨映红, 黄旭, 杨焕星, 黄建平. 原发性肺癌胃转移的临床病理特点并1例文献复习. 世界华人消化杂志 2014; 22: 2657-2660
- 5 Green LK. Hematogenous metastases to the stomach. A review of 67 cases. *Cancer* 1990; 65: 1596-1600 [PMID: 2311070 DOI: 10.1002/1097-0142(19900401)65]
- 6 Majerus B, Timmermans M. [Gastric metastases of ovarian adenocarcinoma. Apropos of a case]. *Acta Chir Belg* 1990; 90: 166-171 [PMID: 2239034]
- 7 Feczko PJ, Collins DD, Mezwa DG. Metastatic disease involving the gastrointestinal tract. *Radiol Clin North Am* 1993; 31: 1359-1373 [PMID: 8210355]
- 8 Ambroggi M, Stroppa EM, Mordenti P, Biasini C, Zangrandi A, Michieletti E, Belloni E, Cavanna L. Metastatic breast cancer to the gastrointestinal tract: report of five cases and review of the literature. *Int J Breast Cancer* 2012; 2012: 439023 [PMID: 23091732]
- 9 陈晖, 林瑶光, 刘莹. 老年肺癌并胃转移1例报告. 广西医科大学学报 2004; 21: 766
- 10 Glick SN, Teplick SK, Levine MS, Caroline DF. Gastric cardia metastasis in esophageal carcinoma. *Radiology* 1986; 160: 627-630 [PMID: 3737901 DOI: 10.1148/radiology.160.3.3737901]
- 11 刘艳萍, 金博, 王琦三. 不同原发部位胃转移癌12例. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2092-2096
- 12 Oda H, Yamao T, Saito D, Ono H, Gotoda T, Yamaguchi H, Yoshida S, Shimoda T. Metastatic tumors to the stomach: analysis of 54 patients diagnosed at endoscopy and 347 autopsy cases. *Endoscopy* 2001; 33: 507-510 [PMID: 11437044 DOI: 10.1055/s-2001-14960]
- 13 Rubin SA, Davis M. "Bull's eye" or "target" lesions of the stomach secondary to carcinoma of the lung. *Am J Gastroenterol* 1985; 80: 67-69 [PMID: 3966457]
- 14 Sandler RS, Sartor RB, Bozyski EM. Endoscopic appearance of cancer metastatic to the stomach. *J Clin Gastroenterol* 1981; 3 Suppl 1: 35-37 [PMID: 7328295 DOI: 10.1097/00004836-198100031-00007]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取(open access, OA)期刊, 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由506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》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物。本刊被中国知网《中国期刊全文数据库》, 美国《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》数据库收录。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV RNA, AFP, CEA,

■ 《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议。

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

ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标. 静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P^H, *H. pylori*不能写成HP, *T*_{1/2}不能写成t_{1/2}或T, *V*_{max}不能写成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}, *V*_d, *T*_{1/2} *CT*等. 基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家

标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如30 kD改为*M_r* 30 000或30 kDa(*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A_r*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、-及-后列出. 在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d. 3.56 ± 0.27 pg/ml应为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用1 × 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、胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1 × 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字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% 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 \pm 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$, 平均数 \pm 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$. 统计学显著性用 $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP < 0.05$, $^dP < 0.01$; 第三套为 $^eP < 0.05$, $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1000-1500 kg, 3.5 mmol/L \pm 0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3614.5 g \pm 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 \pm 0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm \pm 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 \rightarrow 23.5 \rightarrow 24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 ≤ 100 , 百分数到个位; $101 \leq \text{分母} \leq 1000$, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1486800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律

用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上

■ 《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行,每月8、18、28日出版。

上海交通大学医学院附属医院仁济医院,上海市消化疾病研究所。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “马连生”的汉语拼写法为“Lian-Sheng Ma”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China
基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度, 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征, 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 P ,

后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: $^aP<0.05$, $^bP<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP<0.05$, $^dP<0.01$; 第3套为 $^eP<0.05$, $^fP<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/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……, 研究^[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.

2015-01-15/17
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/>

蔡全才 副教授
中国人民解放军第二军医大学附属长海医院临床流行病学与循证医学中心

陈卫昌 教授
苏州大学附属第一医院

成杰 副主任护师
华北理工大学附属医院

崔云甫 教授
哈尔滨医科大学附属第二医院普外科

甘华田 教授
四川大学华西医院老年消化内科

高英堂 研究员
天津市第三中心医院

高泽立 副教授
上海浦东新区周浦医院消化科, 上海交大医学院九院周浦分院

黄杰安 主任医师
广西医科大学第一附属医院

黄缘 教授
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

黄志勇 副教授
华中科技大学同济医学院附属同济医院肝脏外科中心

高凌 副教授
武汉大学人民医院

管樑 主任医师
上海交通大学医学院附属瑞金医院核医学科

吉建华 副主任护师
昆明医科大学第一附属医院

英卫东 教授
安徽省立医院肝脏外科

靳雁 副主任护师
中国人民解放军第四军医大学西京医院

李苏宜 教授
安徽省肿瘤医院肿瘤营养与代谢治疗科

李瑜元 教授
广州市第一人民医院

李正荣 副教授
南昌大学附属第一医院胃肠外科

刘芳芳 副主任医师
北京大学人民医院

刘绍能 主任医师
中国中医科学院广安门医院

刘长征 副教授
中国医学科学院基础医学研究所

卢根娣 教授
上海长征医院

卢宁 副主任医师
中国人民解放军兰州军区乌鲁木齐总医院肿瘤诊疗中心

禄韶英 副教授
西安交通大学医学院第一附属医院普外科

吕农华 教授
南昌大学第一附属医院

马久红 副主任护师
南昌大学第一附属医院消化内镜中心

麻勇 副研究员
哈尔滨医科大学附属第一医院

马丽娜 主任医师
首都医科大学附属北京佑安医院

毛高平 主任医师
中国人民解放军空军总医院

志谢

门秀丽 教授
河北联合大学(原华北煤炭医学院)

潘秀珍 教授
福建省立医院消化科

单信芝 副主任护师
青岛大学附属医院消化内科

沈克平 主任医师
上海中医药大学附属龙华医院

沈薇 教授
重庆医科大学附属第二医院消化内科

孙星 副主任医师
上海交通大学附属第一人民医院

万军 教授
中国人民解放军总医院

王家香 主任护师
泸州医学院附属医院消化内科

王明荣 研究员
中国医学科学院肿瘤医院

王蒙 副教授
中国人民解放军第二军医大学附属东方肝胆外科医院

吴文溪 教授
南京医科大学第一附属医院

肖恩华 教授
中南大学湘雅二医院

谢仕斌 主任医师
中山大学附属第三医院感染病科

杨江华 副教授
安徽省芜湖市皖南医学院弋矶山医院感染科

袁红霞 教授
天津中医药大学

张锦生 教授
复旦大学上海医学院病理学系

张明辉 主任医师
河北省唐山市人民医院

张宗明 教授
首都医科大学北京电力医院普外科

赵青川 教授
西京医院消化外科

郑培永 研究员
上海中医药大学附属龙华医院



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



ISSN 1009-3079

