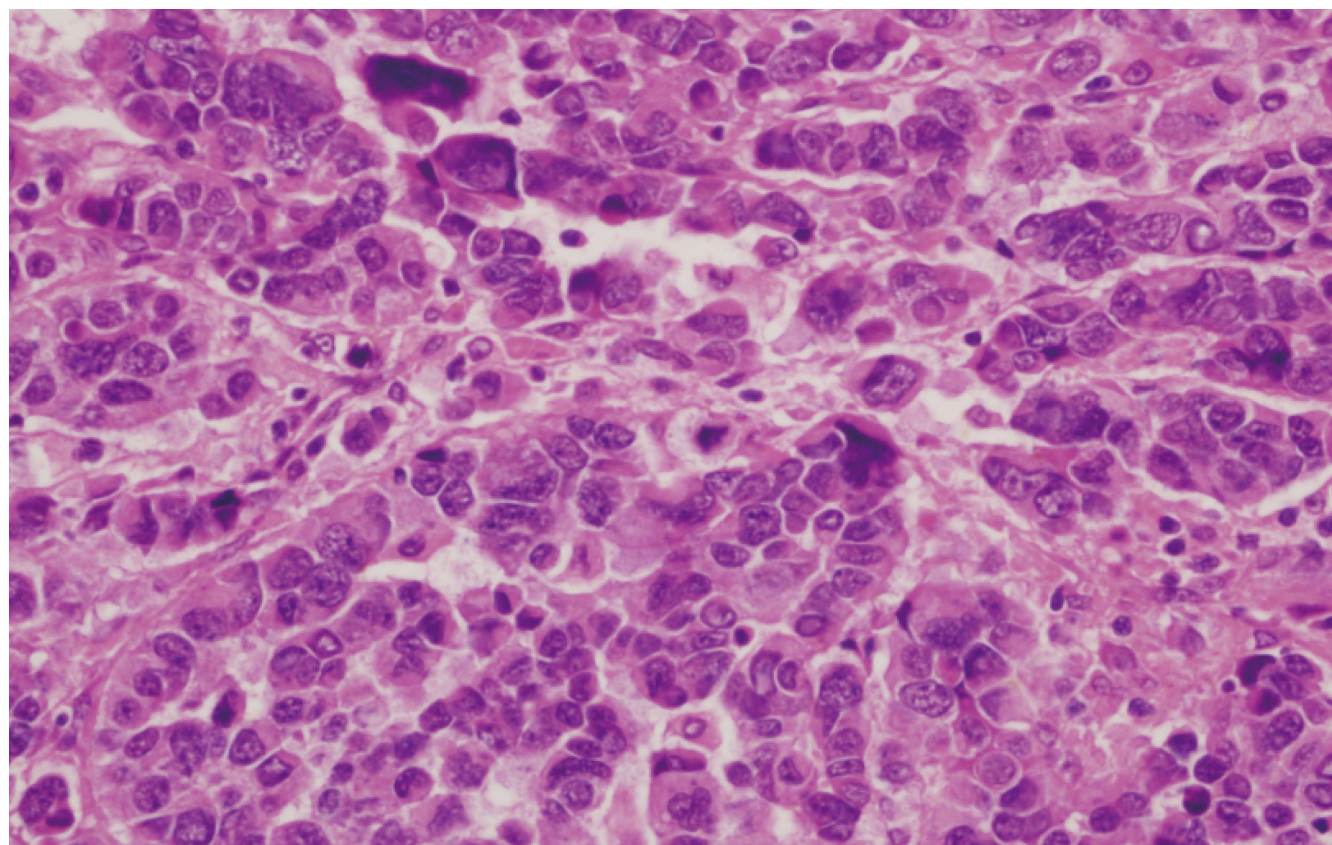


世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2014 年 8 月 8 日 第 22 卷 第 22 期 (Volume 22 Number 22)



22 / 2014

ISSN 1009-3079



《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被《Chemical Abstracts》，《EMBASE/Excerpta Medica》，《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》编辑委员会成员,由485位专家组成,分布在30个省市,自治区,特别行政区。其中,上海市81位、北京市71位、广东省40位、江苏省39位、辽宁省24位、陕西省22位、黑龙江省20位、湖北省18位、天津市16位、吉林省15位、湖南省14位、福建省13位、山东省13位、广西壮族自治区11位、河北省10位、四川省10位、浙江省10位、重庆市9位、安徽省8位、江西省8位、贵州省7位、新疆维吾尔自治区6位、云南省6位、海南省2位、河南省3位、甘肃省2位、宁夏回族自治区2位、山西省2位、内蒙古自治区1位和香港特别行政区1位。

总顾问

陈可冀教授
黄志强教授
纪小龙教授
王宝恩教授
王苑本教授
杨春波教授
杨思风教授
姚希贤教授
张万岱教授
周学文教授

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

白爱平副教授
白岚教授
卜平教授
陈国忠主任医师
陈洪刚教授
陈其奎教授
陈卫昌教授
陈贻胜教授
程斌教授
迟宝荣教授
崔立红教授
邓鑫教授
丁士刚教授
董蕾教授
杜雅菊主任医师
杜奕奇副教授
樊冬梅副主任医师
樊晓明教授

房静远教授
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
关玉盘教授
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
何松教授

洪天配教授
黄培林教授
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
金瑞教授
蓝宇教授
李淑德教授
李瑜元教授
李玉民教授
廖家智副主任医师

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
刘海林主任医师
刘亮明副教授
陆伦根教授
马红主任医师
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
倪润洲教授
欧希龙副教授
潘秀珍教授
潘阳林副教授
朴云峰教授

秦成勇教授
任粉玉教授
任建林教授
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

王邦茂教授
王炳元教授
王承党教授
王江滨教授
王蔚虹教授
王晓艳副教授
夏冰教授
夏时海副教授
徐灿霞教授
徐可树教授
杨建民教授
张国主任医师
姚树坤教授
张国梁主任医师
张军教授
张庆瑜教授
张小晋主任医师
张筱茵副教授
张志坚教授
郑培永教授
郑鹏远教授
郑素军副主任医师
郑勇教授
周国雄主任医师
周宇教授
邹晓平主任医师
诸琦教授
于珮主任医师

消化外科学

白雪副主任医师
白雪巍副主任医师
白玉作教授
蔡开琳副教授
蔡三军主任医师
曹杰主任医师

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
陈凜教授
陈汝福教授
陈亚军主任医师
陈钟教授
程爱国教授
程树群副教授
崔云甫教授
戴朝六教授
戴冬秋教授
丁义涛教授
杜顺达副教授
房林教授
傅红副教授
傅华群教授
傅思源副教授
傅晓辉副教授
傅志仁主任医师
高毅主任医师
葛海燕教授
巩鹏副教授
谷俊朝主任医师
顾国利副主任医师
顾岩教授
韩天权教授
郝纯毅主任医师
郝立强副教授
何超教授
何向辉教授
何晓顺教授
何裕隆教授
胡安斌副教授
黄志勇教授
季加孚教授
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
黎乐群教授
李革副教授
李国威教授
李华副教授
李华山主任医师

李升平教授
李胜研究员
李涛副主任医师
李文岗教授
李小荣教授
李旭副教授
李永翔教授
李正荣副教授
李志霞教授
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
刘建教授
刘亮副主任医师
刘颖斌主任医师
卢军华教授
陆云飞教授
禄韶英副教授
吕凌副教授
吕云福教授
麻勇研究员
齐清会教授
秦春宏副主任医师
秦华东教授
秦环龙教授
秦建民主任医师
邱伟华主任医师
仇毓东教授
崔清波副教授
单云峰主任医师
沈柏用副教授
施宝民教授
施诚仁教授
施晓雷副主任医师
石毓君研究员
宋新明教授
宋振顺教授
孙诚谊教授
孙文兵教授
孙星副教授
孙学英教授
邵升副教授
谭晓冬教授
汤朝晖副主任医师
汤绍涛教授
唐南洪教授

田晓峰教授
汪波主任医师
汪根树副教授
王道荣主任医师
王德盛副主任医师
王凤山教授
王刚副研究员
王健生教授
王蒙副教授
王石林主任医师
王文跃主任医师
王悦华副主任医师
王振宁教授
王铮副研究员
王正康教授
王志刚副主任医师
王忠裕教授
吴泰璜教授
伍晓汀教授
谢敏主任医师
徐迅迪教授
徐泱副主任医师
许戈良教授
许剑民教授
薛东波教授
杨柏霖副主任医师
杨桦教授
杨家和主任医师
杨银学教授
殷正丰教授
于聪慧教授
俞继卫副主任医师
于则利教授
禹正杨副教授
喻春钊教授
张必翔主任医师
张宏伟教授
张佳林教授
张进祥副教授
张俊副研究员
张力为副教授
张伟辉主任医师
赵刚副教授
赵青川主任医师
智绪亭教授
周伟平教授
周翔宇副主任医师
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
陈志辉副主任医师

丁惠国教授
范建高教授
范小玲主任医师
范学工教授
方今女教授
高润平教授
高泽立副教授
龚国忠教授
管世鹤副教授
郭永红副主任医师
胡国信主任医师
靳雪源主任医师
林潮双副教授
刘正稳教授
彭亮副主任医师
钱林学主任医师
孙殿兴主任医师
谭德明教授
汤华研究员
王建明副教授
王凯教授
王怡主任医师
吴君主任医师
宣世英教授
杨江华副教授
姚鹏副教授
张明辉副主任医师
张占卿主任医师
赵桂鸣主任医师
赵秀英副教授
周陶友副教授
周霞秋教授
朱传武教授
庄林主任医师

消化中医药学

陈治水主任医师
杜群副研究员
扈晓宇主任医师
黄恒青主任医师
李军祥教授
李康副教授
李晓波教授
李勇副教授
李振华教授
刘成海研究员
刘绍能主任医师
鲁玉辉副教授
南极星教授
牛英才研究员
谭周进教授
王富春教授
王来友副教授
王笑民主任医师

邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

曹秀峰教授
曹志成院士
代智副研究员
侯风刚副教授
江建新副主任医师
蒋敬庭教授
李苏宜教授
李瑗教授
刘宝瑞教授
刘炳亚研究员
刘平教授
刘云鹏教授
卢宁副主任医师
卢晓梅教授
朴龙镇副教授
沈克平主任医师
王阁教授
王锐副主任医师
吴建兵教授
向德兵副教授
肖文华主任医师
肖秀英副主任医师
谢丹教授
张凤春教授

消化影像学

白彬主任医师
官泳松教授
胡红杰主任医师
李健丁教授
龙学颖副主任医师
倪才方教授
魏经国教授
肖恩华教授
徐辉雄教授
严惟力副教授
杨薇副教授
赵卫主任医师

消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师
李家平教授
刘杰民副主任医师
茅爱武教授
孙明军教授
万军教授

吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

范恒教授
唐文富副教授
王学美研究员
魏睦新教授
杨钦河教授
袁建业副研究员
张春虎副教授
朱西杰教授

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
段义农教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
郭长江研究员
郭俊明教授
何红伟副研究员
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授
黄园教授
洪艳教授
李刚教授
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
刘长征副教授
刘克辛教授
刘森副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任超世研究员
任浩副教授
任晓峰副教授
邵华副主任药师
沈东炎副教授
沈涛副教授
斯坎德尔·白克力教授
台桂香教授
谭学瑞教授

汤静主管药师
滕旭副教授
田文静副教授
汪思应教授
王钦红教授
王书奎教授
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
徐健副主任医师
徐宁志研究员
许文燮教授
杨晓明教授
阴赓宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
曾柱教授
张红教授
张淑坤副研究员
赵平教授
赵铁建教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
朱益民教授
竺亚斌研究员

消化病理学

陈云昭副教授
邓昊副教授
杜祥教授
樊祥山副主任医师
郭炜教授
季菊玲副教授
李淳副教授
李晟磊副主任医师
刘丽江教授
刘勇钢副主任医师
门秀丽教授
莫发荣副教授
潘兴华副主任医师
王鲁平主任医师
王娅兰教授
颜宏利副教授
于颖彦教授
余宏宇教授
张锦生教授
赵春玲副教授
朱亮副教授

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2014年8月8日 第22卷 第22期 (总第462期)

基础研究

3185 低氧环境下merlin-1蛋白对胃癌细胞黏附能力及细胞骨架表达调节的影响

苏占海, 刘永年, 王荣华, 乔金婉, 解亚丽

3194 稳定沉默CD14胃腺癌SGC-7901细胞体系的构建

张涛, 曹火留, 罗淑娟, 郑东林, 陈远能

临床研究

3201 人粪便DNA甲基化对大肠癌的早期诊断价值

张虎, 朱尤庆, 吴亚琼, 张平, 江军, 袁林, 李静, 齐健

3208 雷贝拉唑、奥美拉唑、雷尼替丁分别联合阿莫西林和克拉霉素三联治疗消化性溃疡的临床效果

侯义林, 刘强

文献综述

3214 科学健康教育指导提高慢性胃炎临床防治效果的方法及意义

王晓鸽, 唐旭东, 王萍, 王凤云

3219 与胃癌侵袭转移相关的microRNA的研究进展

李道江, 张国阳, 揭志刚, 李正荣

3225 肝门胆管癌中IL-6与COX-2作用的研究进展

李志鹏, 曾兆林

3232 益生菌治疗重症急性胰腺炎的研究现状

谢凤梅, 张海蓉

3239 高迁移率族蛋白B1在溃疡性结肠炎中表达的研究进展

胡臻, 王小云, 龚镭, 吴高珏, 彭晓斌

3245 葡聚糖硫酸钠诱导结肠炎模型的研究进展

农辉, 黄雪

研究快报

3251 疏肝和胃汤对抑郁模型大鼠延髓、脊髓及胃黏膜组织5-羟色胺表达的影响

岳滢滢, 刘松林, 邢颖, 李明珠, 李家庚, 程方平

3259 红牛饮料对慢性酒精性肝损伤大鼠肝功能的保护作用

刘敏, 郑婷, 骆彦霏, 左常茜, 王海悦, 高凌峰

3264 调节性T细胞对小鼠肝纤维化的促进作用

张晓慧, 娄金丽, 白丽, 郑素军, 陈煜, 段钟平

3270 体外可调节胆汁淤积性肝纤维化动物模型的建立

冯雪姣, 陈震, 秦鸣放

3274 CCL21-CCR7诱导血管生成拟态形成在肝门部胆管癌微转移中的作用及机制

成雨, 欧琨, 朱文涛, 管清海, 林绪涛, 曹学峰, 陈雨信

3281 胃转流术对2型糖尿病大鼠的降糖作用及对血清二肽基肽酶-4和胰高血糖素样肽-1的影响

陈守坤, 孔燕, 张蓬波, 魏华, 张秀忠, 任泽强

临床经验

- 3286 食管癌再程放疗联合替吉奥的疗效评价
顾浩, 王鑫, 吴竞, 樊锐太, 石永刚
- 3291 胃神经内分泌瘤的临床病理特征及预后因素
徐海燕, 张志影, 任芳, 唐雷, 张凤春
- 3300 血清胃蛋白酶原测定在胃癌高危人群筛查中的系统评价
林剑勇, 黄赞松, 邓益斌
- 3307 胰岛素样生长因子-1及其受体在胃癌中的表达及临床意义
曹友红, 许春芳, 马平, 张晓琦
- 3316 腹腔镜胆囊切除术致高位胆管损伤的早期诊断及处理
蔡治方, 黄红兰, 兑丹华, 彭慈军, 赵礼金
- 3320 腹腔镜再次与首次胆道手术治疗肝外胆管结石的疗效比较
梅永, 彭慈军, 朱洪江, 舒德军, 李雄雄, 李伟男
- 3325 中度急性胰腺炎红细胞压积的变化意义
郭志国, 王龙, 辛毅
- 3330 清胰汤治疗急性胰腺炎的机制及其临床效果
杨英碧, 李玲, 陈金春, 熊韦韦, 陈祥
- 3335 双气囊小肠镜对小肠间质瘤的诊断价值
杨波, 毛高平, 宁守斌, 朱鸣
- 3340 地佐辛-丙泊酚与芬太尼-丙泊酚在无痛肠镜麻醉中的效果
杨云, 王亚杰, 梁辉, 邓仕坤, 张袭凤
- 3344 莎尔福联合有益菌种对UC的效应及其机制
刘萍, 孙亮, 张振海, 张鹏, 张鉴
- 3349 同期手术与分期手术治疗同时性结直肠癌肝转移疗效及安全性的荟萃分析
王波, 钱叶本, 金雯, 宋新跃, 刘月琴
- 3356 血浆miR-1290在结直肠癌中的表达及临床意义
徐学虎, 李勇, 江庆萍, 陈戎, 李志发, 刘海波, 黎淑玲, 伍尚标
- 3361 伴气腹征的原发性腹膜炎诊治18例
王大禹, 魏锋, 陈鹰
- 3365 缺血性脑卒中后便秘相关因素的分析评价及护理
黄萍, 张彩艳

病例报告

- 3369 胃后壁间质瘤误诊为黄体破裂1例
杨丹, 黄成龙, 邓明明

附 录	I - V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2014年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	3193 《世界华人消化杂志》出版流程 3213 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 3218 《世界华人消化杂志》修回稿须知 3258 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 3269 《世界华人消化杂志》正文要求 3299 《世界华人消化杂志》外文字符标准 3334 百世登出版集团推出12种开放获取生物医学期刊全部被PubMed和PMC收录 3339 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 3364 《世界华人消化杂志》参考文献要求
封面故事	徐海燕, 张志影, 任芳, 唐雷, 张凤春. 胃神经内分泌瘤的临床病理特征及预后因素. 世界华人消化杂志 2014; 22(22): 3291-3299 http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3291.asp http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3291
本期责任人	编务 李香; 送审编辑 闫晋利, 都珍珍; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范审核编辑部主任 郭鹏; 最终清样审核总编 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 2014-08-08

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, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

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: 18311378628

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc
8226 Regency Drive, Pleasanton,
CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,
远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

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

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

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

World Chinese Journal of Digestology

August 2014 Contents in Brief Volume 22 Number 22

BASIC RESEARCH	<p>3185 Regulatory effect of merlin-1 on adhesion/metastasis and cytoskeleton remodeling in gastric cancer cells under hypoxia <i>Su ZH, Liu YN, Wang RH, Qiao JW, Xie YL</i></p> <p>3194 Construction of a gastric cancer cell line with stably silenced expression of CD14 <i>Zhang T, Cao HL, Luo SJ, Zheng DL, Chen YN</i></p>
CLINICAL RESEARCH	<p>3201 Value of fecal DNA methylation analysis in early diagnosis of colorectal cancer <i>Zhang H, Zhu YQ, Wu YQ, Zhang P, Jiang J, Yuan L, Li J, Qi J</i></p> <p>3208 Clinical effects of rabeprazole, omeprazole or ranitidine combined with amoxicillin and clarithromycin in treatment of peptic ulcer <i>Hou YL, Liu Q</i></p>
REVIEW	<p>3214 Health education and guidance improve preventive and therapeutic effects on chronic gastritis <i>Wang XG, Tang XD, Wang P, Wang FY</i></p> <p>3219 MicroRNAs related to invasiveness and metastasis of gastric cancer <i>Li DJ, Zhang GY, Jie ZG, Li ZR</i></p> <p>3225 Interleukin-6 and cyclooxygenase-2 in hilar cholangiocarcinoma <i>Li ZP, Zeng ZL</i></p> <p>3232 Probiotics in treatment of severe acute pancreatitis <i>Xie FM, Zhang HR</i></p> <p>3239 Expression of high mobility group box 1 protein in ulcerative colitis <i>Hu Z, Wang XY, Gong L, Wu GJ, Peng XB</i></p> <p>3245 Murine model of dextran sodium sulfate induced ulcerative colitis <i>Nong H, Huang X</i></p>
RAPID COMMUNICATION	<p>3251 Effect of Shugan Hewei decoction on expression of 5-hydroxytryptamine in the medulla oblongata, spinal cord and gastric mucosa of depression rats <i>Yue YY, Liu SL, Xing Y, Li MZ, Li JG, Cheng FP</i></p> <p>3259 Protective effect of Red Bull drinks against chronic alcoholic injury in rats <i>Liu M, Zheng T, Luo YF, Zuo CQ, Wang HY, Gao LF</i></p> <p>3264 Regulatory T cells promote liver fibrosis in mice <i>Zhang XH, Lou JL, Bai L, Zheng SJ, Chen Y, Duan ZP</i></p> <p>3270 Establishment of an <i>in vitro</i> adjustable cholestatic liver fibrosis animal model <i>Feng XJ, Chen Z, Qin MF</i></p> <p>3274 Role and mechanism of vasculogenic mimicry induced by CCL21-CCR7 in micrometastasis of hilar cholangiocarcinoma <i>Cheng Y, Ou K, Zhu WT, Guan QH, Lin XT, Cao XF, Chen YX</i></p> <p>3281 Hypoglycemic effect of gastric bypass operation in type 2 diabetes rats: Influence on dipeptidyl peptidase-IV and glucagon-like peptide-1 <i>Chen SK, Kong Y, Zhang PB, Wei H, Zhang XZ, Ren ZQ</i></p>

CLINICAL PRACTICE

- 3286 Therapeutic effects of re-radiotherapy combined with S-1 in treatment of recurrent esophageal carcinoma
Gu H, Wang X, Wu J, Fan RT, Shi YG
- 3291 Clinicopathological characteristics and prognostic factors of gastric neuroendocrine carcinoma
Xu HY, Zhang ZY, Ren F, Tang L, Zhang FC
- 3300 Meta-analysis on validity of serum pepsinogen measurement for mass screening of gastric carcinoma in the high-risk population
Lin JY, Huang ZS, Deng YB
- 3307 Clinical significance of expression of IGF-1R and IGF-1 in gastric cancer
Cao YH, Xu CF, Ma P, Zhang XQ
- 3316 Early diagnosis and treatment of high bile duct damage caused by laparoscopic gallbladder excision
Cai ZF, Huang HL, Dui DH, Peng CJ, Zhao LJ
- 3320 Efficacy of reoperation vs first operation of the biliary tract by laparoscopy in patients with choledocholithiasis
Mei Y, Peng CJ, Zhu HJ, Shu DJ, Li XX, Li WN
- 3325 Hematocrit for early assessment of acute pancreatitis
Guo ZG, Wang L, Xin Y
- 3330 Therapeutic effects of Qingyi decoction against severe acute pancreatitis
Yang YB, Li L, Chen JC, Xiong WW, Chen X
- 3335 Value of double balloon endoscopy in diagnosis of small intestinal stromal tumors
Yang B, Mao GP, Ning SB, Zhu M
- 3340 Clinical effects of dezocine plus propofol vs fentanyl plus propofol in painless colonoscopy
Yang Y, Wang YJ, Liang H, Deng SK, Zhang XF
- 3344 Clinical efficacy of Salofalk combined with beneficial bacteria in patients with ulcerative colitis
Liu P, Sun L, Zhang ZH, Zhang P, Zhang J
- 3349 Efficacy and safety of simultaneous vs staged operation for synchronous colorectal liver metastases: A meta-analysis
Wang B, Qian YB, Jin W, Song XY, Liu YQ
- 3356 Clinical significance of plasma miR-1290 in colorectal cancer
Xu XH, Li Y, Jiang QP, Chen R, Li ZF, Liu HB, Li SL, Wu SB
- 3361 Diagnosis and treatment of primary peritonitis with signs of pneumoperitoneum: Analysis of 18 cases
Wang DY, Wei F, Chen Y
- 3365 Constipation after ischemic stroke: Risk factors and nursing measures
Huang P, Zhang CY

CASE REPORT

- 3369 Gastric stromal tumor misdiagnosed as rupture of the corpus luteum: A case report
Yang D, Huang CL, Deng MM

APPENDIX	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2014
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
COVER	<i>Xu HY, Zhang ZY, Ren F, Tang L, Zhang FC.</i> Clinicopathological characteristics and prognostic factors of gastric neuroendocrine carcinoma. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2014; 22(22): 3291-3299 http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3291.asp http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3291
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: <i>Xiang Li</i> Review Editor: <i>Jin-Li Yan, Zhen-Zhen Du</i> Electronic Page Editor: <i>Jin-Li Yan</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Peng Guo</i> Proof Editor: <i>Peng Guo</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

Indexed/Abstracted by Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica, Abstract Journals and Digital Object Identifier

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date August 8, 2014

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, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathol

ogy, 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, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, 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 18311378628
Fax: +86-10-85381893
E-mail: wcjd@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

© 2014 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, and 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.

低氧环境下merlin-1蛋白对胃癌细胞黏附能力及细胞骨架表达调节的影响

苏占海, 刘永年, 王荣华, 乔金婉, 解亚丽

苏占海, 刘永年, 青海大学医学院基础医学部 青海省西宁市 810001

王荣华, 青海大学附属医院肿瘤放疗科 青海省西宁市 810001

乔金婉, 解亚丽, 青海大学研究生院 青海省西宁市 810016
苏占海, 博士研究生, 副教授, 主要从事肿瘤侵袭转移的分子机制和中药抗肿瘤机制的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81160259

青海省自然科学基金资助项目, No. 2013-Z-907

青海省应用基础研究基金资助项目, No. 2013-Z-726

作者贡献分布: 本课题主要由苏占海与刘永年设计; 研究过程由苏占海、王荣华、乔金婉及解亚丽实施并完成; 数据分析由刘永年与苏占海完成; 论文写作由苏占海完成。

通讯作者: 苏占海, 副教授, 博士研究生, 810001, 青海省西宁市昆仑路16号, 青海大学医学院基础医学部。

suzhanhai@gmail.com

电话: 0971-8227920

收稿日期: 2014-04-11 修回日期: 2014-06-06

接受日期: 2014-06-11 在线出版日期: 2014-08-08

Regulatory effect of merlin-1 on adhesion/metastasis and cytoskeleton remodeling in gastric cancer cells under hypoxia

Zhan-Hai Su, Yong-Nian Liu, Rong-Hua Wang, Jin-Wan Qiao, Ya-Li Xie

Zhan-Hai Su, Yong-Nian Liu, Basic Medical Science Department, Qinghai University Medical College, Xining 810001, Qinghai Province, China

Rong-Hua Wang, Cancer Radiation Oncology Department, Affiliated Hospital of Qinghai University, Xining 810001, Qinghai Province, China

Jin-Wan Qiao, Ya-Li Xie, Graduate College of Qinghai University, Xining 810016, Qinghai Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81160259; Natural Science Foundation of Qinghai Province, No. 2013-Z-907; Applied Basic Research Foundation of Qinghai Province, No. 2013-Z-726

Correspondence to: Zhan-Hai Su, Associate Professor, Basic Medical Science Department, Qinghai University Medical College, 16 Kunlun Road, Xining 810001, Qinghai Province, China. suzhanhai@gmail.com

Received: 2014-04-11 Revised: 2014-06-06

Accepted: 2014-06-11 Published online: 2014-08-08

Abstract

AIM: To investigate the regulatory effect of merlin-1 on cell proliferation, adhesion/metastasis and cytoskeleton remodeling in gastric cancer

cells under hypoxia from Qinghai Han-, Hui- and Tibetan-ethnic patients, and to study if the function of merlin-1 in different ethnic groups is related to ethnic specificity under normoxic or hypoxic conditions.

METHODS: MTT assay was used to analyze the influence of merlin-1 on the cell proliferation, adhesion/metastasis and motility, and immunofluorescence staining was performed to detect cytoskeleton remodeling, morphological changes, and the distribution of microvilli on the surface of gastric cancer cells from Han-, Hui- and Tibetan-ethnic patients. In addition, we explored whether the function of merlin-1 in different ethnic groups is correlated with ethnic specificity under normoxic or hypoxic conditions.

RESULTS: The proliferation of gastric cancer cells from Han-, Hui- and Tibetan-ethnic groups was inhibited by merlin-1 under both normoxic and conditions ($P_{\text{normoxic}} = 0.00, 0.00, 0.00$; $P_{\text{hypoxic}} = 0.00, 0.00, 0.00$), and the influence of merlin-1 on cancer cell proliferation was not related to ethnic specificity ($P_{\text{normoxic}} > 0.05$; $P_{\text{hypoxic}} > 0.05$). The results of adhesion/metastasis analysis showed that merlin-1 inhibited the adhesion/metastasis ability of gastric cancer cells from Han-, Hui- and Tibetan-ethnic groups under both normoxic and hypoxic conditions ($P_{\text{normoxic}} = 0.00, 0.00, 0.00$; $P_{\text{hypoxic}} = 0.00, 0.00, 0.00$), and the inhibitory effect of merlin-1 in three ethnic groups showed no significant differences [$P_{\text{normoxic}} = 0.51$ (3 h), 0.07 (48 h); $P_{\text{hypoxic}} = 0.47$ (3 h), 0.17 (48 h)]. By detection of cytoskeleton remodeling, morphological change and microvilli distribution, it was found that merlin-1 enhanced cytoskeleton remodeling under hypoxic conditions compared with normoxic conditions.

CONCLUSION: Merlin-1 can inhibit the proliferation and adhesion/metastasis of gastric cancer cells under both hypoxic and normoxic conditions, which is independent on the ethnicity of patients from whom gastric cancer cells

■背景资料

肿瘤恶性增殖时其微环境处于“缺氧”状态,这并不影响肿瘤的恶性增殖和扩散转移,但是肿瘤在缺氧条件下,如何继续保持恶性增殖和扩散转移的能力,并未研究清楚。Merlin蛋白,不但是抑癌基因神经纤维瘤病Ⅱ型(neurofibromatosis type 2, NF2)的产物,而且merlin还参与细胞骨架重组、细胞极化和细胞侵袭等功能,这些主要功能和肿瘤的侵袭、扩散有极为密切的关系。因此理解merlin蛋白在肿瘤黏附、侵袭过程中的具体机制和信号途径就较为重要。

■同行评议者

蒋敬庭, 教授, 常州市第一人民医院(苏州大学附属第三医院)肿瘤生物诊疗中心

■ 研发前沿

小RhoGTP(Ras homologue GTP) 激酶家族诱导的细胞信号途径在肌动蛋白骨架重组领域扮演重要作用, 研究发现merlin蛋白可以和RhoGTP激酶途径中的蛋白RhoGDI(Rho guanine nucleotide dissociation inhibitor)在体外可以相互整合/融合, 因此merlin及4.1蛋白结构域(four.1 protein, Ezrin, Radixin, Moesin, FERM)结构域在RhoGTP激酶诱导的信号途径中扮演何种角色, 是目前研究的热点之一。

are obtained. However, merlin-1 enhances cytoskeleton remodeling under hypoxic conditions.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Merlin-1; Hypoxia; Cell proliferation; Cell adhesion; Metastasis; Gastric cancer cells

Su ZH, Liu YN, Wang RH, Qiao JW, Xie YL. Regulatory effect of merlin-1 on adhesion/metastasis and cytoskeleton remodeling in gastric cancer cells under hypoxia. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(22): 3185-3193 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3185.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3185>

摘要

目的: 研究低氧条件下, merlin-1蛋白对汉族、回族和藏族胃癌细胞增殖、黏附能力及细胞骨架表达的调节作用, 同时比较常氧或低氧条件下, merlin-1蛋白的作用是否具有民族特异性。

方法: 用MTT方法检测常氧或低氧条件下, merlin对回族、藏族和汉族胃癌原代细胞增殖及黏附、侵移的影响; 免疫荧光染色法检测常氧或低氧条件下merlin对汉族、回族和藏族胃癌细胞骨架、细胞形态及细胞表面微绒毛表达的影响。同时分析merlin在常氧或低氧条件下的影响作用是否具有民族特异性。

结果: 常氧或低氧条件下, merlin-1蛋白均对汉族($P_{\text{常氧}} = 0.00$, $P_{\text{低氧}} = 0.00$)、回族($P_{\text{常氧}} = 0.00$, $P_{\text{低氧}} = 0.00$)和藏族($P_{\text{常氧}} = 0.00$, $P_{\text{低氧}} = 0.00$)胃癌细胞增殖均有明显的抑制作用, 但merlin-1对不同民族胃癌细胞增殖的抑制作用无民族特异性($P_{\text{常氧}} > 0.05$, $P_{\text{低氧}} > 0.05$)。黏附能力检测结果显示, 在常氧及低氧条件下merlin-1蛋白对汉族($P_{\text{常氧}} = 0.00$, $P_{\text{低氧}} = 0.00$)、回族($P_{\text{常氧}} = 0.00$, $P_{\text{低氧}} = 0.00$)和藏族($P_{\text{常氧}} = 0.00$, $P_{\text{低氧}} = 0.00$)胃癌细胞黏附能力均有抑制作用, 且抑制能力亦无民族特异性 [$P_{\text{常氧}} = 0.51(3 \text{ h})$ 、 $0.07(48 \text{ h})$, $P_{\text{低氧}} = 0.47(3 \text{ h})$ 、 $0.17(48 \text{ h})$]。在对细胞骨架、细胞形态变化及细胞微绒毛表达实验中, 观察到merlin-1在低氧条件下可加强细胞骨架表达。

结论: 低氧条件对merlin-1抑制回族、藏族和汉族胃癌细胞增殖能力无明显影响, 且merlin-1蛋白对胃癌细胞的抑制能力无论在常氧或低氧条件下, 均无民族特异性。merlin蛋白在低氧条件下对胃癌细胞骨架表达有促进作用。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: Merlin-1; 低氧; 细胞增殖; 细胞黏附; 细胞侵移; 胃癌细胞

核心提示: 利用胃癌原代细胞, 发现merlin蛋白在低氧条件下对胃癌细胞增殖、黏附能力及细胞骨架表达均有明显的调节作用, 但是回族、汉族和藏族之间无论常氧还是低氧条件, 均无显著性差异。暗示肿瘤在相对缺氧条件下, 可能通过相应的细胞信号途径来调节自身的增殖和扩散侵移行为。

苏占海, 刘永年, 王荣华, 乔金婉, 解亚丽. 低氧环境下merlin-1蛋白对胃癌细胞黏附能力及细胞骨架表达调节的影响. *世界华人消化杂志* 2014; 22(22): 3185-3193 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3185.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3185>

0 引言

肿瘤在增殖过程中由于实体瘤增长导致缺氧, 这种微环境的“低氧”状态并未阻止肿瘤继续增殖和侵移的行为^[1-6], 如在结肠癌中发现整合素连接激酶(integrin-linked kinase, ILK)在低氧环境下可促进肿瘤增殖和侵移^[7-11]。肿瘤细胞通过细胞骨架重组、细胞极化和改变黏附能力来增强自身向周围细胞、组织和器官的侵移能力, 而与细胞骨架重组有密切关系的默林(merlin)蛋白在这一过程中起重要作用^[12-16]。Merlin在其N端有一共同保守结构域4.1蛋白结构域(four.1 protein, Ezrin, Radixin, Moesin, FERM), 因此属于4.1蛋白家族。Merlin蛋白丢失、突变或活性被抑制, 将会导致中枢神经系统相关肿瘤的发生, 如神经鞘瘤、间皮瘤或脑膜瘤的发生^[17-20]。Merlin蛋白存在两种主要异构体, 即merlin-1与merlin-2, 前者具有抑癌基因蛋白功能^[18-21]。在低氧环境下肿瘤细胞增殖和侵移、细胞骨架等如何变化及调节, 目前并未研究阐明清楚。本研究拟探讨低氧条件下, merlin-1对青海回族、藏族和汉族胃癌原代细胞增殖与黏附的影响, 同时分析这种影响或变化是否具有民族差异性, 以及对细胞骨架的调节作用, 最终为胃癌早期诊断、治疗和胃癌发病分子机制提供重要的实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料 青霉素/链霉素双抗(10 mg/mL)购自上海生工生物公司, PRMI 1640细胞培养液(高

糖)、胰酶、HEPES缓冲液、胎牛血清、Lipofectamine 2000购自英国Invitrogen公司, MTT购自北京碧云天生物公司, 倒置显微镜购自麦克奥迪公司, Olympus IX71免疫荧光显微镜购自日本Olympus公司, 落地式离心机购自湖南湘仪离心机公司, iMark全波长酶标仪购自美国Bio-rad公司, 超净工作台购自美国Thermo公司, 三气培养箱购自上海力康公司、四型胶原酶购自美国Gibco公司、胃癌组织成纤维抑制剂购自美国CHI Scientific公司.

1.2 方法

1.2.1 胃癌原代细胞培养: 胃癌患者术后新鲜组织块, 用机械方式迅速剪碎之浆糊状态, 随即加入200 U/mL四型胶原酶在37 °C孵育细胞2 h, 用缓冲液进行离心收集细胞沉淀, 弃掉上清液, 加入细胞培养液PRMI 1640(含10%胎牛血清、5% HEPES、5%青霉素/链霉素双抗)进行培养, 24 h后, 更换为内含胃癌组织成纤维抑制剂培养液继续培养. 低氧培养条件为, 用三气培养箱在50 mL/L CO₂、10 mL/L O₂和950 mL/L N₂条件下进行培养. 胃癌原代细胞一般需要生长5-7代后才能获得足够细胞用于实验.

1.2.2 MTT检测细胞增殖: 将对数生长期胃癌原代细胞根据民族来源不同, 以 1×10^5 /mL均匀接种于96孔培养板, 每组设3个复孔. 24 h培养后, 利用Lipofectamine 2000将100 ng/mL pcDNA3.1⁺-merlin-1重组质粒转染到细胞内. 共接种5块培养板, 分别培养相应的时间段. 常氧或低氧条件下培养6、12、24、48和72 h后, 将5 g/L MTT溶液20 μ L加入, 37 °C培养4 h, 之后加入150 μ L DMSO, 震荡混匀10 min, 在酶标仪波长492 nm处检测, 实验重复3次. 以3个复孔转染空白pcDNA3.1⁺质粒载体作为对照组. 利用结果分析常氧或低氧条件对回族、藏族及汉族胃癌细胞增殖的影响, 同时分析三者之间是否具有显著差异性.

1.2.3 细胞黏附侵移实验: 基底膜基质包埋的96-孔板被用于细胞基质黏附能力检测实验, 首先加入50 μ L未含胎牛血清PRMI 1640培养液, 并在37 °C孵育30 min, 然后根据民族来源不同将相应的300 μ L细胞悬浮液(1×10^5 cells/mL)接种于板中, 培养12 h后利用Lipofectamine 2000转染相应的重组质粒pcDNA3.1⁺-merlin-1以及对照载体pcDNA3.1⁺, 并将细胞在37 °C常氧及低氧条件下分别培养3和48 h, 利用MTT方

法检测细胞黏附能力转染. 利用结果分析常氧或低氧条件对回族、藏族及汉族胃癌细胞黏附侵移的影响, 同时分析三者之间是否具有显著差异性.

1.2.4 免疫荧光标志: 培养的细胞生长到相应对数期后, 分离到内含有细胞爬片的6孔培养板中, 24 h后, 用Lipofectamine 2000将重组质粒载体pcDNA3.1⁺-merlin-1按照300 ng/mL浓度导入胃癌原代细胞内, 培养48 h后, 将培养液吸去, PBS清洗2次, 用4 g/L甲醛固定液进行固定, 1:200稀释一抗(actin抗体), 在室温孵育细胞2 h, 之后用PBS清洗2次, 立刻用稀释好的二抗室温孵育2 h. 细胞再次用PBS清洗2次后, 立刻用荧光标志物孵育细胞5 min(避光), 之后用PBS清洗、并将片子固定后, 用Olympus IX71荧光显微镜进行观察, 并记录.

统计学处理 实验数据为计量资料, 均以mean \pm SD描述, 两组间比较采用 t 检验, 多组间比较采用方差分析, 多组间两两比较采用LSD, 运用SPSS17.0统计软件包进行统计分析, 检验水准 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 差异有统计学意义.

2 结果

2.1 Merlin对回族、藏族及汉族胃癌原代细胞增殖的影响 MTT实验结果表明, 和未转染组相比, merlin-1蛋白在24、48、72 h对汉族($P_{\text{常氧}} = 0.00$)、回族($P_{\text{常氧}} = 0.00$)和藏族($P_{\text{常氧}} = 0.00$)胃癌细胞具有一定抑制作用(表1-3, 图1A); 常氧条件下, merlin-1蛋白对细胞增殖的影响在回族、藏族和汉族胃癌细胞中差异无统计学意义(表4). 在低氧条件下细胞在48 h和72 h发现转染merlin-1后对汉族($P_{\text{常氧}} = 0.00$)、回族($P_{\text{常氧}} = 0.00$)和藏族($P_{\text{常氧}} = 0.00$)胃癌细胞增殖具有抑制作用(表5-7, 图1B). 和常氧环境比较, 低氧条件下merlin-1蛋白对汉族($P_{\text{低氧}} > 0.05$)、回族($P_{\text{低氧}} > 0.05$)和藏族($P_{\text{低氧}} > 0.05$)的抑制能力也无显著加强(表8).

2.2 Merlin蛋白对回族、藏族和汉族胃癌细胞黏附侵移的影响 根据细胞基质黏附能力检测实验发现, 胃癌细胞转染merlin-1重组质粒48 h后显示, merlin-1蛋白在常氧及低氧条件下均对汉族($P_{\text{常氧}} = 0.00$, $P_{\text{低氧}} = 0.00$)、回族($P_{\text{常氧}} = 0.00$, $P_{\text{低氧}} = 0.00$)和藏族($P_{\text{常氧}} = 0.00$, $P_{\text{低氧}} = 0.00$)胃癌细胞的黏附能力具有抑制作用(表9, 10, 图2), 且常氧及低氧条件对merlin-1在细胞黏附作用中影响

■ 相关报道

merlin蛋白基因在许多肿瘤中发现其外显子有突变发生, 这种突变导致merlin蛋白无法行使正常的肿瘤抑制功能, 最终导致肿瘤恶性增殖. merlin蛋白在Ser518位的磷酸化/去磷酸化过程是调节其功能的重要步骤之一, 并且发现merlin可以和4.1蛋白家族成员ezrin结合, 后者通过肌动蛋白骨架系统可以将质膜信息传递到细胞内.

■创新盘点

本实验首次模拟低氧条件,探讨merlin蛋白在低氧条件下对肿瘤细胞增殖、黏附能力及细胞骨架表达的影响。

表 1 在常氧条件下merlin-1蛋白对汉族胃癌细胞增殖的影响 (mean \pm SD, $n = 5$)

分组	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h
对照组	61 \pm 1.60	72 \pm 2.00	90 \pm 1.20	116 \pm 1.20	129 \pm 1.90
转染组	63 \pm 1.00	71 \pm 1.00	75 \pm 1.40	84 \pm 1.20	82 \pm 2.00
<i>t</i> 值	2.37	1.00	18.19	42.16	38.10
<i>P</i> 值	0.05	0.35	0.00	0.00	0.00

表 2 在常氧条件下merlin-1蛋白对回族胃癌细胞增殖的影响 (mean \pm SD, $n = 5$)

分组	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h
对照组	59 \pm 4.00	71 \pm 1.10	88 \pm 1.00	119 \pm 2.00	127 \pm 3.00
转染组	61 \pm 2.60	70 \pm 1.30	75 \pm 1.20	86 \pm 1.60	82 \pm 2.00
<i>t</i> 值	0.94	1.31	18.61	28.81	27.91
<i>P</i> 值	0.38	0.23	0.00	0.00	0.00

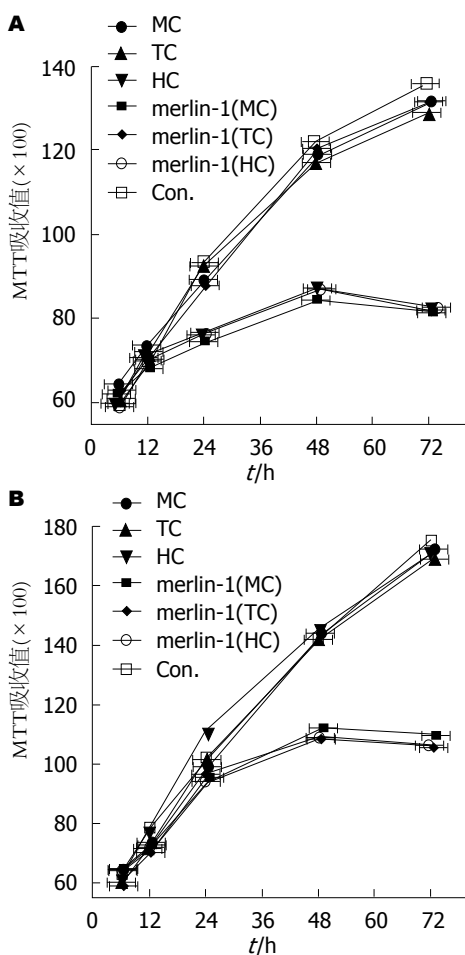


图 1 merlin-1蛋白对胃癌细胞增殖的影响。A: 常氧; B: 低氧。MC: 回族胃癌细胞; TC: 藏族胃癌细胞; HC: 汉族胃癌细胞; Con.: 空质粒对照。

不大,且不同民族之间差异无统计学意义 [$P_{\text{常氧}} = 0.51(3 \text{ h})$, $P_{\text{常氧}} = 0.07(48 \text{ h})$, $P_{\text{低氧}} = 0.47(3 \text{ h})$, $P_{\text{低氧}}$

$= 0.17(48 \text{ h})$](表9, 10)。

2.3 Merlin对胃癌原代细胞骨架的影响 免疫荧光标志实验结果显示,相对于merlin-1转染细胞及常氧转染细胞,转染merlin-1的细胞在低氧培养后显示出细胞微绒毛增多细胞发生极化、细胞骨架更加密集且明显,说明低氧环境可能会促进merlin-1对细胞骨架和微绒毛的表达(图3)。

3 讨论

有研究者^[22-24]在2012年发现,肿瘤在增殖过程中由于实体瘤增长导致缺氧,从而诱导细胞内糖酵解途径进行供能,这使得能量转换效率降低,肿瘤细胞更加处于“饥饿或缺能”状态,为保证肿瘤持续增殖将进行血管增生以便保证供能,从而进入肿瘤恶性增殖循环状态。本研究显示,merlin-1蛋白在常氧条件下对回族、藏族和汉族胃癌细胞增殖、细胞黏附侵移能力有明显抑制能力($P < 0.05$),而低氧环境下merlin-1对汉族、藏族及回族胃癌细胞增殖、黏附侵移的抑制能力与常氧条件下相比,没有显著性变化($P > 0.05$)。因merlin蛋白发生突变、缺失或失活将会导致中枢神经系统相关肿瘤的发生,如神经鞘瘤、间皮瘤或脑膜瘤的发生。同时许多肿瘤的发生与merlin蛋白基因发生突变相关,如宫颈鳞状细胞癌、乳腺癌、非小细胞肺癌和胰腺癌等肿瘤^[25-30]。在前期研究中,发现相对于正常组织,在青海回族、藏族和汉族胃癌组织中merlin基因神经纤维瘤病II型(neurofibroma-

表 3 在常氧条件下merlin-1蛋白对藏族胃癌细胞增殖的影响 (mean \pm SD, $n = 5$)

分组	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h
对照组	59 \pm 2.00	73 \pm 1.10	89 \pm 1.50	117 \pm 2.10	128 \pm 2.00
转染组	61 \pm 2.30	72 \pm 1.00	76 \pm 1.70	85 \pm 2.00	83 \pm 2.00
<i>t</i> 值	1.47	1.50	12.82	24.67	35.58
<i>P</i> 值	0.18	0.17	0.00	0.00	0.00

表 4 在常氧条件下merlin-1蛋白对汉族、回族及藏族胃癌细胞增殖的影响相互比较 (mean \pm SD, $n = 5$)

分组	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h
Han(-)	61 \pm 1.6	72 \pm 2	90 \pm 1.2	116 \pm 1.2	129 \pm 1.9
Hui(-)	59 \pm 4	71 \pm 1.1	88 \pm 1	119 \pm 2	127 \pm 3
Tibetan(-)	59 \pm 2.00	73 \pm 1.1	89 \pm 1.5	117 \pm 2.1	128 \pm 2
<i>F</i> 值	0.87	2.34	3.20	3.55	0.90
<i>P</i> 值	0.44	0.14	0.08	0.06	0.43
Han(+)	63 \pm 1	71 \pm 1	75 \pm 1.4	84 \pm 1.2	82 \pm 2
Hui(+)	61 \pm 2.6	70 \pm 1.3	75 \pm 1.2	86 \pm 1.6	82 \pm 2
Tibetan(+)	61 \pm 2.3	72 \pm 1	76 \pm 1.7	85 \pm 2	83 \pm 2
<i>F</i> 值	1.53	4.07	0.80	1.88	0.42
<i>P</i> 值	0.26	0.05	0.47	0.20	0.67

-: 无merlin-1转染对照组; +: merlin-1转染组.

表 5 在低氧条件下merlin-1蛋白对汉族胃癌细胞增殖的影响 (mean \pm SD, $n = 5$)

分组	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h
对照组	63 \pm 1.60	77 \pm 2.00	95 \pm 2.10	141 \pm 3.00	170 \pm 2.00
转染组	62 \pm 1.00	75 \pm 1.00	96 \pm 1.30	114 \pm 2.10	108 \pm 2.00
<i>t</i> 值	1.19	2.00	0.91	16.48	56.13
<i>P</i> 值	0.27	0.08	0.39	0.00	0.00

表 6 在低氧条件下merlin-1蛋白对回族胃癌细胞增殖的影响 (mean \pm SD, $n = 5$)

分组	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h
对照组	61 \pm 4.00	75 \pm 1.00	93 \pm 1.80	141 \pm 3.00	172 \pm 4.00
转染组	62 \pm 2.60	76 \pm 1.00	95 \pm 1.20	113 \pm 2.00	109 \pm 3.00
<i>t</i> 值	0.47	1.58	2.07	17.36	28.17
<i>P</i> 值	0.65	0.15	0.07	0.00	0.00

表 7 在低氧条件下merlin-1蛋白对藏族胃癌细胞增殖的影响 (mean \pm SD, $n = 5$)

分组	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h
对照组	63 \pm 2.00	76 \pm 1.60	95 \pm 2.00	142 \pm 1.30	168 \pm 3.20
转染组	62 \pm 2.30	76 \pm 1.20	96 \pm 2.10	115 \pm 1.50	107 \pm 2.30
<i>t</i> 值	0.73	0.00	0.77	30.42	34.61
<i>P</i> 值	0.48	1.00	0.46	0.00	0.00

■应用要点

肿瘤恶性增殖可以通过外科手术进行处理, 但是其扩散侵移就容易导致严重后果. 理解和掌握肿瘤黏附、扩散和侵移的具体分子机制, 对临床应用提供重要的指导. merlin不但具有抑癌作用, 而且还参与调解细胞黏附和侵移活动, 因此深入研究其在肿瘤增殖、扩散侵移中的作用, 对肿瘤扩散的预防、治疗提供重要的实验依据.

同行评价

本实验对理解肿瘤侵移、扩散的机制有重要意义。

表 8 在低氧条件下merlin-1蛋白对汉族、回族和藏族胃癌细胞增殖的影响相互比较 (mean \pm SD, $n = 5$)

分组	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h
Han(-)	63 \pm 1.6	77 \pm 2	95 \pm 2.1	141 \pm 3	170 \pm 2
Hui(-)	61 \pm 4	75 \pm 1	93 \pm 1.8	141 \pm 3	172 \pm 4
Tibetan(-)	63 \pm 2	76 \pm 1.6	95 \pm 2	142 \pm 1.3	168 \pm 3.2
<i>F</i> 值	0.89	1.98	1.72	0.25	1.98
<i>P</i> 值	0.44	0.18	0.22	0.78	0.18
Han(+)	62 \pm 1	75 \pm 1	96 \pm 1.3	114 \pm 2.1	108 \pm 2
Hui(+)	62 \pm 2.6	76 \pm 1	95 \pm 1.2	113 \pm 2	109 \pm 3
Tibetan(+)	62 \pm 2.3	76 \pm 1.2	96 \pm 2.1	115 \pm 1.5	107 \pm 2.3
<i>F</i> 值	0.00	1.45	0.66	1.41	0.82
<i>P</i> 值	1.00	0.27	0.53	0.28	0.46

-: 无merlin-1转染对照组; +: merlin-1转染组。

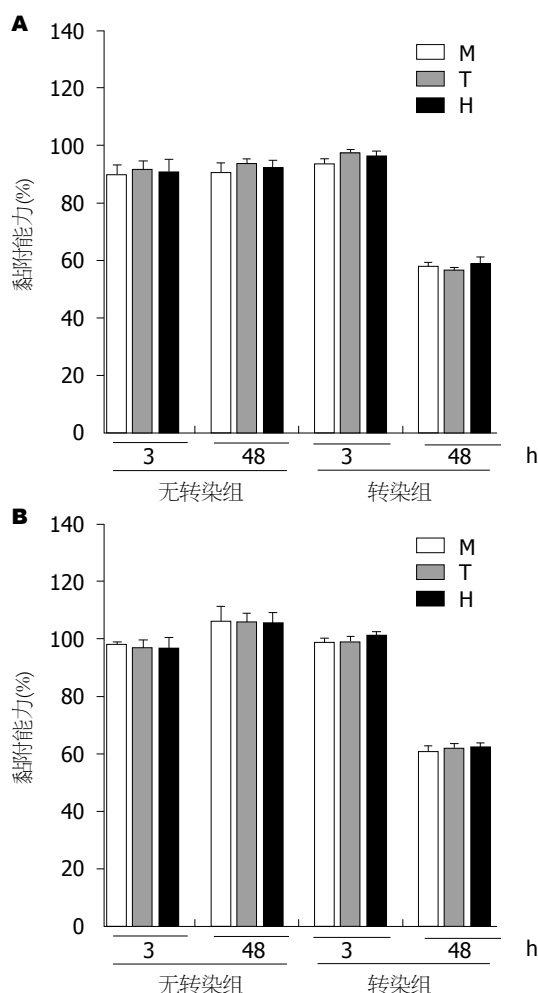


图 2 merlin-1蛋白对胃癌细胞黏附侵移能力的影响. A: 常氧; B: 低氧. M: 回族; T: 藏族; H: 汉族。

tosis type 2, NF2)发生突变率很高($P < 0.05$), 且与组织分化程度、淋巴结转移具有相关性^[20], 这提示merlin作为抑癌基因蛋白, 在维护细胞

正常增殖方面起重要作用, 这种抑癌基因蛋白的功能不受常氧或低氧环境的影响, 亦即低氧不会影响其抑癌基因蛋白的功能, 同时此结果提示, merlin蛋白在回族、藏族和汉族胃癌组织中的高突变率是导致胃癌恶性增殖或转移的分子机制之一. 沈建康等^[31]对神经鞘瘤中NF2基因突变分析发现, 其外显子2、4、6和13突变率较高, 而在青海回族、汉族和藏族胃癌组织中发现突变率较高的是NF2基因外显子2和17, 或许说明在不同肿瘤组织中, merlin蛋白基因NF2外显子突变情况有所不同, 或许具有一定组织特异性, 但这需要继续深入研究其外显子突变特征进行验证.

急性低氧环境可诱导细胞内血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和低氧诱导因子-1(hypoxia inducible factor-1, HIF-1)基因表达及细胞内蛋白含量升高, 这可能与肿瘤恶性增殖及适应低氧微环境具有密切关系. 本研究显示低氧条件下, merlin抑癌基因蛋白对胃癌细胞增殖和黏附侵移的抑制能力的调节作用未发生改变. 但是利用免疫荧光染色技术发现, 与常氧条件相比, 低氧条件下merlin-1对细胞形态改变、细胞微绒毛的表达具有一定影响, 且这种调节影响作用在回族、藏族和汉族胃癌细胞中均被观察到. 本实验结果暗示, 在低氧环境下, 肿瘤细胞利用merlin蛋白基因突变使其抑制增殖及黏附侵移作用的丧失, 同时通过提高细胞骨架重组、增强细胞表面微绒毛表达来增强自身黏附侵移的能力, 从而导致肿瘤细胞在低氧环境下恶性增殖和黏附侵移

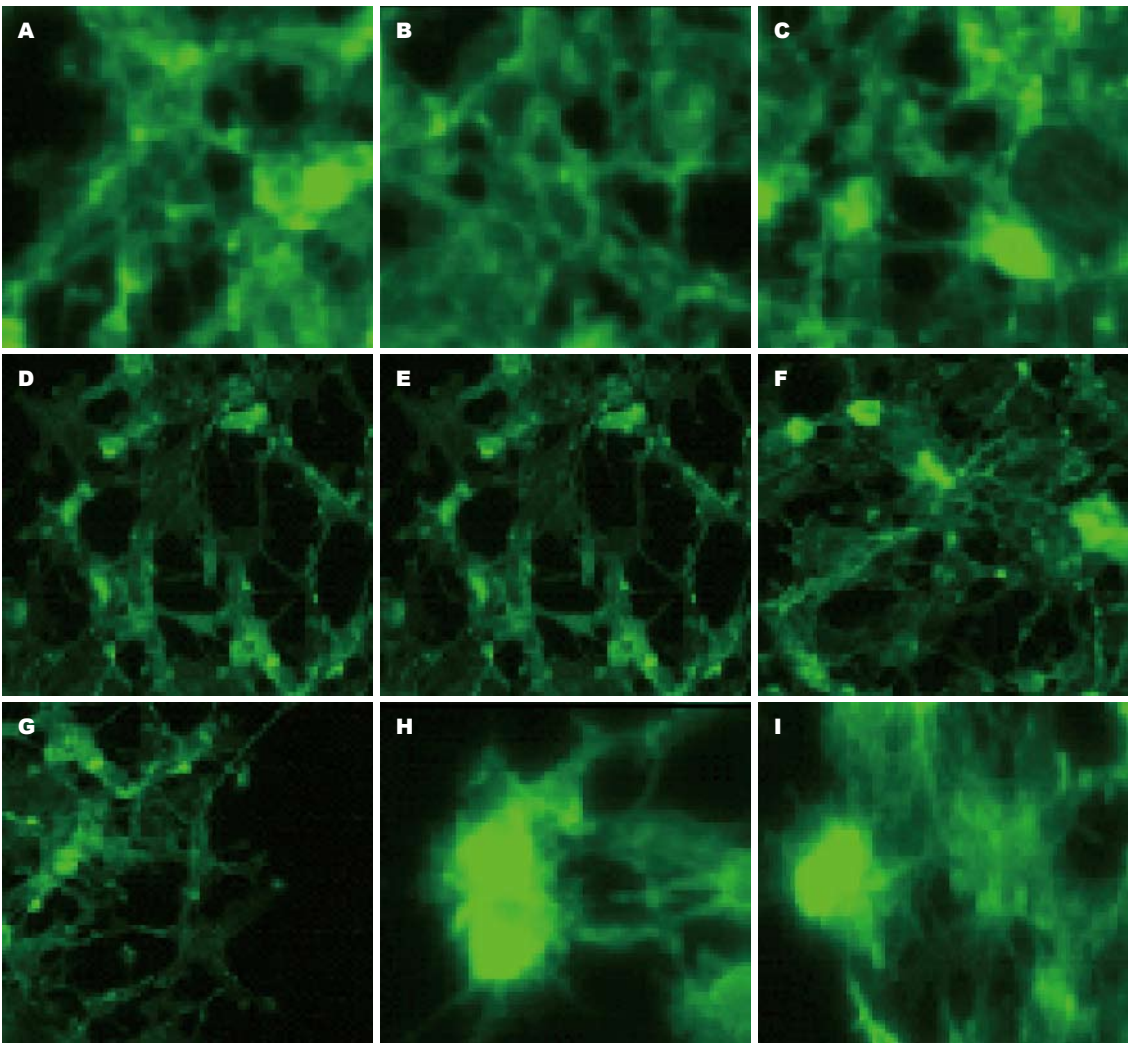


图 3 免疫荧光法检测低氧条件下merlin蛋白增强微绒毛表达及细胞骨架重组($\times 400$). A: 回族胃癌细胞空白对照组; B: 藏族胃癌细胞空白对照组; C: 汉族胃癌细胞空白对照组; D: 回族胃癌细胞转染组(常氧); E: 藏族胃癌细胞转染组(常氧); F: 汉族胃癌细胞转染组(常氧); G: 回族胃癌细胞转染组(低氧); H: 藏族胃癌细胞转染组(低氧); I: 汉族胃癌细胞转染组(低氧).

表 9 常氧条件下merlin-1对胃癌细胞黏附侵移能力的影响

分组	回族		藏族		汉族		F/P值	
	3 h	48 h	3 h	48 h	3 h	48 h	3 h	48 h
对照组	92 \pm 2	92 \pm 2	93 \pm 2	94 \pm 2	92 \pm 1	93 \pm 1.6	0.56/0.59	1.42/0.28
转染组	93 \pm 1	58 \pm 1	94 \pm 1.3	57 \pm 1	93 \pm 2.1	59 \pm 1.6	0.70/0.51	3.29/0.07
F值	1.00	34.00	0.94	37.00	0.96	33.60		
P值	0.35	0.00	0.38	0.00	0.36	0.00		

表 10 低氧条件下merlin-1对胃癌细胞黏附侵移能力的影响

分组	回族		藏族		汉族		F/P值	
	3 h	48 h	3 h	48 h	3 h	48 h	3 h	48 h
对照组	98 \pm 1	106 \pm 1	97 \pm 0.6	105 \pm 1	96 \pm 2	105 \pm 1	2.80/0.10	1.66/0.23
转染组	99 \pm 2	60 \pm 1.8	98 \pm 1.1	62 \pm 1.6	98 \pm 1	62 \pm 2	0.80/0.47	2.04/0.17
F值	1.00	49.95	1.78	50.96	2.00	43.00		
P值	0.35	0.00	0.11	0.00	0.08	0.00		

能力的提升,这对于理解微环境“低氧”状态下肿瘤继续增殖及黏附侵移提供了重要的实验依据。

4 参考文献

- Abaza M, Luqmani YA. The influence of pH and hypoxia on tumor metastasis. *Expert Rev Anticancer Ther* 2013; 13: 1229-1242 [PMID: 24099530 DOI: 10.1586/14737140.2013.843455]
- Huang D, Li C, Zhang H. Hypoxia and cancer cell metabolism. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2014; 46: 214-219 [PMID: 24389642 DOI: 10.1093/abbs/gmt148]
- Bensaad K, Harris AL. Hypoxia and metabolism in cancer. *Adv Exp Med Biol* 2014; 772: 1-39 [PMID: 24272352 DOI: 10.1007/978-1-4614-5915-6_1]
- Mimeault M, Batra SK. Hypoxia-inducing factors as master regulators of stemness properties and altered metabolism of cancer- and metastasis-initiating cells. *J Cell Mol Med* 2013; 17: 30-54 [PMID: 23301832 DOI: 10.1111/jcmm.12004]
- Mucanj V, Shay JE, Simon MC. Effects of hypoxia and HIFs on cancer metabolism. *Int J Hematol* 2012; 95: 464-470 [PMID: 22539362 DOI: 10.1007/s12185-012-1070-5]
- Semenza GL. Regulation of cancer cell metabolism by hypoxia-inducible factor 1. *Semin Cancer Biol* 2009; 19: 12-16 [PMID: 19114105 DOI: 10.1016/j.semcancer.2008.11.009]
- Liao J, Qian F, Tchabo N, Mhawech-Fauceglia P, Beck A, Qian Z, Wang X, Huss WJ, Lele SB, Morrison CD, Odunsi K. Ovarian cancer spheroid cells with stem cell-like properties contribute to tumor generation, metastasis and chemotherapy resistance through hypoxia-resistant metabolism. *PLoS One* 2014; 9: e84941 [PMID: 24409314 DOI: 10.1371/journal.pone.0084941]
- Liu Z, Jia X, Duan Y, Xiao H, Sundqvist KG, Permert J, Wang F. Excess glucose induces hypoxia-inducible factor-1 α in pancreatic cancer cells and stimulates glucose metabolism and cell migration. *Cancer Biol Ther* 2013; 14: 428-435 [PMID: 23377827 DOI: 10.4161/cbt.23786]
- Masson N, Ratcliffe PJ. Hypoxia signaling pathways in cancer metabolism: the importance of co-selecting interconnected physiological pathways. *Cancer Metab* 2014; 2: 3 [PMID: 24491179 DOI: 10.1186/2049-3002-2-3]
- Raja R, Kale S, Thorat D, Soundararajan G, Lohite K, Mane A, Karnik S, Kundu GC. Hypoxia-driven osteopontin contributes to breast tumor growth through modulation of HIF1 α -mediated VEGF-dependent angiogenesis. *Oncogene* 2014; 33: 2053-2064 [PMID: 23728336 DOI: 10.1038/onc.2013.171]
- Kimura M, Murakami T, Kizaka-Kondoh S, Itoh M, Yamamoto K, Hojo Y, Takano M, Kario K, Shimada K, Kobayashi E. Functional molecular imaging of ILK-mediated Akt/PKB signaling cascades and the associated role of beta-parvin. *J Cell Sci* 2010; 123: 747-755 [PMID: 20164304 DOI: 10.1242/jcs.052498]
- Guo L, Moon C, Zheng Y, Ratner N. Cdc42 regulates Schwann cell radial sorting and myelin sheath folding through NF2/merlin-dependent and independent signaling. *Glia* 2013; 61: 1906-1921 [PMID: 24014231 DOI: 10.1002/glia.22567]
- Cačev T, Aralica G, Lončar B, Kapitanović S. Loss of NF2/Merlin expression in advanced sporadic colorectal cancer. *Cell Oncol (Dordr)* 2014; 37: 69-77 [PMID: 24323642 DOI: 10.1007/s13402-013-0164-2]
- Smole Z, Thoma CR, Applegate KT, Duda M, Gutbrodt KL, Danuser G, Krek W. Tumor suppressor NF2/Merlin is a microtubule stabilizer. *Cancer Res* 2014; 74: 353-362 [PMID: 24282279 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-1334]
- Petrilli A, Bott M, Fernández-Valle C. Inhibition of SIRT2 in merlin/NF2-mutant Schwann cells triggers necrosis. *Oncotarget* 2013; 4: 2354-2365 [PMID: 24259290]
- Schroeder RD, Angelo LS, Kurzrock R. NF2/merlin in hereditary neurofibromatosis 2 versus cancer: biologic mechanisms and clinical associations. *Oncotarget* 2014; 5: 67-77 [PMID: 24393766]
- Kim JE, Finlay GJ, Baguley BC. The role of the hippo pathway in melanocytes and melanoma. *Front Oncol* 2013; 3: 123 [PMID: 23720711 DOI: 10.3389/fonc.2013.00123]
- Schulz A, Baader SL, Niwa-Kawakita M, Jung MJ, Bauer R, Garcia C, Zoch A, Schacke S, Hagel C, Mautner VF, Hanemann CO, Dun XP, Parkinson DB, Weis J, Schröder JM, Gutmann DH, Giovannini M, Morrison H. Merlin isoform 2 in neurofibromatosis type 2-associated polyneuropathy. *Nat Neurosci* 2013; 16: 426-433 [PMID: 23455610 DOI: 10.1038/nn.3348]
- Murray LB, Lau YK, Yu Q. Merlin is a negative regulator of human melanoma growth. *PLoS One* 2012; 7: e43295 [PMID: 22912849 DOI: 10.1371/journal.pone.0043295]
- Morrow KA, Shevde LA. Merlin: the wizard requires protein stability to function as a tumor suppressor. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1826: 400-406 [PMID: 22750751 DOI: 10.1016/j.bbcan.2012.06.005]
- Pečina-Šlaus N. Merlin, the NF2 gene product. *Pathol Oncol Res* 2013; 19: 365-373 [PMID: 23666797 DOI: 10.1007/s12253-013-9644-y]
- Cui F, Gao L, Yuan F, Dong ZF, Zhou ZN, Kline DD, Zhang Y, Li DP. Hypobaric intermittent hypoxia attenuates hypoxia-induced depressor response. *PLoS One* 2012; 7: e41656 [PMID: 22848558 DOI: 10.1371/journal.pone.0041656]
- Eguchi D, Ikenaga N, Ohuchida K, Kozono S, Cui L, Fujiwara K, Fujino M, Ohtsuka T, Mizumoto K, Tanaka M. Hypoxia enhances the interaction between pancreatic stellate cells and cancer cells via increased secretion of connective tissue growth factor. *J Surg Res* 2013; 181: 225-233 [PMID: 22795353 DOI: 10.1016/j.jss.2012.06.051]
- Cui J, Mao X, Olman V, Hastings PJ, Xu Y. Hypoxia and miscoupling between reduced energy efficiency and signaling to cell proliferation drive cancer to grow increasingly faster. *J Mol Cell Biol* 2012; 4: 174-176 [PMID: 22523396 DOI: 10.1093/jmcb/mjs017]
- 韩辉, 韩琳琳, 高海东, 侯琳. MTHFR、MS基因多态及NF2基因甲基化与乳腺癌发病关系的研究. *中国现代普通外科进展* 2011; 11: 846-850
- 张宁, 黄坚. II型神经纤维瘤基因突变及表达与消化系统肿瘤. *首都医科大学学报* 2014; 2: 26-29
- 李达, 郝淑煜, 张俊廷. 神经纤维瘤病2型分子生物学研究进展. *国际神经病学神经外科学杂志* 2010; 3: 290-293
- 李婷婷, 王超, 崔英霞. 神经纤维瘤病II型的分子遗传

- 研究进展. 中国优生与遗传杂志 2010; 12: 1-2
- 29 张治华, 孙莲花, 陈洪赛, 汪照炎, 杨涛, 吴皓. 听神经瘤中NF2基因突变分析. 中华耳科学杂志 2013; 11: 14-18
- 30 苏占海, 杨生玺, 王荣华, 顾焯, 马红英, 孔繁花. 4.1蛋白家族成员merlin与ezrin在青海藏族胃癌中表达及对胃癌细胞功能的影响. 基础医学与临床 2013; 33: 70-76
- 31 沈建康, 卞留贯, 孙青芳, 赵卫国, 罗其中, 王利民. 神经鞘瘤的NF2基因突变分析. 中华神经外科杂志 2002; 18: 29-32

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014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》出版流程

本刊讯 《世界华人消化杂志》[ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569]是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊, 每月8、18、28号按时出版. 具体出版流程介绍如下:

第一步 作者提交稿件: 作者在线提交稿件(<http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>), 提交稿件中出现问题可以发送E-mail至submission@wjgnet.com咨询, 编务将在1个工作日内回复.

第二步 审稿: 送审编辑对所有来稿进行课题查新, 并进行学术不端检测, 对不能通过预审的稿件直接退稿, 通过预审的稿件送交同行评议专家进行评议. 编辑部主任每周一组织定稿会, 评估审稿人意见, 对评审意见较高, 文章达到本刊发表要求的稿件送交总编辑签发拟接受, 对不能达到本刊发表要求的稿件退稿.

第三步 编辑、修改稿件: 科学编辑严格根据编辑规范要求编辑文章, 包括全文格式、题目、摘要、图表科学性和参考文献; 同时给出退修意见送作者修改. 作者修改稿件中遇到问题可以发送E-mail至责任科学编辑, 责任科学编辑在1个工作日内回复. 为保证文章审稿意见公平公正, 本刊对每一篇文章均增加该篇文章的同行评议者和同行评论, 同时配有背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点和名词解释, 供非专业人士阅读了解该领域的最新科研成果.

第四步 录用稿件: 作者将稿件修回后, 编辑部主任组织第2次定稿会, 评估作者修回稿件质量. 对修改不合格的稿件通知作者重修或退稿, 对修改合格的稿件送总编辑终审, 合格后发正式录用通知. 稿件正式录用后, 编务通知作者缴纳出版费, 出版费缴纳后编辑部安排生产, 并挂号将缴费发票寄出.

第五步 排版制作: 电子编辑对稿件基本情况进行审核, 核对无误后, 进行稿件排版及校对、图片制作及参考文献核对. 彩色图片保证放大400%依然清晰; 中文参考文献查找全文, 核对作者、题目、期刊名、卷期及页码, 英文参考文献根据本杂志社自主研发的“参考文献检测系统”进行检测, 确保作者、题目、期刊名、卷期及页码准确无误. 排版完成后, 电子编辑进行黑马校对, 消灭错别字及语句错误.

第六步 组版: 本期责任电子编辑负责组版, 对每篇稿件图片校对及进行质量控制, 校对封面、目次、正文页码和书眉, 修改作者的意见, 电子编辑进行三校. 责任科学编辑制作整期中英文摘要, 并将英文摘要送交英文编辑进一步润色. 责任电子编辑再将整期进行二次黑马校对. 责任科学编辑审读本期的内容包括封面、目次、正文、表格和图片, 并负责核对作者、语言编辑和语言审校编辑的清样, 负责本期科学新闻稿的编辑.

第七步 印刷、发行: 编辑部主任和主编审核清样, 责任电子编辑通知胶片厂制作胶片, 责任科学编辑、电子编辑核对胶片无误送交印刷厂进行印刷. 责任电子编辑制作ASP、PDF、XML等文件. 编务配合档案管理员邮寄杂志.

第八步 入库: 责任电子编辑入库, 责任科学编辑审核, 包括原创文章、原始清样、制作文件等.

《世界华人消化杂志》从收稿到发行每一步都经过严格审查, 保证每篇文章高质量出版, 是消化病学专业人士发表学术论文首选的学术期刊之一. 为保证作者研究成果及时公布, 《世界华人消化杂志》保证每篇文章四月内完成. (《世界华人消化杂志》编辑部)

稳定沉默CD14胃腺癌SGC-7901细胞体系的构建

张涛, 曹火留, 罗淑娟, 郑东林, 陈远能

■背景资料

1996年幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)被WHO指出为I类致癌因子而为医学界所共识,但是关于*H. pylori*导致胃癌的具体机制尚未明晰,2006-2010年在《nature》,《science》等杂志均刊出文章明确“炎症作为第7大致癌因素,尤其是非可控性炎症在肿瘤的发生、发展中占据重要地位”,由此我们开展*H. pylori*感染相关胃癌研究,从先天免疫模式识别角度,探讨*H. pylori*在胃癌发生中的地位 and 可能机制。

张涛, 曹火留, 罗淑娟, 郑东林, 陈远能, 广西中医药大学附属瑞康医院消化科 广西壮族自治区南宁市 530011
张涛, 副研究员, 主要从事中西医结合防治消化系统疾病的研究。
国家自然科学基金资助项目, No. 81360531
广西自然科学基金资助项目, No. 2010GXNSFA013219
广西卫生厅重点基金资助项目, No. 重2012030
作者贡献分布: 陈远能负责课题设计与项目总体实施; 张涛与曹火留负责病毒滴定与转染; 罗淑娟与郑东林负责数据分析与结果整理; 张涛与陈远能对本文贡献一致。
通讯作者: 陈远能, 教授, 530011, 广西壮族自治区南宁市华东路10号, 广西中医药大学附属瑞康医院消化科。
327664246@qq.com
收稿日期: 2014-04-17 修回日期: 2014-06-18
接受日期: 2014-06-19 在线出版日期: 2014-08-08

Construction of a gastric cancer cell line with stably silenced expression of CD14

Tao Zhang, Huo-Liu Cao, Shu-Juan Luo, Dong-Lin Zheng, Yuan-Neng Chen

Tao Zhang, Huo-Liu Cao, Shu-Juan Luo, Dong-Lin Zheng, Yuan-Neng Chen, Ruikang Hospital Affiliated to Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530011, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81360531; Guangxi Natural Science Foundation, No. 2010GXNSFA013219; Guangxi Public Health Fund, No. 2012030
Correspondence to: Yuan-Neng Chen, Professor, Ruikang Hospital Affiliated to Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, 10 Huadong Road, Nanning 530011, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. 327664246@qq.com
Received: 2014-04-17 Revised: 2014-06-18
Accepted: 2014-06-19 Published online: 2014-08-08

Abstract

AIM: To develop a SGC-7901 cell line with stably silenced expression of CD14 to provide an experimental basis for the study of the pathogenesis of gastric cancer.

METHODS: A CD14-shRNA lentiviral vector was constructed to transfect gastric cancer SGC-7901 cells. RT-PCR and Western blot were used to detect the CD14 mRNA and protein levels in untreated SGC-7901 cells (blank control group), SGC-7901 cells transfected with NC-CD14 shRNA (NC-CD14 shRNA control group) and SGC-7901 cells transfected with the CD14-shRNA lentiviral vector (CD14-shRNA

lentiviral vector group).

RESULTS: CD14-shRNA expression vector was successfully constructed and transfected into gastric cancer cells. RT-PCR showed that the Ct value for the CD14-shRNA lentiviral vector group was significantly higher than those for the NC-CD14 shRNA control group and blank control group ($P = 0.000$; $P < 0.001$), and the 2^{-Ct} value for the CD14-shRNA lentiviral vector group (1 ± 0.08) was significantly lower than those for the NC-CD14 shRNA control group and blank control group ($P = 0.0001$; $P < 0.001$). Western blot analysis showed that the relative expression of CD14 protein in the CD14-shRNA lentiviral vector group (0.01) was significantly less than that in the blank control group (1.0) and NC-CD14 shRNA control group (0.83).

CONCLUSION: A CD14-shRNA lentiviral vector has been successfully transfected into gastric cancer SGC-7901 cells, which can inhibit the expression of CD14 mRNA and protein in SGC-7901 cells.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: CD14-shRNA; Lentiviral vector; Gastric cancer; SGC-7901 cells

Zhang T, Cao HL, Luo SJ, Zheng DL, Chen YN. Construction of a gastric cancer cell line with stably silenced expression of CD14. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(22): 3194-3200 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3194.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3194>

摘要

目的: 观察CD14-shRNA慢病毒载体转染SGC-7901细胞后CD14 mRNA及蛋白变化, 为胃癌发病机制的研究奠定实验基础。

方法: 将构建好的CD14-shRNA慢病毒载体, 转染SGC-7901细胞后, 用Real-time PCR和Western blot分别检测空白对照组、NC-CD14 shRNA阴性对照组及CD14-shRNA慢病毒载

■同行评议者
王小众, 教授, 福建医科大学附属协和医院消化内科

体组的CD14 mRNA和蛋白质的表达。

结果: CD14-shRNA慢病毒载体成功转染至胃癌细胞系, RT-PCR结果显示转染CD14-shRNA慢病毒组CD14的 2^{Ct} 值(1 ± 0.08)比NCshRNA对照组 2^{Ct} 值(0.16 ± 0.02)降低($P = 0.0001$; $P < 0.001$), 差异有统计学意义; Western blot检测结果显示, CD14-shRNA慢病毒组CD14蛋白相对表达量为0.01, 远远小于SGC-7901空白组(1.00)及NCshRNA阴性对照组(0.83)。

结论: CD14-shRNA慢病毒载体转染至胃癌SGC-7901细胞后能抑制胃癌细胞CD14 mRNA及蛋白表达, CD14在胃癌发生、发展中具有重要作用, 有望为胃癌防治提供新的思路。

© 2014年版权归归世登出版集团有限公司所有。

关键词: CD14-shRNA; 慢病毒载体; 胃癌; SGC-7901细胞系

核心提示: 采用shRNA技术构建稳定沉默CD14的人胃癌SGC-7901细胞体系, CD14在胃癌发生、发展中具有重要作用, 有望为胃癌防治提供新的思路。

张涛, 曹火留, 罗淑娟, 郑东林, 陈远能. 稳定沉默CD14胃腺癌SGC-7901细胞体系的构建. 世界华人消化杂志 2014; 22(22): 3194-3200 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3194>. asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i22.3194>

0 引言

胃癌与饮食、感染、环境、遗传等因素关系密切, 其发生涉及多种基因突变的积累, 属于一种多基因疾病^[1]. 该病致死率较高, 全世界每年约有647000例因胃癌死亡, 位居癌症死因的第2位^[2]. 近年来, 尽管胃癌发病率在全球呈下降趋势, 但在中国、日本和韩国等地区仍维持较高的发病率^[3]. 该病已严重影响到人民群众生命健康, 开展胃癌防治研究已成为当前我们面临的重要课题之一. 1994年, 世界卫生组织/国际癌症研究组织(World Health Organization/International Agency for Research on Cancer, WHO/IARC)将幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)列为I类致癌因子. 研究认为人群中绝大多数胃癌与*H. pylori*感染有关, 其流行病学和生物学行为与非*H. pylori*相关胃癌是截然不同的^[4]. 研究发现, 遗传易感性差异可能决定不同个体感染*H. pylori*后炎症反应的过程及其严重程度, 最终决定细菌感染的结局^[5]. CD14为细菌内毒素脂多糖(lipo-

polysaccharide, LPS)的高亲和受体, 主要表达于单核-巨噬细胞表面, 参与LPS的识别、结合并介导下游一系列的炎症反应. 近来有研究指出CD14启动子区的多态性与胃癌的易感性密切相关, 推测其可能与CD14的表达改变进而影响机体对LPS的识别存在某种联系^[6], 国外学者^[7-9]认为CD14在胃癌组织中存在高表达, CD14多态性能增加胃癌的风险. 本研究利用靶向性CD14-shRNA慢病毒载体, 转染胃癌细胞SGC-7901后, 用Real-time PCR和Western blot分别检测空白对照组、阴性对照组及CD14-shRNA慢病毒载体组的CD14 mRNA和蛋白质的表达, 进一步探讨RNAi抑制CD14表达对胃癌的功能作用, 以期对CD14与胃癌发生、发展的关系研究奠定基础.

1 材料和方法

1.1 材料 人胃癌细胞SGC-7901由中山大学实验中心细胞库提供; 慢病毒阴性对照(NCshRNA)GV112由上海吉凯基因化学技术有限公司提供, 包装量 1×10^8 TU 40 μ L; CD14-shRNA慢病毒: GV248由上海吉凯基因化学技术有限公司提供, 包装量 1×10^8 TU 40 μ L; Real-time PCR引物由广州吉坤公司合成. 胎牛血清、DMEM-高糖培养基、青链霉素、PBS磷酸钾缓冲液购自Hyclone公司; HRP标记的GAPDH优质内参购自上海康成生物公司; 一抗Anti-CD14 antibody、二抗Rabbit Anti-Mouse IgG(H+L)、Goat Anti-Rabbit IgG(H+L chain specific)购自southern biotech公司; 过氧化物酶标记兔抗山羊IgG、过氧化物酶标记兔抗大鼠IgG购自武汉博士德生物工程有限公司; 发光液、PVDF膜购自MILLIPORE公司.

1.2 方法

1.2.1 感染细胞最佳感染复数(multiplicity of infection, MOI)的测定: 将处于生长良好状态的SGC-7901细胞接种 3×10^3 - 5×10^3 个目的细胞于96孔培养板中, 所加培养基体积为90 μ L, 一次实验需要10个孔. 实验共分为两组不同感染条件, 每组均有3个不同梯度的MOI. 将10 μ L 3个不同梯度的病毒加到各组的相应孔中, 加入的病毒量分别为 1×10^6 TU, 1×10^5 TU, 1×10^4 TU, 而细胞经过生长, 此时细胞的数目大约为 1×10^4 个, 所以3个孔的MOI分别为100、10、1. 感染2-3 d后, 观察荧光表达情况. 对于生长缓慢代谢慢的细胞, 可以适当延长观察时间, 中途可以换液, 保持细胞的活性. 通过细胞感染效果, 确认目的细胞的感染条件和感染参数.

■ 研发前沿

晚近研究报道发现, CD14基因多态性在*H. pylori*感染相关胃癌的易感性相关, 尤其是CD14-159位点、CD14-260位点是值得令人关注的, 亦是当前研究领域中的重点, 本文采用shRNA技术稳定沉默CD14表达, 观察CD14沉默后胃癌细胞生物学行为的变化, 以及构建CD14细胞体系中的病毒滴定等技术问题是亟待研究的.

■相关报道

本文的亮点部分在于沉默*CD14*基因表达人胃癌SGC-7901细胞体系的构建, 细胞转染中病毒复数的最佳滴定度, 以及沉默*CD14*基因后胃癌细胞生物学行为的变化。

1.2.2 细胞感染: 将SGC-7901细胞接种 2×10^3 – 5×10^3 个目的细胞于24孔培养板中。感染前从冰箱取出并在37 °C水浴中快速融化病毒, 并立即用事先加热到37 °C的新鲜完全培养基稀释成所需浓度, 轻轻混匀, 不要使用振荡器, 吸去细胞原有培养基, 将稀释好的病毒液, 以最佳MOI加入细胞中, 同时设置相应的空白对照试验(以未转染慢病毒载体的空细胞为空白对照, 以转染含无义序列的慢病毒载体为阴性对照, 即NC-shRNA组), 37 °C培养过夜, 感染后第2天, 吸去含病毒的培养液, 换上新鲜的完全培养液, 继续37 °C培养, 感染6 h后换液; 感染后培养72 h后, 抽提总RNA和蛋白分别进行mRNA和蛋白水平的*CD14*表达检测;

1.2.3 RT-PCR检测*CD14* mRNA表达: 收集细胞, 用TRIzol法提取各细胞总RNA, 采用cDNA第一链合成试剂盒反转录成cDNA。按照引物设计原则设计PCR引物, *CD14*的上、下游引物序列分别为: 5'-ACACTCGCCTGCCTTTTCCT-3', 5'-GCGTCTCCATTTCCTGTGTTG-3', 扩增片段长度170 bp, β -actin上、下游引物序列分别为: 5'-TGGATCAGCAAGCAGGAGTA-3', 5'-TCG-GCCACATTGTGAACCTT-3', 扩增片段长度275 bp。PCR反应体系如下: cDNA模板5 μ L, 上、下游引物各0.5 μ L, 2 \times SYBR Green qPCR SuperMix 10 μ L, ddH₂O补足总体积至20 μ L。PCR反应条件为: 50 °C 2 min; 95 °C 2 min; 95 °C 15 s; 60 °C 32 s读板, 共40个循环; 融解曲线分析: 温度60 °C–95 °C, 每个样重复3次。

1.2.4 Western blot检测*CD14*蛋白表达: 在细胞中加入RIPA裂解液提取总蛋白, BCA法定量蛋白。将提取好样品的蛋白进行SDS-PAGE, 电泳结束后电转移至PVDF膜上, 5%脱脂奶粉溶液室温封闭1 h。加入合适的一抗稀释浓度4 °C温育过夜(*CD14*按1:500稀释, GAPDH按1:1000稀释), 加入1:4000倍稀释的二抗, 37 °C孵育1 h。温育结束后, ECL底物发光法进行曝光。洗涤PVDF膜, 剥脱后加入1:10000内参抗体, 4 °C温育过夜, 曝光成像。

2 结果

2.1 感染细胞最佳MOI的测定 成功转染慢病毒*CD14*-shRNA的SGC-7901人胃癌腺癌细胞可表达绿色荧光蛋白, 测得在病毒MOI = 10时转染72 h后, 腺病毒的转染效率最佳(图1)。

2.2 Real-time PCR检测慢病毒载体转染SGC-7901

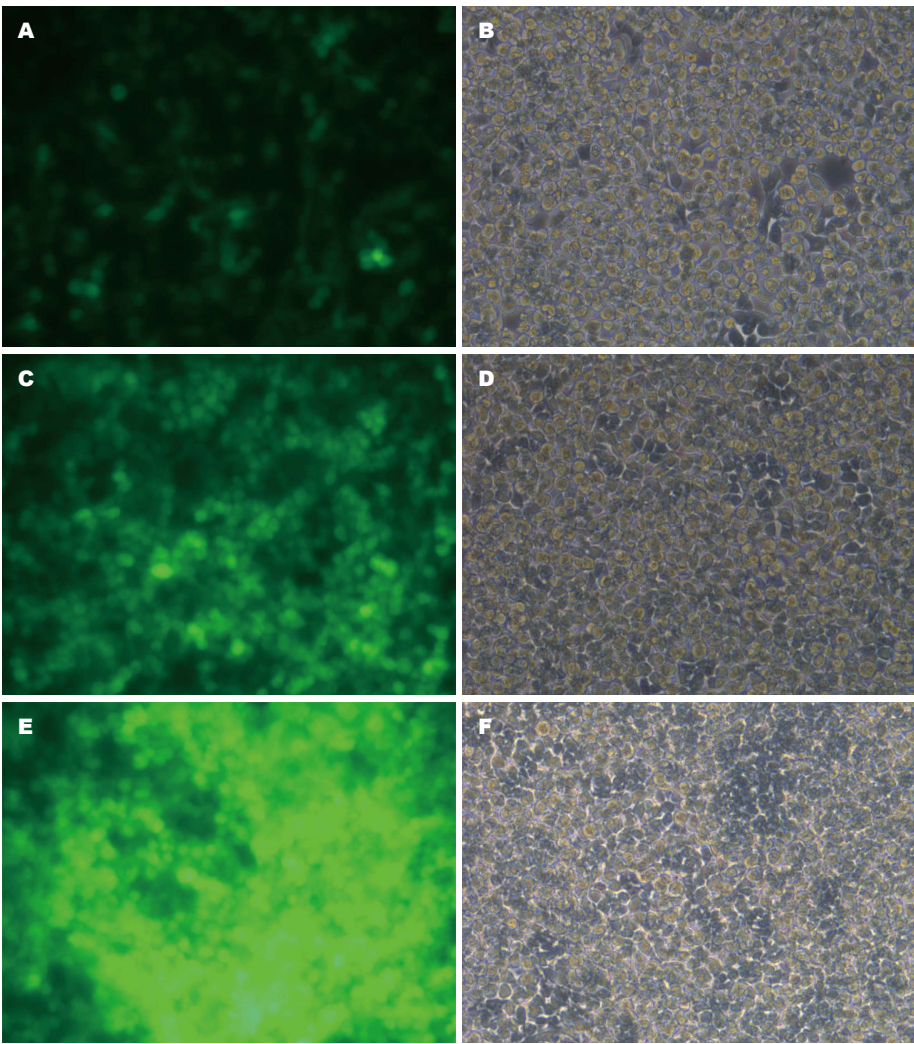
细胞后*CD14* mRNA表达 RT-PCR结果显示, *CD14*及参照物 β -actin扩增产物的扩增曲线中可明显看到典型的PCR扩增曲线的对数扩增前期、对数扩增期和平台期, 说明有足够量PCR产物, 可见引物有较高的敏感度。溶解曲线基本均为单峰, 可见引物的特异性好, 产物单一, 无明显非特异产物(图2)。在*CD14*-shRNA慢病毒载体转染胃癌细胞后, 通过Real-time PCR定量实验, 判定目的基因*CD14* mRNA表达水平。其中Ct值是达到规定荧光强度所需的循环数, Ct值越大, 所需的循环数越多, 目的基因的拷贝数越少。表1显示, 转染*CD14*-shRNA慢病毒组*CD14*的Ct值比NCshRNA对照组增高($P = 0.000$; $P < 0.001$), *CD14*-shRNA慢病毒组*CD14*的 2^{Ct} 值(1.00 ± 0.08)比NCshRNA对照组 2^{Ct} 值(0.16 ± 0.02)降低($P = 0.0001$; $P < 0.001$), 差异有显著统计学意义, 所以*CD14*-shRNA慢病毒载体转染SGC-7901后, *CD14* mRNA的表达下调。同样以PCR的扩增指数RQ值为纵坐标作图也反映了这样的结果(图3)。

2.3 Western blot检测慢病毒载体转染SGC-7901细胞后*CD14*的蛋白表达 Western blot检测结果显示, 在转染胃癌细胞后, *CD14*-shRNA慢病毒载体组细胞的*CD14*蛋白表达相对于空白组及阴性对照组明显减少, 从灰度值分析显示看出(表2, 图4), *CD14*-shRNA慢病毒组*CD14*蛋白相对表达量为0.01, 远远小于SGC-7901空白组(1.00)及NCshRNA阴性对照组(0.83), 分别下降99.0%及98.8%, 由此推断*CD14*-shRNA慢病毒载体转染胃癌细胞SGC-7901后使*CD14*的蛋白的表达量明显降低, 同样以Western blot的灰度值为纵坐标作图也反映了这样的结果(图5)。

2.4 测序 重组*CD14*-shRNA慢病毒载体测序结果由上海吉凯基因化学技术有限公司提供(图6)。

3 讨论

晚期研究发现, 炎症尤其是非可控性炎症在肿瘤的发生、发展中占据重要地位^[10]。作为一把“双刃剑”, 炎症既能保护机体, 又能损伤机体。反复的炎症刺激可能通过释放大量的反应性氧自由基、一氧化氮等炎症介质, 经由模式识别受体介导的固有免疫或获得性免疫, 将炎症放大, 加重组织损伤, 组织修复中出现DNA错配、基因位点突变等, 最终导致恶性肿瘤发生^[11–15]。慢性胃炎, 尤其是*H. pylori*感染相关的慢性胃炎作为非可控性炎症的一大类, 被公认为癌前状态^[16–18]。*H. pylori*感染后经由*CD14*/TLR4信号调



■创新盘点
本文基于前期临床观察*H. pylori*感染相关胃癌患者存在CD14-159位点表达变化, 而应用shRNA技术稳定沉默CD14表达, 拟证实CD14在胃癌的发生、发展中有重要作用。

图 1 感染细胞最佳MOI测定. A: 1×10^4 TU, MOI = 1; B: 1×10^4 TU, MOI = 1; C: 1×10^5 TU, MOI = 10; D: 1×10^5 TU, MOI = 10; E: 1×10^6 TU, MOI = 100; F: 1×10^6 TU, MOI = 100.

表 1 Real-time PCR检测慢病毒载体转染SGC-7901细胞后CD14结果								
样品-基因	重复1 Ct值	重复2 Ct值	重复3 Ct值	Ct平均值	Ct	Ct	Ct	抑制效率(%)
7901-NC-CD14	22.12	21.96	21.80	21.96 ± 0.16	6.63 ± 0.11	0.00 ± 0.11	1.00 ± 0.08	-
7901-Si-CD14	25.81	25.38	25.38	25.52 ± 0.25	9.27 ± 0.18	2.64 ± 0.18	0.16 ± 0.02	83.94
7901-NC- β -actin	15.39	15.31	15.29	15.33 ± 0.06	-	-	-	-
7901-Si- β -actin	16.33	16.23	16.20	16.25 ± 0.07	-	-	-	-

表 2 灰度分析			
I4	SGC-7901	NCshRNA	CD14-shRNA
GLS2	158948	149978.7	1283.66666
GAPDH	85659.67	96812.7	106470
GLS2/GAPDH	1.856	1.549	0.012
校正值	1.00	0.83	0.01

核因子 κ B(nuclear factor-kappa B, NF- κ B)活化,

NF- κ B在调节涉及黏膜炎症反应的基因中起核心作用, 被认为在慢性炎症相关的恶性病变中具有关键作用. 研究发现胃癌患者存在NF- κ B异常增高的活性, NF- κ B在肿瘤发展中的主要作用可能是在肿瘤发生和进展阶段阻止恶变前期细胞的凋亡. 研究提示NF- κ B对促进炎症相关的肿瘤发生是必需的, 可能涉及以下几种机制: (1)产生炎症因子和生长因子; (2)促进肿瘤细胞生长、抑制其凋亡; (3)通过介导活化诱导胞噬啉

■应用要点

胃癌的诊断方面, 我们可以推测 *CD14* 基因位点检测在胃癌发生的预测价值, 以及 *H. pylori* 感染阳性胃癌患者采用 *CD14* 阻断技术在胃癌中的治疗价值。

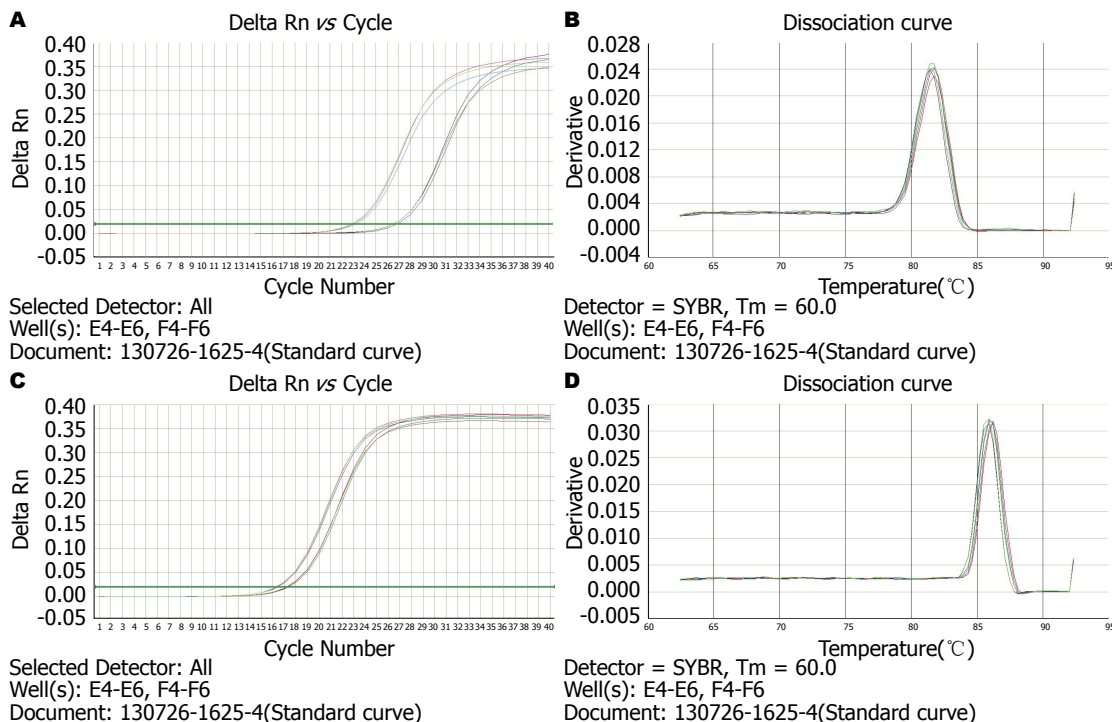


图 2 *CD14*及 β -actin溶解曲线及扩增曲线。A: *CD14*扩增曲线; B: *CD14*溶解曲线; C: β -actin溶解曲线; D: β -actin扩增曲线。

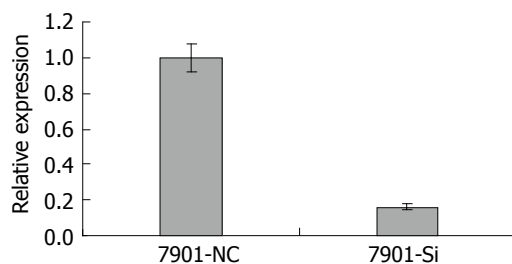


图 3 2种样品中*CD14*的表达水平。

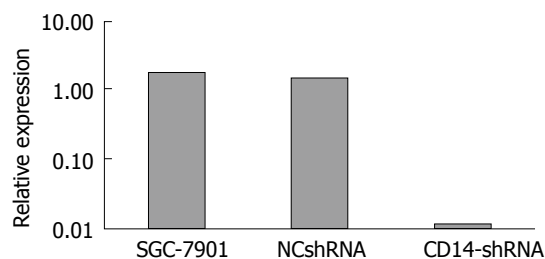


图 5 Anti-*CD14* Western blot检测灰度分析。

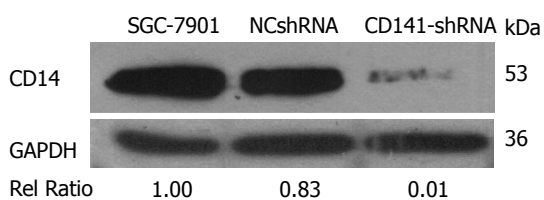


图 4 Anti-*CD14* Western blot检测。

核苷脱氨酶(activation-induced cytidine deaminase, AID)在胃黏膜异位表达而诱导基因突变^[19-23]。因此, 调控*CD14*/TLR4-NF- κ B通路对于降低*H. pylori*感染后炎症反应, 防治*H. pylori*感染后相关胃癌发生、发展无疑是非常有利的^[24-29]。

鉴于*CD14*在胃癌的发生发展过程中具有重要作用, 本研究通过构建*CD14*-shRNA的慢病毒载体转染胃癌细胞SGC-7901, 我们发现*CD14*基因沉默后的胃癌细胞*CD14* mRNA受到抑制, 蛋白表达降低。RT-PCR检测结果说明,

实验组的重组*CD14*-shRNA慢病毒载体转染至胃癌细胞SGC-7901后, 使*CD14* mRNA的表达量降低, 相对于阴性对照组有明显的统计学意义, 说明实验组转染胃癌细胞SGC-7901成功, 并成功抑制胃癌细胞SGC-7901的*CD14* mRNA的表达。Western blot检测结果说明, 实验组的重组*CD14*-shRNA慢病毒载体转染至胃癌细胞SGC-7901后, *CD14*-shRNA慢病毒组*CD14*蛋白相对表达量远远小于空白组及阴性对照组, 由此推断*CD14*-shRNA慢病毒载体转染胃癌细胞SGC-7901后使*CD14*的蛋白的表达量明显降低, 说明实验组成功抑制胃癌细胞SGC-7901的*CD14*蛋白的表达。

总之, 我们成功的利用重组慢病毒载体抑制了*CD14*在胃癌细胞SGC-7901中的表达, 为后续动物模型实验提供理论基础和前期准备, 初步证实*CD14*在胃癌发生、发展中具有重要作用,

190 200 210 220 230 240 250 260
 CGAAGCACCAGGAAACCCCTTTGGCCACCTTTATCTCGAGATAAAGGTGGGGCAAGGGTTTGTGAAATTCCTCGA

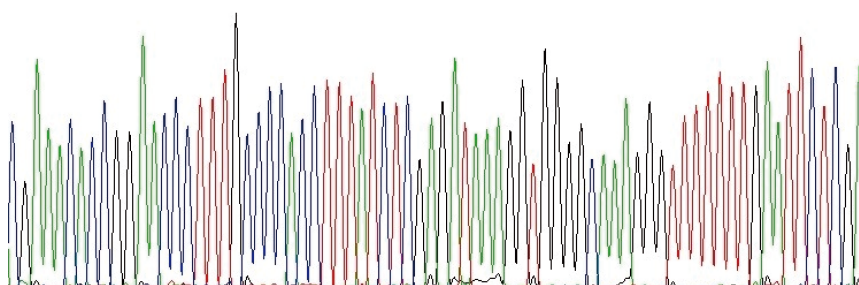


图 6 重组CD14-shRNA慢病毒载体测序结果.

有望为胃癌防治提供新的思路.

4 参考文献

- Schmidt C, Gerdes H, Hawkins W, Zucker E, Zhou Q, Riedel E, Jaques D, Markowitz A, Coit D, Schattner M. A prospective observational study examining quality of life in patients with malignant gastric outlet obstruction. *Am J Surg* 2009; 198: 92-99 [PMID: 19482259 DOI: 10.1016/j.amjsurg]
- Takachi R, Inoue M, Shimazu T, Sasazuki S, Ishihara J, Sawada N, Yamaji T, Iwasaki M, Iso H, Tsubono Y, Tsugane S. Consumption of sodium and salted foods in relation to cancer and cardiovascular disease: the Japan Public Health Center-based Prospective Study. *Am J Clin Nutr* 2010; 91: 456-464 [PMID: 20016010 DOI: 10.3945/ajcn.2009.28587]
- McCracken M, Olsen M, Chen MS, Jemal A, Thun M, Cokkinides V, Deapen D, Ward E. Cancer incidence, mortality, and associated risk factors among Asian Americans of Chinese, Filipino, Vietnamese, Korean, and Japanese ethnicities. *CA Cancer J Clin* 2007; 57: 190-205 [PMID: 17626117 DOI: 10.3322/caac.20073]
- Shah MA, Ajani JA. Gastric cancer--an enigmatic and heterogeneous disease. *JAMA* 2010; 303: 1753-1754 [PMID: 20442394 DOI: 10.1001/jama.2010.553]
- Fock KM, Talley N, Moayyedi P, Hunt R, Azuma T, Sugano K, Xiao SD, Lam SK, Goh KL, Chiba T, Uemura N, Kim JG, Kim N, Ang TL, Mahachai V, Mitchell H, Rani AA, Liou JM, Vilaichone RK, Sollano J. Asia-Pacific consensus guidelines on gastric cancer prevention. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 351-365 [PMID: 18318820 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05314.x]
- Snaith A, El-Omar EM. Helicobacter pylori: host genetics and disease outcomes. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2008; 2: 577-585 [PMID: 19072405 DOI: 10.1586/17474124.2.4.577]
- Hubacek JA, Rothe G, Pit'ha J, Skodová Z, Staněk V, Poledne R, Schmitz G. C(-260)-->T polymorphism in the promoter of the CD14 monocyte receptor gene as a risk factor for myocardial infarction. *Circulation* 1999; 99: 3218-3220 [PMID: 10385492]
- Kato I, Canzian F, Plummer M, Franceschi S, van Doorn LJ, Vivas J, Lopez G, Lu Y, Gioia-Patricola L, Severson RK, Schwartz AG, Muñoz N. Polymorphisms in genes related to bacterial lipopolysaccharide/peptidoglycan signaling and gastric precancerous lesions in a population at high risk for gastric cancer. *Dig Dis Sci* 2007; 52: 254-261 [PMID: 17171451 DOI: 10.1007/s10620-011-1707-x]
- Zhao D, Sun T, Zhang X, Guo Y, Yu D, Yang M, Tan W, Wang G, Lin D. Role of CD14 promoter polymorphisms in Helicobacter pylori infection-related gastric carcinoma. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 2362-2368 [PMID: 17438094 DOI: 10.1158/1078-0432]
- Nathan C, Ding A. Nonresolving inflammation. *Cell* 2010; 140: 871-882 [PMID: 20303877 DOI: 10.1016/j.cell.2010.02.029]
- Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature* 2008; 454: 436-444 [PMID: 18650914 DOI: 10.1038/nature07205]
- Wang G, Yu D, Tan W, Zhao D, Wu C, Lin D. Genetic polymorphism in chemokine CCL22 and susceptibility to Helicobacter pylori infection-related gastric carcinoma. *Cancer* 2009; 115: 2430-2437 [PMID: 19298002 DOI: 10.1002/cncr.24255]
- Wu WK, Cho CH, Lee CW, Fan D, Wu K, Yu J, Sung JJ. Dysregulation of cellular signaling in gastric cancer. *Cancer Lett* 2010; 295: 144-153 [PMID: 20488613 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.04.025]
- Kim J, Cho YA, Choi IJ, Lee YS, Kim SY, Hwang JA, Cho SJ, Kook MC, Kim CG, Kim YW. Effects of polymorphisms of innate immunity genes and environmental factors on the risk of noncardia gastric cancer. *Cancer Res Treat* 2013; 45: 313-324 [PMID: 24454004 DOI: 0.4143/crt.2013.45.4.313]
- Bornschein J, Selgrad M, Warnecke M, Kuester D, Wex T, Malfertheiner P. H. pylori infection is a key risk factor for proximal gastric cancer. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 3124-3131 [PMID: 20668939 DOI: 10.1007/s10620-010-1351-x]
- Li K, Dan Z, Hu XJ, Gesang LB, Ze YG, Bianba ZX, Ciren CM, Nie YQ. Association of CD14/-260 polymorphism with gastric cancer risk in Highland Tibetans. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 2688-2694 [PMID: 24627605 DOI: 10.3748/wjg.v20.i10.2688]
- Kim EJ, Chung WC, Lee KM, Paik CN, Kim SB, Oh YS, Lee YW, Kang SG, Noh SJ. Helicobacter pylori Infection Enhances Gastric Mucosal Inflammation in Individuals Carrying the 260-T Allele of the CD14 Gene. *Gut Liver* 2013; 7: 317-322 [PMID: 23710313 DOI: 10.5009/gnl.2013.7.3.317]
- Castaño-Rodríguez N, Kaakoush NO, Goh KL,

同行评价

本研究利用重组慢病毒载体抑制了CD14在胃癌细胞SGC-7901中的表达,初步证实CD14在胃癌发生、发展中具有一定意义。

- Fock KM, Mitchell HM. The role of TLR2, TLR4 and CD14 genetic polymorphisms in gastric carcinogenesis: a case-control study and meta-analysis. *PLoS One* 2013; 8: e60327 [PMID: 23565226 DOI: 10.1371/journal.pone.0060327]
- 19 Li K, Dan Z, Hu X, Ouzhu M, Ciren Y, Wang Z, Wang J, Yang X, Ze Y. CD14 overexpression up-regulates TNF- α -mediated inflammatory responses and suppresses the malignancy of gastric carcinoma cells. *Mol Cell Biochem* 2013; 376: 137-143 [PMID: 23338226 DOI: 10.1007/s11010-013-1559-0]
- 20 Cheng YB, Guo LP, Yao P, Ning XY, Aerken G, Fang DC. Telomerase and hTERT: Can they serve as markers for gastric cancer diagnosis? *World J Gastroenterol* 2014; 20: 6615-6619 [PMID: 24914385 DOI: 10.3748/wjg.v20.i21.6615]
- 21 Yang M, Zhong J, Zhao M, Wang J, Gu Y, Yuan X, Sang J, Huang C. Overexpression of Nuclear Apoptosis-Inducing Factor 1 Altered the Proteomic Profile of Human Gastric Cancer Cell MKN45 and Induced Cell Cycle Arrest at G1/S Phase. *PLoS One* 2014; 9: e100216 [PMID: 24926661 DOI: 10.1371/journal.pone.0100216]
- 22 Maeda S, Akanuma M, Mitsuno Y, Hirata Y, Ogura K, Yoshida H, Shiratori Y, Omata M. Distinct mechanism of *Helicobacter pylori*-mediated NF-kappa B activation between gastric cancer cells and monocytic cells. *J Biol Chem* 2001; 276: 44856-44864 [PMID: 11546774]
- 23 Dzierzanowska-Fangrat K, Michalkiewicz J, Cielecka-Kuszyk J, Nowak M, Celinska-Cedro D, Rozynek E, Dzierzanowska D, Crabtree JE. Enhanced gastric IL-18 mRNA expression in *Helicobacter pylori*-infected children is associated with macrophage infiltration, IL-8, and IL-1 beta mRNA expression. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2008; 20: 314-319 [PMID: 18334875 DOI: 10.1097/MEG.0b013e3282f340da]
- 24 Tahara T, Shibata T, Hirata I, Nakano H, Arisawa T. CD14 promoter-159 polymorphism is associated with reduced risk of intestinal-type gastric cancer in a Japanese population. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 1508-1512 [PMID: 19326213 DOI: 10.1007/s10620-009-0793-5.Retracted]
- 25 Shen Z, Seppänen H, Vainionpää S, Ye Y, Wang S, Mustonen H, Puolakkainen P. IL10, IL11, IL18 are differently expressed in CD14+ TAMs and play different role in regulating the invasion of gastric cancer cells under hypoxia. *Cytokine* 2012; 59: 352-357 [PMID: 22595646 DOI: 10.1016/j.cyt.2012.04.033]
- 26 Chun KH, Seong SY. CD14 but not MD2 transmit signals from DAMP. *Int Immunopharmacol* 2010; 10: 98-106 [PMID: 19840871 DOI: 10.1016/j.intimp.2009.10.002]
- 27 Fehlings M, Drobbe L, Moos V, Renner Viveros P, Hagen J, Beigier-Bompadre M, Pang E, Belogolova E, Churin Y, Schneider T, Meyer TF, Aebischer T, Ignatius R. Comparative analysis of the interaction of *Helicobacter pylori* with human dendritic cells, macrophages, and monocytes. *Infect Immun* 2012; 80: 2724-2734 [PMID: 22615251 DOI: 10.1128/IAI.00381-12]
- 28 Hold GL, Rabkin CS, Gammon MD, Berry SH, Smith MG, Lissowska J, Risch HA, Chow WH, Mowat NA, Vaughan TL, El-Omar EM. CD14-159C/T and TLR9-1237T/C polymorphisms are not associated with gastric cancer risk in Caucasian populations. *Eur J Cancer Prev* 2009; 18: 117-119 [PMID: 19337058 DOI: 10.1097/CEJ.0b013e3283101292]
- 29 Saito H, Kuroda H, Matsunaga T, Osaki T, Ikeguchi M. Increased PD-1 expression on CD4+ and CD8+ T cells is involved in immune evasion in gastric cancer. *J Surg Oncol* 2013; 107: 517-522 [PMID: 23129549 DOI: 10.1002/jso.23281]

编辑 田滢 电编 闫晋利



人粪便DNA甲基化对大肠癌的早期诊断价值

张虎, 朱尤庆, 吴亚琼, 张平, 江军, 袁林, 李静, 齐健

张虎, 朱尤庆, 齐健, 武汉大学中南医院消化内科 湖北省武汉市 430071

张虎, 张平, 江军, 袁林, 李静, 武警湖北省总队医院消化内科 湖北省武汉市 430061

吴亚琼, 皖南医学院弋矶山医院 安徽省芜湖市 241000

张虎, 主要从事消化系统肿瘤早期筛查的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81101868

湖北省自然科学基金资助项目, No. 2011CDB505

作者贡献分布: 课题设计、文章修改和审阅由齐健与朱尤庆完成; 病例选择、样本取材、临床资料整理和分析由张虎、张平、江军、吴亚琼、袁林及李静完成; 论文写作由张虎完成。

通讯作者: 齐健, 副教授, 430071, 湖北省武汉市东湖路169号, 武汉大学中南医院消化内科。 qiqidelizi@aliyun.com

电话: 027-87336141 传真: 027-87336141

收稿日期: 2014-05-12 修回日期: 2014-06-04

接受日期: 2014-06-11 在线出版日期: 2014-08-08

Value of fecal DNA methylation analysis in early diagnosis of colorectal cancer

Hu Zhang, You-Qing Zhu, Ya-Qiong Wu, Ping Zhang, Jun Jiang, Lin Yuan, Jing Li, Jian Qi

Hu Zhang, You-Qing Zhu, Jian Qi, Department of Gastroenterology, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, Hubei Province, China

Hu Zhang, Ping Zhang, Jun Jiang, Lin Yuan, Jing Li, Department of Gastroenterology, Hubei Provincial Corps Hospital, Chinese People's Armed Police Force, Wuhan 430061, Hubei Province, China

Ya-Qiong Wu, Yijishan Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241000, Anhui Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81101868; and the Natural Science Foundation of Hubei Province of China, No. 2011CDB505

Correspondence to: Jian Qi, Associate Professor, Department of Gastroenterology, Zhongnan Hospital of Wuhan University, 169 Donghu Road, Wuchang District, Wuhan 430071, Hubei Province, China. qiqidelizi@aliyun.com

Received: 2014-05-12 Revised: 2014-06-04

Accepted: 2014-06-11 Published online: 2014-08-08

Abstract

AIM: To investigate the role of promoter hypermethylation of Wnt-antagonist genes in fecal DNA as non-invasive biomarkers for early screening of colorectal cancer (CRC).

METHODS: The methylation-specific PCR assay (MSP) was performed to analyze the methylation status of secreted frizzled-related protein (SFRPs) and Wnt inhibitory factor-1 (WIF-1)

gene promoters in fecal samples from 83 subjects with colorectal tumors.

RESULTS: Hypermethylation of *SFRP1*, *SFRP2*, *SFRP5* and *WIF-1* in fecal samples was detected in 68.8% (33/48), 56.3% (27/48), 45.8% (22/48) and 60.4% (29/48) of 48 CRCs; 57.1% (20/35), 51.4% (18/35), 37.1% (13/35) and 45.7% (16/35) of adenomas; 21.9% (7/32), 12.5% (4/32), 9.4% (3/32) and 18.8% (6/32) of hyperplastic polyps. The sensitivity and specificity of combined detection of promoter hypermethylation of the four genes for detection of Ducks A stage of CRCs and advanced adenomas were 81.8% (18/22) and 93.3% (28/30), respectively. The promoter hypermethylation status of *SFRP1*, 2, 5 and *WIF-1* in fecal samples had no significant correlation with clinicopathological characteristics ($P > 0.05$ for all). Compared with fecal occult blood test (FOBT), with a detection rate of 31.8%, hypermethylated Wnt-antagonist genes were detected in 81.8% of Ducks A stage of CRCs and advanced adenomas ($P < 0.001$).

CONCLUSION: Hypermethylated of *SFRP1*, *SFRP2*, *SFRP5* and *WIF-1* genes in fecal samples are likely to be biomarkers for early detection of colorectal tumors.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Wnt pathway; Colorectal tumor; Fecal; Methylation; Screening

Zhang H, Zhu YQ, Wu YQ, Zhang P, Jiang J, Yuan L, Li J, Qi J. Value of fecal DNA methylation analysis in early diagnosis of colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(22): 3201-3207 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3201.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3201>

摘要

目的: 探讨粪便中Wnt拮抗基因启动子甲基化在早期筛查大肠癌(colorectal cancer, CRC)中的意义。

方法: 采用甲基特异性PCR技术检测83例

■背景资料

大肠癌(colorectal cancer, CRC)为消化系的常见恶性肿瘤。在世界范围内, 其死亡率已位于恶性肿瘤第3位, 在美国已位于第2位, 我国也已上升至第5位。尽管由于筛查的普及, 过去15年内, 美国CRC发生率每年下降2%-3%, 但早期大肠癌的发现率仍然不足5%, 探索早期大肠癌的筛查方法仍然是全世界肿瘤研究者共同努力的方向。

■同行评议者

樊晓明, 教授, 主任医师, 复旦大学附属金山医院消化科

■ 研究前沿

表基因机制是一种可遗传的基因功能调控方式,他不改变基因序列。DNA异常甲基化会引起基因表达紊乱,导致肿瘤的发生,并且出现在肿瘤发生的早期阶段,有可能作为肿瘤早期诊断的标志。分泌型卷曲相关蛋白家族(secreted frizzled-related protein, SFRPs)、Wnt抑制因子-1(Wnt inhibitory factor-1, WIF-1)是Wnt途径胞外拮抗物,能通过不同的机制直接与Wnt反应,或与Frizzled受体形成无作用的复合物,抑制Wnt途径,与人类多种肿瘤发生密切相关,其中大肠癌尤其常见。

大肠肿瘤患者粪便中分泌型卷曲相关蛋白(secreted frizzled-related protein, SFRPs)和Wnt抑制因子-1(Wnt inhibitory factor-1, WIF-1)基因甲基化状况。

结果:粪便中*SFRP1*、*SFRP2*、*SFRP5*和*WIF-1*基因在大肠癌中甲基化率分别为68.8%(33/48)、56.3%(27/48)、45.8%(22/48)和60.4%(29/48);腺瘤中分别为57.1%(20/35)、51.4%(18/35)、37.1%(13/35)和45.7%(16/35);增生性息肉中分别为21.9%(7/32)、12.5%(4/32)、9.4%(3/32)和18.8%(6/32)。联合四种粪便基因甲基化对大肠癌和腺瘤的检测率分别为81.3%(39/48)和65.7%(23/35),同时联合检测Dukes A期CRC和进展期腺瘤的敏感性高达81.8%(18/22),特异性为93.3%(28/30)。*SFRPs*和*WIF-1*基因甲基化与大肠癌的临床病理特征无相关性(均 $P>0.05$)。对于Dukes A大肠癌和进展期腺瘤的检测阳性率,组合四种Wnt拮抗基因甲基化(81.8%)明显优于粪便潜血试验(31.8%),两者差异有统计学意义($P<0.001$)。

结论:粪便中Wnt拮抗基因(*SFRP1*、*SFRP2*、*SFRP5*和*WIF-1*)甲基化有望成为早期筛查大肠癌的一种非侵入性的生物学标志物。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: Wnt途径; 大肠肿瘤; 粪便; 甲基化; 筛查

核心提示: 目前大肠癌(colorectal cancer, CRC)的筛查方式由于各自的缺陷均不能成为理想的筛查方式,限制了在早期筛查CRC和腺瘤中的应用。Wnt途径异常激活是CRC的早期事件。粪便中Wnt拮抗基因甲基化有可能成为早期筛查的一种非侵入性检测标志物,在早期筛查和诊断中具有潜在的应用价值。

张虎, 朱尤庆, 吴亚琼, 张平, 江军, 袁林, 李静, 齐健. 人粪便DNA甲基化对大肠癌的早期诊断价值. 世界华人消化杂志 2014; 22(22): 3201-3207 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3201.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3201>

0 引言

大肠癌(colorectal cancer, CRC)为消化系的常见恶性肿瘤。在世界范围内,其死亡率已位于恶性肿瘤第3位,在美国已位于第2位^[1],我国也已上升至第5位^[2]。在美国,过去15年内,由于筛查的普及CRC发生率每年下降2%-3%^[3],表明适当的筛查方式可以有效地降低CRC的发生率,但尽

管如此,早期大肠癌的发现率仍然不足5%,探索早期大肠癌的筛查方法仍然是全世界肿瘤研究者共同努力的方向。近年来研究发现,Wnt信号通路在调控细胞生长、运动和分化的关键途径以及肿瘤增生、细胞凋亡等生命过程中发挥重要作用^[4]。Wnt途径异常激活与人类多种肿瘤发生密切相关,如头颈部肿瘤、乳腺癌、膀胱癌、间皮瘤等,大肠癌尤其常见^[5-11]。分泌型卷曲相关蛋白家族(secreted frizzled-related protein, SFRPs)和Wnt抑制因子-1(Wnt inhibitory factor-1, WIF-1)是Wnt途径的细胞外拮抗物,直接与Wnt反应,从而抑制Wnt信号传导。Wnt途径异常激活与其拮抗物失活密切相关。我们的前期研究显示,大肠肿瘤组织中*SFRPs*和*WIF-1*基因甲基化是大肠肿瘤发生中常见的早期事件,在大肠肿瘤中存在高频率甲基化^[12]。因此,本研究通过检测大肠癌和大肠良性病变患者粪便中Wnt拮抗基因甲基化的状况,探讨粪便中Wnt拮抗基因异常甲基化作为大肠癌筛选标志物的可行性。

1 材料和方法

1.1 材料 粪便样本取自武汉大学中南医院2012-03/2013-03外科手术和结肠镜检查者。大肠癌48例,男24例,女24例,年龄范围为19-86岁;大肠良性病变67例(包括腺瘤35例,增生性息肉32例),男40例,女27例,年龄范围为25-79岁。30例对照为全结肠镜检查均为阴性者,男11例,女19例,年龄范围为21-82岁。所有临床标本诊断均得到病理证实。所有病例均无肠道及其他部位肿瘤病史;大肠癌患者均未行术前放疗或化疗。粪便样本排出后立即置入-80℃冰箱冰冻保存。按照国际抗癌联盟的TNM系统进行肿瘤分期。进展期腺瘤包括腺瘤大小>10 mm,或腺瘤中含有高级别不典型增生或绒毛成分。本研究定义早期大肠肿瘤为Dukes A期CRC或进展期腺瘤^[13]。粪便样本均检测粪便潜血试验(fecal occult blood test, FOBT)。所有样本均取得受检者的知情同意,并被武汉大学伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 粪便DNA提取: 按QIAamp粪便DNA提取试剂盒说明书提取粪便标本中人类基因组DNA,并对提取的DNA扩增β肌动蛋白基因(*β-actin*),引物序列为上游: 5'-TGGTGATGGAG-GAGGCTCAGCAAGT-3',下游: 5'-AGCCAATGGGACCTGCTCCTCCCTTGA-3',扩增产物长度为133 bp,由上海生工生物工程公司合成。

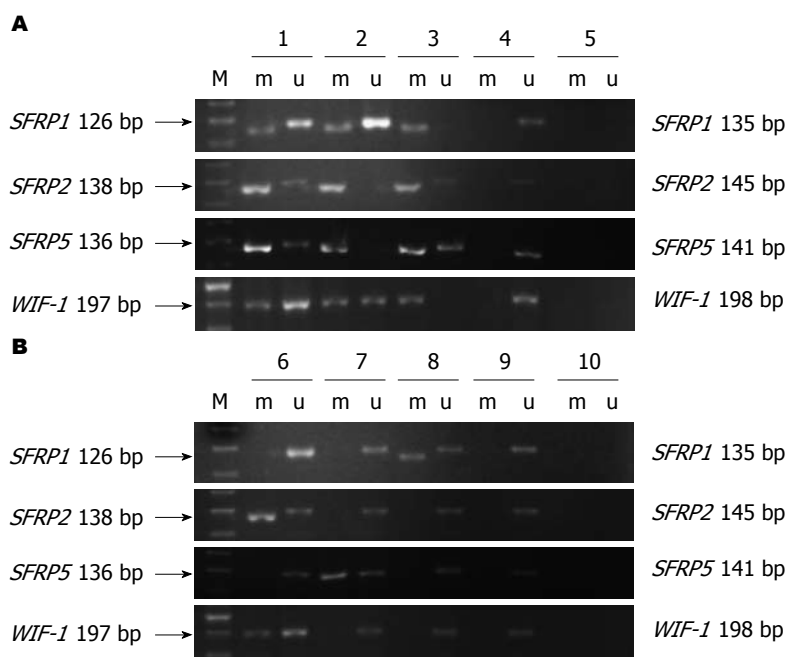


图1 大肠肿瘤Wnt拮抗基因甲基化结果. A: 大肠癌的各基因甲基化表达情况; B: 大肠腺瘤各基因甲基化表达情况. 1-3: 大肠癌; 6-8: 大肠腺瘤; 4, 9: 正常组织; 5, 10: 空白对照; M: 50 bp marker; m: 甲基化条带; u: 非甲基化条带. SFRP: 分泌型卷曲相关蛋白; WIF-1: Wnt抑制因子1.

■ 相关报道

Wnt途径异常激活是大肠癌的早期事件, 与大肠癌细胞的生长、增殖和肿瘤细胞凋亡的抑制密切相关. 我们前期的研究显示, *SFRPs*和*WIF-1*基因启动子在正常大肠黏膜不存在甲基化, 而在早期大肠癌组织中具有高频甲基化.

1.2.2 甲基化特异性PCR(methylation specific PCR, MSP): 原理是提取的DNA经亚硫酸氢盐处理后, DNA序列中的未发生甲基化的胞嘧啶转变为尿嘧啶, 而发生甲基化的胞嘧啶则保持不变, 然后以处理后的DNA产物作为模板, 加入甲基化特异性的引物或非甲基化特异性的引物, 随后进行特异性的PCR扩增, 只有结合完全的片段最终才能扩增出产物. DNA的亚硫酸氢钠修饰及纯化回收主要根据Herman等^[14]报道的方法, 并加以改进. 修饰后DNA分别用各基因的甲基化、非甲基化引物扩增, 各基因引物序列参照前期研究^[12]. 3%琼脂糖凝胶电泳检测, 凝胶成像系统(SynGene GGM, UK)摄片, 配套软件(SynGene GeneTools, UK)分析结果.

1.2.3 粪便隐血试验: 所有粪便标本行粪便隐血试验(胶体金法, 万华普曼生物工程有限公司生产). 其原理为双抗体夹心法, 试剂中含有被预先固定于膜上测试区的抗血红蛋白单克隆抗体和控制区的相应抗体.

统计学处理 采用SPSS17.0软件进行统计分析, 数据比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 不同粪便中Wnt拮抗基因启动子甲基化状况 不同粪便标本中*SFRP1*、*SFRP2*、*SFRP5*和*WIF-1*基因启动子甲基化情况如图1和表1. CRC

和腺瘤间*SFRP1*、*SFRP2*、*SFRP5*和*WIF-1*的甲基化率差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$); 腺瘤、腺瘤与正常对照及增生性息肉比较, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$); 比较增生性息肉和正常对照, 其中*SFRP1*和*SFRP2*甲基化率差异有统计学意义($P < 0.05$), 而*SFRP5*和*WIF-1*差异无统计学意义($P > 0.05$). 39例CRC和23例腺瘤患者粪便中至少有一个基因可以检测到高甲基化.

2.2 粪便Wnt拮抗基因甲基化诊断早期大肠肿瘤 联合4种粪便基因甲基化对大肠癌检测率为81.3%(39/48), 其中, 检测Dukes A期CRC的阳性率达到了85.7%(6/7), 而Dukes B-D期CRC的阳性率为80.5%(33/41); 对大肠腺瘤的检测率为65.7%(23/35), 其中, 对非进展期腺瘤的检测阳性率为55%(11/20), 而检测进展期腺瘤的阳性率达到80.0%(12/15). 联合检测Dukes A期CRC和进展期腺瘤的阳性率高达81.8%(图2). Dukes A期CRC和进展期腺瘤、非进展期腺瘤和增生性息肉间比较, 联合4种粪便基因的甲基化率差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$); Dukes A期CRC、进展期腺瘤与正常对照、增生性息肉, 以及增生性息肉和正常对照间比较, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$).

2.3 粪便Wnt拮抗基因甲基化与临床特征的关联 大肠癌粪便DNA中*SFRP1*、*SFRP2*、*SFRP5*和*WIF-1*基因启动子甲基化与大肠癌患者的性

■创新盘点

采用甲基特异性PCR技术检测大肠癌和大肠良性病变患者粪便中Wnt拮抗基因甲基化的状况。同时,比较粪便异常基因甲基化和粪便潜血试验对于检测早期大肠癌的阳性率。

表 1 不同粪便标本中的*SFRP1*、*SFRP2*、*SFRP5*和*WIF-1*甲基化率比较 (%)

分组	<i>n</i>	<i>SFRP1</i>	<i>SFRP2</i>	<i>SFRP5</i>	<i>WIF-1</i>	合计 ¹
CRC	48	68.8	56.3	45.8	60.4	81.3
Dukes A-B期	27	66.7	55.6	44.4	66.7	81.5
Dukes A期	7	57.1	71.4	42.9	57.1	85.7
Dukes B期	20	70.0	50.0	45.0	70.0	80.0
Dukes C-D期	21	71.4	57.1	47.6	52.4	81.0
Dukes C期	14	71.4	57.1	50.0	50.0	71.4
Dukes D期	7	71.4	57.1	42.9	57.1	100
腺瘤	35	57.1	51.4	37.1	45.7	65.7
进展期	15	66.7	60.0	46.7	53.3	80.0
非进展期	20	45.0	40.0	25.0	35.0	55.0
增生性息肉	32	21.9	12.5	9.4	18.8	34.4
正常对照	30	3.3	0.0	0.0	3.3	6.7

¹联合*SFRP1*、*SFRP2*、*SFRP5*和*WIF-1* 4种基因的甲基化率。SFRP: 分泌型卷曲相关蛋白; WIF-1: Wnt抑制因子-1; CRC: 大肠癌。

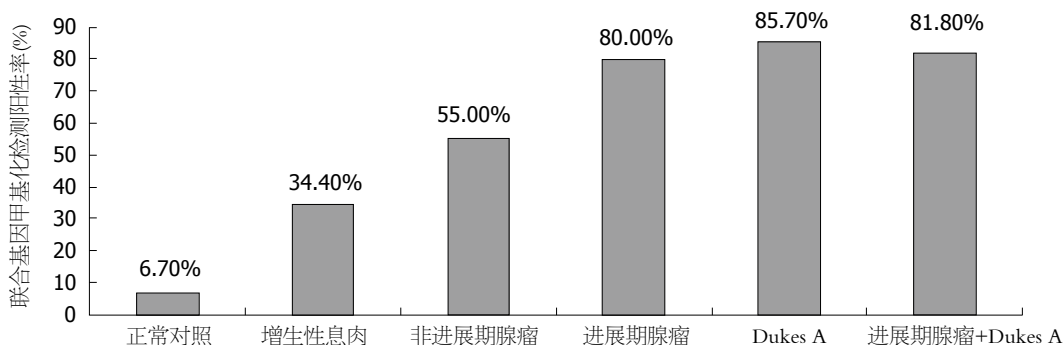


图 2 联合Wnt拮抗基因甲基化诊断早期大肠肿瘤。

别、年龄、肿瘤部位、Duke分期及远处转移均无明显相关性(均 $P>0.05$)(表2)。

2.4 粪便Wnt拮抗基因甲基化与FOBT的检测率 48例CRC患者粪便标本中, Wnt拮抗基因检测的阳性率为81.3%, 相应标本的FOBT阳性率为56.3%, $P=0.008$, 两者差异有统计学意义; 其中, 对于检测Dukes A期CRC, 两者差异有统计学意义($P=0.031$), 而检测Dukes B-D期CRC, 两者差异无统计学意义($P>0.05$)。Wnt拮抗基因甲基化对于腺瘤的检测率为65.7%, 而相应样本中FOBT阳性率仅为25.7%, 两者差异有统计学意义($P<0.001$)。但两者在增生性息肉和正常对照的粪便标本的阳性率无统计学意义(表3)。

3 讨论

大肠癌的发病是遗传性改变和表观遗传改变不断地累积的结果^[15], 涉及染色体不稳定性, 微卫星不稳定及基因甲基化的改变, 其中DNA甲基化是肿瘤发生机制中重要的分子机制^[16]。大肠

癌表现出高频率的基因甲基化^[17], 尤其在早期阶段, 表观遗传改变导致的基因沉默起着重要的调控作用。研究证实, 启动子CpG岛的甲基化导致基因沉默是抑癌基因失表达的主要机制之一^[17]。

研究发现多种肿瘤SFRPs、WIF-1表达下调, 但尚未发现肿瘤中存在Wnt拮抗基因突变、缺失等遗传性改变, 90%以上的大肠癌存在Wnt信号转导通路的激活^[9,18]。而本研究发现联合4种基因诊断大肠肿瘤明显高于单个基因, 在大肠腺瘤和腺癌患者粪便中甲基化率分别为81.3%和65.7%, 而在早期肿瘤中甲基化阳性率高达81.8%, 提示Wnt拮抗基因在大肠肿瘤中存在高频率甲基化, 尤其是早期大肠肿瘤。因此, SFRPs、WIF-1基因甲基化失活导致Wnt途径异常激活, 可能是大肠肿瘤发生中常见的早期事件, 可能是正常大肠黏膜发生恶变的基础。

根据Wnt拮抗剂不同的作用机制分为两类: 一类包括SFRPs、WIF-1和Cerberus, 主要是通过Wnt蛋白结合从而改变Wnt与Wnt受体复合

表 2 粪便Wnt基因甲基化与CRC临床病理特征的联系 (n)

临床特征	n	甲基化状况							
		SFRP1		SFRP2		SFRP5		WIF-1	
		M	U	M	U	M	U	M	U
性别									
男	24	17	7	14	10	12	12	17	7
女	24	16	8	13	11	10	14	12	12
年龄(岁)									
>55	32	24	8	18	14	17	15	21	11
≤55	16	9	7	9	7	5	11	8	8
部位									
左半结肠	32	23	9	18	14	14	18	21	11
右半结肠	16	10	6	9	7	8	8	8	8
Duke分期									
Dukes A-B期	27	18	9	15	12	12	15	18	9
Dukes C-D期	21	15	6	12	9	10	11	11	10
淋巴转移									
是	21	15	6	12	9	10	11	11	10
否	27	18	9	15	12	12	15	18	9
远处转移									
是	7	5	2	4	3	3	4	4	3
否	41	28	13	23	18	19	22	25	16

M: 甲基化; U: 非甲基化; SFRP: 分泌型卷曲相关蛋白; WIF-1: Wnt抑制因子-1; CRC: 大肠癌。

表 3 粪便基因甲基化和FOBT在大肠肿瘤的阳性率(%)

分组	n	联合甲基化	FOBT	P值
CRC	48	81.3	56.3	0.008
Dukes A-B期	27	81.5	51.9	0.021
Dukes A期	7	85.7	28.5	0.031
Dukes B期	20	80.0	60.0	0.168
Dukes C-D期	21	81.0	61.9	0.172
Dukes C期	14	71.4	57.1	0.430
Dukes D期	7	100.0	71.4	0.127
腺瘤	35	65.7	25.7	<0.001
进展期	15	80.0	33.3	0.010
非进展期	20	55.0	20.0	0.022
增生性息肉	32	34.4	15.6	0.083
正常对照	30	6.7	3.3	0.554

FOBT: 粪便潜血试验; CRC: 大肠癌。

物结合的能力^[19,20]; 另一类包括DKK家族中的某些成员, 通过结合低密度脂蛋白受体相关蛋白5/6(low-density lipoprotein receptor-related protein 5/6, LRP5/6)来抑制Wnt信号通路^[21]。细胞外拮抗物失活将导致Wnt途径异常激活。SFRPs阻止Wnt信号的转导机制可能为: 一是与Wnt蛋白直接作用阻止他们连接到Frizzled配体上; 二是与

Frizzled一起形成无功能的复合体。而WIF-1通过直接与Wnt蛋白相连, 阻断Wnt与Frizzled(Fz)受体及辅助受体LRP5/6的结合, 使细胞质中的β-catenin由于磷酸化而不能积累, 进而阻断Wnt信号的传导途径^[22]。

本研究显示, 在大肠肿瘤的粪便标本中SFRPs和WIF-1均具有高频甲基化, 并与其临床病例特征无明显相关性, 与前期研究一致^[12,23]。大肠腺瘤被认为是CRC最重要的癌前病变。据统计, 在人的一生中大约有50%的人将发展为腺瘤, 但只要6%的腺瘤会转变为腺癌^[24,25]。本研究结果显示, 粪便基因甲基化对进展期腺瘤的阳性率(80.0%)明显高于非进展期腺瘤(55%), 而非进展期腺瘤和增生性息肉无统计学差异, 提示可能存在增生性息肉-腺瘤-腺癌的演变, 促进了大肠癌的组织学进展。Wnt拮抗基因甲基化对于Dukes A期大肠癌和进展期腺瘤的检测率分别为85.7%(6/7)和80.0%(12/15), 可见, 粪便Wnt拮抗基因甲基化诊断早期大肠肿瘤的敏感性达到81.8%, 特异性为93.3%。正常对照中出现异常甲基化, 可能是正常对照的组织出现癌前隐窝病灶, 黏膜处于病变的早期, 且病变较小, 内镜下未发现。因此, 粪便中Wnt拮抗基因出现异常甲

■应用要点
我们研究显示, 检测粪便中Wnt拮抗基因(SFRP1、SFRP2、SFRP5和WIF-1)甲基化有望成为早期筛查大肠癌的一种非侵入性的生物学标志。

■名词解释
Wnt拮抗基因分为两类: 一类包括SFRPs (SFRP1-5)、WIF-1和Cerberus, 主要是通过Wnt蛋白结合从而改变Wnt与Wnt受体复合物结合的能力; 另一类包括DKK家族中的某些成员, 通过结合低密度脂蛋白受体相关蛋白5/6(low-density lipoprotein receptor-related protein 5/6, LRP5/6)来抑制Wnt信号通路。

■同行评价

本文探讨了粪便中Wnt拮抗基因启动子甲基化在早期筛查大肠癌中的意义。结果提示组合四种Wnt拮抗基因甲基化阳性率明显优于粪便潜血试验,表明粪便Wnt拮抗基因甲基化有望成为早期筛查大肠癌的一种非侵入性的生物学标志。

基化的患者有可能是大肠癌的高危人群,需要长期的临床跟踪和随访。

FOBT是目前应用最为广泛,同时也是一种简单、快速的大肠肿瘤的筛查方法。FOBT作为CRC筛查的有效性已得到循证医学的证实^[26]。虽然FOBT能适当减低CRC的死亡率,但对于CRC的发生率影响较小,主要原因是对于癌前病变敏感性较低^[27]。本研究结果表明,对于Dukes A期CRC和进展期腺瘤的阳性率,粪便Wnt拮抗基因甲基化阳性率(81.8%)明显优于FOBT(31.8%),差异有统计学意义($P<0.001$)。推测原因可能为粪便中肿瘤细胞的脱落是一个持续的过程,而早期肿瘤的出血是间断性^[28,29]。因此,基因甲基化可以作为结肠镜的一种辅助检查降低医疗成本,提高患者的依从性^[30-32]。

总之,粪便Wnt拮抗基因甲基化检测将为大肠癌的筛查提供一种新的非侵入性筛查方法,粪便*SFRP1*、*SFRP2*、*SFRP5*和*WIF-1*基因甲基化有可能作为早期筛查诊断大肠癌的有效生物学指标。

4 参考文献

- Bardhan K, Liu K. Epigenetics and colorectal cancer pathogenesis. *Cancers* (Basel) 2013; 5: 676-713 [PMID: 24216997 DOI: 10.3390/cancers5020676]
- 赖少清, 鞠凤环, 王贵齐, 贺舜, 倪晓光, 张蕾, 于桂香, 张月明, 李晓燕. 2004-2008年704例大肠癌临床流行特征. *中国肿瘤* 2010; 19: 111-113
- Kohler BA, Ward E, McCarthy BJ, Schymura MJ, Ries LA, Ehemann C, Jemal A, Anderson RN, Ajani UA, Edwards BK. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2007, featuring tumors of the brain and other nervous system. *J Natl Cancer Inst* 2011; 103: 714-736 [PMID: 21454908 DOI: 10.1093/jnci/djr077]
- Fodde R, Smits R, Clevers H. APC, signal transduction and genetic instability in colorectal cancer. *Nat Rev Cancer* 2001; 1: 55-67 [PMID: 11900252 DOI: 10.1038/35094067]
- Fendri A, Khabir A, Hadri-Guiga B, Sellami-Boudawara T, Daoud J, Frikha M, Ghorbel A, Gargouri A, Mokdad-Gargouri R. Epigenetic alteration of the Wnt inhibitory factor-1 promoter is common and occurs in advanced stage of Tunisian nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Invest* 2010; 28: 896-903 [PMID: 20874008 DOI: 10.3109/07357907.2010.494324]
- Wissmann C, Wild PJ, Kaiser S, Roepcke S, Stoehr R, Woelckhaus M, Kristiansen G, Hsieh JC, Hofstaedter F, Hartmann A, Knuechel R, Rosenthal A, Pilarsky C. WIF1, a component of the Wnt pathway, is down-regulated in prostate, breast, lung, and bladder cancer. *J Pathol* 2003; 201: 204-212 [PMID: 14517837 DOI: 10.1002/path.1449]
- Voorham QJ, Janssen J, Tijssen M, Snellenberg S, Mongera S, van Grieken NC, Grabsch H, Kliment M, Rembacken BJ, Mulder CJ, van Engeland M, Meijer GA, Steenbergen RD, Carvalho B. Promoter methylation of Wnt-antagonists in polypoid and nonpolypoid colorectal adenomas. *BMC Cancer* 2013; 13: 603 [PMID: 24350795 DOI: 10.1186/1471-2407-13-603]
- Qi J, Zhu YQ, Luo J, Tao WH. Hypermethylation and expression regulation of secreted frizzled-related protein genes in colorectal tumor. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 7113-7117 [PMID: 17131472]
- Suzuki H, Watkins DN, Jair KW, Schuebel KE, Markowitz SD, Chen WD, Pretlow TP, Yang B, Akiyama Y, Van Engeland M, Toyota M, Tokino T, Hinoda Y, Imai K, Herman JG, Baylin SB. Epigenetic inactivation of SFRP genes allows constitutive WNT signaling in colorectal cancer. *Nat Genet* 2004; 36: 417-422 [PMID: 15034581 DOI: 10.1038/ng1330]
- Lee AY, He B, You L, Dadfarmay S, Xu Z, Mazieres J, Mikami I, McCormick F, Jablons DM. Expression of the secreted frizzled-related protein gene family is downregulated in human mesothelioma. *Oncogene* 2004; 23: 6672-6676 [PMID: 15221014 DOI: 10.1038/sj.onc.1207881]
- Zou H, Molina JR, Harrington JJ, Osborn NK, Klatt KK, Romero Y, Burgart LJ, Ahlquist DA. Aberrant methylation of secreted frizzled-related protein genes in esophageal adenocarcinoma and Barrett's esophagus. *Int J Cancer* 2005; 116: 584-591 [PMID: 15825175 DOI: 10.1002/ijc.21045]
- 齐健, 朱尤庆, 罗峻, 陶文惠. 分泌型Wnt拮抗基因甲基化在结直肠癌发生发展中的作用. *中华医学杂志* 2007; 87: 1954-1957
- Ahlquist DA, Zou H, Domanico M, Mahoney DW, Yab TC, Taylor WR, Butz ML, Thibodeau SN, Rabeneck L, Paszat LF, Kinzler KW, Vogelstein B, Bjerrgaard NC, Laurberg S, Sørensen HT, Berger BM, Lidgard GP. Next-generation stool DNA test accurately detects colorectal cancer and large adenomas. *Gastroenterology* 2012; 142: 248-256; quiz e255-256 [PMID: 22062357 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.10.031]
- Herman JG, Graff JR, Myöhänen S, Nelkin BD, Baylin SB. Methylation-specific PCR: a novel PCR assay for methylation status of CpG islands. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 9821-9826 [PMID: 8790415]
- Goel A, Boland CR. Epigenetics of colorectal cancer. *Gastroenterology* 2012; 143: 1442-1460.e1 [PMID: 23000599 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.09.032]
- Akhavan-Niaki H, Samadani AA. DNA methylation and cancer development: molecular mechanism. *Cell Biochem Biophys* 2013; 67: 501-513 [PMID: 23508887 DOI: 10.1007/s12013-013-9555-2]
- Esteller M. Epigenetics in cancer. *N Engl J Med* 2008; 358: 1148-1159 [PMID: 18337604 DOI: 10.1056/NEJMra072067]
- Esteller M, Corn PG, Baylin SB, Herman JG. A gene hypermethylation profile of human cancer. *Cancer Res* 2001; 61: 3225-3229 [PMID: 11309270]
- Jones SE, Jomary C. Secreted Frizzled-related proteins: searching for relationships and patterns. *Bioessays* 2002; 24: 811-820 [PMID: 12210517 DOI: 10.1002/bies.10136]
- Hsieh JC, Kodjabachian L, Rebbert ML, Rattner A, Smallwood PM, Samos CH, Nusse R, Dawid IB, Nathans J. A new secreted protein that binds to Wnt proteins and inhibits their activities. *Nature* 1999; 398: 431-436 [PMID: 10201374 DOI: 10.1038/18899]
- Brott BK, Sokol SY. Regulation of Wnt/LRP signaling by distinct domains of Dickkopf proteins. *Mol*

- Cell Biol* 2002; 22: 6100-6110 [PMID: 12167704]
- 22 Kawano Y, Kypta R. Secreted antagonists of the Wnt signalling pathway. *J Cell Sci* 2003; 116: 2627-2634 [PMID: 12775774 DOI: 10.1242/jcs.00623]
- 23 Qi J, Zhu YQ. Targeting the most upstream site of Wnt signaling pathway provides a strategic advantage for therapy in colorectal cancer. *Curr Drug Targets* 2008; 9: 548-557 [PMID: 18673240]
- 24 Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murray T, Thun MJ. Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin* 2008; 58: 71-96 [PMID: 18287387 DOI: 10.3322/CA.2007.0010]
- 25 He B, Reguart N, You L, Mazieres J, Xu Z, Lee AY, Mikami I, McCormick F, Jablons DM. Blockade of Wnt-1 signaling induces apoptosis in human colorectal cancer cells containing downstream mutations. *Oncogene* 2005; 24: 3054-3058 [PMID: 15735684 DOI: 10.1038/sj.onc.1208511]
- 26 Hewitson P, Glasziou P, Irwig L, Towler B, Watson E. Screening for colorectal cancer using the faecal occult blood test, Hemoccult. *Cochrane Database Syst Rev* 2007; (1): CD001216 [PMID: 17253456 DOI: 10.1002/14651858.CD001216.pub2]
- 27 Tagore KS, Levin TR, Lawson MJ. The evolution to stool DNA testing for colorectal cancer. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 19: 1225-1233 [PMID: 15191503 DOI: 10.1111/j.1365-2036]
- 28 Ahlquist DA, Harrington JJ, Burgart LJ, Roche PC. Morphometric analysis of the "mucocellular layer" overlying colorectal cancer and normal mucosa: relevance to exfoliation and stool screening. *Hum Pathol* 2000; 31: 51-57 [PMID: 10665913]
- 29 Ahlquist DA, Sargent DJ, Loprinzi CL, Levin TR, Rex DK, Ahnen DJ, Knigge K, Lance MP, Burgart LJ, Hamilton SR, Allison JE, Lawson MJ, Devens ME, Harrington JJ, Hillman SL. Stool DNA and occult blood testing for screen detection of colorectal neoplasia. *Ann Intern Med* 2008; 149: 441-450, W81 [PMID: 18838724]
- 30 Strul H, Kariv R, Leshno M, Halak A, Jakubowicz M, Santo M, Umansky M, Shirin H, Degani Y, Revivo M, Halpern Z, Arber N. The prevalence rate and anatomic location of colorectal adenoma and cancer detected by colonoscopy in average-risk individuals aged 40-80 years. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 255-262 [PMID: 16454827 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2006.00430.x]
- 31 Rubenstein JH, Waljee AK, Jeter JM, Velayos FS, Ladabaum U, Higgins PD. Cost effectiveness of ulcerative colitis surveillance in the setting of 5-aminosalicylates. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 2222-2232 [PMID: 19491824 DOI: 10.1038/ajg.2009.264]
- 32 Velayos FS, Liu L, Lewis JD, Allison JE, Flowers N, Hutfless S, Abramson O, Perry GS, Herrinton LJ. Prevalence of colorectal cancer surveillance for ulcerative colitis in an integrated health care delivery system. *Gastroenterology* 2010; 139: 1511-1518 [PMID: 20659470 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.07.039]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



雷贝拉唑、奥美拉唑、雷尼替丁分别联合阿莫西林和克拉霉素三联治疗消化性溃疡的临床效果

侯义林, 刘强

■背景资料

消化性溃疡(peptic ulcer, PU)是消化系统常见病,各个年龄段人群均可发病。PU诱发因素较为复杂,酸性胃液对胃黏膜的消化作用是导致溃疡形成的主要因素。目前质子泵抑制剂已经逐渐取代碱性药物在PU治疗中广泛应用。奥美拉唑、潘托拉唑、雷贝拉唑等均为治疗PU的有效药物,其中雷贝拉唑作为新一代质子泵抑制剂具有起效迅速、效果持久稳定等优点。

侯义林, 刘强, 镇江市第二人民医院消化科 江苏省镇江市 212000

侯义林, 主治医师, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 此课题由侯义林设计; 研究过程由侯义林与刘强完成; 数据分析由侯义林完成; 写作由侯义林与刘强共同完成。

通讯作者: 侯义林, 主治医师, 212000, 江苏省镇江市润州区团山路18号, 镇江市第二人民医院消化科。hyl198111@163.com

收稿日期: 2014-05-23 修回日期: 2014-06-06

接受日期: 2014-06-22 在线出版日期: 2014-08-08

Clinical effects of rabeprazole, omeprazole or ranitidine combined with amoxicillin and clarithromycin in treatment of peptic ulcer

Yi-Lin Hou, Qiang Liu

Yi-Lin Hou, Qiang Liu, Department of Gastroenterology, the Second People's Hospital of Zhenjiang, Zhenjiang 212000, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Yi-Lin Hou, Attending Physician, Department of Gastroenterology, the Second People's Hospital of Zhenjiang, 18 Tuanshan Road, Runzhou District, Zhenjiang 212000, Jiangsu Province, China. hyl198111@163.com
Received: 2014-05-23 Revised: 2014-06-06

Accepted: 2014-06-22 Published online: 2014-08-08

Abstract

AIM: To compare the clinical effects of rabeprazole, omeprazole or ranitidine combined with amoxicillin and clarithromycin in treatment of peptic ulcer.

METHODS: One hundred and eighty-six patients with peptic ulcer were divided into a rabeprazole group ($n = 65$), an omeprazole group ($n = 62$) or a ranitidine group ($n = 59$). They were treated with rabeprazole-amoxicillin-clarithromycin, omeprazole-amoxicillin-clarithromycin and ranitidine-amoxicillin-clarithromycin, respectively. The main symptoms, ulcer pain, rate of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) eradication, clinical effects and adverse reactions were compared.

RESULTS: The remission rates of main symptoms on day 3 and at weeks 1 and 2 post-treat-

ment in the rabeprazole group and omeprazole group were significantly higher than those in the ranitidine group ($P < 0.05$). There was no significant difference in the remission rate of main symptoms at week 4 among the three groups ($P > 0.05$). The rates of ulcer pain disappearance on day 3 and at week 1 in the rabeprazole group were significantly higher than those in the omeprazole group (81.54% vs 58.06%, 90.77% vs 77.42%, $P < 0.05$). The rates of ulcer pain disappearance on day 3 and at weeks 1, 2, and 4 in the rabeprazole group were significantly higher than those in the ranitidine group (81.54% vs 35.59%, 90.77% vs 62.71%, 100.00% vs 71.19%, 100.00% vs 93.22%, $P < 0.05$). The rates of ulcer pain disappearance on day 3 and at weeks 2 and 4 in the omeprazole group were significantly higher than those in the ranitidine group (77.42% vs 62.71%, 98.39% vs 71.19%, 100.00% vs 93.22%, $P < 0.05$). There was no significant difference in the rate of *H. pylori* eradication between the rabeprazole group and omeprazole group (95.38% vs 93.55%, $P > 0.05$), while the rates of *H. pylori* eradication in the rabeprazole group and omeprazole group were significantly higher than that in the ranitidine group (95.38%, 93.55% vs 79.66%, $P < 0.05$). There was no significant difference in the clinical effects between the rabeprazole group and omeprazole group (98.46% vs 91.94%, 100.00% vs 100.00%, $P > 0.05$). The healing rates and total effective rates were significantly higher in the rabeprazole group and omeprazole group than in the ranitidine group (98.46% vs 69.49%, 100.00% vs 88.14%, 91.94% vs 69.49%, 100.00% vs 88.14%, $P < 0.05$). There was no significant difference in the rate of adverse reactions among the three groups (1.54% vs 1.61% vs 3.39%, 0.00% vs 3.23% vs 0.00%, 0.00% vs 0.00% vs 1.69%, $P > 0.05$).

CONCLUSION: Rabeprazole containing regimen can result in a rapid response in patients with peptic ulcer and improve the clinical symptoms in a short time, but has few adverse reactions, representing the drug of first choice for patients with peptic ulcer.

■同行评议者

刘绍能, 主任医师, 中国中医科学院广安门医院消化科

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Rabeprazole; Omeprazole; Ranitidine; Peptic ulcer

Hou YL, Liu Q. Clinical effects of rabeprazole, omeprazole or ranitidine combined with amoxicillin and clarithromycin in treatment of peptic ulcer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(22): 3208-3213 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3208.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i22.3208>

摘要

目的: 比较雷贝拉唑、奥美拉唑、雷尼替丁分别联合阿莫西林和克拉霉素三联治疗消化性溃疡(peptic ulcer, PU)的临床效果。

方法: 按照患者意愿将镇江市第二人民医院收治的186例PU患者分为雷贝拉唑组65例、奥美拉唑组62例和雷尼替丁组59例, 分别给予雷贝拉唑、阿莫西林和克拉霉素三联治疗; 奥美拉唑、阿莫西林和克拉霉素三联治疗; 雷尼替丁、阿莫西林和克拉霉素三联治疗, 比较3组患者主要症状缓解情况、溃疡疼痛消失情况、幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)根除率、临床疗效以及不良反应发生情况。

结果: 雷贝拉唑组与奥美拉唑组患者治疗后3 d、1、2 wk主要症状缓解率均显著高于雷尼替丁组, (95.38% vs 38.98%)、(98.46% vs 38.98%)、(93.85% vs 35.59%)、(96.92% vs 69.49%)、(100.00% vs 69.49%)、(96.92% vs 71.19%)、(98.46% vs 77.97%)、(100.00% vs 76.27%)、(100.00% vs 74.58%)、(91.94% vs 38.98%)、(95.16% vs 38.98%)、(90.32% vs 35.59%)、(93.55% vs 69.49%)、(96.77% vs 69.49%)、(96.77% vs 71.19%)、(98.39% vs 77.97%)、(100.00% vs 76.27%)、(100.00% vs 74.58%), 差异具有统计学意义($P<0.05$); 雷贝拉唑组患者治疗后3 d、1 wk溃疡疼痛消失率均显著高于奥美拉唑组, (81.54% vs 58.06%)、(90.77% vs 77.42%), 差异具有统计学意义($P<0.05$); 雷贝拉唑组患者治疗后3 d、1、2、4 wk溃疡疼痛消失率均显著高于雷尼替丁组, (81.54% vs 35.59%)、(90.77% vs 62.71%)、(100.00% vs 71.19%)、(100.00% vs 93.22%), 差异具有统计学意义($P<0.05$); 奥美拉唑组患者治疗后3 d、2、4 wk溃疡疼痛消失率均显著高于雷尼替丁组, (77.42% vs 62.71%)、(98.39% vs 71.19%)、(100.00% vs 93.22%), 差异具有统计学意义($P<0.05$); 雷

贝拉唑组患者*H. pylori*根除率与奥美拉唑组患者比较, (95.38% vs 93.55%), 差异无统计学意义($P>0.05$); 雷贝拉唑组和奥美拉唑组患者*H. pylori*根除率均显著高于雷尼替丁组, (95.38% vs 79.66%)、(93.55% vs 79.66%), 差异具有统计学意义($P<0.05$); 雷贝拉唑组患者临床疗效与奥美拉唑组比较, (98.46% vs 91.94%)、(100.00% vs 100.00%), 差异无统计学意义($P>0.05$); 雷贝拉唑组和奥美拉唑组患者愈合率和总有效率均显著高于雷尼替丁组, (98.46% vs 69.49%)、(100.00% vs 88.14%)、(91.94% vs 69.49%)、(100.00% vs 88.14%), 差异具有统计学意义($P<0.05$); 3组患者不良反应发生率比较, (1.54% vs 1.61% vs 3.39%)、(0.00% vs 3.23% vs 0.00%)、(0.00% vs 0.00% vs 1.69%), 差异无统计学意义($P>0.05$)。

结论: 雷贝拉唑治疗PU起效迅速, 短期内可有效改善患者临床症状, 不良反应小, 是治疗PU的首选药物。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 雷贝拉唑; 奥美拉唑; 雷尼替丁; 消化性溃疡

核心提示: 本研究结果显示, 雷贝拉唑组患者治疗后不同时间段主要症状缓解率、溃疡疼痛消失率、愈合率、总有效率均最高, 两组患者不同时间段主要症状缓解率、愈合率和总有效率基本相似, 但雷贝拉唑组患者治疗后3 d、1 wk溃疡疼痛消失率均显著高于奥美拉唑组, 表明雷贝拉唑临床疗效优于奥美拉唑, 见效快于奥美拉唑。雷贝拉唑与奥美拉唑组患者主要症状缓解情况、溃疡疼痛消失情况以及临床疗效均显著优于雷尼替丁, 表明质子泵抑制剂疗效优于 H_2 受体拮抗剂。

侯义林, 刘强. 雷贝拉唑、奥美拉唑、雷尼替丁分别联合阿莫西林和克拉霉素三联治疗消化性溃疡的临床效果. *世界华人消化杂志* 2014; 22(22): 3208-3213 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3208.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i22.3208>

0 引言

消化性溃疡(peptic ulcer, PU)是消化系统常见疾病, 各个年龄段人群均可发病。PU诱发因素较为复杂, 酸性胃液对胃黏膜的消化作用是导致溃疡形成的主要因素^[1]。目前质子泵抑制剂已经逐渐取代碱性药物在PU治疗中广泛应用^[2]。奥美拉唑、潘托拉唑、雷贝拉唑等均为治疗PU的有效药物, 其中雷贝拉唑作为新一代质子泵抑制剂具

■ 研发前沿

目前, 临床上质子泵抑制剂+两种抗生素为治疗PU的标准方法, 抗生素能够显著提高质子泵抑制剂的抗幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)效果, 同时三联疗法也能改善*H. pylori*对抗生素的耐药情况。

■相关报道

药物治疗为治疗PU的首选方式,目前临床用药已经由碱性药物逐渐过渡为质子泵抑制剂。碱性药物主要是通过胃酸进行中和,从而降低胃和十二指肠内胃酸浓度,提高pH值,降低胃蛋白酶活性,保护黏膜细胞。但实践研究表明,长期服用碱性药物不良反应较大。

表 1 两组患者临床资料比较

分组	n	性别n(%)		平均年龄(岁)	溃疡部位n(%)		溃疡平均直径(cm)
		男	女		DU	GU	
雷贝拉唑组	65	40(61.54)	25(38.46)	40.02 ± 8.13	47(72.31)	18(27.69)	1.23 ± 0.38
奥美拉唑组	62	39(62.90)	23(37.10)	41.57 ± 8.56	45(72.58)	17(27.42)	1.12 ± 0.47
雷尼替丁组	59	39(66.10)	20(33.90)	39.68 ± 9.75	43(72.88)	16(27.12)	1.22 ± 0.35

DU: 十二指肠溃疡; GU: 胃溃疡。

有起效迅速、效果持久稳定等优点^[3]。目前,临床上质子泵抑制剂+两种抗生素为治疗PU的标准方法,抗生素能够显著提高质子泵抑制剂的抗幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)效果,同时三联疗法也能改善*H. pylori*对抗生素的耐药情况。现对镇江市第二人民医院采用雷贝拉唑、奥美拉唑、雷尼替丁治疗PU的临床疗效进行对照分析,报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2013-02/2014-02镇江市第二人民医院收治的186例PU患者作为研究对象。所有患者均符合《实用内科学》^[4]中PU相关诊断标准,经常规胃镜检查确诊。患者年龄为18-65岁,溃疡直径为0.3-2.0 cm,溃疡数目<2,十二指肠溃疡(duodenal ulcer, DU)135例,胃溃疡(gastric ulcer, GU)51例。所有患者入选前4 wk均停止使用质子泵抑制剂、H₂受体拮抗剂等可对本研究结果产生影响的药物。排除癌性溃疡或存在癌变可能的溃疡、复合性溃疡、多发性溃疡(溃疡数目>2)、胃底或食管静脉曲张、内镜下出血、对本研究药物过敏以及合并严重心、肝、肾功能障碍者^[5]。按照患者意愿将186例患者分为雷贝拉唑组65例、奥美拉唑组62例和雷尼替丁组59例。3组患者在性别、年龄、溃疡部位、溃疡直径等上差异无统计学意义($P>0.05$)(表1),具有可比性。所有患者均签署知情同意书,愿意配合为期4 wk的随访。雷贝拉唑(雷贝拉唑钠肠溶胶囊,江苏济川制药有限公司,国药准字: H20040916, 10 mg/粒);阿莫西林(阿莫西林片,四川援健药业有限公司,国药准字: H21023908, 0.25 g/片);克拉霉素(克拉霉素胶囊,上海海虹实业(集团)巢湖今辰药业有限公司,国药准字: H20083584, 0.25 g/粒);奥美拉唑(奥美拉唑肠溶胶囊,哈药集团三精制药诺捷有限责任公司,国药准字: H20064032, 20 mg/粒);雷尼替丁(盐酸雷尼替丁胶囊,江西汇仁药业有限公司,国药准

字: H36021340, 0.15 g/粒)。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 雷贝拉唑组给予雷贝拉唑、阿莫西林和克拉霉素三联治疗,雷贝拉唑10 mg/次,1次/d,阿莫西林0.5 g/次,2次/d,克拉霉素0.25 g/次,2次/d,连续治疗4 wk;奥美拉唑组给予奥美拉唑、阿莫西林和克拉霉素三联治疗,奥美拉唑20 mg/次,1次/d,阿莫西林和克拉霉素用药剂量与雷贝拉唑组相同,连续治疗4 wk;雷尼替丁组给予雷尼替丁、阿莫西林和克拉霉素三联治疗,雷尼替丁150 mg/次,2次/d,阿莫西林和克拉霉素用药剂量与雷贝拉唑组相同,连续治疗4 wk^[6]。

1.2.2 *H. pylori*根除检验: 采用¹³C或¹⁴C尿素呼气试验检测。

1.2.3 观察指标: (1)记录3组患者治疗后3 d、1、2、4 wk主要症状(腹痛、反酸、烧灼感)缓解情况和溃疡疼痛消失情况。比较3组患者治疗后*H. pylori*根除率、临床疗效以及不良反应(腹胀、头晕、头痛、恶心、口干等)发生情况;(2)*H. pylori*根除情况:以¹³C或¹⁴C尿素呼气试验检测结果为依据,阴性检测结果表示*H. pylori*根除;(3)疗效评价以胃镜检查结果为依据:痊愈:溃疡愈合,周围炎症完全消失;显效:溃疡愈合,周围炎症基本消失;有效:溃疡病灶缩小≥50%或溃疡数目减少;无效:溃疡无变化或缩小<50%^[7]。痊愈率=(痊愈+显效)/总病例数×100%,总有效率=(痊愈+显效+有效)/总病例数×100%。

统计学处理 使用SPSS17.0统计分析,用mean±SD表示计量资料,采用 t 检验,用百分比表示计数资料,采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3组患者治疗后不同时间段主要症状缓解情况比较 雷贝拉唑组患者治疗后3 d、1、2、4 wk主要症状缓解率均最高,雷贝拉唑组与奥美拉唑组患者治疗后3 d、1、2、4 wk主要症状缓解

表 2 3组患者治疗后不同时间段主要症状缓解情况比较 $n(\%)$

分组	症状	3 d	1 wk	2 wk	4 wk
雷贝拉唑组	腹痛	62(95.38) ^a	63(96.92) ^a	64(98.46) ^a	65(100.00)
	反酸	64(98.46) ^a	65(100.00) ^a	65(100.00) ^a	65(100.00)
	烧灼感	61(93.85) ^a	63(96.92) ^a	65(100.00) ^a	65(100.00)
奥美拉唑组	腹痛	57(91.94) ^a	58(93.55) ^a	61(98.39) ^a	62(100.00)
	反酸	59(95.16) ^a	60(96.77) ^a	62(100.00) ^a	62(100.00)
	烧灼感	56(90.32) ^a	60(96.77) ^a	62(100.00) ^a	62(100.00)
雷尼替丁组	腹痛	23(38.98)	41(69.49)	46(77.97)	57(96.61)
	反酸	23(38.98)	41(69.49)	45(76.27)	56(94.92)
	烧灼感	21(35.59)	42(71.19)	44(74.58)	57(96.61)

^a $P<0.05$ vs 同时间段雷尼替丁组。表 3 3组患者治疗后不同时间段溃疡疼痛消失情况比较 $n(\%)$

分组	3 d	1 wk	2 wk	4 wk
雷贝拉唑组	53(81.54) ^{ac}	59(90.77) ^{ac}	65(100.00) ^c	65(100.00) ^c
奥美拉唑组	36(58.06) ^c	48(77.42)	61(98.39) ^c	62(100.00) ^c
雷尼替丁组	21(35.59)	37(62.71)	42(71.19)	55(93.22)

^a $P<0.05$ vs 同时间段奥美拉唑组; ^c $P<0.05$ vs 同时间段雷尼替丁组。表 4 3组患者治疗后幽门螺杆菌根除情况比较 $n(\%)$

分组	n	¹³ C或 ¹⁴ C尿素呼气 试验检测阴性	¹³ C或 ¹⁴ C尿素呼气 试验检测阳性
雷贝拉唑组	65	62(95.38) ^a	3(4.62) ^a
奥美拉唑组	62	58(93.55) ^a	4(6.45) ^a
雷尼替丁组	59	47(79.66)	12(20.34)

^a $P<0.05$ vs 雷尼替丁组。

率比较, 差异无统计学意义($P>0.05$); 雷贝拉唑组与奥美拉唑组患者治疗后3 d、1、2 wk主要症状缓解率均显著高于雷尼替丁组, 差异具有统计学意义($P<0.05$); 3组患者治疗后4 wk主要症状缓解率比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)(表2)。

2.2 3组患者治疗后不同时间段溃疡疼痛消失情况比较 雷贝拉唑组患者治疗后3 d、1、2、4 wk溃疡疼痛消失率均最高, 雷贝拉唑组患者治疗后3 d、1 wk溃疡疼痛消失率均显著高于奥美拉唑组, 差异具有统计学意义($P<0.05$); 雷贝拉唑组患者治疗后3 d、1、2、4 wk溃疡疼痛消失率均显著高于雷尼替丁组, 差异具有统计学意义($P<0.05$); 奥美拉唑组患者治疗后3 d、2、4 wk溃疡疼痛消失率均显著高于雷尼替丁组, 差异具有统计学意义($P<0.05$)(表3)。

2.3 3组患者 $H. pylori$ 根除情况比较 雷贝拉唑组患者 $H. pylori$ 根除率与奥美拉唑组患者比较, 差异无统计学意义($P>0.05$); 雷贝拉唑组和奥美拉唑组患者 $H. pylori$ 根除率均显著高于雷尼替丁组, 差异具有统计学意义($P<0.05$)(表4)。

2.4 3组患者临床疗效比较 雷贝拉唑组患者临床疗效与奥美拉唑组比较, 差异无统计学意义($P>0.05$); 雷贝拉唑组和奥美拉唑组患者愈合率和总有效率均显著高于雷尼替丁组, 差异具有统计学意义($P<0.05$); 3组患者不良反应发生率比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)(表5)。所有患者不良反应均自行消失, 并未对治疗产生明显影响。

3 讨论

PU指发生于胃和十二指肠的慢性溃疡, 临床发

■应用要点

质子泵抑制剂具有较强的抑制胃酸分泌和抗 $H. pylori$ 作用, 起效迅速, 短期内可有效改善患者临床症状, 不良反应小, 是治疗PU的首选药物。

■同行评价

本文作者比较了雷贝拉唑、奥美拉唑、雷尼替丁治疗 *H. pylori* 相关性PU的临床效果, 对临床合理选择治疗PU治疗药物有一定的指导意义。

表 5 3组患者临床疗效比较 $n(\%)$

分组	临床疗效						不良反应		
	痊愈	显效	有效	无效	愈合率(%)	总有效率(%)	头晕	恶心、腹胀	口干
雷贝拉唑组	28(43.08) ^a	36(55.38)	1(1.54) ^a	0(0.00) ^a	98.46 ^a	100.00 ^a	1(1.54)	0(0.00)	0(0.00)
奥美拉唑组	18(29.03)	39(62.90)	5(8.06)	0(0.00) ^a	91.94 ^a	100.00 ^a	1(1.61)	2(3.23)	0(0.00)
雷尼替丁组	13(22.03)	28(47.46)	11(18.64)	7(11.86)	69.49	88.14	2(3.39)	0(0.00)	1(1.69)

^a $P < 0.05$ vs 雷尼替丁组。

病率较高。PU发病原因复杂, 目前公认的发病机制为黏液、碳酸氢盐屏障、上皮生长因子等胃肠黏膜保护机制与胃酸、酒精、胃蛋白酶、药物等攻击因子失衡^[8]。药物治疗为治疗PU的首选方式, 目前临床用药已经由碱性药物逐渐过渡为质子泵抑制剂。碱性药物主要是通过与胃酸进行中和, 从而降低胃和十二指肠内胃酸浓度, 提高pH值, 降低胃蛋白酶活性, 保护黏膜细胞。但实践研究表明, 长期服用碱性药物不良反应较大^[9]。

H₂受体拮抗剂的出现使PU的临床治疗取得了较大进展, 其主要起效机制为竞争性阻断H₂受体, 抑制组胺与H₂受体结合, 从而达到抑制胃酸分泌的效果, 本研究中使用的雷尼替丁即为第二代H₂受体拮抗剂^[10]。新一代H₂受体拮抗剂较前一代临床效果更强, 但也不能够达到完全治愈的目的, 同时用药后也会对患者肾脏排泄产生影响, 尤其对于肾功能不良的患者, 应激反应较明显, 临床效果不能令人满意^[11]。

质子泵抑制剂是目前临床上抑制胃酸分泌效果最强的一类药物, 是PU治疗中的巨大突破。质子泵抑制剂主要是通过抑制H⁺-K⁺-ATP酶的活性, 阻止壁细胞将H⁺由细胞内转运至细胞外, 降低了胃腔内胃酸的生成^[12]。本研究中使用的奥美拉唑为第一代质子泵抑制剂, 临床研究表明奥美拉唑在治疗DU上4 wk愈合率超过80%, 在治疗GU上6 wk愈合率超过85%。第二代质子泵抑制剂潘托拉唑和兰索拉唑与奥美拉唑疗效相似, 但临床应用过程中发现给药时间和进餐时间可影响药效, 减小较慢, 需多次给药方可达到抑酸效果, 促进溃疡愈合效果的稳定性较差, 应用效果不能令人满意^[13]。雷贝拉唑为新一代质子泵抑制剂, 不同于其他质子泵抑制剂的代谢方式, 其不受CYP2C19代谢的影响, 因此不同人群使用疗效差异较小, 药物间相互作用也小。另外, *H. pylori*感染已经被证实是引起PU的重要病因^[14]。质子泵抑制剂能够有效根除*H. pylori*, 促进溃疡

愈合, 降低溃疡复发率, 其主要作用机制为阻断*H. pylori*的SH残基, 抑制尿素酶产生^[15]。体外研究表明, 雷贝拉唑在抗*H. pylori*效果上优于其他类型质子泵抑制剂, 与本研究结果一致^[16]。

本研究结果显示, 雷贝拉唑组患者治疗后不同时间段主要症状缓解率、溃疡疼痛消失率、愈合率、总有效率均最高, 两组患者不同时间段主要症状缓解率、愈合率和总有效率基本相似, 但雷贝拉唑组患者治疗后3 d、1 wk溃疡疼痛消失率均显著高于奥美拉唑组, 表明雷贝拉唑临床疗效优于奥美拉唑, 见效快于奥美拉唑。雷贝拉唑与奥美拉唑组患者主要症状缓解情况、溃疡疼痛消失情况以及临床疗效均显著优于雷尼替丁, 表明质子泵抑制剂疗效优于H₂受体拮抗剂, 与上述文献报道内容相符。3组患者均未发生明显不良反应, 个别有轻微头晕、恶心、腹胀、口干者临床症状均自行消失, 表明3种药物安全性均较高。

总之, 质子泵抑制剂具有较强的抑制胃酸分泌和抗*H. pylori*作用, 起效迅速, 短期内可有效改善患者临床症状, 不良反应小, 是治疗PU的首选药物。

4 参考文献

- 姚宏昌. 消化性溃疡研究的若干进展. 医学与哲学(临床决策论坛版) 2010; 31: 8-11
- 尹江燕, 陈道荣. 消化性溃疡药物治疗的进展. 医学综述 2013; 19: 2000-2002
- 唐娟. 常用质子泵抑制剂治疗消化性溃疡疗效分析. 中国药物经济学 2013; 8: 104-105
- 陈灏珠, 林果为, 王吉耀. 实用内科学. 第14版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 121-128
- Garrow D, DeLegge MH. Risk factors for gastrointestinal ulcer disease in the US population. Dig Dis Sci 2010; 55: 66-72 [PMID: 19160043 DOI: 10.1007/s10620-008-0708-x]
- 莫翠毅, 杨维忠. 奥美拉唑联合克拉霉素、阿莫西林治疗老年消化性溃疡35例. 中国老年学杂志 2014; 34: 478-479
- Kang JM, Kim N, Lee BH, Park HK, Jo HJ, Shin CM, Lee SH, Park YS, Hwang JH, Kim JW, Jeong SH, Lee DH, Jung HC, Song IS. Risk factors for peptic ulcer

- bleeding in terms of *Helicobacter pylori*, NSAIDs, and antiplatelet agents. *Scand J Gastroenterol* 2011; 46: 1295-1301 [PMID: 21815866 DOI: 10.3109/00365521.2011.605468]
- 8 张晗, 刘鹏年, 崔雷. 国外消化性溃疡文献研究热点的分析. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 1150-1155
- 9 Ahrens D, Chenot JF, Behrens G, Grimmshmann T, Kochen MM. Appropriateness of treatment recommendations for PPI in hospital discharge letters. *Eur J Clin Pharmacol* 2010; 66: 1265-1271 [PMID: 20694459 DOI: 10.1007/s00228-010-0871-9]
- 10 李崎, 曾宏辉. 2009-2011年复旦大学附属金山医院抗消化性溃疡药应用分析. *中国医院用药评价与分析* 2013; 13: 204-206
- 11 李拓健, 赵小兰. 含雷贝拉唑与枸橼酸铋雷尼替丁的两种三联疗法治疗消化性溃疡的疗效比较. *中国药房* 2014; 25: 1094-1096
- 12 Bardou M, Barkun AN. Preventing the gastrointestinal adverse effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: from risk factor identification to risk factor intervention. *Joint Bone Spine* 2010; 77: 6-12 [PMID: 20022539 DOI: 10.1016/j.jbspin.2009.11.008]
- 13 Wu CY, Wu CH, Wu MS, Wang CB, Cheng JS, Kuo KN, Lin JT. A nationwide population-based cohort study shows reduced hospitalization for peptic ulcer disease associated with *H pylori* eradication and proton pump inhibitor use. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: 427-431 [PMID: 19264578 DOI: 10.1016/j.cgh.2008.12.029]
- 14 游海梅, 胡团敏. IL-10、TNF- α 在不同菌型幽门螺杆菌感染消化性溃疡中的表达. *世界华人消化杂志* 2014; 22: 742-746
- 15 孙保华, 卢世云, 陈登登, 潘秀珍. 胃、十二指肠溃疡幽门螺杆菌感染及相关病因回顾性分析204例. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 628-630
- 16 杨伶俐, 徐帆, 李全秀. 幽门螺旋杆菌所致消化性溃疡治疗研究进展. *中国医药导报* 2009; 6: 7-9

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》于 2012-12-26 获得 RCCSE 中国权威学术期刊 (A+) 称号

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

科学健康教育指导提高慢性胃炎临床防治效果的方法及意义

王晓鸽, 唐旭东, 王萍, 王凤云

■背景资料

2012年《中国慢性胃炎共识意见》中指出我国慢性胃炎尤其是慢性萎缩性胃炎的发病率较高,一般与胃癌的发病率呈正相关。目前药物治疗可以暂时缓解症状,但容易复发。

王晓鸽, 中国中医科学院研究生院 北京市 100700
唐旭东, 王萍, 王凤云, 中国中医科学院西苑医院 北京市 100091
王晓鸽, 主要从事中医内科学消化系统疾病方面的研究。
中医药行业科研专项基金资助项目, No. 201007006
作者贡献分布: 此文章由唐旭东与王晓鸽设计; 王萍与王凤云参与评价; 论文写作由王晓鸽完成。
通讯作者: 唐旭东, 教授, 100091, 北京市海淀区西苑操场1号院, 中国中医科学院西苑医院。txdly@sina.com
电话: 010-62835001
收稿日期: 2014-04-23 修回日期: 2014-06-13
接受日期: 2014-06-22 在线出版日期: 2014-08-08

Health education and guidance improve preventive and therapeutic effects on chronic gastritis

Xiao-Ge Wang, Xu-Dong Tang, Ping Wang, Feng-Yun Wang

Xiao-Ge Wang, Graduate School of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China
Xu-Dong Tang, Ping Wang, Feng-Yun Wang, Xiyuan Hospital of China Academy of Chinese Medical Science, Beijing 100091, China
Supported by: the Special Fund of TCM Scientific Research, No. 201007006
Correspondence to: Xu-Dong Tang, Professor, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese, 1 Xiyuan Playground, Haidian District, Beijing 100091, China. txdly@sina.com
Received: 2014-04-23 Revised: 2014-06-13
Accepted: 2014-06-22 Published online: 2014-08-08

Abstract

Chronic gastritis (CG) is a disease frequently encountered in gastroenterology department, and it is characterized by high incidence, longer course and easy relapse. Therefore, CG has a severe impact on people's health and quality of life. Simple drug treatment often cannot achieve desired efficacy, and the curative effect is unsustained. This situation is closely related to the lack of awareness and attention of this disease. Thus, strengthening health education and guidance in patients is very important for improving the clinical control effect for this disease. This review aims to review the significance of health education and guidance for CG and propose specific methods to provide a reference for clinical treatment of this disease.

cal treatment of this disease.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Chronic gastritis; Health education; Diet habit; Emotion; Normative medication; Living habits

Wang XG, Tang XD, Wang P, Wang FY. Health education and guidance improve preventive and therapeutic effects on chronic gastritis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(22): 3214-3218 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3214.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3214>

摘要

慢性胃炎(chronic gastritis, CG)为消化内科常见病和多发病,病情迁延反复,严重影响患者的生活质量。单纯药物治疗往往不能收到理想的效果,治疗效果也难以长期保持,这与患者对该病认识和重视不足有密切关系。研究发现加强CG患者健康教育指导对增加治疗依从性、提高和保持治疗效果,减少病情反复有重要作用。此文从文献角度,总结和分析健康教育指导对于提高CG临床防治效果的价值及意义,明确了具体方法,为临床诊疗工作提供参考。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 慢性胃炎; 健康教育; 饮食; 情志; 规范用药; 生活习惯

核心提示: 对慢性胃炎患者进行科学健康教育,从根源上有效控制影响疾病治疗的不良因素,才能够有效防治疾病,具有较高临床实用价值。

王晓鸽, 唐旭东, 王萍, 王凤云. 科学健康教育指导提高慢性胃炎临床防治效果的方法及意义. *世界华人消化杂志* 2014; 22(22): 3214-3218 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3214.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3214>

0 引言

慢性胃炎(chronic gastritis, CG)是一种由多种病

■同行评议者

蓝宇, 教授, 北京积水潭医院消化科; 高泽立, 副教授, 周浦医院消化科, 上海交大医学院九院周浦分院

因引起的胃黏膜慢性炎症,是消化内科常见病和多发病,根据其黏膜病理特点分为慢性浅表性胃炎(chronic superficial gastritis, CSG)和慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)^[1].我国CG的发病率较高,约占内镜检查人数的80%-90%,各型CG中,CSG约占59.3%,CAG为23.2%(多为轻度)^[2].其中CAG以中老年患者居多,少数伴有肠上皮化生(intestinal metaplasia, IM)和异型增生(dysplasia, Dys),后者与胃癌发生密切相关^[3].CG病程绵长,病情反复发作,疗效难以维持,给患者造成身体、心理等方面的负面影响.

健康教育是通过有计划、有组织、有系统的社会教育活动,提高人群对健康的认识,养成科学、文明、健康的生活习惯.健康教育的核心是教育人们树立健康意识、促使人们改变不健康的行为生活方式,养成良好的行为生活方式,以降低或消除影响健康的危险因素^[4].由于社会各类人群学习需求不同,健康教育要设计不同的教育方式和内容,即要开展有目标性的培训学习.目前目标性健康教育已经在糖尿病^[5]、高血压^[6]、支气管哮喘^[7]等疾病的防治中发挥着重要作用.CG为慢性反复发作性疾病,其干预除规范药物治疗提高治疗效果外,也应重视加强疾病知识宣传普及、纠正不良饮食习惯和生活习惯、情志疏导等健康教育指导工作^[8].我们通过总结分析近十年文献研究发现,对于CG患者的健康教育指导工作主要从以下几个方面着手.

1 饮食及生活习惯

1.1 合理饮食 饮食因素是CG病情反复的一个主要原因,包括饮食种类、饮食方式,饮食与服药安排等方面.饮食种类主要包括:饮食生冷、辛辣刺激、腌制或者粗糙难消化的食物,这些食物对胃黏膜造成不同程度的物理刺激,损伤胃黏膜^[9];饮食方式包括:三餐不定时,饥饱无常.饥饿时,胃内的胃酸、蛋白酶缺少食物的中和作用,浓度较高,易造成黏膜的自我损伤.暴饮暴食又易损害胃的自我保护机制,胃壁过多扩张,食物停留时间过长等都会促成胃损伤^[10].饮食与服药时间的安排方面,阿斯匹林等非甾体抗炎药物^[11,12]、皮质类固醇等激素类药物^[13]均对胃黏膜有化学性刺激,餐前服用可引起胃黏膜炎症、糜烂,甚至溃疡,这些都是造成CG发生和病情反复的重要饮食因素.良好的饮食习惯对CG的防治有着重要的作用,张文珍等^[14]通过

对33例饮食不当患者进行饮食调整,生活指导之后患者的幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)转阴率增加,与对照组相比具有统计学差异.CG患者应当以质软、温和、清淡易消化食物为主,饮食三餐有节律,避免暴饮暴食^[15].如果同时合并其他疾病需要服用对胃黏膜有刺激的药物,应当饭后服用.睡眠前2-3 h避免进餐,以免刺激胃酸分泌损伤胃黏膜^[16].

此外,有研究^[17-19]发现CG的保护因素为多喝绿茶.俞顺章等^[20]在饮绿茶对胃癌、CG发病影响的流行病学调查中发现饮绿茶可降低胃癌和CG危险度各54%.这与绿茶中茶多酚(tea polyphenols)的主要有效成分表没食子儿茶素酸酯(epigallocatechin gallate, EGCG)的抗氧化作用有关.CG多数有*H. pylori*感染病史^[21],*H. pylori*感染可抑制胃中抗坏血酸(维生素C)的分泌,胃中抗坏血酸减少,茶多酚的多个酚性-OH容易氧化而提供质子H,因而有强烈的抗氧化(类似维生素C抗坏血酸作用),清除氧自由基的作用^[22].故在饮食方面,多喝绿茶是CG的保护因素之一.除茶多酚外,大蒜素^[23]、叶酸^[24,25]、维生素C^[26]、微量元素硒^[27]等生物活性食物成分也被认为具有减缓CG发展、预防胃癌的作用.

1.2 忌烟戒酒 烟草中的尼古丁可以影响胃黏膜的血液循环并削弱消化系的防御能力,导致幽门括约肌功能紊乱,造成胆汁返流,破坏黏膜屏障^[28].吸烟是胃癌发病的危险因素,吸烟量每增加一个等级,胃癌的发病率会变为原来的1.5倍^[29].酒精对胃黏膜可造成强烈的刺激,久之可使胃黏膜充血、水肿,发生胃炎^[30].还有研究认为长期慢性饮酒可以胃黏膜前列腺素E2分泌减少^[31],表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)分泌增加^[32],可以说烟酒是加剧CG的发生与发展的风险因素之一.临床研究^[33]证明CG患者用药联合戒烟戒酒生活习惯改变组总改善率为82.1%,高于单纯用药组的67.0%.故忌烟戒酒应当作为对CG目标性健康教育的重要内容.

1.3 体育锻炼 有研究^[34]显示,约25%的癌症可以归因于体质量超标和久坐的生活方式.Cook等^[35]进行的一项针对480万人的临床流行病学调查发现适当的体育锻炼与胃癌的发病率呈负相关[相对危险度(odds ratio, OR) = 0.64, 95%可信区间(95%CI): 0.42-0.98].调查发现健康人群和CG患者人群参加体育锻炼方面存在着显著性差异^[36],健康人群参加体育锻炼者的时间大多超过30 min且能持之以恒;CG患者人群的锻炼较

■研究前沿

慢性胃炎影响因素众多,除规范药物治疗外,对患者进行科学的健康教育将成为治疗慢性胃炎的一个重要手段,集中专家共识制定科普版的慢性胃炎专病防治指南成为目前亟待解决的问题.

■相关报道

近年来,科学健康教育对提高胃炎疗效的作用逐渐引起人们的重视,不仅是中老年人,有研究报道了当代大学生慢性胃炎患病率高,病情知晓率低,也应当加强慢性胃炎的健康教育.

■创新盘点

本文分析并明确了近年来科学健康教育治疗慢性胃炎的具体方法,为临床医护人员提供依据及参考。

少且频率不足。因此体育锻炼也是防治CG的重要举措,适当的体育锻炼对胃病患者的作用机制主要包括:(1)增强机体免疫力,增强胃黏膜抗 *H. pylori* 的能力;(2)调节胃酸的分泌;(3)增强机体对社会抗压能力^[37]。腹部锻炼的加强还可以促进机体胃肠道的蠕动,进而促进食物的消化和吸收,增加抗病能力。适合于胃病患者的运动包括:气功、太极拳、步行、慢跑、骑自行车等,这些运动对消除腹胀、嗝气、促进炎症恢复有一定作用^[38]。

2 规范用药

CG患者数量众多,多为中老年人群,往往合并疾病多,且常常多种药品长期混用,因此不合理用药的发生率较高。伍晓剑^[39]在对2000例病例资料回顾性分析发现,消化内科不合理用药情况主要为药物使用量大(占44.96%);重复用药(占31.78%);联合用药药效降低或药物拮抗(占15.50%);药物连用不良反应增强(占7.75%)。

不合理用药主要表现为:(1)用法用量不当:主要表现为抑酸药使用剂量过大,抗生素用法不当与使用时间过长。一般H₂受体拮抗剂,如西咪替丁药物口服1次(400 mg),每日仅需使用2次,无需增加药物剂量。而质子泵抑制剂如奥美拉唑(20 mg),最大剂量为每日2次。抗生素一般使用10-14 d即可达到较好的效果,长期使用,容易引起耐药性和不良反应^[40]。临床上有5%-12%的病例未能成功根除 *H. pylori* 的根本原因在于 *H. pylori* 对抗生素产生耐药和患者的依从性,而非增加或延长抗生素的使用^[41];(2)重复用药:一些药物商品名称不同,但化学成分相同或化学成分不同但作用相似,因而仅凭药物名称用药,可能造成相同药物的重复用药,从而引起不良反应^[42];(3)联合用药药效降低:胃肠促动药(多潘立酮、莫沙必利等)与抑酸药合用会使抑酸药在胃中停留时间减少,从而降低其疗效^[43]。H₂受体拮抗剂合用抗酸剂(如碳酸铝镁等)后,抗酸剂和胃酸可在胃黏膜表面形成保护膜,使H₂受体拮抗剂的吸收降低20%-30%^[44];(4)联合用药不良反应增加:胃动力药吗丁啉与胃复安,两者都有增强胃肠道蠕动、促进胃的排空的作用,由于药理作用不同,如二者合用,会增加药物的不良反应^[45]。因此消化科医生应提升自身的专业知识,避免不合理用药,同时要对患者讲解有关药物的注意事项、服用方法等,在发现使用不合理时应及时予以更正。

■应用要点

本文为临床医护人员治疗慢性胃炎提供了切实有依据的健康教育方法,有助于临床疗效的提高,有较好的应用前景。

3 保持良好的精神状态

CG的发生常与情志的失调密切相关。惠起源等^[46]在探讨胃癌高发区人群CG发病和社会心理因素的相关性中发现:(1)CSG组人际关系敏感、强迫症所占比例明显高于对照组,睡眠差高于对照组($P<0.05$);(2)CAG组强迫症明显高于对照组,人际关系敏感度高于对照组($P<0.05$)。同时张志敏等^[47]发现CG现有的响因素中情志影响最大,其次为过劳、天气和过食。

黄振鹏等^[48]对305例慢性非萎缩性胃炎患者伴情绪障碍原因临床分析发现CG患者的不良情绪主要是由于对疾病知识了解较少,病情易反复,使患者易发生抑郁、焦虑等情绪障碍。医护人员对有疑虑、恐惧的患者进行交流,对CG伴IM和Dys与胃癌的关系客观地进行解释,指导患者保持乐观的精神,利于从总体上提高治疗效果^[49]。有研究^[50]证实, *H. pylori* 阴性的CG患者存在抑郁情绪,加用抗抑郁药物治疗是有效的。李金莲等^[51]在常规中西医结合治疗的基础上,进行良好的饮食护理和用药护理,同时按需施心理护理,坚持治疗8 wk后患者的焦虑自评量表(self-rating anxiety scale, SAS)、抑郁自评量表(self-rating depression scale, SDS)评分较治疗前明显下降($P<0.05$),心理治疗效果一般起效较慢,但坚持使用,效果较好,有较好的辅助作用。

4 结论

CG的防治与患者的生活关系密切,患者饮食等生活方式不科学或者对病情缺乏正确认识,依从性差,都不利于本病的防治,而经过健康教育或者防治知识的普及,患者对疾病有了理性认识,依从性提高,饮食生活习惯及规范用药也能做到严格要求,减轻对疾病的紧张焦虑情绪,从根源上有效控制影响疾病治疗的不良因素,疾病的防治才能够收到成效。此外,集中专家共识制定科普版的CG的专病防治指南,可以对患者的健康教育起到广泛的指导性作用,为医患沟通提供一个更好的桥梁,使CG患者乃至健康人对胃病有一个全面、清晰的认识。故加强CG患者的健康教育指导意义重大,是我们医者在诊治疾病过程中不可小视的重要环节。

5 参考文献

- 1 蔡新华,李艳萍. 消化系统病学词典. 第1版. 郑州:河南科学技术出版社,2007: 116
- 2 房静远,刘文忠,李兆申,杜亦奇,纪小龙,戈之铮,李延青,姒健敏,吕农华,吴开春,萧树东. 中国慢性胃炎

- 共识意见. 中华消化杂志 2013; 33: 24-36
- 3 房殿春. 胃黏膜癌前病变的研究进展. 现代消化及介入诊疗 2013; 18: 87-90
 - 4 汪翼, 解晨. 中华内科护理“三基”训练手册. 第1版. 济南: 山东科学技术出版社, 2006: 33-36
 - 5 何筱莹, 李梅忠, 阮佩珊, 黄燕萍, 闵运兵, 王丹, 彭妙官, 张琦, 蒋培培, 许燕莉, 廖志红. 互动模式健康教育在改善糖尿病患者遵医行为中的应用研究. 中国全科医学 2010; 13: 1450-1452
 - 6 王辉, 邓咏梅. 健康教育在高血压病治疗中的作用. 现代预防医学 2009; 36: 485-488
 - 7 张海英, 任晓蕾, 冯婉玉. 健康教育对哮喘患者哮喘控制影响的Meta分析. 中国药理学杂志 2014; 49: 80-84
 - 8 何林娣. 目标性健康教育干预应用于慢性胃炎患者临床观察. 中国乡村医药杂志 2012; 19: 14-15
 - 9 陈瑛. 农村几种常见消化系统疾病的饮食习惯调查与评价. 陕西医学杂志 2002; 31: 183-184
 - 10 殷艳. 慢性胃炎病人的饮食保健. 中国疗养医学 2010; 19: 495-497
 - 11 Czyżewska J. Risk factors in gastric cancer. *InTech* 2013: 55-73 [DOI: 10.5772/52136]
 - 12 王蔚虹, 胡伏莲. 非甾体抗炎药和幽门螺杆菌在体内外的相互作用. 中国医药导刊 2007; 9: 96-97
 - 13 马娟, 王启仪, 沙卫红. 糖皮质激素与胃黏膜损伤. 世界华人化杂志 2011; 19: 1145-1149
 - 14 张文珍, 任华伟, 帕里哈. 慢性浅表性胃炎病情反复原因观察及健康教育. 吉林医学 2012; 33: 6421-6422
 - 15 殷艳. 慢性胃炎病人的饮食保健. 中国疗养医学 2010; 19: 495-497
 - 16 赵海霞. 慢性萎缩性胃炎的护理干预及探讨. 世界最新医学信息文摘·电子版 2013; 13: 353-354
 - 17 胡桃英, 杨安林, 马天雯. 中医健康宣传指导对慢性胃炎的干预效果及意义. 上海中医药杂志 2007; 4: 21-22
 - 18 Chen D, Milacic V, Chen MS, Wan SB, Lam WH, Huo C, Landis-Piowar KR, Cui QC, Wali A, Chan TH, Dou QP. Tea polyphenols, their biological effects and potential molecular targets. *Histol Histopathol* 2008; 23: 487-496 [PMID: 18228206]
 - 19 Setiawan VW, Zhang ZF, Yu GP, Lu QY, Li YL, Lu ML, Wang MR, Guo CH, Yu SZ, Kurtz RC, Hsieh CC. Protective effect of green tea on the risks of chronic gastritis and stomach cancer. *Int J Cancer* 2001; 92: 600-604 [PMID: 11304697 DOI: 10.1002/ijc.1231]
 - 20 俞顺章, 张作风, 俞国培, 朱文锦, 李永良, 王明荣, 郭春华, 谢忠诚. 饮绿茶对胃癌、慢性胃炎发病影响的流行病学调查. 中国癌症杂志 2001; 11: 41-45
 - 21 中华医学会消化病学分会. 中国慢性胃炎共识意见. 现代消化及介入诊疗 2007; 12: 55-62
 - 22 Brenner H, Arndt H, Stürmer T, Stegmaier C, Ziegler H, Dhom G. Individual and joint contribution of family history and Helicobacter pylori infection to the risk of gastric carcinoma. *Cancer* 2000; 88: 274-279 [PMID: 10640957 DOI: 10.1002/(SICI)1097-0142(200011)88:2<274::AID-CNCR5>3.0.CO;2-9]
 - 23 李文利, 解祥军, 姜大磊, 张爱军, 高玉强, 战淑慧. 大蒜素治疗幽门螺旋杆菌阴性慢性萎缩性胃炎的疗效评价. 中华实验和临床感染病杂志(电子版) 2013; 7: 869-872
 - 24 刘丽华, 张方信. 胃癌前病变中ONA甲基化状态与叶酸. 世界华人消化杂志 2005; 13: 2770-2772
 - 25 杨佳琦, 姚水明, 王佩芳. 叶酸治疗慢性萎缩性胃炎临床疗效观察. 临床消化病杂志 2000; 12: 37-38
 - 26 Kohler JE, Blass AL, Liu J, Tai K, Soybel DI. Antioxidant pre-treatment prevents omeprazole-induced toxicity in an in vitro model of infectious gastritis. *Free Radic Biol Med* 2010; 49: 786-791 [PMID: 20554018 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.05.034]
 - 27 王海宏, 谢忠忱. 硒的生物学功能及其机理研究. 动物营养学报 2003; 15: 6-11
 - 28 洪文君. 不良生活方式对慢性胃炎发病的影响. 国际消化病杂志 2007; 27: 392
 - 29 孙晓东, 黄育北, 王波. 中国人群吸烟与胃癌发病关系的Meta分析. 中国慢性病预防与控制 2009; 17: 247-250
 - 30 陈韶华, 厉有名. 酒精性胃粘膜损伤的研究进展. 国际消化病杂志 2006; 26: 249-250
 - 31 Takeuchi K. Gastric cytoprotection by prostaglandin E2 and prostacyclin: relationship to EP1 and IP receptors. *J Physiol Pharmacol* 2014; 65: 3-14 [PMID: 24622825]
 - 32 曲宝义, 潘锦敦, 王中东, 韩新海, 乔瑞玲, 葛慧, 张晓光. 长期饮酒胃黏膜病理改变与PGE2和EGF的关系. 胃肠病学和肝病学杂志 2011; 20: 801-803
 - 33 盛志坚, 熊琦, 黄锦蓉. 饮食及行为干预对慢性胃炎的影响. 实用临床医学 2010; 5: 20-23
 - 34 Osório-Costa F, Rocha GZ, Dias MM, Carvalheira JB. Epidemiological and molecular mechanisms aspects linking obesity and cancer. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2009; 53: 213-226 [PMID: 19466214 DOI: 10.1590/S0004-27302009000200013]
 - 35 Cook MB, Matthews CE, Gunja MZ, Abid Z, Freedman ND, Abnet CC. Physical activity and sedentary behavior in relation to esophageal and gastric cancers in the NIH-AARP cohort. *PLoS One* 2013; 8: e84805 [PMID: 24367697 DOI: 10.1371/journal.pone.0084805]
 - 36 张碧娟, 张瑛, 陈少贤. 慢性胃炎及消化性溃疡病人的生命质量分析与保健建议. 中国初级卫生保健 2000; 14: 51-53
 - 37 Cheng Y, Macera CA, Davis DR, Blair SN. Does physical activity reduce the risk of developing peptic ulcers? *Br J Sports Med* 2000; 34: 116-121 [PMID: 10786867 DOI: 10.1136/bjsm.34.2.116]
 - 38 余丽珍. 慢性萎缩性胃炎的康复护理. 现代康复 1997; 1: 298
 - 39 伍晓剑. 消化内科常见不合理用药问题的研究分析. 当代医学 2011; 17: 22-33
 - 40 胡伏莲, 胡品津, 刘文忠, 王继德, 吕农华, 萧树东, 张万岱, 成虹, 谢勇. 第三次全国幽门螺杆菌感染若干问题共识报告. 临床药物治疗杂志 2008; 6: 13-18
 - 41 杨冬华, 陈晏湖. 消化系统疾病治疗学. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 149
 - 42 于沁, 张智. 慢性胃炎不合理用药分析与对策. 现代诊断与治疗 2013; 24: 1028
 - 43 梅杰, 李芳, 陈建敏, 张晓, 杨拯. 胃黏膜屏障与胃溃疡的研究进展. 实用外科杂志 2009; 25: 841-843
 - 44 周殿元, 陈焯. 幽门螺杆菌感染的药物治疗新进展. 世界华人消化杂志 2005; 13: 157-159
 - 45 冯俊英. 从药理机制方面分析胃炎、胃溃疡治疗中的不合理用药情况. 临床合理用药 2012; 12: 93-94
 - 46 惠起源, 魏晓萍, 冯义朝. 胃癌高发区人群慢性胃炎发病和社会心理因素的相关性. 临床消化病杂志 2011; 23: 19-22
 - 47 张志敏, 刘义海, 潘素滢. 广州地区慢性胃炎408例危险因素分析. 河南中医 2008; 28: 37-39
 - 48 黄振鹏, 梁仲惠, 蓝丽萨, 杨显芬. 慢性非萎缩性胃炎患者伴情绪障碍原因临床分析. 胃肠病学和肝病学杂志 2013; 22: 1119-1121
 - 49 邓晶儿, 邓群英. 系统护理干预对慢性萎缩性胃炎患者治疗效果及负性情绪的影响. 中国当代医学 2013; 20: 136-137

■名词解释

异型增生(dysplasia, Dys): 又叫非典型增生, 是细胞在再生过程中过度增生和丧失正常的分化, 在结构和功能上偏离正常轨道, 形态学上表现出细胞的异型性和腺体结构的紊乱. 异型增生分为轻度、中度和重度. 轻中度需要随访, 重度需要确认证实后并做内镜下治疗.

■同行评价

本文较全面地综述了科学健康教育指导对提高慢性胃炎临床防治效果的作用,有一定临床参考价值。

- 50 Bond EF, Heitkemper MM, Bailey SL. Estrogen suppresses gastric motility response to thyrotropin-releasing hormone and stress in awake rats. *Res*

- 51 *Nurs Health* 1998; 21: 221-228 [PMID: 9609507]
李金莲, 陈齐凤. 慢性胃炎的心理护理. *现代医院* 2010; 10: 114-115

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

1 修回稿信件

来稿包括所有作者签名的作者投稿函。内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表,所有作者均符合作者条件,所有作者均同意该文代表其真实研究成果,保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系,修改并最终审核核稿; (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。

与胃癌侵袭转移相关的microRNA的研究进展

李道江, 张国阳, 揭志刚, 李正荣

李道江, 张国阳, 揭志刚, 李正荣, 南昌大学第一附属医院胃肠外科 江西省南昌市 330006
李道江, 硕士, 主要从事胃肠肿瘤的基础及临床研究.
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81360362, 30901429, 81160304
江西省教育厅科学技术研究基金资助项目, No. CJJ13126
江西省青年科学家培养计划基金资助项目, No. 20133BCB23028
作者贡献分布: 本文综述由李道江与张国阳完成; 李正荣与揭志刚审核.
通讯作者: 李正荣, 副教授, 330006, 江西省南昌市永外正街17号, 南昌大学第一附属医院胃肠外科. lzl13@foxmail.com
电话: 0791-88692522
收稿日期: 2014-05-20 修回日期: 2014-06-04
接受日期: 2014-06-06 在线出版日期: 2014-08-08

MicroRNAs related to invasiveness and metastasis of gastric cancer

Dao-Jiang Li, Guo-Yang Zhang, Zhi-Gang Jie, Zheng-Rong Li

Dao-Jiang Li, Guo-Yang Zhang, Zhi-Gang Jie, Zheng-Rong Li, Department of Gastrointestinal Surgery, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81360362, 30901429 and 81160304; the Science and Technology Research Project of Education Department of Jiangxi Province, No. CJJ13126; Training Program for Young Scientists of Jiangxi Province, No. 20133BCB23028
Correspondence to: Zheng-Rong Li, Associate Professor, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, 17 Yongwai Road, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. lzl13@foxmail.com
Received: 2014-05-20 Revised: 2014-06-04
Accepted: 2014-06-06 Published online: 2014-08-08

Abstract

Metastasis plays an important role in the prognosis of patients with cancer. It is known that several steps are necessary for clonal cells to disseminate from their primary tumor site and colonize distant tissues. It will provide useful insights for effective treatment of cancer to investigate the molecular actors regulating this process. MicroRNAs, 19-25 nt in length, are a class of non-coding RNA, and they can result in degradation of specific mRNAs or inhibit their translation. They have been known as negative regulators of gene expression and are involved

in many biological processes, including cell growth, differentiation and apoptosis. The relationship between the abnormal expression of microRNAs and tumors has been widely studied. Some recent research has clarified the role of microRNAs in tumor invasion and metastases. This paper reviews the recent progress in research of microRNAs related to invasiveness and metastasis of gastric cancer.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: MicroRNAs; Gastric cancer; Metastasis; Methylation

Li DJ, Zhang GY, Jie ZG, Li ZR. MicroRNAs related to invasiveness and metastasis of gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(22): 3219-3224 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3219.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i22.3219>

摘要

转移在癌症患者的预后中扮演着重要角色, 目前已知克隆细胞从肿瘤原发部位播散至其他组织的转移性病变必须有几个关键步骤介入. 因此研究参与此过程的分子机制能为肿瘤的有效治疗提供有益的见解, microRNA(miRNA)是一类全长19-25 nt的非编码单链小分子RNA, 他能降解特定的mRNA或抑制其翻译, 是已知基因表达的负调节物且参与生物学过程, 包括细胞生长、分化和凋亡, 其异常表达和肿瘤的关系也已被广泛研究. 最新的一些研究已经阐明了miRNA在肿瘤侵袭转移中的作用, 本文就胃癌在这一方面的研究进展做一综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: MicroRNAs; 胃癌; 转移; 甲基化

核心提示: MicroRNA(miRNA)在胃癌转移的多重步骤中扮演着重要角色, 而导致miRNA异常表达的表现遗传学信号也间接或直接参与了这些过程, 而这些机制的背后蕴藏着新的临床诊断、治疗新策略.

■背景资料

大量研究已经表明microRNA(miRNA)在不同的恶性肿瘤组织中有其表达谱, 其通过调控相关基因的表达来参与癌细胞的细胞生物程序, 间接地扮演促癌和抑癌基因的角色. 近年来, 许多学者开始关注miRNA与肿瘤转移的关系, 研究发现转移多重步骤中的每一个环节都有miRNA参与的身影. 对其机制的深入了解, 将会对肿瘤的诊断和治疗带来新的契机.

■同行评议者

陈光, 教授, 吉林大学第一医院消化器官外科

■ 研发前沿

更多的miRNA将被发现参与了肿瘤的转移,而导致其异常表达的表观遗传学及其他机制也会逐步被理解。未来的挑战是理清肿瘤转移相关基因和miRNA之间错综复杂的相互关系,以及如何将这些研究成果转化为临床诊断和治疗新方法。

李道江, 张国阳, 揭志刚, 李正荣. 与胃癌侵袭转移相关的microRNA的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(22): 3219-3224 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3219.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3219>

0 引言

目前胃癌仍是最常见的恶性肿瘤之一^[1],多数患者就诊时已经发生了转移,迄今为止转移仍是肿瘤治疗的难点^[2]。我们已经知道,microRNAs(miRNAs)在肿瘤的发病过程中扮演着重要角色,在绝大多数我们所研究的人体肿瘤的起始和发生发展过程中都有其参与的身影。而自从2007年Lee等^[3]发现let-7参与抑制肺癌细胞的增殖, Ma等^[4]发现miR-10b诱发了非转移乳腺癌细胞的侵袭和远端转移开始,许多的学者开始认识和探讨miRNAs在肿瘤转移中的作用^[5]。在这篇综述中我们将讨论miRNAs参与了胃癌转移的多重步骤,包括上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)、血管再生、局部侵袭和转移、表观遗传学机制。同时也讨论了miRNAs在胃癌中可作为预测和预后生物学标志及其他临床应用。

1 miRNA能够促进上皮-间质转化过程

EMT是指不具备运动能力的上皮细胞转化成为可以在组织中游走的间质细胞的一个可逆过程。通过此过程,细胞与细胞间的连接或细胞与外间质的连接会被离解,细胞的转移模式会从集合浸润模式转变成分离、散播的迁移方式^[6]。EMT过程让恶性肿瘤原发灶中的癌细胞获得了侵袭转移的能力,从而发生局部浸润或远端转移^[7]。EMT可被不同的促进因素诱发,如细胞外途径中的转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF); 小G蛋白(Ras、Rho、Rac); 转录调节因子(Snail、ZEB1/2和NF- κ B)^[8]。据报道,在各类肿瘤中,多种miRNA分子都会作为EMT转化过程的关键性调节因子^[9]。miRNAs在胃癌EMT过程中的作用论述如下。

TGF- β 与肿瘤细胞膜上的T β R受体结合后启动TGF/Smad通路,参与诱导肿瘤的生长、分化,进而影响肿瘤的侵袭、转移^[10]。靶向Smad2蛋白的miR-155在胃癌细胞系SGC-7901、MKN-45中高表达能抑制癌细胞的侵袭,转移和黏附能力^[11],而miR-370在胃癌转移中的角色则是通过靶向T β R II受体来抑制Smad3蛋白磷酸化^[12]。miR-146a通过另外一个诱发EMT过

程的细胞外途径EGF来抑制胃癌转移,研究发现在胃癌细胞系中异常的miR-146a表达和低表达的表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)有关^[13]。胃肿瘤细胞中缺乏miR-200a^[14]而导致癌细胞侵袭扩增,主要是因为ZEB家族转录因子的活性受到抑制,ZEB家族转录因子能够调控EMT相关蛋白的表达,如上皮-钙黏蛋白、黏蛋白等。研究表明ROCK1基因诱发EMT过程破坏细胞连接的机制是产生了肌动蛋白的收缩^[15],在胃癌中miR-148a下调ROCK1来干预细胞的侵袭和转移^[16]。

2 miRNA与胃癌细胞的局部迁移

细胞迁移运动对许多正常生命过程是相当重要的,如胚胎发育、组织形态形成、伤口愈合及免疫细胞的功能等,同样肿瘤细胞的自身运动对肿瘤的侵袭和转移是必不可少的,主要表现为伪足样突出、与ECM的黏附、肌动蛋白引起的细胞收缩以及与ECM的脱离^[17]。前期胃癌的研究中已经发现miRNA参与了上述每一个过程,在胃癌的局部迁移中发挥着重要作用。

先前的研究已经揭示WASF基因调控肌动蛋白单体聚合,参与形成细胞膜突触和伪足等亚结构^[18]。同时,miR-146先前在前列腺癌的研究中被定义为肿瘤运动的开关(通过Rho信号通路影响肌动蛋白重构过程)^[19],有趣的是在最新胃癌的研究中发现miR-146抑制胃癌转移正是靶向WASF2基因^[20]。ERM家族为细胞骨架连接蛋白,参与生理状态下的许多基本生命活动,如细胞形态调节、信号转导、细胞运动等。ERM家族有4个成员,分别是EZrin、Radixin、Moesin和Merlin。近年来研究发现,ERM家族蛋白在肿瘤发生、浸润和转移过程中可能扮演重要角色^[21],而在胃癌中miR-409通过直接靶向Radixin基因而干预细胞黏附过程^[22]。Märkl等^[23]在研究中发现uPA蛋白与其受体结合激活蛋白水解酶活性,进而促进ECM的降解和随后肿瘤细胞的侵袭和迁移。体内体外实验研究发现miR-193b通过下调uPA蛋白而发挥其抑制胃癌细胞侵袭和转移的作用^[24]。

3 miRNA和胃癌肿瘤的血管再生

肿瘤新生血管的生成对原发肿瘤本身的增殖和生长是必不可少的,同时也是肿瘤侵袭转移的必要条件,贯穿于肿瘤转移的全过程。肿瘤细胞和宿主的内皮细胞、上皮细胞、间皮细胞及

白细胞等都可分泌释放诱导肿瘤血管生成的细胞活性因子, 如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGFs)、EGF、血小板源生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)等^[25,26], 最近的研究已经表明miRNA在胃癌等一系列肿瘤的血管生成中发挥了重要作用。

miR-335是Tavazoie等^[27]在2008年发现的能抑制乳腺癌转移的重要分子, 其在胃癌中主要通过靶向B细胞淋巴瘤因子-w(BCL2-like 2, BCL-w)及特异性蛋白1(specificity protein 1, Sp1)来抑制胃癌的转移^[28], 而在前述的研究中已经表明转录因子Sp1与VEGF启动子特异性结合是VEGF转录调控最重要的机制, 并可以进一步调控癌血管生成及转移复发^[29]。在体内和体外实验中发现miR-218沉默Robo1的表达, 进而抑制胃癌细胞系的浸润和转移, 而Slit2/Robo1信号通路是一个进化保守的配体受体系统, Robo1是神经迁移蛋白Slit2的重要横跨膜受体, 其在诱发肿瘤血管生成中发挥着重要作用^[30]。HOXD10是另外一个抑制血管生成的基因, 而miR-10b通过RhoC-AKT信号通路促进胃癌细胞的侵袭的靶向基因正是HOXD10^[31]。

4 影响转移miRNA分子的表现遗传学信号

miRNA分子参与了肿瘤进程中每一个关键步骤, 多数归因于miRNA分子的异常表达, 那导致这一变化的机制又是如何了? 近年来随着对肿瘤研究的深入, 大量学者发现表观遗传调控在癌症的发病中具有重要作用, 尤其是DNA异常甲基化与miRNA的异常表达。研究表明, 许多miRNA基因内部或启动子区域的CpG岛发生异常甲基化可导致某些关键miRNA表达紊乱, 进而诱发肿瘤^[32-35]。miRNA在胃癌中的表现遗传学机制也是近来的研究热点^[36]。与胃癌转移相关的论述如下。

Li等^[37]发现在胃癌细胞系MGC-803和HGC-27中, miR-10b的高表达明显抑制了癌细胞的增殖、迁移、侵袭以及诱发变异。而miR-10b的靶向基因是Tiam-1, 研究提示Tiam-1在诱导肿瘤浸润转移方面发挥着重要作用, 包括活化Rho、影响细胞骨架的组装、诱导膜皱褶、对细胞黏附分子的影响等^[38]。5-氮杂-2'-脱氧胞苷干预实验发现miR-10b上游的CpG岛高甲基化导

致miR-10b表达沉默^[37]。另外一项研究中表明靶向HOXA1基因的miR-10a也遵循这一机制^[39]。如前述miR-148a通过下调ROCK1基因来诱发EMT过程, 而启动子区高甲基化沉默了miR-148a的表达^[40]。

5 miRNA参与胃癌的其他机制

miRNA参与胃癌转移的机制是多方面的, 除了上述论述的外, 还包括miRNA可能是肿瘤易感基因的转录产物, 其他一些非编码RNA也都与肿瘤的恶性表型息息相关^[41]。MiR-29c和miR-335等也可以对肿瘤局部的微环境进行调整进而影响肿瘤细胞的转移^[27,42]。miRNA可能会影响肿瘤细胞的干细胞状态, 从而干预肿瘤细胞的原始过程, 而这与前述的EMT过程有着千丝万缕的关系^[43]。胃癌中miR-107等通过靶向Dicer1而干预miRNA分子的起源^[44]。miRNA也可以参与失巢凋亡, “失巢凋亡”是一种形式的细胞程序死亡, 是由与细胞外基质和其他细胞脱离接触而诱发的, 其在肿瘤扩散和转移中可能扮演重要角色^[45]。在胃癌中miR-301a, miR-200bc/429群可能参与了此机制^[46]。当然相关的机制也不仅仅限于这些, 毕竟胃癌的转移分子机制也是一个极其复杂且被认识较少的领域, 相信在不久的将来, 肿瘤转移相关的基因和miRNA之间错综复杂的相互作用关系会更多地被发现。

6 miRNA在胃癌转移中的临床应用

6.1 miRNA可以作为肿瘤转移的标志物 在肿瘤研究领域, 有一个非常重要的研究方向就是寻找能够预测肿瘤转移的分子标志物, 而miRNA就是一个非常有希望的候选分子。miR-335除了参与了前述的转移机制, 其也是潜在的预测复发风险的生物标志物, 能预测胃癌患者的预后情况^[47]。在这项研究中, 科研人员还评估了hsa-miR-335的几个致癌信号途径, 如: P53、TGF- β 、Wnt信号、ERBB、mTOR、Toll样受体等, 这些都是与癌症转移密切相关的信号分子。而在血浆中miRNA-199a-3p和miR-370等的表达与肿瘤侵袭和淋巴转移明显相关^[12,48]。

6.2 表观遗传分子标志物 除了上述miRNA分子自身的异常表达外, 其启动子的异常甲基化可作为另外一个早期诊断、判断预后及治疗和预防肿瘤的评估指标^[36]。例如miR-155在胃癌中是低表达和高甲基化的, 但在胰腺导管腺癌和乳

■ 相关报道

近来研究发miRNA不仅参与了肿瘤细胞的浸润和转移过程, 也维持肿瘤干细胞的表型作用, 在肿瘤细胞的原发和转移中发挥着多面作用。改变miRNA及其启动子甲基化水平的表达可以进行肿瘤干预的临床前实验及前期临床实验。

■创新盘点

本综述集中讨论了miRNA参与胃癌转移的一系列过程及其发挥间接调控作用的表观遗传学机制;也对当前这些机制在胃癌诊断治疗方面的临床引用做了简单论述和展望。

腺癌中是表达上调的^[49,50],因此我们可以通过比较他们的基因甲基化谱区分不同类型的癌症。如前述miR-148靶向*ROCK1*基因参与了胃癌的转移,而正是启动子区高甲基化沉默了其表达。所以检测其甲基化水平对胃癌治疗具有重要的临床应用价值^[40]。

6.3 miRNA和肿瘤转移的治疗 转移是肿瘤患者死亡的首要原因。因此,研究肿瘤的转移机制和如何早期检测到转移灶,并及时治疗转移患者一直以来都是医疗界面对的首要问题。研究表明miRNA可能是一条非常合理且有希望的途径^[41]。如从表观遗传学方面,早在2004年阿扎胞苷注射液Vidaza就已经被FDA批准进入临床治疗血液淋巴方面的疾病^[51],随后在宫颈癌、卵巢癌、非小细胞癌等也有临床实验进行^[52],在胃癌方面已经有一些临床前实验,如去甲基药能预防幽门螺杆菌诱发的胃癌^[53]。在miRNA的靶向疗法方面也有一些令人欣喜的进步,如miRNA和反义miRNA药物目前已经处于临床前实验和体外毒性实验阶段,包括反义miRNA寡核苷酸(anti-miRNA oligonucleotides, AMO)、锁定核酸(locked nucleic acid, LNA)、拮抗剂、模拟miRNA(mimic miRNA)^[41],这些能用于抑制或提高内源性microRNA表达(包括与胃癌转移密切相关的miR-10b、miR-148a和miR-335等)以及针对特定mRNA发挥作用。

7 结论

miRNA在整个胃癌转移的网络中扮演着重要角色,miRNA影响肿瘤细胞的干细胞状态和促进EMT干预肿瘤的原始过程,同时他也能靶向*Dicer 1*基因影响自身的起源流程,表观遗传学机制调控miRNA异常表达,而正是这些异常的miRNA通过对癌基因、抑癌基因靶向而干预肿瘤的迁移和转移,在肿瘤的演变进程中其又能促进血管再生,加速肿瘤的进程。相信在未来将有更多的机制被阐明,让人们对于肿瘤的转移有更深一步的理解。当前miRNA及其甲基化水平变化可以作为胃癌肿瘤转移的标志物,去甲基化药物正逐步进入后期临床实验,相关靶向治疗临床实验已经有了雏形。最后,也是对于肿瘤患者最为重要的一点是,鉴于我们对于miRNA的研究成果,尽快开发出抑制miRNA的治疗方法或者模拟表达miRNA的治疗方法将更有临床意义。

8 参考文献

- 1 Siegel R, Ma J, Zou Z, Jemal A. Cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin* 2014; 64: 9-29 [PMID: 24399786 DOI: 10.3322/caac.21208]
- 2 Orditura M, Galizia G, Sforza V, Gambardella V, Fabozzi A, Laterza MM, Andreozzi F, Ventriglia J, Savastano B, Mabilia A, Lieto E, Ciardiello F, De Vita F. Treatment of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 1635-1649 [PMID: 24587643 DOI: 10.3748/wjg.v20.i7.1635]
- 3 Lee YS, Dutta A. The tumor suppressor microRNA let-7 represses the HMGA2 oncogene. *Genes Dev* 2007; 21: 1025-1030 [PMID: 17437991 DOI: 10.1101/gad.1540407]
- 4 Ma L, Teruya-Feldstein J, Weinberg RA. Tumour invasion and metastasis initiated by microRNA-10b in breast cancer. *Nature* 2007; 449: 682-688 [PMID: 17898713 DOI: 10.1038/nature06174]
- 5 Bouyssou JM, Manier S, Huynh D, Issa S, Roccaro AM, Ghobrial IM. Regulation of microRNAs in cancer metastasis. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1845: 255-265 [PMID: 24569228 DOI: 10.1016/j.bbcan.2014.02.002]
- 6 Friedl P. Preshaping and plasticity: shifting mechanisms of cell migration. *Curr Opin Cell Biol* 2004; 16: 14-23 [PMID: 15037300 DOI: 10.1016/j.ceb.2003.11.001]
- 7 Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 442-454 [PMID: 12189386 DOI: 10.1038/nrc822]
- 8 Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions in development and pathologies. *Curr Opin Cell Biol* 2003; 15: 740-746 [PMID: 14644200]
- 9 Lamouille S, Subramanyam D, Belloch R, Derynck R. Regulation of epithelial-mesenchymal and mesenchymal-epithelial transitions by microRNAs. *Curr Opin Cell Biol* 2013; 25: 200-207 [PMID: 23434068 DOI: 10.1016/j.ceb.2013.01.008]
- 10 Shi Y, Massagué J. Mechanisms of TGF-beta signaling from cell membrane to the nucleus. *Cell* 2003; 113: 685-700 [PMID: 12809600]
- 11 Li CL, Nie H, Wang M, Su LP, Li JF, Yu YY, Yan M, Qu QL, Zhu ZG, Liu BY. microRNA-155 is down-regulated in gastric cancer cells and involved in cell metastasis. *Oncol Rep* 2012; 27: 1960-1966 [PMID: 22426647 DOI: 10.3892/or.2012.1719]
- 12 Lo SS, Hung PS, Chen JH, Tu HF, Fang WL, Chen CY, Chen WT, Gong NR, Wu CW. Overexpression of miR-370 and downregulation of its novel target TGFβ-RII contribute to the progression of gastric carcinoma. *Oncogene* 2012; 31: 226-237 [PMID: 21666718 DOI: 10.1038/onc.2011.226]
- 13 Kogo R, Mimori K, Tanaka F, Komune S, Mori M. Clinical significance of miR-146a in gastric cancer cases. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 4277-4284 [PMID: 21632853 DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-10-2866]
- 14 Cong N, Du P, Zhang A, Shen F, Su J, Pu P, Wang T, Zjang J, Kang C, Zhang Q. Downregulated microRNA-200a promotes EMT and tumor growth through the wnt/β-catenin pathway by targeting the E-cadherin repressors ZEB1/ZEB2 in gastric adenocarcinoma. *Oncol Rep* 2013; 29: 1579-1587 [PMID: 23381389 DOI: 10.3892/or.2013.2267]
- 15 Sahai E, Marshall CJ. ROCK and Dia have opposing effects on adherens junctions downstream of Rho. *Nat Cell Biol* 2002; 4: 408-415 [PMID: 11992112 DOI: 10.1038/ncb0408]

- 10.1038/ncb796]
- 16 Zheng B, Liang L, Wang C, Huang S, Cao X, Zha R, Liu L, Jia D, Tian Q, Wu J, Ye Y, Wang Q, Long Z, Zhou Y, Du C, He X, Shi Y. MicroRNA-148a suppresses tumor cell invasion and metastasis by downregulating ROCK1 in gastric cancer. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 7574-7583 [PMID: 21994419 DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-11-1714]
 - 17 Huber F, Schnauß J, Röncke S, Rauch P, Müller K, Fütterer C, Käs J. Emergent complexity of the cytoskeleton: from single filaments to tissue. *Adv Phys* 2013; 62: 1-112 [PMID: 24748680 DOI: 10.1080/00018732.2013.771509]
 - 18 Teng Y, Mei Y, Hawthorn L, Cowell JK. WASF3 regulates miR-200 inactivation by ZEB1 through suppression of KISS1 leading to increased invasiveness in breast cancer cells. *Oncogene* 2014; 33: 203-211 [PMID: 23318438 DOI: 10.1038/ncr.2012.565]
 - 19 Lin SL, Chiang A, Chang D, Ying SY. Loss of mir-146a function in hormone-refractory prostate cancer. *RNA* 2008; 14: 417-424 [PMID: 18174313 DOI: 10.1261/rna.874808]
 - 20 Yao Q, Cao Z, Tu C, Zhao Y, Liu H, Zhang S. MicroRNA-146a acts as a metastasis suppressor in gastric cancer by targeting WASF2. *Cancer Lett* 2013; 335: 219-224 [PMID: 23435376 DOI: 10.1016/j.canlet.2013.02.031]
 - 21 Lamb RF, Roy C, Diefenbach TJ, Vinters HV, Johnson MW, Jay DG, Hall A. The TSC1 tumour suppressor hamartin regulates cell adhesion through ERM proteins and the GTPase Rho. *Nat Cell Biol* 2000; 2: 281-287 [PMID: 10806479 DOI: 10.1038/35010550]
 - 22 Zheng B, Liang L, Huang S, Zha R, Liu L, Jia D, Tian Q, Wang Q, Wang C, Long Z, Zhou Y, Cao X, Du C, Shi Y, He X. MicroRNA-409 suppresses tumour cell invasion and metastasis by directly targeting radixin in gastric cancers. *Oncogene* 2012; 31: 4509-4516 [PMID: 22179828 DOI: 10.1038/ncr.2011.581]
 - 23 Märkl B, Renk I, Oruzio DV, Jähnig H, Schenkirsch G, Schöler C, Ehret W, Arnholdt HM, Anthuber M, Spatz H. Tumour budding, uPA and PAI-1 are associated with aggressive behaviour in colon cancer. *J Surg Oncol* 2010; 102: 235-241 [PMID: 20740581 DOI: 10.1002/jso.21611]
 - 24 Zhou H, Wang K, Hu Z, Wen J. TGF- β 1 alters microRNA profile in human gastric cancer cells. *Chin J Cancer Res* 2013; 25: 102-111 [PMID: 23372348 DOI: 10.3978/j.issn.1000-9604.2013.01.09]
 - 25 Wang R, Chadalavada K, Wilshire J, Kowalik U, Hovinga KE, Geber A, Fligelman B, Leversha M, Brennan C, Tabar V. Glioblastoma stem-like cells give rise to tumour endothelium. *Nature* 2010; 468: 829-833 [PMID: 21102433 DOI: 10.1038/nature09624]
 - 26 Flamme I, Frölich T, Risau W. Molecular mechanisms of vasculogenesis and embryonic angiogenesis. *J Cell Physiol* 1997; 173: 206-210 [PMID: 9365523]
 - 27 Tavazoie SF, Alarcón C, Oskarsson T, Padua D, Wang Q, Bos PD, Gerald WL, Massagué J. Endogenous human microRNAs that suppress breast cancer metastasis. *Nature* 2008; 451: 147-152 [PMID: 18185580 DOI: 10.1038/nature06487]
 - 28 Xu Y, Zhao F, Wang Z, Song Y, Luo Y, Zhang X, Jiang L, Sun Z, Miao Z, Xu H. MicroRNA-335 acts as a metastasis suppressor in gastric cancer by targeting Bcl-w and specificity protein 1. *Oncogene* 2012; 31: 1398-1407 [PMID: 21822301 DOI: 10.1038/ncr.2011.340]
 - 29 Reisinger K, Kaufmann R, Gille J. Increased Sp1 phosphorylation as a mechanism of hepatocyte growth factor (HGF/SF)-induced vascular endothelial growth factor (VEGF/VPF) transcription. *J Cell Sci* 2003; 116: 225-238 [PMID: 12482909]
 - 30 Guijarro-Muñoz I, Cuesta AM, Alvarez-Cienfuegos A, Geng JG, Alvarez-Vallina L, Sanz L. The axonal repellent Slit2 inhibits pericyte migration: potential implications in angiogenesis. *Exp Cell Res* 2012; 318: 371-378 [PMID: 22198087 DOI: 10.1016/j.yexcr.2011.12.005]
 - 31 Myers C, Charboneau A, Cheung I, Hanks D, Boudreau N. Sustained expression of homeobox D10 inhibits angiogenesis. *Am J Pathol* 2002; 161: 2099-2109 [PMID: 12466126 DOI: 10.1016/s0002-9440(10)64488-4]
 - 32 Taby R, Issa JP. Cancer epigenetics. *CA Cancer J Clin* 2010; 60: 376-392 [PMID: 20959400 DOI: 10.3322/caac.20085]
 - 33 Matsusaka K, Funata S, Fukayama M, Kaneda A. DNA methylation in gastric cancer, related to Helicobacter pylori and Epstein-Barr virus. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 3916-3926 [PMID: 24744581 DOI: 10.3748/wjg.v20.i14.3916]
 - 34 Ji XF, Fan YC, Gao S, Yang Y, Zhang JJ, Wang K. MT1M and MT1G promoter methylation as biomarkers for hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 4723-4729 [PMID: 24782625 DOI: 10.3748/wjg.v20.i16.4723]
 - 35 Wang X, Kuang YY, Hu XT. Advances in epigenetic biomarker research in colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 4276-4287 [PMID: 24764665 DOI: 10.3748/wjg.v20.i15.4276]
 - 36 Ma J, Hong L, Chen Z, Nie Y, Fan D. Epigenetic regulation of microRNAs in gastric cancer. *Dig Dis Sci* 2014; 59: 716-723 [PMID: 24248419 DOI: 10.1007/s10620-013-2939-8]
 - 37 Li Z, Lei H, Luo M, Wang Y, Dong L, Ma Y, Liu C, Song W, Wang F, Zhang J, Shen J, Yu J. DNA methylation downregulated mir-10b acts as a tumor suppressor in gastric cancer. *Gastric Cancer* 2014 Jan 31. [Epub ahead of print] [PMID: 24481854 DOI: 10.1007/s10120-014-0340-8]
 - 38 Habets GG, van der Kammen RA, Stam JC, Michiels F, Collard JG. Sequence of the human invasion-inducing TIAM1 gene, its conservation in evolution and its expression in tumor cell lines of different tissue origin. *Oncogene* 1995; 10: 1371-1376 [PMID: 7731688]
 - 39 Jia H, Zhang Z, Zou D, Wang B, Yan Y, Luo M, Dong L, Yin H, Gong B, Li Z, Wang F, Song W, Liu C, Ma Y, Zhang J, Zhao H, Li J, Yu J. MicroRNA-10a is down-regulated by DNA methylation and functions as a tumor suppressor in gastric cancer cells. *PLoS One* 2014; 9: e88057 [PMID: 24498243 DOI: 10.1371/journal.pone.0088057]
 - 40 Zhu A, Xia J, Zuo J, Jin S, Zhou H, Yao L, Huang H, Han Z. MicroRNA-148a is silenced by hypermethylation and interacts with DNA methyltransferase 1 in gastric cancer. *Med Oncol* 2012; 29: 2701-2709 [PMID: 22167392 DOI: 10.1007/s12032-011-0134-3]
 - 41 Nicoloso MS, Spizzo R, Shimizu M, Rossi S, Calin GA. MicroRNAs--the micro steering wheel of tumour metastases. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 293-302 [PMID: 19262572 DOI: 10.1038/nrc2619]

■应用要点
间接调控癌症转移的miRNA异常表达和其启动子区CpG岛甲基化水平变化可成为新的肿瘤诊断、转移及预后的标志物,而基于miRNA的靶向治疗将会在临床中发挥越来越重要的角色。

■同行评价

本文从多个角度
阐明了miRNA与
胃癌侵袭转移的
关系,具有一定指
导意义。

- 42 Chang TC, Yu D, Lee YS, Wentzel EA, Arking DE, West KM, Dang CV, Thomas-Tikhonenko A, Mendell JT. Widespread microRNA repression by Myc contributes to tumorigenesis. *Nat Genet* 2008; 40: 43-50 [PMID: 18066065 DOI: 10.1038/ng.2007.30]
- 43 Mani SA, Guo W, Liao MJ, Eaton EN, Ayyanan A, Zhou AY, Brooks M, Reinhard F, Zhang CC, Shipitsin M, Campbell LL, Polyak K, Briskin C, Yang J, Weinberg RA. The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells. *Cell* 2008; 133: 704-715 [PMID: 18485877 DOI: 10.1016/j.cell.2008.03.027]
- 44 Inoue T, Iinuma H, Ogawa E, Inaba T, Fukushima R. Clinicopathological and prognostic significance of microRNA-107 and its relationship to DICER1 mRNA expression in gastric cancer. *Oncol Rep* 2012; 27: 1759-1764 [PMID: 22407237 DOI: 10.3892/or.2012.1709]
- 45 Douma S, Van Laar T, Zevenhoven J, Meuwissen R, Van Garderen E, Peeper DS. Suppression of anoikis and induction of metastasis by the neurotrophic receptor TrkB. *Nature* 2004; 430: 1034-1039 [PMID: 15329723 DOI: 10.1038/nature02765]
- 46 Shi Z, Wei Q, She J. MicroRNAs in gastric cancer metastasis. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 2014; 24: 39-53 [PMID: 24579669]
- 47 Yan Z, Xiong Y, Xu W, Gao J, Cheng Y, Wang Z, Chen F, Zheng G. Identification of hsa-miR-335 as a prognostic signature in gastric cancer. *PLoS One* 2012; 7: e40037 [PMID: 22802949 DOI: 10.1371/journal.pone.0040037]
- 48 Li C, Li JF, Cai Q, Qiu QQ, Yan M, Liu BY, Zhu ZG. MiRNA-199a-3p: A potential circulating diagnostic biomarker for early gastric cancer. *J Surg Oncol* 2013; 108: 89-92 [PMID: 23733518 DOI: 10.1002/jso.23358]
- 49 Kong W, He L, Richards EJ, Challa S, Xu CX, Permeth-Wey J, Lancaster JM, Coppola D, Sellers TA, Djeu JY, Cheng JQ. Upregulation of miRNA-155 promotes tumour angiogenesis by targeting VHL and is associated with poor prognosis and triple-negative breast cancer. *Oncogene* 2014; 33: 679-689 [PMID: 23353819 DOI: 10.1038/onc.2012.636]
- 50 Liu Q, Chen J, Wang J, Amos C, Killary AM, Sen S, Wei C, Frazier ML. Putative tumor suppressor gene SEL1L was downregulated by aberrantly upregulated hsa-mir-155 in human pancreatic ductal adenocarcinoma. *Mol Carcinog* 2013 May 9. [Epub ahead of print] [PMID: 23661430 DOI: 10.1002/mc.22023]
- 51 Kaminskis E, Farrell AT, Wang YC, Sridhara R, Pazdur R. FDA drug approval summary: azacitidine (5-azacytidine, Vidaza) for injectable suspension. *Oncologist* 2005; 10: 176-182 [PMID: 15793220 DOI: 10.1634/theoncologist.10-3-176]
- 52 Subramaniam D, Thombre R, Dhar A, Anant S. DNA Methyltransferases: A Novel Target for Prevention and Therapy. *Front Oncol* 2014; 4: 80 [PMID: 24822169 DOI: 10.3389/fonc.2014.00080]
- 53 Niwa T, Toyoda T, Tsukamoto T, Mori A, Tatemasu M, Ushijima T. Prevention of Helicobacter pylori-induced gastric cancers in gerbils by a DNA demethylating agent. *Cancer Prev Res (Phila)* 2013; 6: 263-270 [PMID: 23559452 DOI: 10.1158/1940-6207.capr-12-0369]

编辑 田滢 电编 闫晋利



肝门胆管癌中IL-6与COX-2作用的研究进展

李志鹏, 曾兆林

李志鹏, 曾兆林, 哈尔滨医科大学第二附属医院肝胆外科 黑龙江省哈尔滨市 150086

李志鹏, 在读硕士, 主要从事肝胆胰外科的研究.

作者贡献分布: 本综述由李志鹏完成; 曾兆林审校.

通讯作者: 曾兆林, 主任医师, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区保健路148号, 哈尔滨医科大学第二附属医院肝胆外科. zengzhaolin999@sina.com

电话: 0451-86297421

收稿日期: 2014-05-27 修回日期: 2014-06-12

接受日期: 2014-06-22 在线出版日期: 2014-08-08

Interleukin-6 and cyclooxygenase-2 in hilar cholangiocarcinoma

Zhi-Peng Li, Zhao-Lin Zeng

Zhi-Peng Li, Zhao-Lin Zeng, Department of Hepatic Surgery, the Second Affiliated Hospital, Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China

Correspondence to: Zhao-Lin Zeng, Chief Physician, Department of Hepatic Surgery, the Second Affiliated Hospital, Harbin Medical University, 148 Baojian Road, Nangang District, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. zengzhaolin999@sina.com

Received: 2014-05-27 Revised: 2014-06-12

Accepted: 2014-06-22 Published online: 2014-08-08

Abstract

The pathogenesis of hilar cholangiocarcinoma is a complex process involving progressive abnormalities of cell proliferation, apoptosis and differentiation. The progress of molecular biology techniques and the advances in research of malignant tumor cell receptors and proliferation regulation at the molecular level have led to the development of molecular targeted therapy. In recent years, many studies suggest that interleukin-6 (IL-6) and cyclooxygenase-2 (COX-2) levels are correlated with the development and prognosis of cholangiocarcinoma. A more detailed understanding of the roles of cytokines may provide new therapeutic targets for hilar cholangiocarcinoma. In this paper, we review the progress in research of IL-6 and COX in hilar cholangiocarcinoma.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Intedeukin-6; Cyclooxygenase-2; Cholangiocarcinoma; Hilar cholangiocarcinoma; Research progress

Li ZP, Zeng ZL. Interleukin-6 and cyclooxygenase-2 in hilar cholangiocarcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(22): 3225-3231 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3225.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3225>

摘要

肝门部胆管癌的发生是一个涉及到细胞增殖、凋亡、分化等方面的相关机制的复杂过程. 随着分子生物学技术的进步以及人们对恶性肿瘤在细胞受体及增殖调控等分子水平的不断研究, “分子靶向治疗”的治疗方法逐渐进入研究者的视线. 近年来诸多研究认为白介素-6(interleukin 6, IL-6)和环氧化酶(cyclooxygenase, COX)水平的高低与胆管癌的发生发展及预后有关, 这些细胞因子的详细作用机制可能为肝门胆管癌的治疗提供新的方法. 本文就IL-6和COX对于胆管癌的目前研究情况进行综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 白介素-6; 环氧化酶2; 胆管癌; 肝门胆管癌; 研究进展

核心提示: 白介素-6(interleukin-6, IL-6)或环氧化酶2(cyclooxygenase-2, COX-2)信号的激活均可使前列腺素E2(prostaglandin E2)合成增加, 促进细胞存活, 刺激增殖和活力, 诱导血管生成等. 针对COX-2信号和其他有关的关键分子在胆管癌变中的作用, 联合抑制IL-6和COX-2的治疗, 对于肝门胆管癌或许是治疗的合适选择.

李志鹏, 曾兆林. 肝门胆管癌中IL-6与COX-2作用的研究进展. *世界华人消化杂志* 2014; 22(22): 3225-3231 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3225.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3225>

0 引言

肝门胆管癌是指发生在左肝管、右肝管、左右

■背景资料

胆管癌的发生是一个涉及到多方面机制的复杂过程. 肝门胆管癌由于其解剖位置及生理活性的特殊性, 预后不甚理想. 此外, 胆管癌对一般放疗及化疗药物也不敏感. 近年来, 随着分子生物学技术的进步以及人们对恶性肿瘤分子水平的不断研究, “分子靶向治疗”的治疗方法逐渐进入研究者的视线.

■同行评议者

王铮, 副研究员, 西安交通大学医学院第一附属医院肝胆病肝胆外科

■ 研究前沿

多种证据显示,在白介素-6(interleukin-6, IL-6)和环氧酶2(cyclooxygenase-2, COX-2)参与的肿瘤形成中,IL-6或COX-2信号通路的激活均可使前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2)的合成增加.临床前研究表明,其他的抗肿瘤药物,可增强选择性COX-2抑制剂的分子机制.因此,对于胆管癌的治疗来说,靶向处理IL-6与COX-2间的交叉对话有一定的重要意义.

肝管分叉部和肝总管上段的癌,又称Klatskin肿瘤,亦称高位胆管癌^[1];约占胆管癌总发病率的60%-70%^[2].因缺乏早期特异性的临床表现而诊断困难,大多数病例就诊时往往已侵犯周围脏器而无法手术切除.白介素-6(interleukin-6, IL-6)是一种多效细胞因子,不但能诱导肿瘤细胞生长,还有抗凋亡的作用.国外有研究显示,IL-6水平的增高对胆管癌诊断的灵敏度、特异性分别为100%与91.4%,而且胆管癌患者血清中的IL-6值与肿瘤负荷量呈正相关^[3].环氧酶(cyclooxygenase, COX)在某些细胞内、外刺激因子的刺激下其表达急剧增加,产生前列腺素类(prostaglandins, PGs)物质,在肿瘤组织的生长中发挥着重要作用.另有很多证据显示在IL-6和COX-2参与的肿瘤形成中,刺激IL-6或COX-2信号通路均可使介导的前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2)合成增加.因而推测在IL-6和COX-2之间存在交叉对话.

1 胆管癌

胆管癌的发病率约占人类恶性肿瘤的2%,男性发病稍高于女性,约为1.5:1^[4];而其中的58%-75%发生在肝胆管分叉处^[5].据统计,肝门胆管癌的发病率和死亡率有逐年上升的趋势^[6].有报道称,原发硬化性胆管炎、胆道慢性炎和胆汁淤积引起的胆管细胞损伤^[7,8]以及寄生虫感染^[9]是胆道肿瘤发生的最重要原因.肝门胆管癌不仅是一个局部病变,更是一个区域性病变^[10],由于解剖部位特殊,其周围的淋巴组织临近肝组织、血管、神经等特征,肿瘤常累及周围组织、发生淋巴结转移,并多呈浸润、跳跃性生长,预后不甚理想^[11].目前研究者认为,根治性手术切除是肝门胆管癌患者获得长期生存最重要的措施^[12].然而,由于该病的解剖以及生长特性,早期缺乏特异性的临床表现而诊断困难,大多数病例在就诊时往往已侵犯周围脏器,而无法手术切除.一些单药或联合细胞毒类药物对胆管癌的治疗反应率低,而且对患者的不良反应大,目前尚没有相应的化疗方案显示能延长晚期胆管癌患者的生存期^[13];也无随机前瞻性临床试验支持常规使用辅助、新辅助或姑息性化疗.而放疗一般对胆管癌也不敏感,作用效果不理想^[13].近年来,随着分子生物学技术的进步以及人们对恶性肿瘤在细胞受体及增殖调控等分子水平的不断研究,细胞受体、调控分子和关键基因为靶点的“分子靶向治疗”的治疗方法

逐渐进入研究者的视线^[14].

2 IL-6

IL-6是一种多效性细胞因子,能调节多种细胞功能.包括细胞增殖、细胞分化、免疫防御机制及细胞生成.IL-6可由T细胞、B细胞、单核细胞、上皮细胞以及一些肿瘤细胞等多种细胞分泌,通过自分泌或旁分泌与IL-6的膜受体或可溶性受体结合而发挥其生物活性^[15].IL-6的信号传导作用是由IL-6受体所介导的.IL-6受体由配体结合链(CD126)和信号传递链(gp130)组成,后者无配体结合能力,但参与组成IL-6高亲和力结合位点;IL-6受体广泛表达于活化B细胞、骨髓瘤细胞、髓样白血病细胞、肝细胞等细胞的表面.IL-6R能与IL-6形成复合物,进一步与gp130结合.发挥IL-6的生物学作用^[16].在信号传递过程中,JAK蛋白酪氨酸激酶、转录激活子(signal transducer and activator of transcription, STAT)以及Ras信号途径中的各种蛋白都参与了IL-6R在靶细胞中的信号转导,形成了JAK/STAT途径、Ras/细胞外调节蛋白激酶(extracellular signal-regulated kinase, Erk)途径、磷脂酰肌醇3激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)等介导的信号通路,通过调控肿瘤细胞的细胞周期,调节癌基因的表达,促进肿瘤血管的生成,促进肿瘤的侵袭转移等多种机制,影响着肿瘤的发生和发展^[17].

近年来,胆管癌的发生率呈逐年上升趋势^[6].有关胆管癌发病机制方面的研究成为研究焦点,尤其是异常高表达的IL-6在胆管癌的作用逐渐受到重视^[18].Meng等^[19]研究表明,在胆管炎患者的胆汁以及胆管癌患者的血清中,IL-6的水平均明显增高;尤其是在胆管癌中,IL-6值与肿瘤负荷及患者的预后有明显相关.国外有研究显示,IL-6水平的增高对胆管癌诊断的灵敏度、特异性分别为100%与91.4%,而且胆管癌患者血清中的IL-6值与肿瘤负荷量呈正相关^[3].

根据研究认为,IL-6可以通过改变胆管癌细胞启动子的甲基化并调控下游基因的表达^[20]、激活下游丝裂原活化蛋白激酶^[19]、提高细胞端粒酶的活性^[21]等方面影响胆管癌细胞的增殖.体外实验表明,不同浓度的IL-6对胆管癌的有不同的增殖作用,随着rhIL-6刺激剂量的增加,STAT3被激活的特异性条带逐渐增加^[22].此外,IL-6在诱导胆管肿瘤血管生成中也起到一定的重要作用,新生血管在向肿瘤组织运送营养物质及排泄代

谢废物的同时, 肿瘤细胞也在进行血行转移^[23].

此外, IL-6在诱导肿瘤细胞生长的同时, 还起到一定的抗凋亡作用. 研究已证实, IL-6可以激活PI3K/AKT和JAK/STAT3途径共同发挥其抗凋亡作用, 从而促进肿瘤的发生^[24]. IL-6作为一种具有多种功能的细胞因子, 参与肿瘤细胞的增殖和凋亡的调控, 与多种肿瘤的发生发展关系密切^[25-31].

有学者认为, IL-6不但与胆管癌的发生关系密切, 并与其诊断及预后有一定关联. Cheon等^[32]报道, 通过对胆管癌患者与正常人血清中IL-6水平的研究发现, 胆管癌患者中IL-6的浓度明显高于正常人的水平; 胆管癌患者在经过一定的光子治疗后, IL-6的水平渐趋于正常. 因此认为, 血清IL-6的水平测定对于诊断胆管癌具有重要的参考意义, 并可作为光子疗法治疗胆管癌效果的监测指标.

3 COX-2

目前已经确定的COXs有COX-1和COX-2两个亚型, 二者可催化相似的酶促反应. 尽管有着结构上相似性, 但COX-1和COX-2拥有其各自的调节和功能. COX-1表达在机体大多数组织中, 并通过生成的PGs控制正常的生理功能, 包括保护胃黏膜、血小板聚集和肾血流量的调节. 生理状态下COX-2在正常组织细胞不表达或低水平表达, 而某些细胞内外刺激因子可使其表达急剧增加. COX-2能将细胞内释放的花生四烯酸进一步代谢产生PGE₂, 随后与G蛋白偶联型受体结合, 产生前列腺素类物质如PGE₂、血栓素A₂等, 并启动细胞内的事件. 大量研究证实, 许多肿瘤细胞中PGE₂合成分泌的增加, 与细胞增殖、迁移及抑制肿瘤细胞凋亡相关^[33]. 通过对大多数高表达前列腺素的上皮恶性肿瘤的检测, 前列腺素已被证明是促进细胞存活, 刺激细胞增殖和活力, 诱导血管生成和抑制免疫监视^[34].

COX-2的上调已在家族性腺瘤性息肉病和散发性大肠癌, 以及在胃、肺、食道、肝、胰腺等癌症中被观察到^[34]. 在人类胆管癌细胞的细胞质和原发性硬化性胆管炎患者的胆管上皮细胞也表现出COX-2的阳性高表达, 而正常胆管上皮细胞则表现为COX-2的低表达^[35-37]. 在体外培养的人胆管癌细胞中, COX-2的过表达可以促进PGE₂的生成以及肿瘤生长, 而抑制COX-2的表达则可降低胆管癌细胞的生长^[38,39]. COX-2的表达与肿瘤发生发展的密切关系, 表明COX-2可

能是一个合适的癌症的化学预防指标. 在相关的动物实验中, COX-2选择性抑制剂可使多种肿瘤的形成减少^[34]. 可以猜测, 选择性COX-2抑制剂在抑制胆管癌的治疗中至关重要. 另有研究发现, COX-2抑制剂能降低肿瘤的发生率和病死率, 而其抗肿瘤作用与其抑制COX-2的活性, 减少前列腺素的生成有关^[40].

多种肿瘤如头颈部肿瘤、肝癌、胰腺癌等肿瘤^[41]在体内外均能使前列腺素类, 尤其是PGE₂合成增加. 胆道上皮细胞和胆管癌细胞的PG主要是PGE₂^[34]. PGE₂通过与自身细胞(自分泌)或相邻细胞(旁分泌)G蛋白偶联的EP₁、EP₂、EP₃和EP₄受体^[42]相互作用发挥其生理作用. EP受体为7次跨膜G蛋白偶联受体, 受体胞外结构域识别胞外信号分子并与之结合, 胞内结构域与G蛋白偶联, 调节相关酶活性, 在细胞内通过第二信使将信号跨膜传递至胞内. 选择性拮抗剂阻断EP₁受体后, 可降低PGE₂诱导胆管癌细胞增殖和侵袭的能力. 相比之下, EP₂、EP₃及EP₄受体和反义抑制这些受体的激动剂则对细胞浸润无相关明显作用^[34].

有研究表明, 在PGE₂诱导的细胞生长中, EP₁受体介导的Akt活化起了一个重要的作用^[42]. 其他活化的机制包括通过cAMP/蛋白激酶A(protein kinase A, PKA)信号级联的磷酸化; 高浓度钙离子促使表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)磷酸化, 激活Erk和Akt信号转导通路^[43]等.

4 COX-2与IL-6的相互联系

过去认为COX-2抑制剂是通过阻断COX-2通路, 减少COX-2的产物(PG)生成而达到其抗癌活性作用. 而在近几年文献报道中, COX-2的非依赖通路在肿瘤中也被发现^[44,45], 其作用靶点包括蛋白激酶以及其上游的磷酸肌醇依赖激酶1(phosphoinositide dependent kinase 1, PDK1)、CDK周期蛋白、STAT3等. COX-2抑制剂应用于培养的人类和大鼠胆管癌细胞, 可诱导出现明显的细胞凋亡, 细胞死亡; 其通过抑制Akt的减少导致胆管癌细胞活力下降表明, Akt的失活, 被涉及在COX-2抑制剂介导的细胞凋亡^[46].

Ancrile等^[47]研究发现, IL-6可以促进Ras的致癌效力, 但在敲除IL-6相关基因后可以阻断Ras/MAPK介导的肿瘤细胞生长, 因此认为IL-6可能是Ras/MAPK的下游基因的一个效应因子;

■相关报道

Smith等研究发现, 生长因子、细胞因子、癌基因和促癌物刺激COX-2的转录, 通过Ras和蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)介导的信号. Khan等研究表明, 胞浆型磷脂酶A₂(cytosolic phospholipase A₂, cPLA₂)介导的花生四烯酸代谢生成的前列腺素可以直接影响某些酶的活性, 如PKC. Wu等认为, 胆管癌细胞中的IL-6诱导的前列腺素的合成, 可通过cPLA₂的磷酸化介导, 并依赖于蛋白激酶.

■创新盘点

联合阻断肿瘤细胞相关分子靶点,能减少细胞内信号通路间的互补代偿效应,从而有效地减弱癌细胞增殖、抗凋亡之间的协同作用,增强单药的疗效。对于胆管癌的治疗来说,靶向处理IL-6与COX-2间的交叉对话有一定的重要意义。

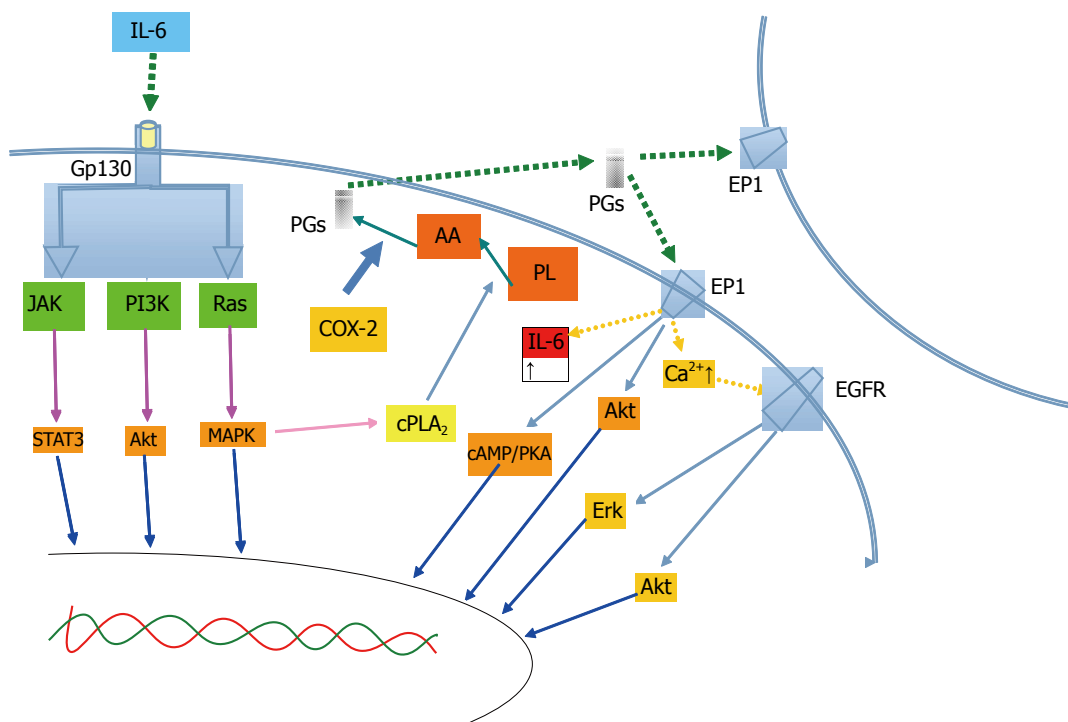


图1 胆管细胞增生信号传导途径。IL-6: 白介素-6; JAK: 酪氨酸激酶; PI3K: 磷脂酰肌醇3激酶; STAT3: 信号转导子与转录激活因子; Akt: 蛋白激酶; MAPK: 丝裂原活化蛋白激酶; COX-2: 环氧合酶-2; AA: 花生四烯酸; PL: 磷脂; PGs: 前列腺素; cPLA2: 胞浆型磷脂酶A2; cAMP: 环磷酸腺苷; PKA: 蛋白激酶A; Erk: 细胞外信号调节激酶; EP1: 前列腺素受体1。

同时还发现, *IL-6*还可起到Ras/MAPK上游基因的作用。因而推测, 在IL-6与Ras/MAPK之间存在一定的相互影响的环路联系。

研究还发现, 前列腺素的信号传导除了直接促进细胞生长, 也参与胆道中IL-6诱导的胆管癌细胞生长。阻断PGE2的合成, 也能部分地抑制IL-6诱导的胆管癌细胞生长^[48]。有研究表明, 除了IL-6可诱导PG合成, PGE2也可增加IL-6的生成, 并激活细胞内IL-6介导的信号转导通路^[49]。而在其他相关文献报道中发现: IL-6信号通路激活后促使MAPK的活性增加, 导致细胞内磷脂酶A2(cytosolic phospholipase A2, cPLA2)介导的花生四烯酸增多, 增加了COX-2的作用底物合成; 与此同时, COX-2介导生成的PGE2可以启动正反馈途径刺激IL-6通路, 从而刺激细胞的增殖^[34]。因此, IL-6和cPLA2/COX-2的回路介导的PG的信号传导通路的自分泌/旁分泌可促进胆管癌的发生发展。

总之, 细胞内的IL-6和COX-2之间存在着一定的交叉对话, 很可能为: IL-6与IL-6R结合激活IL-6介导的信号通路后, 信号向细胞核传导促进癌细胞的增生; 同时, 还可以促进COX-2通路的活性, 增加前列腺素合成、正反馈刺激IL-6通路(图1)。

5 结论

肝门胆管癌由于其解剖位置及生理活性的特殊性, 预后不甚理想^[11]。此外, 胆管癌对一般放疗及化疗药物也不敏感^[13,50]。近年来, “分子靶向治疗”治疗方法逐渐进入研究者的视线^[14]。

正常情况下, 血清中IL-6及sIL-6R不能测出, 但在100%胆管癌、92.9%肝细胞癌、53.8%结直肠癌肝转移(metastatic colorectal cancer, MCRC)和40%良性胆道疾病(benign biliary tract disease, BBD)患者的血清中IL-6可被检测^[51]。而IL-6水平的增高对胆管癌诊断有较高的特异性(91.4%), 与肿瘤负荷量也呈正相关^[3]。有实验证明, 胆管癌细胞在无血清培养的情况下也能分泌一定量的IL-6, 说明在胆管癌细胞中存在着IL-6的自分泌; 而IL-6的自分泌环路在胆管癌的发生、发展中起到一定的重要作用^[52]。COX-2水平的上调已在多种消化系统肿瘤中被观察到。COX-2的表达在人胆管癌细胞和原发性硬化性胆管炎患者的胆管上皮细胞中明显高于正常肝内胆管上皮细胞的表达。目前认为, COX-2的高表达与肿瘤细胞增殖、凋亡抑制、恶性转化等相关。COX-2能将细胞内释放的花生四烯酸进一步代谢成PGE2。而此前研究显示, 多种肿瘤细胞能在体内外使PGE2合成分泌增加, 促进肿瘤细

胞增殖、迁移及抑制肿瘤细胞凋亡^[12]。

在过去的研究中,关于COX-2和胆管癌变之间的联系已经取得了重大进展。虽然选择性COX-2抑制剂尚未在临床试验中评估化学预防胆管癌患者,但其已被证明能抑制在体外和动物模型中的胆管癌变作用胆管癌细胞的生长。最近,有关人士提出一些发生在抗肿瘤化学预防中使用相对高剂量COX-2抑制剂的心血管不良反应^[53]。因此,有迫切和实际需要,开发新的化学预防策略。多种证据显示,在IL-6和COX-2参与的肿瘤形成中,IL-6或COX-2信号通路的激活均可使PGE2的合成增加。Wu^[34]认为,胆管细胞内的IL-6和COX-2的信号传导相互影响。IL-6信号活化后,主要通过JAK/STAT途径、Ras/Erk途径、PI3K介导的信号通路发挥生物学功能,MAPKs信号还可导致磷脂酶A2磷酸化,促进COX-2代谢产生PGE2,与EP1结合后启动细胞内的事件;与此同时,COX-2衍生的PGE2还可以正反馈IL-6通路活性,刺激细胞增殖^[34]。肿瘤的相关回归分析中已经很少看到有选择性COX-2抑制剂单独应用。临床前研究表明,其他的抗肿瘤药物,可增强选择性COX-2抑制剂的分子机制^[34]。因此,对于胆管癌的治疗来说,靶向处理IL-6与COX-2间的交叉对话有一定的重要意义。而且,联合阻断肿瘤细胞相关分子靶点,能减少细胞内信号通路间的互补代偿效应,从而有效地减弱癌细胞增殖、抗凋亡之间的协同作用,增强单药的疗效。

IL-6和COX-2间的这种交叉对话在肿瘤的发生中具有重要作用。但是,IL-6和他的下游效应分子也可以通过非COX-2/PGE2的途径而激活,同样COX-2/PGE2也可以通过非IL-6信号通路调节。因此,联合疗法胆管癌的治疗显得尤为重要。而COX-2抑制剂与常规放、化疗的联合疗法对肿瘤尤其是胆管癌的防治还需进一步临床观察。然而,近年有不少试验对联合治疗的效果提出质疑。有报道称联合尼美舒利与放疗干预头颈细胞癌株SCC9和SCCD25,结果并没有如预期出现放疗增敏作用^[54]。也有文献指出由于肿瘤自身产生大量的COX-2产物后表现出对COX-2抑制剂逃逸,从而使COX-2抑制剂的抗肿瘤生成作用不能长期维持^[55]。目前,靶向治疗是抗肿瘤研究的热点,但其仅对部分患者有效且疗效短暂。究其原因,尚不十分清楚,可能与信号转导系统之间的交叉对话有关。因此,选择多靶点联合治疗胆管癌,应该具有一定的合理性。

总之,针对COX-2信号和其他有关的关键分子在胆管癌变作用,联合抑制IL-6和COX-2的靶向治疗,对于肝门胆管癌或许是治疗的合适选择。这种方法能协同的提供抗肿瘤效果且副作用较小。在此背景下,划定的COX-2活性的PG信号和其他监管途径,如IL-6/GP130之间的相互关系,预期将为发展未来的组合疗法提供重要的思路。

6 参考文献

- 1 中华医学会外科学分会胆道外科学组,解放军全军肝胆外科专业委员会. 肝门部胆管癌诊断和治疗指南(2013版). 中华外科杂志 2013; 51: 865-871
- 2 姜小清, 易滨, 罗祥基, 刘辰谭, 蔚锋, 程庆保, 张柏和, 吴孟超. 肝门部胆管癌10年外科治疗经验. 中华消化外科杂志 2010; 9: 180-182
- 3 Bhardwaj A, Sethi G, Vadhan-Raj S, Bueso-Ramos C, Takada Y, Gaur U, Nair AS, Shishodia S, Aggarwal BB. Resveratrol inhibits proliferation, induces apoptosis, and overcomes chemoresistance through down-regulation of STAT3 and nuclear factor-kappaB-regulated antiapoptotic and cell survival gene products in human multiple myeloma cells. *Blood* 2007; 109: 2293-2302 [PMID: 17164350 DOI: 10.1182/blood-2006-02-003988]
- 4 Malhi H, Gores GJ. Review article: the modern diagnosis and therapy of cholangiocarcinoma. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 23: 1287-1296 [PMID: 16629933 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2006.02900.x]
- 5 李风, 周光文. 2280例肝门胆管癌的荟萃分析. 中华肝胆外科杂志 2013; 19: 171-176
- 6 Lillemoe KD, Cameron JL. Surgery for hilar cholangiocarcinoma: the Johns Hopkins approach. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2000; 7: 115-121 [PMID: 10982602 DOI: 10.1007/s005340050164]
- 7 Mosconi S, Beretta GD, Labianca R, Zampino MG, Gatta G, Heinemann V. Cholangiocarcinoma. *Crit Rev Oncol Hematol* 2009; 69: 259-270 [PMID: 18977670 DOI: 10.1016/j.critrevonc.2008.09.008]
- 8 de Martel C, Plummer M, Franceschi S. Cholangiocarcinoma: descriptive epidemiology and risk factors. *Gastroenterol Clin Biol* 2010; 34: 173-180 [PMID: 20202771 DOI: 10.1016/j.gcb.2010.01.008]
- 9 Tyson GL, El-Serag HB. Risk factors for cholangiocarcinoma. *Hepatology* 2011; 54: 173-184 [PMID: 21488076 DOI: 10.1002/hep.24351]
- 10 张宗明. 胆道外科疾病的诊治现状与进展. 世界华人消化杂志 2008; 16: 1200-1204
- 11 彭承宏, 李勤裕, 王兆海. 肝门胆管癌外科治疗现状. 肝胆外科杂志 2008; 16: 81-83
- 12 彭承宏, 程坤. 肝门部胆管癌手术方式的正确选择. 中华消化外科杂志 2012; 11: 11-14
- 13 陈杰, 郑起, 黄新余, 袁周, 阎钧, 潘烨. 不同治疗方法对肝门胆管癌预后的影响. 中华肝胆外科杂志 2010; 16: 882-883
- 14 叶翔赞, 陆舜, 陈智伟. 重组人血管内皮抑制素联合EP方案对小鼠肺癌细胞株NCI-H446的增殖抑制和促细胞凋亡作用. 肿瘤 2012; 21: 239-243
- 15 Nishimoto N, Kishimoto T. Interleukin 6: from bench to bedside. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2006; 2: 619-626 [PMID: 17075601]
- 16 林曲, 黄明声, 李朝霞, 董敏, 温景芸, 马小昆, 吴祥元. IL-6及sIL-6R在胆管癌患者血清中的表达及临床意义. 中山大学学报 2007; 28: 38-40

■应用要点

联合抑制IL-6和COX-2的靶向治疗,二者能协同的提供抗肿瘤效果且不良反应较小。在此背景下,划定的COX-2活性的PG信号和其他监管途径,如与IL-6/GP130之间的相互关系,预期将为发展未来的组合疗法提供重要的思路。

■同行评价

本文应在胆管癌、IL-6、COX-2及交互作用方面进行更加深入的描述。

- 17 刘徽, 朱波, 林治华. IL-6信号通路与肿瘤. 细胞与分子免疫学杂志 2011; 27: 353-355
- 18 Soresi M, Giannitrapani L, D'Antona F, Florena AM, La Spada E, Terranova A, Cervello M, D'Alessandro N, Montalto G. Interleukin-6 and its soluble receptor in patients with liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2563-2568 [PMID: 16688802 DOI: 10.3748/wjg.v12.i16]
- 19 Meng F, Yamagiwa Y, Ueno Y, Patel T. Overexpression of interleukin-6 enhances cell survival and transformed cell growth in human malignant cholangiocytes. *J Hepatol* 2006; 44: 1055-1065 [PMID: 16469407 DOI: org/10.1016/j.jhep.2005.10.030]
- 20 Wehbe H, Henson R, Meng F, Mize-Berge J, Patel T. Interleukin-6 contributes to growth in cholangiocarcinoma cells by aberrant promoter methylation and gene expression. *Cancer Res* 2006; 66: 10517-10524 [PMID: 17079474 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-2130]
- 21 Yamagiwa Y, Meng F, Patel T. Interleukin-6 decreases senescence and increases telomerase activity in malignant human cholangiocytes. *Life Sci* 2006; 78: 2494-2502 [PMID: 16336976 DOI: 10.1016/j.lfs.2005.10.015]
- 22 韩宁, 黄强, 王成. IL-6在胆管癌细胞株QBC939中的生物学效应及其信号传导途径. 肝胆外科杂志 2008; 16: 131-134
- 23 彭晔, 张旭刚, 郑运田, 王艳玲, 胡洁. 白细胞介素6与恶性肿瘤关系的临床研究进展. 临床荟萃 2012; 27: 1281-1284
- 24 Wei LH, Kuo ML, Chen CA, Chou CH, Cheng WF, Chang MC, Su JL, Hsieh CY. The anti-apoptotic role of interleukin-6 in human cervical cancer is mediated by up-regulation of Mcl-1 through a PI 3-K/Akt pathway. *Oncogene* 2001; 20: 5799-5809 [PMID: 11593385]
- 25 Narița D, Seclaman E, Ursoniu S, Ilina R, Cireap N, Anghel A. Expression of CCL18 and interleukin-6 in the plasma of breast cancer patients as compared with benign tumor patients and healthy controls. *Rom J Morphol Embryol* 2011; 52: 1261-1267 [PMID: 22203932]
- 26 Pang XH, Zhang JP, Zhang YJ, Yan J, Pei XQ, Zhang YQ, Li JQ, Zheng L, Chen MS. Preoperative levels of serum interleukin-6 in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2011; 58: 1687-1693 [PMID: 21940335 DOI: 10.5754/hge10799]
- 27 Eldesoky A, Shouma A, Mosaad Y, Elhawary A. Clinical relevance of serum vascular endothelial growth factor and interleukin-6 in patients with colorectal cancer. *Saudi J Gastroenterol* 2011; 17: 170-173 [PMID: 21546718 DOI: 10.4103/1319-3767.80378]
- 28 Lukaszewicz-Zajac M, Mroczko B, Gryko M, Kędra B, Szmietkowski M. Comparison between clinical significance of serum proinflammatory proteins (IL-6 and CRP) and classic tumor markers (CEA and CA 19-9) in gastric cancer. *Clin Exp Med* 2011; 11: 89-96 [PMID: 20938721 DOI: 10.1007/s10238-010-0114-5]
- 29 Rojas A, Liu G, Coleman I, Nelson PS, Zhang M, Dash R, Fisher PB, Plymate SR, Wu JD. IL-6 promotes prostate tumorigenesis and progression through autocrine cross-activation of IGF-IR. *Oncogene* 2011; 30: 2345-2355 [PMID: 21258401 DOI: 10.1038/onc.2010.605]
- 30 Gaiolla RD, Domingues MA, Niéro-Melo L, de Oliveira DE. Serum levels of interleukins 6, 10, and 13 before and after treatment of classic Hodgkin lymphoma. *Arch Pathol Lab Med* 2011; 135: 483-489 [PMID: 21466366 DOI: 10.1043/2010-0060-OA.1]
- 31 Reynaud D, Pietras E, Barry-Holson K, Mir A, Binnewies M, Jeanne M, Sala-Torra O, Radich JP, Passequé E. IL-6 controls leukemic multipotent progenitor cell fate and contributes to chronic myelogenous leukemia development. *Cancer Cell* 2011; 20: 661-673 [PMID: 22094259 DOI: 10.1016/j.ccr.2011.10.012]
- 32 Cheon YK, Cho YD, Moon JH, Jang JY, Kim YS, Kim YS, Lee MS, Lee JS, Shim CS. Diagnostic utility of interleukin-6 (IL-6) for primary bile duct cancer and changes in serum IL-6 levels following photodynamic therapy. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 2164-2170 [PMID: 17617204 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01403.x]
- 33 Rozic JG, Chakraborty C, Lala PK. Cyclooxygenase inhibitors retard murine mammary tumor progression by reducing tumor cell migration, invasiveness and angiogenesis. *Int J Cancer* 2001; 93: 497-506 [PMID: 11477553 DOI: 10.1002/ijc.1376]
- 34 Wu T. Cyclooxygenase-2 and prostaglandin signaling in cholangiocarcinoma. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1755: 135-150 [PMID: 15921858 DOI: org/10.1016/j.bbcan.2005.04.002]
- 35 Hayashi N, Yamamoto H, Hiraoka N, Dono K, Ito Y, Okami J, Kondo M, Nagano H, Umeshita K, Sakon M, Matsuura N, Nakamori S, Monden M. Differential expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) in human bile duct epithelial cells and bile duct neoplasm. *Hepatology* 2001; 34: 638-650 [PMID: 11584358 DOI: 10.1053/jhep]
- 36 Endo K, Yoon BI, Pairojkul C, Demetris AJ, Sirica AE. ERBB-2 overexpression and cyclooxygenase-2 up-regulation in human cholangiocarcinoma and risk conditions. *Hepatology* 2002; 36: 439-450 [PMID: 12143054 DOI: 10.1053/jhep.2002.34435]
- 37 Chariyalertsak S, Sirikulchayanonta V, Mayer D, Kopp-Schneider A, Fürstenberger G, Marks F, Müller-Decker K. Aberrant cyclooxygenase isozyme expression in human intrahepatic cholangiocarcinoma. *Gut* 2001; 48: 80-86 [PMID: 11115827 DOI: 10.1136/gut.48.1.80]
- 38 Wu T, Leng J, Han C, Demetris AJ. The cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib blocks phosphorylation of Akt and induces apoptosis in human cholangiocarcinoma cells. *Mol Cancer Ther* 2004; 3: 299-307 [PMID: 15026550]
- 39 Han C, Leng J, Demetris AJ, Wu T. Cyclooxygenase-2 promotes human cholangiocarcinoma growth: evidence for cyclooxygenase-2-independent mechanism in celecoxib-mediated induction of p21waf1/cip1 and p27kip1 and cell cycle arrest. *Cancer Res* 2004; 64: 1369-1376 [PMID: 14973068 DOI: 10.1158/0008-5472]
- 40 彭利, 徐卓, 周焯, 左连富, 王顺祥, 唐瑞峰, 张凤瑞. NS-398对肝癌SMMC-7721细胞裸鼠移植瘤凋亡和血管生成的影响. 中华实验外科杂志 2008; 25: 108-109
- 41 Umar A, Viner JL, Anderson WF, Hawk ET. Development of COX inhibitors in cancer prevention and therapy. *Am J Clin Oncol* 2003; 26: S48-S57 [PMID: 12902856 DOI: 10.1097/00000421-200308002-00003]
- 42 Han C, Wu T. Cyclooxygenase-2-derived prostaglandin E2 promotes human cholangiocarcinoma cell growth and invasion through EP1 receptor-mediated activation of the epidermal growth factor receptor and Akt. *J Biol Chem* 2005; 280: 24053-24063

- [PMID: 15855163 DOI: 10.1074/jbc.M5005]
- 43 张丽. 前列腺素E2调控胆管癌细胞生长的信号转导通路研究. 南京: 南京医科大学, 2007
- 44 刘智豪, 刘叔文, 余乐. COX-2抑制剂联合抗肿瘤的研究进展. 中国药理学通报 2012; 28: 1651-1654
- 45 马向涛, 余力伟, 王杉, 张辉, 杜如昱, 崔志荣. Stat3与过氧化物酶体增殖因子激活受体 δ 信号转导通路间交互作用对结肠癌细胞增殖的调控影响. 中华实验外科杂志 2005; 22: 1493-1495
- 46 Lai GH, Zhang Z, Sirica AE. Celecoxib acts in a cyclooxygenase-2-independent manner and in synergy with emodin to suppress rat cholangiocarcinoma growth in vitro through a mechanism involving enhanced Akt inactivation and increased activation of caspases-9 and -3. *Mol Cancer Ther* 2003; 2: 265-271 [PMID: 12657721]
- 47 Ancrile B, Lim KH, Counter CM. Oncogenic Ras-induced secretion of IL6 is required for tumorigenesis. *Genes Dev* 2007; 21: 1714-1719 [PMID: 17639077 DOI: 10.1101/gad.1549407Genes]
- 48 Wu T, Han C, Lunz JG, Michalopoulos G, Shelhamer JH, Demetris AJ. Involvement of 85-kd cytosolic phospholipase A(2) and cyclooxygenase-2 in the proliferation of human cholangiocarcinoma cells. *Hepatology* 2002; 36: 363-373 [PMID: 12143044]
- 49 Liu XH, Kirschenbaum A, Yao S, Levine AC. Cross-talk between the interleukin-6 and prostaglandin E(2) signaling systems results in enhancement of osteoclastogenesis through effects on the osteoprotegerin/receptor activator of nuclear factor- κ B (RANK) ligand/RANK system. *Endocrinology* 2005; 146: 1991-1998 [PMID: 15618359]
- 50 李勤裕, 吴卫泽, 韩天权, 张圣道. 胆管癌分子靶向治疗. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1171-1177
- 51 杜因鹏, 贺春燕, 刘海峰, 邓京, 屈亚威, 高洪兰. 白细胞介素-6(IL-6)及(sIL-6R)与胆管癌. 实用临床医药杂志 2012; 16: 30-32
- 52 Lin M, Rose-John S, Grötzinger J, Conrad U, Scheller J. Functional expression of a biologically active fragment of soluble gp130 as an ELP-fusion protein in transgenic plants: purification via inverse transition cycling. *Biochem J* 2006; 398: 577-583 [PMID: 16716147 DOI: 10.1042/BJ20060544]
- 53 Hennekens CH, Borzak S, Bjorkman DJ. Cardiovascular risks of cyclooxygenase-2 inhibitors and traditional anti-inflammatory drugs: necessary but not sufficient for clinical decision making. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2014; 12: 291-293 [PMID: 24502626 DOI: 10.1586/14779072]
- 54 Czembirek C, Eder-Czembirek C, Erovic BM, Turhani D, Spittler A, Selzer E, Pötter R, Thurnher D. The cyclooxygenase-2 inhibitor nimesulide, a non-steroidal analgesic, decreases the effect of radiation therapy in head-and-neck cancer cells. *Strahlenther Onkol* 2009; 185: 310-317 [PMID: 19440670 DOI: 10.1007/s00066-009-1929-4]
- 55 Barry M, Cahill RA, Roche-Nagle G, Neilan TG, Treumann A, Harmey JH, Bouchier-Hayes DJ. Neoplasms escape selective COX-2 inhibition in an animal model of breast cancer. *Ir J Med Sci* 2009; 178: 201-208 [PMID: 19340516 DOI: 10.1007/s11845-009-0335-3]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



益生菌治疗重症急性胰腺炎的研究现状

谢凤梅, 张海蓉

■背景资料

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)根据病情轻重可以分为轻症急性胰腺炎(mild acute pancreatitis, MAP)和重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)两大类。MAP预后较好, 而SAP临床经过凶险, 病死率极高。感染和菌血症是引起SAP患者死亡的主要原因, 预防性应用抗生素并不能减少SAP患者感染性并发症的发生率和死亡率, 因此世界卫生组织提倡益生菌治疗。目前, 益生菌治疗重症急性胰腺炎还存有争议。

■同行评议者

戴朝六, 教授, 中国医科大学第二临床学院(盛京医院)肝胆外科

谢凤梅, 张海蓉, 昆明医科大学第一附属医院消化内科 云南省昆明市 650032

谢凤梅, 在读硕士, 主要从事重症急性胰腺炎的研究。

作者贡献分布: 本文综述由谢凤梅完成; 张海蓉审校。

通讯作者: 张海蓉, 教授, 主任医师, 650032, 昆明市西昌路295号, 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: 2014-05-20 修回日期: 2014-06-13

接受日期: 2014-06-22 在线出版日期: 2014-08-08

Probiotics in treatment of severe acute pancreatitis

Feng-Mei Xie, Hai-Rong Zhang

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

Received: 2014-05-20 Revised: 2014-06-13

Accepted: 2014-06-22 Published online: 2014-08-08

Abstract

Severe acute pancreatitis (SAP) is a life-threatening condition characterized by high mortality, with infection and bacteremia being major causes of death. Prophylactic antibiotic administration failed to show any favorable effect on the incidence of infectious complications in SAP patients. Consequently, microorganism intervention is recommended by World Health Organization (WHO). Probiotics improve the prognosis of SAP patients by promoting gastrointestinal peristalsis, modulating the content of gut microbiota, maintaining the integrity of the gut barrier, modulating the immune response by the gut-associated immune system and reducing the damage to the pancreas, lung and liver. It has been demonstrated that probiotics in combination with immunonutrition could improve the prognosis of SAP patients. However, the use of probiotics in SAP remains controversial currently.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Severe acute pancreatitis; Probiotics

Xie FM, Zhang HR. Probiotics in treatment of severe acute pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(22): 3232-3238 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3232.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3232>

摘要

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)病情凶险, 病死率高, 严重威胁患者的生命安全。感染和菌血症是SAP患者主要的死因。预防性应用抗生素并不能减少SAP患者感染性并发症的发生率, 因此世界卫生组织(World Health Organization, WHO)提倡益生菌治疗。益生菌通过促进肠道动力、抑制肠道致病菌过度生长、保护肠黏膜的屏障功能、调节肠道免疫功能及减轻胰腺、肺、肝损伤来改善SAP患者的预后。近年研究表明益生菌联合免疫营养能改善SAP患者的预后。目前, 益生菌应用于SAP还存有争议。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 重症急性胰腺炎; 益生菌

核心提示: 益生菌通过促进肠道动力、抑制肠道致病菌过度生长、保护肠黏膜的屏障功能、调节肠道免疫功能及减轻胰腺、肺、肝损伤来改善重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)患者的预后, 降低病死率。近年研究表明益生菌联合免疫营养能改善SAP患者的预后。

谢凤梅, 张海蓉. 益生菌治疗重症急性胰腺炎的研究现状. 世界华人消化杂志 2014; 22(22): 3232-3238 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3232.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3232>

0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是指多种病因引起的胰酶激活, 继以胰腺局部炎症反应为主要特征, 伴或不伴有其他器官功能改变的疾病。AP根据病情轻重可以分为轻症急性胰腺炎

(mild acute pancreatitis, MAP)和重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)两大类^[1]. MAP预后较好, 而SAP临床经过凶险, 病死率较高, 为36%-50%, 如后期合并感染则病死率极高^[2]. 感染和菌血症是引起SAP患者死亡的主要原因, 预防性应用抗生素并不能减少SAP患者感染性并发症的发生率和死亡率, 因此世界卫生组织(World Health Organization, WHO)提倡益生菌治疗. 目前, 益生菌治疗重症急性胰腺炎还存有争议^[3-5]. 本文就益生菌对SAP的作用机制和益生菌应用于SAP的相关研究作综述, 以期指导后续的动物实验和临床研究, 恰当地应用益生菌, 改善SAP的预后, 降低病死率.

1 益生菌应用于SAP

SAP有两个死亡高峰, 第1个多发生在病程第1 wk, 是由全身炎症反应综合征(system inflammatory reactive syndrome, SIRS)引起多器官功能障碍. 而第2个多发生在病程的1-3 wk, 是由感染和菌血症引起. 其中第2个高峰占病死率的89%^[6].

既然感染和菌血症是SAP主要的死因, 那么能否应用抗生素呢? 学者们做了很多研究, 遗憾的是研究结果并没有给SAP患者带来福音. 大量预防性应用抗生素的Meta分析^[7-10]结果提示, 预防性应用抗生素并未减少患者的胰腺坏死感染率、手术干预率和死亡率. 而治疗性应用抗生素则是必须的, SAP患者中任何形式的感染均为抗生素治疗的指征, 以阻断病原菌在局部及血行扩散, 减少晚期并发症的发生^[11]. 预防性应用抗生素对SAP患者并没有产生积极的影响. 而且大量长期的抗生素应用易导致细菌的抗药性及真菌的过度生长. WHO倡导微生物干预治疗: 非病原体微生物(如益生菌)抑制病原体^[12]. 近年来, 益生菌能否降低SAP感染性并发症的发生率及改善SAP患者的预后已成为临床研究的热点之一, 迄今尚存有争议.

益生菌的概念是Fuller^[13]于1989年首次提出: 指食物中能改善肠内菌群平衡, 从而对宿主健康发挥有益作用的活微生物. 此后, 欧洲国际生命科学协会^[14,15]和联合国粮食农业组织/WHO^[16]对益生菌的概念进行扩展, 最后将益生菌定义为: “当宿主摄入足够量的时候, 能产生超过固有基础营养价值的有益作用的活菌制剂”.

目前, 临床上常用的益生菌包括: 乳酸菌、双歧杆菌、大肠杆菌、链球菌、乳酸乳球菌和一些肠球菌, 唯一使用的酵母是非致病性的鲍

氏酵母菌^[17]. 而绝大部分的益生菌是乳酸菌和双歧杆菌^[18].

2 益生菌对SAP的作用机制

2.1 对SAP时肠道3个改变的作用机制 SAP患者的肠道发生以下3个改变^[19]: (1)肠腔内, 主要是肠道动力障碍和肠道菌群过度生长; (2)肠上皮, 主要是肠黏膜屏障功能破坏导致通透性增加; (3)肠道免疫系统失调, 主要是促炎与抗炎调节功能紊乱. 这3个因素导致肠道衰竭, 进一步出现肠道菌群移位, 不但引起胰腺坏死组织感染, 还可使肠源性内毒素及细菌进入体循环, 引起菌血症, 诱发和加重多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS). Besselink等^[20]研究发现, SAP患者肠道内的细菌和内毒素可通过肠道的淋巴和门脉系统到达胰腺, 导致胰腺坏死组织感染, 此外, 移位的肠道细菌可激活免疫系统, 激活的单核细胞和巨噬细胞可释放大量细胞因子和炎性介质, 进一步加重对人体的损伤. 肠道改变引起肠道细菌移位, 进一步引起感染和菌血症, 导致患者死亡. 因此保护肠道的黏膜屏障功能, 预防肠道细菌移位对改善SAP患者的预后至关重要.

2.1.1 对肠腔的作用机制: (1)产酸, 降低肠道内的pH值, 削弱病原菌的生存能力和毒性^[21]; (2)产生细菌素和抗菌物质, 抑制致病菌的生长. 唾液乳杆菌(1999年从人类肠道分离出来的益生菌)能产生细菌素ABP-118, 而细菌素ABP-118是一个广谱的抗菌剂. 他能抑制很多致病菌, 包括杆菌、李斯特菌属、肠球菌和葡萄球菌^[22]; (3)竞争肠上皮细胞上的结合位点, 抑制致病菌的定植和生长. Sherman等^[23]发现不同的益生菌在肠道内形成一个屏障, 减少宿主肠上皮细胞对病原菌的应答. *L. rhamnosus*和*L. acidophilus*(益生菌)能黏附在宿主的肠上皮细胞上, 调节上皮细胞对病原菌应答的信号转导, 减少大肠杆菌(*Escherichia coli*, *E. coli*)O157:H7和*E. coli* E2348/69(致病菌)与宿主细胞的黏附. 黏蛋白是一类复杂的糖蛋白, 他附着在肠上皮细胞的表面, 通过减少有害因素接触肠上皮细胞而保护肠黏膜. 黏蛋白3(mucin 3, MUC3)是一类小肠黏蛋白. 附着在小肠上皮细胞上的乳酸菌可以增加MUC3的表达. Mack等^[24]通过动物实验发现, 益生菌通过MUC3细胞外分泌物诱导MUC3基因的转录和翻译, 增加黏蛋白保护肠黏膜; (4)改变肠道微生态, 抑制潜在致病菌的过度生长和

■研发前沿

目前, 益生菌应用于SAP研究的热点和重点: 是否能降低感染性并发症的发生率, 降低病死率. 亟待研究的问题有: 何种益生菌是有效的、混合菌株是否比单菌株更有效、何时给益生菌、益生菌的疗程应该多久、免疫微生态营养是否是一种有效的治疗SAP的手段等.

■相关报道

Morrow等比较全面地综述了PROPATRIA研究所带来的问题, 现在益生菌研究所面临的问题及有关益生菌安全问题的各种观点.

移位. van Minnen等^[25]将诱导的AP大鼠随机分为对照组、安慰剂组、益生菌组, 结果益生菌能减少十二指肠潜在致病菌的过度生长. 减少肠道细菌移位到肠外, 包括胰腺. 益生菌组的健康评分较安慰剂组高, 后期(≥ 48 h)病死率较安慰剂组降低了27%.

2.1.2 对肠上皮的作用机制: 减少肠上皮细胞凋亡, 减少肠黏膜的通透性, 预防氧化应激. Sahin等^[26]将大鼠分为对照组、急性坏死性胰腺炎组、急性坏死性胰腺炎+益生菌治疗组, 结果发现鲍氏酵母菌(*Saccharomyces Boulardii*)能够有效降低脱落的肠上皮细胞DNA的损伤, 减少肠上皮细胞凋亡, 从而减少细菌移位. 在AP中, 氧化应激导致肠道屏障功能衰竭. Lutgendorff等^[27]在动物实验中发现, 诱导的AP大鼠模型的肠道屏障功能衰竭是以肠上皮细胞凋亡、紧密连接蛋白的改变、脂质过氧化反应为特征. 而益生菌能减少通透性的增加、细胞凋亡、脂质过氧化反应. 益生菌不仅预防谷胱甘肽的减少, 还增加谷胱甘肽的生物合成. 在益生菌预处理组中谷氨酰-半胱氨酸-连接酶(谷胱甘肽生物合成的限速酶)的活性增强, 这与谷氨酰-半胱氨酸-连接酶的mRNA表达增加相一致. 而谷胱甘肽是机体内一种重要的抗氧化剂, 它能够清除掉人体内的氧自由基. 因此Lutgendorff等推测, 益生菌预防氧化应激和保护肠黏膜屏障功能的机制可能包括促进谷胱甘肽的生物合成. Llopis等^[28]发现结肠黏膜定植有干酪乳杆菌(*Lactobacillus casei*)能减轻暴露于三硝基苯磺酸的结肠黏膜损伤、炎症反应, 稳定肠黏膜的屏障功能, 减少细菌移位到肠外(肠系膜淋巴结、肝脏、脾脏)的数量和频率.

2.1.3 对肠道免疫系统的作用机制: (1)调节非特异性免疫: 增加自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)细胞数量和细胞毒性. NK细胞是机体内参与抗感染、抗肿瘤的重要细胞. 有研究^[29]表明, 鼠李糖乳杆菌(*L. rhamnosus*)HN001能增加人体内NK细胞的数量. Takeda等^[30]针对干酪乳杆菌(*Lactobacillus casei* Shirota, LcS)对人体NK细胞的作用, 设计了一个安慰剂对照、交叉实验. 结果发现干酪乳杆菌能增强NK细胞的细胞毒性. 而NK细胞的细胞毒性的增强与白介素-12(interleukin-12, IL-12)有关. Takeda等推测IL-12的产生引起NK细胞毒性增强. 增加巨噬细胞的数量、增强巨噬细胞的活性. 赖新峰等^[31]报道双歧杆菌不但能增强裸鼠腹腔巨噬细胞的吞噬

活性、能量代谢水平, 还可以促进巨噬细胞来源的IL-1、IL-6、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)的mRNA表达增强、活性及含量增高. 巨噬细胞是引起机体非特异性免疫的重要因素, 可分泌细胞因子, 促进免疫细胞的增殖、分化或增强免疫反应^[32]; (2)调节特异性免疫: 调控促炎与抗炎细胞因子的产生: Sturm等^[33]报道大肠杆菌属Nissle 1917(*Escherichia coli* Nissle 1917, EcN)能增加小鼠体内抗炎因子IL-10的分泌量, 减少促炎因子TNF、干扰素7(interferon-7, IFN-7)和IL-2分泌量. Matsumoto等^[34]报道LcS能下调小鼠体内促炎因子IL-6和IFN-7的分泌量. 加强肠道对病原菌的特异性应答反应: 王天群等^[35]报道: 结直肠癌患者术前补充益生菌(双歧杆菌四联活菌片)可以显著提高患者免疫指标如IgG、IgM和IgA水平, 并且显著降低炎症指标IL-6和C反应蛋白(C reactive protein, CRP)的水平. 益生菌在肠道黏附定植, 增强T、B细胞对抗原刺激的反应性, 发挥特异性免疫作用. 调控核因子- κ B: 核因子- κ B(nuclear factor kappa B, NF- κ B)是存在细胞内的一种重要的核转录因子, 具有调节炎症的功能. NF- κ B在急性胰腺炎的发展中占据核心地位, 他调节炎症因子和免疫蛋白的基因表达. 已有研究发现, 在各种SAP大鼠模型的胰腺组织、胰外器官中NF- κ B均表达上调, 可能与胰腺炎许多相关细胞因子、炎症介质的活化相关. 大多数研究表明, 抑制NF- κ B的活化能减轻SAP的炎症程度^[36]. VSL#3(包含8种不同的益生菌: 嗜酸乳杆菌、德氏乳杆菌、干酪乳杆菌、植物乳杆菌、长双歧杆菌、婴儿长双歧杆菌、短双歧杆菌和嗜热链球菌)能产生可溶的化合物, 抑制NF- κ B的产生^[37].

2.2 减轻SAP胰腺损伤 Sahin等^[26]将大鼠分为对照组、急性坏死性胰腺炎组、急性坏死性胰腺炎+益生菌治疗组, 结果急性坏死性胰腺炎组的胰腺组织病理学评分显著高于急性坏死性胰腺炎+益生菌治疗组(评分越高越严重), 鲍氏酵母菌(*Saccharomyces Boulardii*)能够有效地降低胰腺腺泡细胞, 腹腔渗出液淋巴细胞的DNA损伤. Muftuoglu等^[38]研究发现经益生菌[包括嗜热链球菌(*Streptococcus Thermophilus*)、嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus Acidophilus*)、嗜酸双歧杆菌(*Bifidobacterium Lactis*)]处理的AP大鼠, 胰腺组织纤维化、水肿、腺泡细胞丢失、实质坏死、单核细胞浸润、多形核白细胞浸润、导管损伤、反应性非典型增生的平均评分要显著低于AP组,

也即益生菌处理能减轻AP时胰腺的损伤程度。

2.3 减轻SAP肺损伤 肺损伤是AP最重要的腹腔外器官功能障碍^[39]。最重要的肺部并发症是急性肺损伤和急性呼吸窘迫综合征^[40]。AP引起肺损伤的机制还不是很清楚, 目前认为胰腺炎时产生的促炎介质和活化的酶还有活化的白细胞参与该病理生理过程^[41]。特别是循环血中IL-6和分泌型磷脂酶A2的水平在其中发挥着重要的作用^[42]。Karen等^[43]将诱导的急性坏死性胰腺炎大鼠随机分为假手术组、生理盐水处理组和益生菌处理组, 结果发现: 与别的两组相比, 生理盐水处理组的血清分泌型磷脂酶A2和IL-6增高。组织学分析表明, 在益生菌处理组中, 水肿、炎症、空泡形成和多形核白细胞渗透入肺组织显著减少。益生菌处理组的肺组织和胰腺组织的病理学评分均显著低于生理盐水处理组(评分越高越严重), 细菌移位到肺、肠系膜淋巴结和胰腺均显著减少。Karen等^[43]认为, 益生菌减少急性坏死性胰腺炎肺损伤的机制可能是: 减少细菌移位, 从而减少炎性细胞因子和全身炎症反应, 从而减轻因全身炎症反应综合征引起的远隔器官的损伤。

2.4 减轻SAP肝损害 据报道, AP肝损害发生率达73%, 而SAP肝损害发生率更是高达100%, 肝损害的发生率及肝细胞受损程度与胰腺炎病情的轻重呈正相关。有研究表明, 急性胰腺炎时释放的大量炎性细胞因子和肠道细菌、内毒素易位在肝损害中发挥重要作用。我国学者吴先国等^[44]给SAP肝损害患者口服复合乳酸菌制剂(聚克), 结果与对照组相比, 治疗组肝功能恢复时间及平均住院时间明显缩短。吴先国等认为早期应用益生菌辅助治疗SAP肝损害, 补充肠道正常菌群, 减少细菌移位, 可减轻急性胰腺炎时的肝损害, 改善其病程及预后, 降低病死率。

3 益生菌应用于SAP的争议

很多临床研究和动物实验都肯定益生菌在SAP中的治疗效果。然而2008年发表在*Lancet*杂志上的一项随机、双盲、多中心、安慰剂对照研究(probiotic prophylaxis in patients with predicted severe acute pancreatitis, PROPATRIA)^[45]的结果, 却提出了相反的意见, 引起了全世界的广泛关注。他们将298例SAP患者随机分为治疗组和对照组, 在常规治疗的同时, 治疗组予规定剂量的多菌种益生菌(*Ecologic 641*), 而安慰剂组予相同剂量的安慰剂, 观察住院期间及出院后90 d内患

者感染性并发症等的发生情况。结果显示: 预防性应用益生菌并不能降低SAP患者感染性并发症的发生率, 且益生菌组较安慰剂组死亡率明显升高($P = 0.01$), 死因主要是多器官功能衰竭。因此, 作者提出益生菌不能再被认为是无害的。

PROPATRIA实验的结果发表后受到了很多质疑。Reid等^[46]认为该研究很可能存在随机抽样偏倚, 因为益生菌组随机抽取的器官衰竭率显著高于安慰剂组($n = 7$)($P = 0.02$)。Capurso等^[47]认为: 首先, PROPATRIA实验中用的混合细菌不能被看作是益生菌, 因为他没有符合益生菌定义的先决条件“当宿主摄入足够量的时候, 能产生超过固有基础营养价值的有益作用的活菌制剂”; 其次, 现有研究证据表明益生菌的作用具有菌株特异性, 因此, 很有必要不仅要知道属、种, 还要知道是什么菌株, 然而, PROPATRIA实验中并没有相关信息; 再次, 益生菌应用于人类要求人体试验证实益生菌有效; 最后, 评估不良反应(比如代谢毒性)的发生率的方法不够完善。Hooijmans等^[48]用系统评价和Meta分析的方法, 针对益生菌的疗效和不良反应, 进一步探究动物实验(益生菌对胰腺炎的治疗效果)和PROPATRIA实验之间的相互关系。他们在PubMed和Embase上检索2011-08-05之前有关益生菌对AP治疗效果的原始文献, 对PROPATRIA实验结果发表前后的相关动物实验结果进行完全分析, 不能得出在PROPATRIA实验中益生菌会产生有害作用这样的结论。此外, 对临床前的动物实验进行Meta分析结果表明益生菌是有效的。2012年PROPATRIA实验的研究小组又发表了一篇文章^[49], 对99例AP患者进行回顾性分析, 结果提示应用益生菌并没有增加SAP患者的死亡率。

尽管PROPATRIA实验的结果遭到各种质疑, 但他却促使人们关注益生菌使用的安全问题。Kotzampassi等^[50]认为应用益生菌理论上的风险包括: 转导耐药基因、从肠道移位、具有毒性和代谢效应。但是, 报道的并发症非常稀少, 常常发生在危重患者、免疫功能不全的患者、早产新生儿和器官移植的受体。大部分的研究证明益生菌是安全的, 且能被很好地耐受。PROPATRIA实验提出的益生菌的安全监督问题需要重新审视。对可能的不良反应的监督应该放在高危人群。

4 益生菌联合免疫营养在SAP中的应用

益生菌联合免疫营养被称为免疫微生态营养

■创新盘点

本文较为全面地综述了“益生菌治疗重症急性胰腺炎的研究现状”, 内容比较全面, 观点明确。较为真实、科学地反映了益生菌治疗重症急性胰腺炎的研究现状与趋势, 可指导后续的动物实验和临床研究。

■应用要点

目前, 益生菌治疗重症急性胰腺炎还存有争议. 本文就益生菌对SAP的作用机制和益生菌应用于SAP的相关研究作综述, 可指导后续的动物实验和临床研究, 恰当地应用益生菌. 进一步指导临床实践, 正确地使用益生菌, 提高SAP的治疗效果, 改善预后, 降低病死率.

(ecoimmunonutrition), 是指在提供食物纤维等必需营养素(包括免疫营养)的同时, 还提供人体的常居细菌(益生菌), 与肠内致病菌竞争, 最终恢复肠内正常菌群, 刺激免疫系统, 增强机体特异性与非特异性免疫, 提高肠道免疫力. 近年多项研究提示免疫微生态营养对SAP是有用的. Zou等^[51]将诱导的SAP猪模型随机分为肠外营养组(parenteral nutrition, PN)、对照肠内营养组(control enteral nutrition, CEN)和免疫微生态营养组(enteral immunonutrition, EIN)(EIN是在CEN的基础上加用L-谷氨酰胺、L-精氨酸、益生菌: 包括双歧杆菌、乳杆菌、肠球菌), 结果: CEN组和EIN组血浆和胰液淀粉酶浓度、胰腺炎的严重程度没有显著差异. 与PN组和CEN组相比, EIN组的肠道通透性、血浆内毒素水平、细菌移位的发生率和数量均显著减小, 回肠黏膜、绒毛增厚, 腺窝加深, 且正常小肠绒毛的百分率增加. CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺: CD8⁺一开始降低, 第4天开始逐渐增加, EIN组的三个指标均较其他两组增加快. 同样的, 血浆IgA、IgG和IgM水平一开始降低, 后逐渐增加, EIN组增加较其他两组快. Zou等^[51]得出结论: 免疫微生态营养通过维持肠道黏膜的完整性和减少肠道的通透性来保护肠道屏障功能, 通过提升T淋巴细胞和免疫球蛋白的水平来提高免疫功能. 免疫微生态营养在SAP早期很可能是一个有效的治疗方案, 能阻止疾病进程和减少并发症的发生. Wang等^[52]将183例SAP患者随机分为3组: PN、EN和EN+EIN(EN+EIN是在EN的基础上加用枯草杆菌和屎肠球菌的混合物), 结果: 胰源性脓毒血症、多器官功能障碍综合征、死亡率, EN组低于PN组, 而EN+EIN组更低. 血浆肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、IL-6水平和急性生理与慢性健康评分(acute physiology and chronic health evaluation, APACHE II)评分, EN组低于PN组, 而EN+EIN组更低. 血浆IL-10水平, EN组高于PN组, 而EN+EIN组更高. Wang等得出结论: 肠内营养能降低血浆中促炎因子TNF- α 、IL-6和内毒素水平, 升高血浆中抗炎因子IL-10的浓度, 减少细菌移位, 免疫微生态营养比肠内营养的治疗效果更好.

5 结论

目前, 益生菌应用于SAP还存有争议. 虽然有很多证据证明益生菌对SAP是有效的, 可是还有一些问题需要进一步研究, 比如何种益生菌是有

效的、混合菌株是否比单菌株更有效、何时给益生菌、益生菌的疗程应该多久、免疫微生态营养是否是一种有效的治疗手段等, 这些问题都需要进一步的研究. 我们期待学者们做出更有说服力的研究, 解决尚存的问题, 改善SAP的预后, 降低病死率.

6 参考文献

- 1 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组. 中国急性胰腺炎诊治指南(草案). 胰腺病学 2004; 4: 35-38
- 2 Vege SS, Gardner TB, Chari ST, Munukuti P, Pearson RK, Clain JE, Petersen BT, Baron TH, Farnell MB, Sarr MG. Low mortality and high morbidity in severe acute pancreatitis without organ failure: a case for revising the Atlanta classification to include "moderately severe acute pancreatitis". *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 710-715 [PMID: 19262525 DOI: 10.1038/ajg.2008.77]
- 3 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组, 《中华胰腺病杂志》编辑委员会, 《中华消化杂志》编辑委员会. 中国急性胰腺炎诊治指南(2013年, 上海). 临床肝胆病杂志 2013; 29: 656-660
- 4 Working Group IAP/APA Acute Pancreatitis Guidelines. IAP/APA evidence-based guidelines for the management of acute pancreatitis. *Pancreatology* 2013; 13: e1-e15 [PMID: 24054878 DOI: 10.1016/j.pan.2013.07.063]
- 5 中国医师协会急诊医师分会. 2013中国急诊急性胰腺炎临床实践指南. 中国急救医学 2013; 33: 1-15
- 6 Wyncoll DL. The management of severe acute necrotising pancreatitis: an evidence-based review of the literature. *Intensive Care Med* 1999; 25: 146-156 [PMID: 10193540]
- 7 Jafri NS, Mahid SS, Idstein SR, Hornung CA, Galandiuk S. Antibiotic prophylaxis is not protective in severe acute pancreatitis: a systematic review and meta-analysis. *Am J Surg* 2009; 197: 806-813 [PMID: 19217608 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2008.08.016]
- 8 Xiong GS, Wu SM, Wang ZH. Role of prophylactic antibiotic administration in severe acute pancreatitis: a meta-analysis. *Med Princ Pract* 2006; 15: 106-110 [PMID: 16484836 DOI: 10.1159/000090913]
- 9 de Vries AC, Besselink MG, Buskens E, Ridwan BU, Schipper M, van Erpecum KJ, Gooszen HG. Randomized controlled trials of antibiotic prophylaxis in severe acute pancreatitis: relationship between methodological quality and outcome. *Pancreatology* 2007; 7: 531-538 [PMID: 17901714 DOI: 10.1159/000108971]
- 10 Mazaki T, Ishii Y, Takayama T. Meta-analysis of prophylactic antibiotic use in acute necrotizing pancreatitis. *Br J Surg* 2006; 93: 674-684 [PMID: 16703633 DOI: 10.1002/bjs.5389]
- 11 于齐宏, 杜奕奇, 李兆申. 急性胰腺炎的治疗. 中华胰腺病学杂志 2013; 13: 55-60
- 12 Tenover FC, Hughes JM. WHO Scientific Working Group on monitoring and management of bacterial resistance to antimicrobial agents. *Emerg Infect Dis* 1995; 1: 37 [PMID: 8903156]
- 13 Fuller R. Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol* 1989; 66: 365-378 [PMID: 2666378]
- 14 Schrezenmeir J, de Vrese M. Probiotics, prebiotics, and synbiotics--approaching a definition. *Am J Clin Nutr* 2001; 73: 361S-364S [PMID: 11157342]

- 15 Salminen S, Bouley C, Boutron-Ruault MC, Cummings JH, Franck A, Gibson GR, Isolauri E, Moreau MC, Roberfroid M, Rowland I. Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *Br J Nutr* 1998; 80 Suppl 1: S147-S171 [PMID: 9849357]
- 16 Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization (FAO/WHO). Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on evaluation of health and nutritional properties of pro-biotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria, Crdoba, Argentina, 2001: 19-20
- 17 Morrow LE, Gogineni V, Malesker MA. Probiotic, prebiotic, and synbiotic use in critically ill patients. *Curr Opin Crit Care* 2012; 18: 186-191 [PMID: 22343306 DOI: 10.1097/MCC.0b013e3283514b17]
- 18 de Vrese M, Schrezenmeir J. Probiotics, prebiotics, and synbiotics. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 2008; 111: 1-66 [PMID: 18461293 DOI: 10.1007/10_2008_097]
- 19 van Santvoort HC, Besselink MG, Timmerman HM, van Minnen LP, Akkermans LM, Gooszen HG. Probiotics in surgery. *Surgery* 2008; 143: 1-7 [PMID: 18154927 DOI: 10.1016/j.surg.2007.06.009]
- 20 Besselink MG, van Santvoort HC, Renooy W, de Smet MB, Boermeester MA, Fischer K, Timmerman HM, Ahmed Ali U, Cirkel GA, Bollen TL, van Ramshorst B, Schaapherder AF, Witteman BJ, Ploeg RJ, van Goor H, van Laarhoven CJ, Tan AC, Brink MA, van der Harst E, Wahab PJ, van Eijck CH, De-jong CH, van Erpecum KJ, Akkermans LM, Gooszen HG. Intestinal barrier dysfunction in a randomized trial of a specific probiotic composition in acute pancreatitis. *Ann Surg* 2009; 250: 712-719 [PMID: 19801929 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181bce5bd]
- 21 Liévin-Le Moal V, Amsellem R, Servin AL, Coconnier MH. Lactobacillus acidophilus (strain LB) from the resident adult human gastrointestinal microflora exerts activity against brush border damage promoted by a diarrhoeagenic Escherichia coli in human enterocyte-like cells. *Gut* 2002; 50: 803-811 [PMID: 12010882]
- 22 Flynn S, van Sinderen D, Thornton GM, Holo H, Nes IF, Collins JK. Characterization of the genetic locus responsible for the production of ABP-118, a novel bacteriocin produced by the probiotic bacterium Lactobacillus salivarius subsp. salivarius UCC118. *Microbiology* 2002; 148: 973-984 [PMID: 11932444]
- 23 Sherman PM, Johnson-Henry KC, Yeung HP, Ngo PS, Goulet J, Tompkins TA. Probiotics reduce enterohemorrhagic Escherichia coli O157: H7- and enteropathogenic E. coli O127: H6-induced changes in polarized T84 epithelial cell monolayers by reducing bacterial adhesion and cytoskeletal rearrangements. *Infect Immun* 2005; 73: 5183-5188 [PMID: 16041036 DOI: 10.1128/IAI.73.8.5183-5188.2005]
- 24 Mack DR, Ahrne S, Hyde L, Wei S, Hollingsworth MA. Extracellular MUC3 mucin secretion follows adherence of Lactobacillus strains to intestinal epithelial cells in vitro. *Gut* 2003; 52: 827-833 [PMID: 12740338]
- 25 van Minnen LP, Timmerman HM, Lutgendorff F, Verheem A, Harmsen W, Konstantinov SR, Smidt H, Visser MR, Rijkers GT, Gooszen HG, Akkermans LM. Modification of intestinal flora with multispecies probiotics reduces bacterial translocation and improves clinical course in a rat model of acute pancreatitis. *Surgery* 2007; 141: 470-480 [PMID: 17383524 DOI: 10.1016/J.surg.2004.2006.10.00]
- 26 Sahin T, Aydin S, Yüksel O, Bostanci H, Akyürek N, Memiş L, Başaran N. Effects of the probiotic agent Saccharomyces Boulardii on the DNA damage in acute necrotizing pancreatitis induced rats. *Hum Exp Toxicol* 2007; 26: 653-661 [PMID: 17884953]
- 27 Lutgendorff F, Nijmeijer RM, Sandström PA, Trulsson LM, Magnusson KE, Timmerman HM, van Minnen LP, Rijkers GT, Gooszen HG, Akkermans LM, Söderholm JD. Probiotics prevent intestinal barrier dysfunction in acute pancreatitis in rats via induction of ileal mucosal glutathione biosynthesis. *PLoS One* 2009; 4: e4512 [PMID: 19223985 DOI: 10.1371/journal.pone.0004512]
- 28 Llopis M, Antolín M, Guarner F, Salas A, Malagelada JR. Mucosal colonisation with Lactobacillus casei mitigates barrier injury induced by exposure to trinitrobenzene sulphonic acid. *Gut* 2005; 54: 955-959 [PMID: 15951541 DOI: 10.1136/gut.2004.056101]
- 29 Gill HS, Rutherford KJ, Cross ML. Dietary probiotic supplementation enhances natural killer cell activity in the elderly: an investigation of age-related immunological changes. *J Clin Immunol* 2001; 21: 264-271 [PMID: 11506196]
- 30 Takeda K, Suzuki T, Shimada SI, Shida K, Nanno M, Okumura K. Interleukin-12 is involved in the enhancement of human natural killer cell activity by Lactobacillus casei Shirota. *Clin Exp Immunol* 2006; 146: 109-115 [PMID: 16968405 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2006.03165.x]
- 31 赖新峰, 王立生, 潘令嘉, 周殿元. 双歧杆菌对裸鼠的腹腔巨噬细胞激活作用的初步观察. *中国微生态学杂志* 1999; 11: 336-337
- 32 许维娜. 益生菌的研究进展. *生物技术世界* 2012; 5: 33-35
- 33 Sturm A, Rilling K, Baumgart DC, Gargas K, Abou-Ghazalé T, Raupach B, Eckert J, Schumann RR, Enders C, Sonnenborn U, Wiedenmann B, Dignass AU. Escherichia coli Nissle 1917 distinctively modulates T-cell cycling and expansion via toll-like receptor 2 signaling. *Infect Immun* 2005; 73: 1452-1465 [PMID: 15731043 DOI: 10.1128/IAI.73.3.1452-1465]
- 34 Matsumoto S, Hara T, Hori T, Mitsuyama K, Nagaoka M, Tomiyasu N, Suzuki A, Sata M. Probiotic Lactobacillus-induced improvement in murine chronic inflammatory bowel disease is associated with the down-regulation of pro-inflammatory cytokines in lamina propria mononuclear cells. *Clin Exp Immunol* 2005; 140: 417-426 [PMID: 15932502 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2005.02790.x]
- 35 王天群, 毕铁男. 益生菌对结直肠癌术后患者免疫力和炎症反应的影响. *河北医科大学学报* 2011; 32: 1389-1391
- 36 赵靖, 郑驰, 刘曦, 许贵, 陈志明. NF-KB与重症急性胰腺炎. *西南军医* 2013; 15: 271-274
- 37 Caballero-Franco C, Keller K, De Simone C, Chadee K. The VSL#3 probiotic formula induces mucin gene expression and secretion in colonic epithelial cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 292: G315-G322 [PMID: 16973917 DOI: 10.1152/ajpgi.00265.2006]
- 38 Muftuoglu MA, Isikgor S, Tosun S, Saglam A. Ef-

■名词解释

益生菌: 当宿主摄入足够量的时候, 能产生超过固有基础营养价值的有益作用的活菌制剂;
AP是指多种病因引起的胰酶激活, 继以胰腺局部炎症反应为主要特征, 伴或不伴有其他器官功能改变的疾病, 是常见的急腹症。

■同行评价

本文较为真实、科学地反映了益生菌治疗重症急性胰腺炎的研究现状与趋势,有一定的学术价值。

- fects of probiotics on the severity of experimental acute pancreatitis. *Eur J Clin Nutr* 2006; 60: 464-468 [PMID: 16340953 DOI: 10.1038/sj.ejcn.1602338]
- 39 Frossard JL, Steer ML, Pastor CM. Acute pancreatitis. *Lancet* 2008; 371: 143-152 [PMID: 18191686 DOI: 10.1016/S0140-6736(08)60107-5]
- 40 Avecillas JF, Freire AX, Arroliga AC. Clinical epidemiology of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: incidence, diagnosis, and outcomes. *Clin Chest Med* 2006; 27: 549-557; abstract vii [PMID: 17085244 DOI: 10.1016/j.ccm.2006.06.001]
- 41 Pastor CM, Matthay MA, Frossard JL. Pancreatitis-associated acute lung injury: new insights. *Chest* 2003; 124: 2341-2351 [PMID: 14665518]
- 42 Remick DG, Bolgos GR, Siddiqui J, Shin J, Nemzek JA. Six at six: interleukin-6 measured 6 h after the initiation of sepsis predicts mortality over 3 days. *Shock* 2002; 17: 463-467 [PMID: 12069181]
- 43 Karen M, Yuksel O, Akyürek N, Ofluoglu E, Çağlar K, Sahin TT, Paşaoğlu H, Memiş L, Akyürek N, Bostanci H. Probiotic agent *Saccharomyces boulardii* reduces the incidence of lung injury in acute necrotizing pancreatitis induced rats. *J Surg Res* 2010; 160: 139-144 [PMID: 19375719 DOI: 10.1016/j.jss.2009.02.008]
- 44 吴先国, 张全超. 益生菌辅助治疗重症急性胰腺炎肝损害27例. *临床医学* 2009; 29: 51-52
- 45 Besselink MG, van Santvoort HC, Buskens E, Boermeester MA, van Goor H, Timmerman HM, Nieuwenhuijs VB, Bollen TL, van Ramshorst B, Witteman BJ, Rosman C, Ploeg RJ, Brink MA, Schaapherder AF, Dejong CH, Wahab PJ, van Laarhoven CJ, van der Harst E, van Eijck CH, Cuesta MA, Akkermans LM, Gooszen HG. Probiotic prophylaxis in predicted severe acute pancreatitis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2008; 371: 651-659 [PMID: 18279948 DOI: 10.1016/S0140-6736(08)60207-X]
- 46 Reid G, Gibson G, Sanders ME, Guarner F, Versalovic J. Probiotic prophylaxis in predicted severe acute pancreatitis. *Lancet* 2008; 372: 112-113; author reply 114 [PMID: 18620940 DOI: 10.1016/S0140-6736(08)61024-7]
- 47 Capurso G, Marignani M, Piciocchi M, Merola E, Delle Fave G. Probiotics and severe acute pancreatitis. Addendum. *J Clin Gastroenterol* 2008; 42 Suppl 3 Pt 1: S152-S153 [PMID: 19048651]
- 48 Hooijmans CR, de Vries RB, Rovers MM, Gooszen HG, Ritskes-Hoitinga M. The effects of probiotic supplementation on experimental acute pancreatitis: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2012; 7: e48811 [PMID: 23152810 DOI: 10.1371/journal.pone.0048811]
- 49 van Baal MC, Kohout P, Besselink MG, van Santvoort HC, Benes Z, Zazula R, Rijkers GT, Gooszen HG. Probiotic treatment with *Probioflora* in patients with predicted severe acute pancreatitis without organ failure. *Pancreatology* 2012; 12: 458-462 [PMID: 23127536 DOI: 10.1016/j.pan.2012.08.004]
- 50 Kotzampassi K, Giamarellos-Bourboulis EJ. Probiotics for infectious diseases: more drugs, less dietary supplementation. *Int J Antimicrob Agents* 2012; 40: 288-296 [PMID: 22858373 DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2012.06.006]
- 51 Zou XP, Chen M, Wei W, Cao J, Chen L, Tian M. Effects of enteral immunonutrition on the maintenance of gut barrier function and immune function in pigs with severe acute pancreatitis. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2010; 34: 554-566 [PMID: 20852186 DOI: 10.1177/0148607110362691]
- 52 Wang G, Wen J, Xu L, Zhou S, Gong M, Wen P, Xiao X. Effect of enteral nutrition and ecoimmunonutrition on bacterial translocation and cytokine production in patients with severe acute pancreatitis. *J Surg Res* 2013; 183: 592-597 [PMID: 23726433 DOI: 10.1016/j.jss.2012.12.010]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



高迁移率族蛋白B1在溃疡性结肠炎中表达的研究进展

胡臻, 王小云, 龚镭, 吴高珏, 彭晓斌

胡臻, 王小云, 龚镭, 吴高珏, 彭晓斌, 南京医科大学附属无锡第二医院消化内科 江苏省无锡市 214002

胡臻, 在读硕士, 主要从事炎症性肠病的基础与临床研究。

无锡市医院管理中心医学技术重大基金资助项目, No. YGZX1118

作者贡献分布: 胡臻与王小云对本文做主要贡献; 吴高珏与彭晓斌检索文献; 龚镭审校。

通讯作者: 龚镭, 副教授, 主任医师, 214002, 江苏省无锡市崇安区中山路68号, 南京医科大学附属无锡第二医院消化内科。10111210010@fudan.edu.cn

收稿日期: 2014-04-17 修回日期: 2014-06-09

接受日期: 2014-06-19 在线出版日期: 2014-08-08

Expression of high mobility group box 1 protein in ulcerative colitis

Zhen Hu, Xiao-Yun Wang, Lei Gong, Gao-Jue Wu, Xiao-Bin Peng

Zhen Hu, Xiao-Yun Wang, Lei Gong, Gao-Jue Wu, Xiao-Bin Peng, Department of Gastroenterology, Wuxi No. 2 Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Wuxi 214002, Jiangsu Province, China

Supported by: the Major Project of Medical Technology of Wuxi Hospital Management Center, No. YGZX1118

Correspondence to: Lei-Gong, Associate Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Wuxi No.2 Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, 68 Zhongshan Road, Chongan District, Wuxi 214002, Jiangsu Province, China. 10111210010@fudan.edu.cn

Received: 2014-04-17 Revised: 2014-06-09

Accepted: 2014-06-19 Published online: 2014-08-08

Abstract

Ulcerative colitis (UC) is a chronic inflammatory condition of the colon which involves a complex interplay of genetic, immunological and environmental factors. The precise pathogenesis of UC remains unclear till now. The high mobility group box 1 (HMGB1) protein is a nuclear non-histone DNA-binding protein that is present within the nuclei of almost all eukaryotic cells. Recent studies indicate that HMGB1 can be released into the extracellular milieu and mediate inflammatory response, thereby contributing to the pathogenesis of numerous infectious and noninfectious, inflammatory and autoimmune diseases, as well as cancers. Many studies have indicated that HMGB1 is involved in the development of UC. The present paper gives an overview of HMGB1 and UC.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: HMGB1; Ulcerative colitis; HMGB1 antagonist

Hu Z, Wang XY, Gong L, Wu GJ, Peng XB. Expression of high mobility group box 1 protein in ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(22): 3239-3244 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3239.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3239>

摘要

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种涉及遗传、免疫、环境等多因素共同作用的肠道炎症性疾病, 目前其具体的发病机制仍未明确。高迁移率族蛋白B1(high mobility group box 1, HMGB1)是一种在真核生物细胞内广泛存在的非组核蛋白, 近年研究发现其可释放至细胞外, 介导炎症反应, 参与了各种感染性及非感染性炎症性疾病、自身免疫性疾病、肿瘤等的发病过程。有研究表明, HMGB1与UC的发生、发展有关。本文就HMGB1在UC中的研究进展作一综述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 高迁移率族蛋白B1; 溃疡性结肠炎; HMGB1拮抗剂

核心提示: 高迁移率族蛋白B1(high mobility group box 1, HMGB1)作为一种重要的炎症介质, 参与了溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的发生发展, HMGB1拮抗剂的应用可有效下调其介导的炎症反应。明确HMGB1在UC发病中的作用可为临床治疗提供新的思路。

胡臻, 王小云, 龚镭, 吴高珏, 彭晓斌. 高迁移率族蛋白B1在溃疡性结肠炎中表达的研究进展. *世界华人消化杂志* 2014; 22(22): 3239-3244 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3239.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3239>

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种慢性

■背景资料

我国溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的发病率呈逐年上升的趋势, 其发病机制仍未明确, 治疗手段有限。胞外高迁移率族蛋白B1(high mobility group box 1, HMGB1)是近年发现的一种炎症细胞因子, 参与了各种炎症、肿瘤、自身免疫性疾病的发病过程, 近年来, 其在UC发生发展中的作用受到重视。

■同行评议者

任粉玉, 教授, 延边大学附属医院消化内科

■ 研发前沿

目前关于HMGB1在炎症反应中的作用研究已取得较大进展,通过拮抗HMGB1的促炎作用有效下调了炎症反应。诸多研究证实其参与了UC的发生发展,但其具体机制有待进一步阐明,从而为临床治疗提供新的靶点。

非特异性肠道炎症性疾病,近年来在我国的发生率呈逐年上升的趋势^[1],目前国内外研究普遍认为,UC是涉及遗传、免疫、环境等多因素共同作用下的一种自身免疫性疾病,但其具体的病因及发病机制仍未明确,治疗手段比较有限,且仍有一部分患者临床症状难以缓解,因此进一步研究UC的发病机制有望为其治疗提供新的思路。近年研究发现,高迁移率族蛋白B1(high mobility group box 1, HMGB1)与UC的发生、发展有关,本文就两者的关系作一综述。

1 概述

HMGB1是一种进化高度保守的非组核蛋白,在真核生物细胞内广泛存在,分子量约30 kDa,由215个氨基酸残基构成,含有两个DNA结合域,即A盒与B盒,以及一个含有30个氨基酸残基的酸性末端。早期研究主要关注其核内功能:稳定核小体结构、参与DNA修复及重组、调节基因转录等一系列生命活动^[2,3]。1999年Wang等^[4]首次发现HMGB1可释放至胞外并介导炎症反应,此后,胞外HMGB1在炎症反应中的作用已成为医学研究的一个热点,受到国内外研究者的普遍重视。目前诸多研究表明,胞外HMGB1作为一种重要的炎症介质和致炎因子,在各种感染性和非感染性炎症性疾病、肿瘤、自身免疫性疾病、缺血/再灌注损伤等病理过程中起着重要的作用^[5-9]。

HMGB1可由活化的炎症细胞如单核细胞、巨噬细胞、中性粒细胞等主动分泌至细胞外,也可由损伤或坏死细胞被动释放,新近的研究发现,凋亡细胞也可释放HMGB1^[10],但与坏死细胞不同的是,在细胞凋亡过程中, HMGB1的第106位半胱氨酸被氧化,被氧化的HMGB1释放到细胞外,被巨噬细胞吞噬,并不引起炎症反应,对HMGB1蛋白的一级结构进行研究后发现, Cys106位于HMGB1炎症效应的主体部分即B盒内,这可能部分解释了细胞凋亡时释放出的被氧化的HMGB1炎症活性下降的现象^[11]。胞外HMGB1的致炎作用主要通过其受体介导,如:晚期糖基化终末产物受体(receptor for advanced glycation end products, RAGE)^[12]、Toll样受体2(Toll like receptor 2, TLR2)^[13]、TLR4^[14,15]、TLR9等^[16,17]。上述受体大量表达于巨噬细胞、淋巴细胞、中性粒细胞以及树突状细胞等炎症细胞的表面, HMGB1与其结合后,可以触发细胞内的信号级联反应,促进炎症细胞产生肿瘤细

胞坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-1(interleukin-1, IL-1)、IL-6、IL-8、MIP-1 α 、MIP-2 β 等细胞因子,并诱导树突状细胞的成熟与活化,促进MHC-II、CD83、CD80、CD86等的合成^[18],参与了天然及获得性免疫系统。

2 HMGB1与UC

2.1 HMGB1在UC中的表达 以往的研究结果证实,有30%-83%的UC患者血清中可检出核周型抗中性粒细胞胞浆抗体(perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibodies, P-ANCA)^[19],该抗体的存在对UC的诊断及其与克罗恩病的鉴别有意义^[20]。早在1997年即有学者发现, HMGB1(即HMGB1的旧称)与HMGB2(即HMGB2的旧称)为UC患者P-ANCA的抗原^[21]。UC患者血清中存在抗HMGB1/HMGB2抗体,并与疾病活动度有关^[19]。Takaishi等^[22]的研究认为,联合检测抗HMGB1/HMGB2抗体及抗酿酒酵母抗体(anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies, ASCA)对UC与克罗恩病(尤其是结肠型克罗恩病)的鉴别有意义。

为了更直接地了解HMGB1在UC发病中所起的作用,越来越多的学者对HMGB1在UC肠黏膜中的表达进行了研究。陆宗海等^[23]发现UC小鼠结肠组织中HMGB1表达升高,且与结肠组织学评分和结肠通透性呈正相关^[24],结肠组织中HMGB1的升高速率相对于其他炎症因子如TNF- α 、IL-1 β 而言明显缓慢^[25]。另一项研究中也观察到了上述现象,除此之外,UC小鼠结肠组织中TLR2与核因子 κ B(nuclear factor-kappa B, NF- κ B)蛋白的表达亦有显著升高, Pearson相关性分析显示: HMGB1与TLR2、TLR2与NF- κ B表达均呈显著正相关,揭示了HMGB1-TLR2-NF- κ B途径在UC发病中所起的作用^[26]。此外,日本的一项研究认为, HMGB1不仅参与了UC的发病,也参与了结肠炎相关性癌症的发生发展,通过拮抗HMGB1的作用可显著下降结肠炎小鼠结肠肿瘤的发生率^[27]。

Vitali等^[28]发现炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)患儿粪便中存在大量的HMGB1蛋白,但其肠黏膜中HMGB1的表达量与正常对照组无明显差异,将细胞进行核质分离后发现HMGB1在细胞质中的含量显著升高,结合HMGB1的生物学特点,该研究认为IBD患儿粪便中HMGB1含量的升高是由于其在肠道炎症发生过程中由细胞核转移至细胞质并进

一步分泌至细胞外所致, 而并非“从头合成增多”的过程. 然而, 在这种情况下, HMGB1的核质转移是否会影响其核内正常生理功能行使未进一步探究. 从以上各研究可以发现, 动物实验中检测到了HMGB1的合成增多, 但体内的研究并未观察到该现象, 而是推测其发生了核质转移, 其原因可能为: (1)动物实验模拟的是药物诱导的UC的“急性发病”过程, 而临床上常见的病例大部分为慢性复发型的炎症, 两者在发病机制上可能有所区别; (2)以UC(或炎症性肠病)患者为对象的研究, 其研究对象往往都在接受氨基水杨酸类药物、激素或免疫抑制剂等治疗, 这些药物治疗可能对肠黏膜中HMGB1的合成造成干扰, 掩盖了其在UC自然病程中真实的表达特点. 因此, 我们认为, 要进一步明确HMGB1参与UC发病的具体机制, 在研究对象的选择上需尽量避免药物治疗等因素的干扰.

然而, 无论是HMGB1的合成增多还是核质转移, 抑或是两种途径均参与了UC的发生发展, 肠黏膜中参与上述过程的细胞类型不甚明确, 粪便中增多的HMGB1的来源需进一步探讨. 有学者将TNF- α 、IL-1 β 、干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)混合物分别与结肠腺癌细胞株Caco-2及大鼠肠上皮细胞株IECs进行共同孵育后发现, 两者培养基上清中均检测出了大量HMGB1, 且其可能以一种“自分泌”的方式放大了炎症反应, 进而导致Caco-2单层细胞通透性的升高^[29]. 而当大鼠肠上皮细胞株IEC-6遭受热损伤时, 细胞内HMGB1水平明显下降, 间接说明了IEC-6细胞释放HMGB1的过程^[30]. Nadatani等^[31]发现在NSAIDs相关性肠黏膜损伤的动物模型中, HMGB1在结肠组织中的表达增多, 免疫组织化学显示肠黏膜上皮细胞的胞质内HMGB1染色明显增强. 以上各项研究从不同方面证实了肠上皮细胞在受到炎症或损伤的刺激时释放HMGB1的能力. 因而, 粪便中增多的HMGB1蛋白不仅来源于肠黏膜坏死细胞的被动释放及间质中炎症细胞的主动分泌, 正常存活的肠上皮细胞也可将HMGB1释放至胞外. 而另一方面, UC患者肠黏膜中肠上皮细胞及间质中活化的炎症细胞表面均存在TLR2及TLR4过表达的情况^[32,33], 胞外的HMGB1又可与这些受体结合, 呈现出“自分泌”或“旁分泌”特征, 形成一个反馈环路, 放大了肠道中的炎症反应. 但上述过程仅是针对肠道炎症反应的维持而言, 对于触发炎症反应的“始动因子”仍是一个未解的难题.

2.2 HMGB1拮抗剂的干预效应 Wang等^[4]的研究还发现HMG-1抗体, 即使延迟给予, 仍可下调毒素的致死效应. 其后, HMGB1拮抗剂的应用受到了广泛关注, 目前已知的HMGB1拮抗剂主要包括: 抗HMGB1抗体、HMGB1 A盒、丙酮酸乙酯、甘草酸二钾等^[34]. 体外研究发现在多种病理状态下, HMGB1拮抗剂的应用均可下调其介导的炎症反应^[35-39]. 在药物诱导的UC小鼠模型中, 应用抗HMGB1抗体、丙酮酸乙酯、甘草酸二钾可以有效下调结肠组织中HMGB1蛋白及其下游炎症因子如TNF- α 、IL-1 β 、IL-6等的表达水平, 改善结肠炎症反应程度及肠黏膜屏障功能^[40-43]. 另外, 由于HMGB1主要通过与其受体结合介导促炎效应, 也有些研究将抑制HMGB1的效应扩展为抑制HMGB1-受体-信号转导通路来阻断炎症反应, 如通过抑制HMGB1与TLR等受体的相互作用、抑制HMGB1与受体结合后激活的下游信号转导通路^[44]等. 可以说, 针对HMGB1-受体轴进行的干预可以为临床治疗提供更多新的靶点. 在UC患者肠黏膜中也可检出TLR2、TLR4等受体^[45,46], 但在其发病过程中, HMGB1与这些受体的相互作用及下游的信号转导通路目前仍不十分明确. 因此, 进一步研究上述过程对于UC的治疗至关重要. 然而另一方面, 在抑制HMGB1促炎效应的同时, 也需考虑到其核内功能对生命活动来说是必不可少的, 且近年研究认为, 胞外HMGB1除了其促炎效应外, 也可作用于原始细胞如干细胞, 在损伤组织中可能作为一种免疫佐剂和修复因子存在^[47]. 有文献报道, 在DSS诱导的炎症性肠病小鼠模型中, 阻断或封闭TLR4在减轻肠道炎症反应的同时, 也影响了肠道黏膜的愈合^[48]. 在胰腺特异性HMGB1基因毁损的急性胰腺炎小鼠中观察到了更为严重的细胞核损伤、核小体释放, 呈现出了更快的发病过程及更高的死亡率^[49]. Huang等^[50]发现, 在肝脏缺血/再灌注损伤时, 可以检测到HMGB1释放到胞外, 介导了炎症反应, 但在肝细胞特异性HMGB1基因敲除的肝脏缺血/再灌注模型小鼠中, 呈现出了更为严重的肝细胞损伤, 提示在无菌性炎症中, HMGB1的细胞内作用同样值得关注. 虽然目前关于拮抗HMGB1对UC动物模型带来的不良反应未见明确报道, 但由于其在核内介导了一系列重要作用来调控生命活动^[51], 因此在研究HMGB1拮抗剂的临床治疗前景时, 如何在适度下调HMGB1介导的炎症反应的同时, 保证其核内生理功能的正常运作,

■ 相关报道

国外Musumeci等对HMGB1抑制剂的种类及其在下调HMGB1所致炎症反应中的作用做了详尽描述, 为临床炎症性疾病及自身免疫性疾病的诊治提供了新的思路.

■创新盘点

本文对高迁移率族蛋白B1在UC中的表达及其参与UC发病的可能机制进行了阐述,对HMGB1抑制剂的临床应用前景进行了讨论,内容全面。

对于HMGB1拮抗剂治疗意义的研究来说也是需要考虑的。

3 结论

HMGB1是一个充满矛盾的蛋白,在人体内起着截然相反的作用,一方面作为生命活动必不可少的生物因子存在,另一方面又触发一系列炎症反应,对机体造成损伤。对于HMGB1的研究目前已有了一些进展,但关于HMGB1在UC发病中的作用研究还相对较少,仍有诸多问题有待更深入地探讨,如HMGB1参与UC发病的信号转导途径、肠道菌群失调对HMGB1表达是否有影响、HMGB1是否参与了肠道免疫耐受的缺失、HMGB1是否参与了UC的癌变过程等,我们相信,通过明确上述问题可以为UC的发病机制带来更多的线索,从而为临床治疗提供更多靶点。

4 参考文献

- Ouyang Q, Xue LY. Inflammatory bowel disease in the 21(st) century in China: turning challenges into opportunities. *J Dig Dis* 2012; 13: 195-199 [PMID: 22435503 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2012.00579.x]
- Lange SS, Mitchell DL, Vasquez KM. High mobility group protein B1 enhances DNA repair and chromatin modification after DNA damage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 10320-10325 [PMID: 18650382 DOI: 10.1073/pnas.0803181105]
- Thomas JO. HMG1 and 2: architectural DNA-binding proteins. *Biochem Soc Trans* 2001; 29: 395-401 [PMID: 11497996]
- Wang H, Bloom O, Zhang M, Vishnubhakata JM, Ombrellino M, Che J, Frazier A, Yang H, Ivanova S, Borovikova L, Manogue KR, Faist E, Abraham E, Andersson J, Andersson U, Molina PE, Abumrad NN, Sama A, Tracey KJ. HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. *Science* 1999; 285: 248-251 [PMID: 10398600]
- Süren D, Yıldırım M, Demirpençe Ö, Kaya V, Alikanoğlu AS, Bülbüller N, Yıldız M, Sezer C. The role of high mobility group box 1 (HMGB1) in colorectal cancer. *Med Sci Monit* 2014; 20: 530-537 [PMID: 24681824 DOI: 10.12659/MSM.890531]
- Gentile LF, Moldawer LL. HMGB1 as a therapeutic target for sepsis: it's all in the timing! *Expert Opin Ther Targets* 2014; 18: 243-245 [PMID: 24479494 DOI: 10.1517/14728222.2014.883380]
- Yu SL, Wong CK, Tam LS. The alarmin functions of high-mobility group box-1 and IL-33 in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Expert Rev Clin Immunol* 2013; 9: 739-749 [PMID: 23971752 DOI: 10.1586/1744666X.2013.814428]
- Taniguchi N, Kawahara K, Yone K, Hashiguchi T, Yamakuchi M, Goto M, Inoue K, Yamada S, Ijiri K, Matsunaga S, Nakajima T, Komiya S, Maruyama I. High mobility group box chromosomal protein 1 plays a role in the pathogenesis of rheumatoid arthritis as a novel cytokine. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 971-981 [PMID: 12687539]
- Mersmann J, Iskandar F, Latsch K, Habeck K, Sprunck V, Zimmermann R, Schumann RR, Zacharowski K, Koch A. Attenuation of myocardial injury by HMGB1 blockade during ischemia/reperfusion is toll-like receptor 2-dependent. *Mediators Inflamm* 2013; 2013: 174168 [PMID: 24371373 DOI: 10.1155/2013/174168]
- Bell CW, Jiang W, Reich CF, Pisetsky DS. The extracellular release of HMGB1 during apoptotic cell death. *Am J Physiol Cell Physiol* 2006; 291: C1318-C1325 [PMID: 16855214]
- Kazama H, Ricci JE, Herndon JM, Hoppe G, Green DR, Ferguson TA. Induction of immunological tolerance by apoptotic cells requires caspase-dependent oxidation of high-mobility group box-1 protein. *Immunity* 2008; 29: 21-32 [PMID: 18631454 DOI: 10.1016/j.immuni.2008.05.013]
- Kokkola R, Andersson A, Mullins G, Ostberg T, Treutiger CJ, Arnold B, Nawroth P, Andersson U, Harris RA, Harris HE. RAGE is the major receptor for the proinflammatory activity of HMGB1 in rodent macrophages. *Scand J Immunol* 2005; 61: 1-9 [PMID: 15644117]
- Curtin JF, Liu N, Candolfi M, Xiong W, Assi H, Yagiz K, Edwards MR, Michelsen KS, Kroeger KM, Liu C, Muhammad AK, Clark MC, Arditi M, Comin-Anduix B, Ribas A, Lowenstein PR, Castro MG. HMGB1 mediates endogenous TLR2 activation and brain tumor regression. *PLoS Med* 2009; 6: e10 [PMID: 19143470 DOI: 10.1371/journal.pmed.1000010]
- van Zoelen MA, Yang H, Florquin S, Meijers JC, Akira S, Arnold B, Nawroth PP, Bierhaus A, Tracey KJ, van der Poll T. Role of toll-like receptors 2 and 4, and the receptor for advanced glycation end products in high-mobility group box 1-induced inflammation in vivo. *Shock* 2009; 31: 280-284 [PMID: 19218854 DOI: 10.1097/SHK.0b013e318186262d]
- Park JS, Gamboni-Robertson F, He Q, Svetkauskaite D, Kim JY, Strassheim D, Sohn JW, Yamada S, Maruyama I, Banerjee A, Ishizaka A, Abraham E. High mobility group box 1 protein interacts with multiple Toll-like receptors. *Am J Physiol Cell Physiol* 2006; 290: C917-C924 [PMID: 16267105]
- Tian J, Avalos AM, Mao SY, Chen B, Senthil K, Wu H, Parroche P, Drabic S, Golenbock D, Sirois C, Hua J, An LL, Audoly L, La Rosa G, Bierhaus A, Nawroth P, Marshak-Rothstein A, Crow MK, Fitzgerald KA, Latz E, Kiener PA, Coyle AJ. Toll-like receptor 9-dependent activation by DNA-containing immune complexes is mediated by HMGB1 and RAGE. *Nat Immunol* 2007; 8: 487-496 [PMID: 17417641]
- Ivanov S, Dragoi AM, Wang X, Dallacosta C, Louten J, Musco G, Sitia G, Yap GS, Wan Y, Biron CA, Bianchi ME, Wang H, Chu WM. A novel role for HMGB1 in TLR9-mediated inflammatory responses to CpG-DNA. *Blood* 2007; 110: 1970-1981 [PMID: 17548579]
- Voll RE, Urbanaviciute V, Herrmann M, Kalden JR. High mobility group box 1 in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases. *Isr Med Assoc J* 2008; 10: 26-28 [PMID: 18300566]
- Sobajima J, Ozaki S, Uesugi H, Osakada F, Shirakawa H, Yoshida M, Nakao K. Prevalence and characterization of perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (P-ANCA) directed against

- HMG1 and HMG2 in ulcerative colitis (UC). *Clin Exp Immunol* 1998; 111: 402-407 [PMID: 9486411]
- 20 Zhou F, Xia B, Wang F, Shrestha UK, Chen M, Wang H, Shi X, Chen Z, Li J. The prevalence and diagnostic value of perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies and anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies in patients with inflammatory bowel disease in mainland China. *Clin Chim Acta* 2010; 411: 1461-1465 [PMID: 20570669 DOI: 10.1016/j.cca.2010.05.041]
- 21 Sobajima J, Ozaki S, Osakada F, Uesugi H, Shirakawa H, Yoshida M, Nakao K. Novel autoantigens of perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (P-ANCA) in ulcerative colitis: non-histone chromosomal proteins, HMG1 and HMG2. *Clin Exp Immunol* 1997; 107: 135-140 [PMID: 9010268]
- 22 Takaishi H, Kanai T, Nakazawa A, Sugata F, Nikai A, Yoshizawa S, Hamamoto Y, Funakoshi S, Yajima T, Iwao Y, Takemura M, Ozaki S, Hibi T. Anti-high mobility group box 1 and box 2 non-histone chromosomal proteins (HMGB1/HMGB2) antibodies and anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies (ASCA): accuracy in differentially diagnosing UC and CD and correlation with inflammatory bowel disease phenotype. *J Gastroenterol* 2012; 47: 969-977 [PMID: 22644337 DOI: 10.1007/s00535-012-0566-3]
- 23 陆宗海, 林琳, 陈蕾, 李慧, 施瑞华, 李学良. 高迁移率族蛋白-1在小鼠溃疡性结肠炎发病中的作用研究. *中华消化内镜杂志* 2009; 26: 35-38
- 24 陆宗海, 林琳, 陈蕾, 李慧, 李学良. 高迁移率族蛋白B1在结肠炎小鼠中的表达及其与结肠黏膜屏障损伤的关系. *胃肠病学* 2008; 13: 659-662
- 25 Yamasaki H, Mitsuyama K, Masuda J, Kuwaki K, Takedatsu H, Sugiyama G, Yamada S, Sata M. Roles of high-mobility group box 1 in murine experimental colitis. *Mol Med Rep* 2009; 2: 23-27 [PMID: 21475785 DOI: 10.3892/mmr.00000056]
- 26 葛文松, 沈天天, 周韵澜, 吴建新. HMGB1/TLR2/NF- κ B在溃疡性结肠炎小鼠结肠组织中的表达及意义. *中华保健医学杂志* 2010; 12: 452-455
- 27 Maeda S, Hikiba Y, Shibata W, Ohmae T, Yanai A, Ogura K, Yamada S, Omata M. Essential roles of high-mobility group box 1 in the development of murine colitis and colitis-associated cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 360: 394-400 [PMID: 17599806]
- 28 Vitali R, Stronati L, Negroni A, Di Nardo G, Pierdomenico M, del Giudice E, Rossi P, Cucchiara S. Fecal HMGB1 is a novel marker of intestinal mucosal inflammation in pediatric inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 2199-2040 [PMID: 21788990 DOI: 10.1038/ajg.2011.231]
- 29 Liu S, Stolz DB, Sappington PL, Macias CA, Killeen ME, Tenhunen JJ, Delude RL, Fink MP. HMGB1 is secreted by immunostimulated enterocytes and contributes to cytomix-induced hyperpermeability of Caco-2 monolayers. *Am J Physiol Cell Physiol* 2006; 290: C990-C999 [PMID: 16282196]
- 30 Tang J, Deng P, Jiang Y, Tang Y, Chen B, Su L, Liu Z. Role of HMGB1 in propofol protection of rat intestinal epithelial cells injured by heat shock. *Cell Biol Int* 2013; 37: 262-266 [PMID: 23364923 DOI: 10.1002/cbin.10040]
- 31 Nadatani Y, Watanabe T, Tanigawa T, Machida H, Okazaki H, Yamagami H, Watanabe K, Tominaga K, Fujiwara Y, Arakawa T. High mobility group box 1 promotes small intestinal damage induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs through Toll-like receptor 4. *Am J Pathol* 2012; 181: 98-110 [PMID: 22634181 DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.03.039]
- 32 Cario E, Podolsky DK. Differential alteration in intestinal epithelial cell expression of toll-like receptor 3 (TLR3) and TLR4 in inflammatory bowel disease. *Infect Immun* 2000; 68: 7010-7017 [PMID: 11083826]
- 33 Hausmann M, Kiessling S, Mestermann S, Webb G, Spötl T, Andus T, Schölmerich J, Herfarth H, Ray K, Falk W, Rogler G. Toll-like receptors 2 and 4 are up-regulated during intestinal inflammation. *Gastroenterology* 2002; 122: 1987-2000 [PMID: 12055604]
- 34 Musumeci D, Roviello GN, Montesarchio D. An overview on HMGB1 inhibitors as potential therapeutic agents in HMGB1-related pathologies. *Pharmacol Ther* 2014; 141: 347-357 [PMID: 24220159 DOI: 10.1016/j.pharmthera.2013.11.001]
- 35 Lee CH, Yoon SJ, Lee SM. Chlorogenic acid attenuates high mobility group box 1 (HMGB1) and enhances host defense mechanisms in murine sepsis. *Mol Med* 2012; 18: 1437-1448 [PMID: 23168580 DOI: 10.2119/molmed.2012.00279]
- 36 Kim TH, Ku SK, Bae JS. Inhibitory effects of kaempferol-3-O-sophoroside on HMGB1-mediated proinflammatory responses. *Food Chem Toxicol* 2012; 50: 1118-1123 [PMID: 22178603 DOI: 10.1016/j.fct.2011.12.004]
- 37 Luan ZG, Ma XC, Zhang H, Zhang C, Guo RX. Protective effect of ethyl pyruvate on pancreas injury in rats with severe acute pancreatitis. *J Surg Res* 2013; 181: 76-84 [PMID: 22717227 DOI: 10.1016/j.jss.2012.05.066]
- 38 Wang LK, Wang LW, Li X, Han XQ, Gong ZJ. Ethyl pyruvate prevents inflammatory factors release and decreases intestinal permeability in rats with D-galactosamine-induced acute liver failure. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2013; 12: 180-188 [PMID: 23558073]
- 39 Schierbeck H, Lundbäck P, Palmblad K, Klevenvall L, Erlandsson-Harris H, Andersson U, Ottosson L. Monoclonal anti-HMGB1 (high mobility group box chromosomal protein 1) antibody protection in two experimental arthritis models. *Mol Med* 2011; 17: 1039-1044 [PMID: 21666956 DOI: 10.2119/molmed.2010.00264]
- 40 葛文松, 吴建新, 陈颖伟, 范建高, 胡颖. 丙酮酸乙酯对实验性结肠炎大鼠结肠组织HMGB1表达及细胞因子的影响. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 558-562
- 41 陆宗海, 朱道明, 林琳. 高迁移率族蛋白B1抗体对结肠炎小鼠结肠黏膜的保护作用. *胃肠病学* 2010; 15: 288-291
- 42 Vitali R, Palone F, Cucchiara S, Negroni A, Cavone L, Costanzo M, Aloï M, DiLillo A, Stronati L. Dipotassium Glycylrrhizate Inhibits HMGB1-Dependent Inflammation and Ameliorates Colitis in Mice. *PLoS One* 2013; 8: e66527 [PMID: 23840500]
- 43 Davé SH, Tilstra JS, Matsuoka K, Li F, DeMarco RA, Beer-Stolz D, Sepulveda AR, Fink MP, Lotze MT, Plevy SE. Ethyl pyruvate decreases HMGB1 release and ameliorates murine colitis. *J Leukoc Biol* 2009; 86: 633-643 [PMID: 19454652 DOI: 10.1189/jlb.1008662]
- 44 Yang F, Li X, Wang LK, Wang LW, Han XQ, Zhang H, Gong ZJ. Inhibitions of NF- κ B and TNF- α result in differential effects in rats with acute on chronic liver failure induced by d-Gal and LPS. *Inflammation* 2014; 37: 848-857 [PMID: 24385241 DOI: 10.1007/

应用要点

本文综述了HMGB1与UC的关系,探讨了HMGB1抑制剂的应用前景及可能存在的问题,为临床治疗提供了理论指导。

■同行评价

本文比较全面地综述了HMGB1在UC中的表达研究进展, 研究内容对未来UC的诊疗有潜在指导意义。

- 45 Szebeni B, Veres G, Dezsöfi A, Rusai K, Vannay A, Mraz M, Majorova E, Arató A. Increased expression of Toll-like receptor (TLR) 2 and TLR4 in the colonic mucosa of children with inflammatory bowel disease. *Clin Exp Immunol* 2008; 151: 34-41 [PMID: 17991289]
- 46 Hernandez Y, Sotolongo J, Fukata M. Toll-like receptor 4 signaling integrates intestinal inflammation with tumorigenesis: lessons from the murine model of colitis-associated cancer. *Cancers (Basel)* 2011; 3: 3104-3113 [PMID: 24212947 DOI: 10.3390/cancers3033104]
- 47 Yamada S, Maruyama I. HMGB1, a novel inflammatory cytokine. *Clin Chim Acta* 2007; 375: 36-42 [PMID: 16979611]
- 48 Ungaro R, Fukata M, Hsu D, Hernandez Y, Breglio K, Chen A, Xu R, Sotolongo J, Espana C, Zaia J, Elson G, Mayer L, Kosco-Vilbois M, Abreu MT. A novel Toll-like receptor 4 antagonist antibody ameliorates inflammation but impairs mucosal healing in murine colitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009; 296: G1167-G1179 [PMID: 19359427 DOI: 10.1152/ajpgi.90496.2008]
- 49 Kang R, Zhang Q, Hou W, Yan Z, Chen R, Bonaroti J, Bansal P, Billiar TR, Tsung A, Wang Q, Bartlett DL, Whitcomb DC, Chang EB, Zhu X, Wang H, Lu B, Tracey KJ, Cao L, Fan XG, Lotze MT, Zeh HJ, Tang D. Intracellular Hmgb1 inhibits inflammatory nucleosome release and limits acute pancreatitis in mice. *Gastroenterology* 2014; 146: 1097-1107 [PMID: 24361123 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.12.015]
- 50 Huang H, Nace GW, McDonald KA, Tai S, Klune JR, Rosborough BR, Ding Q, Loughran P, Zhu X, Beer-Stolz D, Chang EB, Billiar T, Tsung A. Hepatocyte-specific high-mobility group box 1 deletion worsens the injury in liver ischemia/reperfusion: a role for intracellular high-mobility group box 1 in cellular protection. *Hepatology* 2014; 59: 1984-1997 [PMID: 24375466 DOI: 10.1002/hep.26976]
- 51 Naglova H, Bucova M. HMGB1 and its physiological and pathological roles. *Bratisl Lek Listy* 2012; 113: 163-171 [PMID: 22428766]

编辑 田滢 电编 闫晋利



葡聚糖硫酸钠诱导结肠炎模型的研究进展

农辉, 黄雪

农辉, 黄雪, 广西医科大学第一附属医院消化内科 广西壮族自治区南宁市 530021

农辉, 主要从事溃疡性结肠炎发病机制及治疗的研究。

2014年广西研究生教育创新计划资助项目, No. YCSZ2014119
作者贡献分布: 本文综述由农辉完成; 黄雪负责审校。

通讯作者: 黄雪, 主任医师, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院消化内科。

hb960305@163.com

电话: 0771-5356501

收稿日期: 2014-06-03 修回日期: 2014-06-16

接受日期: 2014-06-22 在线出版日期: 2014-08-08

Murine model of dextran sodium sulfate induced ulcerative colitis

Hui Nong, Xue Huang

Hui Nong, Xue Huang, Department of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital Of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Graduate Student Education Innovation Project of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. YCSZ2014119

Correspondence to: Xue Huang, Chief Physician, The First Affiliated Hospital Of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. hb960305@163.com

Received: 2014-06-03 Revised: 2014-06-16

Accepted: 2014-06-22 Published online: 2014-08-08

Abstract

Ulcerative colitis (UC) is an idiopathic, chronic inflammatory disorder of the colonic mucosa, and its etiology remains unclear. Animal models are commonly used to study UC, including the murine model of colitis induced with dextran sulfate sodium (DSS). The murine model of DSS-induced colitis is well appreciated and widely used because of its simplicity, cheapness and high success rate. DSS-induced colitis has many similarities to human UC in location, clinical and histological features. In view of its indispensable position in the study of UC, we provide a brief overview of the animal model of DSS-induced colitis in terms of its features, modelling methods, pathogenesis and influencing factors.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Ulcerative colitis; Dextran sodium sulfate; Animal model

Nong H, Huang X. Murine model of dextran sodium sulfate induced ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(22): 3245-3250 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3245.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3245>

摘要

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种自发性、慢性结肠黏膜炎症病变,其发病机制目前尚未清楚。大量的动物模型被应用于UC的研究,如葡聚糖硫酸钠(dextran sulphate sodium, DSS)诱导的小鼠结肠炎模型。DSS结肠炎模型是目前应用最为广泛的UC模型之一,其造模方法简便、价格便宜、成功率较高;且临床表现、病变部位、病理学表现与人类溃疡性结肠炎极其相似。基于DSS模型在对UC的研究中占有重要地位,本文将对DSS结肠炎模型特点、造模方法、机制及影响因素的研究进展进行综述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 溃疡性结肠炎; 葡聚糖硫酸钠; 动物模型

核心提示: 葡聚糖硫酸钠(dextran sulphate sodium, DSS)诱导的小鼠结肠炎模型是目前应用最为广泛的溃疡性结肠炎模型之一。该模型具有造模简便、价格便宜、成功率较高等特点,且临床表现、病变部位、病理学表现与人类溃疡性结肠炎极其相似,因此在溃疡性结肠炎的研究中占有重要地位。本文将对DSS结肠炎模型特点、造模方法、机制及影响因素的研究进展作一综述。

农辉, 黄雪. 葡聚糖硫酸钠诱导的结肠炎模型的研究进展. *世界华人消化杂志* 2014; 22(22): 3245-3250 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3245.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3245>

0 前言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)属于炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD),是一种

■背景资料

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种自发性、慢性结肠黏膜炎症病变,其病因未明,因此建立理想的动物模型对研究该病病因及机制尤为重要。葡聚糖硫酸钠(dextran sulphate sodium, DSS)诱导的结肠炎模型因临床、病理学表现与人类UC极为相似,且方法简便、价格便宜等特点,成为目前国内外应用最为广泛的UC动物模型之一。

■同行评议者

阴赅宏, 研究员, 首都医科大学附属北京友谊医院感染与急救医学

■ 研发前沿

目前,人们已对DSS结肠炎模型建模机制和影响因素进行了大量的研究,并明确了DSS溶液浓度、分子量、饮用时间、动物品种在建模中的重要地位,但关于建模机制尚未达成一致,有待进一步研究。

病因未明的自发性、慢性结肠黏膜炎症病变,临床症状主要表现为腹泻、黏液脓血便和腹痛,主要侵犯直肠和结肠的黏膜与黏膜下层^[1,2]。UC发病机制目前尚未明确,可能与环境因素、微生物、人种、基因的易感性及免疫因素有关^[2-4]。因此,建立理想的溃疡性结肠炎动物模型对该病病因、发病机制至关重要。葡聚糖硫酸钠(dextran sulphate sodium, DSS)诱导的结肠炎模型是目前国内外应用最为广泛的UC动物模型之一。DSS结肠炎模型具有造模方法简便、价格便宜、成功率较高等特点;且其临床表现、病变部位、病理学表现与人类UC极为相似。基于以上特点, DSS模型在对溃疡性结肠炎的研究中占有重要地位,故本文将对DSS结肠炎模型的特点、造模方法和机制、造模影响因素做一综述。

1 DSS诱导的结肠炎模型

1.1 结肠炎模型现状 迄今为止,人们已经开发出了多种UC动物模型。这些动物模型大致可分为自发型结肠炎模型、基因修饰型模型、诱导型结肠炎模型^[5-7]。尽管这些动物模型并不能完全复制人类溃疡性结肠炎,但他们仍然在UC病因研究和药物疗效评估中占有着重要的地位。自发性结肠炎模型指的是自然界中某些动物在其生活过程中能够自发形成与人类UC相似的结肠炎,如C3H/HeJ小鼠^[8],其症状、病理学及发病机制与人类UC相近,是较为理想的结肠炎模型,但该模型动物稀少、价格高昂,故难以推广应用。基因修饰型模型是指利用基因修饰技术使动物体内特定基因缺失或过度表达,从而诱导结肠炎模型,如Toll样受体5^{-/-}(Toll-like receptor 5, TLR5)模型^[9]、信号传导与转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription 3, *STAT3*)基因敲除模型^[10],这些小鼠模型能够很好地说明了特定基因在结肠炎发病及临床表现中的作用,在UC发病机制方面的研究具有重要地位,但缺点是动物价格昂贵,对喂养条件要求严格。诱导型结肠炎模型即使用化学药物诱导建立结肠炎模型,如三硝基苯磺酸(trinitrobenzene sulfonic acid, TNBS)和DSS诱导的结肠炎模型,相比于前两者具有价格便宜、成功率较高、造模方法简便等特点,从而在实验研究中被广泛推广。其中TNBS结肠炎模型慢性表现突出,炎症可贯穿肠壁,以辅助性T细胞1(helper T lymphocyte 1, Th1)介导的免疫反应为主,更接近于人类克罗恩病(Crohn's disease, CD)^[11-13];而

DSS结肠炎模型可根据实验目的建立急性或慢性模型,炎症表现也与人类UC类似,因此成为研究UC的主要动物模型。

1.2 DSS结肠炎模型优点 最早关于使用DSS进行造模的研究报告可以追溯到1985年,日本学者Ohkusa^[14]成功使用DSS诱导仓鼠结肠炎模型。1990年,Okayasu等^[15]建成了小鼠DSS结肠炎模型。随后, DSS结肠炎模型便被广泛应用于溃疡性结肠炎的实验研究中^[16-18]。除具备有诱导型结肠炎模型的费用低、方法简便等优点外, DSS结肠炎模型还可以通过改变给药浓度及时间,诱导建立急性、慢性结肠炎模型,或建立UC相关的结肠肿瘤模型^[6,12,19-21]。此外,因其建模方法简便、模型产量大等特点, DSS结肠炎模型成为了用于评估药物疗效的最常用的UC模型。许多临床上用于治疗溃疡性结肠炎的药物都曾使用该模型进行研究,如柳氮磺胺吡啶和奥沙拉嗪能够有效改善DSS诱导的结肠炎^[22],地塞米松(腹腔注射, 0.25 mg/kg)能使慢性DSS结肠炎模型炎症缓解,但在急性DSS结肠炎模型中未能起作用^[23],英夫利昔单抗(5 mg/kg)对DSS诱导的急性结肠炎有明显的改善作用^[24]。Melgar等^[25]将3种用于治疗人类炎症性肠病的疗法应用于DSS结肠炎模型,并取得一定疗效,从而认为DSS模型在治疗方面的数据能够在人类IBD中得到复制。

1.3 DSS结肠炎模型临床表现及病理学表现 DSS结肠炎模型的临床表现及病理学特点与人类溃疡性结肠炎极为相似。在急性DSS结肠炎模型中,小鼠在实验前3 d体质量可以有轻微上升,但随着实验的进行,体质量会逐渐下降,并伴随腹泻、缩背、食欲精神差、毛色光泽变差、黏液血便,甚至出现死亡等临床表现^[26-28];而慢性DSS结肠炎模型症状表现为发作期和缓解期交替出现,发作期症状与急性模型相似,而缓解期腹泻、血便逐渐缓解,体质量逐渐增加,甚至可恢复至发病前水平^[29,30]。急性DSS结肠炎模型结肠肠段炎症反应明显,肉眼可见结肠充血水肿、变短等^[31,32]。光镜下病理学表现主要为全结肠的多灶性小溃疡,上皮细胞广泛缺失,黏膜层和黏膜下层可见大量炎症细胞,如中性粒细胞、巨噬细胞、浆细胞和部分淋巴细胞,隐窝变形破坏,有时可见隐窝脓肿^[28,31];慢性DSS结肠炎模型主要表现为结肠黏膜糜烂、黏膜层及黏膜下层炎症细胞浸润,包括浆细胞、淋巴细胞及巨噬细胞,上皮增生、淋巴结肿大,部分可见肉芽组织增生^[15,33,34]。

2 DSS结肠炎模型的造模方法及机制

2.1 DSS结肠炎模型造模方法 DSS是一种由蔗糖合成的硫酸多糖体, 并具有抗凝作用的白色或灰白色粉末, 市售DSS分子量(molecular weight, MW)5000-1400000不等, 常温下极易溶于水。造模方法相比于其他UC动物模型相对简便, 即将DSS溶于蒸馏水并配制成相应浓度的DSS溶液给予动物自由饮用一定时间, 浓度按质量-体积百分浓度(W/V)计算。为保证小鼠饮用DSS溶液浓度的稳定性, 可每2天更换一次DSS溶液。国内有针对采用定量灌胃给予DSS溶液的方法进行研究报告^[35], 但目前仍以自由饮用DSS溶液常见。此外, 研究人员可根据不同的实验目的, 采用不同的DSS浓度和饮用时间, 制成急性或慢性结肠炎模型。急性DSS结肠炎模型通常采用2%-5%DSS溶液、饮用5-7 d的方法^[17,18,36-38], 如Miyauchi等^[37]给予Balb/c小鼠3.5%DSS溶液(MW 36000-50000)自由饮用5 d, 成功建成小鼠急性DSS结肠炎模型。慢性DSS结肠炎模型则可采用按周期给予DSS溶液的方法, 成模时间相对较长, 如Trivedi等^[39]给予Swiss小鼠自由饮用3%DSS溶液(MW 36000-40000)7 d, 随后正常饮水14 d后再次给予7 d DSS溶液, 建成小鼠慢性DSS结肠炎模型。

2.2 DSS结肠炎模型造模机制 DSS诱导结肠炎模型的机制仍未明确, 但目前的研究^[26]发现DSS能够对结肠上皮屏障起毒性破坏, 损坏结肠上皮屏障的完整性, 从而导致肠黏膜通透性增加, 使得大分子物质能够轻易渗入肠黏膜组织中, 进而引发一系列的炎症反应; 此外, DSS本身的抗凝特性也是导致结肠持续出血的因素之一^[40]。研究发现^[41], 在给予DSS溶液第3天时, 肠黏膜通透性出现增高, 组织学表现为结肠黏膜基底隐窝破坏并伴有炎性细胞浸润。急性DSS结肠炎上皮屏障完整性的破坏被认为与紧密连接蛋白的缺失和再分布有关, 如occludin、ZO-1、claudin-1, -2, -3, -5^[26,41]。此外, 细胞因子也在DSS结肠炎模型的发病中起重要作用。肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、干扰素- γ (interferon, IFN- γ)、IL-10和IL-12在给予DSS溶液的第1天就被发现表达增高, 且随着给药时间逐渐增加^[42]; 急性DSS结肠炎模型中IL-1 α 和IL-1 β mRNA表达增加, 并被认为与结肠炎的发病有关^[43]; Th2细胞介导的细胞因子IL-4、IL-10也在慢性DSS结肠炎模型中起重要作用^[33]。

3 DSS结肠炎模型的影响因素

尽管DSS结肠炎模型因其简便及成功率高的特点而被广泛应用, 但在实际建模过程中也必须考虑一些能影响该模型结果的因素, 如DSS溶液浓度、DSS分子量、DSS饮用时间、动物品种等。只有掌握这些影响因素, 才能建立重复性和稳定性均较好的DSS结肠炎模型。

3.1 DSS溶液浓度 多项研究均证实了DSS结肠炎模型严重程度与DSS溶液浓度呈正相关。分析近些年的研究报告, 建模所用DSS溶液浓度最高可达10%, 而较常用的建模DSS溶液浓度为3%和5%^[15,44-46]。根据Okayasu等^[15]的研究, 采用1%DSS溶液造模的小鼠直到实验第90天才出现血便, 而给予10%浓度的小鼠在实验的第8天就出现了明显的体质量下降和黏液血便。Egger等^[47]的研究给予Balb/c小鼠不同浓度的DSS溶液(0.0%、2.5%、5.0%、7.5%)自由饮用7 d进行实验, 并对结肠黏膜损伤的组织学表现进行评估, 结果发现DSS溶液浓度越高, 黏膜损伤越严重。国内张艳丽等^[48]的研究也得到类似结论。他们分别给予C57BL/6小鼠浓度为3%、5%、8%的DSS溶液自由饮用6 d, 以疾病活动指数(disease activity index, DAI)(由体质量下降程度、大便性状及血便情况构成)对小鼠进行评估, 发现DAI评分随着DSS溶液浓度呈线性增加。考虑到不同的实验研究目的可能会对小鼠饮水习惯产生不同的影响, 进而影响DSS的摄取, 故最佳的DSS溶液浓度会因实验研究目的方案而不同。

3.2 DSS分子量 目前认为DSS分子量(molecular weight, MW)是影响模型病变严重程度及病变部位的重要因素, 并与DSS结肠炎模型癌变可能性有关。Kitajima等^[49]给予Balb/c小鼠5%不同分子量的DSS溶液(5000、40000、500000)自由饮用7 d, 结果发现饮用MW 40000的小鼠结肠炎最为严重, 病变集中于中段及远侧结肠; MW 5000组炎症程度较轻, 病变集中于盲肠及近侧结肠; 而MW 500000组无炎症表现, 经分析原因可能是分子量大导致其无法穿透肠黏膜。而另一项关于DSS致癌性的研究发现, MW 54000的DSS能使结肠癌变, 而分子量较大(520000)或较小(9500)无显著致癌性^[50]。

3.3 DSS饮用时间 DSS结肠炎模型的炎症程度会随着饮用时间的延长而更加严重, 甚至会出现实验动物死亡。在给予5%DSS(MW 30000-40000)溶液的第3天, 小鼠结肠病理学检查发现黏膜基底隐窝破坏, 而此时并未出现明

■相关报道

Perse等认为虽然DSS结肠炎模型因其建模简便而成为UC常用的动物模型, 但在建模过程中仍必须注意一些细节问题, 如DSS溶液浓度、分子量、饮用时间、动物品种等, 并指出这些因素有时会成为建模成功与否的关键。

■创新盘点

本文介绍了DSS诱导的结肠炎模型的一般情况,并对其特点、造模方法、机制及影响因素进行了重点阐述。

显的临床表现;第4、5天,结肠隐窝进一步被破坏,并表现为糜烂,且可见炎症细胞浸润;第6、7天,结肠病理学表现为大面积的糜烂及大量炎症细胞浸润,包括中性粒细胞、淋巴细胞和浆细胞^[29]。Iba等^[51]给予大鼠4%DSS溶液自由饮用,发现大鼠结肠损伤程度随饮用时间的延长而增加。由于DSS饮用时间与模型炎症程度密切相关,过短会导致模型症状不典型,过长会导致造模动物死亡,故需要大量预实验对DSS饮用时间进行探究,并结合DSS溶液浓度及实验具体要求。国内学者^[12]认为5%造模浓度的最佳饮用时间为5-7 d。

3.4 动物品种 与其他类型的结肠炎动物模型一样,动物品种对DSS诱导的结肠炎模型影响同样至关重要。Mähler等^[52]给予9种品种的小鼠3.5%DSS溶液(MW 36000-46000)自由饮用5 d,发现每种小鼠结肠炎病理表现有显著不同,其中C3H/HeJBir、C3H/HeJ、NOD/LtJ、NOD-scid、C57BL/6J及129/SvPas小鼠表现出对DSS极强的敏感性, NON/LtJ及NON.H2g7小鼠则对DSS不敏感。除了敏感性不同,不同品种的小鼠病变分布也不同,如C3H/HeJBir、C3H/HeJ、NOD/LtJ和NOD-scid小鼠病变集中于盲肠及远侧结肠^[52], C57BL/6J及Balb/c小鼠病变常见于中段及远侧结肠^[15,52]。虽然每种小鼠病变分布不同,但就大多数品种小鼠而言,远侧结肠病变程度较近侧严重。研究人员应首先确定建模动物的品种,并以此品种进行实验探究最合适的DSS溶液浓度及引用时间。

3.5 其他因素 Vowinkel等^[53]对C57BL/6小鼠建模并研究后,发现DSS摄入量30 mg/g是建成稳定可靠结肠炎模型的关键,且当小鼠摄入量达到或超过该阈值时,较小的DSS总摄入量差异是不会影响建模结果。除了DSS摄入量外,建模动物的年龄及体质量也是影响建模成功的重要因素。年龄稍小的小鼠进食及饮水的需求量相对较小,从而影响DSS的摄入,建模时可能会出现结肠炎症状表现较轻或出现症状时间较慢,国外学者^[40]推荐理想的小鼠年龄为6-8 wk,国内学者^[12]认为建立小鼠DSS结肠炎模型以 ≥ 18 g(6-8周龄)小鼠为宜,但考虑到所采用动物品种的差异,关于建模动物年龄体质量仍需各位研究人员在正式实验前进行探究。

4 结论

因造模简便、价格便宜、成功率高且临床及病

理表现与人类UC相类似,DSS结肠炎模型自开发以来便被迅速推广应用,成为目前应用最为广泛最为理想的UC模型。虽然DSS造模开发已久,且已有大量关于DSS的研究报告,但仍有部分问题未能解决,例如虽然建模机制被认为与DSS毒性有关,但尚未明确;建模DSS摄入量阈值是否因动物种属差异而不同。通过对这些问题的研究,才能完善现有的DSS结肠炎模型的理论体系,从而更好地造福于人类溃疡性结肠炎的研究。

5 参考文献

- 1 Conrad K, Roggenbuck D, Laass MW. Diagnosis and classification of ulcerative colitis. *Autoimmun Rev* 2014; 13: 463-466 [PMID: 24424198 DOI: 10.1016/j.autrev.2014.01.028]
- 2 Wallace KL, Zheng LB, Kanazawa Y, Shih DQ. Immunopathology of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 6-21 [PMID: 24415853 DOI: 10.3748/wjg.v20.i1.6]
- 3 Ordás I, Eckmann L, Talamini M, Baumgart DC, Sandborn WJ. Ulcerative colitis. *Lancet* 2012; 380: 1606-1619 [PMID: 22914296 DOI: 10.1016/S0140-6736(12)60150-0]
- 4 Zhang YZ, Li YY. Inflammatory bowel disease: pathogenesis. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 91-99 [PMID: 24415861 DOI: 10.3748/wjg.v20.i1.91]
- 5 Wirtz S, Neurath MF. Mouse models of inflammatory bowel disease. *Adv Drug Deliv Rev* 2007; 59: 1073-1083 [PMID: 17825455 DOI: 10.1016/j.addr.2007.07.003]
- 6 Wirtz S, Neufert C, Weigmann B, Neurath MF. Chemically induced mouse models of intestinal inflammation. *Nat Protoc* 2007; 2: 541-546 [PMID: 17406617 DOI: 10.1038/nprot.2007.41]
- 7 罗凤燕, 白爱平. 溃疡性结肠炎动物模型的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 607-613
- 8 Sundberg JP, Elson CO, Bedigian H, Birkenmeier EH. Spontaneous, heritable colitis in a new substrain of C3H/HeJ mice. *Gastroenterology* 1994; 107: 1726-1735 [PMID: 7958684 DOI: S0016508594003689]
- 9 Kutikhin AG. Association of polymorphisms in TLR genes and in genes of the Toll-like receptor signaling pathway with cancer risk. *Hum Immunol* 2011; 72: 1095-1116 [PMID: 21872627 DOI: 10.1016/j.humimm.2011.07.307]
- 10 Alonzi T, Newton IP, Bryce PJ, Di Carlo E, Lattanzio G, Tripodi M, Musiani P, Poli V. Induced somatic inactivation of STAT3 in mice triggers the development of a fulminant form of enterocolitis. *Cytokine* 2004; 26: 45-56 [PMID: 15050604 DOI: 10.1016/j.cyt.2003.12.002]
- 11 Waldner MJ, Neurath MF. Chemically induced mouse models of colitis. *Curr Protoc Pharmacol* 2009; Chapter 5: Unit 5.55 [PMID: 22294401 DOI: 10.1002/0471141755.ph0555s46]
- 12 温红珠, 郝微微, 李佳, 唐志鹏. 葡聚糖硫酸钠结肠炎模型影响因素的研究进展. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 3666-3671
- 13 Wang YH, Ge B, Yang XL, Zhai J, Yang LN, Wang XX, Liu X, Shi JC, Wu YJ. Proanthocyanidins from grape seeds modulates the nuclear factor-kappa B signal transduction pathways in rats with TNBS-

- induced recurrent ulcerative colitis. *Int Immunopharmacol* 2011; 11: 1620-1627 [PMID: 21642017 DOI: 10.1016/j.intimp.2011.05.024]
- 14 Ohkusa T. [Production of experimental ulcerative colitis in hamsters by dextran sulfate sodium and changes in intestinal microflora]. *Nihon Shokakibyo Gakkai Zasshi* 1985; 82: 1327-1336 [PMID: 2411981]
- 15 Okayasu I, Hatakeyama S, Yamada M, Ohkusa T, Inagaki Y, Nakaya R. A novel method in the induction of reliable experimental acute and chronic ulcerative colitis in mice. *Gastroenterology* 1990; 98: 694-702 [PMID: 1688816]
- 16 Chou WY, Zhao JF, Chen YM, Lee KI, Su KH, Shyue SK, Lee TS. Role of glycine N-methyltransferase in experimental ulcerative colitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2014; 29: 494-501 [PMID: 24219143 DOI: 10.1111/jgh.12434]
- 17 Shaker ME, Ashamallah SA, Houssen ME. Celastrol ameliorates murine colitis via modulating oxidative stress, inflammatory cytokines and intestinal homeostasis. *Chem Biol Interact* 2014; 210: 26-33 [PMID: 24384223 DOI: 10.1016/j.cbi.2013.12.007]
- 18 Terc J, Hansen A, Alston L, Hirota SA. Pregnane X receptor agonists enhance intestinal epithelial wound healing and repair of the intestinal barrier following the induction of experimental colitis. *Eur J Pharm Sci* 2014; 55: 12-19 [PMID: 24486481 DOI: 10.1016/j.ejps.2014.01.007]
- 19 Tanaka T, Kohno H, Suzuki R, Yamada Y, Sugie S, Mori H. A novel inflammation-related mouse colon carcinogenesis model induced by azoxymethane and dextran sodium sulfate. *Cancer Sci* 2003; 94: 965-973 [PMID: 14611673]
- 20 Koh SJ, Kim JM, Kim IK, Ko SH, Kim JS. Anti-inflammatory mechanism of metformin and its effects in intestinal inflammation and colitis-associated colon cancer. *J Gastroenterol Hepatol* 2014; 29: 502-510 [PMID: 24716225]
- 21 Clapper ML, Cooper HS, Chang WC. Dextran sulfate sodium-induced colitis-associated neoplasia: a promising model for the development of chemopreventive interventions. *Acta Pharmacol Sin* 2007; 28: 1450-1459 [PMID: 17723178 DOI: 10.1111/j.1745-7254.2007.00695.x]
- 22 Axelsson LG, Landström E, Bylund-Fellenius AC. Experimental colitis induced by dextran sulphate sodium in mice: beneficial effects of sulphasalazine and olsalazine. *Aliment Pharmacol Ther* 1998; 12: 925-934 [PMID: 9768537]
- 23 Kojouharoff G, Hans W, Obermeier F, Männel DN, Andus T, Schölmerich J, Gross V, Falk W. Neutralization of tumour necrosis factor (TNF) but not of IL-1 reduces inflammation in chronic dextran sulphate sodium-induced colitis in mice. *Clin Exp Immunol* 1997; 107: 353-358 [PMID: 9030875]
- 24 Lopetuso LR, Petito V, Cufino V, Arena V, Stigliano E, Gerardi V, Gaetani E, Poscia A, Amato A, Cammarota G, Papa A, Sgambato A, Gasbarrini A, Scaldaferrri F. Locally injected Infliximab ameliorates murine DSS colitis: differences in serum and intestinal levels of drug between healthy and colitic mice. *Dig Liver Dis* 2013; 45: 1017-1021 [PMID: 23911613 DOI: 10.1016/j.dld.2013.06.007]
- 25 Melgar S, Karlsson L, Rehnström E, Karlsson A, Utkovic H, Jansson L, Michaëlsson E. Validation of murine dextran sulfate sodium-induced colitis using four therapeutic agents for human inflammatory bowel disease. *Int Immunopharmacol* 2008; 8: 836-844 [PMID: 18442787 DOI: 10.1016/j.intimp.2008.01.036]
- 26 Perše M, Cerar A. Dextran sodium sulphate colitis mouse model: traps and tricks. *J Biomed Biotechnol* 2012; 2012: 718617 [PMID: 22665990 DOI: 10.1155/2012/718617]
- 27 Oh SY, Cho KA, Kang JL, Kim KH, Woo SY. Comparison of experimental mouse models of inflammatory bowel disease. *Int J Mol Med* 2014; 33: 333-340 [PMID: 24285285 DOI: 10.3892/ijmm.2013.1569]
- 28 Wagner AE, Will O, Sturm C, Lipinski S, Rosenstiel P, Rimbach G. DSS-induced acute colitis in C57BL/6 mice is mitigated by sulforaphane pretreatment. *J Nutr Biochem* 2013; 24: 2085-2091 [PMID: 24231100 DOI: 10.1016/j.jnutbio.2013.07.009]
- 29 Cooper HS, Murthy SN, Shah RS, Sedergran DJ. Clinicopathologic study of dextran sulfate sodium experimental murine colitis. *Lab Invest* 1993; 69: 238-249 [PMID: 8350599]
- 30 De Fazio L, Cavazza E, Spisni E, Strillacci A, Centanni M, Candela M, Praticò C, Campieri M, Ricci C, Valerii MC. Longitudinal analysis of inflammation and microbiota dynamics in a model of mild chronic dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 2051-2061 [PMID: 24587679 DOI: 10.3748/wjg.v20.i8.2051]
- 31 Whitem CG, Williams AD, Williams CS. Murine Colitis modeling using Dextran Sulfate Sodium (DSS). *J Vis Exp* 2010; (35): pii: 1652 [PMID: 20087313 DOI: 10.3791/1652]
- 32 Xiao HT, Lin CY, Ho DH, Peng J, Chen Y, Tsang SW, Wong M, Zhang XJ, Zhang M, Bian ZX. Inhibitory effect of the gallotannin corilagin on dextran sulfate sodium-induced murine ulcerative colitis. *J Nat Prod* 2013; 76: 2120-2125 [PMID: 24200352 DOI: 10.1021/np4006772]
- 33 Nagaoka M, Radi ZA. Pharmacologic efficacy in inflammatory bowel disease models. *Front Biosci (Schol Ed)* 2012; 4: 1295-1314 [PMID: 22652872]
- 34 Willson TA, Jurickova I, Collins M, Denson LA. Deletion of intestinal epithelial cell STAT3 promotes T-lymphocyte STAT3 activation and chronic colitis following acute dextran sodium sulfate injury in mice. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 512-525 [PMID: 23429443 DOI: 10.1097/MIB.0b013e31828028ad]
- 35 黄循铷, 王承党, 王瑞幸. 葡聚糖硫酸钠自由饮用与定量灌胃诱导小鼠急性结肠炎模型的比较研究. *胃肠病学* 2009; 14: 27-30
- 36 陈欧, 李昌平, 罗彬, 冯凯祥. 姜黄素对DSS诱导的小鼠溃疡性结肠炎疗效的研究. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 680-686
- 37 Miyauchi E, Ogita T, Miyamoto J, Kawamoto S, Morita H, Ohno H, Suzuki T, Tanabe S. Bifidobacterium longum alleviates dextran sulfate sodium-induced colitis by suppressing IL-17A response: involvement of intestinal epithelial costimulatory molecules. *PLoS One* 2013; 8: e79735 [PMID: 24255712 DOI: 10.1371/journal.pone.0079735]
- 38 Marín M, María Giner R, Ríos JL, Recio MC. Intestinal anti-inflammatory activity of ellagic acid in the acute and chronic dextrane sulfate sodium models of mice colitis. *J Ethnopharmacol* 2013; 150: 925-934 [PMID: 24140585 DOI: 10.1016/j.jep.2013.09.030]
- 39 Trivedi PP, Jena GB. Melatonin reduces ulcerative colitis-associated local and systemic damage in mice: investigation on possible mechanisms. *Dig*

■应用要点
本文通过总结DSS结肠炎模型的研究进展,一方面加深人们对该模型的认识,另一方面有助于该模型在实验中推广应用。

■名词解释
DSS: 一种由蔗糖合成的硫酸多糖体,并具有抗凝作用的白色或灰白色粉末,分子量(molecular weight, MW) 5000-1400000不等,常温下极易溶于水。

■同行评价

本文就DSS结肠炎模型的特点、造模方法、机制及影响因素的研究进展进行了综述,条理清晰,书写规范,论据充分,具有一定的临床实用价值。

- 40 Chassaing B, Aitken JD, Malleshappa M, Vijay-Kumar M. Dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis in mice. *Curr Protoc Immunol* 2014; 104: Unit 15.25. [PMID: 24510619 DOI: 10.1002/0471142735.im1525s104]
- 41 Poritz LS, Garver KI, Green C, Fitzpatrick L, Rugiero F, Koltun WA. Loss of the tight junction protein ZO-1 in dextran sulfate sodium induced colitis. *J Surg Res* 2007; 140: 12-19 [PMID: 17418867 DOI: 10.1016/j.jss.2006.07.050]
- 42 Yan Y, Kolachala V, Dalmaso G, Nguyen H, Laroui H, Sitaraman SV, Merlin D. Temporal and spatial analysis of clinical and molecular parameters in dextran sodium sulfate induced colitis. *PLoS One* 2009; 4: e6073 [PMID: 19562033 DOI: 10.1371/Journal.Pone.0006073]
- 43 Arai Y, Takanashi H, Kitagawa H, Okayasu I. Involvement of interleukin-1 in the development of ulcerative colitis induced by dextran sulfate sodium in mice. *Cytokine* 1998; 10: 890-896 [PMID: 9878126 DOI: 10.1006/cyto.1998.0355]
- 44 Mishra SK, Kang JH, Kim DK, Oh SH, Kim MK. Orally administered aqueous extract of *Inonotus obliquus* ameliorates acute inflammation in dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis in mice. *J Ethnopharmacol* 2012; 143: 524-532 [PMID: 22819687 DOI: 10.1016/j.jep.2012.07.008]
- 45 Chen X, Zhai X, Shi J, Liu WW, Tao H, Sun X, Kang Z. Lactulose mediates suppression of dextran sodium sulfate-induced colon inflammation by increasing hydrogen production. *Dig Dis Sci* 2013; 58: 1560-1568 [PMID: 23371012 DOI: 10.1007/s10620-013-2563-7]
- 46 Zhang DK, Yu JJ, Li YM, Wei LN, Yu Y, Feng YH, Wang X. A Picrorhiza kurroa derivative, picroliv, attenuates the development of dextran-sulfate-sodium-induced colitis in mice. *Mediators Inflamm* 2012; 2012: 751629 [PMID: 23125487 DOI: 10.1155/2012/751629]
- 47 Egger B, Bajaj-Elliott M, MacDonald TT, Inglin R, Eysselein VE, Büchler MW. Characterisation of acute murine dextran sodium sulphate colitis: cytokine profile and dose dependency. *Digestion* 2000; 62: 240-248 [PMID: 11070407 DOI: 10.1159/000007822]
- 48 张艳丽, 黄循铷, 王承党. 小鼠葡聚糖硫酸钠急性溃疡性结肠炎模型的建立和评价. *胃肠病学和肝病学杂志* 2006; 15: 130-133
- 49 Kitajima S, Takuma S, Morimoto M. Histological analysis of murine colitis induced by dextran sulfate sodium of different molecular weights. *Exp Anim* 2000; 49: 9-15 [PMID: 10803356]
- 50 Hirono I, Kuhara K, Yamaji T, Hosaka S, Golberg L. Carcinogenicity of dextran sulfate sodium in relation to its molecular weight. *Cancer Lett* 1983; 18: 29-34 [PMID: 6186364]
- 51 Iba Y, Sugimoto Y, Kamei C. Participation of mast cells in colitis inflammation induced by dextran sulfate sodium. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2002; 24: 15-18 [PMID: 11980382]
- 52 Mähler M, Bristol IJ, Leiter EH, Workman AE, Birkenmeier EH, Elson CO, Sundberg JP. Differential susceptibility of inbred mouse strains to dextran sulfate sodium-induced colitis. *Am J Physiol* 1998; 274: G544-G551 [PMID: 9530156]
- 53 Vowinkel T, Kalogeris TJ, Mori M, Krieglstein CF, Granger DN. Impact of dextran sulfate sodium load on the severity of inflammation in experimental colitis. *Dig Dis Sci* 2004; 49: 556-564 [PMID: 15185857]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



疏肝和胃汤对抑郁模型大鼠延髓、脊髓及胃黏膜组织5-羟色胺表达的影响

岳滢滢, 刘松林, 邢颖, 李明珠, 李家庚, 程方平

岳滢滢, 邢颖, 李明珠, 李家庚, 程方平, 湖北中医药大学中医临床学院 湖北省武汉市 430060

刘松林, 湖北中医药大学中医临床学院伤寒教研室 湖北省武汉市 430060

岳滢滢, 主要从事经方的临床运用与实验研究。

教育部新世纪优秀人才支持计划基金资助项目, No.

NCET-11-0963

国家自然科学基金资助项目, No. 81072720

作者贡献分布: 刘松林为本项目负责人, 负责本文及整个项目课题的设计、组织与实施; 本文课题研究过程由岳滢滢、邢颖及李明珠共同完成, 负责模型制作与数据统计分析; 李家庚与程方平负责课题指导与中医文献研究; 本论文写作由岳滢滢完成; 刘松林审核。

通讯作者: 刘松林, 教授, 博士生导师, 430060, 湖北省武汉市武昌区昙华林特1号, 湖北中医药大学中医临床学院伤寒教研室。newforest@163.com

电话: 027-68890036

收稿日期: 2014-06-03 修回日期: 2014-06-16

接受日期: 2014-06-22 在线出版日期: 2014-08-08

Effect of Shugan Hewei decoction on expression of 5-hydroxytryptamine in the medulla oblongata, spinal cord and gastric mucosa of depression rats

Ying-Ying Yue, Song-Lin Liu, Ying Xing, Ming-Zhu Li, Jia-Geng Li, Fang-Ping Cheng

Ying-Ying Yue, Ying Xing, Ming-Zhu Li, Jia-Geng Li, Fang-Ping Cheng, Clinical College of TCM, Hubei University of TCM, Wuhan 430060, Hubei Province, China

Song-Lin Liu, Department of Treatise on Febrile Diseases, Hubei University of TCM, Wuhan 430060, Hubei Province, China

Supported by: New Century Excellent Talents in University of Ministry of Education of China, No. NCET-11-0963; National Natural Science Foundation of China, No. 81072720

Correspondence to: Song-Lin Liu, Professor, Department of Treatise on Febrile Diseases, Clinical College of TCM, Hubei University of TCM, 1 Tanhualin Street, Wuchang District, Wuhan 430060, Hubei Province, China. newforest@163.com

Received: 2014-06-03 Revised: 2014-06-16

Accepted: 2014-06-22 Published online: 2014-08-08

Abstract

AIM: To observe the effect of Shugan Hewei decoction (SHD) on the expression of 5-hydroxytryptamine (5-HT) in the brain (medulla oblon-

gata), spinal cord and gastric mucosa of depression rats, and to explore the possible mechanism for SHD to relieve depression and improve gastrointestinal function.

METHODS: One hundred Wistar rats were randomized into a normal saline group, a model group, a fluoxetine group, high- and low-dosage SHD groups, with 20 rats in each group. Depression was induced with chronic unpredictable mild stress (CUMS) and separation for 4 wk. From the 3rd week, rats in the fluoxetine group, high- and low-dosage SHD groups were given fluoxetine [0.36 mg/(kg·d)], high- and low-dosage SHD [20 and 10 g/(kg·d)] by intragastric administration, twice a day, respectively. The normal saline group and model group were given equal volume of physiological saline. The treatment lasted 14 days. At the end of the experiment, the internal fixation method was used to take medulla oblongata, spinal cord (T6-T8) and gastric mucosa tissues. Immunohistochemistry (IHC) was used to detect the expression of 5-HT in the above tissues.

RESULTS: The content of 5-HT decreased significantly in the medulla oblongata of depression rats compared with the normal saline group (3314.46 ± 757.47 vs 10050.01 ± 472.82 , $P < 0.01$). The content of 5-HT increased significantly in the spinal cord and gastric mucosa of depression rats compared with the normal saline group (7014.51 ± 628.93 vs 4135.62 ± 148.01 , 4400.12 ± 315.78 vs 3614.59 ± 210.54 , $P < 0.01$ for both). After 2 wk of treatment, the content of 5-HT was raised significantly in the medulla oblongata of rats in the high-, low-dosage SHD groups and fluoxetine group compared with the model group (9556.06 ± 406.73 vs 3314.46 ± 757.47 , 7800.91 ± 264.37 vs 3314.46 ± 757.47 , 9770.94 ± 339.23 vs 3314.46 ± 757.47 , $P < 0.05$ or $P < 0.01$), while the content of 5-HT was significantly reduced in the spinal cord and gastric mucosa (4487.24 ± 160.55 vs 7014.51 ± 628.93 , 5667.02 ± 294.84 vs 7014.51 ± 628.93 , $4908.46 \pm$

■背景资料

5-羟色胺(5-hydroxy tryptamine, 5-HT)是一种广泛存在于中枢神经系统和胃肠道的脑肠肽,在中枢神经系统中,5-HT分布以边缘系统(海马、隔核、杏仁核)和中缝背核最多,具有调节情绪、抗焦虑的作用,其中,脊髓背角作为脑-肠轴的“中继站”,对内脏敏感性起着重要作用。

■同行评议者

李康, 副教授, 广东药学院药科学院药物分析教研室

■研究前沿

中医治疗抑郁症主要按照辨证论治的方法,具有针对性强、不良反应小、成本低、无耐药性等优势,临床收到了较好的疗效。据报道,疏肝和胃药物和方剂对神经系统以及胃肠激素有调节作用。

129.58 vs 7014.51 ± 628.93, 3736.45 ± 242.36 vs 4400.12 ± 315.78, 3978.35 ± 355.96 vs 4400.12 ± 315.78, 3826.96 ± 474.88 vs 4400.12 ± 315.78, $P < 0.05$ or $P < 0.01$). In addition, the effect of high dosage of SHD was similar to that of fluoxetine in the medulla oblongata ($P > 0.05$), while the former was better than the later in the spinal cord and gastric mucosa (4487.24 ± 160.55 vs 4908.46 ± 129.58, 3736.45 ± 242.36 vs 3826.96 ± 474.88, $P < 0.05$).

CONCLUSION: SHD has bidirectional regulatory effects on the expression of 5-HT in the signal path of the “medulla oblongata-spinal cord-gastric mucosa axis”, which may be partially responsible for relieving depression and improving gastrointestinal function.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Depression; Medulla oblongata; Spinal cord; Gastric mucosa; Shugan Hewei decoction; 5-hydroxytryptamine

Yue YY, Liu SL, Xing Y, Li MZ, Li JG, Cheng FP. Effect of Shugan Hewei decoction on expression of 5-hydroxytryptamine in the medulla oblongata, spinal cord and gastric mucosa of depression rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(22): 3251-3258 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3251.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3251>

摘要

目的: 观察疏肝和胃汤对抑郁模型大鼠延髓、脊髓及胃黏膜组织5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)表达的影响, 部分揭示疏肝和胃汤改善抑郁状态及胃肠功能作用中的5-HT调节机制。

方法: 100只大鼠随机分成生理盐水组、模型组、百忧解组及疏肝和胃汤大、小剂量组。采用慢性心理应激加孤养法制作抑郁模型, 共计造模4 wk。在第3周, 百忧解组及疏肝和胃汤大、小剂量组分别予以0.36 mg/(kg·d)、20、10 g/(kg·d)体质量给药, 生理盐水组及模型组给予等体积生理盐水, 每天分2次灌胃。在第4周结束后, 使用内固定法取大鼠延髓迷走神经背核部位的脑、胸髓(T6-T8, 根据脊神经定位)及胃黏膜组织, 应用免疫组织化学技术检测上述部位5-HT的表达。

结果: 模型组大鼠延髓组织5-HT含量较生理盐水组显著下降(3314.46 ± 757.47 vs

10050.01 ± 472.82), 差异具有显著统计学意义($P < 0.01$); 模型组大鼠脊髓与胃黏膜组织5-HT含量较生理盐水组显著上升(7014.51 ± 628.93 vs 4135.62 ± 148.01、4400.12 ± 315.78 vs 3614.59 ± 210.54), 差异具有显著统计学意义($P < 0.01$)。治疗2 wk后, 疏肝和胃汤大、小剂量组和百忧解组大鼠延髓中5-HT含量与模型组比较显著增加(9556.06 ± 406.73 vs 3314.46 ± 757.47、7800.91 ± 264.37 vs 3314.46 ± 757.47、9770.94 ± 339.23 vs 3314.46 ± 757.47), 差异具有显著统计学意义($P < 0.01$), 脊髓与胃黏膜中5-HT含量与模型组比较显著下降(4487.24 ± 160.55 vs 7014.51 ± 628.93、5667.02 ± 294.84 vs 7014.51 ± 628.93、4908.46 ± 129.58 vs 7014.51 ± 628.93、3736.45 ± 242.36 vs 4400.12 ± 315.78、3978.35 ± 355.96 vs 4400.12 ± 315.78、3826.96 ± 474.88 vs 4400.12 ± 315.78), 差异具有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。其中, 疏肝和胃汤大剂量组与百忧解组延髓中5-HT含量比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 而疏肝和胃汤大剂量降低脊髓与胃黏膜中5-HT含量的作用较百忧解更为明显(4487.24 ± 160.55 vs 4908.46 ± 129.58、3736.45 ± 242.36 vs 3826.96 ± 474.88), 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

结论: 疏肝和胃汤可能是通过增加延髓中5-HT的表达, 降低脊髓与胃黏膜中5-HT的表达, 双向调节“脑(延髓)-脊髓-胃”脑肠轴通路中5-HT的含量, 达到改善抑郁状态与胃肠功能的作用。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 抑郁症; 延髓; 脊髓; 胃黏膜; 疏肝和胃汤; 5-羟色胺

核心提示: 本研究观察疏肝和胃汤对抑郁模型大鼠延髓、脊髓及胃黏膜组织中5-羟色胺(5-hydroxy tryptamine, 5-HT)表达的影响, 结果显示疏肝和胃汤可上调抑郁模型大鼠延髓中5-HT的表达, 下调脊髓与胃黏膜中5-HT的表达, 差异具有统计学意义。实验结果与相关文献报道相符, 由此可以推测, 疏肝和胃汤可能通过双向调节“脑(延髓)-脊髓-胃组织”脑肠轴通路中5-HT的表达变化, 从而起到抗抑郁和改善胃肠功能的作用。

岳滢滢, 刘松林, 邢颖, 李明珠, 李家庚, 程方平. 疏肝和胃汤对抑郁模型大鼠延髓、脊髓及胃黏膜组织5-羟色胺表达的影响. *世界华人消化杂志* 2014; 22(22): 3251-3258 URL: <http://>

www.wjgnet.com/1009-3079/22/3251.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i22.3251

0 引言

前期研究表明, 慢性应激加孤养法可成功建立抑郁动物模型, 并表现出肝气郁结的病理变化, 而疏肝和胃汤能调节抑郁大鼠胃肠激素^[1-4], 具有较好的促进胃肠动力的作用^[5]. 5-羟色胺(5-hydroxy tryptamine, 5-HT)是一种广泛存在于中枢神经系统和胃肠道的单胺类神经递质^[6]. 在中枢神经系统中, 5-HT分布以边缘系统(海马、隔核、杏仁核)和中缝背核最多, 脊髓背角也有分布, 具有调节情绪、抗焦虑以及介导和调节内脏敏感性的作用^[7,8]. 在消化系统中, 5-HT主要分布于胃肠道平滑肌、胃壁细胞及肌间神经丛, 与胃感觉过敏有关^[9]. 本研究应用免疫组织化学方法观察疏肝和胃汤对抑郁模型大鼠延髓、脊髓及胃黏膜组织5-HT表达的影响, 探讨疏肝和胃汤改善抑郁状态及胃肠功能的作用机制.

1 材料和方法

1.1 材料 SPF级Wistar大鼠100只, 体质量160-200 g, 雌雄各半, 购自湖北省实验动物研究中心, 动物使用许可证号: syxk(鄂)2012-0068. 饲养于湖北中医药大学实验动物中心, SPF级大鼠实验室, 屏障环境, 日常饮用超纯水. 大鼠全价营养颗粒饲料, 由湖北中医药大学实验动物中心提供. 疏肝和胃汤(组成: 柴胡10 g、炒枳实10 g、白芍10 g、郁金10 g、广木香10 g、砂仁10 g、焦白术15 g、黄连6 g、吴茱萸6 g、炙甘草6 g等), 购自湖北省中医院凤凰门诊部. 药物制备: 先提取挥发油, 另存; 然后用水煮醇沉法, 将药物连续煎煮3次, 滤液经初步浓缩后醇沉, 静置, 过滤, 再回收乙醇; 取挥发油、药液及少量TWEEN-80共同研磨, 再分别用蒸馏水配为浓度为100%、200%的药液, 分装、灭菌, 贮存于4℃冰箱内备用. 百优解(礼来苏州制药有限公司, 批号: 2709A), 20 mg/粒. 根据成人治疗量的0.018^[10]计算, 用0.9%生理盐水配置成0.09 mg/mL的混悬液. 兔抗5-HT抗体(美国ZYMED公司, 批号: PC177L); SP系列试剂盒(购自美国ZYMED公司). BX-60型Olympus光学显微镜, 日本尼康公司; NIKONTI-SR倒置荧光显微镜, 日本尼康公司; NIKONDI-U3显微镜数字成像系统, 日本尼康公司; Mp10001电子天平, 上海恒平仪器厂; Image-Pro Plus v6.0图像处理软件.

1.2 方法

1.2.1 分组与造模: 按照随机分组的方法将100只大鼠分为5组: 生理盐水组、模型组、百优解组、疏肝和胃汤大、小剂量组, 每组20只. 生理盐水组自然饲养, 其余各组参照文献^[11], 运用慢性心理应激加孤养法制作抑郁模型. 每笼饲养1只大鼠并接受各种不同的应激刺激, 包括断水24 h, 断食24 h, 夹尾1 min, 10℃冰水游泳5 min, 摇晃(1次/s, 持续5 min), 昼夜颠倒, 电击足底(电压50 mV, 5 s/次, 间歇5 s, 共刺激10次), 每天随机选择1种刺激, 每种刺激平均使用4次, 每天连续刺激, 造模时间共计4 wk(28 d). 根据前期研究^[11]观察发现, 至第14天, 造模各组大鼠出现毛发凌乱, 警惕性高, 喜欢铁笼壁, 大便稀软, 刺激时反抗次数减少, 进食、进水量及体质量降低, 与文献报道^[11]一致, 提示造模成功.

1.2.2 给药: 百优解组及疏肝和胃汤大、小剂量组按《药理实验方法学》^[10], 按每天成人用药等效剂量的2倍、1倍给药, 分别给予大鼠200%、100%药液(分别相当于原生药3.6、1.8 g), 即按20、10 g/(kg·d)体质量给药; 百优解组给予已配置的百优解混悬液1.8 mL/200 g(0.36 mg), 按0.36 mg/(kg·d)体质量给药; 生理盐水组及模型组给予等体积生理盐水. 各组每天分2次灌胃, 连续14 d.

1.2.3 标本取材: 在第4周结束时, 各组大鼠给药2 h后取材. 将实验大鼠称质量后按2 mL/kg的剂量腹腔注射10%水合氯醛麻醉, 麻醉成功后行4%多聚甲醛主动脉灌注固定取脑、脊髓及胃组织. 将大鼠仰卧位固定于手术台上, 于剑突下开胸, 暴露心脏, 将带有输液装置的, 尖端轻微磨圆的穿刺针直视下穿入左心室, 然后小心插入升主动脉, 在右心耳剪开一个小口用来放血, 先用150 mL 4℃生理盐水快速灌注以排出血液, 继之应用4℃ 4%多聚甲醛PBS溶液(pH 7.4)约100 mL快速灌注固定, 之后稍减慢多聚甲醛灌注速度, 继续固定15 min. 在4%多聚甲醛的主动脉灌注固定过程中, 可见大鼠全身肌肉颤动并尾部抽动, 后逐渐僵硬. 固定完成后开颅取出延髓迷走神经背核部位的脑组织, 开腹取出胸髓(T6-T8, 根据脊神经定位)组织, 在距幽门约1 cm处取2-3块胃黏膜组织. 上述标本放入4℃ 4%多聚甲醛中后固定24 h. 修块, 流水冲洗1 h, 移至自动脱水机脱水至蜡(总程序共17 h), 行石蜡包埋, 制成蜡块. 在切片机上做延髓迷走神经背核部及胸髓连续横断切片, 胃黏膜连续横断面切片,

■ 相关报道

脑肠肽是一类同时存在于中枢神经系统(central nervous system, CNS)和肠神经系统(enteric nervous system, ENS)的多肽, 具有神经递质和激素的双重功能, 既可参与中枢神经系统的调节, 同时亦能直接作用于胃肠道感觉神经末梢或平滑肌细胞, 调节胃肠道的感觉和运动, 其可通过自身的释放与传递将中枢与胃肠联系起来.

■ 创新盘点

以中医肝胃不和证与抑郁症致胃肠功能改变的密切联系为切入点,采用慢性心理应激加孤养法制作抑郁模型,并用疏肝和胃汤进行治疗。本研究在前期实验的基础上,进一步观察模型大鼠脑(延髓)、脊髓与胃黏膜组织中胃肠敏感性脑肠肽5-HT的变化,从脑肠轴途径揭示疏肝和胃汤改善抑郁症状与胃肠功能的作用机制。

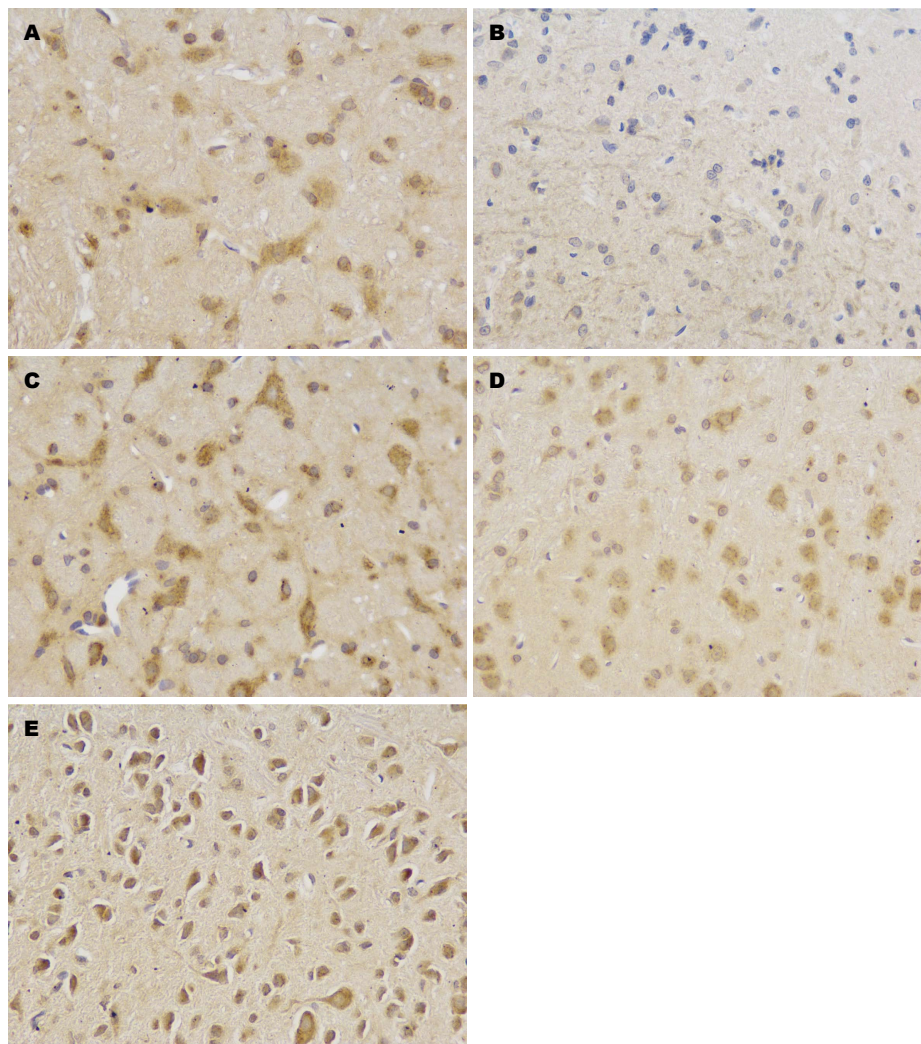


图1 疏肝和胃汤对模型大鼠脑(延髓迷走神经背核部)组织中5-HT表达的影响(SP法 $\times 400$)。A: 生理盐水组; B: 模型组; C: 百忧解组; D: 疏肝和胃汤小剂量组; E: 疏肝和胃汤大剂量组。5-HT: 5-羟色胺。

切片厚度4 μm , 备用。

1.2.4 5-HT免疫组织化学检测: 石蜡切片常规脱蜡至水, 按免疫组织化学SP试剂盒说明书操作: (1)枸橼酸盐缓冲液(pH 6.0)微波抗原修复3 min, PBS洗涤5 min $\times 3$ 次; (2)3% H_2O_2 去离子水孵育10 min, 以消除内源性过氧化物酶活性; (3)PBS冲洗, 3 min $\times 5$ 次; (4)滴加试剂A室温孵育15 min, 倾去, 勿洗; (5)滴加1:1000的兔抗5-HT抗体4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育24 h, 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜, PBS冲洗3 min $\times 5$ 次; (6)滴加试剂B室温孵育20 min, PBS冲洗3 min $\times 5$ 次; (7)滴加试剂C室温孵育15 min, PBS冲洗3 min $\times 5$ 次; (8)DAB显色5 min后自来水冲洗返蓝; (9)梯度乙醇脱水, 二甲苯透明后, 用中性树胶封片。

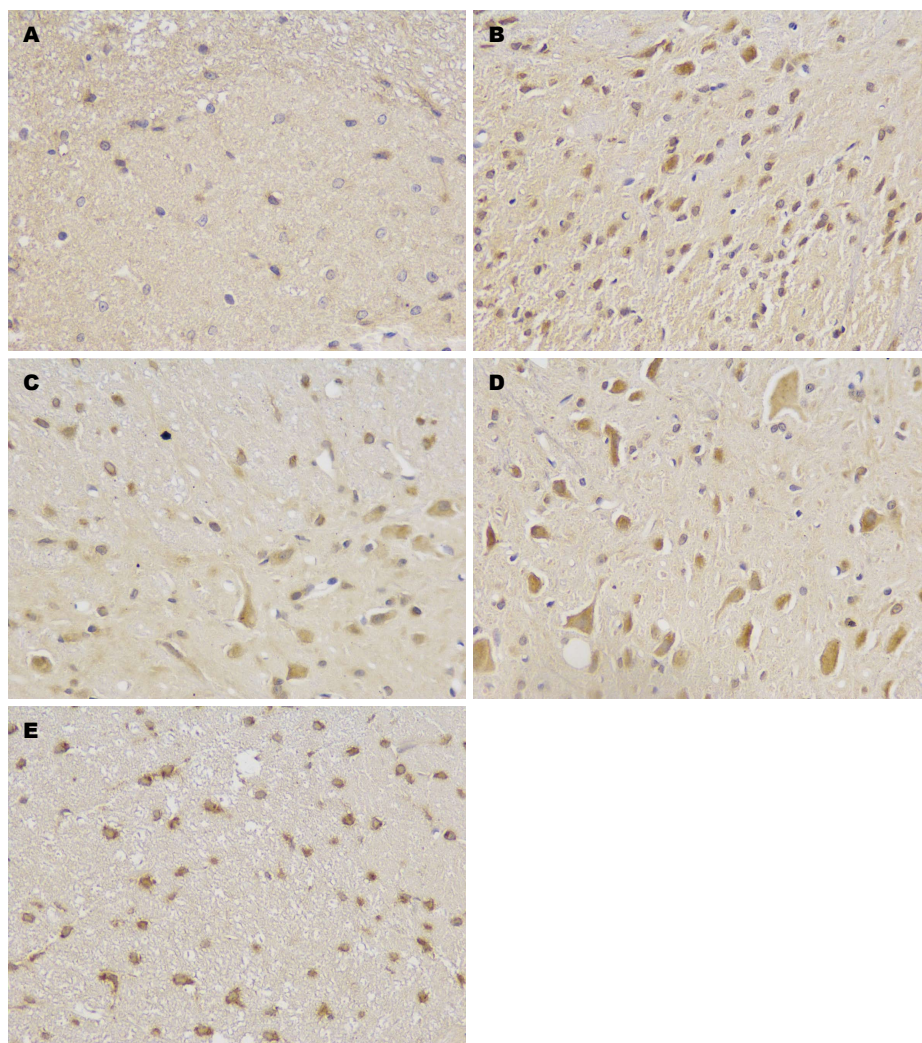
用光学显微镜(10 $\times 40$ 倍)观察延髓、脊髓及胃黏膜中5-HT的阳性表达, 每例组织观察3张切片。上述组织中5-HT阳性表达呈棕黄色, 其中深棕黄色为强阳性、黄色为中等阳性、浅黄

色为阳性; 着色与背景色相同为阴性。用计算机图像分析系统, 在每张切片同一结构位置随机挑选5个视野(10 $\times 40$ 倍), 计算随机视野组织中5-HT阳性表达的平均累积光密度(LA)值, 代表5-HT含量的多少, LA值越大, 表示5-HT的含量越多。

统计学处理 用SPSS12.0统计软件进行统计, 数据以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 采用单因素方差分析, 组间用 q 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 造模结果 造模第2周, 实验观察造模结果如下: (1)一般情况: 生理盐水组大鼠进水、进食水量稳定, 体质量升高, 毛色洁白, 柔软光滑, 粪便成形, 气味不大, 精神良好; 模型各组大鼠毛发凌乱、警惕性高, 但刺激时反抗次数减少, 进食、进水量降低; (2)体质量变化: 生理盐水组大



■应用要点

临床研究已证实, 疏肝和胃汤具有改善抑郁状态、改善胃肠功能的作用. 本实验采用疏肝和胃汤进行治疗, 观察模型大鼠脑肠肽变化和胃肠敏感性信号改变, 研究结果将从中枢与外周两个方面深入揭示疏肝和胃汤的作用机制.

图 2 疏肝和胃汤对模型大鼠脊髓组织中5-HT表达的影响(SP法×400). A: 生理盐水组; B: 模型组; C: 百优解组; D: 疏肝和胃汤小剂量组; E: 疏肝和胃汤大剂量组. 5-HT: 5-羟色胺.

表 1 疏肝和胃汤对抑郁大鼠延髓、脊髓及胃黏膜中5-HT表达的影响(I4值) ($n = 20$, mean \pm SD)

分组	延髓5-HT	脊髓5-HT	胃黏膜5-HT
生理盐水组	10050.01 \pm 472.82	4135.62 \pm 148.01	3614.59 \pm 210.54
模型组	3314.46 \pm 757.47 ^b	7014.56 \pm 628.93 ^b	4400.12 \pm 315.78 ^a
百优解组	9770.94 \pm 339.23 ^d	4908.46 \pm 129.58 ^d	3826.96 \pm 474.88 ^d
疏肝和胃汤(小)	7800.91 \pm 264.37 ^{df}	5667.02 \pm 294.84 ^{ce}	3978.35 \pm 355.96 ^{de}
疏肝和胃汤(大)	9556.06 \pm 406.73 ^d	4487.24 \pm 160.55 ^{de}	3736.45 \pm 242.36 ^{de}

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 生理盐水组; ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$ vs 模型组; ^e $P < 0.05$, ^f $P < 0.01$ vs 百优解组. 5-HT: 5-羟色胺.

鼠体质量平稳增加, 而模型组大鼠体质量有降低趋势, 二者比较有统计学意义($P < 0.05$); (3) 敞箱试验: 模型组大鼠与生理盐水组比较, 水平、垂直运动得分及理毛次数得分下降, 粪便粒数得分升高, 有统计学差异($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); (4) 糖水消耗试验: 模型组大鼠与生理盐水组比较, 糖水消耗量降低, 有统计学差异($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$). 与

文献报道^[11]和前期研究^[1]相符, 提示慢性应激加孤养法制作的抑郁模型表现出了胃肠功能的变化, 与中医“肝郁”影响及“胃”所致的肝胃不和证模型相似, 说明模型制作成功.

2.2 免疫组织化学检测结果 5-HT在3种组织中的表达如表1, 图1-3. 模型组延髓5-HT表达显著下降, 脊髓与胃黏膜5-HT表达显著上升, 与

■名词解释

脑肠肽(brain-gut peptide, BGP): 一类同时存在于中枢神经系统和肠神经系统的多肽, 具有神经递质和激素的双重功能, 既可参与中枢神经系统的调节, 亦能直接作用于胃肠道感觉神经末梢或平滑肌细胞, 调节胃肠道的感觉和运动;

脑肠轴(brain-gut axis, GBA): 大脑(中枢神经系统)和胃肠道(肠神经系统和自主神经系统)之间双向的神经连接, 具有多种生理功能。脑肠轴及其释放的脑肠肽使信号双向传入, 将大脑的情感、认知中枢和外周的胃肠道功能状态连接起来。

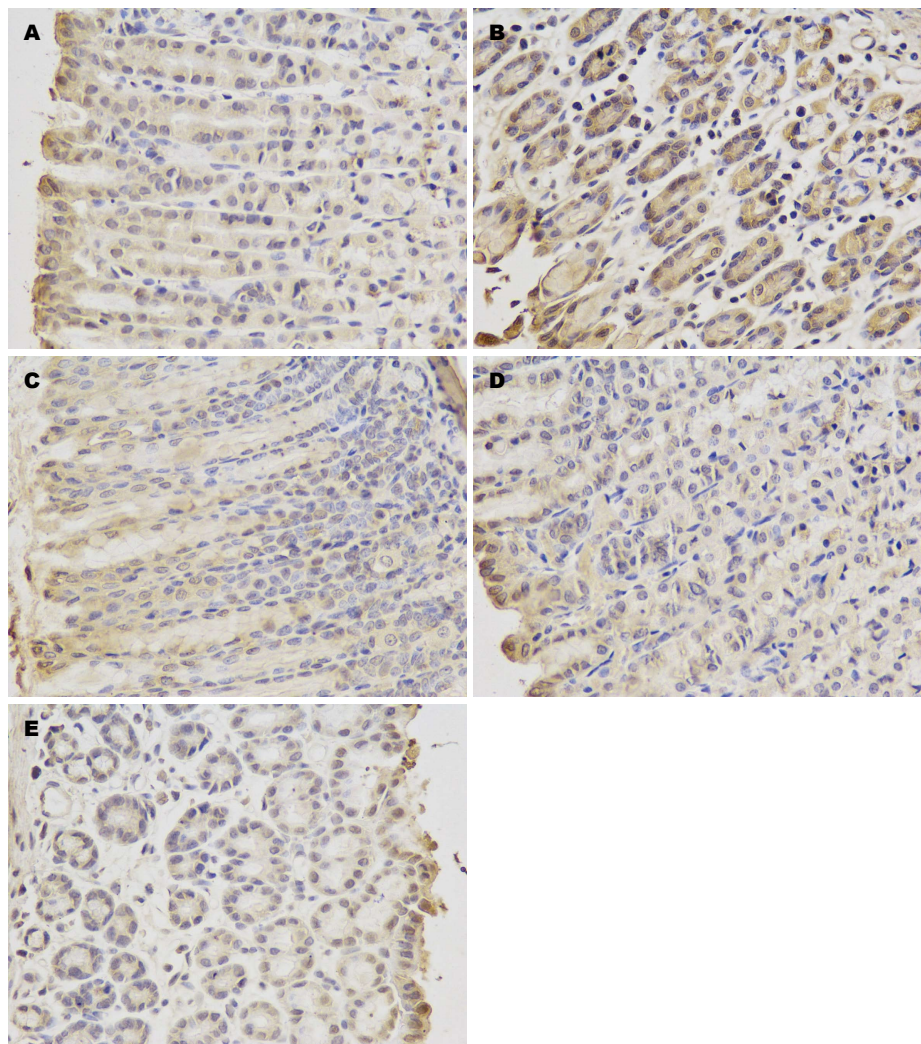


图3 疏肝和胃汤对模型大鼠胃黏膜组织中5-HT表达的影响. A: 生理盐水组; B: 模型组; C: 百优解组; D: 疏肝和胃汤小剂量组; E: 疏肝和胃汤大剂量组. 5-HT: 5-羟色胺.

生理盐水组比较有显著性差异($P<0.01$); 疏肝和胃汤大、小剂量组与百优解组延髓中5-HT表达显著上升, 脊髓与胃黏膜5-HT表达明显下降, 与模型组比较有显著性差异($P<0.01$ 或 $P<0.05$); 其中, 疏肝和胃汤大剂量组与百优解组延髓中5-HT含量比较无显著性差异($P>0.05$), 而百优解组较疏肝和胃汤小剂量组5-HT含量比较有显著性差异($P<0.01$); 疏肝和胃汤大剂量组脊髓(图2)与胃黏膜中5-HT表达降低明显(图3), 与百优解组比较有显著性差异($P<0.05$). 表明疏肝和胃汤可不同程度地增加抑郁模型大鼠延髓中5-HT的含量, 其作用与百优解相当; 但在降低脊髓、胃黏膜中5-HT的含量方面, 其作用优于百优解。

3 讨论

脑肠肽是一类同时存在于中枢神经系统(central

nervous system, CNS)和肠神经系统(enteric nervous system, ENS)的多肽, 具有神经递质和激素的双重功能, 既可参与中枢神经系统的调节, 亦能直接作用于胃肠道感觉神经末梢或平滑肌细胞, 调节胃肠道的感觉和运动^[12]. 研究显示, 脑肠肽可通过自身的释放与传递将CNS和ENS联系起来^[13], 而脊髓背角作为脑-肠轴的“中继站”, 对内脏敏感性起着重要的传递作用^[14,15]. 其中, 5-HT作为一种重要的脑肠肽, 存在于中枢神经系统(脑、脊髓)和胃肠道中^[16], 具有调节情绪、抗抑郁、介导内脏感觉过敏及促进胃动力的作用^[17,18].

研究显示, 百优解不仅可以通过选择性抑制5-HT再摄取, 具有抗抑郁和抗焦虑作用, 还可以通过提高内脏感觉阈值、调节中枢的痛觉传导通路、调节血浆激素水平等改善功能性消化不良患者的症状^[19,20]. 文献报道, 逍遥散能够

明显增加抑郁模型大鼠脑皮质内的5-HT的表达, 认为是其抗抑郁的机制^[21]。秦竹等^[22]研究发现, 甘麦大枣汤具有改善慢性不可预见性温和刺激(chronic unpredictable mild stress, CUMS)抑郁症模型大鼠行为学的特征, 并可明显提高CUMS抑郁症模型大鼠脑内单胺神经递质5-HT的含量, 提示甘麦大枣汤通过提高症大鼠脑内单胺神经递质5-HT的含量治疗抑郁症。丁瑞峰等^[23]研究表明, 内脏高敏感模型大鼠脊髓中5-HT的表达明显高于空白组, 经药物干预后, 脊髓中5-HT表达明显降低, 且胃肠症状改善, 表明内脏高敏与脊髓5-HT上调有关。王静等^[24]实验证实, 脾胃虚弱型功能性消化不良患者胃感觉过敏组胃黏膜中5-HT阳性纤维较对照组显著增高, 认为5-HT可能是引起胃感觉过敏的原因之一。张璐等^[25]实验证明, 内脏高敏感模型组大鼠脑5-HT的表达明显下降, 而脊髓、结肠中5-HT的表达明显增加, 经药物治疗后, 脑组织中5-HT的表达明显上升, 脊髓和结肠组织中5-HT的表达明显下降。

本实验结果表明, 疏肝和胃汤可上调抑郁模型大鼠延髓中5-HT的表达, 下调脊髓与胃黏膜中5-HT的表达。综合前期与本实验研究结果^[1,26]可以推测, 疏肝和胃汤可能通过在中枢神经系统增加延髓内5-HT的浓度, 同时负反馈抑制伤害性应激在脊髓的传导, 缓解中枢致敏, 提高内脏感觉阈值, 并在外周减少胃肠道等靶器官的肥大细胞活化, 导致5-HT等多种生物活性物质释放减少, 使内脏敏感得到缓解; 另一方面, 胃感觉阈值增高, 能缓解胃感觉过敏, 减轻胃肠道的不适症状, 亦有利于改善抑郁情绪。即疏肝和胃汤可能通过双向调节“脑(延髓)-脊髓-胃组织”脑肠轴通路中5-HT的表达变化, 从而起到抗抑郁和改善胃肠功能的作用。

4 参考文献

- 邢颖. 抑郁模型大鼠行为学和胃肠激素变化及疏肝和胃汤干预作用的实验研究. 武汉: 湖北中医药大学, 2012
- 刘松林, 梅国强, 赵映前, 孙江桥, 张茂林. 疏肝和胃汤对功能性消化不良大鼠血中血管活性肠肽和生长抑素的影响. 湖北中医学院学报 2008; 10: 15-16
- 董海燕, 董卫国, 王高华, 王晓萍. 抑郁模型大鼠血浆、脑垂体和结肠组织中P物质和血管活性肠肽的变化. 中国行为医学科学 2005; 14: 208-209
- 刘松林, 梅国强, 赵映前, 孙江桥, 张茂林. 疏肝和胃汤对功能性消化不良大鼠胃窦组织中VIP和SS的影响. 中华中医药学刊 2009; 27: 1245-1246
- 刘松林, 梅国强, 赵映前, 孙江桥, 张茂林. 疏肝和胃汤对小鼠胃排空作用的影响. 中药药理与临床 2004; 20: 36
- 田志颖, 冯丽英, 王丽华. 5-羟色胺与焦虑、抑郁的关系及其在溃疡性结肠炎发病中的作用. 胃肠病学和肝病杂志 2011; 20: 827-828
- 周鸿, 吕宾, 张璐, 李蒙, 鉏莉, 陈鸣艳, 陈汉卿. CRF及其受体在内脏高敏感信号传导通路中的作用及其与5-HT的关系. 全国中西医结合发展战略研讨会暨中国中西医结合学会成立三十周年纪念会论文汇编. 北京: 中西医结合学会, 2011: 52
- 王再见, 欧阳钦, 陈怀恭, 刘传新. 43例溃疡性结肠炎患者中肠易激样综合征的精神心理因素分析. 临床内科杂志 2005; 22: 180-182
- Hoffman JM, Tyler K, MacEachern SJ, Balemba OB, Johnson AC, Brooks EM, Zhao H, Swain GM, Moses PL, Galligan JJ, Sharkey KA, Greenwood-Van Meerveld B, Mawe GM. Activation of colonic mucosal 5-HT(4) receptors accelerates propulsive motility and inhibits visceral hypersensitivity. *Gastroenterology* 2012; 142: 844-854.e4 [PMID: 22226658 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.12.041]
- 徐叔云. 药理实验方法学. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 1991: 1136
- Willner P, Towell A, Sampson D, Sophokleous S, Muscat R. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology (Berl)* 1987; 93: 358-364 [PMID: 3124165 DOI: 10.1007/BF00187257]
- 张传眺. 痛泻要方对肝郁脾虚型D-IBS患者结肠粘膜VIP和SP的影响. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2008
- Wood JD, Grundy D. Little brain--big brain V. *Neurogastroenterol Motil* 1998; 10: 377-385 [PMID: 9805313 DOI: 10.1046/j.1365-2982.1998.00115.x]
- 胡萍萍, 吕宾, 范一宏. 内脏高敏感大鼠脑部5-羟色胺表达差异的研究. 中华消化杂志 2006; 26: 347-348
- Wei F, Gu M, Chu YX. New tricks for an old slug: descending serotonergic system in pain. *Shengli Xuebao* 2012; 64: 520-530 [PMID: 23090493]
- Sarkar S, Hobson AR, Furlong PL, Woolf CJ, Thompson DG, Aziz Q. Central neural mechanisms mediating human visceral hypersensitivity. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 281: G1196-G1202 [PMID: 11668028]
- 张艳美. 慢性应激、大脑损害与抑郁症. 国外医学精神病学分册 2001; 28: 105-109
- 朱良如, 谢小平, 钱伟, 侯晓华. 5-羟色胺在胃机械感觉过敏中的作用. 中华消化杂志 2005; 25: 166-167
- Kozłowski CM, Green A, Grundy D, Boissonade FM, Bountra C. The 5-HT(3) receptor antagonist alosetron inhibits the colorectal distention induced depressor response and spinal c-fos expression in the anaesthetised rat. *Gut* 2000; 46: 474-480 [PMID: 10716675 DOI: 10.1136/gut.46.4.474]
- 谢一民. 抑郁症从肝论治探讨. 现代中西医结合杂志 2009; 18: 1354
- 狄灵, 马新欣, 杨成志. 逍遥散对抑郁症模型大鼠脑和结肠中五羟色胺表达的影响. 疑难病杂志 2013; 12: 871-873, F0003
- 秦竹, 毕秀华, 唐瑶瑶, 王臻. 甘麦大枣汤对CUMS大鼠行为学及中枢递质5-HT和NE的影响. 辽宁中医杂志 2013; 40: 563-565
- 丁瑞峰, 吕宾, 孟立娜, 蒋霞, 张璐. 肠炎宁糖浆对内脏高敏感大鼠脊髓5-HT和CGRP表达的研究. 国际中医中药杂志 2007; 29: 259-260
- 王静, 黄穗平, 赵小青, 陈延. 脾胃虚弱型功能性消化不良患者胃感觉过敏及胃黏膜P物质、5-羟色胺的变化. 新中医 2012; 44: 42-44

■同行评价

本文课题设计合理, 方法正确, 技术路线清晰, 数据可靠, 结论可信, 叙述清楚, 分析合理, 有一定的学术价值。

- 25 张璐, 周鸿, 吕宾, 鉏莉, 李蒙. CRF在大鼠5-HT信号通路和内脏高敏感中的作用. 胃肠病学 2011; 16: 534-538
- 26 李明珠. 疏肝和胃汤对抑郁模型大鼠胃黏膜肥大细胞及感觉神经递质影响的研究. 武汉: 湖北中医药大学, 2013

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014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30个省、市、自治区、特别行政区的483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、中医中药学、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。

红牛饮料对慢性酒精性肝损伤大鼠肝功能的保护作用

刘敏, 郑婷, 骆彦霏, 左常茜, 王海悦, 高凌峰

刘敏, 郑婷, 骆彦霏, 左常茜, 王海悦, 海南医学院临床医学专业 海南省海口市 571199

高凌峰, 海南医学院机能学实验室 海南省海口市 571199

2012年国家大学生创新基金资助项目, No. 201211810074
作者贡献分布: 此课题由刘敏与高凌峰设计; 动物模型制作和数据分析由刘敏、郑婷、骆彦霏、左常茜及王海悦操作完成; 论文写作由刘敏与高凌峰完成。

通讯作者: 高凌峰, 生理学高级实验师, 571199, 海南省海口市学院路3号, 海南医学院机能学实验室. Ifgao6500@163.com
电话: 0898-66895765

收稿日期: 2014-05-08 修回日期: 2014-06-05

接受日期: 2014-06-11 在线出版日期: 2014-08-08

Protective effect of Red Bull drinks against chronic alcoholic injury in rats

Min Liu, Ting Zheng, Yan-Fei Luo, Chang-Qian Zuo, Hai-Yue Wang, Ling-Feng Gao

Min Liu, Ting Zheng, Yan-Fei Luo, Chang-Qian Zuo, Hai-Yue Wang, Hainan Medical University, Haikou 571199, Hainan Province, China

Ling-Feng Gao, the Functional Laboratory of Hainan Medical University, Haikou 571199, Hainan Province, China

Supported by: National College Student Innovation Fund Project in 2012, No. 201211810074

Correspondence to: Ling-Feng Gao, Senior Technician, the Functional Laboratory of Hainan Medical University, 3 Xueyuan Road, Haikou 571199, Hainan Province, China. Ifgao6500@163.com

Received: 2014-05-08 Revised: 2014-06-05

Accepted: 2014-06-11 Published online: 2014-08-08

Abstract

AIM: To observe whether Red Bull drinks have a protective effect against chronic alcoholic liver injury in rats.

METHODS: Chronic alcoholic liver injury was induced in rats by intragastric administration of alcohol (56°). Rats were divided into three groups and were given alcohol (positive group), 0.9% saline (control group), and alcohol plus Red Bull drinks (experimental group), respectively. Serum levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), and the activities of superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA) and metallothionein (MT) were detected by the end of the experiment. Conventional paraffin section of the left

lobe was stained with hematoxylin-eosin (HE) to observe pathological changes.

RESULTS: SOD showed significant differences among the three groups ($F = 5.793$, $P = 0.017$). SOD was significantly higher in the control group than in the positive group (0.882 ± 0.044 vs 0.649 ± 0.154 , $P < 0.05$), and in the experimental group than in the positive group (0.797 ± 0.097 vs 0.649 ± 0.154 , $P < 0.05$), although there was no significant difference between the positive group and experimental group. Liver pathology showed congestion in individual liver tissues in the positive group, which was not persuasive.

CONCLUSION: Red Bull drinks have an appreciated protective effect against chronic alcoholic liver injury in rats.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Chronic alcoholic liver injury; Red Bull drinks; Liver function; Protective effect

Liu M, Zheng T, Luo YF, Zuo CQ, Wang HY, Gao LF. Protective effect of Red Bull drinks against chronic alcoholic injury in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(22): 3259-3263 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3259.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3259>

摘要

目的: 通过观察红牛饮料对慢性酒精性肝损伤大鼠肝功能的保护作用, 为预防和保护酒精性肝损伤提供实验依据。

方法: 采用56度白酒灌胃, 建立慢性酒精性肝损伤大鼠模型。阳性组给予白酒, 空白组给予0.9%生理盐水, 实验组给予白酒同时给予相应红牛饮料饮用。实验末测血清谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、肝组织匀浆测超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malonic dialdehyde, MDA), 金属硫蛋白(metallothionein, MT)。左肝叶作常规

■背景资料

目前, 酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)发病率迅速上升, 人们对肝脏的保护越来越重视。本研究通过建立理想的动物模型, 以探究红牛饮料对慢性酒精性肝损伤大鼠的肝功能保护作用。

■同行评议者

迟宝荣, 教授, 吉林大学第一医院 消化内科

■ 研发前沿

酒精对人类健康的危害已成共识。人们对肝脏的保护越来越重视。对肝功能保护作用的研究已刻不容缓。

石蜡切片, 进行HE染色, 观察肝脏病理学变化。

结果: 不同组间SOD差异有统计学意义($F = 5.793$, $P = 0.017$), 采用LSD法进行两两比较, 结果显示空白组SOD明显高于阳性组($0.882 \text{ U/mgprot} \pm 0.044 \text{ U/mgprot}$ vs $0.649 \text{ U/mgprot} \pm 0.154 \text{ U/mgprot}$, $P < 0.05$)。实验组SOD明显高于阳性组($0.797 \text{ U/mgprot} \pm 0.097 \text{ U/mgprot}$ vs $0.649 \text{ U/mgprot} \pm 0.154 \text{ U/mgprot}$, $P < 0.05$)。空白组与实验组差异无统计学意义。不同组间ALT、AST、MDA、MT差异均无统计学意义。肝脏病理切片显示阳性组个别肝组织出现肝淤血, 不具有说服力。

结论: 红牛饮料对慢性酒精性肝损伤大鼠肝功能有一定的保护作用。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 慢性酒精性肝损伤; 红牛饮料; 肝功能; 保护作用

核心提示: 本研究中红牛饮料能显著提高酒精性肝损伤大鼠肝脏中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)的含量, 说明其能诱导大鼠肝组织内SOD的表达, 提高机体清除自由基的活性, 提高机体的抗氧化功能, 因此, 红牛饮料对慢性酒精性肝损伤大鼠肝功能有一定的保护作用。

刘敏, 郑婷, 骆彦霏, 左常茜, 王海悦, 高凌峰. 红牛饮料对慢性酒精性肝损伤大鼠肝功能的保护作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(22): 3259–3263 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3259.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3259>

0 引言

酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)是指长期过量饮酒导致的肝脏疾病, 包括酒精性脂肪肝(alcoholic fatty liver, AFL)、酒精性肝炎(alcoholic hepatitis, AH)、酒精性肝纤维化(alcoholic hepatic fibrosis, AHF)、酒精性肝硬化(alcoholic cirrhosis, AC)和肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)^[1]。近年来研究表明酒精是肝细胞的一种凋亡诱导剂, 他在ALD的发生、发展过程中起着重要作用^[2]。目前, 在临床中, 酒精性肝损伤的发生呈现上升的趋势。我国, 随着人民生活水平的提高, 酗酒者增多, ALD发病率迅速上升, 在饮酒者中已达到6.1%^[3], 成为仅次于病毒性肝病的第二大肝病^[4], 人们对肝脏的保护越来越重视。陈震等^[5]的研究表明, 咖啡因能显著降低小鼠血清

谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)水平, 显示咖啡因对小鼠的急性酒精性肝损伤有保护作用。刘辉等^[6]的研究表明, 牛磺酸能够有效保护酒精对大鼠肝脏的损伤作用。吴高峰等^[7]的研究表明, 牛磺酸可以改善酒精对大鼠造成的机体损伤, 降低ALD大鼠血清中AST、ALT水平, 升高肝组织总蛋白含量; 提高大鼠肝组织中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽(glutathione, GSH)活性, 降低丙二醛(malondialdehyde, MDA), 从而抑制酒精刺激所造成的肝脏脂质过氧化物的发生。红牛饮料中, 主要含有咖啡因、牛磺酸、赖氨酸等物质^[8]。而对慢性酒精性肝损伤大鼠的肝功能保护作用未见报道。

1 材料和方法

1.1 材料 选取♂ SPF级SD大鼠, 15只, 体质量180–220 g, 由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供, 动物质量合格证编号: 43004700001610。适应性饲养1 wk, 随机分为3组: 空白组: 5只(1只在灌胃时意外死亡, 故去除), 阳性组: 4只(2只在灌胃时意外死亡, 故去除), 实验组: 6只。红牛饮料(海南红牛饮料有限公司, 批号: 琼卫食证字(2006)第460000-010068号; 56度红星二锅头酒(北京红星股份有限公司, 批号: 6906785230165); SOD试剂盒: 南京建成生物工程研究所, 羟胺法; MDA试剂盒: 南京建成生物工程研究所, TBA法; MT试剂盒: 南京建成生物工程研究所, ELISA法; 全自动生化分析仪(型号: 7020, 日立公司); 分光光度计(型号: VIS-722S, 奥普勒公司); 离心机(型号: 5810, 德国Eppendorf公司); IVC-II型(智能型)独立送风隔离笼具(型号: GA56, 苏州市冯氏实验动物设备有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 造模及给药途径: 实验组和阳性组按每周测定体质量, 每日早晚各给予一次白酒(56度红星二锅头酒)灌胃, 2次灌胃时间间隔超过8 h。前4 wk每日给予400 mL/L乙醇(即将56度白酒100 mL加蒸馏水至140 mL), 8 g/kg灌胃, 从第5 wk开始每日给予500 mL/L乙醇(即将56度白酒100 mL加蒸馏水至112 mL), 9 g/kg灌胃, 至8 wk末。空白组给予等体积的0.9%生理盐水灌胃。饲养期间实验组给予40 mL红牛饮料自由饮用(大鼠生理需水量大约为40 mL^[9]), 空白组和阳性组给予40 mL蒸馏水自由饮用, 各组自由摄食, 实验周期为8 wk。

1.2.2 指标测定: (1)血清检测ALT、AST, 肝组织

表 1 红牛饮料对慢性酒精性肝损伤大鼠血清中的ALT、AST含量的影响 (mean \pm SD, U/L)

分组	n	ALT	AST
空白组	5	50.36 \pm 1.93	159.60 \pm 44.287
阳性组	4	73.42 \pm 1.67	281.00 \pm 170.368
实验组	6	75.25 \pm 3.67	380.00 \pm 369.466

ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶.

匀浆检测SOD、MDA、MT: 于末次灌胃, 禁食不禁水12 h后, 3%戊巴比妥钠溶液(1 mL/kg)腹腔麻醉, 心脏取血制备血清及10%肝组织匀浆, 检测上述指标; (2)肝组织切片: 处死大鼠后, 迅速剖取肝左叶, 放入40 g/L的甲醛溶液固定, 送海南省药物安全性评价研究中心, 作常规石蜡切片, 进行HE染色, 观察肝脏病理学变化, 拍摄病理切片.

统计学处理 所有呈正态分布数据以mean \pm SD表示, 所有对数呈正态分布数据以几何均数 \pm 几何标准差表示, 采用SPSS19.0软件进行分析, 统计分析采用完全随机设计方差分析, 两两比较采用LSD法, 检验水准为 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 红牛饮料对慢性酒精性肝损伤大鼠血清中的ALT、AST含量的影响 表1结果显示, 空白组、阳性组及实验组3组之间ALT含量差异无统计学意义(50.36 U/L \pm 1.93 U/L vs 73.42 U/L \pm 1.67 U/L; 50.36 U/L \pm 1.93 U/L vs 75.25 U/L \pm 3.67 U/L; 73.42 U/L \pm 1.67 U/L vs 75.25 U/L \pm 3.67 U/L). 空白组、阳性组及实验组3组之间AST含量差异无统计学意义(159.60 U/L \pm 44.287 U/L vs 281.00 U/L \pm 170.368 U/L; 159.60 U/L \pm 44.287 U/L vs 380.00 U/L \pm 369.466 U/L; 281.00 U/L \pm 170.368 U/L vs 380.00 U/L \pm 369.466 U/L).

2.2 红牛饮料对慢性酒精性肝损伤大鼠血清中的SOD、MDA、MT含量的影响 不同组间SOD差异有统计学意义($F = 5.793$, $P = 0.017$), 采用LSD法进行两两比较, 结果显示空白组SOD明显高于阳性组(0.882 U/mgprot \pm 0.044 U/mgprot vs 0.649 U/mgprot \pm 0.154 U/mgprot, $P < 0.05$). 实验组SOD明显高于阳性组(0.797 U/mgprot \pm 0.097 U/mgprot vs 0.649 U/mgprot \pm 0.154 U/mgprot, $P < 0.05$). 空白组与实验组差异无统计学意义(表2). 其余指标无显著性差异.

2.3 肝脏组织病理学改变 光学显微镜下(400 \times)肉眼观察空白组与实验组大鼠肝组织色泽暗红, 被膜光滑. 阳性组大鼠肝组织色泽淡黄, 质稍软, 无光泽. 光镜显示空白组与实验组肝细胞形态学基本正常(图1A, C); 阳性组个别肝组织出现肝淤血(图1B)不具有说服力.

3 讨论

肝脏是乙醇代谢的主要场所, 饮酒后, 约90%在肝内代谢, 当血液和肝组织中乙醇浓度较低时, 进入体内的乙醇大部分通过乙醇脱氢酶(ethanol dehydrogenase, ADH)代谢, 转化为乙醛, 乙醛再经乙醛脱氢酶(acetaldehyde dehydrogenase, ALDH)的作用, 代谢为无毒的乙酸, 最终进入三羧酸循环生成能量、CO₂和H₂O. 乙醛转化为乙酸的速度较慢, 易导致乙醛在体内蓄积^[10]. 乙醛可与肝细胞中的蛋白质、DNA发生整合, 形成乙醛加合物, 如MDA-乙醛加合物等, 诸多乙醛加合物可导致受其影响的蛋白质发生变构, 失去应有的功能, 从而引起肝细胞功能受损^[11]. 同时, 乙醛加合物还能使机体活性氧(reactive oxygen species, ROS)增多, 氧化应激水平升高, 导致脂质过氧化, MDA增高, 某些抗氧化物质如SOD、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-PX)大量消耗, 削弱机体多个器官特别是肝脏的抗氧化能力, 其诱导的氧化应激作用在ALD发生发展过程中扮演着重要角色^[12,13].

本实验采用白酒灌胃的方法建立慢性酒精性肝损伤大鼠模型^[14], 8 wk之后, 阳性组大鼠肝脏SOD水平显著下降, 阳性组SOD水平与空白组及实验组SOD水平差异有统计学意义, 阳性组低于空白组及实验组, 空白组与实验组SOD水平差异无统计学意义. 血清的ALT和AST是反映肝细胞受损的重要指标, 但3组间ALT、AST、MDA结果无显著差异, 可能是由于实验样本量小, 实验时间短, 未能证实红牛饮料对大鼠肝损伤后是否能降低ALT、AST、MDA水平. 病理组织切片提示阳性组个别肝组织出现肝淤血, 不具有说服力.

有文献报道, ALD发病机制可能与乙醇及其代谢产物对肝脏的不良反应、氧应激、免疫诱导和细胞因子、细胞凋亡、遗传、病毒的叠加作用等有关^[15]. 其发病机制主要包括以下几个方面: (1)乙醇代谢过程中代谢产物的毒害作用; (2)氧化应激作用; (3)细胞因子/炎症介质的作用; (4)内毒素介导的细胞因子作用. 其

■ 相关报道

咖啡因对小鼠的急性酒精性肝损伤有保护作用. 氧化应激可导致ALD的发生发展. 牛磺酸可以抑制酒精刺激所造成的肝脏脂质过氧化的发生.

■应用要点

本文探究红牛饮料对慢性酒精性肝损伤大鼠的肝功能保护作用, 意义重大, 对今后ALD患者的肝功能的保护具有重要作用, 是ALD患者的福音。

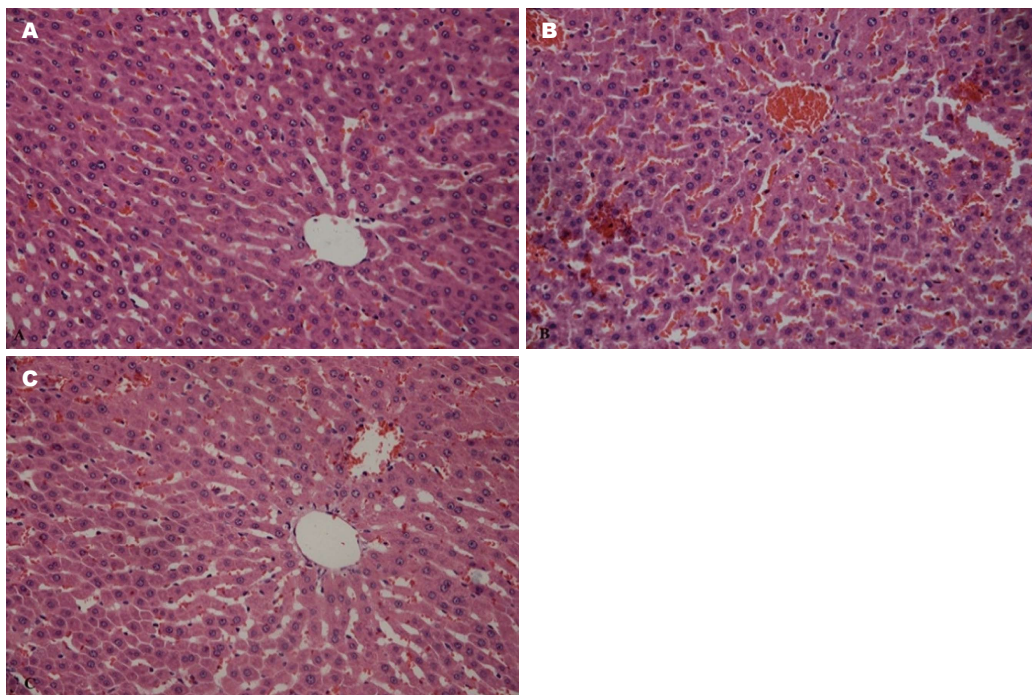


图1 大鼠肝脏组织病理学改变(HE × 400). A: 正常肝组织; B: 肝淤血; C: 正常肝组织.

表2 红牛饮料对慢性酒精性肝损伤大鼠血清中的SOD、MDA、MT含量的影响 (mean ± SD)

分组	n	SOD(U/mgprot)	MDA(nmol/mL)	MT(pg/mL)
空白组	5	0.882 ± 0.044	0.042 ± 0.038	2857.46 ± 479.87
阳性组	4	0.649 ± 0.154	0.041 ± 0.014	2914.71 ± 103.92
实验组	6	0.797 ± 0.097	0.043 ± 0.021	2956.98 ± 193.39

SOD: 超氧化物歧化酶; MDA: 丙二醛; MT: 金属硫蛋白.

中, 由于生物体内氧化还原状态的平衡破坏而导致过量的ROS而引发的氧化应激反应, 是多种肝病发病的共同病理基础^[16]. 正常生命过程中产生的超氧阴离子自由基是维持生命所必需的, 当其浓度过高时, 对机体会造成损害. 因此, 超氧化物歧化酶作为其特异清除剂, 在生物体的生命活动中具有重要意义^[17], 大量研究表明, SOD活性低下可以看作是某些疾病的特征之一^[18].

SOD是生物体内最为重要的抗氧化酶之一, 是清除ROS的第一道防线. 主要清除O₂⁻及防止O₂⁻直接或间接转变为其他形式的自由基, 防止生物膜脂质过氧化损伤. SOD是O₂⁻的“克星”, 具有抗炎、抗病毒、抗辐射、抗衰老等作用^[19]. SOD作为体内唯一的O₂⁻清除剂, 参与酒精性肝损伤的病理过程. 本研究红牛饮料能显著提高酒精性肝损伤大鼠肝脏中SOD的含量, 说明红牛饮料能诱导大鼠肝组织内SOD的表达, 提高机体清除

自由基的活性, 提高机体的抗氧化功能, 这提示红牛饮料对肝脏的保护作用可能与增强机体清除自由基及抑制自由基反应的能力, 防止过度脂质过氧化有关. 因此, 红牛饮料对慢性酒精性肝损伤大鼠肝功能有一定的保护作用.

志谢: 本项目在实施过程中得到海南医学院教务处、机能学实验室、海南省药物安全性评价中心的大力支持. 组织病理学检查方面, 得到谢富生老师的无私帮助, 在数据统计学处理方面, 得到吴玲老师的无私帮助; 在此一并表示衷心感谢.

4 参考文献

- 1 王洪岩, 李鑫, 徐有青. 酒精性肝病发病机制研究进展. 实用肝脏病杂志 2014; 17: 5-8
- 2 Stewart S, Jones D, Day CP. Alcoholic liver disease: new insights into mechanisms and preventative strategies. Trends Mol Med 2001; 7: 408-413 [PMID: 11530336 DOI: 10.1016/S1471-4914(01)02096-2]

- 3 鲁晓岚, 陶明, 罗金燕, 耿燕, 赵红莉, 赵平. 饮酒与肝病流行病学调查. 中华肝脏病杂志 2002; 10: 467-468
- 4 江正辉, 王泰龄. 酒精性肝病. 北京: 中国医药科技出版社, 2001: 3-11
- 5 陈震, 吕雄文, 李俊, 张磊, 刘洪峰, 黄成, 朱鹏里. 咖啡因对小鼠急性酒精性肝损伤的保护作用. 安徽医科大学学报 2009; 44: 359-362
- 6 刘辉, 金玉兰, 周瑞华, 徐应军. 牛磺酸对大鼠酒精性肝损伤保护作用的研究. 营养学报 2003; 25: 290-293
- 7 吴高峰. 牛磺酸对大鼠酒精性肝病防治作用及其机理的研究. 沈阳: 沈阳农业大学, 2006
- 8 陈青川, 牟世芬, 侯小平. 食品中咖啡因、可可碱和茶碱含量的调查. 中国公共卫生 1997; 13: 746
- 9 王朝晖, 于望远, 赵延红, 乔文彪, 张喜德, 邢玉瑞. 雄性SD大鼠饮水量及大便量生理值测定. 中国比较医学杂志 2004; 14: 228
- 10 赵雪珂, 穆茂, 程明亮. 酒精性肝病与氧化应激. 临床肝胆病杂志 2014; 30: 118-120
- 11 Setshedi M, Wands JR, Monte SM. Acetaldehyde adducts in alcoholic liver disease. *Oxid Med Cell Longev* 2010; 3: 178-185 [PMID: 20716942 DOI: 10.4161/oxim.3.3.12288]
- 12 Cederbaum AI, Lu Y, Wu D. Role of oxidative stress in alcohol-induced liver injury. *Arch Toxicol* 2009; 83: 519-548 [PMID: 19448996 DOI: 10.1007/s00204-009-0432-0]
- 13 王洪武, 李守超, 贺海波, 曾晓, 狄国杰, 张长城, 余枫华, 何毓敏, 袁丁. 竹节参提取物对小鼠急性肝损伤的保护作用. 中国临床药理学与治疗学 2012; 17: 961-966
- 14 马晓茜. 大鼠酒精性肝损伤模型的制备及观察. 山东医学高等专科学校学报 2011; 33: 81-83
- 15 Xu D, Thiele GM, Beckenhauer JL, Klassen LW, Sorrell MF, Tuma DJ. Detection of circulating antibodies to malondialdehyde-acetaldehyde adducts in ethanol-fed rats. *Gastroenterology* 1998; 115: 686-692 [PMID: 9721166 DOI: 10.1016/s0016-5085(98)70148-9]
- 16 陈湘宁, 郭琳博, 李宇华, 胡婉珊, 丁轲. 酒精性肝病发病机制及防治机理研究. 食品与机械 2011; 27: 265-274
- 17 田春美, 钟秋平. 超氧化物歧化酶的研究进展. 中国热带医学 2005; 5: 1730-1732
- 18 丁书茂, 杨旭. 超氧化物歧化酶及其模拟化合物研究进展. 高等函授学报(自然科学版) 2004; 17: 1-5
- 19 岳俊杰. 镍超氧化物歧化酶模型化合物的设计、合成、表征和构效关系研究. 天津: 天津师范大学, 2003

■同行评价

本文初步探讨了红牛饮料对慢性酒精性肝损伤大鼠的保护作用, 具有一定创新性. 但研究中各组样本量太少, 病理结果没有慢性酒精性肝损伤改变, 不能证实造模成功(可能与造模方法、时间有关), 导致其他结果说服力下降. 红牛饮料成分复杂, 建议今后选用国内外公认的造模方法, 增加各组样本含量, 进一步研究探讨.

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



调节性T细胞对小鼠肝纤维化的促进作用

张晓慧, 娄金丽, 白 丽, 郑素军, 陈 煜, 段钟平

■背景资料

调节性T细胞(regulatory T cells, Tregs)介导免疫耐受。研究发现许多肝硬化患者体内Tregs表达升高。有学者认为Tregs会抑制免疫反应, 限制肝纤维化发展; 也有学者认为他不利于致病因素的清除, 促进疾病发展。那么Tregs在肝纤维化中发挥什么作用, 目前仍无定论。

张晓慧, 白丽, 郑素军, 陈煜, 段钟平, 首都医科大学附属北京佑安医院人工肝中心 北京市 100069
娄金丽, 首都医科大学附属北京佑安医院临检中心 北京市 100069
国家“十二五”科技重大专项基金资助项目, Nos. 2012ZX10002004-006, 2012ZX10004904-003-001, 2013ZX10002002-006-001
北京市医院管理局临床医学发展专项基金资助项目, No. XM201308
首都医科大学基础-临床合作基金资助项目, Nos. 14JL73, 14JL72
作者贡献分布: 此课题由张晓慧与段钟平设计; 动物模型、PCR和免疫荧光由张晓慧与白丽完成; 流式细胞分析由娄金丽完成; 数据分析由张晓慧和郑素军完成; 本文写作由张晓慧完成; 陈煜负责修改。
通讯作者: 段钟平, 教授, 主任医师, 100069, 北京市丰台区右安门外西头条8号, 首都医科大学附属北京佑安医院人工肝中心。duan2517@163.com
电话: 010-63291621
收稿日期: 2014-05-22 修回日期: 2014-07-01
接受日期: 2014-07-15 在线出版日期: 2014-08-08

Regulatory T cells promote liver fibrosis in mice

Xiao-Hui Zhang, Jin-Li Lou, Li Bai, Su-Jun Zheng, Yu Chen, Zhong-Ping Duan

Xiao-Hui Zhang, Li Bai, Su-Jun Zheng, Yu Chen, Zhong-Ping Duan, Artificial Liver Center, Beijing Youan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Jin-Li Lou, Clinical Laboratory Center, Beijing Youan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Supported by: the National Major Science and Technology Project during the “Twelfth Five-Year Plan” Period, Nos. 2012ZX10002004-006, 2012ZX10004904-003-001, and 2013ZX10002002-006-001; Special Fund of Clinical Medicine Development of Beijing Municipal Administration of Hospitals, No. XM201308; Basic-Clinical Cooperation Project of Capital Medical University, Nos. 14JL73 and 14JL72

Correspondence to: Zhong-Ping Duan, Professor, Chief Physician, Artificial Liver Center, Beijing Youan Hospital, Capital Medical University, 8 Xitoutiao Youanmen, Fengtai District, Beijing 100069, China duan2517@163.com

Received: 2014-05-22 Revised: 2014-07-01

Accepted: 2014-07-15 Published online: 2014-08-08

Abstract

AIM: To investigate the role of regulatory T cells (Tregs) in the development of liver fibrosis in mice.

METHODS: Experimental mice were divided

into three groups: a liver fibrosis group, a liver fibrosis + anti-CD25 group and a control group. Liver fibrosis was induced by intraperitoneal injection of 30% carbon tetrachloride (CCl₄). Four weeks later, mice in the liver fibrosis + anti-CD25 group were intraperitoneally injected with the purified CD25 monoclonal antibody (PC61 culture supernatant) to deplete Tregs. The mice injected with the same volume of saline were used as controls. Flow cytometry was used to detect the level of liver CD4⁺CD25⁺ T cells, immunofluorescence was used to stain the activated hepatic stellate cells (α-SMA), and real-time PCR was used to detect the expression of Foxp3 and type- I and -III collagen in the liver.

RESULTS: Flow cytometry analysis showed that the number of Tregs was significantly higher in liver fibrosis mice; after injection of CD25 antibody, CD4⁺CD25⁺ T cells in the liver were decreased by 50%. Real-time PCR showed that Foxp3 mRNA expression was significantly decreased compared to the fibrosis group. Immunofluorescence results showed that α-SMA was significantly reduced after Tregs depletion, compared to liver fibrosis mice. The mRNA levels of type- I and type-III collagen were also decreased after Tregs depletion.

CONCLUSION: Tregs can promote liver fibrosis in mice.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Regulatory T cells; Liver fibrosis; Carbon tetrachloride

Zhang XH, Lou JL, Bai L, Zheng SJ, Chen Y, Duan ZP. Regulatory T cells promote liver fibrosis in mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(22): 3264-3269 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3264.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3264>

摘要

目的: 研究调节性T细胞(regulatory T cells, Tregs)在肝纤维化发展中的作用。

■同行评议者

刘绍能, 主任医师, 中国中医科学院广安门医院消化科

方法: 实验小鼠分为 3 组: 肝纤维化组、肝纤维化+CD25 抗体组(下调 Tregs)、对照组。用四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl₄)诱导小鼠肝纤维化, 30%CCl₄腹腔注射 4 wk 后, 选取部分小鼠腹腔注射纯化的 CD25 单克隆抗体(PC61 培养上清), 下调体内 Tregs 水平。对照组小鼠腹腔注射等体积生理盐水。流式细胞分析检测肝内 CD4⁺CD25⁺ T 细胞水平, 用免疫荧光法标记肝星状细胞活化标志 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)的表达, Real-time PCR 检测肝内 Foxp3 以及 I 型胶原和 III 型胶原的表达。

结果: 流式细胞分析显示肝纤维化小鼠肝内 Tregs 明显高于对照组, 注射 CD25 抗体后, 肝内 CD4⁺CD25⁺ T 细胞下降 50% 以上, 同时 Real-time PCR 显示 Foxp3 表达比纤维化组也明显下降。免疫荧光显示下调体内 Tregs 水平后, α -SMA 表达较肝纤维化小鼠显著减少, 同时 I 型胶原和 III 型胶原也减少。

结论: Tregs 对小鼠肝纤维化发展具有促进作用。

© 2014 年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 调节性 T 细胞; 肝纤维化; 四氯化碳

核心提示: 调节性 T 细胞(regulatory T cell)介导免疫耐受, 他虽然不是引发肝纤维化的原始病因, 但对四氯化碳诱导的小鼠肝纤维化的维持和发展起重要作用, 从另一个角度解释了肝纤维化为何难以消除, 增加了人们对肝纤维化的认识。

张晓慧, 娄金丽, 白丽, 郑素军, 陈煜, 段钟平. 调节性 T 细胞对小鼠肝纤维化的促进作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(22): 3264-3269 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3264.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i22.3264>

0 引言

调节性 T 细胞(regulatory T cell, Tregs)是一种公认的免疫抑制性细胞, 占 CD4⁺ T 细胞的 5%-10%, 在人和鼠类的外周血及脾脏中含量相对丰富, 在炎症、自身免疫性疾病及肿瘤免疫中起重要作用^[1]。Tregs 表型多为 CD4⁺CD25⁺, 其中 CD25 为 IL-2 受体 α 链, 参与 Tregs 的生长发育。多数 Tregs 为 CD25 高表达, 但也有一些非 Tregs 也表达 CD25, 因此, 多数研究者认为有负向调节活性的 CD4⁺CD25^{high} 为其主要标记^[2]。后来研究发现翼状螺旋转录因子 Foxp3 在 Tregs 的发生和功能中行使重要作用, 现在被认为是 Tregs 的特

异性标志^[1]。肝纤维化是各种原因导致的肝细胞坏死、炎症细胞浸润和肝内细胞外基质过度沉积, 他发展的最后阶段往往是肝硬化及其并发症, 严重危害患者的生命和健康。临床研究发现慢性乙型肝炎和丙型肝炎患者^[3,4]以及肝炎后肝硬化患者^[5]的外周血中 Tregs 水平明显高于健康人; 肝癌患者的 CD4⁺CD25⁺Tregs 水平也明显升高^[6,7]。有学者认为这种高水平的 Tregs 会影响效应 T 细胞等的功能, 从而减少免疫细胞对肝脏的炎症损伤, 限制肝纤维化发展^[8]。但也有学者认为这种 Tregs 高表达会使致病因素长期存在, 不利于机体对其的清除, 造成慢性损伤, 使其成为促进疾病发展的重要原因^[9]。那么 Tregs 在肝纤维化发展中扮演怎么样的角色, 目前仍无定论。本研究针对此问题, 采用 Tregs 低表达的模型观察 Tregs 在小鼠肝纤维化发展中的作用。

1 材料和方法

1.1 材料 健康 δ C57BL/6J 小鼠, 20-25 g, 来自中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心, 按照实验动物福利委员会许可, 动物在室温条件下, 正常昼夜更替的光照, 24 h 食水供应。四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl₄)购自国药集团化学试剂有限公司; Protein G Agarose 购自碧云天公司; IV 型胶原酶、DNase I 均购自美国 Sigma 公司; TRIzol 购自 Invitrogen 公司, TakaRa PCR Kit(AMV)Ver. 3.0 和 TakaRa SYBR Premix EX TaqTM 试剂盒均购自大连宝生物工程有限公司; DMEM/F12 培养基购自 Hyclone 公司; 流式细胞分析和免疫荧光中所用抗体均购自 eBioscience 公司。

1.2 方法

1.2.1 CD25 单克隆抗体制备: PC61 细胞在含血清的 DMEM/F12 中悬浮培养, 定期收集上清液, 用 50% 饱和硫酸铵沉淀过夜, 3500 g 15 min 低温离心。之后用透析液溶解, 装入透析袋中透析过夜。之后 12000 r/min 5 min 离心, 滤膜过滤。根据 Protein G Agarose 说明书纯化抗体, 选取吸光度最高的抗体用流式细胞分析法进行浓度检测。

1.2.2 肝纤维化小鼠模型: CCl₄ 可诱导肝损伤, 是目前公认的、应用广泛的肝纤维化模型。其至肝纤维化的机理主要是直接溶解肝细胞膜, 经肝细胞细胞色素 P450 依赖性混合功能氧化酶的代谢, 生成活性的三氯甲基自由基和氯甲基自由基, 启动脂质过氧化作用, 导致肝细胞损伤。

■ 研发前沿

Tregs 是一类具有免疫抑制性的 T 淋巴细胞, 在肿瘤的免疫逃逸方面发挥重要作用, 研究较为深入。近些年, 其在慢性肝病中的作用也陆续被发现, 包括自身免疫性肝病、酒精性肝病、肝硬化等, 日益引起大家的重视。

■相关报道

本文发现人为降低小鼠体内的 $CD4^+CD25^+$ Tregs水平,可延缓由硅颗粒导致的肺纤维化过程;而且最新研究进一步表明降低 $CD4^+CD25^+$ Tregs对早期肺纤维化有明显抑制作用。

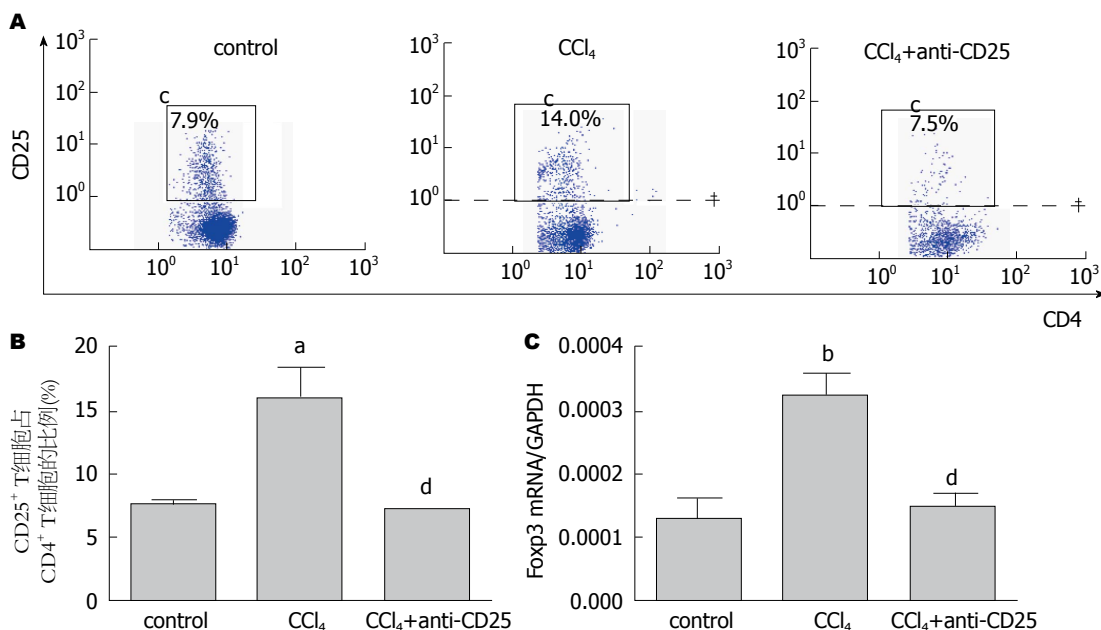


图1 Tregs在不同组小鼠肝脏的表达. A: 流式细胞分析显示不同组小鼠 $CD4^+CD25^+$ T细胞占 $CD4^+$ T细胞的比例; B: 流式细胞分析的统计结果. ^a $P < 0.05$ vs control; ^d $P < 0.01$ vs CCl₄; C: Real-time PCR结果显示小鼠肝内Foxp3的表达. ^b $P < 0.01$ vs control; ^d $P < 0.01$ vs CCl₄.

表1 实验中Real-time PCR所需小鼠引物序列

名称	序列
Foxp3	F: 5'-CCC AGG AAA GAC AGC AAC CTT-3' R: 5'-TTC TCA CAA CCA GGC CAC TTG-3'
Collagen- I	F: 5'-GAG CGG AGA GTA ATG GAT CG-3' R: 5'-TCT CCA AAT GGG ATC TCT GG-3'
Collagen- III	F: 5'-GCA CAG CAG TCC AAC GTA GA-3' R: 5'-GCT TCT TTT CCT TGG GGT TC-3'
GAPDH	F: 5'-AAC TTT GGC ATT GTG GAA GG-3' R: 5'-ACA CAT TGG GGG TAG GAA CA-3'

本实验给予小鼠腹腔注射30%CCl₄(溶于矿物油中), 0.1 mL/10 g, 2次/wk, 共6 wk.

1.2.3 Tregs低表达肝纤维化小鼠模型: CCl₄注射4 wk的肝纤维化小鼠给予CD25抗体腹腔注射, 0.5 mg/只, 1次/wk, 同时给予小剂量CCl₄(20 μ L/只)维持纤维化过程. 3 wk后用流式细胞分析检测Tregs的下降水平.

1.2.4 流式细胞仪检测: 用生理盐水将新鲜的小鼠肝脏经下腔静脉冲洗, 尽可能将肝脏内血液冲掉. 将肝组织研磨后, 用IV型胶原酶(终浓度0.5 mg/mL)和DNase I (终浓度50-100 U/mL)进行消化, 放入震荡孵箱孵育37 $^{\circ}$ C, 40 min. 将消化好细胞的进行离心并用PBS进行冲洗后, 用Ficoll分离液分离, 取网状白膜层细胞, 洗后计数细胞稀释至10⁶/mL以备进行流式检测. 依据试剂盒说明书

程序取约10⁵个细胞进行胞内Foxp3染色. 染色结束后上机检测(FC500, Beckman Coulter).

1.2.5 RNA提取及实时荧光定量PCR检测(Real-time PCR): 将适量肝组织加入1 mL TRIzol研磨至无可见颗粒物, 根据试剂说明书进行RNA提取. 经紫外分光光度仪检测, 保证总RNA的A_{260/280}在1.8-2.0之间. 按照TakaRa PCR Kit(AMV)Ver. 3.0和TakaRa SYBR Premix EX TaqTM试剂盒说明书进行反转录和Real-time PCR. 实验中所用引物序列如表1. 扩增程序如下: 95 $^{\circ}$ C变性10 min, 95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C退火1 min, 72 $^{\circ}$ C延伸30 s, 以上过程经历40个循环. 内参为GAPDH, 结果分析以2^(-Ct GAPDH-Ct gene)的方式统计, 使用软件为StepOne software 2.0(Applied Biosystems公司).

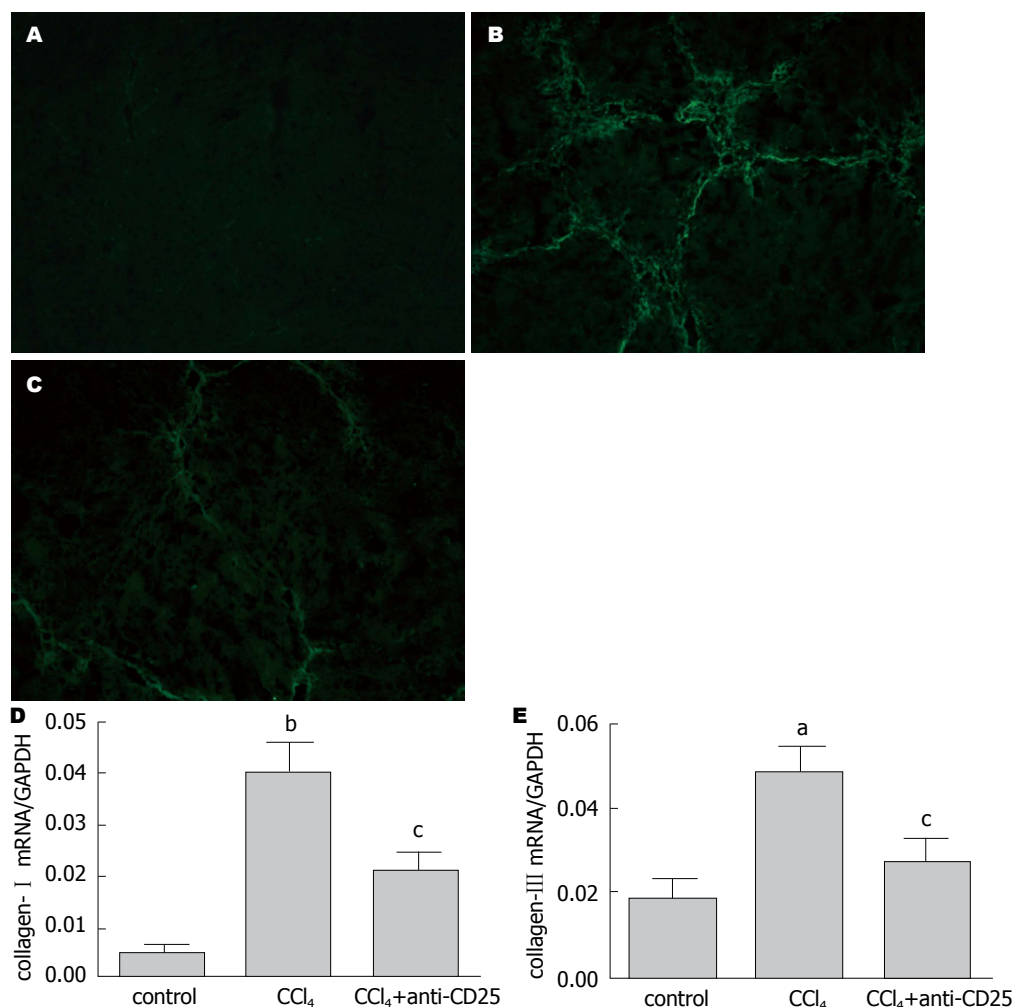


图2 不同组小鼠肝脏纤维化程度. A-C: α -SMA在小鼠肝内的表达(免疫荧光 $\times 100$). A: 对照组; B: 肝纤维化组; C: 肝纤维化+CD25抗体; D: Real-time PCR结果显示小鼠肝内I型胶原的表达. ^b $P < 0.01$ vs control; ^c $P < 0.05$ vs CCl₄; E: Real-time PCR结果显示小鼠肝内III型胶原的表达. ^a $P < 0.05$ vs control; ^c $P < 0.05$ vs CCl₄.

1.2.6 免疫荧光染色: 将新鲜分离的肝组织用组织包埋剂包埋, 冰冻切片机切片 $0.5 \mu\text{m}$ 厚, 风干过夜. 用冷的丙酮固定10 min, PBS冲洗2次(5 min/次), 10%山羊血清室温固定30 min. FITC直接标记的抗小鼠 α 平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)抗体(1:500) 4°C 孵育过夜. PBS冲洗3次(5 min/次)后封片, 置于荧光显微镜下观察.

统计学处理 所有数据用Graphpad Prism 4.0软件处理, 以mean \pm SD表示. 组间差异比较采用One-way ANOVA分析. $P < 0.05$ 视为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 肝纤维化小鼠及CD25抗体注射小鼠Tregs的表达 流式分析结果显示肝纤维化小鼠肝内CD4⁺CD25⁺Tregs表达明显高于正常小鼠, 当注射

了CD25抗体后, 小鼠肝内Tregs水平下降50%以上($n = 4$)(图1A), 表明CD25抗体封闭结果良好. 同时我们用Real-time PCR检测Foxp3的表达($n = 9$), 结果显示其变化与流式分析结果一致(图1B). **2.2 Tregs在肝纤维化发展中的作用** 为了研究Tregs在肝纤维化中的作用, 我们将Tregs进行了下调, 并与肝纤维化小鼠作比较. 免疫荧光结果显示在肝纤维化小鼠肝内 α -SMA主要分布于肝内纤维组织间, 明显高于对照组小鼠; 降低Tregs后, α -SMA表达减少(图2A-C), 表明纤维化程度减轻. 我们同时用Real-time PCR检测了I型胶原($n = 4$)和III型胶原($n = 4$), 发现两者在肝纤维化小鼠肝内表达增高, 降低Tregs后表达均显著下降(图2D, E), 差异具有统计学意义.

3 讨论

肝脏是一个免疫器官, 含有众多种类的免疫细

■创新盘点

本文针对已发生的肝纤维化, 之后给予降低Tregs水平干预, 反向研究Tregs在肝纤维化中的作用, 让人们对于肝纤维化的形成和发展有了新的认识.

■应用要点

本文通过降低肝纤维化小鼠体内Tregs水平,明确其在肝纤维化中的促进作用,为肝纤维化的治疗提供了一定的实验依据。

细胞。肝纤维化的发生及发展主要源于多次的免疫损伤及纤维修复所致。近年来Tregs日益引起人们的重视。作为一类重要的免疫抑制性调节细胞,Tregs在控制免疫平衡中扮演重要角色。已有大量研究表明Tregs与众多的肝脏疾病关系密切^[10]。本研究发现虽然Tregs不是引发肝纤维化的原始病因,但他对肝纤维化的维持起重要作用。

一项关于肺纤维化的研究给了我们很好的启示,人为降低小鼠体内的CD4⁺CD25⁺Tregs水平,可延缓由硅颗粒导致的肺纤维化过程^[11];而且最新研究进一步表明降低CD4⁺CD25⁺Tregs对早期肺纤维化有抑制作用^[12]。我们发现肝纤维化小鼠肝内I型、III型胶原和肝星状细胞活化标志 α -SMA高表达,提示肝纤维化已经形成,此时Tregs水平显著升高,这与临床肝硬化患者活检结果一致^[5]。下调Tregs后,不仅小鼠肝内I型、III型胶原降低, α -SMA也降低,提示肝纤维化程度减轻。因此,我们认为Tregs对肝纤维化发展有一定的促进作用。

众所周知,Tregs介导免疫耐受,其典型特征为免疫无能和免疫抑制。在对丙型肝炎的研究中发现Tregs对CD8⁺T细胞的增殖和功能都有抑制作用^[13]。Tregs还和Kupffer细胞共同诱导免疫耐受微环境,从而影响T细胞的功能^[14]。此外,Tregs抑制NK细胞的活性也被证实^[15]。这些免疫细胞都对感染细胞或肝星状细胞有直接清除能力,与肝纤维化关系密切。因此,Tregs可能通过影响这些有杀伤能力的免疫细胞从而使纤维组织不易被清除,实现其对肝纤维化发展的促进作用。具体机制有待于进一步研究。

4 参考文献

- Vignali DA, Collison LW, Workman CJ. How regulatory T cells work. *Nat Rev Immunol* 2008; 8: 523-532 [PMID: 18566595 DOI: 10.1038/nri2343]
- Fontenot JD, Rasmussen JP, Gavin MA, Rudensky AY. A function for interleukin 2 in Foxp3-expressing regulatory T cells. *Nat Immunol* 2005; 6: 1142-1151 [PMID: 16227984 DOI: 10.1038/ni1263]
- El-Badawy O, Sayed D, Badary MS, Abd-Alrahman ME, El-Feky MA, Thabit AG. Relations of regulatory T cells with hepatitis markers in chronic hepatitis B virus infection. *Hum Immunol* 2012; 73: 335-341 [PMID: 22342871 DOI: 10.1016/j.humimm.2012.01.014]
- Yoshizawa K, Abe H, Kubo Y, Kitahara T, Aizawa R, Matsuoka M, Aizawa Y. Expansion of CD4(+)CD25(+)FoxP3(+) regulatory T cells in hepatitis C virus-related chronic hepatitis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res* 2010;

40: 179-187 [PMID: 20070404 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2009.00587.x]

- Li WY, Jiang YF, Jin QL, Zhang H, Feng XW, Niu JQ. Immunologic characterization of posthepatitis cirrhosis caused by HBV and HCV infection. *J Biomed Biotechnol* 2010; 2010: 138237 [PMID: 20617133 DOI: 10.1155/2010/138237]
- Fu J, Xu D, Liu Z, Shi M, Zhao P, Fu B, Zhang Z, Yang H, Zhang H, Zhou C, Yao J, Jin L, Wang H, Yang Y, Fu YX, Wang FS. Increased regulatory T cells correlate with CD8 T-cell impairment and poor survival in hepatocellular carcinoma patients. *Gastroenterology* 2007; 132: 2328-2339 [PMID: 17570208 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.03.102]
- Yang XH, Yamagiwa S, Ichida T, Matsuda Y, Sugahara S, Watanabe H, Sato Y, Abo T, Horwitz DA, Aoyagi Y. Increase of CD4⁺CD25⁺ regulatory T-cells in the liver of patients with hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2006; 45: 254-262 [PMID: 16600416]
- Claassen MA, de Knecht RJ, Tilanus HW, Janssen HL, Boonstra A. Abundant numbers of regulatory T cells localize to the liver of chronic hepatitis C infected patients and limit the extent of fibrosis. *J Hepatol* 2010; 52: 315-321 [PMID: 20129690 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.12.013]
- Cabrera R, Tu Z, Xu Y, Firpi RJ, Rosen HR, Liu C, Nelson DR. An immunomodulatory role for CD4(+)CD25(+) regulatory T lymphocytes in hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2004; 40: 1062-1071 [PMID: 15486925]
- Liu F, Liu J, Weng D, Chen Y, Song L, He Q, Chen J. CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ regulatory T cells depletion may attenuate the development of silica-induced lung fibrosis in mice. *PLoS One* 2010; 5: e15404 [PMID: 21072213 DOI: 10.1371/journal.pone.0015404]
- Boveda-Ruiz D, D'Alessandro-Gabazza CN, Toda M, Takagi T, Naito M, Matsushima Y, Matsumoto T, Kobayashi T, Gil-Bernabe P, Chelakkot-Govindalayathil AL, Miyake Y, Yasukawa A, Morser J, Taguchi O, Gabazza EC. Differential role of regulatory T cells in early and late stages of pulmonary fibrosis. *Immunobiology* 2013; 218: 245-254 [PMID: 22739236 DOI: 10.1016/j.imbio.2012.05.020]
- Speletas M, Argentou N, Germanidis G, Vasiliadis T, Mantzoukis K, Patsiaoura K, Nikolaidis P, Karanikas V, Ritis K, Germanis AE. Foxp3 expression in liver correlates with the degree but not the cause of inflammation. *Mediators Inflamm* 2011; 2011: 827565 [PMID: 21772667 DOI: 10.1155/2011/827565]
- Sturm N, Thélou MA, Camous X, Dimitrov G, Ramzan M, Dufeu-Duchesne T, Bonorino P, Guillermet C, Brambilla E, Arvers P, Pernollet M, Leroy V, Zarski JP, Marche PN, Jouvin-Marche E. Characterization and role of intra-hepatic regulatory T cells in chronic hepatitis C pathogenesis. *J Hepatol* 2010; 53: 25-35 [PMID: 20452085 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.02.024]
- Breous E, Somanathan S, Vandenbergh L, Wilson JM. Hepatic regulatory T cells and Kupffer cells are crucial mediators of systemic T cell tolerance to antigens targeting murine liver. *Hepatology* 2009; 50: 612-621 [PMID: 19575456 DOI: 10.1002/hep.23043]
- Ghiringhelli F, Ménard C, Terme M, Flament C, Taieb J, Chaput N, Puig PE, Novault S, Escudier B, Vivier E, Lécésne A, Robert C, Blay JY, Bernard

J, Caillat-Zucman S, Freitas A, Tursz T, Wagner-Ballon O, Capron C, Vainchencker W, Martin F, Zitvogel L. CD4+CD25+ regulatory T cells inhibit nat-

ural killer cell functions in a transforming growth factor-beta-dependent manner. *J Exp Med* 2005; 202: 1075-1085 [PMID: 16230475]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



■同行评价

本研究说明Tregs对肝纤维化发展有一定的促进作用。实验设计合理, 资料详细, 结果可信, 有一定的参考价值。

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014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 $7.5\text{ cm}\times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴。(5) 致谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

体外可调式胆汁淤积性肝纤维化动物模型的建立

冯雪姣, 陈震, 秦鸣放

■背景资料

胆管梗阻、胆汁淤积是比较常见的病理环境, 较长时间的梗阻会使肝损害加重, 形成肝纤维化及胆汁性肝硬化, 而肝纤维化是一个极其复杂的动态过程, 具有可逆性。因此, 早期预防和阻断肝进行性纤维化是治疗的关键。

冯雪姣, 天津市南开医院内镜诊疗中心 天津市 300100
陈震, 秦鸣放, 天津市南开医院微创中心 天津市 300100
冯雪姣, 住院医师, 主要从事内镜诊疗的工作。

天津市中医药管理局基金资助项目, No. 11013

作者贡献分布: 此课题由陈震设计; 秦鸣放负责理论指导; 动物模型制作和相关实验数据检测分析由冯雪姣与陈震操作完成; 论文写作由冯雪姣完成。

通讯作者: 陈震, 主任医师, 300100, 天津市南开区三纬路122号, 天津市南开医院微创中心. chenchen75@gmail.com
电话: 022-27435219

收稿日期: 2014-03-18 修回日期: 2014-06-15

接受日期: 2014-06-19 在线出版日期: 2014-08-08

Establishment of an *in vitro* adjustable cholestatic liver fibrosis animal model

Xue-Jiao Feng, Zhen Chen, Ming-Fang Qin

Xue-Jiao Feng, Endoscopic Center, Tianjin Nankai Hospital, Tianjin 300100, China

Zhen Chen, Ming-Fang Qin, Minimally Invasive Center, Tianjin Nankai Hospital, Tianjin 300100, China

Supported by: the Program of TCM Administration for Tianjin, No. 11013

Correspondence to: Zhen Chen, Chief Physician, Minimally Invasive Center, Tianjin Nankai Hospital, 122 Sanwei Road, Nankai District, Tianjin 300100, China. chenchen75@gmail.com

Received: 2014-03-18 Revised: 2014-06-15

Accepted: 2014-06-19 Published online: 2014-08-08

Abstract

AIM: To establish and evaluate an adjustable cholestatic liver fibrosis animal model induced by bile duct ligation *in vitro*.

METHODS: Thirty male Wistar rats were randomly divided into three groups, namely, a sham operation group (A, $n = 5$), an *in vivo* bile duct ligation group (B, $n = 5$) and an *in vitro* adjustable bile duct ligation group (C, $n = 5$). Rats in each group were sacrificed 7 and 10 days after successful modelling, respectively. The gross morphology and morphological changes of the liver were observed.

RESULTS: The relative expression of α -smooth muscle actin (α -SMA) mRNA in groups B and C significantly increased compared with group A

on days 7 and 10 after modelling (group B: 5.95 ± 1.21 vs 8.55 ± 1.34 , 5.01 ± 0.27 vs 8.06 ± 0.21 , $P < 0.05$; group C: 6.62 ± 1.25 vs 8.55 ± 1.34 , 5.14 ± 0.90 vs 8.06 ± 0.21 , $P < 0.05$), although there were no significant differences between groups B and C (6.62 ± 1.25 vs 5.95 ± 1.21 , 5.14 ± 0.90 vs 5.01 ± 0.27 , $P > 0.05$). The expression of COL1 and α -SMA genes showed similar trends to α -SMA mRNA expression.

CONCLUSION: The animal model of cholestatic liver fibrosis induced by adjustable bile duct ligation *in vitro* is a stable and reliable model, with advantages of simplicity, short processing cycle, and easy for intervention.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Liver fibrosis; Animal model; Cholestasis; Bile duct ligation

Feng XJ, Chen Z, Qin MF. Establishment of an *in vitro* adjustable cholestatic liver fibrosis animal model. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(22): 3270-3273 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3270.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i22.3270>

摘要

目的: 通过体外胆总管结扎法建立胆汁淤积性肝纤维化动物模型, 观察其与传统体内胆总管结扎法的区别并对该动物模型进行探讨与评价。

方法: δ Wistar大鼠30只随机分为3组, 即A假手术对照组、B体内胆总管结扎组和C体外可调式胆总管结扎组。分别于造模成功后第7天和第10天处死大鼠, 每组每时相点保证大鼠5只, 留取标本, 观察大鼠肝脏的大体形态学以及病理形态学变化。

结果: B组第7天和第10天纤维化基因 α -平滑肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA) mRNA的相对表达量与A组各时相点相比均有升高(5.95 ± 1.21 vs 8.55 ± 1.34 , $5.01 \pm$

■同行评议者

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; 魏继福, 研究员, 江苏省人民医院

0.27 vs 8.06±0.21, $P<0.05$), C组在各时相点 α -SMA mRNA的相对表达量也有所升高(6.62±1.25 vs 8.55±1.34, 5.14±0.90 vs 8.06±0.21, $P<0.05$); 而C组 α -SMA mRNA的相对表达量和B组相比, 各时相点之间却不存在差异(6.62±1.25 vs 5.95±1.21, 5.14±0.90 vs 5.01±0.27, $P>0.05$). *COL1*基因和 α -SMA基因的表达变化趋势在各组中相似。

结论: 体外可调式胆汁淤积性肝纤维化动物模型造模方法简单, 形成周期短, 便于日后进行再通干预治疗, 是一种稳定、可靠的肝纤维化模型。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝纤维化; 动物模型; 胆汁淤积; 结扎胆管

核心提示: 体外可调式胆汁淤积性肝纤维化动物模型是研究肝纤维化发病机制和寻找理想抗肝纤维化治疗药物研究的较理想模型。

冯雪姣, 陈震, 秦鸣放. 体外可调式胆汁淤积性肝纤维化动物模型的建立. 世界华人消化杂志 2014; 22(22): 3270-3273
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3270.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3270>

0 引言

在肝胆外科临床中, 胆管梗阻、胆汁淤积是比较常见的病理环境, 早期及时有效的引流, 大部分患者可取得满意的效果; 但是在我国有相当部分患者由于对疾病的认识不够或者经济的原因, 造成梗阻时间延长, 肝损害加重, 甚至形成肝纤维化及胆汁性肝硬化, 这部分患者后期即使接受了成功的引流, 但黄疸消退缓慢, 肝功能恢复不良, 术后并发症发生率高, 平均住院天数延长, 治疗费用增加, 心理负担加重等等, 严重危害了患者的生活质量及生存率^[1]. 而肝纤维化是由多种致病因子所致的肝内结缔组织异常增生, 是各种慢性肝病最终发展成肝硬化的必经病理阶段, 具有可逆性^[2]. 因此, 早期预防和阻断肝进行性纤维化是治疗的关键. 本实验研究就是通过体外胆总管结扎法诱导胆汁淤积性肝纤维化动物模型, 为进一步研究肝纤维化发病机制和临床防治提供一种方法和手段。

1 材料和方法

1.1 材料 ♂ Wistar大鼠30只(中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所提供)。

11-13周龄, 体质量250-300 g. 标准条件下喂养, 并保持手术前至少1 wk的12 h白-黑周期的环境条件. 经检疫合格, 无疾病者入选。

1.2 方法

1.2.1 实验分组: 健康♂ Wistar大鼠30只, 采用随机数字表法分为3组: 即A组假手术对照、B组体内胆总管结扎和C组体外可调式胆总管结扎. 分别于造模成功后第7天和第10天处死大鼠, 每组每个时相点成功造模5只. 造模不成功的实验动物剔除补做。

1.2.2 胆汁淤积性肝纤维化动物模型的建立: 术前禁食15 h, 不禁水, 称量大鼠质量, 以10%水合氯醛0.3 mL/100 g腹腔内注射麻醉, 麻醉完全后, 将大鼠固定于手术台上, 取生理盐水湿润大鼠剑突下上腹部皮毛以利于备皮, 备皮范围3.5 cm×3 cm, 然后碘伏消毒, 铺自制洞巾, 于上腹正中切口2.5-3.0 cm入腹, 以胃幽门部为标志, 拇指轻轻翻转十二指肠, 暴露胆总管后, 在肝右叶下缘与胆总管交点处分离胆总管上端, 然后由上向下游离到胆总管胰腺段以上. A: 假手术对照组: 只剖腹游离胆总管, 不做胆总管结扎. B: 体内胆总管结扎组: 以4-0丝线双结扎胆总管中上1/3处. C: 体外可调式胆总管结扎组: 应用眼科剪在游离的胆总管上下两处分别造口(不横断), 置入直径约1 mm长约25 cm硅胶管的两端, 以4-0丝线双固定此硅胶管于胆总管上下两端, 硅胶管的中段以4-0丝线缠绕固定, 以腹腔穿刺套管针沿大鼠腹部切口操作, 自皮下经过大鼠右侧颈背部建立皮下隧道, 经皮下顺着硅胶管中段丝线自大鼠颈后皮腹引出硅胶管, 固定硅胶管, 自颈部暴露出的硅胶管观察胆汁引流通畅后, 结扎体外硅胶管至完全梗阻. 各组大鼠术后均腹腔内滴入0.2 mL左氧氟沙星注射液, 关闭腹膜及皮肤层. 术后当天禁食水, 术后第2天给予普通饲料喂养, 自由摄取食物和水。

1.2.3 观察指标: (1)大体形态学观察: 解剖大鼠取材后用肉眼直接观察其肝脏形态及颜色变化; (2)HE染色观察肝脏组织病理学变化: 常规脱水、透明、石蜡包埋, 5 μ m厚度连续切片, 苏木精-伊红染色(HE), 在光学显微镜下观察肝组织病理形态学改变, IDA-2000高清晰度数码显微图像分析系统采集图像; (3)RT-PCR检测肝组织中 α -平滑肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)和COL1: 采用RT-PCR方法检测各组肝组织中 α -SMA、I型胶原蛋白(COL1)表达的动态变化。

■研究前沿

肝纤维化动物模型的造模方法很多, 但是每种方法都有各自的优缺点, 因此, 理想的造模方法一直是人们探讨的方向。

■创新盘点

体内胆总管结扎法虽然操作方法简单,纤维化形成周期短,稳定性好,但是在进行胆汁内引流时需要再次手术,不仅增加了手术难度,而且使动物耐受性降低,死亡率增加。而体外胆总管结扎法则避开了上述的局限性,具有优越性。

数据分析采用目的基因相对表达量 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法。

统计学处理 采用SPSS16.0统计软件进行统计分析。多组比较采用多因素方差分析,两两比较采用 t 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大体形态学 A组:标本在相应时相点各肝叶均色泽红润,表面光滑。B组:第7天可见肝脏逐渐黄染并肿胀,部分质地变硬,肝脏淤血、水肿,40 g/L甲醛浸泡肝叶标本后,可见表面粗糙,颜色灰白等肝组织早期纤维化的表现,并且随着梗阻时间的延长肝纤维化逐渐加重。C组:与B组的形态学变化相似。

2.2 HE染色 A组:未见炎性细胞浸润、亦未见肝细胞变性、坏死等。B组:第7天可见炎性细胞浸润,肝细胞肿胀,少数出现变性坏死,重者见片状出血和坏死,肝组织汇管区可见胆管增生和纤维细胞增生性改变,第10天肝小叶结构受到破坏,肝细胞变性坏死,纤维化程度逐渐加重。C组:与B组的病理变化相似。

2.3 RT-PCR检测肝组织中 α -SMA和COL1 如表1所示,第7天B组 α -SMA mRNA的相对表达量和A组相比升高了6.13倍($P<0.05$),C组 α -SMA mRNA的相对表达量比A组升高了6.72倍($P<0.05$),而B组和C组相比,差异没有统计学意义($P>0.05$);B组第10天与A组相比 α -SMA mRNA的相对表达量明显增高到12.73倍($P<0.05$),C组 α -SMA mRNA表达升高了13.38倍,而B组和C组相比,差异也没有统计学意义($P>0.05$)。由表2可见第7天B组COL1 mRNA表达比A组升高了9.03倍($P<0.05$),第10天升高至9.87倍($P<0.05$),C组COL1 mRNA表达在第7天比A组升高了9.94倍($P<0.05$),第10天时进一步升高至10.71倍($P<0.05$),B组和C组各时相点相比,差异没有统计学意义($P>0.05$);可见, α -SMA和COL1基因表达随着胆管梗阻时间的延长表达量也逐渐升高;并且我们研究发现 α -SMA和COL1基因表达变化趋势在每组中具有一致性。

3 讨论

在胆胰肿瘤、胆管结石等外科胆道梗阻中,胆汁淤积是比较常见的病理因素。而这种病理因素若长期反复作用于肝脏,可产生肝细胞的变性坏死,继而肝细胞再生和纤维组织增生,导致肝纤维化,甚者引起肝硬化,成为世界上公认的复杂而棘手的问题。因此,早期及时有效的认识

表 1 第7与10天各组大鼠 α -SMA相对表达量($n=5$, mean \pm SD)

分组	第7天		第10天	
	ΔCt	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	ΔCt	$2^{-\Delta\Delta Ct}$
A组	8.55 \pm 1.34	1.00	8.06 \pm 0.21	1.00
B组	5.95 \pm 1.21	6.13 ^a	5.01 \pm 0.27	12.73 ^a
C组	6.62 \pm 1.25	6.72 ^{ac}	5.14 \pm 0.90	13.38 ^{ac}

^a $P<0.05$ vs A组; ^c $P<0.05$ vs B组。

表 2 第7与10天各组大鼠COL1相对表达量($n=5$, mean \pm SD)

分组	第7天		第10天	
	ΔCt	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	ΔCt	$2^{-\Delta\Delta Ct}$
A组	4.21 \pm 0.46	1.00	6.35 \pm 2.74	1.00
B组	3.04 \pm 0.87	9.03 ^a	4.33 \pm 0.86	9.87 ^a
C组	2.31 \pm 1.80	9.94 ^{ac}	4.74 \pm 0.94	10.71 ^{ac}

^a $P<0.05$ vs A组; ^c $P<0.05$ vs B组。

这种疾病是治疗的关键。肝纤维化是各种慢性肝病最终发展成肝硬化的必经病理阶段,具有可逆性。因此探讨和研究肝纤维化发生机制和治疗措施具有极其重要的临床意义。

胆汁淤积性肝纤维化动物模型的建立是研究肝纤维化发生机制以及药物对该病干预效果的基础。在实验动物的选择上,综合文献我们发现研究者造模使用的动物品种很多,有大型动物如兔、狗、猪等,小型动物有大鼠和小鼠^[3-11]。而在本研究中我们参照国外文献常用的动物品种,选择应用最广泛,数量最多的 δ Wistar大鼠,其性格温顺,进食量少,生长发育快(10周龄时雄鼠体重质量可达280-300 g),抗病力强,头部也较宽。文献中记载造模方法也有好多,但每种造模方法都有自己的优点和缺点。理想的肝纤维化动物模型应该与人类肝纤维化相似,病变发展具有动态性,纤维化过程稳定,并且造模方法简单,重复性好,形成率高,死亡率低等^[12,13]。在本研究中我们主要采用单纯胆总管结扎法(体内/体外)。传统的体内胆总管结扎法虽然操作方法简单,形成肝纤维化周期短,稳定性好,但是应用比较局限,在进行胆汁内引流时往往需要再次进行手术,不仅增加了手术的难度,而且使动物的耐受性降低,增加了动物的死亡率。而体外胆总管结扎法则避开了上述的局限性,并且拥有和传统体内胆总管结扎法相同的病理过程,具有优越性。

体外胆总管结扎法在进行手术操作时, 我们认为有几点需要注意的, 首先, 分离胆管时要谨慎, 避免损伤胆管周围的血管, 影响模型的成功率, 并能防止损伤过大。然后, 胆管的两处造口位置的选择也很重要, 近端如果太靠近肝门, 结扎困难, 增加操作难度; 远端太靠近十二指肠, 容易损伤胆管周围的胰腺组织, 出现胰腺炎、出血等并发症。我们在实验中造口近端选择在肝右叶下缘与胆总管交点处以下, 造口远端选择在胆管胰腺段以上。最后, 选择4-0丝线双固定硅胶管时, 力度要适中, 避免过紧导致胆道部分或者完全梗阻, 过松引起硅胶管脱落, 造模失败。

另外, 胆管梗阻时间与纤维化之间的关系, 国外文献指出, 胆管梗阻7-15 d可出现早期肝纤维化。秦冬梅等^[14]采用胆总管结扎建立肝纤维化模型, 通过病理组织学发现在第5天, 模型组大鼠全部都处于肝纤维化I和II期阶段; 在第10天, 模型组大鼠大部分已经处于肝纤维化III期阶段; 在第14天, 模型组大鼠大部分处于肝纤维化III期阶段, 一部分处于IV期阶段已形成肝硬化。一些研究认为肝纤维化发生在BDL术后第7天, 以后随着胆管梗阻时间的延长进一步发展。我们在实验前期的研究中^[15,16]也已经发现肝纤维化发展过程中, 第7天之后为持续的肝脏纤维化进程。并且在本研究中, 胆总管结扎第7天和第10天均出现了较显著的纤维增生样改变, 表明使用胆总管结扎法(体内/体外)诱导的肝纤维化动物模型复制成功。

总之, 本研究所建立的体外可调试胆汁淤积性肝纤维化动物模型造模方法简单, 形成周期短, 形成的肝纤维化稳定可靠, 并且便于日后进行再通干预治疗, 因此是研究肝纤维化发病机制和寻找理想抗肝纤维化治疗药物研究的较理想模型。

4 参考文献

- 1 陈应果, 别平, 祝建勇. rhGH上调Mrp2表达及促胆红素转运的作用. 中华肝胆外科杂志 2006; 12: 260-263
- 2 Benyon RC, Arthur MJ. Extracellular matrix degradation and the role of hepatic stellate cells. *Semin Liver Dis* 2001; 21: 373-384 [PMID: 11586466]
- 3 Masuda Y. [Learning toxicology from carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity]. *Yakugaku Zasshi* 2006; 126: 885-899 [PMID: 17016019]
- 4 陈钟, 戴向华, 明志祥, 朱李璐. 改良四氯化碳皮下注射法制备犬肝硬化门静脉高压症模型. 中国普通外科杂志 2009; 18: 63-67
- 5 郭若涵, 白彬. 大型动物实验性肝纤维化及肝硬化模型的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 421-426
- 6 曹罡, 黎一鸣. 门脉置管四氯化碳注射法制备狗肝硬化模型. 中华肝胆外科杂志 2001; 7: 53-54
- 7 陆家海, 卢开柏, 杜立智, 杜宝昆, 曹建书, 员逢全, 杨建民, 张都民, 李新力. 犬肝硬化模型的建立. 中国兽医学报 1994; 14: 291-293
- 8 牛丽文, 杨镇, 郭剑利, 张爱龙, 李崇健, 肖亮, 王超. 瘦素蛋白在小鼠日本血吸虫病肝纤维化组织中的表达及意义. 江西医学院学报 2007; 47: 12-15
- 9 张俊晶, 孟兴凯, 岳根全, 钟海燕, 张瑞芳. 腹腔注射四氯化碳辅以饮食调控制猪肝硬化模型. 中国中西医结合消化杂志 2007; 15: 231-233
- 10 黄迪, 古维立, 胡志文, 张帅, 王成兴. 大鼠肝纤维化模型建立及肝纤维化的检测. 广州医药 2012; 43: 56-60
- 11 肖颜玉, 胥飏, 崔鲂, 张莉萍. 小鼠胆总管结扎致肝纤维化模型的建立与评价. 重庆医科大学学报 2008; 33: 390-393
- 12 Geng J, Peng W, Huang Y, Fan H, Li S. Ginsenoside-Rg1 from *Panax notoginseng* prevents hepatic fibrosis induced by thioacetamide in rats. *Eur J Pharmacol* 2010; 634: 162-169 [PMID: 20184879]
- 13 Liu H, Wei W, Sun WY, Li X. Protective effects of astragaloside IV on porcine-serum-induced hepatic fibrosis in rats and in vitro effects on hepatic stellate cells. *J Ethnopharmacol* 2009; 122: 502-508 [PMID: 19429320]
- 14 秦冬梅, 赵文惠, 胡利萍, 陈文. 胆总管结扎术造大鼠肝纤维化模型的研究. 时珍国医国药 2012; 23: 803-805
- 15 张辰. 肝脏卵圆细胞与相关细胞因子在大鼠胆管梗阻模型中的变化. 天津: 天津医科大学, 2011
- 16 元海成, 秦鸣放, 邹富胜, 李东华. 急性胆道梗阻肝脏损伤的实验研究. 中国普通外科杂志 2012; 21: 178-182

■同行评价

本文设计合理, 数据分析及统计学方法得当, 是研究肝纤维化发病机制和寻找理想抗肝纤维化治疗药物研究较理想的模型。

编辑 田滢 电编 闫晋利



CCL21-CCR7诱导血管生成拟态形成在肝门部胆管癌微转移中的作用及机制

成雨, 欧琨, 朱文涛, 管清海, 林绪涛, 曹学峰, 陈雨信

■背景资料

肝门部胆管癌术后复发率高, 且主要沿胆管壁血管、神经、淋巴结局部转移很少远处转移, 前期研究发现肝门部胆管癌高表达CCR7且CCL21-CCR7可诱导肿瘤转移, 因此, 此研究CCL21-CCR7诱导肝门部胆管癌转移具有重要意义。

成雨, 欧琨, 朱文涛, 管清海, 林绪涛, 曹学峰, 滨州医学院附属医院肝胆外科 山东省滨州市 256603

陈雨信, 山东大学齐鲁医院肝胆外科 山东省济南市 250012
成雨, 副教授, 副主任医师, 主要从事肝门部胆管癌的基础与临床研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81172044

山东省自然科学基金资助项目, No. ZR2011HM016

作者贡献分布: 此课题由成雨设计实施; 陈雨信指导; 实验操作由欧琨、朱文涛、管清海及林绪涛实施; 统计学分析由曹学峰完成; 论文由成雨完成。

通讯作者: 成雨, 副教授, 副主任医师, 256603, 山东省滨州市黄河二路661号, 滨州医学院附属医院肝胆外科. chyxchch@126.com
电话: 0543-3258597

收稿日期: 2014-04-15 修回日期: 2014-06-10

接受日期: 2014-06-19 在线出版日期: 2014-08-08

Role and mechanism of vasculogenic mimicry induced by CCL21-CCR7 in micrometastasis of hilar cholangiocarcinoma

Yu Cheng, Kun Ou, Wen-Tao Zhu, Qing-Hai Guan, Xu-Tao Lin, Xue-Feng Cao, Yu-Xin Chen

Yu Cheng, Kun Ou, Wen-Tao Zhu, Qing-Hai Guan, Xu-Tao Lin, Xue-Feng Cao, Department of Hepatobiliary Surgery, Binzhou Medical College Affiliated Hospital, Binzhou 256603, Shandong Province, China

Yu-Xin Chen, Department of Hepatobiliary Surgery, Shandong University Qilu Hospital, Ji'nan 250012, Shandong Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81172044; Shandong Natural Science Foundation of China, No. ZR2011HM016

Correspondence to: Yu Cheng, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Binzhou Medical College Affiliated Hospital, 661 Huanghe Er Road, Binzhou 256603, Shandong Province, China. chyxchch@126.com

Received: 2014-04-15 Revised: 2014-06-10

Accepted: 2014-06-19 Published online: 2014-08-08

Abstract

AIM: To explore whether chemokine receptor CCR7 promotes QBC939 cell proliferation, migration and invasion by inducing vasculogenic mimicry formation as well as the underlying mechanisms.

METHODS: Vasculogenic mimicry in QBC939

cells was tested by three-dimensional cell culture. Cell migration capabilities of groups of cells were detected by scratch test and Transwell chamber assay. Boyden chamber assay was used to detect the impact of CCL21-CCR7 on the invasive ability of QBC939 cells *in vitro*. MTT assay was used to detect the effect of CCL21-CCR7 on proliferation of QBC939 cells. The expression of CCR7 and the related six genes (*Twist1*, *GAPDH*, *IL-8*, *VEGF*, *PDEF*, *PDCD4*) in three groups of cells was detected by real-time PCR. All data were analyzed by analysis of variance and LSD-*t* test.

RESULTS: Compared with control cells, VM formation ability and cell proliferation were strengthened significantly in cells overexpressing CCR7 ($t = 3.104$, $P < 0.05$) and reduced in CCR7 silenced cells ($t = 2.971$, $P < 0.05$). Compared with control cells, cell migration capabilities were significantly increased in cells overexpressing CCR7 (Transwell: $t = 2.652$; Boyden: $t = 2.967$, $P < 0.05$) and reduced in CCR7-silenced cells (Transwell: $t = 2.691$; Boyden: $t = 2.330$, $P < 0.05$). Addition of CCL21 in control cells and cells overexpressing CCR7 significantly increased cell migration capabilities. Real-time PCR showed that the expression patterns of *Twist1* in three groups of cells were consistent with those of CCR7.

CONCLUSION: Differential expression of CCL21-CCR7 has an effect on the formation of vasculogenic mimicry and can change bile duct cancer cell proliferation, migration and invasion, possibly through epithelial-mesenchymal transformation mediated by *Twist1*.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: CCR7; Vasculogenic mimicry; Hilar cholangiocarcinoma; Micrometastasis; *Twist1*

Cheng Y, Ou K, Zhu WT, Guan QH, Lin XT, Cao XF, Chen YX. Role and mechanism of vasculogenic mimicry induced by CCL21-CCR7 in micrometastasis of hilar cholangiocarcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi*

■同行评议者

薛东波, 教授, 哈尔滨医科大学附属第一医院; 康春博, 副主任医师, 北京大学航天临床医院普通外科

2014; 22(22): 3274-3280 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3274.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i22.3274>

摘要

目的: 探讨趋化因子受体CCR7诱导血管生成拟态形成促进了QBC939细胞的增殖、迁移和侵袭以及CCR7作用的信号途径。

方法: 应用三维细胞培养检测各组QBC939细胞中血管生成拟态形成; 细胞划痕实验、Transwell小室和Boyden小室检测CCL21-CCR7对QBC939细胞体外迁移、侵袭能力的影响; 应用MTT法检测CCL21-CCR7对QBC939细胞增殖能力的影响。Real-time PCR检测三组细胞株中CCR7及相关6个基因*Twist1/GAPDH/IL-8/VEGF/PDEF/PDCD4*的表达。方差分析后组间比较采用LSD-*t*检验。

结果: 与对照组相比, CCR7过表达组形成VM能力和细胞增殖明显增强($t = 3.104, P < 0.05$), 而在CCR7沉默表达组形成VM和细胞增殖能力减弱($t = 2.971, P < 0.05$), 3组不同CCR7表达组加入CCL21形成VM和细胞增殖能力没有变化。划痕实验、Transwell小室和Boyden小室测定细胞的运动、迁移和侵袭能力得到的结果一致, 与对照组相比, CCR7过表达组爬行能力、穿膜细胞数量明显增加(Transwell: $t = 2.652$; Boyden: $t = 2.967, P < 0.05$), 而CCR7沉默组爬行能力、穿膜细胞数量明显减少(Transwell: $t = 2.691$; Boyden: $t = 2.330, P < 0.05$); 在对照组和CCR7过表达组加入CCL21后爬行能力、穿膜细胞数量明显增加。qPCR检测发现, *Twist1*基因在3组细胞中的变化趋势同CCR7的变化一致。

结论: CCL21-CCR7生物学轴的不同表达影响了血管生成拟态的形成, 从而使胆管癌细胞的增殖能力、迁移和侵袭能力改变; CCR7影响VM形成、细胞增殖、迁移和侵袭的信号途径可能是通过*Twist1*的上皮-间质转化来实现的。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: CCR7; 血管生成拟态; 肝门部胆管癌; 微转移; *Twist1*

核心提示: 肝门部胆管癌术后肝门区和肝脏的转移率及复发率很高, 血管生成拟态是肝门部胆管癌发生微转移的重要途径, CCL21-CCR7是一种重要的引诱物、在肿瘤淋巴归巢、血管生成及神经浸润方面有一定的作用, 本研究观察

CCR7的不同表达对胆管癌的和血管生成拟态形成、增殖、迁移和侵袭的影响, 并探讨CCR7诱导血管生成拟态形成的分子信号途径。为肝门部胆管癌临床治疗提供一定的基础。

成雨, 欧琨, 朱文涛, 管清海, 林绪涛, 曹学峰, 陈雨信. CCL21-CCR7诱导血管生成拟态形成在肝门部胆管癌微转移中的作用及机制. 世界华人消化杂志 2014; 22(22): 3274-3280 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3274.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i22.3274>

0 引言

肝门部胆管癌行根治性切除后肝门区和肝脏的转移率及复发率很高^[1]。肿瘤转移的发生不是随机的, 而是有转移途径的倾向性。血管生成拟态是肝门部胆管癌发生微转移的重要途径。血管生成拟态是指没有血管内皮细胞的参与, 肿瘤细胞形成输送血液的管道系统^[2]。肿瘤的转移和复发是由趋化因子、黏附因子等诸多因素共同调节的结果^[3], 而CCL21-CCR7是一种重要的引诱物, 配体CCL21属于CC类趋化因子; CCR7是1998年由Yashida等^[4]在EB病毒感染的B细胞中发现的, 是CCL21的高亲和力受体。CCL21-CCR7生物学轴在肿瘤淋巴归巢、血管生成及神经浸润方面有一定的作用, 并且可以调控其他趋化因子的分泌^[5]。本实验应用带有CCR7高表达、沉默表达和正常表达的QBC939细胞进行实验, 观察CCR7的不同表达对胆管癌的和血管生成拟态形成、增殖、迁移和侵袭的影响, 并初步探讨CCR7诱导血管生成拟态形成的分子信号途径。

1 材料和方法

1.1 材料 Transwell迁移小室和Boyden侵袭小室均购自美国BD公司; MTT检测试剂盒购自美国Promega公司; SYBR Green Master Mix购自美国Kapa公司。CCR7引物由中国宝生物工程有限公司合成; *Twist1*、*GAPDH*、白介素-8(interleukin-8, IL-8)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、*PDEF*、*PDCD4*引物由美国Invitrogen公司合成; 人胆管癌细胞株QBC939由中国人民解放军第三军医大学西南医院肝胆外科研究所王曙光教授惠赠, DMEM完全培养基培养细胞。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及实验分组: 构建CCR7高表达和沉默表达质粒后转染QBC939细胞, 筛选各组表达不同质粒的QBC939细胞分成3组细胞: (1)空

■ 研发前沿

目前研究发现CCL21-CCR7与胃癌、结肠癌淋巴转移密切相关, 在肝癌、肺癌、头颈部鳞状细胞癌及食管癌中也证实CCL21-CCR7与肿瘤复发和淋巴结转移有关, 但在肝门部胆管癌中作用及其作用途径和机制如何, 需要进一步研究。

■相关报道

Zlotnik研究肿瘤细胞高表达CXCR4和CCR7, 转移的靶器官可以释放相应配体促进其定向转移. 而在其初始阶段, 血管生成拟态提供肿瘤转移所需要的营养及血液供应, 其具体机制尚未报道.

白对照组: pEGFP组; (2)CCR7过表达组: CCR7-pEGFP组; (3)CCR7沉默组: CCR7-shRNA-pEGFP组; (4)空白对照+CCL21组; (5)CCR7过表达+CCL21组; (6)CCR7沉默+CCL21组.

1.2.2 三维细胞培养检测细胞中血管生成拟态: 将6组细胞(每孔 3.2×10^4 个细胞)种植于加入Matrigel的24孔板中, 每组细胞设立3个复孔, 37 °C培养12 h后置于倒置显微镜观察QBC939细胞管状结构排列情况和完整程度, 并在200倍视野下随机选取上、下、左、右、中心5个视野摄像记录并计数管状结构数量.

1.2.3 细胞划痕实验: 将6组QBC939细胞以 3.2×10^4 接种于24孔培养板中, 待细胞密度>80%时, 用10 μ L枪头在每孔单层细胞上划“十”字划痕, 造成培养细胞伤口模型, 划痕后PBS清洗2次. 用无血清培养基继续培养, 倒置显微镜定时观察伤口愈合程度.

1.2.4 细胞体外迁移试验: 将Transwell小室置24孔板中, 分别取对数生长期的pEGFP组细胞、CCR7-pEGFP组细胞和CCR7-shRNA-pEGFP组细胞, 0.25%胰酶消化, 离心弃上清后, 用不含血清的DMEM培养基把3组细胞分别制成 3.0×10^5 /mL细胞悬液, 后分别加入放置了Transwell上室的24孔板中, 每孔0.2 mL(每孔 0.6×10^5 个细胞). 在下室内加入含或不含100 mg/L CCL21培养基, 如上分为6组, 每组细胞设立3个复孔, 继续培养24 h, 取出Transwell小室, 用棉签蘸无血清的DMEM培养基拭残留细胞. 应用Diff-Quik染色试剂盒固定、染色. 普通光学显微镜下观察, 每个滤膜随机选取5个200倍视野, 计数穿透至滤膜下室面的细胞数, 取3个复孔的平均值.

1.2.5 细胞体外侵袭能力试验: 试验方法同上, 不同之处在于Boyden侵袭小室在Transwell小室滤膜上铺一层Matrigel胶.

1.2.6 细胞增殖能力试验: 分别取对数生长期(70%-80%融合状态)的pEGFP组细胞、CCR7-pEGFP组细胞和CCR7-shRNA-pEGFP组细胞, 0.25%胰酶消化, 制成细胞悬液, 接种于96孔细胞培养板中, 每孔200 μ L含8000个细胞, 将上述3组细胞分别加入200 μ L培养液和含100 mg/L CCL21的200 μ L培养液, 将细胞分成6组, 每组细胞设3个复孔. 培养24 h后, 每孔加15 μ L MTT溶液(5 mg/mL, pH 7.4), 孵育4 h, 加入150 μ L反应终止液后, 在酶联免疫监测仪上选择570 nm波长测定各孔吸光度(A)值.

1.2.7 Real-time PCR检测3组细胞中CCR7及相

关基因的表达: TRIzol裂解各组细胞并按照试剂说明书的操作提取总RNA, 后按说明书逆转录合成cDNA. 各引物Twist1、GAPDH、IL-8、VEGF、PDEF、PDCD4由美国Invitrogen公司合成. PCR反应体系为20 μ L, 扩增条件: 95 °C预变性30 s, 95 °C变性5 s, 55 °C退火5 s, 72 °C退火延伸30 s, 扩增40个循环, 建立溶解曲线. 设立2个复孔, 反应在PRISM[®]StepOne[™] PCR仪上进行, 方法采用SYBR Green法, 以基因Ct值与 β -actin Ct值之比值, 即为待测基因mRNA的相对表达量, 以 β -actin作为内参照.

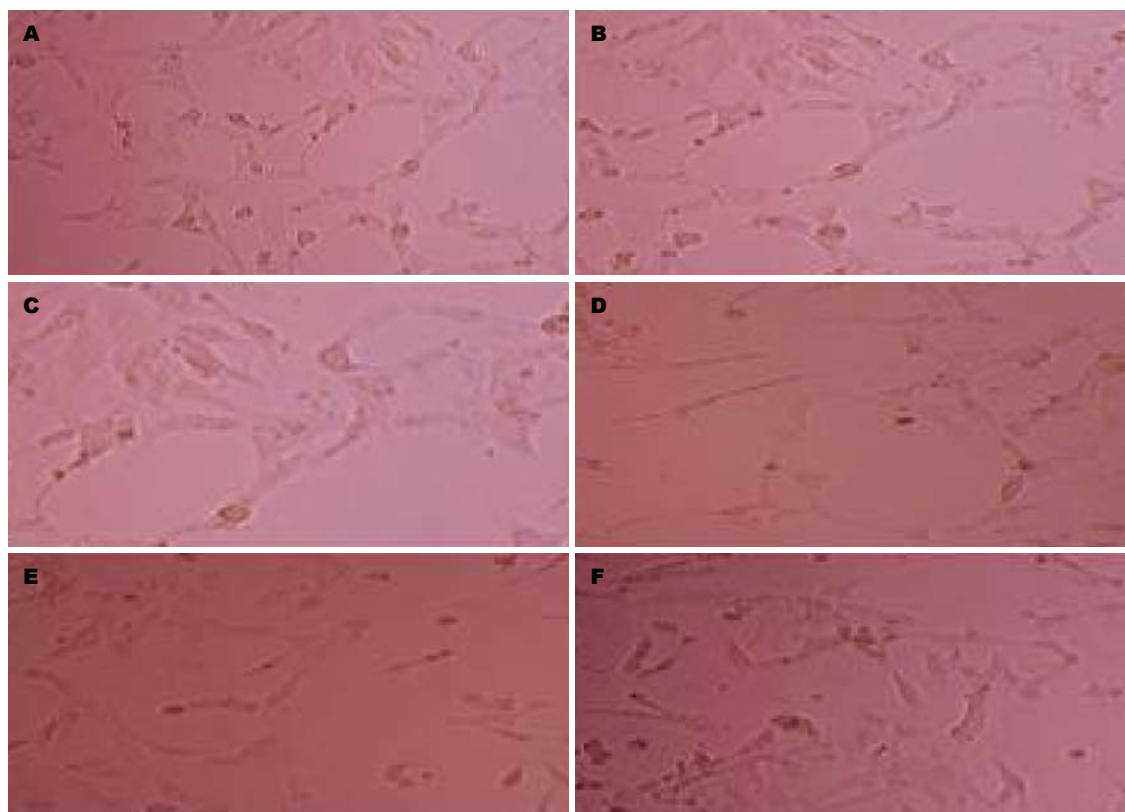
统计学处理 所有数据均以mean \pm SD表示, 采用SPSS16.0统计软件进行处理, 方差分析后组间比较采用LSD-*t*检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 CCL21-CCR7轴对QBC939细胞血管生成拟态的影响 在QBC939细胞对照组中, 肿瘤细胞相互接触形成环状结构、多个环状结构相互连接成网状结构, 表明了血管生成拟态的形成. 与对照组相比, CCR7过表达组形成环状结构数目明显增加($t = 3.104$, $P < 0.05$), CCR7沉默组网状结构稀疏, 形成环状结构数目较对照组明显减少($t = 2.971$, $P < 0.05$); 3个CCR7不同表达组加入CCL21后与对应组相比形成环状结构数目没有明显变化($t < 2.228$, $P > 0.05$)(表1, 图1).

2.2 CCL21-CCR7轴对QBC939细胞运动能力的影响 在QBC939细胞对照组中, 划痕边缘细胞缓慢向中央伸展、爬行, 缺损处修复缓慢; 加入CCL21后, 细胞向划痕处爬行的速度明显加快, 细胞铺展迅速, 越过划痕边缘细胞明显增多. CCR7过表达组与对照组比较, 细胞爬行速度明显增快, 越过边缘细胞明显增多; CCR7过表达组加入CCL21后, 细胞移行速度更快, 培养24 h划痕基本愈合. 在CCR7沉默组与对照组比较, 细胞爬行速度变慢, 培育24 h后划痕依旧明显; CCR7沉默组加入CCL21后, 与对应组相比细胞对划痕修复的未出现明显改善(图2).

2.3 CCL21-CCR7轴对QBC939细胞迁移、侵袭能力的影响 应用Transwell小室和Boyden小室测定各组QBC939细胞的迁移和侵袭能力得到的结果大致一致. 在200倍视野下, 光镜观察各组细胞穿透情况, 计算穿膜细胞平均数(表1). 与对照组相比, CCR7过表达组穿膜细胞数量明显增加(Transwell: $t = 2.652$; Boyden: $t = 2.967$,



■创新盘点
CCL21-CCR7对多种肿瘤转移复发有关, 尤其是淋巴结转移, 但其诱导血管生成拟态在肝门部胆管癌中的作用是创新之处, 诱导转移的途径和机制是另一创新点。

图 1 CCL21-CCR7对血管生成拟态的影响(细胞三维培养 $\times 200$)。A: CCR7过表达组; B: CCR7过表达+CCL21组; C: 空白对照组; D: 空白对照+CCL21组; E: CCR7沉默组; F: CCR7沉默+CCL21组。

表 1 CCL21-CCR7对QBC939细胞的血管生成拟态、迁移、侵袭、增殖能力的影响 (mean \pm SD, \uparrow)

分组	环状结构数目	Transwell穿膜细胞数	Boyden穿膜细胞数	MTT(570 nm波长)
A: 空白对照组	19 \pm 6	42 \pm 6	30 \pm 1	0.510 \pm 0.108
B: CCR7过表达组	36 \pm 2	71 \pm 2	63 \pm 5	0.876 \pm 0.132
C: CCR7沉默组	2 \pm 2	29 \pm 3	21 \pm 4	0.210 \pm 0.241
D: 空白对照+CCL21组	17 \pm 3	63 \pm 3	49 \pm 6	0.549 \pm 0.212
E: CCR7过表达+CCL21组	39 \pm 2	98 \pm 5	82 \pm 2	0.887 \pm 0.201
F: CCR7沉默+CCL21组	3 \pm 1	31 \pm 5	25 \pm 2	0.198 \pm 0.101
统计值	B-A: $t = 3.104$ C-A: $t = 2.971$	B-A: $t = 2.652$ C-A: $t = 2.691$ D-A/E-B: $t > 2.131$	B-A: $t = 2.967$ C-A: $t = 2.130$ D-A/E-B: $t > 2.131$	B-A: $t = 3.187$ C-A: $t = 2.829$
<i>P</i> 值	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

$P < 0.05$), 而CCR7沉默组穿膜细胞数量明显减少 (Transwell: $t = 2.691$; Boyden: $t = 2.330$, $P < 0.05$); 在对照组和CCR7过表达组加入CCL21后与对应组相比穿膜细胞数量明显增加(所有组 $t > 1.31$, $P < 0.05$); 在CCR7沉默表达组加入CCL21后, 穿膜细胞数量没有明显变化(Transwell: $t = 0.843$; Boyden: $t = 0.768$, $P > 0.05$)(表1)。

2.4 CCL21-CCR7轴的不同表达对QBC939细胞增殖能力的影响 MTT法检测各组细胞的增殖能力, 与对照组相比, CCR7过表达组吸光值

明显增高、细胞增殖能力明显增强($t = 3.187$, $P < 0.05$), 而CCR7沉默组表达组吸光值明显降低、细胞增殖能力明显减弱($t = 2.829$, $P < 0.05$); 三组CCR7不同表达细胞分别加入CCL21培养, 与未加入CCL21各组两两比较, 均无显著性差异($t < 2.447$, $P > 0.05$)(表1)。

2.5 CCR7及相关基因在各组QBC细胞中的表达 采用之前设计的CCR7引物进行Real-time PCR检测发现: 与正常对照组相比, CCR7-pEGFP过表达组CCR7表达水平明显增强; 而CCR7-shRNA-

■应用要点

初步建立肝门部胆管癌的微转移检测指标, 为术中确定肿瘤切除范围、术后病情分析、预后评估和选择术后个体化治疗方案提供依据。



图2 CCL21-CCR7划痕实验对QBC939细胞运动能力的影响(细胞培养 $\times 50$)。A: CCR7过表达组; B: CCR7过表达+CCL21组; C: 空白对照组; D: 空白对照+CCL21组; E: CCR7沉默组; F: CCR7沉默+CCL21组。

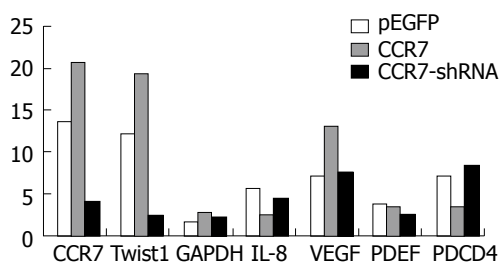


图3 CCR7及相关基因在各组QBC细胞中的表达。IL-8: 白介素-8; VEGF: 血管内皮生长因子。

pEGFP沉默组CCR7的水平表达微弱(图3)。除此之外, 我们应用美国Invitrogen公司设计*Twist1*/*GAPDH*/*IL-8*/*VEGF*/*PDEF*/*PDCD4* 6个基因的引物对3组样本进行qPCR检测发现: *Twist1*基因在3组细胞中的变化趋势同CCR7的变化一致, 即在CCR7过表达组同时也高表达*Twist1*, 而在CCR7沉默组*Twist1*基因也低表达(图3)。说明这两种基因在胆管癌细胞中有着非常亲密的关系, CCR7在细胞中量的变化影响了*Twist1*基因的改变。

3 讨论

Yamada等^[6]报道肝门部胆管癌占肝外胆管癌的58%-75%。近年来肝门部胆管癌的发病率呈上升趋势^[7]。而且其起病隐匿, 出现临床症状已属中晚期, 手术根治性切除率仅18.0%-26.2%^[8]。近几年由于联合肝叶切除等手术方式的出现, 生存率明显提高, 1、3、5年生存率分别为75.4%、24.0%和12.2%; 但是并发症的发生率却高达36.5%^[9]。Seyama等^[10]同时也报道联合肝叶切除的肝门部胆管癌肝功能衰竭的发生率高达29.8%, 目前Seyama等^[10]报道肝功能衰竭发生率明显下降。我们统计了105例肝门高位切除、肝门实质-空肠吻合的手术患者手术切除率86.7%, 根治性切除(R₀切除)率36.2%。尽管如此, 肝门部胆管癌患者长期治愈的病例极少, 术后转移和复发率很高。既然肝门部胆管癌很少发生远处转移、而主要是肝脏和肝门区的转移。那么, 为什么行根治性切除术后(切缘及周围组

织常规病理检查无瘤细胞残余),肝门部胆管癌复发率依然很高,且同样多见于肝脏和肝门区的转移。微转移可能是其主要原因。微转移是指常规临床病理学方法不能检出的非血液系统恶性肿瘤的转移,是离开原发灶的镜检(<2 mm)瘤细胞沉积,在逃避免疫监视后侵犯血管并发展成肉眼可见的病变,常无任何临床表现^[11]。血管生成拟态是肿瘤发生微转移的重要途径。血管生成拟态的特点是管道内没有血管内皮细胞衬覆,肿瘤细胞形成瘤细胞条索并围成管道,而血液则在无内皮细胞的管道中流动,该管道外周是一层厚薄不均的PAS阳性物质构成的基底膜^[12]。VM是一种不同于肿瘤内皮依赖性血管生成的新的肿瘤微循环模式,脱落的肿瘤细胞随血液流动发生远处转移,使肿瘤的转移率增高、预后差^[13,14]。VM的形成可有效缓解肿瘤快速生长早期肿瘤细胞微环境的缺氧状态,VM逐渐被马赛克血管(mosaic vessels, MV)取代,最后被正常血管内皮则(endothelium vessels, EV)过渡为正常血液供应模式,这就是肿瘤血管生成的三阶段学说^[15]。另外,能形成血管生成拟态的肿瘤细胞恶性程度高,分化程度低^[16,17],可产生多种肿瘤浸润转移相关基因参与肿瘤的浸润与转移。本课题组已经通过体内、体外实验证实:肝门部胆管癌组织标本存在血管生成拟态形成,正常组织中无VM形成;并且所有低分化的肝门部胆管癌中VM全部阳性;从三维细胞培养肝门部胆管癌细胞也显示其有形成血管生成拟态的能力。上述结果表明血管生成拟态形成促进了肝门部胆管癌的微转移。那么是什么原因诱导肿瘤细胞形成血管生成拟态而促进肝门部胆管癌微转移。肿瘤细胞的组织趋向性表现肿瘤细胞迁徙至首选器官或组织,可能是由转移前微龛(premetastatic niche)所分泌的化学引诱物形成浓度梯度介导^[18]。而CCL21-CCR7是一种重要的引诱物。本实验应用CCR7正常表达、CCR7高表达和沉默表达QBC939细胞进行了血管生成拟态的检测发现:正常对照组中存在血管生成拟态的形成,在CCR7过表达组形成环状结构数目(血管生成拟态)较对照组明显增加,而在CCR7沉默表达组网状结构稀疏,形成环状结构数目较对照组明显减少。从而证实了CCR7影响了VM的变化,诱导了VM的形成。在MTT增殖实验中,CCR7过表达组细胞增殖能力显著高于正常组和沉默组;正常对照组细胞增殖能力显著高于沉默组,说明CCR7是QBC939细胞增殖能

力增强。但各组细胞增殖能力的变化与是否加入CCL21无关。可能因为CCL21对CCR7的趋化作用只是增加了细胞的迁移和浸润能力,与细胞增殖生长无关。同时,在CCR7不同表达对QBC939细胞的迁移、侵袭能力检测中发现:与对照组相比,CCR7过表达组穿膜细胞数量明显增加,而CCR7沉默组穿膜细胞数量明显减少;在对照组和CCR7过表达组加入CCL21后穿膜细胞数量明显增加,而在CCR7沉默表达组加入CCL21后,穿膜细胞数量没有明显变化。在CCR7沉默组并不能完全阻断肿瘤细胞的侵袭和浸润,因为肿瘤的转移是非常复杂的多因素综合作用的结果,如肿瘤细胞的浸润、侵袭、免疫逃避等是由趋化因子、黏附因子等诸多因素共同调节的结果。在CCR7沉默组加入CCL21无变化,可能是因为此组细胞含有少量或不含有CCR7, CCL21对细胞没有趋化作用。研究发现,许多肿瘤细胞也不同程度的表达CCR7,而CCL21在肿瘤组织中表达量极少或没有。以往及我们的研究表明CCL21-CCR7轴在肿瘤中的作用主要体现在促进肿瘤迁移和侵袭方面。肿瘤转移是一个严格的器官选择性的过程,其特异性决于他所表达的趋化因子受体及靶器官所表达的趋化因子。Zlotnik^[19]研究表明肿瘤细胞高表达趋化因子受体主要有CXCR4和CCR7,转移的靶器官可以释放相应配体促进其定向转移。而在这一过程的初始阶段,血管生成拟态提供了肿瘤转移所需要的营养及血液供应。

总之,CCR7诱导了血管生成拟态形成提供了肿瘤的营养,从而促进了肿瘤的迁移和侵袭。并且我们通过Real-time PCR检测,应用了Twist1/GAPDH/IL-8/VEGF/PDEF/PDCD4六组引物连同CCR7引物一起检测发现:Twist1基因与CCR7的变化趋势完全一致:在CCR7组Twist1高表达,在CCR7-shRNA组Twist1低表达,在正常对照组Twist1表达在两者之间。说明CCR7在胆管癌细胞中的表达影响了Twist1的表达。Twist1调控上皮-间充质转化使上皮细胞失去上皮表型转变为有迁移能力的间充质表型,EMT参与了血管生成拟态的形成过程^[20]。Twist1已被证实与肿瘤转移、肿瘤血管生成拟态的形成具有密切关联性^[21]具体的详细信号途径需要进一步实验证实。

4 参考文献

- 1 黄志强. 肝门部胆管癌外科治疗的现状与我见. 中国

■同行评价

本文对了解肝门部胆管癌术后微转移中的机制提供了科学的、有意义的信息,具有一定的创新性与开拓性,能较好的反映目前临床和基础研究工作的先进水平。

- 实用外科杂志 2007; 27: 341-347
- 2 Maniotis AJ, Folberg R, Hess A, Seftor EA, Gardner LM, Pe'er J, Trent JM, Meltzer PS, Hendrix MJ. Vascular channel formation by human melanoma cells in vivo and in vitro: vasculogenic mimicry. *Am J Pathol* 1999; 155: 739-752 [PMID: 10487832 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)65173-5]
 - 3 Oliveira-Neto HH, de Souza PP, da Silva MR, Mendonça EF, Silva TA, Batista AC. The expression of chemokines CCL19, CCL21 and their receptor CCR7 in oral squamous cell carcinoma and its relevance to cervical lymph node metastasis. *Tumour Biol* 2013; 34: 65-70 [PMID: 22976543 DOI: 10.1007/s13277-012-0511-3]
 - 4 Yoshida R, Nagira M, Kitaura M, Imagawa N, Imai T, Yoshie O. Secondary lymphoid-tissue chemokine is a functional ligand for the CC chemokine receptor CCR7. *J Biol Chem* 1998; 273: 7118-7122 [PMID: 9507024 DOI: 10.1074/jbc.273.12.7118]
 - 5 Mburu YK, Egloff AM, Walker WH, Wang L, Seethala RR, van Waes C, Ferris RL. Chemokine receptor 7 (CCR7) gene expression is regulated by NF- κ B and activator protein 1 (AP1) in metastatic squamous cell carcinoma of head and neck (SCCHN). *J Biol Chem* 2012; 287: 3581-3590 [PMID: 22158872 DOI: 10.1074/jbc.M111.294876]
 - 6 Yamada Y, Mori H, Hijiya N, Matsumoto S, Takaji R, Kiyonaga M, Ohta M, Kitano S, Moriyama M, Takaki H, Fukuzawa K, Yonemasu H. Extrahepatic bile duct cancer: invasion of the posterior hepatic plexuses--evaluation using multidetector CT. *Radiology* 2012; 263: 419-428 [PMID: 22447852 DOI: 10.1148/radiol.12111024]
 - 7 邹声泉. 胆管癌外科治疗的现状和展望. 中国普外基础与临床杂志 2008; 15: 77-80
 - 8 孟翔飞, 周宁新, 肖梅, 李铸, 振昊, 黄志强. 肝门部胆管癌病理特征与术后随访结果分析(附113例报告). 消化外科杂志 2006; 5: 49-51
 - 9 肖梅, 周宁新, 黄志强, 黄晓强, 张文智. 联合肝叶切除治疗肝门部胆管癌(附74例报告). 中国实用外科杂志 2006; 26: 42-44
 - 10 Seyama Y, Kubota K, Sano K, Noie T, Takayama T, Kosuge T, Makuuchi M. Long-term outcome of extended hemihepatectomy for hilar bile duct cancer with no mortality and high survival rate. *Ann Surg* 2003; 238: 73-83 [PMID: 12832968 DOI: 10.1097/074960.55004.72]
 - 11 Liang WC, Sickie-Santanello BJ, Nims TA. Is a completion axillary dissection indicated for micro-metastases in the sentinel lymph node? *Am J Surg* 2001; 182: 365-368 [PMID: 11720672]
 - 12 Folberg R, Maniotis AJ. Vasculogenic mimicry. *APMIS* 2004; 112: 508-525 [PMID: 15563313 DOI: 10.1111/j.1600-0463]
 - 13 Sun D, Sun B, Liu T, Zhao X, Che N, Gu Q, Dong X, Yao Z, Li R, Li J, Chi J, Sun R. Slug promoted vasculogenic mimicry in hepatocellular carcinoma. *J Cell Mol Med* 2013; 17: 1038-1047 [PMID: 23815612 DOI: 10.1111/jcmm.12087]
 - 14 Hess AR, Seftor EA, Gardner LM, Carles-Kinch K, Schneider GB, Seftor RE, Kinch MS, Hendrix MJ. Molecular regulation of tumor cell vasculogenic mimicry by tyrosine phosphorylation: role of epithelial cell kinase (Eck/EphA2). *Cancer Res* 2001; 61: 3250-3255 [PMID: 11309274]
 - 15 Hendrix MJ, Seftor EA, Hess AR, Seftor RE. Vasculogenic mimicry and tumour-cell plasticity: lessons from melanoma. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 411-421 [PMID: 12778131 DOI: 10.1038/nrc1092]
 - 16 Itzhaki O, Greenberg E, Shalmon B, Kubi A, Treves AJ, Shapira-Frommer R, Avivi C, Ortenberg R, Ben-Ami E, Schachter J, Besser MJ, Markel G. Nicotinamide inhibits vasculogenic mimicry, an alternative vascularization pathway observed in highly aggressive melanoma. *PLoS One* 2013; 8: e57160 [PMID: 23451174 DOI: 10.1371/journal.pone.0057160]
 - 17 刘文斌, 许戈良, 英卫东, 李建生, 马金良, 葛勇胜, 任维华, 余继海, 王伟, 胡晔. 缺氧对肝癌血管生成拟态的影响及其机制. 世界华人消化杂志 2010; 18: 3294-3300
 - 18 Kaplan RN, Riba RD, Zacharoulis S, Bramley AH, Vincent L, Costa C, MacDonald DD, Jin DK, Shido K, Kerns SA, Zhu Z, Hicklin D, Wu Y, Port JL, Altorki N, Port ER, Ruggero D, Shmelkov SV, Jensen KK, Rafii S, Lyden D. VEGFR1-positive haematopoietic bone marrow progenitors initiate the pre-metastatic niche. *Nature* 2005; 438: 820-827 [PMID: 16341007 DOI: 10.1038/nature04186]
 - 19 Zlotnik A. Chemokines and cancer. *Int J Cancer* 2006; 119: 2026-2029 [PMID: 16671092 DOI: 10.1002/ijc.22024]
 - 20 Sun T, Zhao N, Zhao XL, Gu Q, Zhang SW, Che N, Wang XH, Du J, Liu YX, Sun BC. Expression and functional significance of Twist1 in hepatocellular carcinoma: its role in vasculogenic mimicry. *Hepatology* 2010; 51: 545-556 [PMID: 19957372 DOI: 10.1002/hep.23311]
 - 21 Yang J, Weinberg RA. Epithelial-mesenchymal transition: at the crossroads of development and tumor metastasis. *Dev Cell* 2008; 14: 818-829 [PMID: 18539112 DOI: 10.1016/j.devcel.2008.05.009]

编辑 田滢 电编 闫晋利



胃转流术对2型糖尿病大鼠的降糖作用及对血清二肽基肽酶-4和胰高血糖素样肽-1的影响

陈守坤, 孔燕, 张蓬波, 魏华, 张秀忠, 任泽强

陈守坤, 孔燕, 张蓬波, 魏华, 张秀忠, 任泽强, 徐州医学院附属医院 江苏省徐州市 221002

江苏省徐州市科技计划基金资助项目, No. 2012XM12B028

作者贡献分布: 此课题由陈守坤、张蓬波及任泽强设计; 实验操作由孔燕、魏华及张秀忠共同完成; 论文写作由陈守坤与张蓬波完成。

通讯作者: 任泽强, 主任医师, 硕士生导师, 221002, 江苏省徐州市淮海西路99号, 徐州医学院附属医院普外科. rzq0805@189.cn

收稿日期: 2014-03-08 修回日期: 2014-05-19

接受日期: 2014-05-29 在线出版日期: 2014-08-08

Hypoglycemic effect of gastric bypass operation in type 2 diabetes rats: Influence on dipeptidyl peptidase-IV and glucagon-like peptide-1

Shou-Kun Chen, Yan Kong, Peng-Bo Zhang, Hua Wei, Xiu-Zhong Zhang, Ze-Qiang Ren

Shou-Kun Chen, Yan Kong, Peng-Bo Zhang, Hua Wei, Xiu-Zhong Zhang, Ze-Qiang Ren, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221002, Jiangsu Province, China

Supported by: the Science and Technology Planning Project of Xuzhou City, Jiangsu Province, No. XM12B028

Correspondence to: Ze-Qiang Ren, Chief Physician, Department of General Surgery, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, 99 Huaihai West Road, Xuzhou 221002, Jiangsu Province, China. rzq0805@189.cn

Received: 2014-03-08 Revised: 2014-05-19

Accepted: 2014-05-29 Published online: 2014-08-08

Abstract

AIM: To observe the hypoglycemic effect of gastric bypass operation and its influence on dipeptidyl peptidase-IV (DDP-IV) and glucagon-like peptide-1 (GLP-1) in type 2 diabetes rats.

METHODS: Healthy male SD rats were randomly divided into a type 2 diabetes operation group (DO group), a type 2 diabetes control group (DC group), a normal operation group (NO group) and a normal control group (NC group). Fasting plasma glucose concentration, DDP-IV and GLP-1 were measured preoperatively and 1, 2, 4 and 8 wk postoperatively.

RESULTS: Fasting blood glucose in the DO group decreased from $20.21 \text{ mmol/L} \pm 2.14 \text{ mmol/L}$ preoperatively to $8.50 \text{ mmol/L} \pm 2.19 \text{ mmol/L}$ ($P < 0.05$) at week 8 after gastric bypass operation. Compared with the preoperative value, the fasting blood DDP-IV in the DO group begun to decline from the first week postoperatively, and decreased from $387.35 \text{ ng/L} \pm 46.75 \text{ ng/L}$ preoperatively to $141.57 \text{ ng/L} \pm 19.32 \text{ ng/L}$ ($P < 0.05$) at week 8 after gastric bypass operation. GLP-1 in the DO and NO groups GLP-1 increased from $7.38 \text{ pmol/L} \pm 1.71 \text{ pmol/L}$ and $7.23 \text{ pmol/L} \pm 1.59 \text{ pmol/L}$ preoperatively to $17.80 \text{ pmol/L} \pm 1.39 \text{ pmol/L}$ and $15.48 \text{ pmol/L} \pm 1.21 \text{ pmol/L}$ ($P < 0.05$) at week 8 after gastric bypass operation. GLP-1 level was significantly higher in the DO group than in the DC and NC groups at corresponding time points ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Gastric bypass operation can markedly reduce plasma glucose in type 2 diabetes rats possibly *via* altering serum DPP-IV and GLP-1.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gastric bypass operation; Type 2 diabetes mellitus; Dipeptidyl peptidase-IV; Glucagon-like peptide-1

Chen SK, Kong Y, Zhang PB, Wei H, Zhang XZ, Ren ZQ. Hypoglycemic effect of gastric bypass operation in type 2 diabetes rats: Influence on dipeptidyl peptidase-IV and glucagon-like peptide-1. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(22): 3281-3285 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3281.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3281>

摘要

目的: 观察胃转流术(gastric bypass, GBP)对2型糖尿病大鼠的降糖效果及对血清二肽基肽酶-4(dipeptidyl peptidase-IV, DDP-IV)和胰高血糖素样-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1)的影响。

■背景资料

近年来, 国外研究者通过分析接受胃转流手术的肥胖症患者术后随访, 发现胃肠转流手术在治疗肥胖症的同时, 部分合并有2型糖尿病的患者术后血糖恢复正常, 并可以缓解及减轻其并发症的发生。随后的大量临床实践证明, 胃转流术(gastric bypass, GBP)对二型糖尿病伴或不伴肥胖均有满意的疗效。

■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

糖尿病已成为严重危害人类健康的公共卫生问题。目前糖尿病的治疗以内科为主,包括饮食控制、体育锻炼、改变不良生活习惯、口服降糖药或使用胰岛素等,但效果不理想,从而不可避免会导致其各种并发症的发生。胰腺移植和胰岛细胞移植的方法因移植排斥及手术并发症等诸多因素制约了其临床应用及效果,且移植以治疗1型糖尿病为主。胚胎干细胞和胰腺干细胞又分别受到伦理学争论及取材不便的影响。因此,亟需一种更为理想、有效的治疗方法。然而胃转流术是怎么样实现其降糖效果的,现在没有成形的理论去解释。

方法: 健康♂SD大鼠随机分为正常手术组(NO组)、正常对照组(NC组)、糖尿病手术组(DO组)、糖尿病对照组(DC组)。术前及术后第1、2、4、8周分别测各组空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)和血清DPP-IV、GLP-1。

结果: GBP术后8 wk, DO组FPG由术前的20.21 mmol/L \pm 2.14 mmol/L下降至8.50 mmol/L \pm 2.19 mmol/L ($P < 0.05$)。DO组术后1 wk血清DPP-IV开始下降,至术后第8周由术前的387.35 ng/L \pm 46.75 ng/L降至141.57 ng/L \pm 19.32 ng/L ($P < 0.05$)。DO组、NO组GBP术后第8周空腹GLP-1分别由术前的7.38 pmol/L \pm 1.71 pmol/L和7.23 pmol/L \pm 1.59 pmol/L升高到17.80 pmol/L \pm 1.39 pmol/L和15.48 pmol/L \pm 1.21 pmol/L ($P < 0.05$)。术后各时相点DO组的GLP-1明显高于相应时间点DC组和NC组 ($P < 0.05$)。

结论: GBP能明显降低2型糖尿病大鼠的血糖水平; DPP-IV和GLP-1的变化可能为其降糖机制之一。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃转流术; 2型糖尿病; 二肽基肽酶4; 胰高血糖素样肽1

核心提示: 本文利用胃转流术(gastric bypass, GBP)对2型糖尿病大鼠血清二肽基肽酶-4(dipeptidyl peptidase-IV, DPP-IV)和胰高血糖素样肽-1(glucagon-like peptide-1, LP-1)的影响, 结果表明GBP术后DPP-IV表达减少和GLP-1的表达增加, 这可能为其降糖机制之一。

陈守坤, 孔燕, 张蓬波, 魏华, 张秀忠, 任泽强. 胃转流术对2型糖尿病大鼠的降糖作用及对血清二肽基肽酶-4和胰高血糖素样肽-1的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(22): 3281-3285 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3281.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i22.3281>

0 引言

近年来胃转流术(gastric bypass, GBP)对2型糖尿病的治疗效果得到国内外的广泛认可, 我们前期研究结果也证实了GBP具有良好的降糖效果^[1,2], 但其具体机制尚不明确。本研究通过复制2型糖尿病大鼠模型, 观察GBP对2型糖尿病大鼠血清二肽基肽酶-4(dipeptidyl peptidase-IV, DPP-IV)和胰高血糖素样肽-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1)的影响, 探讨其降糖机制。

1 材料和方法

1.1 材料 健康清洁级♂SD大鼠50只, 8-10周龄, 体质量250-300 g, 由徐州医学院实验动物中心提供。链脲佐菌素(美国Sigma公司), 稳态血糖仪(OneTouch SureStep)(美国强生公司), 大鼠二肽基肽酶试剂盒(上海恒远生物技术有限公司), 大鼠胰高血糖素样肽1试剂盒(南京博海生物技术有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 2型糖尿病大鼠模型的制备: 大鼠适应环境1 wk后, 造模组喂养高糖高脂饲料, 正常组喂养基础饲料。2 mo后造模组大鼠禁食过夜, 按35 mg/kg剂量, 于左下腹穿刺, 腹腔内快速一次性注射1%的STZ溶液(pH 4.46, 0.1 mol/L柠檬酸缓冲液冰浴中新鲜配制), 72 h和1 wk后快速血糖仪测随机血糖, 两次均 ≥ 16.7 mmol/L为成功模型。

1.2.2 动物分组: 50只SD大鼠从中随机挑取20只作为正常组, 喂基础饲料, 作为正常手术组(NO组)和正常对照组(NC组); 另外30只复制2型糖尿病模型, 共有22只成模, 作为模型组, 随机分为糖尿病手术组(DO组)和糖尿病对照组(DC组), 每组10只, 其余大鼠备用。

1.2.3 手术方式: NO组和DO组行GBP手术(保留胃容积)。大鼠术前禁食12-14 h, 不限饮水, 3%戊巴比妥钠(1 mL/kg)腹腔内注射麻醉, 上腹部正中切口长约3 cm进腹, 切断幽门, 闭合十二指肠残端, 距Treitz韧带约8 cm切断空肠, 远端空肠与幽门行端端吻合, 近端空肠与距此吻合口远端12 cm行空肠端侧吻合, 术后均用庆大霉素(80万U/L)2 mL冲洗腹腔后关腹。

1.2.4 检测指标: 术前与术后第1、2、4、8周快速血糖仪检测空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG); ELISA法检测血清DPP-IV和GLP-1。

统计学处理 所有数据用SPSS13.0软件进行统计分析。数据以mean \pm SD表示, 定量资料各组间比较采用t检验和方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 术前各组大鼠FPG、DPP-IV和GLP-1 正常组与模型组比较, FPG、DPP-IV之间的差异有统计学意义(表1)。

2.2 FPG变化 与术前相比, DO组GBP后第1周开始下降, 至术后第2周空腹血糖值降至21 mmol/L

表 1 术前各组大鼠FPG、DPP-IV和GLP-1比较 (mean ± SD)

指标	DO组	DC组	NC组	NO组
FPG(mmol/L)	17.71 ± 1.99	17.36 ± 1.54	4.90 ± 0.29 ^{ac}	4.87 ± 0.28 ^{ac}
GLP-1(pmol/L)	7.38 ± 1.71	6.78 ± 1.69	6.33 ± 1.39	7.23 ± 1.59
DPP-IV(ng/L)	387.35 ± 46.75	369.27 ± 39.16	255.89 ± 15.44 ^{ac}	241.02 ± 15.80 ^{ac}

* $P < 0.05$ vs DO组; ^c $P < 0.05$ vs DC组. FPG: 空腹血糖; DPP-IV: 血清二肽基肽酶-4; GLP-1: 胰高血糖素样-1; DC组: 糖尿病对照组; DO组: 糖尿病手术组; NC组: 正常对照组; NO组: 正常手术组.

表 2 各组大鼠FPG变化 (mean ± SD, mmol/L)

分组	术前	术后			
		第1周	第2周	第4周	第8周
DC组	21.06 ± 2.09	20.03 ± 1.60	19.73 ± 2.62	20.11 ± 2.00	19.75 ± 1.84
DO组	20.21 ± 2.14	17.92 ± 2.18	14.67 ± 3.02 ^{ac}	13.37 ± 2.72 ^{ac}	8.50 ± 2.19 ^{ac}
NC组	6.61 ± 0.64	6.16 ± 0.53	5.98 ± 0.54	6.05 ± 1.08	6.32 ± 1.42
NO组	6.18 ± 0.65	6.19 ± 0.35	6.66 ± 0.48	5.97 ± 0.64	6.31 ± 0.72

* $P < 0.05$ vs 本组术前; ^c $P < 0.05$ vs 同时间点DC组; ^a $P < 0.05$ vs NC组. FPG: 空腹血糖; DC组: 糖尿病对照组; DO组: 糖尿病手术组; NC组: 正常对照组; NO组: 正常手术组.

表 3 各组大鼠血清DPP-IV变化 (mean ± SD, ng/L)

分组	术前	术后			
		第1周	第2周	第4周	第8周
DC组	369.27 ± 39.16	379.27 ± 36.02	381.49 ± 26.05	377.95 ± 20.88	389.06 ± 23.01
DO组	387.35 ± 46.75	263.68 ± 56.12 ^{ac}	214.24 ± 40.39 ^{ac}	172.81 ± 35.04 ^{ac}	141.57 ± 19.32 ^{ac}
NC组	255.89 ± 15.44	250.53 ± 11.19	254.79 ± 15.50	247.59 ± 10.33	243.47 ± 25.34
NO组	241.02 ± 15.80	136.86 ± 10.80 ^{ab}	133.39 ± 15.70 ^{ab}	130.35 ± 13.50 ^{ab}	125.86 ± 14.60 ^{ab}

* $P < 0.05$ vs 本组术前; ^c $P < 0.05$ vs DC组; ^a $P < 0.05$ vs NC组同时间点. DPP-IV: 血清二肽基肽酶-4; DC组: 糖尿病对照组; DO组: 糖尿病手术组; NC组: 正常对照组; NO组: 正常手术组.

± 2.14 mmol/L ($P < 0.05$), 至第4、8周分别降至13.37 mmol/L ± 2.72 mmol/L ($P < 0.05$)、8.50 mmol/L ± 2.19 mmol/L ($P < 0.05$). DO组自术后第2周开始空腹血糖值明显低于DC组各时间点 ($P < 0.05$). 而NO组术后各时间点空腹血糖值相对于NC组无明显变化 ($P > 0.05$) (表2).

2.3 血清DPP-IV变化 本实验中DO组术后1 wk血清DPP-IV就由术前的387.35 ng/L ± 46.75 ng/L降至263.68 ng/L ± 56.12 ng/L ($P < 0.05$), 至术后8 wk降至141.57 ng/L ± 19.32 ng/L ($P < 0.05$), 与DC组同时间相比差异有统计学意义; 而NO组手术前后差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 且与NC组同时间相比差异有统计学意义 (表3).

2.4 空腹GLP-1 与术前相比, DO组GBP术后第1周GLP-1已开始升高, 术后第2周GLP-1由术前

的7.38 pmol/L ± 1.71 pmol/L升高到14.57 pmol/L ± 2.43 pmol/L ($P < 0.05$), 至术后第4、8周分别升高到16.02 pmol/L ± 2.94 pmol/L ($P < 0.05$)、17.80 pmol/L ± 1.39 pmol/L ($P < 0.05$). 术后第2、4、8周DO组的GLP-1明显高于相同时间点DC组 ($P < 0.05$). NO组术后GLP-1较术前明显增加 ($P < 0.05$), NC组、DC组在实验过程中GLP-1无明显变化 (表4).

3 讨论

国外在回顾性分析减肥手术对肥胖症的疗效时偶然发现GBP术式有良好的降糖作用, 他不仅能使肥胖症患者体质质量明显下降, 而且能使其伴发的2型糖尿病获得意想不到的长期稳定控制^[3,4]. 国外学者认为GBP控制血糖的作用可能

■ 相关报道

1995年, Pories等报道GBP治疗病态肥胖症时偶然发现合并有2型糖尿病的患者, 术后血糖快速恢复了正常, 且不再需要采取任何措施维持. 随后的大量临床实践证实, GBP治疗2型糖尿病能取得满意疗效. 表明GBP可能成为治疗2型糖尿病的有效方法. 2008年国内糖尿病年会亦特别报道了胃转流术, 已成为有望根治糖尿病的方法.

■创新盘点

目前被广泛认可的假说为肠-胰岛轴(intestine-islet axis, EIA)机制: GBP手术排除了胃远端、十二指肠和近端空肠, 从而使未消化或未完全消化的食物提前到达回肠, 提示GBP改变了胃肠道激素的分泌, 使糖代谢得到改善。寻找起重要作用的胃肠道激素成为完善此理论的关键, 也是本实验创新之处。

■应用要点

EIA理论提供现实依据, 更好地解释胃转流术的降糖作用, 为手术治疗糖尿病广泛应用提供理论依据。

表 4 各组大鼠空腹GLP-1的变化 (mean \pm SD, pmol/L)

分组	术前	术后			
		第1周	第2周	第4周	第8周
DC组	6.78 \pm 1.69	7.43 \pm 2.28	6.43 \pm 1.92	7.51 \pm 2.03	7.07 \pm 2.17
DO组	7.38 \pm 1.71	10.13 \pm 2.19	14.57 \pm 2.43 ^{ac}	16.02 \pm 2.94 ^{ac}	17.80 \pm 1.39 ^{ac}
NC组	6.33 \pm 1.39	6.62 \pm 1.53	7.14 \pm 1.97	7.52 \pm 1.67	6.89 \pm 1.05
NO组	7.23 \pm 1.59	8.28 \pm 1.48	10.84 \pm 1.52 ^{ab}	13.11 \pm 1.11 ^{ab}	15.48 \pm 1.21 ^{ab}

^a $P < 0.05$ vs 本组术前; ^c $P < 0.05$ vs DC组; ^a $P < 0.05$ vs NC组同时时间点。GLP-1: 胰高血糖素样-1; DC组: 糖尿病对照组; DO组: 糖尿病手术组; NC组: 正常对照组; NO组: 正常手术组。

与体质量下降、脂肪减少致胰岛素敏感性增加有关, 但其后诸多研究均证实术后饮食减少和体质量下降不是改善血糖的主要原因^[5,6]。国内王瑜等^[7]报道GBP对103例非肥胖T2DM的治愈率为79.6%。北京武警总医院给12例2型糖尿病患者行GBP手术(均为非肥胖者或轻度肥胖者), 术后血糖及糖耐量试验均有显著下降, 糖尿病并发症有所改善^[8]。然而GBP治疗2型糖尿病的具体机制尚不清楚。目前被广泛认可的假说为肠-胰岛轴(intestine-islet axis, EIA)机制: GBP手术排除了胃远端、十二指肠和近端空肠, 从而使未消化或未完全消化的食物提前到达回肠, 提示GBP改变了胃肠道激素的分泌, 使糖代谢得到改善。其中GLP-1和DPP-IV最受关注。

GLP-1主要是由位于回肠和结肠黏膜的L细胞分泌的肽类激素, 他能够通过调节胰岛素及胰高血糖素的分泌和食物摄入量而调节血糖^[9]。文献^[10]报道GLP-1的主要生理作用为: 具有血糖依赖性的肠促胰岛素分泌作用; 促进胰岛素的生物合成和分泌; 促进 β 细胞增殖分化, 抑制 β 细胞凋亡, 增加 β 细胞对葡萄糖的敏感性; 延迟胃排空, 抑制食欲等。本研究中DO组GBP术后第1周GLP-1已开始升高, 术后第2周GLP-1由术前的7.38 pmol/L \pm 1.71 pmol/L升高到14.57 pmol/L \pm 2.43 pmol/L ($P < 0.05$), 至术后第8周升高到17.80 pmol/L \pm 1.39 pmol/L ($P < 0.05$)。同样NO组术后GLP-1较术前明显增加($P < 0.05$), 而NC组、DC组在实验过程中GLP-1无明显变化。可见GBP可明显增加GLP-1的产生。考虑其原因可能是未消化或未完全消化的食物提前到达回肠, 刺激L细胞分泌GLP-1。

DPP-IV以十二指肠、近段空肠表达为主, 在2型糖尿病患者体内其活性明显升高^[11]。主要的生物活性通过降解肠降血糖素(包括GLP-1)影响糖脂代谢^[12], 并且还发现DPP-IV可干扰胰

岛素信号传导通路, 从而引起靶器官的胰岛素敏感性降低^[13]。因此, DPP-IV被认为是一种“致糖尿病因子”。研究发现, 具有胰岛素抵抗的肥胖或伴有T2DM的患者血清DPP-IV明显高于正常人^[14]。本实验中也发现T2DM大鼠血清DPP-IV明显高于非糖尿病大鼠。DO组术后1 wk血清DPP-IV就由术前的387.35 ng/L \pm 46.75 ng/L降至263.68 ng/L \pm 56.12 ng/L ($P < 0.05$), 至术后8 wk降至141.57 ng/L \pm 19.32 ng/L ($P < 0.05$), 与DC组同时时间相比差异有统计学意义。而NO组术后DPP-IV也较术前有所下降($P < 0.05$)。可见GBP可明显减少T2DM大鼠血清DPP-IV的产生。Alam等^[15]对16例肥胖2型糖尿病患者研究发现, GBP可降低DPP-IV的活性。分析其原因可能为GBP术后十二指肠和近段空肠被旷置, 减少了食物刺激, 从而使DPP-IV产生减少。

本研究发现, GBP术后DPP-IV的减少和GLP-1的增加可能为其降糖机制之一, 但对DPP-IV和GLP-1相互作用的关系有待进一步研究。本实验中DO组和NO组术后DPP-IV和GLP-1均有相似的变化, 但NO组血糖却无明显变化, 说明GBP不会影响正常血糖值。可能的解释为GLP-1具有血糖依赖性的肠促胰岛素分泌作用, 随着血糖水平下降, 其促胰岛素分泌作用减弱, 所以GLP-1的降糖作用具有自限性, 不会发生低血糖。

4 参考文献

- 1 张秀忠, 任泽强, 张蓬波. 胃转流术对2型糖尿病大鼠的降糖作用及对糖耐量和胰岛素抵抗的影响. 中华实验外科杂志 2010; 27: 1892-1894
- 2 张秀忠, 任泽强, 张蓬波. 胃转流术对非肥胖型2型糖尿病的降糖效果. 山东医药 2010; 50: 89-90
- 3 White S, Brooks E, Jurikova L, Stubbs RS. Long-term outcomes after gastric bypass. *Obes Surg* 2005; 15: 155-163 [PMID: 15802056]
- 4 Buchwald H, Avidor Y, Braunwald E, Jensen MD, Pories W, Fahrback K, Schoelles K. Bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis. *JAMA*

- 2004; 292: 1724-1737 [PMID: 15479938]
- 5 Ramos AC, Galvão Neto MP, de Souza YM, Galvão M, Murakami AH, Silva AC, Canseco EG, Santamaría R, Zambrano TA. Laparoscopic duodenal-jejunal exclusion in the treatment of type 2 diabetes mellitus in patients with BMI ≥ 30 kg/m² (LBMI). *Obes Surg* 2009; 19: 307-312 [PMID: 18987919]
- 6 Patriti A, Facchiano E, Donini A. Effect of duodenal-jejunal exclusion in a non-obese animal model of type 2 diabetes: a new perspective for an old disease. *Ann Surg* 2004; 240: 388-389; author reply 389-391 [PMID: 15273570]
- 7 王瑜, 王燕婷, 王烈. 胃转流术对非肥胖型2型糖尿病的治疗作用. *中国普通外科杂志* 2008; 17: 1003-1006
- 8 张新国, 杨学军, 徐红, 韩承新, 贾元利, 武金虎, 张治. 胃旁路手术治疗 II 型糖尿病的体会. *中华普通外科杂志* 2005; 20: 599
- 9 Mathes CM, Bueter M, Smith KR, Lutz TA, le Roux CW, Spector AC. Roux-en-Y gastric bypass in rats increases sucrose taste-related motivated behavior independent of pharmacological GLP-1-receptor modulation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2012; 302: R751-R767 [PMID: 22170618]
- 10 Kitahara Y, Miura K, Yasuda R, Kawanabe H, Ogawa S, Eto Y. Nateglinide stimulates glucagon-like peptide-1 release by human intestinal L cells via a K(ATP) channel-independent mechanism. *Biol Pharm Bull* 2011; 34: 671-676 [PMID: 21532155]
- 11 Bellé LP, Bitencourt PE, de Bona KS, Zanette RA, Moresco RN, Moretto MB. Expression of CD26 and its association with dipeptidyl peptidase IV activity in lymphocytes of type 2 diabetes patients. *Cell Biochem Biophys* 2011; 61: 297-302 [PMID: 21614532]
- 12 Mentlein R. Mechanisms underlying the rapid degradation and elimination of the incretin hormones GLP-1 and GIP. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2009; 23: 443-452 [PMID: 19748062]
- 13 Lamers D, Famulla S, Wronkowitz N, Hartwig S, Lehr S, Ouwens DM, Eckardt K, Kaufman JM, Ryden M, Müller S, Hanisch FG, Ruige J, Arner P, Sell H, Eckel J. Dipeptidyl peptidase 4 is a novel adipokine potentially linking obesity to the metabolic syndrome. *Diabetes* 2011; 60: 1917-1925 [PMID: 21593202]
- 14 Han SJ, Kim HJ, Choi SE, Kang Y, Lee KW, Kim DJ. Incretin secretion and serum DPP-IV activity in Korean patients with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2010; 89: e49-e52 [PMID: 20621378]
- 15 Alam ML, Van der Schueren BJ, Ahren B, Wang GC, Swerdlow NJ, Arias S, Bose M, Gorroochurn P, Teixeira J, McGinty J, Laferrère B. Gastric bypass surgery, but not caloric restriction, decreases dipeptidyl peptidase-4 activity in obese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab* 2011; 13: 378-381 [PMID: 21210936]

■同行评价

本文思路清晰, 设计合理, 数据可信, 结论明了. 此课题值得进一步深入探索.

编辑 田滢 电编 闫晋利



食管癌再程放疗联合替吉奥的疗效评价

顾浩, 王鑫, 吴竞, 樊锐太, 石永刚

■背景资料

食管癌是我国常见的恶性肿瘤, 目前放射治疗是其安全有效的治疗手段之一。但放射治疗后的局部未控或复发率高达80%左右。

顾浩, 王鑫, 樊锐太, 石永刚, 郑州大学第一附属医院放疗科
河南省郑州市 450052

吴竞, 浙江医院放疗科 浙江省杭州市 310013

顾浩, 主治医师, 主要从事肿瘤放疗化疗综合治疗的研究。

作者贡献分布: 此课题由樊锐太设计; 临床病例收集由王鑫与吴竞完成; 数据分析由顾浩与石永刚完成; 本论文撰写由顾浩完成。

通讯作者: 樊锐太, 教授, 主任医师, 450052, 河南省郑州市建设东路1号, 郑州大学第一附属医院放疗科. fanruitai@126.com
电话: 0371-6629942

收稿日期: 2014-05-12 修回日期: 2014-05-31

接受日期: 2014-06-06 在线出版日期: 2014-08-08

Therapeutic effects of re-radiotherapy combined with S-1 in treatment of recurrent esophageal carcinoma

Hao Gu, Xin Wang, Jing Wu, Rui-Tai Fan, Yong-Gang Shi

Hao Gu, Xin Wang, Rui-Tai Fan, Yong-Gang Shi, Department of Radiation Oncology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, He'nan Province, China

Jing Wu, Department of Radiation Oncology, Zhejiang Hospital, Hangzhou 310013, Zhejiang Province, China

Correspondence to: Rui-Tai Fan, Professor, Chief Physician, Department of Radiation Oncology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe East Road, Zhengzhou 450052, He'nan Province, China. fanruitai@126.com

Received: 2014-05-12 Revised: 2014-05-31

Accepted: 2014-06-06 Published online: 2014-08-08

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy and safety of S-1 combined with three dimensional conformal radiotherapy in the treatment of recurrent esophageal carcinoma after radiotherapy.

METHODS: Sixty-one esophageal carcinoma patients who recurred after they had received radical radiotherapy and were confirmed by pathology were divided into either a study group or a control group according to whether receiving S-1 or not. All patients received three dimensional conformal radiotherapy at 1.8-2.0 Gy each time, 5 fractions a week to a total dose of 45-55 Gy. The patients in the study group received S-1 at a dose of 60 mg/(m²•d) for 14 days, every 3 weeks, totally 6 wk when they started receiving

re-radiotherapy. The control group merely received re-radiotherapy.

RESULTS: The complete response rate was 38.7% in the study group, and 26.7% in the control group ($P > 0.05$). The effective rate was 74.2% in the study group, and 46.7% in the control group ($P < 0.05$). The 1-, 2- and 3-year survival rates were 54.8%, 38.7% and 16.1% in the study group, and 43.3%, 20.0% and 6.7% in the control group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: For recurrent esophageal carcinoma after radical radiotherapy, S-1 combined with three dimensional conformal radiotherapy can improve the efficacy and prolong survival period without a significant increase in acute adverse effects of radiotherapy.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Recurrent; Esophageal carcinoma; Re-radiotherapy; Three dimensional; S-1

Gu H, Wang X, Wu J, Fan RT, Shi YG. Therapeutic effects of re-radiotherapy combined with S-1 in treatment of recurrent esophageal carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(22): 3286-3290 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3286.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3286>

摘要

目的: 观察放疗后复发的食管癌患者行再程三维适形放疗联合替吉奥的临床疗效。

方法: 61例放疗后复发的食管癌患者按治疗方案不同分为研究组31例和对照组30例, 所有患者均接受1.8-2.0 Gy/次, 5次/wk, 靶区处方剂量为45-55 Gy的再程放疗, 其中研究组于放疗开始当天口服替吉奥60 mg/m², 2次/d, 连用14 d后, 间隔7 d, 21 d为1个周期, 共用两周期, 对照组仅接受再程放疗。

结果: 两组CR率分别为38.7%、26.7%, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 有效率分别为74.2%、46.7%, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

■同行评议者

陈洪, 副教授, 主任医师, 硕士研究生导师, 东南大学附属中大医院消化科

研究组1、2、3年生存率分别为54.8%、38.7%、16.1%, 对照组1、2、3年生存率分别为43.3%、20.0%、6.7%, 两组生存曲线差异具有统计学意义($P < 0.05$).

结论: 替吉奥联合三维适形放疗治疗根治性放疗后复发的食管癌可以提高近期疗效, 延长生存, 不良反应轻, 患者耐受性好.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 复发; 食管癌; 再程放疗; 三维适形; 替吉奥

核心提示: 食管癌是我国常见的恶性肿瘤, 放疗是主要治疗手段之一, 放疗后复发的治疗多采用手术或再程放疗, 本研究采用替吉奥联合三维适形放疗治疗放疗后复发的食管癌可提高近期疗效, 延长生存, 不良反应轻, 患者耐受性好.

顾浩, 王鑫, 吴竞, 樊锐太, 石永刚. 食管癌再程放疗联合替吉奥的疗效评价. 世界华人消化杂志 2014; 22(22): 3286-3290
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3286.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i22.3286>

0 引言

食管癌是我国常见的恶性肿瘤, 目前放射治疗是其安全有效的治疗手段之一. 但放射治疗后的局部未控或复发率可高达80%左右, 复发后的再治疗是临床工作中的一个难题. 本研究采用替吉奥联合三维适形放疗技术治疗食管癌放疗后复发患者, 取得了较好的疗效, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2007-03/2010-06郑州大学第一附属医院收治的食管癌放疗后原发灶局部复发的病例, 经病理证实为鳞状细胞癌, 未经手术治疗, 经食道钡餐及胸部计算机断层扫描(computed tomography, CT)复查病变较局限, 病变长度 < 6 cm, 无穿孔征象, 均有纵隔区域淋巴结肿大, 但排除锁骨上淋巴结转移与远处转移. 患者能进半流食, 肝肾功能正常, 首程放疗剂量为根治量, 原发灶复发部位行再程放射治疗或再程放疗联合替吉奥化疗, 首程放疗与再程放疗间隔1年以上, 患者或家属签署治疗知情同意书. 据上诉条件筛选出61例, 其中男38例, 女23例. 中位年龄65岁(53-74岁), 所有病例Karnofsky评分(KPS) ≥ 60 分, 首程放疗与再程放疗间隔时间为12-40 mo, 中位间隔时间为20 mo, 按治疗方案不同分为研究组31例和对照组30例, 两组患者

的一般资料差异无统计学意义($P > 0.05$)(表1).

1.2 方法

1.2.1 治疗: 再程放疗采用三维适形放射治疗: 患者仰卧位, 双手上举交叉置于头顶, 采用真空体模固定. 在体模及体表标出相应参考点, 保证患者与体模相对固定; 在螺旋CT下增强扫描, 层厚为3 mm, 然后将图像传输至治疗计划系统, 由放疗科医师、物理师和影像科医师共同完成肿瘤靶区(gross tumor volume, GTV)的勾画, 在GTV基础上前后、左右外扩0.5-0.8 cm、上下外扩1.2-1.5 cm为计划靶区(planning target volume, PTV), 并勾画重要危及器官如脊髓、双肺、心脏等. 给出肿瘤治疗剂量及重要危及器官剂量限值, 处方剂量定义为95%PTV所接受的剂量, 肿瘤靶区处方剂量45-55 Gy, 中位处方剂量50 Gy, 1.8-2.0 Gy/次, 5次/wk. 肺V20 $\leq 20\%$, 脊髓最大受量 ≤ 10 Gy, 心脏V20 $\leq 33\%$, 采用6MV-X线治疗, 不对淋巴引流区行预防性照射. 研究组患者接受再程放疗联合替吉奥, 于放疗开始当天口服替吉奥60 mg/m², 2次/d, 连用14 d后, 间隔7 d, 21 d为1个周期, 共用两周期. 对照组患者仅接受再程放疗. 治疗过程中对症处理消化系反应及骨髓抑制等放化疗不良反应.

1.2.2 观察指标: 治疗开始前及治疗结束后3 mo行食管钡餐造影和胸部CT检查. 治疗期间定期监测血常规、肝肾功能、心电图等项目, 并详细记录治疗期间出现的各种不良反应.

1.2.3 疗效评价: 根据实体瘤的疗效评价标准(response evaluation criteria in solid tumors, RECIST), 分为完全缓解(complete remission, CR)、部分缓解(partial response, PR)、稳定(stable disease, SD)和疾病进展(progressive disease, PD), 以(CR+PR)为治疗有效. 具体评价标准参照1989年万钧等^[1]提出的食管癌放疗后近期疗效评价标准. CR: 可见病灶完全消失, 食管边缘光滑, 钡剂通过顺利, 但管壁可稍显强直, 管腔无狭窄或稍显狭窄, 食管上端正常部位与病变部位狭窄处相比较, 比值 $\geq 3:2$. PR: 病变大部分消失, 无明显扭曲或成角, 无向腔外溃疡, 钡剂通过尚顺利, 但边缘欠光滑, 有小的充盈缺损或边缘虽光滑但管腔有明显的狭窄, 病变上端正常管腔与病变狭窄处相比, 比值 $< 3:2$. 正常组织急性放射反应按RTOG标准进行评价.

统计学处理 所有数据均经SPSS17.0统计软件进行统计分析, 采用 χ^2 检验, 检验水准 $\alpha = 0.05$. 采用Kaplan-Meier法计算生存率, 用Log-

■ 研发前沿

复发后的再治疗是临床工作中的一个难题, 本研究针对放疗后复发食管癌患者提出新的治疗方案.

■ 相关报道

徐海亭等提出食道癌二程放射治疗以减轻症状的姑息治疗为目的, 避免严重并发症的发生. 三维适形放射治疗有利于保护心脏及正常肺组织, 可降低正常组织的放射损伤.

■创新盘点

本研究采用口服化疗药物替吉奥联合三维适形放疗治疗放疗后复发食管癌患者,对替吉奥的放疗增敏作用提供进一步的证据。

表 1 两组患者的一般资料比较

分组	n	性别		年龄(岁)		肿瘤位置	
		男	女	< 60	≥60	颈段	胸段
研究组	31	20	11	13	18	7	24
对照组	30	18	12	10	20	9	21

表 2 两组患者近期疗效比较 n(%)

分组	n	CR	PR	SD	PD
研究组	31	12(38.7)	11(35.5)	6(19.4)	2(6.4)
对照组	30	8(26.7)	6(20.0)	11(36.7)	5(16.7)

CR: 完全缓解; PR: 部分缓解; SD: 稳定; PD: 疾病进展。

表 3 两组患者的1、2、3年生存率 n(%)

分组	n	1年	2年	3年
研究组	31	17(54.8)	12(38.7)	5(16.1)
对照组	30	13(43.3)	6(20.0)	2(6.7)

rank分析两组患者的生存曲线有无差异。生存时间从患者结束再程放疗算起。所有病例均随访3年,失访病例记为死亡。

2 结果

2.1 近期疗效及远期疗效 在治疗结束后3 mo,对两组患者近期疗效进行比较,研究组和对照组CR率分别为38.7%、26.7%,差异无统计学意义($P>0.05$),有效率分别为74.2%、46.7%,差异具有统计学意义($P<0.05$)(表2)。研究组和对照组的1年、2年、3年生存率如表3,两组生存曲线差异具有统计学意义($P<0.05$)(图1)。

2.2 安全性评价 急性放射反应按RTOG标准进行评价,两组患者的急性不良反应主要表现为放射性食管炎、放射性肺炎及骨髓抑制(白细胞下降、贫血、血小板减少),程度较轻,均为I-II级,经对症支持治疗后好转,患者均能坚持完成治疗。其中研究组3种急性放射反应发生率较对照组稍高,但差异无统计学意义($P>0.05$)(表4)。

2.3 死亡原因 所有病例均随访3年,共失访5例,其中研究组失访3例,对照组失访2例,失访病例均记为死亡。两组失访时间分别为10、11、27 mo及15、26 mo。研究组死亡26例,其中死于局部未控或再复发15例,食管穿孔3例,远处转移5例,其他原因3例;对照组死亡28例,死于局部

未控或再复发19例,食管穿孔4例,远处转移4例,其他原因2例。两组患者死因无明显差异。

3 讨论

食管癌是常见的消化系恶性肿瘤,我国是食管癌高发国家,也是该病死亡率最高的国家。放疗是食管癌的主要治疗手段之一,特别是对于那些一般状况较差、基础疾病较多、具有手术禁忌或者拒绝手术的老年患者。有研究表明,食管癌根治性放射治疗后5年生存率约为10%左右,大部分患者在1-2年内复发^[2]。食管癌放疗后再次治疗是临床上的一个难题,目前对于放疗后复发食管癌多采用手术或再程放疗。放疗后局部组织纤维化,血运差,加之这类患者年龄较大,长期慢性疾病消耗,心肺功能往往欠佳,再手术难度很大,而且化疗在复发食管癌治疗上疗效也不能令人满意,故再程放疗仍为食管癌治疗后复发的重要手段之一。首程放疗导致患者重要脏器受到不同程度的照射,再程放疗时其耐受剂量较小,由于传统放射治疗技术的限制,不能满意的避开正常肺、心脏、脊髓等重要器官而导致靶区剂量不高,再程放射治疗效果欠佳。宋美芳等^[3]报道,对于食管癌放疗后复发再程放疗采用常规放疗方法,1、2、3年生存率分别为44.4%、18.2%、3.7%。食管癌常规模拟放射治疗技术不能保证肿瘤靶体体积足够的剂量分布^[4],而三维适形放射治疗采用多野设计,多角度照射,使得高剂量分布区与靶区的三维形状有较好的适合度,可减少周围正常组织的受照剂量,提高肿瘤靶区的照射剂量^[5]。因患者首程放疗已达根治剂量,周围重要器官的耐受剂量较低,所

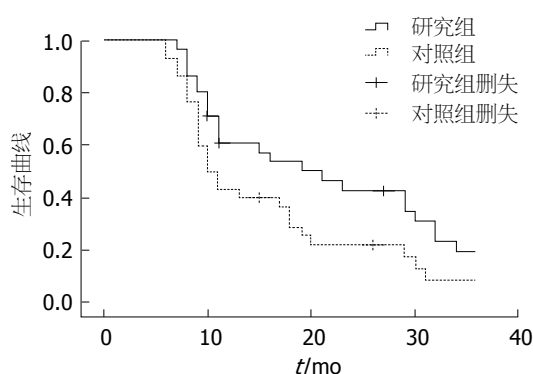


图1 两组患者生存曲线的比较

表4 两组患者的主要急性不良反应比较 $n(\%)$

分组	n	放射性食管炎	放射性肺炎	骨髓抑制
研究组	31	14(45.2)	6(19.4)	14(45.2)
对照组	30	11(36.7)	4(13.3)	8(26.7)

以再程放疗的剂量选择非常关键, Fakhrian等^[6]研究证实再程放疗剂量 ≥ 45 Gy的生存率较 <45 Gy高, 且剂量 >60 Gy对提高生存率无意义, 反而增加穿孔等风险. 本研究中所有患者再程放疗剂量为45-55 Gy. 由于根治性放疗后复发食管癌患者的食管局部血供差, 复发病灶中心多存在缺血坏死区, 其中乏氧细胞比例大, 导致放射抗拒性, 因而选择一种低毒、高效的放疗增敏药物来提高再程放疗效果显得尤为重要.

分裂周期中不同时相的细胞对放射线敏感性的顺序是 $M>G_2>G_1>S$. S期细胞对放射呈抵抗性, 被认为是影响放疗疗效的重要因素之一. 5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-Fu)是细胞周期特异性药物, 主要作用于肿瘤细胞的S期, 抑制肿瘤细胞的加速再增殖, 从而产生放疗增敏作用. 5-Fu在食管癌放疗中的增敏作用已被多家研究机构证实. 由于5-Fu半衰期很短, 通常连续静脉给药, 容易在输注过程中出现静脉炎或栓塞, 而且其血性腹泻及便血等不良反应使得一些患者耐受性降低.

替吉奥(S-1)是一种新型氟尿嘧啶类口服抗癌药, 其由替加氟、吉莫斯特和奥替拉西钾三种成分组成. 替加氟是5-Fu前体药物, 在吉美嘧啶和奥替拉西钾的调节作用下, 抗肿瘤作用增强, 而腹泻、排便带血等胃肠道不良反应明显降低, 患者的耐受性好, 特别适用于老年患者的化疗^[7]. 国内外多项临床研究已证实替吉奥对胃癌、头颈部肿瘤、非小细胞肺癌、结直肠癌、

胰腺癌及转移性乳腺癌^[8-13]等肿瘤具有显著疗效. S-1与5-Fu相比, 血药浓度更高, 抗肿瘤活性更强. 近年来通过对S-1联合放疗抗肿瘤的研究中发现, S-1联合放疗有其新的作用机制, 对于那些单独采用放化疗难以控制的局部晚期癌症患者是有一定作用的. Takagi等^[14]将HeLa、LC-11(肺癌)、M059等多种肿瘤细胞以及采用吉莫斯特处理后的肿瘤细胞给予照射, 发现吉莫斯特可抑制DNA的同源重组, 而同源重组在由放射引起的DNA修复中起着非常重要的作用, 由此推断吉莫斯特可通过抑制同源重组介导的DNA修复路径从而起到增强放疗疗效的作用. 而且在对异种移植LC-11的小鼠研究中同样发现, 吉莫斯特可通过抑制放疗诱发的DNA损伤的快速修复而达到放疗增敏作用. 有研究表明, 缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)被证实多种类型的肿瘤中与肿瘤细胞增殖、浸润、转移密不可分^[15,16], 而且有报道HIF-1 α 与食管癌患者对同步放化疗的反应有关, 其高表达患者的肿瘤局控率较低且无进展生存期较短^[17]. Zeng等^[18]在S-1联合放疗对NSCLC细胞H441的研究中发现, S-1能显著抑制肿瘤细胞生长, 其主要是通过抑制辐射诱发的HIF-1及诱导内皮细胞凋亡发挥放疗增敏作用, 从而提高放疗疗效.

本研究中, 研究组和对照组近期有效率分别为74.2%、46.7%, 差异具有统计学意义($P<0.05$). 研究组1、2、3年生存率分别为54.8%、38.7%、16.1%, 对照组1、2、3年生存率分别为43.3%、20.0%、6.7%, Log-rank分析两组患者的生存曲线差异具有统计学意义. 结果表明, S-1联合三维适形放疗较单纯三维适形放疗近期有效率高, 虽然放射性食管炎、放射性肺炎以及骨髓抑制发生率稍高, 但是无统计学差异, 经对症处理后, 不影响再程放疗的进行. 三维适形放疗联合S-1治疗根治性放疗后复发食管癌可提高近期疗效并延长患者生存, 且S-1为口服制剂, 服药方便, 不良反应小, 易被患者接受. 由此可见, S-1联合三维适形放疗治疗不失为放疗后复发食管癌的有效治疗方案.

4 参考文献

- 1 万均, 肖爱勤, 高淑珍, 郭宝仲, 王雅棣, 周道安. 食管癌放疗后近期疗效评价标准. 中国放射肿瘤学 1989; 3: 205-207
- 2 殷蔚伯, 余子豪, 徐国镇, 胡逸民. 肿瘤放射治疗学. 第4版. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2007: 546-574

■应用要点

对拒绝手术或有手术禁忌的患者而言, 再程放疗可作为一种治疗的选择, 在实际应用中应特别注意正常组织器官的保护, 也可进一步探讨超分割方式在再程放疗中的优势.

■同行评价

本文具有一定临床指导意义。

- 3 宋美芳, 邱灏, 王国民. 27例食管癌放疗后复发的再程放疗疗效分析. *中国癌症杂志* 2000; 10: 463-464
- 4 王军, 张辛, 薛同国, 祝淑钗, 韩春. 食管癌三维立体适形放疗和束流调强放射治疗现状. *肿瘤防治研究* 2006; 33: 913-916
- 5 蒋国梁. 束流调强的适形立体放射治疗. *中国癌症杂志* 1997; 7: 142-145
- 6 Fakhrian K, Gamisch N, Schuster T, Thamm R, Molls M, Geinitz H. Salvage radiotherapy in patients with recurrent esophageal carcinoma. *Strahlenther Onkol* 2012; 188: 136-142 [PMID: 22218502 DOI: 10.1007/s00066-011-0023-x]
- 7 Lim JH, Lee MH, Kim HG, Shin YW, Yi HG, Shin SH, Hur YS, Kim CS, Chang HJ. Three-weekly s-1 monotherapy as first-line treatment in elderly patients with recurrent or metastatic gastric cancer. *Gut Liver* 2010; 4: 503-507 [PMID: 21253299 DOI: 10.5009/gnl.2010.4.4.503]
- 8 Luo H, Yu Z, Gao H, Guan C, Xu M. Efficacy and tolerability of docetaxel and cisplatin plus S-1 for advanced gastric cancer. *J BUON* 2013; 18: 154-161 [PMID: 23613401]
- 9 Nakata K, Sakata K, Someya M, Miura K, Hayashi J, Hori M, Takagi M, Himi T, Kondo A, Hareyama M. Phase I study of oral S-1 and concurrent radiotherapy in patients with head and neck cancer. *J Radiat Res* 2013; 54: 679-683 [PMID: 23292146 DOI: 10.1093/jrr/rrs133]
- 10 Komazaki Y, Sakashita H, Furuiye M, Fujie T, Tamaoka M, Sumi Y, Miyazaki Y, Kojima K, Jin Y, Inase N. Feasibility study of adjuvant chemotherapy of S-1 and carboplatin for completely resected non-small cell lung cancer. *Chemotherapy* 2013; 59: 35-41 [PMID: 23816760 DOI: 10.1159/000351101]
- 11 Ogata Y, Tanaka T, Akagi Y, Ishibashi N, Tsuji Y, Matono K, Isobe M, Sueyoshi S, Kaibara A, Shirouzu K. Multicenter Phase II Study of a New Effective S-1 and Irinotecan Combination Schedule in Patients with Unresectable Metastatic or Recurrent Colorectal Cancer. *Clin Med Insights Oncol* 2013; 7: 21-30 [PMID: 23439317 DOI: 10.4137/CMO.S10769]
- 12 Ueno H, Ioka T, Ikeda M, Ohkawa S, Yanagimoto H, Boku N, Fukutomi A, Sugimori K, Baba H, Yamao K, Shimamura T, Sho M, Kitano M, Cheng AL, Mizumoto K, Chen JS, Furuse J, Funakoshi A, Hatori T, Yamaguchi T, Egawa S, Sato A, Ohashi Y, Okusaka T, Tanaka M. Randomized phase III study of gemcitabine plus S-1, S-1 alone, or gemcitabine alone in patients with locally advanced and metastatic pancreatic cancer in Japan and Taiwan: GEST study. *J Clin Oncol* 2013; 31: 1640-1648 [PMID: 23547081 DOI: 10.1200/JCO.2012.43.3680]
- 13 Hara F, Kiyoto S, Takahashi M, Takabatake D, Takashima S, Aogi K, Ohsumi S, Takashima S. Efficacy and safety of S-1 in patients with metastatic breast cancer: retrospective review in a single institution. *Oncology* 2010; 79: 273-277 [PMID: 21372603 DOI: 10.1159/000322371]
- 14 Takagi M, Sakata K, Someya M, Tauchi H, Iijima K, Matsumoto Y, Torigoe T, Takahashi A, Hareyama M, Fukushima M. Gimeracil sensitizes cells to radiation via inhibition of homologous recombination. *Radiother Oncol* 2010; 96: 259-266 [PMID: 20584556 DOI: 10.1016/j.radonc.2010.05.020]
- 15 Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Sivridis E, Simopoulos C, Turley H, Talks K, Gatter KC, Harris AL. Hypoxia-inducible factor (HIF1A and HIF2A), angiogenesis, and chemoradiotherapy outcome of squamous cell head-and-neck cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2002; 53: 1192-1202 [PMID: 12128120]
- 16 Katsuta M, Miyashita M, Makino H, Nomura T, Shinji S, Yamashita K, Tajiri T, Kudo M, Ishiwata T, Naito Z. Correlation of hypoxia inducible factor-1alpha with lymphatic metastasis via vascular endothelial growth factor-C in human esophageal cancer. *Exp Mol Pathol* 2005; 78: 123-130 [PMID: 15713437]
- 17 Ogawa K, Chiba I, Morioka T, Shimoji H, Tamaki W, Takamatsu R, Nishimaki T, Yoshimi N, Murayama S. Clinical significance of HIF-1alpha expression in patients with esophageal cancer treated with concurrent chemoradiotherapy. *Anticancer Res* 2011; 31: 2351-2359 [PMID: 21737664]
- 18 Zeng L, Ou G, Itasaka S, Harada H, Xie X, Shibuya K, Kizaka-Kondoh S, Morinibu A, Shinomiya K, Hiraoka M. TS-1 enhances the effect of radiotherapy by suppressing radiation-induced hypoxia-inducible factor-1 activation and inducing endothelial cell apoptosis. *Cancer Sci* 2008; 99: 2327-2335 [PMID: 18823375 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2008.00943.x]

编辑 田滢 电编 闫晋利



胃神经内分泌瘤的临床病理特征及预后因素

徐海燕, 张志影, 任芳, 唐雷, 张凤春

徐海燕, 张志影, 任芳, 张凤春, 上海交通大学医学院附属苏州九龙医院肿瘤科 江苏省苏州市 215021
唐雷, 上海交通大学医学院附属仁济医院肿瘤科 上海市 200127

张凤春, 上海交通大学医学院附属瑞金医院 上海市 200025
徐海燕, 主治医师, 主要从事恶性肿瘤临床诊治的研究。

作者贡献分布: 主要实验、数据分析和文章起草由徐海燕完成; 病例选择、样本取材、临床资料整理和统计由张志影与任芳完成; 病例选择、数据分析等由唐雷完成; 课题设计、文章修改及审阅由张凤春完成。

通讯作者: 张凤春, 教授, 主任医师, 博士生导师, 215021, 苏州市工业园区万盛街118号, 上海交通大学医学院附属苏州九龙医院肿瘤科。fczhang2004@163.com

电话: 0512-62629133 传真: 0512-62629133

收稿日期: 2014-05-21 修回日期: 2014-06-09

接受日期: 2014-06-22 在线出版日期: 2014-08-08

Clinicopathological characteristics and prognostic factors of gastric neuroendocrine carcinoma

Hai-Yan Xu, Zhi-Ying Zhang, Fang Ren, Lei Tang, Feng-Chun Zhang

Hai-Yan Xu, Zhi-Ying Zhang, Fang Ren, Feng-Chun Zhang, Department of Oncology, Kowloon Hospital, Medical College of Shanghai Jiaotong University, Suzhou 215021, Jiangsu Province, China

Lei Tang, Department of Oncology, Renji Hospital, Medical College of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200127, China

Feng-Chun Zhang, Department of Oncology, Ruijin Hospital, Medical College of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200025, China

Correspondence to: Feng-Chun Zhang, Professor, Chief Physician, Department of Oncology, Kowloon Hospital, Medical College of Shanghai Jiaotong University, 118 Wansheng Street, Industrial Park, Suzhou 215021, Jiangsu Province, China. fczhang2004@163.com

Received: 2014-05-21 Revised: 2014-06-09

Accepted: 2014-06-22 Published online: 2014-08-08

Abstract

AIM: To evaluate the clinical characteristics and prognostic factors of gastric neuroendocrine carcinoma (GNEC).

METHODS: The clinical data for 50 GNEC patients treated at our hospital between November 1, 2007 and March 31, 2014 were reviewed and analyzed retrospectively. Kaplan-Meier survival curves were plotted, and log-rank tests and Cox

proportional hazards analysis were used for univariate and multivariate comparisons of overall survival (OS).

RESULTS: There were 44 neuroendocrine carcinoma (NEC) (G3) and 6 mixed adenoneuroendocrine carcinoma (MANEC) (G2-3) patients enrolled in this study. Among them, 39 were male and 11 were female, with a median age of 61.32 ± 10.48 years. At presentation, 6 (12.0%) cases were diagnosed with stage II, and the percentages of stage III and IV patients was 68.0% and 20.0%, respectively. All of the cases received radical surgery for the primary and metastatic masses. 36 (72.0%) cases had lymph node metastasis and intravascular tumor thrombi were found in 17 (34.0%) cases. The percentage of patients receiving chemotherapy was 50.0% (25/50). The follow-up duration was 1 to 50 mo. 15 cases developed relapse and 18 patients died. Univariate analysis revealed that the ratio of neutrophils to lymphocytes (NLR), Ki67 and chemotherapy were significant prognostic factors ($P < 0.05$). Cox regression analysis showed that Ki67 was an independent prognostic factor.

CONCLUSION: GNEC is a relatively uncommon and highly aggressive malignancy, and Ki67 is an important independent prognostic factor.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Neuroendocrine carcinoma; Gastric; Prognosis

Xu HY, Zhang ZY, Ren F, Tang L, Zhang FC. Clinicopathological characteristics and prognostic factors of gastric neuroendocrine carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(22): 3291-3299 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3291.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3291>

摘要

目的: 探讨胃神经内分泌瘤(gastric neuroendocrine carcinoma, GNEC)的临床病理特征及影响预后因素。

■背景资料

神经内分泌肿瘤(neuroendocrine tumor, NET)是一类临床少见的能够摄取胺的前体通过脱羧作用合成和分泌胺及多肽激素的恶性肿瘤,其影响预后因素尚不明确。目前最新的NET分类标准为依据世界卫生组织(World Health Organization, WHO)2010诊断标准,既往研究多采用WHO 2000分类标准,本研究利用最新的分类标准,回顾性分析了50例胃神经内分泌癌(gastric neuroendocrine cancer, GNEC)和混合性腺神经内分泌癌(mixed adenoneuroendocrine carcinoma, MANEC)患者的临床病理及治疗资料,对影响预后的因素进行了分析。

■同行评议者

刘宝瑞, 教授, 南京大学医学院附属鼓楼医院肿瘤中心

■ 研究前沿

因胃神经内分泌肿瘤(gastric neuroendocrine tumor, GNET)发病率低, 现有治疗指南多为神经内分泌肿瘤综合性指导, GNET多归属于胃肠胰神经内分泌肿瘤, 但近年来, 随着内镜检查普及, 越来越多的GNET被发现, 而GNEC及MANEC属于NET中恶性程度高的部分, 有必要将其分解出来进行独立研究。

方法: 回顾性分析2007-11-01/2014-03-31上海交通大学医学院附属仁济医院及上海交通大学医学院附属九龙医院收治的50例胃神经内分泌癌患者的临床病理特征、治疗及生存资料。采用Kaplan-Meier法绘制生存曲线, Log-rank检验法进行单因素分析, Cox比例风险回归模型进行多因素分析。

结果: 全组胃神经内分泌癌44例(G3级)、胃混合型腺神经内分泌癌(G2-3级)6例。男39例, 女11例; 平均年龄61.32岁 \pm 10.48岁。其中, II期6例(12.0%), III期患者34例(68.0%), IV期患者10例(20.0%)。全部患者接受根治性胃及转移病灶切除手术治疗, 其中34例存在淋巴结转移, 17例存在血管、神经或淋巴管浸润。25例接受术后化疗, 占50.0%; 随访时间1-50 mo, 15例患者复发, 18例死亡。患者中位生存时间30.18 mo \pm 3.50 mo(95%CI: 23.31-37.04 mo)。单因素分析结果显示: 患者中性粒细胞淋巴细胞比率(ratio of neutrophils to lymphocytes, NLR)、Ki67及化疗与否是影响GNEC患者预后的因素($P<0.05$)。多因素分析结果显示: Ki67是影响GNEC患者预后的独立因素($P<0.05$)。

结论: GNEC相对罕见并恶性程度高, Ki67水平是影响患者预后的独立因素。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 神经内分泌癌; 胃; 预后

核心提示: 胃神经内分泌肿瘤相对罕见, 依据2010年世界卫生组织(World Health Organization)新的分类方法, 胃镜检查是发现胃神经内分泌肿瘤的重要手段, CD56、突触素(synaptophysin)和嗜铬粒素A(chromogranin)是神经内分泌分化标志物, 采用以手术治疗为主的多学科综合治疗模式, Ki67及中性粒细胞淋巴细胞比率(ratio of neutrophils to lymphocytes)为重要的影响预后因素。

徐海燕, 张志影, 任芳, 唐雷, 张凤春. 胃神经内分泌癌的临床病理特征及预后因素. 世界华人消化杂志 2014; 22(22): 3291-3299
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3291.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i22.3291>

0 引言

神经内分泌肿瘤(neuroendocrine tumor, NET)是一类临床少见的能够摄取胺的前体通过脱羧作用合成和分泌胺及多肽激素的恶性肿瘤^[1]。发病率为1/100万-2/100万, 约占全部胃肠胰神经内分泌肿瘤的8.7%^[2]。近年来, 由于上消化道内镜检查

的普及, 胃神经内分泌癌(gastric neuroendocrine carcinoma, GNEC)发病率有所上升。据世界卫生组织(World Health Organization, WHO)(2010年)消化系肿瘤分类, 采用神经内分泌肿瘤(neuroendocrine neoplasm, NEN)泛指所有源自神经内分泌细胞的肿瘤, 将低分化神经内分泌肿瘤命名为NET, 据组织学分级进一步分为NET1和NET2, 神经内分泌癌(neuroendocrine cancer, NEC)和混合性腺神经内分泌癌(mixed adenoneuroendocrine carcinoma, MANEC)^[3]。据报道NET1占70%-80%, NET2占5%-6%, NEC占14%-25%, MANEC较为罕见^[4]。本研究回顾性分析了50例胃NEC及MANEC患者的临床病理及治疗资料, 对影响预后的因素进行了分析, 现将结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 收集上海交通大学医学院附属仁济医院及上海交通大学医学院附属九龙医院2007-11-01/2014-03-31手术治疗的胃NEC和MANEC患者, 均为病理证实。其中男39例, 女11例; 年龄36-81岁, 平均年龄61.32岁 \pm 10.48岁; 其中贲门24例, 胃体9例, 胃窦2例; 36例以腹痛起病, 占72.0%, 其次为吞咽困难, 呕血或黑便及体检时发现, 分别为8例, 4例和2例; 肿瘤最大直径1-22 cm, 平均5.95 cm \pm 3.71 cm, ≤ 8 cm 38例, >8 cm 9例; 手术方式: 所有患者均行根治性切除术, 其中1例切缘阳性, 余均为R0切除; 2例患者术后并发严重肺部感染、心律失常和多器官系统功能衰竭而围手术期死亡。

1.2 方法

1.2.1 诊断、分类、分级及分期标准: 诊断胃神经内分泌肿瘤通过镜下组织形态学特点及免疫组织化学染色检测相关生物标志物, 包括突触素(synaptophysin, Syn)、嗜铬粒素A(chromogranin A, CgA)及神经细胞黏连分子(neural cell adhesion protein, NCAM, CD56)等, 并按细胞分裂指数和Ki67指数进行分型和分级。分类采用2010年WHO新的分级分类方法。组织块进行常规苏木精-伊红染色(hematoxylin-eosin staining, HE)染色, NEC为低分化高度恶性肿瘤, 由小细胞或中至大细胞组成, 有显著核异型性、多灶性坏死和分裂象数高特点, 组织学分级定为3级(G3: 核分裂象数 $>20/10$ 个高倍视野, Ki67阳性指数 $>20\%$)。MANEC是一种形态学上能形成可识别的腺上皮和神经内分泌细胞两种成分的恶性肿瘤, 两种成分的任何一种至少

占30%。为了确定肿瘤细胞内分泌性质,应用免疫组织化学ABC法进行免疫染色(ABC试剂盒, DAKO公司产品)。每次染色均设立阳性对照、阴性对照。阳性标准判定:阳性细胞胞膜、胞浆或胞核内呈棕黄色颗粒。按照美国肿瘤联合会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)(7th ed. 2010)推荐的GET的最新肿瘤-淋巴结-远处转移(tumor-node-metastasis, TNM)分期标准。

1.2.2 随访:本研究共50例患者,均通过门诊复诊、电话或通信方式随访,随访截止时间为2014-04。

统计学处理 采用SPSS16.0软件处理统计数据;计数资料比较采用 χ^2 检验或Fisher精确检验,总生存期的计算为患者确诊至证实患者死亡的时间距离,生存曲线采用Kaplan-Meier法进行绘制,Log-rank检验比较生存期之间的差异,Cox比例风险回归模型进行多因素分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床特征 全组男39例,女11例;年龄 ≥ 60 岁者为29例(58.0%),系统回顾提示16例有既往疾病史,其中乙型肝炎7例,高血压4例,窦性心动过缓2例,糖尿病1例,直肠癌术后1例,皮肤基底细胞癌术后1例。主要临床症状表现为上腹疼痛不适36例(72.0%),其次为吞咽困难8例(16.0%),呕血和/或黑便4例(8.0%),体检发现2例(4.0%);全组无类癌综合征表现。肿瘤位于贲门胃底25例(50.0%),胃体13例(26.0%),胃窦12例(24.0%)。全部患者接受胃镜检查,绝大多数表现为占位性病变(图1),少数为溃疡性病变。全部患者接受术前CT影像学检查,多表现为胃部占位,CT增强后可见病灶区明显强化(图2)。

本研究50例患者神经内分泌瘤44例,混合性腺神经内分泌瘤6例,详尽临床病理分析如表1。肿瘤大小平均为 $5.95 \text{ cm} \pm 3.71 \text{ cm}$,以T4病变为主41例,占82.0%,T2 6例占12.0%,T3 3例占6%;36例(72.0%)患者初诊时伴有淋巴结转移,17例伴有血管、淋巴管或神经浸润(vascular, lymphatic vessel and neural invasion, VLNI),远处转移10例,以肝转移最多见,为7例,其次为胰腺转移2例,盆腔淋巴结转移1例。

2.2 治疗情况 50例NEC G3级全部经根治性胃大部切除及转移肿瘤病灶切除术,R0切除49例,1例患者切缘阳性。25例患者术后行辅助化疗。化疗药物主要包括顺铂、依托泊苷、奥沙利铂、

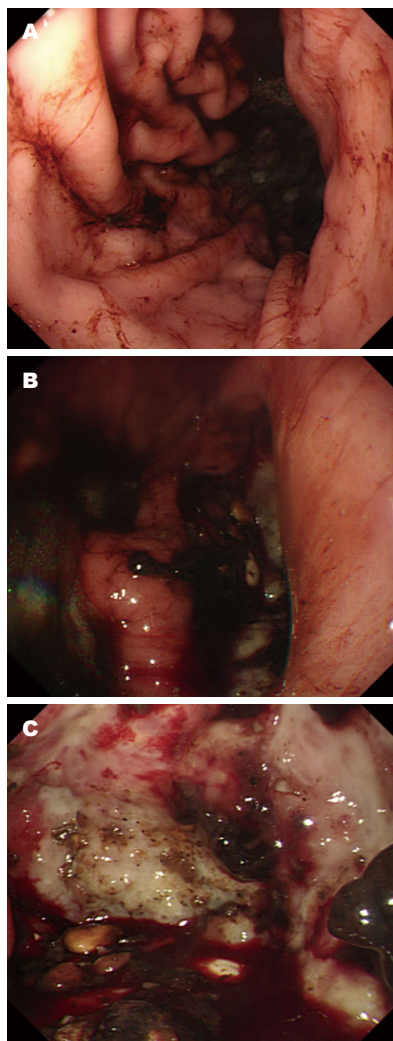


图1 胃神经内分泌癌内镜下表现。A:胃体部可见浸润溃疡型肿块, $12 \text{ cm} \times 11 \text{ cm} \times 6 \text{ cm}$; B:进镜至肿块局部见溃疡面白苔附着; C:胃体部肿块局部见溃疡伴出血。

阿霉素,替吉奥及多西紫杉醇、紫杉醇等,14例患者接受联合化疗,标准依托泊苷联合顺铂方案(etoposide plus cisplatin, EP)化疗1例,目前无复发生存7 mo。此外,尚有1例NEC术后接受奥曲肽辅助治疗。

2.3 病理表现 NEC由圆形、多角形和梭形细胞组成,排列成梁状、巢状或片状结构。胞质少,核大,核分裂异常活跃,核分裂象数 $>20/10$ 个高倍视野,如图3所示。MANEC含腺上皮和神经内分泌细胞两种成分,且任何一种至少占30%。免疫组织化学检查提示有神经内分泌标志物CgA、Syn及CD56表达(图4A-C)。Ki67指数(图4D)20%-50%表达19例,为51.4%,51%-90%表达18例,为48.6%。全组CgA、Syn、CD56、NSE阳性率分别为86.0%,90.2%,73.5%及80.0%,另有53.8%患者P53阳性(表2)。

■创新盘点

既往报道GNEC患者肿块最大16 cm,本研究中肿块最大22 cm; Ki67作为一个重要分级因素,其预后价值有待进一步验证,本研究证明其为独立预后因素;另既往一篇文献报道中性粒细胞淋巴细胞比率(ratio of neutrophils to lymphocytes, NLR)意义,本研究进一步证实其为影响预后因素。

■应用要点

提高广大医务人员对NET认识,特别是术后辅助治疗标准治疗方案依托泊苷联合顺铂方案(etoposide plus cisplatin, EP)选择。

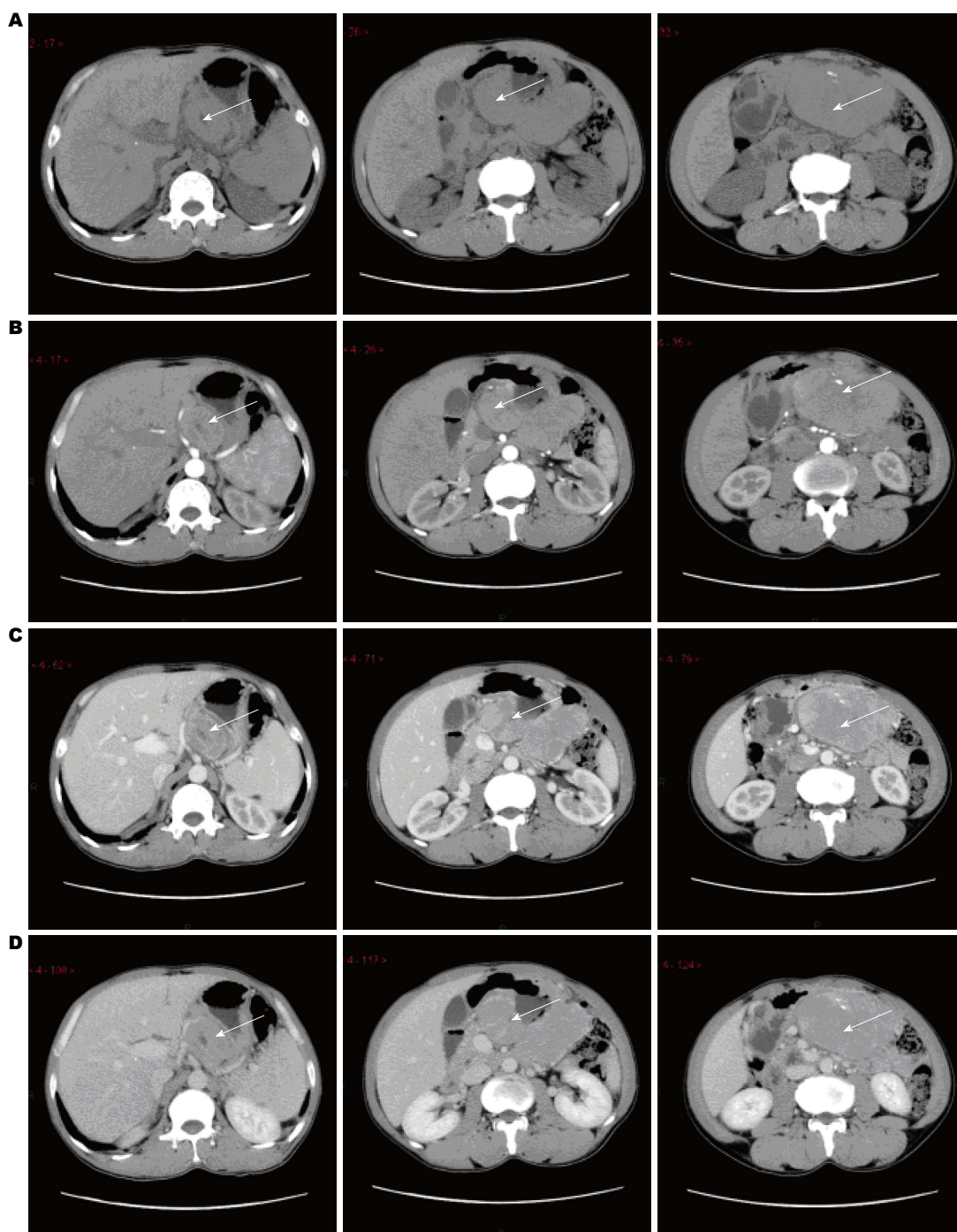


图2 胃神经内分泌癌CT影像学表现。胃体后缘巨大占位、与相邻胃壁分界欠清,局部胃壁明显增厚,胃体部病灶向下延续可见小网膜囊团块影,动脉期肿块可见部分强化,门静脉期肿块均匀强化,延迟期肿块呈等密度改变,如图中白色箭头所示。A: CT平扫; B: CT增强动脉期; C: CT增强门静脉期; D: CT增强延迟期。

2.4 预后 中位随访时间1-50 mo, 15例患者复发, 18例死亡, 失访率为16.0%。患者中位生存时间 $30.18 \text{ mo} \pm 3.50 \text{ mo}$ (95%CI: 23.31-37.04 mo)。而患者年龄、性别、发病部位、肿瘤分期与预后无相关性(表1, 图4)。本组患者NLR均值3.50, 以3.5为界值分组进行预后分析; 关于临床病理特征的单因素分析提示, NLR<3.5、Ki67指数<50%及术后辅助化疗患者生存

率, 组间相比差异有统计学意义($P<0.050$)(表1, 图5)。多因素分析应用Cox回归模型, 纳入因素为单因素分析具有统计学差异因素, 结果显示Ki67是影响GEC患者预后的独立因素($P<0.05$)(表3)。

3 讨论

胃神经内分泌肿瘤相对罕见, 据文献报道发病

表 1 50例胃神经内分泌肿瘤预后的单因素分析

特征	n(%)	事件数	总生存时间(mo)	95%可信区间	P值
发病年龄(岁)					0.657
<60	21(42.0)	6	30.92 ± 4.87	21.38–40.46	
≥60	29(58.0)	12	28.65 ± 4.44	19.95–37.35	
性别					0.251
男	39(78.0)	13	32.14 ± 4.05	24.20–40.08	
女	11(22.0)	5	18.41 ± 3.38	11.79–25.03	
既往病史					0.336
无	34(68.0)	12	32.02 ± 4.13	23.92–40.12	
有	16(32.0)	6	23.88 ± 5.50	13.09–34.67	
部位					0.893
贲门	25(50.0)	10	31.30 ± 4.41	22.66–39.95	
胃体	13(26.0)	5	22.01 ± 4.53	13.13–30.89	
幽门	12(24.0)	3	28.28 ± 7.92	12.76–43.80	
粒细胞淋巴细胞比值					0.005
≤3.5	38(76.0)	12	33.98 ± 3.79	26.55–41.42	
>3.5	12(24.0)	6	14.20 ± 4.34	5.69–22.72	
贫血					0.375
无	35(70.0)	13	31.67 ± 3.95	23.94–39.40	
有	15(30.0)	5	18.40 ± 3.87	10.81–25.98	
低蛋白血症					0.680
无	45(90.0)	17	29.78 ± 3.65	22.63–36.92	
有	5(10.0)	1	22.33 ± 6.26	10.06–34.60	
癌胚抗原					0.229
正常	22(73.3)	6	29.47 ± 4.60	20.47–38.48	
升高	8(26.7)	4	17.63 ± 6.79	4.32–30.93	
大小(cm)					0.917
≤8	38(80.9)	12	31.21 ± 4.26	22.87–39.55	
>8	9(19.1)	4	29.05 ± 6.57	16.18–41.92	
病理					0.551
NEC	44(88.0)	0	30.95 ± 3.69	23.73–38.17	
MANEC	6(12.0)	1	17.00 ± 2.63	11.86–22.14	
T分期					0.845
T2–3	9(18.0)	3	29.51 ± 6.97	15.85–43.18	
T4	41(82.0)	15	29.68 ± 3.92	22.01–37.36	
分级					0.989
G2	2(4.0)	2	27.00 ± 0.00	27.00–27.00	
G3	48(96.0)	16	30.18 ± 3.66	23.00–37.36	
淋巴结					0.508
无转移	14(28.0)	4	32.97 ± 5.03	23.10–42.84	
有转移	36(72.0)	14	28.80 ± 4.27	20.44–37.17	
分期					0.446
Ⅱ	6(12.0)	3	25.60 ± 7.47	10.96–40.25	
Ⅲ	34(68.0)	10	32.90 ± 4.46	24.16–41.64	
Ⅳ	10(20.0)	5	22.26 ± 6.43	9.65–34.87	
淋巴血管神经浸润					0.488
无	33(66.0)	13	28.45 ± 4.29	20.04–36.85	
有	17(34.0)	5	32.22 ± 5.22	21.99–42.45	
Ki67					0.007
20%–50%	19(51.4)	4	42.35 ± 4.50	33.52–51.17	
51%–90%	18(48.6)	8	21.09 ± 3.28	14.67–27.52	

■同行评价

本文对50例胃神经内分泌瘤的临床资料及生存资料进行了统计分析, 同类研究中相对样本量较大, Ki67, NLR, 化疗为影响预后因素。

突触素					0.734
-	7(14.0)	2	17.75 ± 4.21	9.51-25.99	
+++	43(86.0)	16	30.51 ± 3.68	23.31-37.04	
嗜铬粒素A					0.646
-	4(9.8)	2	39.00 ± 11.00	17.44-60.56	
+	37(90.2)	12	28.67 ± 3.51	21.79-35.55	
神经细胞黏连分子					0.285
-	9(90.2)	2	43.00 ± 7.00	29.28-56.72	
+	25(73.5)	6	31.92 ± 4.41	23.27-40.57	
突变型P53					0.964
-	12(46.2)	2	33.71 ± 6.47	21.02-46.41	
++---	14(53.8)	5	35.64 ± 6.37	23.16-48.12	
化疗					0.003
无	25(50.0)	13	18.54 ± 3.45	11.78-25.30	
有	25(50.0)	5	40.09 ± 4.75	30.78-49.41	

NEC: 神经内分泌癌; MANEC: 混合性腺神经内分泌癌.

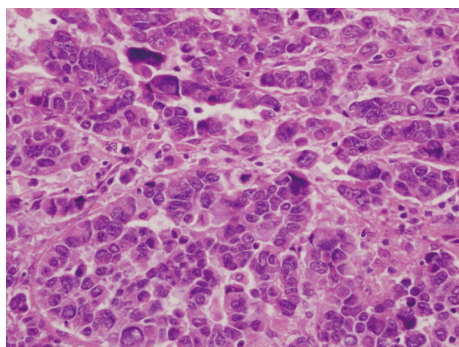


图3 胃神经内分泌癌组织形态学(IHC染色×400). 神经内分泌癌细胞呈实性巢、小梁状、片块状排列, 细胞大小基本一致, 呈圆形及卵圆形, 胞质中等量.

率约0.2/10万, 其中低分化的NEC及MANEC约占15%-20%^[3]. 既往研究中, 通常采用WHO 2000分类标准, Kim等^[5]收集了15年间诊断NET的97例患者, 男73例, 女24例, 其中NEC 52例, 43例接受根治性胃切除术. 本组研究依据2010年WHO新的分类方法, 纳入的是恶性程度相对较高的NEC和MANEC.

NEC多见于男性患者, 平均发病年龄55岁^[6]. 本组研究提示男、女比例为3.5:1.0, 发病部位以近端胃底、贲门区域为主占50%, 与文献报道相似. 胃NEC的临床症状缺乏特异性, 典型的类癌综合征发生率<3%^[7]. 本组患者主要表现为上腹疼痛不适和吞咽不畅, 无类癌综合征伴随症状. NEC往往肿瘤较大, 侵犯深度多达到或穿透浆膜, 且淋巴结转移及远处转移明显高于NET^[4], 本组肿瘤大小平均5.95 cm±3.71 cm(1-22 cm). 除侵及肌层6例, 其余全部侵及或穿透浆膜, 胰

腺局部受累2例, 淋巴结转移36例, 脉管瘤栓14例, 伴发肝转移7例, 盆腔淋巴结转移1例.

胃镜检查是发现胃神经内分泌肿瘤的重要手段, 但因其镜下形态学与腺癌难以区分, 常被误诊为分化差的腺癌, 足够量的和深度达到黏膜肌层的活检取材结合IHC检测有助于提高诊断准确性, 其中CD56、Syn和CgA是神经内分泌分化标志物, 特别是CgA, 属于神经内分泌细胞中分泌颗粒所释放物质, 血清CgA检查对神经内分泌癌的诊断有重要意义^[8].

手术是胃神经内分泌癌的首选根治性治疗手段, 一般应遵循胃腺癌的治疗原则进行根治性胃切除及淋巴结清扫术^[9]. NEC及MANEC患者往往分化差, 高核分裂及细胞增殖指数, 根治性手术治疗后应辅助化疗及多学科综合治疗^[4]. 本组大部分NEC及MANEC患者在确诊时已为进展期或伴有转移, 对这类患者应采取多种治疗模式, 包括手术、化疗、放疗及靶向治疗等. 治疗神经内分泌癌有效的化学治疗方案主要为EP方案, 其总有效率为53%-67%^[10], 总生存时间<16 mo. 美国国立综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)治疗指南推荐对于所有低分化的NET采用小细胞肺癌方法进行EP方案化疗, 仅仅对于那些伴有类癌综合征者考虑加用奥曲肽. Noda等^[11]采用顺铂和伊立替康姑息治疗12例已复发或转移的胃NEC患者, 总反应率达75%, 无进展生存期212 d. 本组共25例患者因肿瘤局部进展或转移而进行化疗, 化疗药物包括顺铂、依托泊苷、奥沙利铂、阿霉素及替吉奥、

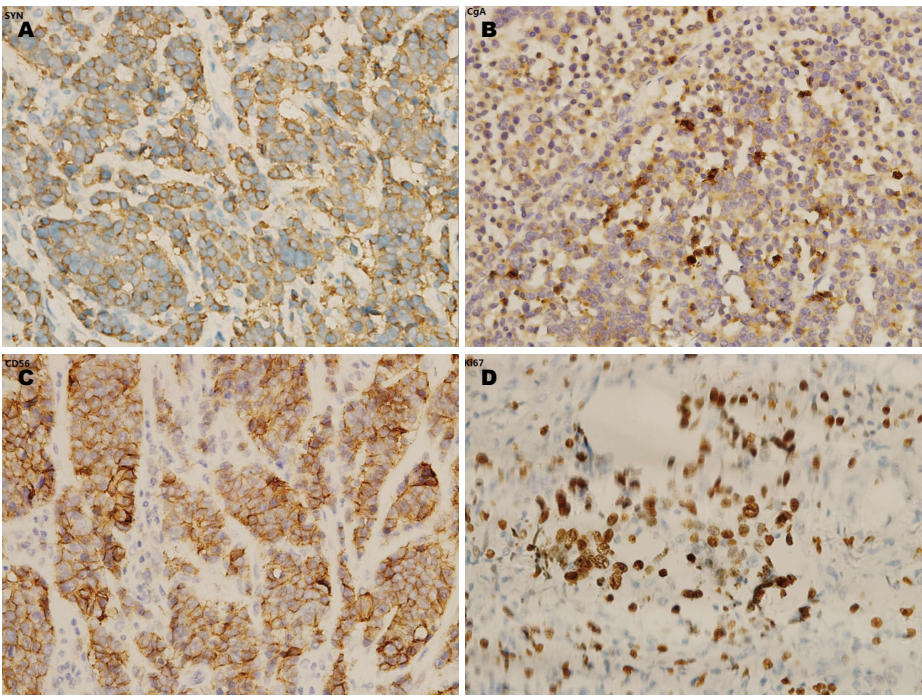


图 4 胃神经内分泌瘤免疫组织化学(SP×400). A: 神经内分泌瘤中Syn呈强阳性; B: 神经内分泌瘤中CgA呈部分阳性; C: 神经内分泌瘤中CD56呈强阳性; D: 神经内分泌瘤中Ki67呈强阳性.

表 2 GEC免疫组织化学及细胞遗传学检测结果分析

序号	免疫组织化学标志物	阳性	阴性	n1/n(%)
1	突触素	43	7	43/50(86.0)
2	嗜铬粒素A	37	4	37/41(90.2)
3	神经细胞粘连分子	25	9	25/34(73.5)
4	神经元烯醇酶	4	1	4/5(80.0)
5	突变型P53	14	12	14/26(53.8)

表 3 50例胃神经内分泌肿瘤患者预后的Cox回归模型多因素分析结果

指标	χ^2 值	标准误	比数比	95%可信区间	P值
粒细胞淋巴细胞比值	0.002	0.855	0.966	0.181–5.156	0.967
Ki67指数	4.382	0.806	5.400	1.113–26.192	0.036
化疗与否	2.803	0.684	0.318	0.083–1.216	0.094

紫衫类等, 仅有1例患者采用标准EP方案治疗, 提示对于本病治疗认识尚有待进一步提高. 即便如此, 单因素分析术后采用辅助化疗治疗患者的生存期明显延长, 提示对于局部晚期及晚期NEC患者化疗具有举足轻重的地位. 生长抑素类似物通过与生长抑素受体结合抑制多肽释放而改善临床症状并抑制肿瘤生长; 因此对有功能的生长抑素受体阳性神经内分泌肿瘤有较好疗效^[12], 本组患者1例接受SST类似物治疗. 近年来, 一些分子靶向药物如依维莫斯、舒尼替尼等正在进行临

床试验, 已批准用于胰腺NEC治疗, 希望能在治疗胃神经内分泌肿瘤方面有所突破.

胃神经内分泌瘤预后极差, 其5年生存率仅为21%. 影响NEC预后因素尚不明确, Ki67是一个重要的影响预后及分级因子, 但对于其界值确定尚存争议, 一般以>2%作为低分化G3标准^[13,14], 其预后价值尚未见报道, 本研究提示Ki67对于GNEC的预后具有良好的预测价值, 其高表达患者生存期短, 多因素分析结果进一步证实Ki67是影响GNEC患者预后的独立因素

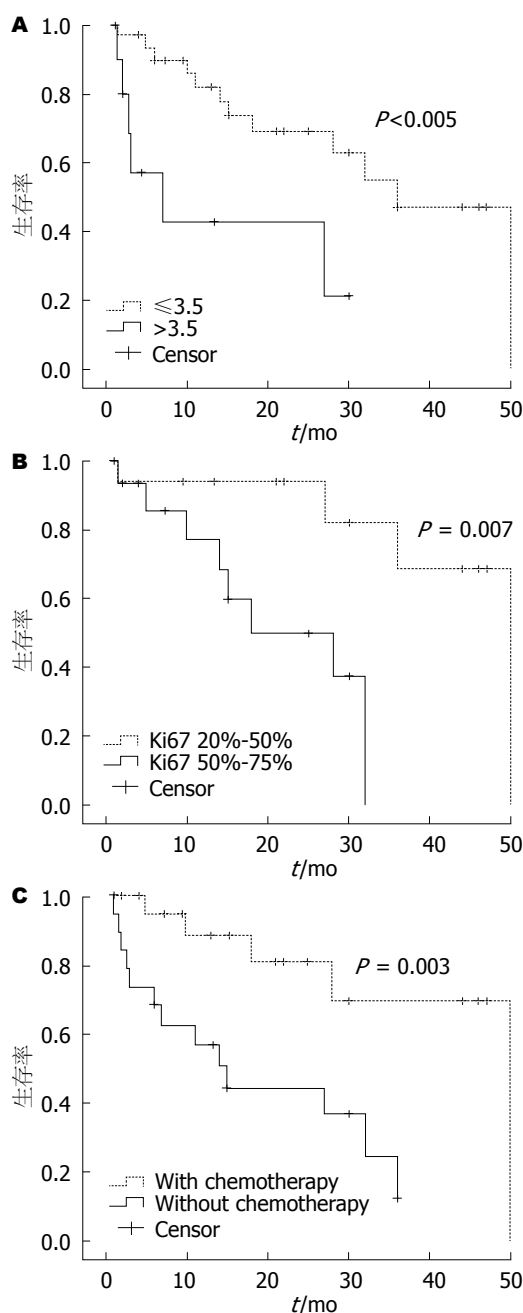


图5 50例NET患者生存曲线。A: NLR ≤ 3.5组及NLR > 3.5组胃神经内分泌肿瘤患者术后的生存曲线; B: Ki67低表达及高表达组胃神经内分泌肿瘤患者术后的生存曲线; C: 术后辅助化疗及非化疗组胃神经内分泌肿瘤患者术后的生存曲线。

($P < 0.05$)。免疫炎症反应在肿瘤发生发展中起重要作用, 有研究表明NLR作为机体免疫系统的评价指标之一, 在一定程度上反映了机体的炎症状态, 是肿瘤预后不良的独立危险因素, 一项包含了10例GEC的关于神经内分泌肿瘤预后分析研究提示NLR为影响预后因素^[15]。NLR的升高, 反映了中性粒细胞计数相对增多或淋巴细胞计数相对减少, 而中性粒细胞可分泌血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth fac-

tor, VEGF), VEGF的过度表达可促进肿瘤血管生成及远处转移。同时, 由于癌旁组织淋巴细胞减少, 形成了适合癌细胞增殖及转移的低淋巴细胞浸润的环境, 本组资料发现术前高NLR GNEC患者生存期明显低于低NLR患者($P < 0.05$)。

总之, NEC相对罕见并恶性程度高, 本组资料针对局部晚期及晚期NEC患者进行了临床病理特征及预后影响因素的初步分析, 尚存在病例数较少的不足, 仍有待进一步研究证实。

4 参考文献

- 1 中国胃肠胰神经内分泌肿瘤病理专家组. 中国胃肠胰神经内分泌肿瘤病理学诊断共识. 中华病理学杂志 2011; 40: 257-262
- 2 Modlin IM, Lye KD, Kidd M. A 5-decade analysis of 13,715 carcinoid tumors. *Cancer* 2003; 97: 934-959 [PMID: 12569593 DOI: 10.1002/cncr.11105]
- 3 Endo S, Dousei T, Yoshikawa Y, Hatanaka N, Taniyama K, Yamauchi A, Kamiike W, Nishijima J. Gastric neuroendocrine tumors in our institutions according to the WHO 2010 classification. *Int Surg* 2012; 97: 335-339 [PMID: 23294075 DOI: 10.9738/CC134.1]
- 4 Li TT, Qiu F, Qian ZR, Wan J, Qi XK, Wu BY. Classification, clinicopathologic features and treatment of gastric neuroendocrine tumors. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 118-125 [PMID: 24415864 DOI: 10.3748/wjg.v20.i1.118]
- 5 Kim BS, Oh ST, Yook JH, Kim KC, Kim MG, Jeong JW, Kim BS. Typical carcinoids and neuroendocrine carcinomas of the stomach: differing clinical courses and prognoses. *Am J Surg* 2010; 200: 328-333 [PMID: 20385369 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2009.10.028]
- 6 Basuroy R, Srirajaskanthan R, Prachalias A, Quaglia A, Ramage JK. Review article: the investigation and management of gastric neuroendocrine tumours. *Aliment Pharmacol Ther* 2014; 39: 1071-1084 [PMID: 24628514 DOI: 10.1111/apt.12698]
- 7 叶必星, 姜柳琴, 林琳. 胃肠神经内分泌肿瘤的临床研究概述. 中华消化杂志 2010; 30: 139-141
- 8 徐建明, 杨晨. 胃肠胰神经内分泌肿瘤国际诊断共识的解读. 临床肿瘤学杂志 2011; 14: 1033-1038
- 9 Knigge U, Hansen CP. Surgery for GEP-NETs. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2012; 26: 819-831 [PMID: 23582921 DOI: 10.1016/j.bpg.2012.12.005]
- 10 Moertel CG, Kvols LK, O'Connell MJ, Rubin J. Treatment of neuroendocrine carcinomas with combined etoposide and cisplatin. Evidence of major therapeutic activity in the anaplastic variants of these neoplasms. *Cancer* 1991; 68: 227-232 [PMID: 1712661]
- 11 Noda K, Nishiwaki Y, Kawahara M, Negoro S, Sugiyama T, Yokoyama A, Fukuoka M, Mori K, Watanabe K, Tamura T, Yamamoto S, Saijo N. Irinotecan plus cisplatin compared with etoposide plus cisplatin for extensive small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2002; 346: 85-91 [PMID: 11784874]
- 12 梁后杰, 杨晨. 胃肠胰神经内分泌肿瘤治疗共识(NCCN、ENETS、NANETS)解读. 临床肿瘤学杂志 2011; 14: 1039
- 13 Yang F, Jin C, Long J, Fu DL, Ni QX. Options for

- gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours. *Lancet Oncol* 2008; 9: 202-203 [PMID: 18308248 DOI: 10.1016/S1470-2045(08)70051-2]
- 14 Sorbye H, Strosberg J, Baudin E, Klimstra DS, Yao JC. Gastroenteropancreatic high-grade neuroendocrine carcinoma. *Cancer* 2014 Apr 25. [Epub ahead of print][PMID: 24771552 DOI: 10.1002/cncr.28721]
- Yucel B, Babacan NA, Kacan T, Eren AA, Eren MF, Bahar S, Celasun MG, Seker MM, Hasbek Z. Survival analysis and prognostic factors for neuroendocrine tumors in Turkey. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14: 6687-6692 [PMID: 24377589]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014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, $\frac{1}{2}$ cpm(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, 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}, Vd, 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.

血清胃蛋白酶原测定在胃癌高危人群筛查中的系统评价

林剑勇, 黄赞松, 邓益斌

■背景资料

近年来, 胃癌的发病率呈逐年上升趋势, 目前已成为死亡率较高的恶性肿瘤之一。胃蛋白酶原(pepsinogen, PG)有 I、II 两个亚群, 胃蛋白酶 I 主要由胃底腺的主细胞和黏液细胞分泌, 胃蛋白酶 II 除上述细胞分泌外, 还来源于幽门腺及十二指肠腺, 约 80%-90% PG 进入胃腔, 但也有约 10%-20% 透过胃黏膜毛细血管进入血液中, 因此, 血清 PG 逐渐成为胃癌的筛查指标。

林剑勇, 黄赞松, 邓益斌, 右江民族医学院附属医院 广西壮
族自治区百色市 533000

林剑勇, 副教授, 主要从事肺癌等恶性肿瘤的基础与临床研究。

广西自然科学基金资助项目, No. 2011GXNSFA018285

作者贡献分布: 该研究设计和 Meta 分析由邓益斌完成; 研究经费来源于邓益斌主持的广西自然科学基金项目; 文献检索和论文撰写由林剑勇完成; 黄赞松协助 Meta 分析并对论文提出修改意见。

通讯作者: 邓益斌, 副教授, 医学博士, 533000, 广西壮族自治区百色市右江区中山二路18号, 右江民族医学院附属医院。

enbin0776@sina.com

电话: 0776-2852592

收稿日期: 2014-05-06 修回日期: 2014-06-03

接受日期: 2014-06-11 在线出版日期: 2014-08-08

Meta-analysis on validity of serum pepsinogen measurement for mass screening of gastric carcinoma in the high-risk population

Jian-Yong Lin, Zan-Song Huang, Yi-Bin Deng

Jian-Yong Lin, Zan-Song Huang, Yi-Bin Deng, the Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: Guangxi Natural Science Foundation of China, No. 2011GXNSFA018285

Correspondence to: Yi-Bin Deng, Associate Professor, the Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, 18 Zhongshan Second Road, Youjiang District, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. enbin0776@sina.com

Received: 2014-05-06 Revised: 2014-06-03

Accepted: 2014-06-11 Published online: 2014-08-08

Abstract

AIM: To assess the validity of measurement of serum pepsinogen as a screening test for gastric carcinoma in the high-risk population.

METHODS: We searched the databases including PubMed, EMBASE, the Cochrane Library, China National Knowledge Infrastructure (CNKI), Wan Fang Data, VIP Journal Integration Platform and China Biology Medicine disc (CBM disc) for diagnostic tests using the serum pepsinogen test with pathological biopsy or X-ray examination (golden criteria) before January 2013. Two reviewers in-dependently screened

the literature according to the inclusion and exclusion criteria, extracted the data, and assessed the methodological quality of the included studies according to quality assessment of diagnostic accuracy studies (QUADAS) items. The Meta-DiSc software (version 1.4) was used to conduct pooling on sensitivity, specificity, positive likelihood ratio, and negative likelihood ratio. Heterogeneity test was performed and the summary receiver operating characteristic curve was plotted for calculating the area under the curve (AUC).

RESULTS: A total of 15 studies involving 184600 subjects were included. The results of meta-analysis showed that specificity, sensitivity, positive likelihood ratio, negative likelihood ratio and diagnostic ratio were 0.55 (95%CI: 0.51-0.58), 0.67 (95%CI: 0.67-0.68), 2.23 (95%CI: 1.71-2.92), 0.58 (95%CI: 0.46-0.73), and 4.33 (95%CI: 3.17-5.92), respectively. The AUC of the summary receiver operating characteristic curve was 0.73.

CONCLUSION: Current evidence shows that serum pepsinogen has a low sensitivity and a low specificity in the diagnosis of gastric carcinoma, and its diagnostic efficiency is medium.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Serum pepsinogen; Gastric carcinoma; Diagnostic; Meta-analysis

Lin JY, Huang ZS, Deng YB. Meta-analysis on validity of serum pepsinogen measurement for mass screening of gastric carcinoma in the high-risk population. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(22): 3300-3306 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3300.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3300>

摘要

目的: 系统评价血清胃蛋白酶原(pepsinogen, PG)在胃癌高危人群筛查中的应用价值。

方法: 计算机检索PubMed、EMBASE、中国知网、万方数据、维普数据和生物医学

■同行评议者

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科

文献数据库等, 并辅助手工检索相关期刊, 检索时间均截至2013-12。由2位研究者根据纳入与排除标准, 独立筛选文献、提取资料, 采用诊断性研究质量评估(quality assessment of diagnostic accuracy studies, QUADAS)条目评价纳入研究的方法质量, 采用 Meta-DiSc1.4软件对其敏感性、特异性、阳性似然比、阴性似然比等指标进行异质性检验和合并分析, 绘制受试者工作特征曲线, 计算曲线下面积。

结果: 最终纳入15个研究, 共184600例研究对象。Meta分析结果显示: 敏感度(sensitivity, SEN) = 0.55(95%CI: 0.51-0.58)、特异度(specificity, SPE) = 0.67(95%CI: 0.67-0.68)、诊断比值比(diagnostic ratio, DOR) = 4.33(95%CI: 3.17-5.92)、阳性似然比(positive likelihood ratio, LR) = 2.23(95%CI: 1.71-2.92)、阴性似然比(negative likelihood ratio, LR) = 0.58(95%CI: 0.46-0.73), 曲线下面积(area under the curve, AUC)为0.73。

结论: 血清PG对胃癌诊断的敏感度和特异度一般, 诊断效能中等。若要为临床提供准确证据, 尚需高质量研究予以证实。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃蛋白酶原; 胃癌; 诊断; Meta分析

核心提示: 胃蛋白酶原(pepsinogen)诊断胃癌时, 敏感度为55%(95%CI: 0.51-0.58)、特异度为67%(95%CI: 0.67-0.68), 阳性似然比为2.23, 阴性似然比为0.58, 诊断比值比为4.33, 受试者工作曲线下面积为0.73, 诊断效能中等, 具有一定的临床应用价值。

林剑勇, 黄赞松, 邓益斌. 血清胃蛋白酶原测定在胃癌高危人群筛查中的系统评价. 世界华人消化杂志 2014; 22(22): 3300-3306
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3300.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3300>

0 引言

近年来, 胃癌的发病率呈逐年上升趋势, 目前已成为死亡率较高的恶性肿瘤之一^[1,2]。由于胃镜检查的痛苦大、技术含量高且费用昂贵, 不宜作为胃癌的筛查手段。有研究表明, 血清胃蛋白酶原(pepsinogen, PG)含量变化在胃癌筛查中具有重要意义, 故被称为血清学胃活检^[3,4], 已逐渐成为胃癌的筛查指标。但由于各研究结果的差异较大, 敏感度和特异度相差悬殊。为此, 本研究收集国内外已公开发表的与胃癌患者血清PG

测定相关的文献, 采用Meta分析, 客观评价PG在胃癌筛查中的应用价值, 以期临床开展血清PG筛查胃癌提供决策依据。

1 材料和方法

1.1 材料 计算机全面检索PubMed、EMBASE、中国知网(China National Knowledge Infrastructure, CNKI)、万方数据、维普数据(VIP Journal Integration Platform, VIP)、中国生物医学文献数据库(China Biology Medicine disc, CBM)等, 并辅助手工检索相关期刊, 检索时间均截至2013-12。检索采用主题词和自由词相结合的方式进行搜索。英文检索策略: (“psinogen”) AND (“gastric cancer” OR “Stomach Neoplasms” OR “Gastric Neoplasms” OR “Stomach Cancer”)。中文检索策略: (胃蛋白酶原) AND (胃癌 OR 胃恶性肿瘤)。所有研究对象限胃癌高发地区的常住居民, 文种限中、英文, 同时追溯所获文献的参考文献, 并手工检索相关文献。

1.2 方法

1.2.1 文献初步筛选: (1)在文献检索的结果中, 根据标题和摘要初步剔除明显不合格的文献; (2)下载全文, 对文献资料进行逐一阅读和分析, 进一步确定文献是否合格; (3)在阅读文献的过程中, 根据入选文献中的参考文献补充符合纳入标准的文献。

1.2.2 纳入标准: (1)研究类型为国内外公开发表的与血清PG含量检测对胃癌的诊断性试验; (2)所有研究均能够提取完整四格表数据的诊断性试验; (3)所有研究均以血清PG I/PG II比值和/或PG I水平作为评价胃癌的指标, 并给出明确诊断临界值; (4)所有病例均以病理或X线钡餐检查结果为金标准, 且结局指标包括敏感度(sensitivity, SEN)、特异度(specificity, SPE)、阳性似然比(positive likelihood ratio, LR+)、阴性似然比(negative likelihood ratio, LR-)、诊断比值比(diagnostic ratio, DOR)以及受试者工作特征曲线(summary receiver operating characteristic curve, SROC)下面积(area under the curve, AUC); (5)对同一作者的重复发表文献, 选择质量最高且样本量最大的一篇文献; (6)文献数据完整或根据报告结果能推算出分析所需数据。

1.2.3 排除标准: (1)会议摘要文献; (2)测量指标不明确文献; (3)未设计对照组的文献; (4)重要资料不全、重复报告、质量差、信息太少及无法利用的文献; (5)研究对象为已确诊的胃癌患

■研究前沿

血清PG检测在早期胃癌的筛查和病情监控中具有十分重要的作用, 被认为是胃黏膜状态的“血清学活检”, 近年来PG I和II逐渐成为胃癌生物学标志物的研究热点。

■ 相关报道

Dinis-Ribeiro等的一项研究纳入了300938例胃癌患者,结果显示PG I临界值为70 ng/mL, PG I和II比值的临界值为3.0, 敏感度为77.3%, 特异度为73.2%.

表 1 纳入研究的基本特征

研究	研究地区	n	年龄(岁)	金标准	TP	FP	FN	TN	临界值	检测方法
Yanaoka等 ^[1] 2008	日本	5209	40-60	X线 钡餐	37	1370	26	3776	PG I ≤ 70 ng/mL PG I / PG II ≤ 3.0	CT检查
于中麟等 ^[4] 2008	中国	2668	-	病理	60	276	88	2241	PG I ≤ 0.7 μg/mL PG I / PG II ≤ 3.0	自动生化分析仪
吕艳丽等 ^[8] 2013	中国	1505	40-69	病理	13	864	4	624	PG I ≤ 70 μg/mL PG I / PG II ≤ 7.5	ELISA
张志镒等 ^[9] 2012	中国	2005	40-69	病理	5	720	5	1275	PG I ≤ 70 ng/mL PG I / PG II ≤ 7.0	ELISA
袁媛 ^[10] 2012	中国	21338	10-87	病理	69	6560	39	14670	PG I / PG II ≤ 7.0	ELISA
徐巧莲等 ^[11] 2012	中国	1880	22-91	病理	43	146	15	839	PG I < 70 ng/mL PG I / PG II < 3.0	免疫比浊法
魏树利等 ^[12] 2012	中国	753	>35	病理	3	197	4	549	PG I ≤ 75 μg/mL PG I / PG II ≤ 3.5	免疫比浊法
Lomba-Viana等 ^[13] 2012	葡萄牙	13118	40-79	病理	6	268	3	237	PG I < 70 ng/mL PG I / PG II < 3.0	ELISA
张志镒等 ^[14] 2011	中国	918	>50	病理	3	197	4	714	PG I ≤ 70 μg/mL PG I / PG II ≤ 3.0	自动生化分析仪
刘卫东等 ^[15] 2011	中国	4556	40-69	病理	20	1329	3	1824	PG I / PG II ≤ 7.5	ELISA
相英花 ^[16] 2009	中国	733	40-69	病理	46	113	51	523	PG I ≤ 60 ng/mL PG I / PG II ≤ 5.0	自动生化分析仪
Mizuno等 ^[17] 2009	日本	12120	15-84	X线 钡餐	7	486	12	11615	PG I ≤ 30 ng/mL PG I / PG II ≤ 2.0	CT检查
Miki等 ^[18] 2009	日本	101892	-	病理	115	9021	10	4643	PG I ≤ 70 ng/mL PG I / PG II ≤ 3.0	RIA
Sun等 ^[19] 2007	中国	6990	11-82	病理	43	2246	37	4664	PG I / PG II < 6.9	ELISA
张祥宏 ^[20] 2006	中国	720	-	病理	18	38	105	559	PG I ≤ 60 μg / L PG I / PG II ≤ 6	TRFIA

TP: 真阳性; FP: 假阳性; FN: 假阴性; TN: 真阴性; PG: 胃蛋白酶原; RIA: 放射免疫分析; TRFIA: 时间分辨免疫分析法; ELISA: 酶联免疫吸附试验.

者; (6)血清PG联合其他检测指标如幽门螺杆菌等评价胃癌的诊断性试验.

1.2.4 文献筛选与资料提取: 由2位研究者根据纳入与排除标准独立进行文献筛选、资料提取, 而后交叉核对, 如遇分歧, 则通过讨论决定. 提取资料包括纳入研究的一般情况(包括问题、作者、年份、样本量、统计方法等), 研究对象特征(包括地区、性别、年龄等), 干预方法及结局指标, 包括真阳性(true positive, TP)、假阳性(false positive, FP)、假阴性(false negative, FN)、真阴性(true negative, TN)等.

1.2.5 文献质量评价: 应用评价诊断性研究质量的QUADAS工具^[5]评价纳入文献的质量, 每条目以“是”、“否”、“不清楚”来评价, “是”为满足此标准, “否”为不满足此标准, 部分满足或者从文章中无法得到足够的信息为“不清楚”.

统计学处理 采用Meta-DiSc1.4软件进行统计学分析, 效应量采用优势比OR值和95%CI^[6,7].

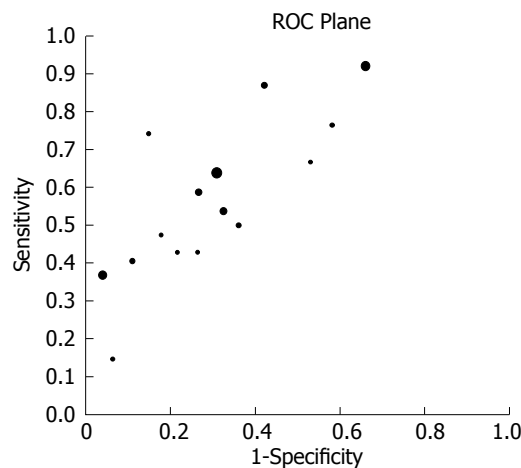
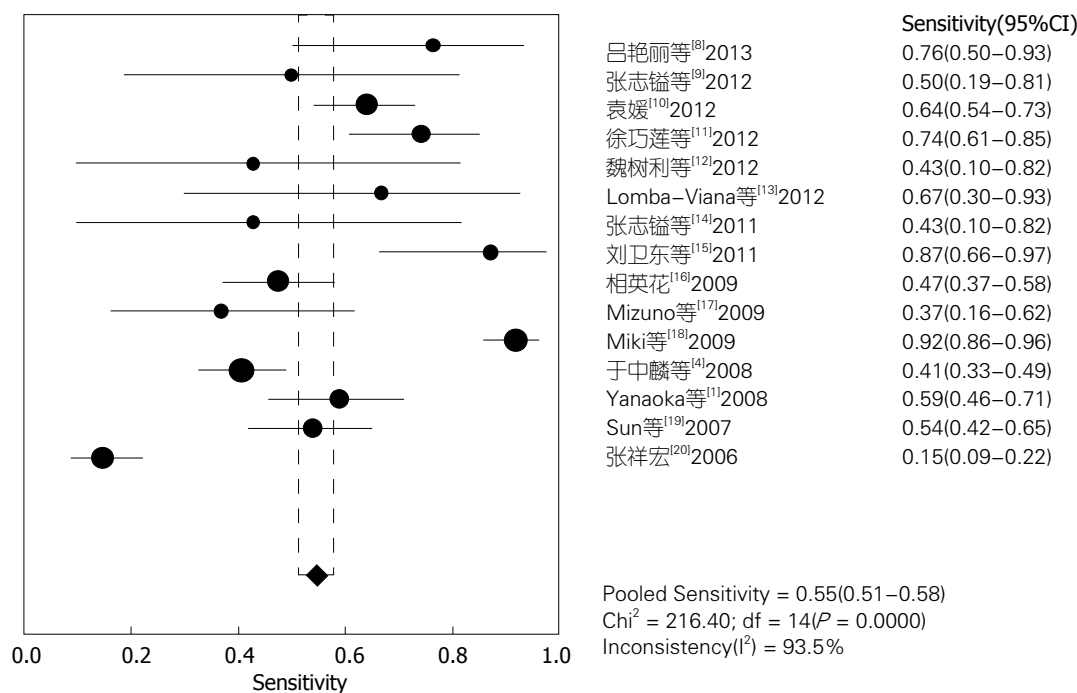
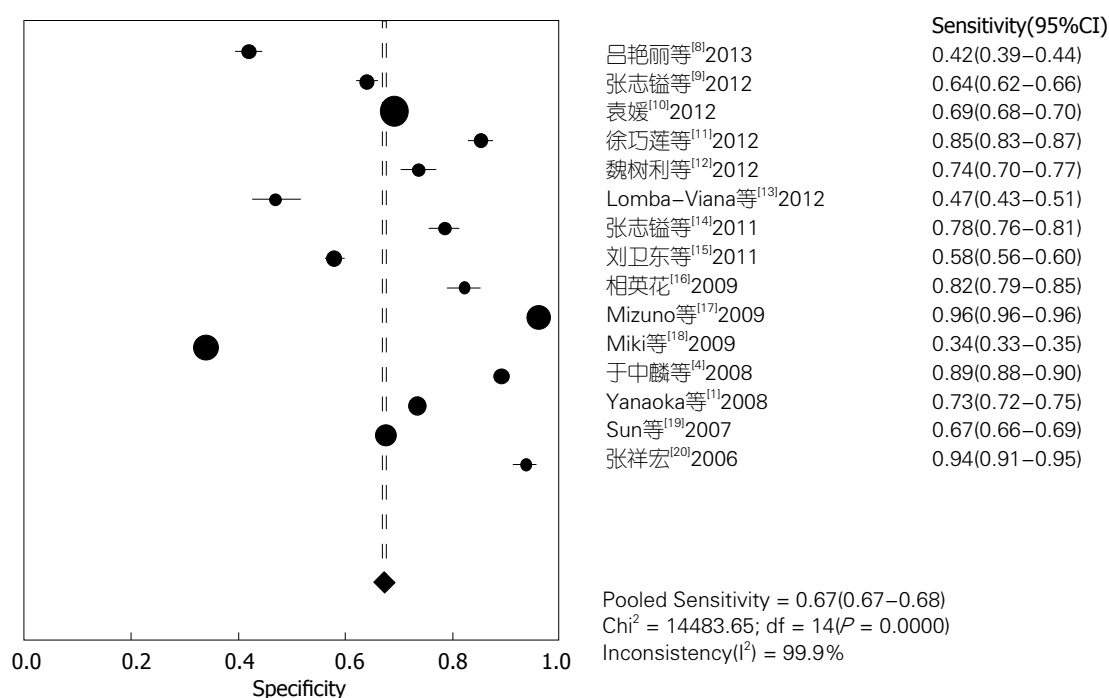


图 1 血清PG诊断胃癌的ROC平面散点图.

首先对资料进行同质性检验, 当各研究间有统计学同质性时($P>0.1$, $I^2<50\%$), 采用固定效应模型分析; 如存在统计学异质性($P<0.1$, $I^2>50\%$), 采用随机效应模型分析. 同时计算对照组H-W

图 2 血清PG诊断胃癌的SEN_{合并}系统分析.图 3 血清PG诊断胃癌的SPE_{合并}系统分析.

平衡, 然后应用Stata12.0软件进行Egger's和Begg's检验以评价发表偏倚. 检验水准 $\alpha = 0.05$. $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 文献检索结果 共检索到有关文献1659篇, 经逐层筛选后, 最终纳入15篇文献^[4,8-20], 其中13篇文

献^[4,8-16,18,19,20]的金标准为病理诊断, 2篇文献^[17,18]的金标准为X线钡餐诊断. 共184600例接受PG的筛查, 共86265例接受了金标准检测(其中68685例接受病理检测, 17580例接受X线钡餐检测). 纳入分析的各研究的基本特征如表1.

2.2 Meta分析结果

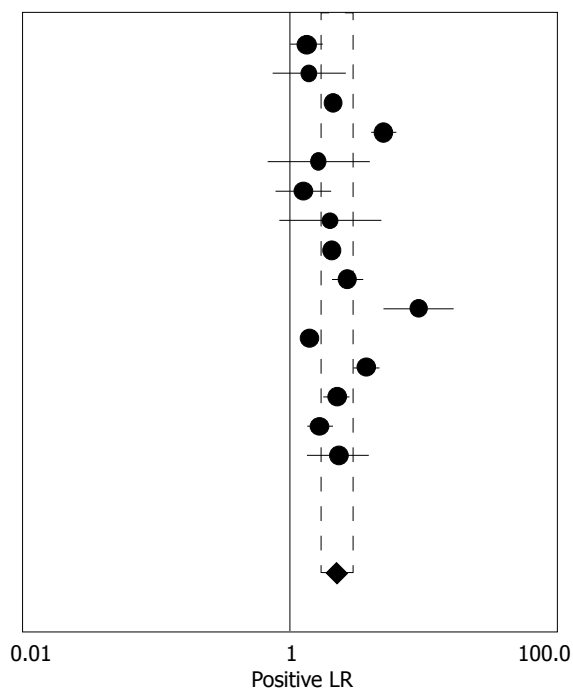
2.2.1 异质性分析: ROC平面散点图呈“肩臂

■应用要点

本研究结果显示, PG诊断胃癌时, 敏感度为55%(95%CI: 0.51-0.58)、特异度为67%(95%CI: 0.67-0.68), 阳性似然比为2.23, 阴性似然比为0.58, 诊断比值比为4.33, 受试者工作曲线下面积为0.73, 说明诊断效能中等, 具有一定的临床应用价值.

同行评价

本文通过Meta分析的方法,得出血清PG对胃癌诊断的敏感度和特异度一般,诊断效能中等。内容客观,分析方法成熟,观点真实,具有一定的科学意义。



	Positive LR(95%CI)
吕艳丽等 ^[8] 2013	1.32(1.01–1.72)
张志镒等 ^[9] 2012	1.39(0.74–2.58)
袁媛 ^[10] 2012	2.07(1.79–2.39)
徐巧莲等 ^[11] 2012	5.00(4.04–6.19)
魏树利等 ^[12] 2012	1.62(0.68–3.85)
Lomba-Viana等 ^[13] 2012	1.26(0.79–2.01)
张志镒等 ^[14] 2011	1.98(0.84–4.70)
刘卫东等 ^[15] 2011	2.06(1.75–2.43)
相英花 ^[16] 2009	2.67(2.04–3.49)
Mizuno等 ^[17] 2009	9.17(5.06–16.63)
Miki等 ^[18] 2009	1.39(1.32–1.47)
于中麟等 ^[4] 2008	3.70(2.95–4.63)
Yanaoka等 ^[1] 2008	2.21(1.78–2.73)
Sun等 ^[19] 2007	1.65(1.35–2.03)
张祥宏 ^[20] 2006	2.30(1.36–3.89)

Random Effects Model

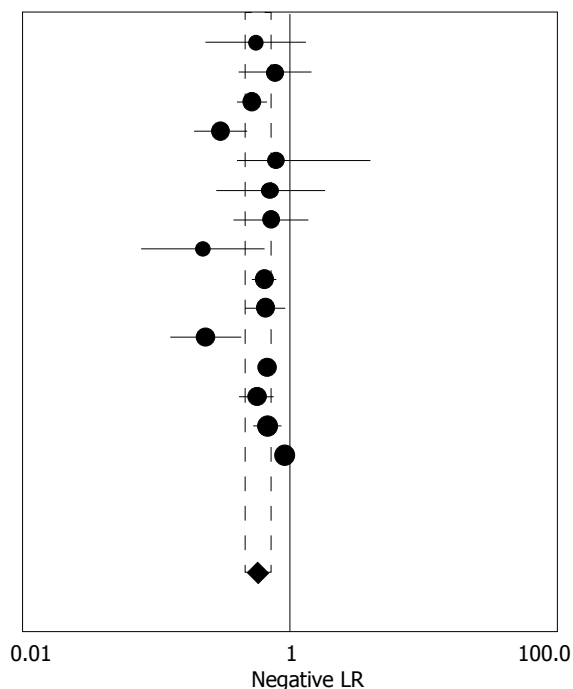
Pooled Positive LR = 2.23(1.71–2.92)

Chi² = 330.69; df = 14(P = 0.0000)

Inconsistency(I²) = 95.8%

Tau² = 0.2409

图4 血清PG诊断胃癌的LR+系统分析.



	Negative LR(95%CI)
吕艳丽等 ^[8] 2013	0.56(0.24–1.32)
张志镒等 ^[9] 2012	0.78(0.42–1.46)
袁媛 ^[10] 2012	0.52(0.41–0.67)
徐巧莲等 ^[11] 2012	0.30(0.20–0.47)
魏树利等 ^[12] 2012	0.78(0.41–1.48)
Lomba-Viana等 ^[13] 2012	0.71(0.28–1.80)
张志镒等 ^[14] 2011	0.73(0.38–1.39)
刘卫东等 ^[15] 2011	0.23(0.08–0.65)
相英花 ^[16] 2009	0.64(0.53–0.78)
Mizuno等 ^[17] 2009	0.66(0.47–0.93)
Miki等 ^[18] 2009	0.24(0.13–0.43)
于中麟等 ^[4] 2008	0.67(0.58–0.76)
Yanaoka等 ^[1] 2008	0.56(0.42–0.76)
Sun等 ^[19] 2007	0.69(0.54–0.87)
张祥宏 ^[20] 2006	0.91(0.84–0.98)

Random Effects Model

Pooled Negative LR = 0.58(0.46–0.73)

Chi² = 134.08; df = 14(P = 0.0000)

Inconsistency(I²) = 89.6%

Tau² = 0.1401

图5 血清PG诊断胃癌的LR-系统分析.

形”外观,且相关系数 $r = 0.810$, $P = 0.000$,说明敏感度和特异度间存在正相关关系,即存在阈值效应(图1),DOR森林图中每一研究的诊断比值比与合并诊断比值比并不沿同一直线分布,且Cochran-Q = 44.64, $P = 0.0000$,说明存在由非阈值效应引起的异质性。

2.2.2 血清PG诊断胃癌的敏感度和特异度: 异质

性检验结果显示各研究间存在统计学异质性, $\chi^2 = 28.65$, $P = 0.021$, $I^2 = 75\%$,故采用随机效应模型进行合并分析。Meta分析结果显示,敏感度SEN合并 = 0.55(95%CI: 0.51–0.58),特异度SPE合并 = 0.67(95%CI: 0.67–0.68),说明以PG检测结果来诊断胃癌,其漏诊率(1-敏感度)为45%,误诊率(1-特异度)为33%(图2, 3)。

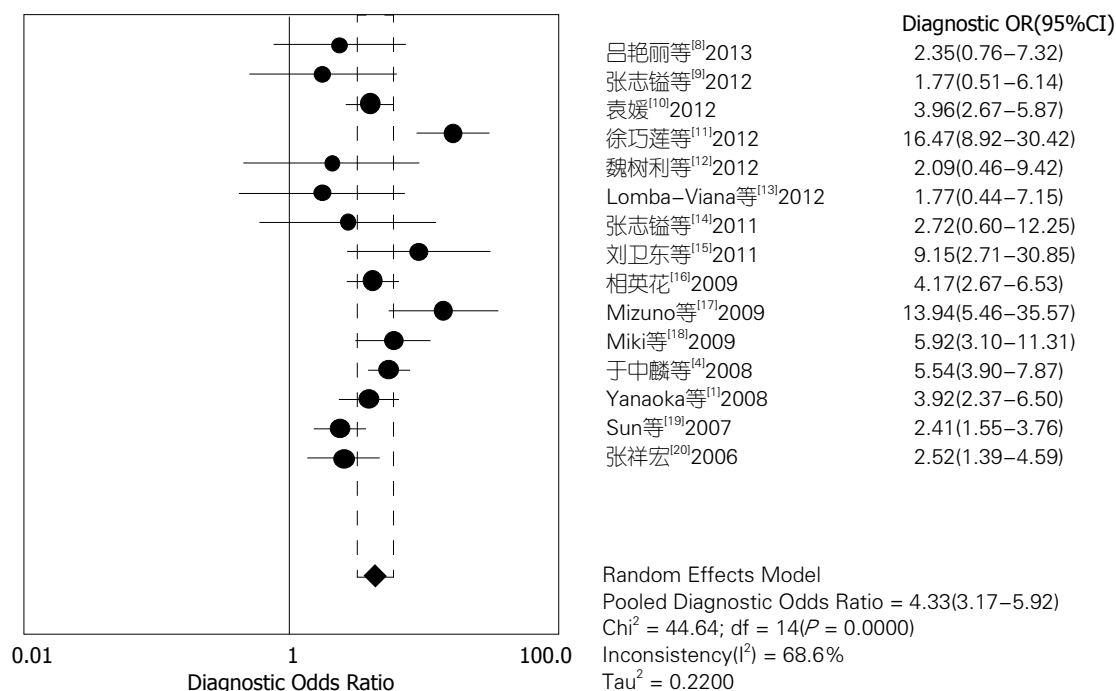


图6 血清PG诊断胃癌的DOR系统分析。

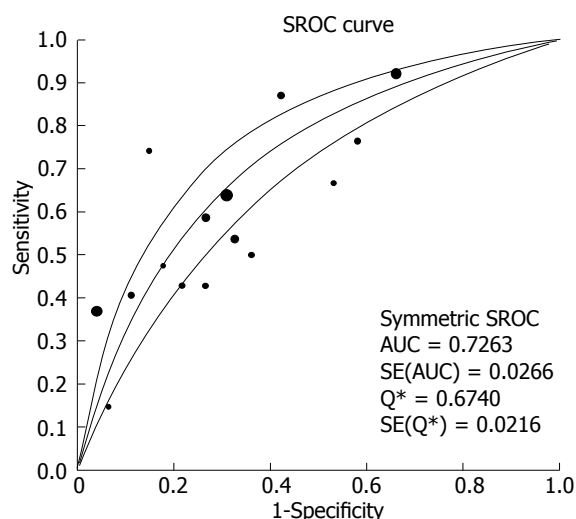


图7 血清PG诊断胃癌的SROC曲线系统分析。

2.2.3 血清PG诊断胃癌的似然比: 异质性检验结果显示各研究间存在统计学异质性, $\chi^2 = 32.41$, $P = 0.001$, $I^2 = 80\%$, 故采用随机效应模型进行合并分析。Meta分析结果显示, $LR+合并 = 2.23(95\%CI: 1.71-2.92) > 1$, 说明血清PG诊断胃癌时, 有患胃癌的可能性; 而 $LR-合并 = 0.58(95\%CI: 0.46-0.73) < 1$, 说明血清PG诊断非胃癌时, 也不能排除患胃癌的可能性(图4, 5)。

2.2.4 血清PG诊断胃癌的DOR: Meta分析结果显示, $DOR = 4.33(95\%CI: 3.17-5.92)$, 说明血清PG对胃癌的诊断具有一定的准确性(图6)。

2.2.5 血清PG诊断胃癌的SROC及AUC: Meta分析结果显示, 曲线下面积 $AUC = 0.73$, 指数 $Q = 0.67$, 说明PG诊断胃癌的效能中等(图7)。

3 讨论

PG有I、II两个亚群, 胃蛋白酶I主要由胃底腺的主细胞和黏液细胞分泌, 胃蛋白酶II除上述细胞分泌外, 还来源于幽门腺及十二指肠腺。约80%-90%PG进入胃腔, 但也有约10%-20%透过胃黏膜毛细血管进入血液中, 故可以从血清中检测^[21,22]。因此, PG的含量变化能够反映出胃黏膜形态和功能变化, 可作为胃癌的筛查指标。

本研究的样本量为184600例, Meta分析结果显示, SEN 为55%(95%CI: 0.51-0.58)、 SPE 为67%(95%CI: 0.67-0.68), $LR+$ 为2.23, $LR-$ 为0.58, DOR 为4.33, AUC 为0.73, 说明用血清PG诊断胃癌时, 漏诊率(1-敏感度)为45%, 误诊率(1-特异度)为33%, 诊断效能中等, 具有一定的临床应用价值。与Dinis-Ribeiro等^[23]的研究结果有较大差异, 这可能是由于原始研究所选择的人群、地区、临界值、检测方法以及金标准等方面均存在较大的差别所导致。此外, 以下原因也可能导致分析结果的差异性: (1)可能存在一定程度的文献选择偏倚; (2)可能存在一定程度的文献发表偏倚; (3)可能存在不同仪器检测的系统误

差; (4)纳入原始研究的质量参差不齐; (5)纳入研究的文献数量有限。

总之,血清PG检测在一定程度上有助于胃癌的诊断,但诊断价值有待进一步商榷。若要为临床提供准确证据,尚需大量高质量研究予以证实。

4 参考文献

- 1 Yanaoka K, Oka M, Mukoubayashi C, Yoshimura N, Enomoto S, Iguchi M, Magari H, Utsunomiya H, Tamai H, Arai K, Ohata H, Fujishiro M, Takeshita T, Mohara O, Ichinose M. Cancer high-risk subjects identified by serum pepsinogen tests: outcomes after 10-year follow-up in asymptomatic middle-aged males. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008; 17: 838-845 [PMID: 18398025 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-07-2762]
- 2 郑朝旭, 郑荣寿, 陈万青. 中国2009年胃癌发病与死亡分析. *中国肿瘤* 2013; 22: 327-332
- 3 Ohata H, Oka M, Yanaoka K, Shimizu Y, Mukoubayashi C, Mugitani K, Iwane M, Nakamura H, Tamai H, Arai K, Nakata H, Yoshimura N, Takeshita T, Miki K, Mohara O, Ichinose M. Gastric cancer screening of a high-risk population in Japan using serum pepsinogen and barium digital radiography. *Cancer Sci* 2005; 96: 713-720 [PMID: 16232204 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2005.00098.x]
- 4 于中麟, 冀明, 杨迅, 张澍田, 黄晓俊, 张志镒, 吴正奇, 徐红, 熊元治, 马颖才. 血清胃蛋白酶原对胃癌普查的价值探讨. *中华消化内镜杂志* 2008; 25: 512-515
- 5 Whiting PF, Rutjes AW, Westwood ME, Mallett S, Deeks JJ, Reitsma JB, Leeflang MM, Sterne JA, Bossuyt PM. QUADAS-2: a revised tool for the quality assessment of diagnostic accuracy studies. *Ann Intern Med* 2011; 155: 529-536 [PMID: 22007046 DOI: 10.7326/0003-4819-155-8-201110180-00009]
- 6 张晓光, 帕丽达·帕尔哈提, 张雨, 娜迪热·铁列吾汗. 彩色多普勒超声对女性乳腺癌诊断价值的Meta分析. *中国循证医学杂志* 2013; 13: 1073-1079
- 7 张天嵩, 钟文昭. Meta-DiSc软件在诊断试验Meta分析中的应用. *循证医学* 2008; 8: 97-100
- 8 吕艳丽, 李毅, 刘光顺, 吴齐, 刘卫东, 李士杰, 曹长琦, 吴秀贞, 刘冬梅. 胃癌高发区血清胃蛋白酶原初筛加高危人群胃镜检查方案与直接胃镜筛查方案的效果比较. *中华肿瘤杂志* 2013; 35: 394-397
- 9 张志镒, 吴正奇, 卢林芝, 赵光源, 刘金殿, 李世华, 王希萍, 张丽萍, 卢翠玲, 吴翠花. 食管癌、胃癌均高发地区应用内镜对上消化道癌筛查的探讨. *中国肿瘤* 2012; 21: 906-909
- 10 袁媛. 1997-2011年辽宁省庄河地区胃癌高危人群筛查效果评估. *中华肿瘤杂志* 2012; 34: 538-542
- 11 徐巧莲, 万小勇, 杜燕, 江洁, 巫开文, 陈隆典. 血清胃蛋白酶原检测在胃癌筛查中的价值. *胃肠病学* 2012; 17: 614-617
- 12 魏树利, 常云波, 王建文. 胃蛋白酶原及其亚型含量测定在胃癌等胃部疾患中的诊断价值. *现代中西医结合杂志* 2012; 21: 1414-1415
- 13 Lomba-Viana R, Dinis-Ribeiro M, Fonseca F, Vieira AS, Bento MJ, Lomba-Viana H. Serum pepsinogen test for early detection of gastric cancer in a European country. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2012; 24: 37-41 [PMID: 21989121 DOI: 10.1097/MEG.0b013e32834d0a0a]
- 14 张志镒, 王贵齐, 吴正奇, 卢林芝, 贺舜, 赵光源, 刘金殿. 血清胃蛋白酶原检测在胃癌及其癌前病变筛查中的价值. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 1511-1514
- 15 刘卫东, 赵永富, 王建玺, 张兰福, 郭超, 李毅, 王学范, 陈立军, 韩忠祥, 马峻岭, 张联, 游伟程. 血清胃蛋白酶原及胃镜检查用于胃癌早诊筛查的探索性研究. *中华预防医学杂志* 2011; 45: 752-753
- 16 相英花, 杨永耿, 熊元治, 沈有秀, 马丽莉, 兰生梅, 杜鹃, 李英存, 蔡宏澜. 血清胃蛋白酶原筛查高原农牧区成年人胃癌前病变和胃癌标准的初步研究. *高原医学杂志* 2009; 19: 19-23
- 17 Mizuno S, Kobayashi M, Tomita S, Miki I, Masuda A, Onoyama M, Habu Y, Inokuchi H, Watanabe Y. Validation of the pepsinogen test method for gastric cancer screening using a follow-up study. *Gastric Cancer* 2009; 12: 158-163 [PMID: 19890696 DOI: 10.1007/s10120-009-0522-y]
- 18 Miki K, Fujishiro M, Kodashima S, Yahagi N. Long-term results of gastric cancer screening using the serum pepsinogen test method among an asymptomatic middle-aged Japanese population. *Dig Endosc* 2009; 21: 78-81 [PMID: 19691778 DOI: 10.1111/j.1443-1661.2009.00839.x]
- 19 Sun LP, Gong YH, Wang L, Yuan Y. Serum pepsinogen levels and their influencing factors: a population-based study in 6990 Chinese from North China. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 6562-6567 [PMID: 18161928]
- 20 张祥宏, 黄飏, 王俊灵, 李月红, 米建发, 申海涛, 张志刚, 严霞, 邢凌霄, 王士杰. 胃癌高发区居民血清胃蛋白酶原水平与胃黏膜病变的关系. *中华肿瘤杂志* 2006; 28: 507-511
- 21 王北宁, 杨剑, 徐东, 陈智周, 范振符, 张昊岩, 黄丽立. 胃蛋白酶原 I、II 的酶免疫分析. 标记免疫分析与临床 2006; 13: 162-164
- 22 Miki K, Ichinose M, Kakei N, Yahagi N, Matsushima M, Tsukada S, Ishihama S, Shimizu Y, Suzuki T, Kurokawa K. The clinical application of the serum pepsinogen I and II levels as a mass screening method for gastric cancer. *Adv Exp Med Biol* 1995; 362: 139-143 [PMID: 8540312]
- 23 Dinis-Ribeiro M, Yamaki G, Miki K, Costa-Pereira A, Matsukawa M, Kurihara M. Meta-analysis on the validity of pepsinogen test for gastric carcinoma, dysplasia or chronic atrophic gastritis screening. *J Med Screen* 2004; 11: 141-147 [PMID: 15333273 DOI: 10.1258/0969141041732184]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



胰岛素样生长因子-1及其受体在胃癌中的表达及临床意义

曹友红, 许春芳, 马平, 张晓琦

曹友红, 马平, 江苏省南京市高淳人民医院消化科 江苏省南京市 211300

许春芳, 江苏省苏州大学附属第一医院消化科 江苏省苏州市 215006

张晓琦, 南京大学医学院附属鼓楼医院消化科 江苏省南京市 210008

曹友红, 主治医师, 主要从事消化系统肿瘤的基础及临床应用方向的研究。

江苏省医学临床科技发展基金资助项目, No.

JLY20120104

作者贡献分布: 此文课题思路及论文撰写由曹友红与许春芳完成; 实验部分由曹友红与马平完成; 许春芳与张晓琦负责全文理论指导; 数据分析由曹友红完成。

通讯作者: 许春芳, 教授, 主任医师, 215006, 江苏省苏州市姑苏区十梓街188号, 江苏省苏州市苏州大学附属第一医院消化科。

xcf601@163.com

收稿日期: 2014-05-22 修回日期: 2014-06-10

接受日期: 2014-06-19 在线出版日期: 2014-08-08

Clinical significance of expression of IGF-1R and IGF-1 in gastric cancer

You-Hong Cao, Chun-Fang Xu, Ping Ma, Xiao-Qi Zhang

You-Hong Cao, Ping Ma, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Gaochun, Nanjing 211300, Jiangsu Province, China

Chun-Fang Xu, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215006, Jiangsu Province, China

Xiao-Qi Zhang, Department of Gastroenterology, the Drum Tower Hospital Affiliated to Nanjing University, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China

Supported by: Jiangsu University Medical Clinical Science and Technology Development Fund, No. JLY20120104

Correspondence to: Chun-Fang Xu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Soochow University, 188 Shizi Street, Gusu District, Suzhou 215006, Jiangsu Province, China. xcf601@163.com

Received: 2014-05-22 Revised: 2014-06-10

Accepted: 2014-06-19 Published online: 2014-08-08

Abstract

AIM: To investigate the expression of insulin-like growth factor type 1 receptor (IGF-1R) and IGF-1 in gastric cancer and to analyze the relationship between their expression and the clinicopathologic features.

METHODS: The expression of IGF-1R and IGF-1 proteins was detected by immunohistochemistry in 70 gastric cancer tissues and matched tumor adjacent tissues. The relationship between the expression of IGF-1R and IGF-1 and clinicopathologic parameters including gender, age, tumor diameter, site, differentiation, Borrmann type, infiltration depth, lymph node metastasis and TNM stage was then analyzed.

tochemistry in 70 gastric cancer tissues and matched tumor adjacent tissues. The relationship between the expression of IGF-1R and IGF-1 and clinicopathologic parameters including gender, age, tumor diameter, site, differentiation, Borrmann type, infiltration depth, lymph node metastasis and TNM stage was then analyzed.

RESULTS: The positive rates of IGF-1R/IGF-1 expression in gastric cancer (55.17%/52.86%) were significantly higher than those in control tissue (25.00%/15.63%) ($P < 0.05$). IGF-1R expression was closely correlated with tumor differentiation, infiltration depth, lymph node metastasis and TNM stage ($P < 0.05$). IGF-1 expression was closely correlated with tumor infiltration depth, lymph node metastasis and TNM stage ($P < 0.05$). The expression of IGF-1R was positively correlated with that of IGF-1 in gastric cancer ($r = 0.310$, $P < 0.01$).

CONCLUSION: Over-expression of IGF-1R exists in gastric cancer and is correlated with tumor differentiation, infiltration depth, lymph node metastasis and TNM stage. Over-expression of IGF-1 also exists in gastric cancer and is correlated with infiltration depth, lymph node metastasis and TNM stage. Overexpression of IGF-1R and IGF-1 may be related to the development of gastric cancer. There is a positive correlation between IGF-1R and IGF-1 expression in gastric cancer, suggesting a synergistic effect between them in the development of gastric cancer. They may become new markers for gastric cancer.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Insulin-like growth factor type 1 receptor; Insulin-like growth factor type 1; Gastric cancer; Immunohistochemistry

Cao YH, Xu CF, Ma P, Zhang XQ. Clinical significance of expression of IGF-1R and IGF-1 in gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(22): 3307-3315 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3307.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3307>

■背景资料

胃癌在我国是最常见的恶性肿瘤之一, 为常见癌症发生第2位及癌症死因第3位; 近5年, 我国每年新发胃癌病例达40万左右, 占全球发病率的42%, 且发病率以每年1.6%的幅度逐渐攀升; 胃癌早期常无特异性临床表现, 绝大多数患者确诊时已属中晚期, 预后较差。因此寻找能灵敏预警胃癌发生发展的生物学标志显得尤为重要。

■同行评议者

傅红, 副教授, 上海复旦大学肿瘤医院肿瘤外科

■研究前沿

本文重点就胰岛素样生长因子-1受体(insulin-like growth factor type 1 receptor, IGF-1R)、胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor type 1, IGF-1)在胃癌中的表达及临床意义做出了详细研究。

摘要

目的: 探讨胰岛素样生长因子-1受体(insulin-like growth factor type 1 receptor, IGF-1R)、胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor type 1, IGF-1)表达与临床病理特征之间的关系。

方法: 采用免疫组织化学的方法检测IGF-1R、IGF-1在70例胃癌组织及部分相应癌旁组织中的表达,结合患者的性别、年龄、肿瘤大小、部位、分化程度、Borrmann分型、浸润深度、淋巴结转移和TNM分期等临床病理参数进行综合分析。

结果: 胃癌组织和癌旁组织中IGF-1R、IGF-1蛋白阳性表达分别为39例(55.71%)、8例(25.00%)和37例(52.86%)、5例(15.63%),差别有统计学意义($P<0.05$); IGF-1R在低分化组阳性表达与中高分化组阳性表达两组间比较差异有统计学差异($P<0.05$, $\chi^2 = 4.124$); IGF-1R、IGF-1在T1组、T2组、T3组、T4组阳性表达四组间有统计学差异($P<0.05$); IGF-1R、IGF-1在无淋巴结转移组与有淋巴结转移组中阳性表达,两者间比较有显著统计学差异($P<0.05$); IGF-1R、IGF-1在Ⅰ+Ⅱ期与Ⅲ+Ⅳ组内阳性表达两组间表达比较差异有显著统计学差异($P<0.05$); IGF-1R阳性表达与患者的性别、年龄、肿瘤大小、部位及Borrmann分型均无明显相关($P>0.05$), IGF-1阳性表达与患者的性别、年龄、肿瘤大小、部位、分化程度及Borrmann分型均无明显相关($P>0.05$)。经Spearman秩相关分析, IGF-1R与IGF-1在胃癌组织的表达呈正相关($r = 0.310$, $P<0.01$)。

结论: IGF-1R、IGF-1在胃癌组织中存在过表达,在评估胃癌的发生、发展中有一定的临床价值。IGF-1R表达水平与肿瘤组织分化程度、浸润深度、淋巴结有无转移、TNM分期有关, IGF-1表达水平与肿瘤浸润深度、淋巴结有无转移、TNM分期有关。IGF-1R与IGF-1在胃癌组织中的表达呈正相关性,两者在胃癌的发生发展中起协同作用,未来可能会成为胃部肿瘤新型标志物。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胰岛素样生长因子-1受体; 胰岛素样生长因子-1; 胃癌; 免疫组织化学

核心提示: 胰岛素样生长因子-1受体(insulin-like growth factor type 1 receptor, IGF-1R)、胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor type 1, IGF-1)在胃癌筛查诊断、病情发展评估及预后生

存情况等方面有着一定的参考价值,有望成为监测胃癌诊疗水准的新型标志物。随着在分子水平上对IGF-1R、IGF-1的进一步深入研究,有望找到抑制IGF-1R、IGF-1信号传导通路上的靶点,从而为胃癌的诊疗提供更有效的方法。

曹友红, 许春芳, 马平, 张晓琦. 胰岛素样生长因子-1及其受体在胃癌中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(22): 3307-3315 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3307.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i22.3307>

0 引言

胃癌在我国是最常见的恶性肿瘤之一,约占胃部恶性肿瘤的95%,尽管近十余年胃癌全球发病率略有下降^[1],但发展中国家依然是高发,死亡率亦较高,目前在全球范围内每年确诊的新发恶性肿瘤中,胃癌位居第4位,死亡率居第2位^[1,2],而在我国胃癌是位居第2位的常见癌症及位居第3位的癌症死因。近5年来,我国每年新发胃癌病例达40万左右,占全球发病率的42%,目前,我国的胃癌患者总数占全球胃癌患者总数的40%,且发病率以每年1.6%的幅度逐渐攀升^[3],与发达国家发病率呈相反趋势,故我国在胃癌的诊治能力需更进一步提升,此外胃癌早期常无明显特异性临床表现,绝大多数患者确诊时已属中晚期,预后较差。因此寻找能灵敏预警胃癌发生发展的生物学标志显得尤为重要^[4],以期能提高胃癌的诊断治疗水平和患者存活率。胰岛素样生长因子-1受体(insulin-like growth factor type 1 receptor, IGF-1R)是一种跨膜的酪氨酸激酶蛋白,在核糖体内合成,组成结构与胰岛素受体具有高度的异体同源性,由 α 、 β 两个亚单位组成一种四亚基结构。IGF-1R的信号转导可导致正常细胞的恶性转化及细胞黏附特性的改变。Chen等^[5]指出IGF-1R在肿瘤的发生及发展中有着重要的角色,在大部分恶性组织内有明显高表达。国内外学者目前对IGF-1R在恶性肿瘤中的应用研究较多,但主要集中于尤文氏肉瘤、肺部肿瘤、恶性神经系统肿瘤、妇科肿瘤、胸腺瘤、胃肠道间质瘤(gastrointestinal stromal tumors, GIST)等,对胃癌中IGF-1R的表达及相关意义的研究较少。胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor type 1, IGF-1)是一种促生长因子,又称生长激素介质或机械生长因子,为一种分泌蛋白,由IGF-1基因编码生成,分子结构类似于胰岛素,大部分IGF-1由肝脏分泌,表达受限于

生长激素, IGF-1的重要作用在调节早期细胞中2脱氧葡萄糖转运和糖原合成, IGF-1在人体内以较低剂量就能有效刺激糖原转化及DNA合成. 当机体细胞内过分表达IGF-1时, 细胞即会向恶性表型表达增殖; 在细胞周期中, IGF-1R、IGF-1发挥作用为增殖 G_1/G_0 细胞数, 加速细胞周期增殖的进程; 故从胃癌细胞周期逐步进展的不同阶段及方向去研究与细胞过度增殖相关因子的表达情况, 可能会得出这几种蛋白因子与胃癌发生发展的相关作用. 我们通过选录本院胃癌患者的临床病理资料, 观察IGF-1R、IGF-1在胃癌中的表达及与癌灶的大小、部位、浸润深度、淋巴结转移、TNM分期等参数间的关系, 以期探讨其在胃癌中的可能作用及临床意义.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2011-12/2012-12江苏省南京市高淳人民医院普外科手术中切除的胃癌标本70例为, 32例取到相应癌旁5 cm处正常胃黏膜组织作为对照, 所有胃癌组织均经过HE染色后病理证实; 纳入本实验内患者其中男48例, 女22例. 年龄最小35岁, 最大81岁, 平均年龄 65.0 ± 9.3 岁. 肿瘤分化分级依据世界卫生组织(World Health Organization, WHO)(2010年)推荐标准, 70例胃癌中胃低分化腺癌41例(59%), 中高分化腺癌29例(41%). 根据Borrmann分型, I、II、III、IV型分别有11例(16%)、17例(24%)、29例(41%)、13例(19%). 70例胃癌中: 贲门胃底处15例(22%)、胃体胃角处19例(27%)、胃窦幽门部36例(51%). 根据2010年国际抗癌联盟/美国癌症联合委员会(UICC/AJCC)TNM分期: I+II期32例(46%), III+IV期38例(54%). 所有患者诊断前及术前均未接受药物化疗(新辅助性化疗PC)或其他治疗. IGF-1R α 兔抗人单克隆抗体由武汉博士德生物技术有限公司生产(工作浓度为1:100); IGF-1R α 亚单位试剂盒产品目录号为BA0498, 批号: 9H206C; IGF-1兔抗人单克隆抗体由武汉博士德生物技术有限公司生产(工作浓度为1:100); 产品目录号为: BA0939, 批号: 67810D273; PBS缓冲液、DAB显色剂、柠檬酸盐缓冲液、PV-9000试剂盒品名通用型Polymer Ki购自北京中杉公司.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学: 步骤按照试剂盒说明书操作, 实验结果阳性对照以武汉博士德生物技术

有限公司提供的已知标记上述抗体的胃癌阳性切片, 阴性对照以PBS代替一抗作为参照. 具体操作如下: 肿瘤石蜡组织及癌旁组织用Leica RM2235切片机进行连续每4 μm 切片, 切片后捞片, 于62 $^{\circ}\text{C}$ YABO200漂烘片机烤片备用, 脱蜡两次, 高压法进行预处理抗原, 冲洗3次, 滴加一抗, 室温下培育60 min, 第二抗体滴加, 室温培育30 min, PBS冲洗3次, 每次2 min, 滴加链霉素卵白素工作液, 室温培育30 min, PBS冲洗3次, 每次2 min, 滴加DAB显色剂, 37 $^{\circ}\text{C}$ 显色观察, 蒸馏水充分冲洗, 苏木精复染30 s, 1%盐酸乙醇分化及脱水, 二甲苯透明, 中性树脂封周, 显微镜下观察分析及记录结果.

1.2.2 IGF-1R、IGF-1结果的判断: 阳性细胞染色呈棕黄色或棕褐色, IGF-1R阳性染色主要定位于细胞质和细胞膜, 少部分定位于细胞核; IGF-1阳性染色主要定位于细胞质中, 少部分定位于细胞核. IGF-1R/IGF-1在胃癌组织细胞中免疫组织化学染色结果判断标准参照双评分半定量法进行评定. 每张切片上在 $\times 400$ 高倍视野上随机观察5个视野, 每个视野分两步观察计数, 首先判断阳性细胞染色深度(0为未见染色, 1为轻度染色, 2为中度染色, 3为深度染色), 其次计数阳性细胞百分率(0分表示0-5%细胞着色, 1分表示5%-25%细胞着色, 2分表示25%-50%细胞着色, 3分表示50%-75%细胞着色, 4分表示>75%细胞着色), 最后以染色强度计分之和加上阳性细胞百分比计分之和所得总分进行染色结果判定, 0-1分判断为阴性(-), 2-3分判断为弱阳性(+), 4-5分判断为阳性(++), >6分判断为强阳性(+++). 两种评分综合评估后统一作出结果. 两个项目分析均用PBS代替一抗作阴性对照. 阳性对照照片则由二种试剂公司分别提供. 每张病理切片由两位经验丰富的病理专科医师进行阅片后独立判断.

统计学处理 统计学处理采用SPSS17.0统计分析软件, IGF-1R、IGF-1表达在胃癌与癌旁组织之间的差异性比较采用两个(多个)样本率的 χ^2 检验(部分为Fisher精确概率法), 多样本数据差异比较采用Kruskal-Wallis检验, 计数阳性率以百分比表示. IGF-1R和IGF-1在胃癌中的表达相关性用Spearman等级进行相关性分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 胃癌组织及癌旁组织中IGF-1R、IGF-1的表达 IGF-1R蛋白阳性表达定位于胃癌组织细胞

■ 相关报道

胃癌的早期诊断治疗目前特异性生物学标志有CEA、CA724等相关癌性指标.

■创新盘点

本文较系统的总结了胃癌组织中存在IGF-1R、IGF-1的表达升高现象,同时对胃癌组织中的IGF-1R、IGF-1表达与临床病理特征做了较深刻的分析.

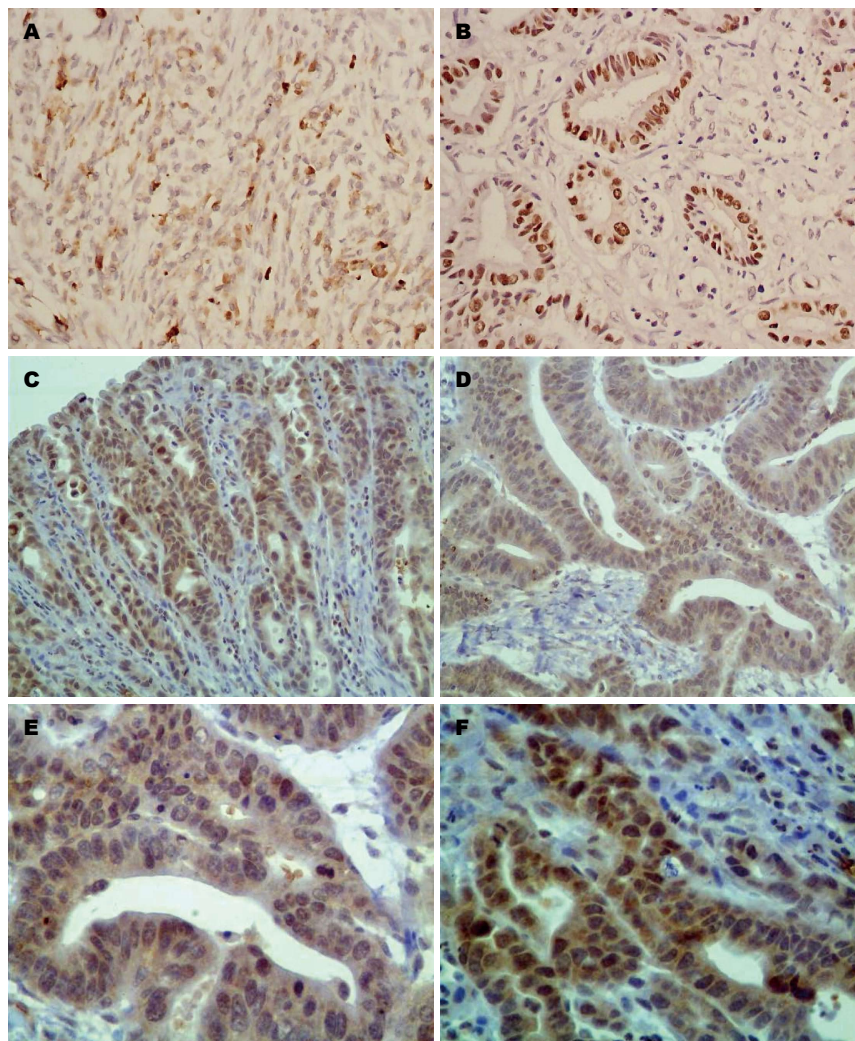


图1 免疫组织化学结果. A: 胃低分化腺癌细胞质、部分细胞膜(PV-9000二步法 $\times 400$); B: 胃高分化腺癌细胞核(PV-9000二步法 $\times 400$); C: 胃中分化腺癌细胞质和少部分细胞核(PV-9000二步法 $\times 200$); D: 胃中分化腺癌细胞质和少部分细胞核(PV-9000二步法 $\times 200$); E: 胃中分化腺癌细胞质及少部分细胞核中呈阳性表达(PV-9000二步法 $\times 400$); F: 胃中分化腺癌细胞质及少部分细胞核(PV-9000二步法 $\times 400$).

质、细胞膜及少部分细胞核(图1A, B), IGF-1蛋白阳性表达定位于胃癌组织细胞质、及少部分细胞核中(图1C-F). 胃癌组织和癌旁组织中IGF-1R蛋白阳性表达分别为39例(55.71%)、8例(25.00%), 二者差别有统计学意义($P < 0.05$); 胃癌组织和癌旁组织中IGF-1蛋白的阳性表达分别为37例(52.86%)、5例(15.63%), 差异有统计学意义($P < 0.01$)(表1).

2.2 胃癌组织中IGF-1R和IGF-1的表达与临床病理特征关系 IGF-1R蛋白在胃癌组织分化程度比较中低分化组阳性表达率为65.85%(27/41), 中高分化组阳性表达率为41.38%(12/29), 两组间比较差异有统计学差异($P < 0.05$, $\chi^2 = 4.124$); IGF-1R蛋白在胃癌组织浸润深度分组比较中T1组阳性表达率为30.00%(3/10), T2组阳性表达率为31.25%(5/16), T3组阳性表达率为

71.43%(25/35), T4组阳性表达率为66.67%(6/9), 4组间表达有统计学差异($P < 0.05$, $\chi^2 = 10.351$); IGF-1R蛋白在胃癌组织无淋巴结转移组中阳性表达率为34.48%(10/29), 有淋巴结转移组中阳性表达率为70.73%(29/41), 两者间比较有显著统计学差异($P < 0.01$, $\chi^2 = 9.046$); IGF-1R蛋白在胃癌组织TNM分期分组比较中I+II期阳性表达率为37.50%(12/32), III+IV组内阳性表达率为71.05%(27/38), 两组间表达比较差异有显著统计学差异($P < 0.01$, $\chi^2 = 7.926$); IGF-1R蛋白阳性表达与患者的性别、年龄、肿瘤大小、部位及Borrmann分型均无明显相关($P > 0.05$). IGF-1蛋白在胃癌组织浸润深度分组比较中T1组阳性表达率为20.00%(2/10), T2组阳性表达率为37.50%(6/16), T3组阳性表达率为62.86%(22/35), T4组阳性表达率为77.78%(7/9), 4组间表达有统

表 1 胃癌及癌旁组织中IGF-1R、IGF-1的表达

组织类型	n	IGF-1R阳性n(%)	IGF-1R阴性(n)	χ^2 值	P值	IGF-1阳性n(%)	IGF-1R阴性(n)	χ^2 值	P值
胃癌组织	70	39(55.71)	31	8.34	<0.01	37(52.86)	33	12.57	<0.01
癌旁组织	32	8(25.00)	24			5(15.63)	27		

IGF-1R: 胰岛素样生长因子-1受体; IGF-1: 胰岛素样生长因子-1.

计学差异($P<0.05$, $\chi^2 = 9.359$); IGF-1蛋白在胃癌无淋巴结转移组中阳性表达率为37.93%(11/29), 有淋巴结转移组中阳性表达率为63.41%(26/41), 两者间比较有统计学差异($P<0.05$, $\chi^2 = 4.427$); IGF-1蛋白在胃癌组织TNM分期比较中 I + II期阳性表达率为37.50%(12/32), III+IV期组阳性表达率为68.42%(25/38), 两组间比较差异有统计学差异($P<0.05$, $\chi^2 = 5.579$); IGF-1蛋白阳性表达与患者的性别、年龄、肿瘤大小、部位、肿瘤分化程度、Borrmann分型均无明显相关($P>0.05$)(表2).

2.3 胃癌组织中IGF-1R和IGF-1二者的相关性分析 IGF-1R与IGF-1在胃癌组织中均表达为阳性者为37.14%(26/70); IGF-1R表达阳性, 而IGF-1表达阴性者为15.72%(11/70); IGF-1表达阳性, IGF-1R表达阴性者为18.57%(13/70), IGF-1R与IGF-1均阴性者为28.57%(20/70). SPSS软件分析 $r = 0.310$, $P<0.05$, 两者表达有显著相关性(表3).

3 讨论

胃癌是全球消化系最常见的恶性肿瘤之一, 其发病率及死亡率在我国近年均有一定的上升, 是严重危害人类的一种疾病. 第8届全国胃癌学术大会公布相关数据显示: 近5年来, 我国每年新发胃癌40万例, 发病率占全世界胃癌的42%左右^[3], 故对胃癌的诊疗能力亟需提升. 本文初步探讨了IGF-1R、IGF-1在胃癌组织中的表达情况, 并分析了与临床病理特征间的关系.

3.1 IGF-1R表达与胃癌临床病理特征的关系 IGF-1R是一种跨膜的酪氨酸激酶蛋白, 是胰岛素样生长因子家族蛋白(insulin-like growth factor or receptor, IGF)系统的主要介导者, 由 α 、 β 两个亚单位组成一种四亚基结构^[6], β 亚单位具有酪氨酸激酶活性特点, 属于跨膜受体酪氨酸激酶, 能交叉催化相应部位的 β 亚单位上的磷酸化位点磷酸化, 引起相应的细胞内信号传导和基因表达转化, 进而导致细胞有丝分裂分化及细胞分裂增殖, 细胞的过度分裂增殖则使肿瘤

的发生几率大大增加^[7]. IGF-1R与其相应的配体结合后, 可以发挥调控下游信号系统的作用, 促进细胞有丝分裂、提供某些类型的细胞形成、转化表型及发生肿瘤的必要条件^[8], 同时发挥明显减少肿瘤细胞凋亡的作用^[9]. IGF-1R在细胞的恶性表型的形成及长期维持上起了关键作用, 在许多肿瘤组织中IGF-1R均有高表达, 与肿瘤的发生发展、增殖失控、分化侵袭及转移密切相关^[10]. IGF-1R的信号传导通路主要有两条信号传导链的激活启动, 位置均于细胞内, 第一条为磷脂酰肌醇3激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)-蛋白激酶(protein kinase B, AKT)-mTOR通路, 另一条信号传导通路为Ras/Raf/有丝分裂原激活蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)通路^[11]. IGF-1R的生物学活性在于其通过信号传导通路主导细胞的凋亡及肿瘤细胞的生长和增殖. 尽管目前对IGF-1R的组成轴在肿瘤中的作用研究较热, 但就其在肿瘤发展过程中分子水平的表达作用机制知之甚少. Dziadziuszko等在肺癌、胰腺癌及肠癌等组织中均发现了不同水平表达的IGF-1R^[12-15], 在特异性表达KIT蛋白(CD117)和野生型PDGFR- α 的GIST中, IGF-1R再次被证明有着明显的高表达水平^[16]. 这些证据充分证明了IGF-1R在恶性肿瘤中发挥着重要作用, 在细胞的凋亡与增殖中有着主导倾向性, 打破正常细胞代谢的平稳性, 造成细胞染色体的不稳定及表型相关的微卫星不稳定, 从而促进细胞的增殖及肿瘤的形成. IGF-1R在正常组织细胞中一般为低表达或不表达, 但在人类一些肿瘤组织中存在高表达, 其表达在某些肿瘤的发生发展及治疗预后中起着重要的作用. IGF-1R能使肿瘤细胞进一步增殖分化及转移的可能机制有: (1)IGF-1R可明显提高肿瘤细胞中某些生长因子的表达, 如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF), 后者具有特异性作用于血管内皮细胞的功能, 直接参与诱导肿瘤血管的形成; (2)促进相关黏蛋白如纤黏连、钙黏、层黏连等蛋白等的合成,

■应用要点

IGF-1R、IGF-1在胃癌诊断、病情发展方面, 有着一定的临床应用价值.

■同行评价

本文有一定临床指导意义。

表 2 胃癌组织中IGF-1R/IGF-1的表达与临床病理特征关系

病理参数	n	IGF-1R阳性n(%)	χ^2 值	P值	IGF-1阳性n(%)	χ^2 值	P值
性别			0.018	0.894		0.105	0.746
男	48	27(56.25)			26(54.17)		
女	22	12(54.55)			11(50.00)		
年龄(岁)			0.000	0.983		0.391	0.532
≤60	27	15(55.56)			13(48.15)		
>60	43	24(55.81)			24(55.81)		
肿瘤直径(cm)			0.701	0.402		0.446	0.504
<5	39	20(51.28)			22(56.41)		
≥5	31	19(61.29)			15(48.38)		
肿瘤部位			2.402	0.301		3.583	0.167
上(贲门/胃底)	15	11(73.33)			6(40.00)		
中(胃体/胃角)	19	10(52.63)			8(42.11)		
下(胃窦/幽门)	36	18(50.00)			23(63.89)		
分化程度			4.124	0.042		1.686	0.194
低分化	41	27(65.85)			19(46.34)		
中高分化	29	12(41.38)			18(62.07)		
Borrmann分型			3.137	0.371		0.851	0.837
I型	11	4(36.36)			6(54.55)		
II型	17	11(64.71)			8(47.06)		
III型	29	18(62.07)			17(58.62)		
IV型	13	6(46.15)			6(46.15)		
浸润深度			10.351	0.016		9.359	0.025
T1	10	3(30.00)			2(20.00)		
T2	16	5(31.25)			6(37.50)		
T3	35	25(71.43)			22(62.86)		
T4	9	6(66.67)			7(77.78)		
淋巴结转移			4.919	0.003		4.427	0.035
无	29	10(34.48)			11(37.93)		
有	41	29(70.73)			26(63.41)		
TNM分期			7.926	0.005		5.579	0.018
I+II	32	12(37.50)			12(37.50)		
III+IV	38	27(71.05)			25(68.42)		

IGF-1R: 胰岛素样生长因子-1受体; IGF-1: 胰岛素样生长因子-1.

表 3 IGF-1R与IGF-1在胃癌组织中表达的相关性分析 (n)

IGF-1	IGF-1R		χ^2 值	P值	n值
	阳性	阴性			
阳性	26	13	6.740	0.009	0.310
阴性	11	20			

IGF-1R: 胰岛素样生长因子-1受体; IGF-1: 胰岛素样生长因子-1.

增加肿瘤细胞对基底膜、内皮的黏附活性; (3) 上调一些维持细胞内环境稳定的相关因子的表达, 提升如金属蛋白酶(metalloproteinases, MMP)和尿激酶型纤溶酶原活化因子(u-PA)等^[17]的表

达水平, 从而促进细胞外基质的降解及促进肿瘤细胞越过降解的细胞外基质, 进一步导致肿瘤的浸润.

本实验采用PV-9000二步免疫组织化学法检测胃癌及癌旁组织中IGF-1R的表达水平, 结果显示, 胃癌组织和癌旁组织中IGF-1R蛋白阳性表达分别为39例(55.71%)、8例(25.00%), 二者差别有统计学意义($P<0.01$), 阳性细胞染色表达定位于细胞质、细胞膜及少部分细胞核中, 表明IGF-1R的高表达可能与胃癌的发生有关. 日本学者Matsubara等^[18]研究得出IGF-1R在胃癌组织中的表达率为78.95%, 本实验发现IGF-1R蛋白表达水平与胃癌分化程度、浸润深度、淋

巴结转移、TNM分期有关, 且在有无淋巴结转移组间及在TNM分期中 I + II 与 III + IV 期组间比较均有显著差异($P < 0.01$). IGF-1R蛋白阳性表达与患者的性别、年龄、肿瘤大小、部位及Borrmann分型均无明显差异相关性($P > 0.05$). 而Ge等^[19]研究发现IGF-1R在胃癌中的表达与肿瘤的大小、淋巴结的转移情况、胃壁的浸润深度、肿瘤的分化程度及TNM分期相关, 结论与本研究结果有所区别, 可能与样本数量的大小及检测IGF-1R表达水平的方法不同有关, 同时他们指出IGF-1R高表达者, 对进一步化疗敏感的程度、预后生存期的统计均明显低于IGF-1R低表达者或不表达者. 根据研究结果, IGF-1R阳性程度的表达与胃癌的淋巴结转移、TNM临床分期相关, 检测IGF-1R表达水平可间接判断胃癌患者的预后不良; IGF-1R阳性程度的表达与肿瘤浸润深度有关, 检测IGF-1R可间接提示肿瘤的生长浸润程度; IGF-1R阳性程度的表达与组织的分化程度低有关, 检测IGF-1R表达可间接判读胃癌的恶性程度及发展速度. 由此得出: IGF-1R在胃癌诊断、病情进展等方面具有重大意义, 可能会成为新型标志物之一.

3.2 IGF-1表达与胃癌临床病理特征的关系 IGF-1是一种促生长因子, 为一种分泌蛋白, 为胰岛素家族蛋白中一员, 由70个氨基酸构成, 相对分子质量为7649 Da, 是通过内分泌、自分泌、旁分泌的三种途径产生的低分子单链多肽, 人类主要合成分泌IGF-1的脏器有: 肝脏、肾脏、肺脏、脑、神经组织等. IGF-1可明显诱导细胞周期中减数分裂再次开始, 增强有丝分裂效应, 是非常重要的有丝分裂促进剂之一. 通过促进机体糖原合成代谢来刺激细胞增殖及分化, 同时又具有切断凋亡部分途径抑制细胞凋亡的特性, 上调细胞周期中周期素D1(cyclin D1)的表达, 增加DNA的合成, 进而加速代谢周期中细胞从G₁至S期生长发展过程. IGF-1的信号通路主要为PI3K-AKT通路和MAPK通路, 与IGF-1R的信号传导链的激活启动一致; IGF-1通过促进细胞有丝分裂扩增效应, 继而可促进细胞, 尤其是肿瘤细胞的增殖、分化及存活, 同时亦可抑制细胞的凋亡. IGF-1抑制细胞凋亡的基因信号机制有: 通过激活PI3K、AKT介导的信号通路阻止细胞凋亡^[20]; 通过MAPK信号转化到细胞核内, 修饰基因转录, 阻止细胞凋亡^[21]; 联合其他蛋白因子如Bcl-2蛋白、P53等阻止线粒体膜的去极化和细胞色素C的释放来抑制细胞凋亡;

此外, IGF-1与其受体IGF-1R通过与其他因子如VEGF-C的相互作用, 诱导恶性肿瘤的血管生成, 从而进一步影响肿瘤的侵袭和转移能力, 这些功能包括细胞的生长增殖、细胞的运动调节入侵、细胞在组织第二站的增长、及获得对多种药物耐药的能力. IGF-1在体内主要由肝脏合成分泌, 发挥促进有丝分裂、细胞增殖及抑制细胞凋亡的作用; 通过不同分泌方式的途径来实现其功能, 主要有自分泌、旁分泌及内分泌三种方式, 而自分泌及旁分泌为其最主要的途径. IGF-1在正常组织细胞中一般为较低表达, 在胃癌组织中呈现明显升高的表达水平, IGF-1在胃癌的发生发展中起着关键作用, 同时在胃癌组织周边淋巴管生成, 胃癌淋巴结转移中亦起着重要作用.

本实验采用PV-9000二步免疫组织化学法检测胃癌及癌旁组织中IGF-1的表达水平, 结果显示胃癌组织和癌旁组织中IGF-1蛋白的阳性表达分别为37例(52.86%)、5例(15.63%), 差异有统计学意义($P < 0.01$); 阳性细胞染色表达主要定位于细胞质, 少部分定位于细胞核, 表明IGF-1的高表达可能与胃癌的发生发展有关. 研究IGF-1在胃癌中的高表达具有一定的临床意义, 另有研究, IGF-1蛋白高表达的患者术后5年生存率明显低于IGF-1低表达的患者, 说明IGF-1的水平可以帮助预测患者预后. 本研究得出IGF-1蛋白表达水平与胃癌浸润深度、淋巴结转移、TNM分期有关($P < 0.05$); IGF-1蛋白阳性表达与患者的性别、年龄、肿瘤大小、部位、肿瘤分化程度、Borrmann分型均无明显相关($P > 0.05$), IGF-1在胃癌组织中存在着显著表达, IGF-1阳性程度的表达与胃癌的淋巴结转移、TNM临床分期相关, 故检测IGF-1可间接判断胃癌患者的预后不良; IGF-1阳性程度的表达与肿瘤浸润深度有关, 检测IGF-1R可间接提示肿瘤的生长浸润程度, 可作为判读胃癌预后的参考指标之一, 由此我们得出: IGF-1在胃癌筛查、病情评估及预后情况等方面有着一定的参考价值. 有望成为监测胃癌诊断及判断预后的一项标志物, 研究其靶点基因可为有效治疗提供新的思路.

3.3 IGF-1R、IGF-1在胃癌组织中表达的相互关系 IGF-1R与IGF-1是胰岛素样生长因子家族蛋白(IGFs)中两个重要的多肽成员, 表达受限于生长激素, 具有促进细胞有丝分裂, 合成翻译核酸DNA、蛋白质及代谢碳水化合物、葡萄糖类等物质的作用, 可以通过自分泌及旁分泌方式参

与组织细胞的生长分化、胚胎发育,增殖凋亡和细胞转化及肿瘤的发生发展起重要作用,当这些作用过分表达时,细胞即会向恶性表型表达;IGF-1必须通过结合其受体(IGF-1R)才能发挥调节细胞分化转化、增殖凋亡的作用,IGF-1受体为IGF-1的相关表达起介导作用,在某些IGF-1R基因缺陷的动物模型试验中发现肿瘤的发生发展明显较正常者发生率低^[22]。本实验在进行IGF-1R与IGF-1在胃癌组织中表达情况关联性分析,通过Spearman秩和检验相关性分析后得出 $r=0.310$, $P<0.01$,提示两者表达有显著相关性。说明IGF-1R与IGF-1在胃癌的发生发展中起着协同作用,两者共同分析表达水平可作为胃癌发生发展及预后的监测指标。

总之,IGF-1R、IGF-1在胃癌组织存在着明显过表达,提示参与了胃癌的发生。IGF-1R与IGF-1的表达呈正相关,在胃癌的发生发展中起着协同作用。IGF-1R在胃癌组织的阳性表达与肿瘤组织分化程度、浸润深度、淋巴结转移、TNM分期相关联,其中与淋巴结转移和TNM分期相关性更明显;IGF-1在胃癌组织中的阳性表达与胃癌浸润深度、淋巴结转移、TNM分期相关联。IGF-1R、IGF-1在胃癌筛查诊断、病情发展评估及预后生存情况等方面有着一定的参考价值,有望成为监测胃癌诊疗水准的新型标志物。随着在分子水平上对IGF-1R、IGF-1的进一步深入研究,有望找到抑制IGF-1R、IGF-1信号传导通路上的靶点,从而为胃癌的诊疗提供更有效的方法。

4 参考文献

- 1 Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010; 127: 2893-2917 [PMID: 21351269 DOI: 10.1002/ijc.25516]
- 2 Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, Rosso S, Coebergh JW, Comber H, Forman D, Bray F. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *Eur J Cancer* 2013; 49: 1374-1403 [PMID: 23485231 DOI: 10.1016/j.jca.2012.12.027]
- 3 Cheung TK, Wong BC. Treatment of Helicobacter pylori and prevention of gastric cancer. *J Dig Dis* 2008; 9: 8-13 [PMID: 18251788 DOI: 10.1111/j.1443-9573.2007.00315.x]
- 4 Yamada Y, Boku N, Nishina T, Yamaguchi K, Denda T, Tsuji A, Hamamoto Y, Konishi K, Tsuji Y, Amagai K, Ohkawa S, Fujita Y, Nishisaki H, Kawai H, Takashima A, Mizusawa J, Nakamura K, Ohtsu A. Impact of excision repair cross-complementing gene 1 (ERCC1) on the outcomes of patients with advanced gastric cancer: correlative study in Japan Clinical Oncology Group Trial JCOG9912. *Ann Oncol* 2013; 24: 2560-2565 [PMID: 23884439 DOI: 10.1093/annonc/mdt238]
- 5 Chen HX, Sharon E. IGF-1R as an anti-cancer target--trials and tribulations. *Chin J Cancer* 2013; 32: 242-252 [PMID: 23601239 DOI: 10.5732/cjc.012.10263]
- 6 Wang Z, Liang Z, Liu J, Shi W, Bai P, Lin X, Magaye R, Zhao J. Expression and clinical significance of IGF-1, IGFBP-3, and IGFBP-7 in serum and lung cancer tissues from patients with non-small cell lung cancer. *Onco Targets Ther* 2013; 6: 1437-1444 [PMID: 24204158]
- 7 Atzori F, Traina TA, Ionta MT, Massidda B. Targeting insulin-like growth factor type 1 receptor in cancer therapy. *Target Oncol* 2009; 4: 255-266 [PMID: 19876700 DOI: 10.1007/s11523-009-0123-z]
- 8 Aleksic T, Chitnis MM, Perestenko OV, Gao S, Thomas PH, Turner GD, Protheroe AS, Howarth M, Macaulay VM. Type 1 insulin-like growth factor receptor translocates to the nucleus of human tumor cells. *Cancer Res* 2010; 70: 6412-6419 [PMID: 20710042 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-0052]
- 9 Massoner P, Ladurner-Rennau M, Eder IE, Klocker H. Insulin-like growth factors and insulin control a multifunctional signalling network of significant importance in cancer. *Br J Cancer* 2010; 103: 1479-1484 [PMID: 20924377 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605932]
- 10 Mitchell GC, Fillinger JL, Sittadjody S, Avila JL, Burd R, Limesand KH. IGF1 activates cell cycle arrest following irradiation by reducing binding of Δ Np63 to the p21 promoter. *Cell Death Dis* 2010; 1: e50 [PMID: 21480565 DOI: 10.1038/cddis.2010.28]
- 11 Dalle S, Imamura T, Rose DW, Worrall DS, Ugi S, Hupfeld CJ, Olefsky JM. Insulin induces heterologous desensitization of G-protein-coupled receptor and insulin-like growth factor I signaling by down-regulating beta-arrestin-1. *Mol Cell Biol* 2002; 22: 6272-6285 [PMID: 12167719 DOI: 10.1128/MCB.22.17.6272-6285.2002]
- 12 Dziadziuszko R, Merrick DT, Witta SE, Mendoza AD, Szostakiewicz B, Szymanowska A, Rzyman W, Dziadziuszko K, Jassem J, Bunn PA, Varela-Garcia M, Hirsch FR. Insulin-like growth factor receptor 1 (IGF1R) gene copy number is associated with survival in operable non-small-cell lung cancer: a comparison between IGF1R fluorescent in situ hybridization, protein expression, and mRNA expression. *J Clin Oncol* 2010; 28: 2174-2180 [PMID: 20351332 DOI: 10.1200/JCO.2009.24.6611]
- 13 Gong Y, Yao E, Shen R, Goel A, Arcila M, Teruya-Feldstein J, Zakowski MF, Frankel S, Peifer M, Thomas RK, Ladanyi M, Pao W. High expression levels of total IGF-1R and sensitivity of NSCLC cells in vitro to an anti-IGF-1R antibody (R1507). *PLoS One* 2009; 4: e7273 [PMID: 19806209 DOI: 10.1371/journal.pone.0007273]
- 14 Zha J, O'Brien C, Savage H, Huw LY, Zhong F, Berry L, Lewis Phillips GD, Luis E, Cavet G, Hu X, Amler LC, Lackner MR. Molecular predictors of response to a humanized anti-insulin-like growth factor-I receptor monoclonal antibody in breast and colorectal cancer. *Mol Cancer Ther* 2009; 8: 2110-2121 [PMID: 19671761 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-09-0381]
- 15 Pitts TM, Tan AC, Kulikowski GN, Tentler JJ, Brown AM, Flanigan SA, Leong S, Coldren CD, Hirsch FR, Varela-Garcia M, Korch C, Eckhardt

- SG. Development of an integrated genomic classifier for a novel agent in colorectal cancer: approach to individualized therapy in early development. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 3193-3204 [PMID: 20530704 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-3191]
- 16 Tarn C, Rink L, Merkel E, Fliedler D, Pathak H, Koumbi D, Testa JR, Eisenberg B, von Mehren M, Godwin AK. Insulin-like growth factor 1 receptor is a potential therapeutic target for gastrointestinal stromal tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 8387-8392 [PMID: 18550829 DOI: 10.1073/pnas.0803383105]
- 17 Dunn SE, Torres JV, Oh JS, Cykert DM, Barrett JC. Up-regulation of urokinase-type plasminogen activator by insulin-like growth factor-I depends upon phosphatidylinositol-3 kinase and mitogen-activated protein kinase kinase. *Cancer Res* 2001; 61: 1367-1374 [PMID: 11245436]
- 18 Matsubara J, Hirashima Y, Yamada Y. [Impact of HER2, EGFR, IGF-1R, and VEGFR expressions on the outcome of chemotherapy for advanced gastric cancer]. *Gan To Kagaku Ryoho* 2010; 37: 1489-1496 [PMID: 20716873]
- 19 Ge J, Chen Z, Wu S, Chen J, Li X, Li J, Yin J, Chen Z. Expression levels of insulin-like growth factor-1 and multidrug resistance-associated protein-1 indicate poor prognosis in patients with gastric cancer. *Digestion* 2009; 80: 148-158 [PMID: 19713703 DOI: 10.1159/000226089]
- 20 Badr G, Garraud O, Daghestani M, Al-Khalifa MS, Richard Y. Human breast carcinoma cells are induced to apoptosis by samsum ant venom through an IGF-1-dependant pathway, PI3K/AKT and ERK signaling. *Cell Immunol* 2012; 273: 10-16 [PMID: 22218396 DOI: 10.1016/j.cellimm.2011.12.003]
- 21 Ness JK, Scaduto RC, Wood TL. IGF-I prevents glutamate-mediated bax translocation and cytochrome C release in O4+ oligodendrocyte progenitors. *Glia* 2004; 46: 183-194 [PMID: 15042585 DOI: 10.1002/glia.10360]
- 22 Varkaris A, Gaur S, Parikh NU, Song JH, Dayyani F, Jin JK, Logothetis CJ, Gallick GE. Ligand-independent activation of MET through IGF-1/IGF-1R signaling. *Int J Cancer* 2013; 133: 1536-1546 [PMID: 23526299 DOI: 10.1002/ijc.28169]

编辑 田滢 电编 闫晋利



腹腔镜胆囊切除术致高位胆管损伤的早期诊断及处理

蔡治方, 黄红兰, 兑丹华, 彭慈军, 赵礼金

■背景资料

腹腔镜胆囊切除术是胆囊良性疾病的首选治疗手段, 而其导致的胆管损伤发生率高, 其后果严重, 给患者带来终生的痛苦。

蔡治方, 黄红兰, 兑丹华, 彭慈军, 赵礼金, 遵义医学院附属医院肝胆外科 贵州省遵义市 563003

蔡治方, 副教授, 主要从事肝胆胰疾病的临床研究。

作者贡献分布: 课题设计、数据分析和文章起草由蔡治方完成; 病例选择、临床资料收集和临床操作由蔡治方、黄红兰、兑丹华、彭慈军及赵礼金完成; 文章修改和审阅由蔡治方完成

通讯作者: 蔡治方, 副教授, 563003, 贵州省遵义市汇川区大连路149号, 遵义医学院附属医院肝胆外科. zmcczf@sina.com

电话: 0852-8608244

收稿日期: 2014-04-09 修回日期: 2014-06-16

接受日期: 2014-06-22 在线出版日期: 2014-08-08

Early diagnosis and treatment of high bile duct damage caused by laparoscopic gallbladder excision

Zhi-Fang Cai, Hong-Lan Huang, Dan-Hua Dui, Ci-Jun Peng, Li-Jing Zhao

Zhi-Fang Cai, Hong-Lan Huang, Dan-Hua Dui, Ci-Jun Peng, Li-Jing Zhao, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China

Correspondence to: Zhi-Fang Cai, Associate Professor, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, 149 Dalian Road, Huichuan District, Zunyi 563003, Guizhou Province, China. zmcczf@sina.com
Received: 2014-04-09 Revised: 2014-06-16
Accepted: 2014-06-22 Published online: 2014-08-08

Abstract

AIM: To assess the early diagnosis and treatment of high bile duct injury caused by laparoscopic operation.

METHODS: We performed a retrospective analysis of clinical data for 18 patients treated for high bile duct injury caused by laparoscopic cholecystectomy at our hospital from January 2008 to May 2013.

RESULTS: No operation-related death occurred. All the 18 cases of high bile duct injury caused by cholecystectomy occurred in the common hepatic duct and the above parts. After one or more operations, all the patients recovered. During the follow-up period from six months to six years, no jaundice or biliary complications such as infection occurred.

CONCLUSION: Prevention and early diagnosis are the key to the treatment of high bile duct injury, while processing after high bile duct injury should be timely and correct, and an appropriate approach should be selected according to the injury time.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Laparoscopic; Cholecystomy; Bile duct injury

Cai ZF, Huang HL, Dui DH, Peng CJ, Zhao LJ. Early diagnosis and treatment of high bile duct damage caused by laparoscopic gallbladder excision. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(22): 3316-3319 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3316.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3316>

摘要

目的: 研究腹腔镜胆囊切除术致高位胆管损伤的原因、早期诊断以及处理方法。

方法: 将本院2008-01/2013-05收治的18例腹腔镜胆囊切除术致高位胆管损伤的临床资料进行回顾性分析。

结果: 手术无死亡, 这18例胆管切除后致高位胆管损伤的病例发生在肝总管及其以上部位, 在经过1次及1次以上的手术治疗后患者痊愈, 随访6 mo-6年, 无黄疸和胆道感染等并发症。

结论: 预防高位胆管损伤是腹腔镜胆囊切除术的关键, 而高位胆管损伤发生后要正确及时的处理, 并根据损伤发生的时间、类型选择不同的处理方式。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 腹腔镜; 胆囊切除术; 胆管损伤

核心提示: 针对不同类型的腹腔镜胆囊切除术致高位胆管损伤在做出最恰当的处理方式时, 需要考虑多方面的因素, 包括患者的身体状况、损伤的部位和程度、腹腔镜感染的范围、发现时间

■同行评议者

李永翔, 主任医师, 教授, 博士生导师, 普外腹腔镜外科主任, 安徽医科大学第一附属医院普外科; 程树群, 副教授, 第二军医大学东方肝胆外科医院综合治疗三科

的早晚、医疗设施是否齐全等。总之, 对具体问题进行具体分析, 不要一概而论, 而是应该有针对性的采取治疗, 尽可能保证一次修复成功, 而避免胆道的再次手术。

蔡治方, 黄红兰, 兑丹华, 彭慈军, 赵礼金. 腹腔镜胆囊切除术致高位胆管损伤的早期诊断及处理. 世界华人消化杂志 2014; 22(22): 3316-3319 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3316.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i22.3316>

0 引言

高位胆管损伤是一种较为严重的并发症, 大多数是由胆囊切除术所引起的, 尤其是腹腔镜胆囊切除术^[1]。高位胆管损伤一旦发生, 其损伤类型以及诊断与处理都是极为复杂, 若是早期诊断不及时或修复不成功, 往往会导致出现多次手术治疗, 这样处理起来就会更加棘手^[2-4]。本文通过总结分析遵义医学院附属医院近年来收治的18例高位胆管损伤患者病例, 对其损伤的原因、早期诊断及处理加以探讨, 现将报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 遵义医学院附属医院2008-01/2013-05收治的高位胆管损伤患者有18例, 系外院转入13例, 其中男10例, 女6例, 年龄跨度为22-61岁, 平均年龄44岁±18岁。其中术中发现并及时处理的5例, 术后处理也就是外院转入病例13例, 时间为术后1-4 d的再手术处理。依据临床资料术中发现和术后再手术处理所见, 18例病例中肝总管横断7例, 肝总管完全夹闭3例, 肝总管部分夹闭3例, 右肝管损伤2例, 左右肝管汇合部部分切除2例, 胆囊管和胆总管连接处撕裂1例。

1.2 方法 本组病例中, 7例肝总管横断的有3例总管完全横断而采取了对端吻合术治疗, 另外4例因为胆管毁损较为严重, 无法实施对端吻合术治疗, 故而采取了高位胆管空肠Roux-en-Y吻合术, 6 mo后顺利拔出T管。6例因手术之后出现黄疸后进行剖腹探查发现3例钛夹完全夹闭肝总管, 3例钛夹部分夹闭肝总管, 去除钛夹采用T管引流, 支撑3 mo。2例右肝管损伤中1例采用的右肝管修补内置支架管引流治疗方式, 另外1例采用的右肝管空肠吻合术治疗方式。2例左右肝管汇合部分切除采用“肝门板”下降, 胆管空肠高位吻合。1例胆囊管和胆总管连接处出现撕裂, 但并不严重, 采用缝合修补后放置T管支撑引流, 3 mo后拔出T管, 恢复状况良好, 无不良反应。

2 结果

手术无死亡, 这18例腹腔镜胆囊切除术致高位胆管损伤的病例发生在肝总管及其以上部位, 在经过1次及1次以上的手术治疗后患者痊愈, 随访6 mo-6年, 无黄疸和胆道感染等并发症。

3 讨论

3.1 高位胆管损伤的原因 腹腔镜胆囊切除手术误伤肝外胆管是比较严重的并发症, 最常见的就是胆管损伤, 对胆管损伤的主要原因我们可以归纳为3个方面。(1)解剖因素。在3个原因中, 解剖因素导致胆囊管变异的可能性最大, 其中胆囊管过短、胆囊管与胆管并行、胆囊管绕过肝总管后从左侧汇入胆总管等都是容易产生胆管损伤的类型。除此之外, 因Clisson鞘内组织结构疏松, 手术中因牵拉胆囊导致胆道成角, 使得三角关系不明确, 在切断胆囊管时损伤胆管^[5]。在手术中为了避免和减少这种损伤的发生, 医务人员在手术中需保持清楚的术野, 对胆囊血管的解剖和变异能有清楚的认识, 以避免手术中因盲目操作而导致损伤的发生^[6]。(2)病理因素。病理因素的原因可以分为两个方面, 一方面是因为胆囊炎症的反复发生导致胆囊三角区解剖关系不明确, 使得局部组织黏连, 特别是在急性炎症时期, 局部炎症水肿黏连, 纤维结缔组织增生致肝总管与胆囊颈黏连严重, 很容易在解剖胆囊三角区时将胆总管误认为胆囊管, 造成胆管和肝管的损伤。此外, 钛夹夹伤肝总管会导致高位胆管狭窄, 胆囊管与肝总管出现黏连, 三管汇合处显示不清楚、解剖不充分、太过靠近胆总管上的钛夹等情况会导致胆囊管与肝总管出现部分夹闭^[7]。(3)技术因素。医护人员态度的认真负责和经验技术的灵活运用是胆囊切除术中值得注意的一个重要原因^[8]。腹腔镜手术在实施的过程中, 医师因为失去了组织器官的立体感和手指的灵敏触觉, 稍不注意就会出现误伤。医师在手术过程中要有防范意识, 操作仔细, 合理应用技术和经验, 切忌盲目追求速度出现不必要的误伤。

3.2 治疗关键

3.2.1 术中的早期诊断: 腹腔镜胆囊切除手术可以说是一种较为常见的手术, 但存在着一定程度的潜在危险。手术中的解剖因素、病理因素、技术因素都会导致高位胆管损伤而带来一系列的并发症, 很难完全避免, 所以手术中的早

■ 研发前沿

胆道损伤仍是外科医生的痛, 关键在于预防, 一旦发生, 要早期发现及早期处理。

■ 相关报道

本文通过临床实例, 报道腹腔镜胆囊切除术致高位胆管损伤的原因, 早期发现、处理方法及效果。

■创新盘点

总结、报道腹腔镜胆囊切除术致高位胆管损伤的原因, 早期发现、处理方法及效果, 值得临床探讨。

期诊断是提高疗效的一个关键因素^[9]。为了在尽早发现胆道损伤, 在进行手术时, 需要注意四个方面的问题。首先, 不要忽视手术结束前的检查, 也就是常规直视下对肝外胆管的完整度和胆囊管断端是否钳夹牢靠的问题进行检查; 其次, 在用干净纱条擦拭术野的时候, 一旦发现有黄染, 就要警惕起来, 因为这常常是胆管已有损伤的一个报警信号; 然后, 不要忽视手术中出现的热损伤^[10]; 接着, 在进行具有一定难度的手术时, 取出胆囊后例行常规的剖视, 检验胆囊管是否真被切断; 最后, 一旦发生黏连或是出血严重的情况, 应该及时中转做开腹治疗。

3.2.2 手术时机的把握: LC术中发现胆管损伤而正确及时的进行胆管修复属于一期修复胆道手术, 立即进行修补可以减轻肝功能障碍和腹腔感染, 把胆管损伤给患者带来的危害降低到最小, 但通常要想在术中及时发现胆管损伤具有一定的困难, 据统计发现率不到30%。而腹腔镜胆囊切除手术一旦造成高位胆管损伤, 修复的难度很大, 损伤范围广, 处理起来十分麻烦。即使腹腔镜手术导致的胆管损伤能在术中及时发现, 往往也会因为准备不充分等原因导致一期修复手术无法顺利进行^[11,12]。例如在本组病例的7例肝总管横断病例中, 有1例在进行肝总胆总管横断切除的时候, 同时进行了门静脉主干和右支损伤手术, 导致患者出现失血性休克长达5 h。手术中对门静脉修补实施了会诊但由于血压不稳和肠道水肿原因导致胆道无法继续进行修复, 最后只有采取在左右肝管汇合部实施T管引流。

在进行完腹腔镜胆囊切除手术后发现患者出现高位胆管损伤而采取胆管修复手术的属于二期修复胆道手术, 通常二期手术时机以与前一次手术时期相隔3-6 mo为最佳, 因为此时胆道炎得到了一定的控制, 而且胆管损伤部位以上的胆管壁也得到了一定程度的扩张, 厚度增加, 大大增加了胆肠吻合术的成功几率。若是因为局部水肿、充血、炎症改变等因素而在胆管损伤后不足2 mo的时间内便实施再次手术是很容易出现胆漏、吻合口过于狭窄等困难, 同时也让操作过程变得复杂。

3.2.3 胆道修复需注意的问题: 医师在进行而且胆道修复手术的时候, 要对患者前一次的手术记录以及术后胆管损伤的影像资料进行详细准确的分析, 明确胆管损伤的程度、部位、性质等具体情况。胆道修复手术修复手术在进行时

必须注意患者全身状况是否良好的问题, 主要包括腹腔感染、全身感染、局部炎症感染等感染状况是否得到有效的控制^[13]。因为患者若是出现严重感染的情况不仅达不到修复胆管的目的, 而且还会加重患者的病情, 最后形成一个恶性循环。基于这一客观事实, 在进行胆道修复手术的时候我们首先考虑的并不是时间因素。针对没有感染或是尚未形成感染的患者, 应该及时采取修补手术; 而对于已经处于感染状态的患者, 最首要的问题就是有效控制并解除这一感染^[14-16]。

3.3 高位胆管损伤的处理

3.3.1 手术方式的选择: 在术中和术后的48 h内, 发现患者出现高位胆管损伤, 只要状况表现为片状缺陷<0.5 cm或是穿孔较小, 可以考虑的手术方式是间断缝合术和胆道成形术来进行T管引流。只要术中处理及时而准确, 术后发生胆道狭窄和胆漏的可能性很小^[6]。不过, 术中及时发现的几率并不大, 所以术后一旦发现高位胆管损伤不要惊慌, 而是应该根据损伤类型而选择相适应的手术处理方法。胆管损伤修复方式的选择需要考虑胆管管径的粗细、损伤状况的程度、损伤部位三方面的因素: (1)若胆管损伤诊断为小于胆管管径1/3的肝总管侧壁伤, 则可以选择纵行直接缝合的方式; 若胆管损伤诊断为大于或者等于胆管管径1/3的损伤时, 则可以选择横行缝合的方式, 并放置T管进行支撑; (2)若胆管损伤诊断为胆管横断缺损, 当患者胆管缺损面积<2 cm则可以选择对端吻合方式; 当患者胆管缺损面积≥2 cm以及胆管损伤出现对端吻合张力较大的情况时, 则可以选择胆管空肠吻合术方式。此外, 针对初次手术中未进行修补手术或者处理不当的胆管损伤, 患者通过需要进行二期修复手术。

3.3.2 胆管损伤的处理: 胆管损伤的处理方式, 这里主要针对本组病例所出现的肝总管损伤、右肝管损伤两类损伤进行典型性分析。(1)肝总管损伤的处理, 在针对肝总管损伤问题上, 要尽可能遵循解剖结构和保存正常组织的处理原理, 减少和避免因手术扩大化而出现的并发症问题^[8]。在本组病例中, 出现肝总管横断的有7例, 其中有3例因为胆管的缺损较小而采用了端端吻合术治疗, 并将“T”管置于吻合口以起到支撑和引流的作用。而在治疗此类病例的时候, 我们需要注意4个细节: “T”管支撑管时间应该达到半年; 吻合口两端胆管壁组

■名词解释

高位胆管损伤: 在胆囊管及肝总管汇合部以上的胆管损伤。

织应该保持健康; 确定吻合口无张力; “T”管拔出前后要做好造影和胆道镜的例行检查工作. 在出现肝总管横断的另外4例病例中, 因为胆管毁损的程度较为严重而采取了胆管空肠Roux-en-Y吻合术. 胆管空肠Roux-en-Y吻合术可以说是目前治疗胆管损伤的有效且实用的手术之一, 可以应用于不同时期和不同程度胆管损伤的治疗; (2)右肝管损伤的处理, 在本组病例中, 出现右肝管损伤2例. 1例是主要是因为锐性分离黏连而引起的, 其确实程度较小, 因而采取右肝管修补内置支架管引流治疗方式. 另外1例采取的是右肝管空肠Roux-en-Y侧-侧吻合术, 主要是因为此右肝管的损伤较大, 无法进行修补. 在对右肝管损伤做处理的时候, 我们需要注意是如何正确选择合适的手术方式, 选择依据由缺损度来判断, 通常直接修补和修补处支撑引流方式的选用是针对缺损面积 $<0.3\text{ cm}$ 的损伤, 而右肝管空肠Roux-en-Y侧-侧吻合术的选用则是针对缺损面积 $\geq 0.3\text{ cm}$ 的损伤. 倘若没有遵循这个原则, 肝管损伤面积过大却强行进行修补势必会导致局部狭窄等问题的出现.

针对不同类型的胆管损伤我们在做出最恰当的处理方式时, 需要考虑多方面的因素, 包括患者的身体状况、损伤的部位和程度、腹腔镜感染的范围、发现时间的早晚、医疗设施是否齐全等. 总之, 对具体问题进行分析, 不要一概而论, 而是应该有针对性的采取治疗, 尽可能保证一次修复成功, 而避免胆道的再次手术.

4 参考文献

- 1 喻启玲. 腹腔镜胆囊切除术胆道损伤对病人术后远期生活质量的影响. 中国实用外科杂志 2002; 22: 438
- 2 隋玉军. 腹腔镜胆囊切除术胆道损伤的预防及治疗. 腹腔镜外科杂志 2002; 7: 216-217
- 3 Vezakis A, Davides D, Ammori BJ, Martin IG, Larvin M, McMahon MJ. Intraoperative cholangiography during laparoscopic cholecystectomy. *Surg Endosc* 2000; 14: 1118-1120 [DOI: 10.1007/s004640000076]
- 4 Way LW, Stewart L, Gantert W, Liu K, Lee CM, Whang K, Hunter JG. Causes and prevention of laparoscopic bile duct injuries: analysis of 252 cases from a human factors and cognitive psychology perspective. *Ann Surg* 2003; 237: 460-469 [PMID: 12677139 DOI: 10.1097/01.SLA.0000060680.92690.E9]
- 5 王宏, 罗建管, 梁鹏, 易旭华, 李虎山, 肖怀忠, 杨明. 腹腔镜胆囊切除术胆管损伤危险因素分析. 中国实用外科杂志 2011; 31: 591-593
- 6 汪俊科, 廖振宇, 肖连斌. LC术中胆道损伤的危险因素及预防分析. 中国现代普外进展 2013; 16: 558-561
- 7 韩基平, 王群伟. 腹腔镜胆囊切除胆管损伤的原因分析及防治. 中国现代普通外科进展 2012; 15: 733-734
- 8 汪涛, 沈志勇. 腹腔镜胆囊切除胆管损伤的原因及预防. 中国普外基础与临床杂志 2009; 16: 317-318
- 9 赵聪, 陈国庆. 胆囊切除术胆管损伤的术中诊断和治疗. 肝胆胰外科杂志 2012; 24: 60-62
- 10 徐大华. 腹腔镜胆道系统手术并发症及处理要点. 腹腔镜外科杂志 2010; 15: 881-884
- 11 谢斌辉, 王小龙, 刘凤恩. 腹腔镜胆囊切除术后胆漏10例临床分析. 实用医学杂志 2012; 28: 3104-3106
- 12 王万贯. 医源性胆管损伤的诊治体会及预防. 中外医学研究 2012; 10: 129
- 13 向旭, 邓联球, 谢琼. 腹腔镜胆囊切除术的并发症分析. 中国普通外科杂志 2010; 19: 220-222
- 14 徐刚, 陈德兴. 腹腔镜胆囊切除术中胆管损伤的术中镜下修复. 中国微创外科杂志 2013; 13: 926-928
- 15 孙中杰, 胡海田, 范志勇, 杜立学. 胆囊切除术致高位胆管损伤原因及处理. 中国实用外科杂志 2011; 31: 594-594
- 16 郑元超, 夏焱, 黄明哲. 腹腔镜胆囊切除术中胆管损伤的预防. 中国普外基础与临床杂志 2010; 17: 851-853

■同行评价

本文总体设计思路尚清晰, 具有一定得临床实用性, 病史资料尚完整, 临床经验体会较丰富.

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



腹腔镜再次与首次胆道手术治疗肝外胆管结石的疗效比较

梅永, 彭慈军, 朱洪江, 舒德军, 李雄雄, 李伟男

■背景资料

胆道结石术后易复发, 往往需要再次或多次手术。随着微创外科理念的不断深入, 腹腔镜器械的不断更新, 腔镜外科技术的逐渐提高, 腹腔镜再次胆道手术逐渐应用于治疗有胆道手术史的肝外胆管结石患者。

梅永, 彭慈军, 朱洪江, 舒德军, 李雄雄, 李伟男, 遵义医学院附属医院肝胆外科 贵州省遵义市 563003

梅永, 在读硕士, 主要从事肝胆外科方面的研究。

作者贡献分布: 此课题由梅永与彭慈军设计; 数据分析、文献收集及论文写作由梅永完成; 临床资料采集由朱洪江、舒德军、李雄雄及李伟男完成。

通讯作者: 彭慈军, 教授, 主任医师, 博士, 563003, 贵州省遵义市汇川区大连路201号, 遵义医学院附属医院肝胆外科。

pengcijun@gmail.com

电话: 0852-8608244

收稿日期: 2014-05-23 修回日期: 2014-06-10

接受日期: 2014-06-22 在线出版日期: 2014-08-08

Efficacy of reoperation vs first operation of the biliary tract by laparoscopy in patients with choledocholithiasis

Yong Mei, Ci-Jun Peng, Hong-Jiang Zhu, De-Jun Shu, Xiong-Xiong Li, Wei-Nan Li

Yong Mei, Ci-Jun Peng, Hong-Jiang Zhu, De-Jun Shu, Xiong-Xiong Li, Wei-Nan Li, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China

Correspondence to: Ci-Jun Peng, Professor, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, 201 Dalian Road, Huichuan District, Zunyi 563003, Guizhou Province, China. pengcijun@gmail.com

Received: 2014-05-23 Revised: 2014-06-10

Accepted: 2014-06-22 Published online: 2014-08-08

Abstract

AIM: To compare the efficacy between reoperation and the first operation of the biliary tract by laparoscopy in patients with choledocholithiasis.

METHODS: Clinical data for 136 patients who underwent laparoscopic biliary tract operation at our hospital from January 2009 to October 2013 were analyzed retrospectively.

RESULTS: The rates of conversion to open operation in the reoperation group and the first operation group were 8.6% vs 2.5%, the rates of postoperative complications were 3.8% vs 5.3%, mean operative time was 179.80 min ± 29.82 min vs 176.45 min ± 27.56 min, mean intraoperative blood loss was 53.67 mL ± 27.13 mL vs 46.62 mL ± 28.62 mL, mean volume of postoperative ab-

dominal drainage was 101.17 mL ± 55.21 mL vs 88.20 mL ± 75.52 mL, mean length of postoperative hospital stay was 5.71 d ± 1.31 d vs 5.26 d ± 1.54 d, and mean cost of treatment was 18.1 ± 4.7 thousand Yuan vs 17.0 ± 4.6 thousand Yuan. There were no statistical differences in the above parameters ($P > 0.05$) between the two groups. Complications in both groups were cured by conservative treatment. Neither stone recurrence nor bile duct stricture was found during the two-year follow-up.

CONCLUSION: There are no differences in efficacy between the reoperation group and the first operation group in patients with the choledocholithiasis. Reoperation of the biliary tract by laparoscopy is feasible and safe for such patients, and a history of prior biliary surgery is not a contraindication for laparoscopy.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Laparoscopy; Reoperation of the biliary tract; First operation of the biliary tract; Efficacy

Mei Y, Peng CJ, Zhu HJ, Shu DJ, Li XX, Li WN. Efficacy of reoperation vs first operation of the biliary tract by laparoscopy in patients with choledocholithiasis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(22): 3320-3324 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3320.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3320>

摘要

目的: 比较腹腔镜再次胆道手术与腹腔镜首次胆道手术治疗肝外胆管结石的疗效。

方法: 采用回顾性方法对遵义医学院附属医院2009-01/2013-10收治的136例腹腔镜胆道手术患者的临床资料进行分析。

结果: 腹腔镜再次胆道手术组中转开腹率为8.6%、并发症发生率为3.8%、手术时间为179.80 min ± 29.82 min、术中出血量为53.67 mL ± 27.13 mL、术后腹腔引流量为101.17 mL ± 55.21 mL、术后住院时间为5.71 d ± 1.31 d、住院治疗费用为1.81万元 ± 0.47万元; 腹腔镜

■同行评议者

汤朝晖, 副主任医师, 上海交大医学院附属新华医院普外科

首次胆道手术组中转开腹率为2.5%、并发症发生率为5.3%、手术时间为176.45 min±27.56 min、术中出血量为46.62 mL±28.62 mL、术后腹腔引流量为88.20 mL±75.52 mL、术后住院时间为5.26 d±1.54 d、住院治疗费用为1.70万元±0.46万元。两组中转开腹率、并发症发生率、手术时间、术中出血量、术后腹腔引流量、术后住院时间、住院治疗费用的比较无统计学差异($P>0.05$)。两组并发症均经保守治疗治愈, 术后随访平均2年无胆管狭窄及再发结石。

结论: 腹腔镜再次胆道手术与腹腔镜首次胆道手术治疗肝外胆管结石的疗效一致。对胆道手术史的患者行腹腔镜再次胆道手术是安全可行的, 胆道手术史非腹腔镜手术禁忌证。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 腹腔镜; 再次胆道手术; 首次胆道手术; 疗效

核心提示: 腹腔镜再次胆道手术与腹腔镜首次胆道手术治疗肝外胆管结石的疗效一致。胆道手术史非腹腔镜手术禁忌证。

梅永, 彭慈军, 朱洪江, 舒德军, 李雄雄, 李伟男. 腹腔镜再次与首次胆道手术治疗肝外胆管结石的疗效比较. 世界华人消化杂志 2014; 22(22): 3320–3324 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3320.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i22.3320>

0 引言

随着微创外科的发展及腹腔镜技术的临床应用, 腹腔镜胆道探查术已成为胆囊结石合并胆总管结石的首选治疗方案^[1]。但因上腹部手术后, 腹腔存在不同程度的黏连, 给再次胆道手术带来了较大的技术难度及风险。因此在过去, 既往上腹部手术史是腹腔镜手术的禁忌^[2]。近年来, 随着腹腔镜器械的发展和技术的提高, 腹腔镜技术在较为复杂的手术中应用越来越多, 包括有上腹部手术史的患者进行腹腔镜再次胆道手术^[3–6]。国内外也有腹腔镜再次胆道手术相关的文献报道^[7,8], 但其报道内容主要为经验性总结, 具体的规范性临床病例对照研究极少。因此, 本研究采用回顾性分析腹腔镜再次胆道手术与首次胆道手术治疗肝外胆管结石的临床病例资料, 探讨其可行性及疗效。

1 材料和方法

1.1 材料 本次研究选取遵义医学院附属医院

2009-01/2013-10收治的136例腹腔镜胆道手术患者, 分为首次胆道手术组和再次胆道手术组。两组病例资料的性别、年龄、合并症均无差别(表1), 资料具有可比性。术前均经B超及磁共振胆胰管成像检查确诊为肝外胆管结石; 均有肝外胆管扩张, 胆总管直径10–26 mm, 平均19.34 mm±2.61 mm; 均行胸片、心电图检查及血尿便、肝肾功、电解质等常规化验, 常规检查项目及费用相同。本次手术距离前一次手术时间3 mo–15年, 平均7.56年±1.03年(表2)。

1.2 方法 对136例患者的临床资料回顾性分析, 就中转开腹率、并发症发生率、手术时间、术中出血量、术后腹腔引流量、术后住院时间、住院治疗费用进行分析。

统计学处理 数据资料均建立Excel数据库, 并采取SPSS18.0的统计学软件进行数据的分析与处理, 计量资料采取mean±SD进行表示, 并采取 t 进行检验, 组间的数据比较采取 χ^2 进行检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 中转开腹率的比较 136例患者中, 129例经腹腔镜成功完成手术, 7例经腹腔镜中转开腹(表3)。腹腔镜首次胆道手术组2例(2.5%)中转, 腹腔镜再次胆道手术组5例(8.6%)中转。可见, 再次胆道手术组中转开腹率高于首次胆道手术组, 经统计学分析 $P=0.114$, 无统计学意义。

2.2 并发症发生率的比较 腹腔镜再次胆道手术组2例(3.8%)出现并发症, 1例漏胆, 1例残石。腹腔镜首次胆道手术组4例(5.3%)出现并发症, 3例漏胆, 1例残石。两组并发症发生率比较无统计学意义($P>0.05$, 表4)。两组并发症均经保守治疗治愈。

2.3 其他围手术期相关指标的比较 腹腔镜再次胆道手术组手术时间、术中出血量、术后腹腔引流量、术后住院时间、住院治疗费用与腹腔镜首次胆道手术组比较无统计学意义($P>0.05$, 表4)。术后随访平均2年无胆管狭窄及再发结石。

3 讨论

肝外胆道结石的治疗方法较多, 包括: 开腹胆道探查取石术、腹腔镜胆囊切除联合内镜乳头括约肌切开(endoscopic sphincterotomy, EST)取石术、腹腔镜胆道探查取石术。开腹胆道探查术由于创伤大, 已逐渐被后两种方法从一

■研究前沿

腹腔镜再次胆道手术治疗肝外胆管结石的可行性、安全性及疗效是目前研究热点, 如何提高手术的成功率是亟待进一步研究的问题。

■相关报道

国内曹云等及国外Li等均报道了腹腔镜再次胆道手术的临床体会, 得到较好的疗效。

■创新盘点

国内外关于腹腔镜再次胆道手术相关的文献报道内容主要为经验性总结,具体的规范性临床病例对照研究极少.本研究设立腹腔镜首次胆道手术为对照组,探讨腹腔镜再次胆道手术治疗肝外胆管结石的疗效.

表 1 病例基本资料

基本资料	首次胆道手术组	再次胆道手术组	χ^2/t 值	<i>P</i> 值
<i>n</i>	78	58		
性别(男/女)	32/46	23/35	0.026	0.872
年龄(岁)	47.65 ± 10.24	49.78 ± 7.93	-1.310	0.192
术前合并症				
黄疸	46	34	0.002	0.976
糖尿病	12	9	0.000	0.983
高血压病	28	20	0.029	0.864

表 2 既往胆道手术情况

手术名称及本次手术原因	<i>n</i>	距本次手术时间
手术名称		
腹腔镜胆囊切除术	20	3 mo-12年
开腹胆囊切除术	32	1.5年-13年
开腹胆道探查术	6	2年-9年
本次手术原因		
继发性胆总管结石	4	
原发性胆总管结石	48	
残余胆囊结石合并胆总管结石	6	

表 3 手术名称 (*n*)

手术名称	首次胆道手术组	再次胆道手术组
<i>n</i>	78	58
腹腔镜组	76	53
胆囊+胆探+T管引流	40	0
胆囊+胆探+胆总管一期缝合	36	0
胆探+T管引流	0	25
胆探+胆总管一期缝合	0	23
残余胆囊+胆探+T管引流	0	5
经腹腔镜中转开腹组	2	5
胆囊+胆探+T管引流	1	0
胆囊+胆探+胆总管一期缝合	1	0
胆探+T管引流	0	4
残余胆囊+胆探+T管引流	0	1

一定程度上取代. EST取石尽管具有创伤小、恢复快等优点,但因操作引起的急性胰腺炎、出血、肠穿孔等并发症发生率及失败率高达10%-25%^[9,10]. 更严重的是EST破坏了Oddi括约肌的完整性,增加胆道逆行感染及胆管结石复发的机会^[11],故同行们一致认为应严格把握其适应证及慎重选择合适的病例^[12,13]. 腹腔镜胆道探查术安全、有效、可行,具有创伤小、术后恢复快、并发症少、不损伤Oddi括约肌功能

等优点^[14],逐渐成为现今治疗肝外胆管结石的新趋势.

胆道结石术后易复发^[15],往往需要再次或多次手术. 但因既往胆道手术后腹腔存在不同程度的黏连,从而增加了胆道再次手术的难度及风险. 近年来,随着微创外科理念的不断深入,腹腔镜器械的不断更新,腔镜外科技术的逐渐提高,腹腔镜再次胆道手术治疗有胆道手术史的肝外胆管结石患者见诸文献报道^[2,7,8,16].

本研究显示,腹腔镜再次胆道手术组58例中有5例中转开腹,中转开腹率(8.6%)与索运生等^[8]和曹云等^[16]的文献报道一致,高于腹腔镜首次胆道手术组(2.5%),经统计学分析无统计学意义($P>0.05$). 导致腹腔镜再次胆道手术中转开腹的具体原因是腹腔的严重黏连,尤其是胃十二指肠与肝门部黏连致密. 经反复尝试钝性及锐性联合分离均无法显露胆总管,为避免医源性腹腔脏器损伤,故中转开腹. 以上5例中转开腹病例既往腹部手术方式均为开腹手术,无腹腔镜术后病例,且本次手术距离前一次手术时间集中于1.0-2.5年(总体平均时间7.56年±1.03年). 腹腔镜中转开腹率增高的主要原因是腹腔的严重黏连,说明腹腔黏连严重程度可能与既往手术方式和手术间隔时间有关.

腹腔镜再次胆道手术组并发症发生率(3.8%)与索运生等^[8]和曹云等^[16]文献报道相符,与首次胆道手术组并发症发生率(5.3%)比较无统计学差异($P>0.05$). 两组病例术后具体并发症的对比统计显示,均出现1例术后残石,于术后7 wk经行T管瘻道胆道镜取石治愈. 再次胆道手术组中出现漏胆1例,首次胆道手术组发生3例漏胆,均为胆总管一期缝合术后病例,经保持腹腔通畅引流治愈. 针对腹腔镜胆道探查术后是常规放置T管还是行一期缝合术,目前尚无统一论. 刘金钢等^[17]认为对于<0.8 cm的胆总管行腹腔镜

■应用要点

通过规范的临床病例对照研究进一步证明腹腔镜再次胆道手术治疗的可行性及疗效,为广大外科医生开展此项技术提供客观依据.

表 4 腹腔镜围手术期指标¹

指标	首次胆道手术组	再次胆道手术组	χ^2/t 值	P值
n	76	53		
手术时间(min)	176.45 ± 27.56	179.80 ± 29.82	-0.676	0.500
术中出血量(mL)	46.62 ± 28.62	53.67 ± 27.13	-1.454	0.148
腹腔引流量(mL)	88.20 ± 75.52	101.17 ± 55.21	-1.105	0.271
术后住院时间(d)	5.26 ± 1.54	5.71 ± 1.31	-1.795	0.075
治疗费用(万元)	1.70 ± 0.46	1.81 ± 0.47	-1.346	0.181
并发症[n(%)]	4(5.3)	2(3.8)	0.156	0.693
漏胆	3(3.9)	1(1.9)		
残石	1(1.3)	1(1.9)		

¹已除外中转开腹病例。

胆总管探查术后应放置T管, 不宜一期缝合, 以防狭窄。更多学者认为腹腔镜胆总管切开取石术后, 只要术中明确取尽结石, 行胆总管一期缝合是安全可行的^[18-24], 且一期缝合术更具有微创的优越性^[25]。我们认为腹腔镜再次胆道手术行一期缝合术虽然可能引起术后早期低流量胆漏, 但经通畅引流均能治愈, 其疗效及优越性值得临床推广。

本研究中腹腔镜再次胆道手术组手术时间(179.80 min ± 29.82 min)较首次胆道手术组手术时间(176.45 min ± 27.56 min)长, 其主要原因为术中分离腹腔黏连导致手术时间较长, 但经统计学分析无差异($P>0.05$)。两组术中出血量、术后腹腔引流量、术后住院时间、住院治疗费用的比较均无统计学意义($P>0.05$)。说明腹腔镜再次胆道手术与首次胆道手术治疗肝外胆管结石的效果一致。术后随访平均2年无胆管狭窄及再发结石, 说明腹腔镜再次胆道手术是安全可行的。

总之, 针对有胆道手术史的肝外胆管结石患者, 只要术者有丰富的腹腔镜技术经验, 术前准备充分, 绝大多数可经腹腔镜再次胆道手术治疗。但因胆道术后腹腔内存在不同程度的黏连, 无法预料的情况较多, 故术者应仔细操作, 并适时中转开腹。腹腔镜再次胆道手术与腹腔镜首次胆道手术治疗肝外胆管结石的疗效一致。对胆道手术史的患者行腹腔镜再次胆道手术是安全可行的, 胆道手术史非腹腔镜手术禁忌证。

4 参考文献

- Sanchez A, Rodriguez O, Bellorín O, Sánchez R, Benítez G. Laparoscopic common bile duct exploration in patients with gallstones and choledocholithiasis. *JSLs* 2010; 14: 246-250 [PMID: 20932377 DOI: 10.4293/108680810X12785289144395]

- Chen B, Hu S, Wang L, Wang K, Zhang G, Zhang H. Reoperation of biliary tract by laparoscopy. *Acta Chir Belg* 2009; 109: 731-734 [PMID: 20184057]
- Cai XJ, Yu H, Liang X, Wang YF, Zheng XY, Huang DY, Peng SY. Laparoscopic hepatectomy by curettage and aspiration. Experiences of 62 cases. *Surg Endosc* 2006; 20: 1531-1535 [PMID: 16865612]
- Karayiannakis AJ, Polychronidis A, Perente S, Botaitis S, Simopoulos C. Laparoscopic cholecystectomy in patients with previous upper or lower abdominal surgery. *Surg Endosc* 2004; 18: 97-101 [PMID: 14569455]
- Palanivelu C, Jani K, Senthilnathan P, Parthasarathi R, Rajapandian S, Madhankumar MV. Laparoscopic pancreaticoduodenectomy: technique and outcomes. *J Am Coll Surg* 2007; 205: 222-230 [PMID: 17660068]
- Ahn KS, Han HS, Yoon YS, Cho JY, Kim JH. Laparoscopic liver resection in patients with a history of upper abdominal surgery. *World J Surg* 2011; 35: 1333-1339 [PMID: 21452069 DOI: 10.1007/s00268-011-1073-z]
- Li L, Cai X, Mou Y, Wei Q. Reoperation of the biliary tract by laparoscopy: an analysis of 39 cases. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2008; 18: 687-690 [PMID: 18803510 DOI: 10.1089/lap.2008.0065]
- 索运生, 陈安平, 肖宏, 易斌, 陈先林. 腹腔镜下再次胆道手术83例报告. *中华普外科手术学杂志(电子版)* 2012; 6: 356-360
- Tai CK, Tang CN, Ha JP, Chau CH, Siu WT, Li MK. Laparoscopic exploration of common bile duct in difficult choledocholithiasis. *Surg Endosc* 2004; 18: 910-914 [PMID: 15095079]
- Rhodes M, Sussman L, Cohen L, Lewis MP. Randomised trial of laparoscopic exploration of common bile duct versus postoperative endoscopic retrograde cholangiography for common bile duct stones. *Lancet* 1998; 351: 159-161 [PMID: 9449869]
- Lu J, Cheng Y, Xiong XZ, Lin YX, Wu SJ, Cheng NS. Two-stage vs single-stage management for concomitant gallstones and common bile duct stones. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 3156-3166 [PMID: 22791952 DOI: 10.3748/wjg.v18.i24.3156]
- 陈小勋, 李强辉, 张兆明, 周永淳, 郑逸川, 韦振轩, 黄克伟. 微创治疗胆总管结石的术式选择. *中国普通外科杂志* 2010; 19: 1135-1138
- 刘岳松, 李明宏, 王建华. 腹腔镜及内镜治疗胆总管结

■名词解释

腹腔镜再次胆道手术: 指针对有既往胆道手术史的肝外胆管结石患者采用腹腔镜下胆道探查手术; 腹腔镜首次胆道手术: 指针对无既往胆道手术史的肝外胆管结石患者采用腹腔镜下胆道探查手术。

■同行评价

作者采用回顾性方法对136例腹腔镜胆道手术患者的临床资料进行分析,比较腹腔镜再次胆道手术与首次胆道手术治疗肝外胆道结石的疗效。认为腹腔镜再次胆道手术与首次胆道手术治疗肝外胆管结石的效果一致,有一定的临床研究价值及参考意义。

- 14 石(附41例报道). 中国普外基础与临床杂志 2011; 18: 430-431
- 14 朱信强, 丁闯, 张明, 管小青, 陈焰. 腹腔镜联合胆道镜治疗胆总管结石107例. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2496-2499
- 15 吴志明, 姜建平, 储修峰, 孟兴成, 陈江, 蒋月林, 王国军. 开腹胆道术后腹腔镜再次胆道手术26例报道. 中华普外科手术学杂志(电子版) 2010; 4: 303-306
- 16 曹云, 陈安平. 腹腔镜下再次胆道手术47例临床应用. 中国内镜杂志 2009; 15: 35-38
- 17 刘金钢, 李航宇. 腹腔镜联合内镜技术治疗肝内外胆管结石的术式选择. 中国实用外科杂志 2009; 29: 607-609
- 18 刘双海, 汤晓东, 陈胜, 周一夫, 薛红娣, 周标, 贾竞超. 腹腔镜胆道探查术胆管一期缝合与T管引流的疗效比较. 中华普外科手术学杂志(电子版) 2012; 6: 76-81
- 19 El-Geidie AA. Is the use of T-tube necessary after laparoscopic choledochotomy? *J Gastrointest Surg* 2010; 14: 844-848 [PMID: 20232173 DOI: 10.1007/s11605-009-1133-y]
- 20 Barband AR, Kakaei F, Daryani A, Fakhree MB. Re-laparoscopy in minor bile leakage after laparoscopic cholecystectomy: an alternative approach? *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 2011; 21: 288-291 [PMID: 21857482 DOI: 10.1097/SLE.0b013e31822a2373]
- 21 Gurusamy KS, Koti R, Davidson BR. T-tube drainage versus primary closure after laparoscopic common bile duct exploration. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; 6: CD005641 [PMID: 23794201 DOI: 10.1002/14651858]
- 22 Yin Z, Xu K, Sun J, Zhang J, Xiao Z, Wang J, Niu H, Zhao Q, Lin S, Li Y. Is the end of the T-tube drainage era in laparoscopic choledochotomy for common bile duct stones is coming? A systematic review and meta-analysis. *Ann Surg* 2013; 257: 54-66 [PMID: 23059495 DOI: 10.1097/SLA.0b013e318268314b]
- 23 Mangla V, Chander J, Vindal A, Lal P, Ramteke VK. A randomized trial comparing the use of endobiliary stent and T-tube for biliary decompression after laparoscopic common bile duct exploration. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 2012; 22: 345-348 [PMID: 22874685 DOI: 10.1097/SLE.0b013e31825b297d]
- 24 Zhang WJ, Xu GF, Wu GZ, Li JM, Dong ZT, Mo XD. Laparoscopic exploration of common bile duct with primary closure versus T-tube drainage: a randomized clinical trial. *J Surg Res* 2009; 157: e1-e5 [PMID: 19577251]
- 25 刘树清, 陈书忠, 吴云光, 余明豪. 腹腔镜联合胆道镜治疗胆管结石160例. 世界华人消化杂志 2007; 15: 2734-2736

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



中度急性胰腺炎红细胞压积的变化意义

郭志国, 王 龙, 辛 毅

郭志国, 王龙, 辛毅, 宿州市立医院消化内科 安徽省宿州市 234000

郭志国, 主要从事急性胰腺炎的临床研究。

宿州市科技计划基金资助项目(自筹), No. [2012]82号-11

作者贡献分布: 郭志国负责课题设计和论文写作; 王龙负责数据分析; 辛毅主要负责试验监督和指导。

通讯作者: 辛毅, 主任医师, 234000, 安徽省宿州市汴河中路299号, 宿州市立医院消化内科. xinyi0215@sina.com

电话: 0557-3688537

收稿日期: 2014-05-16 修回日期: 2014-06-03

接受日期: 2014-06-11 在线出版日期: 2014-08-08

Hematocrit for early assessment of acute pancreatitis

Zhi-Guo Guo, Long Wang, Yi Xin

Zhi-Guo Guo, Long Wang, Yi Xin, Department of Gastroenterology, Suzhou Municipal Hospital, Suzhou 234000, Anhui Province, China

Supported by: the Science and Technology Project of Suzhou, No. [2012]82-11

Correspondence to: Yi Xin, Chief Physician, Suzhou Municipal Hospital, 299 Bianhe Middle Road, Suzhou 234000, Anhui Province, China. xinyi0215@sina.com

Received: 2014-05-16 Revised: 2014-06-03

Accepted: 2014-06-11 Published online: 2014-08-08

Abstract

AIM: To assess the significance of changes in hematocrit in patients with moderately severe acute pancreatitis (MSAP).

METHODS: A cohort study was performed on patients admitted with AP from January 2012 to June 2013. AP was defined according to the Atlanta classification and patients were categorized into three groups - mild AP, moderate AP and severe AP. Hematocrit (HCT) levels were calculated to determine risk of severity associated with elevated HCT level at admission and rise in HCT level at 24 h. Accuracy of the HCT measurement was determined by the area under the receiver operating characteristic curve (ROC) analysis.

RESULTS: A total of 94 AP cases were included in analysis, of whom 8 had severe AP, 65 had mild AP, and 21 had moderate AP. HCT levels at admission and at 24 h was significantly dif-

ferent between patients with mild AP and those with severe AP ($P < 0.05$). HCT levels at admission differed significantly between patients with moderate AP and those with severe AP ($P < 0.05$). The sensitivity of hematocrit $\geq 38\%$ as a marker for detection of moderate AP at admission was 57%, the specificity was 51% and the positive predictive value was 88%.

CONCLUSION: Hematocrit $\geq 38\%$ is probably used to detect moderate AP at the time of admission.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Acute pancreatitis; Hemoconcentration; Hematocrit

Guo ZG, Wang L, Xin Y. Hematocrit for early assessment of acute pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(22): 3325-3329 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3325.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3325>

摘要

目的: 研究中度急性胰腺炎(moderately severe acute pancreatitis, MSAP)时红细胞压积的变化。

方法: 选取2012-01/2013-06住院的急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)患者, 根据病情分轻、中、重三种。全自动血液细胞分析仪检测红细胞压积, 检测入院时及入院后24 h内各组红细胞压积值; 检测24 h内红细胞压积变化; 将红细胞压积水平对MSAP影响进行接收者操作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线特征分析。

结果: 符合要求者94例, 65例轻度急性胰腺炎与8例重度急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)相比: 入院时及入院后24 h内红细胞压积变化均有显著性差异($P < 0.05$); 65例MSAP与8例SAP相比: 入院时红细胞压积变化差异有显著性($P < 0.05$), 入院时红细胞压积 $\geq 38\%$ 预测MSAP的敏感性、特异性及阳性预测值分别为57%、51%和88%。

■背景资料

中度急性胰腺炎(moderately severe acute pancreatitis, MSAP)为最新亚特兰大分级, 目前临床上主要是回顾性诊断。

■同行评议者

赵春玲, 副教授, 潍坊医学院细胞生物学教研室; 洪艳, 教授, 贵阳医学院组胚教研室

■研发前沿

早期识别MSAP仍缺乏一种有效的方法, 如何避免MSAP进展为重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)仍有待更前瞻性的研究。

结论: 入院时红细胞压积 $\geq 38\%$ 患者发生MSAP可能性较大。

© 2014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; 血液浓缩; 红细胞压积

核心提示: 中度急性胰腺炎(moderately severe acute pancreatitis, MSAP)的提出对急性胰腺炎治疗产生了深远的影响, 但是具体发病机制并不明确, 目前临床上仍依赖于回顾性诊断。早期识别MSAP, 可以减少中度进展为重度, 我们对94例急性胰腺炎患者的回顾性分析中发现: 入院时红细胞压积 $\geq 38\%$ 患者发生MSAP可能性较大, 对于临床有一定的指导意义。

郭志国, 王龙, 辛毅. 中度急性胰腺炎红细胞压积的变化意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(22): 3325-3329 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3325.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3325>

0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是胰腺的急性炎症反应, 导致血容量减少、全身炎症反应综合征, 进一步引起胰腺微循环障碍, 胰腺坏死, 器官功能衰竭。美国胃肠病协会推荐AP时通过动态监测红细胞压积下降水平指导积极液体复苏, 入院时红细胞压积 $\geq 44\%$, 24 h内不能降低与胰腺坏死及疾病的严重程度有关。而对于红细胞压积降低的目标值, 目前并没有一致的共识^[1]。近年来一些临床试验证明积极液体复苏对AP可能有害^[2], 在AP治疗时更好的了解红细胞压积(hematocrit, HCT)的变化规律是必要的, 否则由于实验的误导, 可能引起临床医师对AP治疗不充分, 导致胰腺坏死和病死率的增加。Brown等^[3]证实24 h血液浓缩是重度急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)的危险因素, 但对于中度急性胰腺炎(moderately severe acute pancreatitis, MSAP)的影响尚没有相关研究。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2012-01/2013-06确诊为AP住院患者进行回顾性分析, 临床资料完整者94例。其中男64例, 女30例, 年龄18-89岁, 平均48岁 ± 3 岁, 重度8例。排除条件: (1)反复发作的AP; (2)慢性胰腺炎急性发作; (3)入院时距发病超过72 h者; (4)合并慢性器质性疾病和恶性肿瘤等。AP的诊断分级依据中华医学会消化病学分会胰腺疾病

学组2013年制定的《中国急性胰腺炎诊治指南》中的AP诊断与分级标准^[4]。轻度急性胰腺炎(mild acute pancreatitis, MAP): 具备AP的临床表现和生物化学改变, 不伴有器官功能衰竭及局部或全身并发症, 通常在1-2 wk内恢复。MSAP具备AP的临床表现和生物化学改变, 伴有一过性的器官功能衰竭(48 h内可自行恢复), 或伴有局部或全身并发症而不存在持续性的器官功能衰竭(48 h内不能自行恢复)。SAP: 具备AP的临床表现和生物化学改变, 须伴有持续的器官功能衰竭(持续48 h以上、不能自行恢复的呼吸系统、心血管或肾脏功能衰竭, 可累及一个或多个脏器)。其中MAP 65例, MSAP 21例, SAP 8例。患者在年龄、性别、病因等方面差异无统计学意义, 3组间具有可比性。

1.2 方法 3组患者均于入院时及入院后24 h内进行红细胞压积(hematocrit, HCT)检测及上腹部增强电子计算机体层摄像(computed tomography, CT); 检测24 h内红细胞压积变化; 将红细胞压积水平对MSAP影响进行ROC曲线特征分析。HCT正常参考值范围: 男性36%-48.2%, 女性34.7%-44.7%, 同时参照Brown^[3]报告, 以住院24 h内HCT $\geq 44\%$ 作为判断SAP的指标。HCT水平的检测采用的是日本SYSMEX公司生产的全自动血液细胞分析仪XE-2100进行检测。

统计学处理 采用SPSS18.0软件进行分析。红细胞压积用中位数值表示, 连续性变量用Wilcoxon秩和检验, 临床特征与结果用Fisher's精确检验, ROC曲线描绘红细胞压积的范围, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组基线资料 共有94例患者符合入选标准纳入本次研究, 8例SAP, 21例MSAP及65例轻度急性胰腺炎(mild acute pancreatitis, MAP)。AP患者的一般临床资料如表1所示, SAP组、MSAP组及MAP组3组患者在性别、病因构成方面均无显著性差异, 资料具有可比性。SAP患者中有5例(50%)出现了多器官功能衰竭(multiple organ failure, MOF), 其中4例死亡。入院时HCT重度组中位值显著高于轻度组(42.8% vs 37.8%, $P < 0.05$)。Logistic回归分析显示: 入院HCT $\geq 44\%$ 或入院时HCT $< 44\%$ 但入院至24 h HCT持续不降, 此两项指标可作为SAP的早期预测指标。入院时, 8例重度组中有4例HCT $\geq 44\%$, 而65例轻型组中仅9例HCT $\geq 44\%$ ($P < 0.05$); 入院24 h内,

■相关报道

Madaria等最新研究发现: AP入院48 h, 红细胞压积是液体积聚水平增加的独立危险因素。

表 1 3组急性胰腺炎患者临床资料比较

临床资料	轻度急性胰腺炎组	中度急性胰腺炎组	重度急性胰腺炎组
<i>n</i>	65	21	8
年龄(岁)	50(14-82)	51(28-85)	64(38-85)
性别(<i>n</i>)			
男	46	14	4
女	21	7	4
病因(<i>n</i>)			
胆系病变	35	14	4
饮酒	8	2	1
高脂血症	7	2	1
其他	17	3	2
平均住院天数(d)	5	7	19
死亡(<i>n</i>)	0	0	4

表 2 3组急性胰腺炎患者红细胞压积、发病时间比较

临床类型	<i>n</i>	入院时红细胞压积 (%)	入院24 h红细胞压积 (%)	发病时间 (h)
MAP组	65	37.8(26.6-47.1)	36.4(25-47)	25.9(2-72)
MSAP组	21	38.5(20.5-48.9)	38.7(30.2-47)	19.2(2-72)
SAP组	8	42.8(37.5-50.2)	40.7(34.7-48)	24.5(10-48)
<i>P</i> 值		0.59(MAP vs MSAP)	0.05(MAP vs MSAP)	0.25(MAP vs MSAP)
		0.01(MAP vs SAP)	0.01(MAP vs SAP)	0.87(MAP vs SAP)
		0.04(MSAP vs SAP)	0.29(MSAP vs SAP)	0.58(MSAP vs SAP)

MAP: 轻度急性胰腺炎; MSAP: 中度急性胰腺炎; SAP: 重度急性胰腺炎。

重度组4例, 轻度组61例, 中度组17例HCT<44%。

2.2 入院时及入院后24 h内各组红细胞压积比较 94例患者入院时及入院后24 h内红细胞压积变化(表2)。65例MAP与21例MSAP相比: 入院时及入院后24 h内红细胞压积变化无显著性差异($P>0.05$); 65例MAP与8例SAP相比: 入院时及入院后24 h内红细胞压积变化均有显著性差异($P<0.05$); 21例MSAP与8例SAP相比: 入院时红细胞压积变化差异有显著性($P<0.05$), 但入院后24 h内红细胞压积变化(38.7% vs 40.7%)无统计学意义($P>0.05$); 同时AP患者从出现症状到就诊平均时间上, 轻度25.9 h, 中度19.2 h, 重度24.5 h, 无明显统计学意义($P>0.05$)。

2.3 入院24 h内各组红细胞压积的变化 入院24 h内轻度、中度及SAP红细胞压积变化(表3), SAP入院24 h红细胞压积升高明显(4/8), 高于MAP(15/65)及MSAP(8/21), 但无统计学意义($P>0.05$)。

2.4 红细胞压积 $\geq 38\%$ 预测MSAP的诊断效果 MSAP入院时红细胞压积的敏感性是57%, 入院

后24 h为67%, 特异性分别是51%和54%, 阳性预测值入院时88%, 入院24 h 86%, 而阴性预测值分别是16%和28%(表4)。

3 讨论

根据最新亚特兰大分级AP分为轻度、中度和重度^[5], 而大多数评分系统主要针对于发病48-72 h, Fisher等^[6]研究证实AP发病24 h内为治疗“黄金时间窗”, 早期对AP的严重程度进行确切的分级有助于为患者选择最佳的治疗方案, 但大多数能够耐受上腹部疼痛患者很少在发病24 h内就诊, 治疗上的黄金时间丢失是中SAP发病的因素之一, 目前仍没有单个评分系统能够解决治疗及评估相关问题^[7,8]。Park等^[9]认为BISAP评分预测SAP、病死率, 器官功能衰竭与APACHE-II相当, 优于Ranson标准, CT严重指数(CT severity index, CTSI), C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、HCT及体质量指数(body mass index, BMI), 对MSAP未做评价。APACHE-II评分 >8 分对于入院时病情评定是有效地, 支持SAP发生,

■创新盘点

首次对MSAP时入院时及入院24 h红细胞压积与轻度、SAP进行了比较, 并观察入院24 h内的变化, 在红细胞压积 $\geq 38\%$ 水平上预测MSAP发生的价值进行了初步探讨。

■应用要点

入院时红细胞压积 $\geq 38\%$ 患者发生MSAP可能性较大, 为早期治疗提供新的理论依据。

■名词解释

中度急性胰腺炎(MSAP): 具备急性胰腺炎的临床表现和生物化学改变, 伴有一过性的器官功能衰竭(48 h内可自行恢复), 或伴有局部或全身并发症而不存在持续性的器官功能衰竭(48 h内不能自行恢复)。

表 3 3组急性胰腺炎患者24 h内红细胞压积变化

红细胞压积 (24 h)	轻度急性 胰腺炎组	中度急性 胰腺炎组	重度急性 胰腺炎组
<i>n</i>	65	21	8
增加	15	8	4
下降	50	13	4

表 4 红细胞压积 $\geq 38\%$ 预测中度急性胰腺炎发生的价值(%)

时间	敏感性	特异性	阳性预测值	阴性预测值
入院时	57	51	88	16
入院24 h	67	54	86	28

但在一些实验中并没有证实相对于入院时红细胞压积 $\geq 44\%$ 任何优越性。

红细胞压积是静脉补液的1项指标, 一直被应用于液体疗法的监控, 已经证实AP时快速血液浓缩增加28 d内住院患者的病死率和败血症发生, 在急性反应期红细胞压积宜维持在30%-40%之间^[10], 入院时血液浓缩被认为是SAP的高危因素^[11]。血液浓缩与SAP之间的关系在动物实验中也一直被广泛研究, 这些实验表明: 早期出现血液浓缩的AP多表现腹膜后液体积聚, 胰腺微循环受损, 局部或全身并发症增加, 器官功能衰竭, 治疗上应尽早给予改善胰腺微循环的药物, 推迟治疗能够降低治疗效果, 增加并发症, 加重缺血再灌注损伤, 增加胰腺坏死程度。印度学者对无害的AP评分系统小规模研究中发现: 18岁以上的AP患者, 随访至少1年或死亡。在评分系统中纳入红细胞压积: 入院时男性 $< 43\%$, 女性 $< 39.6\%$, 其他指标为反复腹痛和血肌酐 $< 2 \text{ mg/dL}$, 93.6%为轻度胰腺炎^[12]。意大利学者一项“真实世界”的观察性研究共纳入112例AP患者: 81.3%的患者年龄 > 40 岁, 47.3%的患者年龄 > 60 岁, 26.8%的患者红细胞压积 $> 40\%$, 红细胞压积不能有效地预测住院日^[13]。Gardner等^[14,15]也认为红细胞压积不能准确预测SAP, 入院时红细胞压积值对预测AP器官功能衰竭和胰腺坏死无助, 但对入院24 h内红细胞压积变化并无比较。de-Madaria等^[16]最新研究发现: AP入院48 h, 年龄、酒精、红细胞压积、血糖、全身炎症反应综合征是液体积聚水平增加的独立危险因素, 这些患者局部和全身并发症增加, 住院日延长危险性较高。

我们在回顾性研究中发现, 94例患者中,

29例(30.9%)患者出现局部或全身并发症, 8例(8.5%)患者出现 $> 48 \text{ h}$ 器官功能衰竭, 其中4例(4.3%)患者无显著血液浓缩, 提示血液浓缩不是SAP发病的唯一因素。死亡的4例患者入院时及入院24 h红细胞压积均持续超过44%。21例中度胰腺炎与8例重度胰腺炎相比: 入院时红细胞压积变化有显著性差异($P < 0.05$), 表现为并发症少, 住院时间平均在1 wk以内。男性发病高于女性, 与饮酒、高脂血症有关。在红细胞压积 $\geq 38\%$ 预测MSAP ROC曲线特征分析表明: MSAP入院时红细胞压积的敏感性是57%, 入院后24 h为67%, 特异性分别是51%和54%, 阳性预测值入院时88%, 入院24 h 86%, 而阴性预测值分别是16%和28%, 入院时红细胞压积 $\geq 38\%$ 可以作为预测MSAP的一项指标。本试验不足为回顾性研究, 不能完整记录入院及出院时的补液量, 入院48 h MSAP补液后红细胞压积动态改变与发生SAP的例数, 需进一步前瞻性研究证实。

本研究结果表明, 入院时红细胞压积 $\geq 38\%$ 的患者发生MSAP可能性较大, 这些患者应给以心电监护, 更积极地液体复苏、营养支持及生长抑素类药物使用, 防止发展为SAP。而对于入院时红细胞压积 $< 38\%$ 患者发生MAP可能性大。

4 参考文献

- 1 Banks PA, Freeman ML. Practice guidelines in acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 2379-2400 [PMID: 17032204 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2006.00856.x]
- 2 Trikudanathan G, Navaneethan U, Vege SS. Current controversies in fluid resuscitation in acute pancreatitis: a systematic review. *Pancreas* 2012; 41: 827-834 [PMID: 22781906 DOI: 10.1097/MPA.0b013e31824c1598]
- 3 Brown A, Orav J, Banks PA. Hemoconcentration is an early marker for organ failure and necrotizing pancreatitis. *Pancreas* 2000; 20: 367-372 [PMID: 10824690 DOI: 10.1097/00006676-200005000-00005]
- 4 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组, 中华胰腺病杂志编辑委员会, 中华消化杂志编辑委员会. 中国急性胰腺炎诊治指南(2013年, 上海). *中华消化杂志* 2013; 33: 217-222
- 5 Vege SS, Gardner TB, Chari ST, Munukuti P, Pearson RK, Clain JE, Petersen BT, Baron TH, Farnell MB, Sarr MG. Low mortality and high morbidity in severe acute pancreatitis without organ failure: a case for revising the Atlanta classification to include "moderately severe acute pancreatitis". *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 710-715 [PMID: 19262525 DOI: 10.1038/ajg.2008.77]
- 6 Fisher JM, Gardner TB. The "golden hours" of management in acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1146-1150 [PMID: 22858994 DOI: 10.1038/ajg.2012.91]
- 7 Alsfasser G, Rau BM, Klar E. Scoring of human acute

- pancreatitis: state of the art. *Langenbecks Arch Surg* 2013; 398: 789-797 [PMID: 23680979 DOI: 10.1007/s00423-013-1087-0]
- 8 Talukdar R, Nageshwar Reddy D. Predictors of adverse outcomes in acute pancreatitis: new horizons. *Indian J Gastroenterol* 2013; 32: 143-151 [PMID: 23475525 DOI: 10.1007/s12664-013-0306-5]
 - 9 Park JY, Jeon TJ, Ha TH, Hwang JT, Sinn DH, Oh TH, Shin WC, Choi WC. Bedside index for severity in acute pancreatitis: comparison with other scoring systems in predicting severity and organ failure. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2013; 12: 645-650 [PMID: 24322751 DOI: 10.1016/S1499-3872(13)60101-0]
 - 10 Mao EQ, Fei J, Peng YB, Huang J, Tang YQ, Zhang SD. Rapid hemodilution is associated with increased sepsis and mortality among patients with severe acute pancreatitis. *Chin Med J (Engl)* 2010; 123: 1639-1644 [PMID: 20819621]
 - 11 Pitchumoni CS, Patel NM, Shah P. Factors influencing mortality in acute pancreatitis: can we alter them? *J Clin Gastroenterol* 2005; 39: 798-814 [PMID: 16145344]
 - 12 Talukdar R, Sharma M, Deka A, Teslima S, Dev Goswami A, Goswami A, Baro A, Nageshwar Reddy D. Utility of the "Harmless Acute Pancreatitis Score" in predicting a non-severe course of acute pancreatitis: A pilot study in an Indian cohort. *Indian J Gastroenterol* 2014 Mar 28. [Epub ahead of print][PMID: 24671724]
 - 13 De Nuzzo D, Miconi A, Pierantognetti P. Management of suspected acute inflammatory pancreatopathies in a "real-world" setting: a single-centre observational study. *JOP* 2014; 15: 175-181 [PMID: 24618444]
 - 14 Gardner TB, Olenec CA, Chertoff JD, Mackenzie TA, Robertson DJ. Hemoconcentration and pancreatic necrosis: further defining the relationship. *Pancreas* 2006; 33: 169-173 [PMID: 16868483 DOI: 10.1097/01.mpa.0000226885.32957.17]
 - 15 Gardner TB, Robertson DJ. Influence of baseline hematocrit on traditional calculations of hemoconcentration to predict severity in acute pancreatitis. *Pancreas* 2008; 36: 209-210 [PMID: 18376317 DOI: 10.1097/01.MPA.0000311838.56268.88]
 - 16 de-Madaria E, Banks PA, Moya-Hoyo N, Wu BU, Rey-Riveiro M, Acevedo-Piedra NG, Martínez J, Lluís F, Sánchez-Payá J, Singh VK. Early factors associated with fluid sequestration and outcomes of patients with acute pancreatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014; 12: 997-1002 [PMID: 24183957 DOI: 10.1016/j.cgh.2013.10.017]

■同行评价

本文有一定的科学性、创新性和可读性,对临床具有一定的指导意义。

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



清胰汤治疗急性胰腺炎的机制及其临床效果

杨英碧, 李玲, 陈金春, 熊韦韦, 陈祥

■背景资料

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是外科常见急腹症,以急性腹痛、呕吐、恶心及血尿淀粉酶异常升高为典型特点。AP包括轻症急性胰腺炎(mild acute pancreatitis, MAP)和重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP),患者并发症发生率及死亡率均较高,临床治疗较为棘手。西医综合治疗是治疗AP的首选临床方式,但效果不能令人满意。

杨英碧, 李玲, 陈金春, 熊韦韦, 陈祥, 贵州省水城矿业总医院 贵州省六盘水市 553000

杨英碧, 副主任医师, 主要从事消化内科的相关研究。

作者贡献分布: 此课题由杨英碧设计; 研究过程由杨英碧与李玲完成; 数据分析由陈金春、熊韦韦及陈祥完成; 写作由于杨英碧、李玲、陈金春、熊韦韦及陈祥共同完成。

通讯作者: 杨英碧, 副主任医师, 553000, 贵州省六盘水市钟山区水西路17号, 贵州省水城矿业总医院。18908585500@189.cn
收稿日期: 2014-05-05 修回日期: 2014-06-05

接受日期: 2014-06-19 在线出版日期: 2014-08-08

Therapeutic effects of Qingyi decoction against severe acute pancreatitis

Ying-Bi Yang, Ling Li, Jin-Chun Chen, Wei-Wei Xiong, Xiang Chen

Ying-Bi Yang, Ling Li, Jin-Chun Chen, Wei-Wei Xiong, Xiang Chen, Shuicheng Mining General Hospital, Liupanshui 553000, Guizhou Province, China

Correspondence to: Ying-Bi Yang, Associate Chief Physician, Shuicheng Mining General Hospital, 17 Shuixi Road, Zhongshan District, Liupanshui 553000, Guizhou Province, China. 18908585500@189.cn

Received: 2014-05-05 Revised: 2014-06-05

Accepted: 2014-06-19 Published online: 2014-08-08

Abstract

AIM: To assess the therapeutic effects of Qingyi decoction against severe acute pancreatitis and to explore the underlying mechanisms.

METHODS: Ninety patients with severe acute pancreatitis were randomly divided into either an experiment group or a control group. The control group was treated with conventional Western medicine, while the experiment group was additionally given Qingyi decoction on the basis of conventional Western medicine. The body temperature, leucocyte count, blood glucose, the time to recovery of liver function, hospital stay, APACHE II score and clinical effects were compared between the two groups.

RESULTS: The body temperature, leucocyte count, blood glucose, the time to recovery of liver function, and hospital stay in the experiment group were significantly lower than those in the control group ($7.41 \text{ d} \pm 1.07 \text{ d}$ vs $10.23 \text{ d} \pm$

1.24 d , $11.21 \text{ d} \pm 1.94 \text{ d}$ vs $14.89 \text{ d} \pm 1.52 \text{ d}$, $12.85 \text{ d} \pm 1.99 \text{ d}$ vs $15.58 \text{ d} \pm 2.26 \text{ d}$, $12.89 \text{ d} \pm 2.93 \text{ d}$ vs $17.15 \text{ d} \pm 2.95 \text{ d}$, $23.02 \text{ d} \pm 1.27 \text{ d}$ vs $28.58 \text{ d} \pm 2.33 \text{ d}$, $P < 0.05$). APACHE II score at 2 weeks post-treatment in the experiment group was significantly lower than pretreatment value (8.30 ± 2.92 vs 11.62 ± 1.16 , $P < 0.05$). APACHE II score at 3 weeks post-treatment in the control group was significantly lower than pretreatment value (10.42 ± 3.99 vs 11.64 ± 1.08 , $P < 0.05$). APACHE II score at 1 week post-treatment in the experiment group was significantly lower than that in the control group (8.30 ± 2.92 vs 10.42 ± 3.99 , $P < 0.05$). There were no significant differences in APACHE II scores between the two group at 3 or 8 wk (3.88 ± 0.72 vs 4.19 ± 0.47 , 3.36 ± 0.88 vs 3.55 ± 0.61 , $P > 0.05$). The cure rate and total effective rate in the experiment group were significantly higher than those in the control group (44.44% vs 6.67% , 95.56% vs 71.11% , $P < 0.05$). The complication rate in the experiment group was significantly lower than that in the control group (6.67% vs 22.22% , $P < 0.05$).

CONCLUSION: Qingyi decoction can improve clinical symptoms, shorten the time to recovery of biochemical indicators, and reduce complications in patients with severe acute pancreatitis.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Qingyi decoction; Severe acute pancreatitis; Mechanism; Clinical effects

Yang YB, Li L, Chen JC, Xiong WW, Chen X. Therapeutic effects of Qingyi decoction against severe acute pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(22): 3330-3334 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3330.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3330>

摘要

目的: 探讨清胰汤治疗急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)的机制及其临床效果。

方法: 按照随机数字表法将贵州省水城矿业总医院收治的90例AP患者均分为实验组和对

■同行评议者

谭晓冬, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

照组, 对照组患者给予常规西医综合治疗, 实验组患者在此基础上加用清胰汤治疗, 比较两组患者体温、白细胞、血糖、肝功能恢复正常时间、住院时间、治疗前后APACHE II评分改善情况以及临床疗效。

结果: 实验组患者体温、白细胞、血糖、肝功能恢复正常时间及住院时间均显著低于对照组($7.41 \pm 1.07 \text{ d}$ vs $10.23 \pm 1.24 \text{ d}$, $11.21 \pm 1.94 \text{ d}$ vs $14.89 \pm 1.52 \text{ d}$, $12.85 \pm 1.99 \text{ d}$ vs $15.58 \pm 2.26 \text{ d}$, $12.89 \pm 2.93 \text{ d}$ vs $17.15 \pm 2.95 \text{ d}$, $23.02 \pm 1.27 \text{ d}$ vs $28.58 \pm 2.33 \text{ d}$), 差异具有统计学意义($P < 0.05$); 实验组患者治疗后1 wk APACHE II评分即显著下降, 与治疗前比较(8.30 ± 2.92 分 vs 11.62 ± 1.16 分), 差异具有统计学意义($P < 0.05$); 对照组患者治疗后3 wk APACHE II评分显著下降, 与治疗前比较(10.42 ± 3.99 分 vs 11.64 ± 1.08 分), 差异具有统计学意义($P < 0.05$); 实验组患者治疗后1 wk APACHE II评分显著低于对照组(8.30 ± 2.92 分 vs 10.42 ± 3.99 分), 差异具有统计学意义($P < 0.05$); 两组患者治疗后3、8 wk APACHE II评分比较(3.88 ± 0.72 分 vs 4.19 ± 0.47 分)、(3.36 ± 0.88 分 vs 3.55 ± 0.61 分), 差异无统计学意义($P > 0.05$); 实验组患者治愈率和总有效率均显著高于对照组(44.44% vs 6.67% , 95.56% vs 71.11%), 差异具有统计学意义($P < 0.05$); 实验组患者并发症发生率明显低于对照组(6.67% vs 22.22%), 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

结论: 清胰汤能够有效改善患者临床症状, 缩短患者各项生化指标恢复时间, 降低并发症发生率, 临床疗效显著。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 清胰汤; 急性胰腺炎; 机制; 临床效果

核心提示: 本研究中清胰汤主要由柴胡、生大黄(后下)、黄芩、木香、胡连、芒硝、元胡几味药组成, 其中柴胡、木香可疏肝利胆, 生大黄可攻积导滞、泻下通便, 黄芩可清肝胆脾胃之热, 胡连能够退蒸消痞、清热燥湿, 芒硝则可泻热通便、润燥软坚、清火消肿, 元胡有平肝缓急之功效, 诸药配伍共奏活血、疏肝利胆、泻热通腑之功效。

杨英碧, 李玲, 陈金春, 熊韦韦, 陈祥. 清胰汤治疗急性胰腺炎的机制及其临床效果. 世界华人消化杂志 2014; 22(22): 3330-3334
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3330.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i22.3330>

0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是外科常见急腹症, 以急性腹痛、呕吐、恶心及血尿淀粉酶异常升高为典型特点^[1]. AP包括轻度急性胰腺炎(mild acute pancreatitis, MAP)和重度急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP), 患者并发症发生率及死亡率均较高, 临床治疗较为棘手^[2]. 西医综合治疗是治疗AP的首选临床方式, 但效果不能令人满意. 贵州省水城矿业总医院在此基础上采用清胰汤进行治疗, 现回顾性分析其临床效果及作用机制, 报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2012-01/2014-01贵州省水城矿业总医院收治的AP患者90例作为研究对象. 所有患者均符合中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组发布的《中国急性胰腺炎诊治指南(2013, 上海)》^[3]中AP的相关诊断标准, 经影像学检查确诊, APAPECHE II评分^[4]不低于8分, 实验室检查血淀粉酶活性异常增高, 患者临床主要表现为急性发作的剧烈而持续性上腹痛、恶心、呕吐等症状. 排除其他急腹症患者, 因手术、外伤或逆行胆管造影等引起的胰腺炎, 合并肿瘤以及病情复杂难以确定的患者. 按照随机数字表法将90例患者均分为实验组和对照组. 所有患者均签署知情同意书, 并同意配合为期8 wk的随访。

1.2 方法 对照组患者仅给予常规西医综合治疗, 包括禁食、持续胃肠减压、全胃肠道外营养、补液、扩容、纠正水电解质和酸碱平衡、抗生素抗炎、保持大便通畅、营养对症支持以及抑制胰腺外分泌和胰酶^[5]。

实验组患者在此基础上给予中医清胰汤辨证治疗. 清胰汤基本方: 柴胡、生大黄(后下)各15 g, 黄芩、木香、胡连、芒硝、元胡各10 g. 黄疸重者加用金钱草、茵陈, 热毒炽盛者加用蒲公英、鱼腥草^[6]. 水煎至200 mL分早晚两次经胃管注入, 每次夹闭胃管15-30 min. 观察指标: 记录两组患者体温、白细胞、血糖、肝功能恢复正常时间及住院时间, 比较两组患者治疗前后APACHE II评分改善情况以及临床疗效. 疗效评价标准: 治愈: 治疗2 wk后临床症状、体征及生化指标恢复正常; 显效: 治疗2-4 wk后临床症状、体征及生化指标恢复正常; 有效: 治疗4-8 wk后临床症状、体征及生化指标明显改善, 但未达到正常范围; 无效: 治疗4-8 wk后临床症

■ 研究前沿

AP起病急, 病情复杂, 易引发休克、全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome)以及多器官功能衰竭综合征(multiple organs dysfunction syndrome)等并发症, 严重可导致死亡. AP发病机制较为复杂, 临床研究表明, 早期大量液体渗出及炎性介质释放是导致患者循环障碍和组织器官损坏发生的主要原因, 也是引起一系列并发症的重要因素。

■相关报道

传统中医学认为, AP的主要病机为肝胆失疏、湿热蕴结, 临床治疗的关键是通腑泄热和活血化痰。

表 1 两组患者临床资料比较 ($n = 45$)

分组	性别 $n(\%)$		平均年龄 (岁)	APACHE II 评分(分)	发病原因 $n(\%)$					严重程度 $n(\%)$	
	男	女			胆源性	高脂血症	暴饮暴食	酒精性	其他	MAP	SAP
实验组	28 (62.22)	17 (37.78)	46.82 ± 12.13	11.62 ± 1.16	13 (28.89)	4 (8.89)	11 (24.44)	7 (15.56)	10 (22.22)	9 (20.00)	34 (75.56)
对照组	29 (64.44)	16 (35.56)	50.57 ± 11.76	11.64 ± 1.08	12 (26.67)	5 (11.11)	12 (26.67)	8 (17.78)	8 (17.78)	10 (22.22)	35 (77.78)

MAP: 轻度急性胰腺炎; SAP: 重症急性胰腺炎。

表 2 两组患者体温、白细胞、血糖、肝功能恢复正常时间及住院时间比较 ($n = 45$, mean ± SD, d)

分组	体温恢复时间	白细胞恢复正常时间	血糖恢复正常时间	肝功能恢复正常时间	住院时间
实验组	7.41 ± 1.07 ^a	11.21 ± 1.94 ^a	12.85 ± 1.99 ^a	12.89 ± 2.93 ^a	23.02 ± 1.27 ^a
对照组	10.23 ± 1.24	14.89 ± 1.52	15.58 ± 2.26	17.15 ± 2.95	28.58 ± 2.33

^a $P < 0.05$ vs 对照组。

表 3 两组患者治疗前后APACHE II 评分比较 ($n = 45$, mean ± SD, 分)

分组	治疗前	治疗后		
		1 wk	3 wk	8 wk
实验组	11.62 ± 1.16	8.30 ± 2.92 ^{ac}	3.88 ± 0.72 ^a	3.36 ± 0.88 ^a
对照组	11.64 ± 1.08	10.42 ± 3.99	4.19 ± 0.47 ^a	3.55 ± 0.61 ^a

^a $P < 0.05$ vs 同组治疗前; ^c $P < 0.05$ vs 对照组。

状、体征及生化指标无改善或死亡^[7]。

统计学处理 使用SPSS17.0统计分析, 用mean ± SD表示计量资料, 采用 t 检验, 用百分比表示计数资料, 采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者临床资料比较 两组患者在性别、年龄、APACHE II评分、发病原因及病情严重程度等上差异无统计学意义($P > 0.05$)(表1), 具有可比性。

2.2 两组患者体温、白细胞、血糖、肝功能恢复正常时间及住院时间比较 实验组患者体温、白细胞、血糖、肝功能恢复正常时间及住院时间均显著低于对照组, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)(表2)。

2.3 两组患者治疗前后APACHE II 评分比较 实验组患者治疗后1 wk APACHE II评分即显著下降, 与治疗前比较, 差异具有统计学意义($P < 0.05$), 且随治疗时间延长APACHE II评分

呈现逐渐下降趋势; 对照组患者治疗后3 wk APACHE II评分显著下降, 与治疗前比较, 差异具有统计学意义($P < 0.05$), 且随治疗时间延长APACHE II评分呈现逐渐下降趋势; 实验组患者治疗后1 wk APACHE II评分显著低于对照组, 差异具有统计学意义($P < 0.05$); 两组患者治疗后3、8 wk APACHE II评分比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)(表3)。

2.4 两组患者临床疗效比较 实验组患者治愈率和总有效率均显著高于对照组, 差异具有统计学意义($P < 0.05$); 实验组患者并发症发生率明显低于对照组, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)(表4)。

3 讨论

AP起病急, 病情复杂, 易引发休克、全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)以及多器官功能衰竭综合征(multiple organs dysfunction syndrome, MODS)等并发症, 严重可导致死亡^[8]。AP发病机制较为复

表 4 两组患者临床疗效比较 [$n = 45, n(\%)$]

分组	治愈	显效	有效	无效	总有效	并发症
实验组	20(44.44) ^a	17(37.78)	6(13.33)	2(4.44)	43(95.56) ^a	3(6.67) ^a
对照组	3(6.67)	23(51.11)	6(13.33)	13(28.89)	32(71.11)	10(22.22)

^a $P < 0.05$ vs 对照组.

杂, 临床研究表明, 早期大量液体渗出及炎性介质释放是导致患者循环障碍和组织器官损坏发生的主要原因, 也是引起一系列并发症的重要因素^[9]. 常规西医综合治疗通过补液迅速补充患者血容量, 通过纠正水电解质和酸碱平衡等措施预防并发症发生, 通过禁食、胃肠减压以及营养对症支持改善患者胃肠环境, 但在治疗AP上临床效果不能令人满意^[10].

传统中医学认为, AP的主要病机为肝胆失疏、湿热蕴结, 临床治疗的关键是通腑泄热和活血化痰^[11]. 本研究中清胰汤主要由柴胡、生大黄(后下)、黄芩、木香、胡连、芒硝、元胡几味药组成, 其中柴胡、木香可疏肝利胆, 生大黄可攻积导滞、泻下通便, 黄芩可清肝胆脾胃之热, 胡连能够退蒸消痞、清热燥湿, 芒硝则可泻热通便、润燥软坚、清火消肿, 元胡有平肝缓急之功效, 诸药配伍共奏活血、疏肝利胆、泻热通腑之功效^[12]. 现代药理学研究表明, 清胰汤辅助治疗AP具有促进消化道平滑肌兴奋、能改善肠动力、调节机体免疫力及能纠正机体炎症和抗炎系统失衡等临床效果^[13]. 相关文献报道指出清胰汤治疗AP的机制主要包括: 抑制白介素(interleukin, IL)-6、IL-8、肿瘤坏死因子- α 等炎症因子产生; 保护肠黏膜, 改善内毒素导致的肠黏膜通透性增加, 抑制肠道细菌移位^[14]; 促进肠蠕动、清除肠道内毒素和腐败物质, 改善腹内压, 松弛Oddis括约肌功能; 加速急性液体积聚的吸收, 缓解急性肺损伤; 抑制胰酶活性; 抗细菌预防感染^[15].

本研究结果还显示, 在常规西医综合治疗基础上加用清胰汤后患者体温、白细胞、血糖、肝功能恢复正常时间及住院时间均显著缩短, 治疗后1 wk APACHE II评分显著改善, 治愈率和总有效率也有明显提升. 表明清胰汤具有多靶位、多靶点、综合调节等特点, 在改善患者临床症状, 缩短康复时间上具有显著临床优势^[16]. 但本研究中两组患者治疗后3、8 wk APACHE

II评分比较, 差异无统计学意义, 表明两种治疗方案均有效, 但加用清胰汤后见效更快.

总之, 清胰汤能够有效改善患者临床症状, 缩短患者各项生化指标恢复时间, 降低并发症发生率, 临床疗效显著.

4 参考文献

- 陈婧华, 陈垦, 王晖. 急性胰腺炎发病机制研究进展. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2478-2483
- 徐毅晖, 陈垦, 崔淑兰, 王晖. 促炎和抗炎因子在急性胰腺炎发病机制中的研究进展. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1912-1918
- 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组. 《中华胰腺病杂志》编辑委员会, 《中华消化杂志》编辑委员会. 中国急性胰腺炎诊治指南(2013, 上海). 中国实用内科杂志 2013; 33: 530-535
- 王东旭, 林连捷, 郑长青. 急性胰腺炎的评分系统. 世界华人消化杂志 2013; 21: 880-885
- Yao Y, Hong S, Zhou H, Yuan T, Zeng R, Liao K. The differential protein and lipid compositions of noncaveolar lipid microdomains and caveolae. *Cell Res* 2009; 19: 497-506 [PMID: 19255590 DOI: 10.1038/cr.2009.27]
- 李文茂, 李方明, 刘祖明, 李果生, 宋文民, 杨迪. 改良清胰汤中西医结合治疗急性胰腺炎. 中国实验方剂学杂志 2011; 17: 264-265
- Moody TW, Ito T, Osefo N, Jensen RT. VIP and PACAP: recent insights into their functions/roles in physiology and disease from molecular and genetic studies. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2011; 18: 61-67 [PMID: 21157320 DOI: 10.1097/MED.0b013e328342568a]
- 骆永富, 王湘英. 炎症细胞因子与重症急性胰腺炎肠屏障功能障碍. 世界华人消化杂志 2010; 18: 2679-2684
- 戴璟瑜, 郑通标, 许燕平, 闫玉矿, 彭海峰. 急性胰腺炎不同时期炎症因子的基因表达及意义(优先出版). 海南医学院学报 2012; 20: 56-57
- Zhu HC, Zhao J, Luo CY, Li QQ. Gastrointestinal dysfunction in a Parkinson's disease rat model and the changes of dopaminergic, nitric oxidergic, and cholinergic neurotransmitters in myenteric plexus. *J Mol Neurosci* 2012; 47: 15-25 [PMID: 21647710 DOI: 10.1007/s12031-011-9560-0]
- 朱明辉. 清胰汤辅助治疗急性胰腺炎临床观察. 新中医 2013; 45: 52-53
- 屈坤鹏, 司若滢, 杨晓军, 高鹏, 张小元. 中药清胰汤治疗重症急性胰腺炎的疗效观察. 兰州大学学报(医学版) 2012; 38: 43-46
- 郑吉顺, 戴夫, 彭琼, 洪慈. 清胰汤联合舒血宁治疗急性胰腺炎疗效观察. 安徽医药 2010; 14: 585-587
- 华付, 宋小平, 汪国华, 朱建华, 何江. 清胰汤治疗重症急性胰腺炎疗效观察. 实用药物与临床 2013; 16: 167-169

■同行评价

本文选题贴近临床需求, 有助于解决临床工作中的实际问题. 实验设计合理, 数据全面, 翔实. 结论可靠.

- 15 张雪梅, 陈海龙, 王朝晖. 清胰汤对大鼠急性胰腺炎肺损伤时SP-A表达的影响. 世界华人消化杂志 2007; 15: 3738-3743
- 16 Al-Omran M, Albalawi ZH, Tashkandi MF, Al-

Ansary LA. Enteral versus parenteral nutrition for acute pancreatitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2010; (1): CD002837 [PMID: 20091534 DOI: 10.1002/14651858.CD002837.pub2]

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

百世登出版集团推出 12 种开放获取生物医学期刊全部被 PubMed 和 PMC 收录

本刊讯 由美国国立医学图书馆(U.S. National Library of Medicine, 简称NLM), 美国国立生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, 简称NCBI)和美国国立卫生研究院(National Institutes of Health, 简称NIH), 共同于2010-2011年, 收录了百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group Co., Limited, 简称BPG)出版的12种开放获取生物医学期刊. 12种期刊被NLM, NCBI和NIH共同主办的PubMed Central和PubMed平台, 公开面向全球发布, 读者免费阅读和下载全文. 12种期刊被收录的名称及网址如下:

- 1 World Journal of Biological Chemistry (世界生物化学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1495/>
- 2 World Journal of Cardiology (世界心脏病学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1320/>
- 3 World Journal of Clinical Oncology (世界临床肿瘤学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1494/>
- 4 World Journal of Diabetes (世界糖尿病杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1498/>
- 5 World Journal of Gastrointestinal Endoscopy (世界胃肠内镜杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1323/>
- 6 World Journal of Gastrointestinal Oncology (世界胃肠肿瘤学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1324/>
- 7 World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology (世界胃肠病理生理学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1496/>
- 8 World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics (世界胃肠药理学与治疗杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1497/>
- 9 World Journal of Gastrointestinal Surgery (世界胃肠外科杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1325/>
- 10 World Journal of Hepatology (世界肝病学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1321/>
- 11 World Journal of Radiology (世界放射学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1322/>
- 12 World Journal of Stem Cells (世界干细胞杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1470/>

(总编辑: 马连生2011-05-30)

双气囊小肠镜对小肠间质瘤的诊断价值

杨波, 毛高平, 宁守斌, 朱鸣

杨波, 毛高平, 宁守斌, 朱鸣, 中国人民解放军空军总医院消化内科 北京市 100142

杨波, 主要从事小肠疾病的研究。

作者贡献分布: 杨波负责临床资料的整理、统计; 毛高平、宁守斌、朱鸣及杨波参与相关操作; 杨波具体实施并撰写论文。

通讯作者: 毛高平, 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消化内科。

maogaoping@medmail.com.cn

电话: 010-66928046

收稿日期: 2014-05-12 修回日期: 2014-06-10

接受日期: 2014-06-22 在线出版日期: 2014-08-08

Value of double balloon endoscopy in diagnosis of small intestinal stromal tumors

Bo Yang, Gao-Ping Mao, Shou-Bin Ning, Ming Zhu

Bo Yang, Gao-Ping Mao, Shou-Bin Ning, Ming Zhu, Department of Gastroenterology, Air Force General Hospital, Beijing 100142, China

Correspondence to: Gao-Ping Mao, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Air Force General Hospital, 30 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100142, China. maogaoping@medmail.com.cn

Received: 2014-05-12 Revised: 2014-06-10

Accepted: 2014-06-22 Published online: 2014-08-08

Abstract

AIM: To assess the diagnostic yield and security of double balloon endoscopy (DBE) in small intestinal stromal tumors (SISTs).

METHODS: We retrospectively reviewed clinical data for 30 patients who had received DBE for SISTs at our hospital from May 2008 to December 2013.

RESULTS: Of the 30 patients who underwent DBE for SISTs, 27 were confirmed to have SISTs by surgery and pathology, and the preoperative diagnostic accuracy rate of DBE was 90.0% (27/30). Of the 27 confirmed cases, 25.9% (7/27) were found in the duodenum, 59.3% (16/27) in the jejunum, and 14.8% (4/27) in the ileum. Abdominal ultrasound showed 33.3% (6/18) of lesions, MDCT showed 80.0% (12/15), and X-ray barium meal showed 66.7% (4/6). The positive rates of CD117 and CD34 in tumors were 92.6% (25/27) and 88.9% (24/27), respectively. Nausea,

throat discomfort, bloating and other symptoms were present in some patients after DBE, all of which resolved spontaneously. The rate of severe complications was low.

CONCLUSION: DBE has a high preoperative diagnosis rate for SISTs, showing high diagnosis value and high safety.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Double balloon endoscopy; Small intestinal stromal tumors; Diagnostic yield

Yang B, Mao GP, Ning SB, Zhu M. Value of double balloon endoscopy in diagnosis of small intestinal stromal tumors. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(22): 3335-3339 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3335.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3335>

摘要

目的: 评价双气囊小肠镜(double balloon endoscopy, DBE)对小肠间质瘤(small intestine stromal tumors, SISTs)的诊断价值及安全性。

方法: 回顾性分析2008-05/2013-12中国人民解放军空军总医院经DBE检查诊断为SISTs的30例患者临床资料。

结果: 30例行DBE检查诊断为SISTs, 其中经手术病理证实为SISTs有27例, DBE术前检出正确率为90.0%(27/30), 25.9%(7/27)位于十二指肠, 59.3%(16/27)位于空肠, 14.8%(4/27)位于回肠; 腹部B超发现病变为33.3%(6/18); 多层螺旋CT发现病变为80%(12/15); X线钡餐造影发现病变为66.7%(4/6)。肿瘤组织CD117、CD34阳性率分别为92.6%(25/27)、88.9%(24/27)。4例患者检查后出现恶心、咽部不适、腹胀等症状, 但均能自行缓解, 严重并发症发生率较低。

结论: DBE检查术前诊断率高, 具有较高的诊断价值且安全性高。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

■背景资料

小肠间质瘤是一种常见的小肠肿瘤, 近年来发病率呈逐渐增多的趋势。2001年, 日本学者Yamamoto发明了推进式双气囊电子小肠镜, 为小肠疾病的诊断提供了一种新的重要的检查方法, 双气囊小肠镜的应用对小肠间质瘤具有较高的临床应用价值。

■同行评议者

郭晓钟, 教授, 中国人民解放军沈阳军区总医院消化内科

■研发前沿

国内外已有一些文献报道双气囊小肠镜在小肠间质瘤诊断中的应用,并初步显示了双气囊小肠镜在小肠间质瘤诊断中的应用价值。

关键词: 双气囊电子小肠镜; 小肠间质瘤; 诊断价值

核心提示: 双气囊小肠镜对小肠间质瘤具有较高的诊断率,安全性高,并发症少,本文进行了双气囊小肠镜与一些常规检查(如腹部B超、腹部增强CT、消化系钡餐造影)诊断价值的比较。

杨波, 毛高平, 宁守斌, 朱鸣. 双气囊小肠镜对小肠间质瘤的诊断价值. 世界华人消化杂志 2014; 22(22): 3335-3339 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3335.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3335>

0 引言

Negrenu等^[1]于1983年首次提出了胃肠道间质瘤(gastrointestinal stromal tumors, GIST)的概念,胃肠道间质瘤是消化系最常见的间叶源性肿瘤,组织学上富于梭形细胞、上皮细胞、偶尔为多形性细胞,呈束状、弥漫状排列。胃肠道间质瘤可发生在任何部位,其多发于胃和小肠,由于小肠位置特殊,早期临床症状不明显,发生于小肠的间质瘤早期不易发现。本文回顾性分析30例经双气囊小肠镜(double balloon endoscopy, DBE)检查诊断为小肠间质瘤(small intestine stromal tumors, SISTs)的患者;旨在分析DBE对SISTs的诊断价值。

1 材料和方法

1.1 材料 收集中国人民解放军空军总医院从2008-5/2013-12经DBE检查诊断为SISTs的30例患者临床资料,其中经手术病理证实为SISTs有27例。27例SISTs患者中,男17例,女10例,年龄25-76岁,平均年龄49.20岁±15.18岁。患者多以黑便、腹痛、腹部包块、贫血为首发症状。仪器:本文中采用富士能EN-450P5、EN-450T5双气囊电子小肠镜。

1.2 方法

1.2.1 检查: DBE检查前其他检查:包括腹部B超检查、腹部增强CT扫描、消化系钡餐造影检查。DBE检查:双气囊小肠镜检查是根据患者的病情和具体情况,既可选择经口进镜,也可经肛门进镜,操作比较复杂,能进行全小肠的直视检查;一侧进镜检查如发现病变结束检查;如无法继续进镜且未发现病灶,在进镜最深处作标记后从另一端进镜,发现病灶或到达会合标记时结束检查。整套内镜操作系统由内镜、外套管、主机和气泵4部分组成。DBE头端和软质外套管的头端各带有一个与气泵相连的气囊,操作时

通过对2个气囊分别注气、放气和内镜钩拉等动作使被检查肠段套叠到内镜上,内镜缓慢匀速插向深部小肠。DBE检查术前准备:所有受检患者常规行肠道准备,检查前3 d均进食少渣半流质饮食,受检前一天20:00口服聚乙二醇电解质散164.4 g,受检当天6:00口服聚乙二醇电解质散328.8 g,清洁肠道,至患者排清水样大便。所有患者均由麻醉医师采用静脉丙泊酚麻醉辅助内镜检查。

1.2.2 病理学和免疫组织化学检查: 所有手术切除标本均送病理科行常规镜检及病理诊断,并行免疫组织化学检查,检测酪氨酸激酶受体(CD117)、造血干细胞抗原(CD34)的表达。

统计学处理 应用SPSS19.0统计学软件,年龄以mean±SD表示,诊断率的比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DBE检查前其他辅助检查 30例患者中有18例行腹部B超检查,其中6例发现病变,诊断率为33.3%;15例行腹部增强CT扫描,其中12例发现病变,诊断率为80.0%,其中直接提示间质瘤的有66.7%(8/12);6例行消化系钡餐造影,发现病变4例,诊断率为66.7%。

2.2 DBE检查 DBE检查疑诊SISTs患者30例,经手术病理证实27例,另外3例术后病理分别证实是小肠淋巴瘤2例,小肠血管瘤1例。DBE检查诊断SISTs诊断率为90.0%(27/30),与王正廷等^[2]的研究基本一致(DBE检查检出率为91.9%)。27例中24例首选经口进镜发现病变,3例首选经肛进镜发现病变,1例先经口未发现病变后经肛发现病变。本组研究中,25.9%(7/27)位于十二指肠,59.3%(16/27)位于空肠,14.8%(4/27)位于回肠。共有30例患者纳入本研究,其中以黑便和便血为首发症状者20例,以腹痛、腹部包块、贫血为首发症状者分别为5、3、2例。

2.3 DBE检查安全性 4例患者行DBE检查后出现恶心、咽部不适、腹胀等症状,但均能自行缓解,没有患者发生急性胰腺炎、气管误吸、麻醉意外、消化道出血等其他严重并发症,严重并发症发生率较低。

2.4 诊断率的比较 统计分析学表明,对于18例先后行腹部B超与DBE检查诊断率比较,差异有统计学意义($P<0.05$);对于15例先后行腹部增强CT与DBE检查诊断率比较,差异无统计学意义($P>0.05$);对于6例先后行消化系钡餐造

■相关报道

双气囊小肠镜检查是一个有效、准确的方法,具有直观、清晰、操作可控和能取活检等特点,是目前诊断黏膜和/或黏膜下肿瘤的良好方法;双气囊小肠镜具有较高的安全性,双气囊小肠镜严重并发症的发生率很低,约为0%-3.4%。

影与DBE检查诊断率比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$).

2.5 病理特点及免疫组织化学 镜下肿瘤主要为梭形细胞、上皮细胞及混合细胞, 2例肿瘤直径 <2 cm, 7例肿瘤直径2-5 cm, 15例肿瘤直径5-10 cm, 3例肿瘤直径 >10 cm. 30例患者中, 其中病理诊断为SISTs为27例; 免疫组织化学: 肿瘤组织CD117、CD34阳性率分别为92.6%(25/27)、88.9%(24/27).

2.6 SISTs危险度分度 参照美国国立卫生研究所GIST危险度分级标准^[3], 将SISTs危险度分为极低、低、中、高四级. 极低危险度: 肿瘤直径 <2 cm, 核分裂象 $\leq 5/50$ HPF, 肿瘤原发部位任何部位; 低危险度: 肿瘤直径2.1-5.0 cm, 核分裂象 $\leq 5/50$ HPF, 肿瘤原发部位任何部位, 中危险度: 肿瘤直径2.1-5.0 cm, 核分裂象 $>5/50$ HPF, 肿瘤原发部位胃, 肿瘤直径 <5 cm, 核分裂象6-10/50 HPF, 肿瘤原发部位任何部位, 肿瘤直径5.1-10.0 cm, 核分裂象 $\leq 5/50$ HPF, 肿瘤原发部位胃; 高危险度: 肿瘤直径任何大小, 核分裂象任意, 肿瘤原发部位肿瘤破裂, 肿瘤直径 >10 cm, 核分裂象任意, 肿瘤原发部位任何部位, 肿瘤直径 >5.0 cm, 核分裂象 $>5/50$ HPF, 肿瘤原发部位任何部位, 肿瘤直径2.1-5.0 cm, 核分裂象 $>5/50$ HPF, 肿瘤原发部位非胃来源, 肿瘤直径5.1-10.0 cm, 核分裂象 $\leq 5/50$ HPF, 肿瘤原发部非胃来源. 本研究中SISTs极低、低、中、高危险度如表1.

2.7 治疗 27例小肠间质瘤患者均行外科手术治疗; 因经济关系, 危险度为中度及以上患者仅有2例术后口服甲磺酸伊马替尼治疗.

2.8 随访 27例患者中15例获得随访, 随访时间为3 mo-2年, 其中有2例术后复发后行手术治疗, 并予以口服甲磺酸伊马替尼治疗, 3例患者死于术后复发及转移.

3 讨论

SISTs是属于胃肠道间质瘤的一种, 发病率仅次于胃间质瘤, 约为20%-30%^[4], 但其恶性程度明显高于胃间质瘤, SISTs好发于空肠及十二指肠^[5]. 由于小肠间质瘤早期起病隐匿, 临床症状多不明显; 当肿瘤较大时, 症状不具有特异性, 消化道出血为SISTs常见症状, 本研究中以黑便和便血为首发症状者20例; 小肠疾病病变部位深, 临床上早期诊断SISTs具有一定的困难. 国内外流行病学调查提示每年临床新发病例数呈逐渐增多趋势^[6,7].

表 1 27例患者小肠间质瘤危险度分度表

危险度分度/部位	十二指肠	空肠	回肠
极低危险度	0	1	0
低危险度	3	4	0
中危险度	3	7	2
高危险度	1	4	2

3.1 几种常见检查方法比较 B超检查: 本组研究中, 共有18例患者术前行B超检查, 有6例患者发现病变, 均提示腹部占位性病变, 诊断率为33.3%, 但均未提示间质瘤, 诊断敏感性及特异性较低, 未能明确占位性质, 本组中6例B超检查阳性患者, 体检时均能触及腹部包块. 超声检查多为患者就诊时最初的影像学检查, 仔细认真的检查和对腹腔和腹膜后器官的认识是正确诊断的基础; 超声检查可观察病灶的大小, 与周围脏器的关系, 确定病灶来源, 但超声检查不能对病变做定性诊断, 且超声下间质瘤很难与小肠淋巴瘤、小肠平滑肌瘤、小肠神经肿瘤等鉴别. CT检查: CT不仅能显示病变肠壁肿块情况, 更能显示软组织肿块与肠壁以及与相邻组织器官的关系和远处转移情况, 而且可以在注射对比剂后进行多期扫描, 获得动脉期、静脉期及延迟期图像, 使病变组织与周围结构达到最佳的对比效果. 本组研究中, CT诊断率为80.0%, 其中直接提示间质瘤的有66.7%(8/12), 诊断特异性较高; CT不能完全鉴别间质瘤的良恶性, 肿瘤形态、肿瘤直径大小、增强后有无强化及有无淋巴结或远处转移对其良恶性有提示作用. 小肠间质瘤与平滑肌类肿瘤、神经源性肿瘤影像学表现相仿, 很难鉴别, 常需免疫组织化学才能区分.

X线钡餐造影: X线钡餐造影对显示黏膜病变及肠腔内病变, 有较好的效果; 无法显示腔外型肿块及与周围组织的关系. 本研究中, 有4例患者钡剂造影发现病变, 其中3例提示充盈缺损, 1例提示病变小肠上端扩张.

3.2 DBE检查 近年来小肠镜在小肠疾病诊断方面起着越来越重要的作用, 不仅病变检出率高, 而且与术后诊断符合率高, 同时对病变部位定位准确, 对外科手术的定位有一定的指导作用. 本研究中, 30例患者术前小肠镜诊断为SISTs, 经手术病理证实27例诊断为SISTs, 诊断率为90%, 当常规行胃肠镜检查及其他检查未发现病变时, 行DBE检查是一个有效、准确的方法. 双气囊小肠镜具有直观、清晰、操作可控和能取活检

■创新盘点

运用双气囊小肠镜诊断小肠间质瘤是一项较新的检查方式, 具有直观、清晰、操作可控、能取活检和定位准确等特点, 本文进行了双气囊小肠镜与一些常规检查(如腹部B超、腹部增强CT、消化系钡餐造影)诊断价值的比较.

■应用要点

双气囊小肠镜是一项安全、可靠的检查手段,对小肠疾病的检出率高,并发症少,对后续治疗具有指导作用,具有较高的临床应用价值。

等特点,是目前诊断黏膜和/或黏膜下肿瘤的良好方法^[8]。DBE检查也有一定的局限性,首先检查费用较贵,不能列为常规检查,其次操作难度较大,需熟练的内镜医师方可完成操作,最后间质瘤为黏膜下病变,内镜活检常因取材浅无法取到病变组织,常不能完全确诊。小肠镜选择进镜方式(经口或经肛)主要根据患者病史、临床表现、其他辅助检查的提示。本研究中仅有1例行单侧经口检查未发现病变,另择日行对侧经肛检查发现病变;因此对一侧检查未发现病变患者有必要行对侧检查。文献报道双气囊小肠镜严重并发症的发生率很低,约为0%-3.4%^[9];李邦库等^[10]通过对245例行双气囊电子小肠镜检查的患者分析,所有患者均能耐受检查,但大部分有咽喉部不适、轻度疼痛感和腹痛、腹胀、肛门不适;未发现出血、穿孔、食管贲门撕裂、急性胰腺炎与外套管有关的黏膜剥脱、继发感染等严重并发症。本研究中患者在术中及术后,均未发生急性胰腺炎、气管误吸、麻醉意外、消化道出血等其他严重并发症,部分患者术后偶有出现恶心、咽喉部或肛门部不适、轻度腹痛、腹胀等,但均能经对症处理后好转或能自行缓解。说明DBE检查的安全性较高,严重并发症的发生率很低。

小肠间质瘤的确诊依靠病理诊断和免疫组织化学。肿瘤细胞多为梭形细胞或上皮细胞或梭形细胞核上皮细胞混合,免疫组织化学中CD117、CD34被认为高特异性标志物。1998年Hirota等^[11]首次报道GIST中存在c-kit变异,c-kit基因编码CD117功能获得性突变在GIST中可达90.0%,本研究中肿瘤组织CD117、CD34阳性率分别为92.6%、88.9%。本研究中根据美国国立卫生研究所GIST危险度分级标准,将SISTs分为极低、低、中、高四级,级别越高危险度越高。间质瘤没有明确的良、恶性界限,所有的间质瘤都应看作是一种低度恶性、有复发和转移可能的肿瘤^[12]。局部切除是目前治疗间质瘤首选治疗方法^[13],手术方式取决于肿瘤大小、部位及有无邻近器官浸润。据报道,SISTs恶性程度明显高于胃、结直肠及食道间质瘤^[14]。完整切除肿瘤并不能彻底的治愈恶性度较高的间质瘤,其复发和转移相当常见,SISTs对放疗、化疗均不敏感,即使首次完整切除肿瘤,其复发率仍高达40%-90%^[15]。甲磺酸伊马替尼是目前FDA批准用于间质瘤治疗的唯一靶向治疗一线药物,尤其是对手术无法完全切除、术后转

移、复发及已失去手术机会的患者,本研究中2例患者口服甲磺酸伊马替尼治疗,患者取得较好疗效。

总之,由于近年来双气囊小肠镜的发展,双气囊小肠镜越来越多的运用于小肠疾病的诊断,通过本研究可证实双气囊小肠镜检查对小肠间质瘤有较高的诊断率,且安全性较高。

4 参考文献

- 1 Negreanu LM, Assor P, Mateescu B, Cirstoiu C. Interstitial cells of Cajal in the gut—a gastroenterologist's point of view. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 6285-6288 [PMID: 19009640 DOI: 10.3748/wjg.14.6285]
- 2 王正廷, 钟捷, 唐永华, 张晨莉, 程时丹, 张曙, 吴云林, 江石湖. 双气囊电子内镜对小肠间质瘤的诊断价值. *诊断学理论与实践* 2008; 7: 23-25
- 3 Joensuu H. Risk stratification of patients diagnosed with gastrointestinal stromal tumor. *Hum Pathol* 2008; 39: 1411-1419 [PMID: 18774375 DOI: 10.1016/j.humpath.2008.06.025]
- 4 Rossi CR, Mocellin S, Mencarelli R, Foletto M, Pilati P, Nitti D, Lise M. Gastrointestinal stromal tumors: from a surgical to a molecular approach. *Int J Cancer* 2003; 107: 171-176 [PMID: 12949790 DOI: 10.1002/ijc.11374]
- 5 翁书强, 唐文清, 崔璨, 沈锡中. 小肠间质瘤(SIST)83例临床诊治分析. *复旦大学学报(医学版)* 2013; 40: 729-732
- 6 梁小波, 于红宾, 王立平. 胃肠道间质瘤的临床流行病学调查. *肿瘤研究与临床* 2006; 18: 505-507
- 7 Biasco G, Velo D, Angriman I, Astorino M, Baldan A, Baseggio M, Basso U, Battaglia G, Bertin M, Bertorelle R, Bocus P, Brosolo P, Bulzacchi A, Cannizzaro R, Da Dalt GF, Di Battista M, Errante D, Fedrigo M, Frustaci S, Lionetti I, Massani M, Mencarelli R, Montesano MC, Norberto L, Pantaleo MA, Pasquali C, Pastorelli D, Rossi CR, Ruffolo C, Salvagno L, Saponara MS, Vittadello F, Zaccaria F, Zovato S, Farinati F. Gastrointestinal stromal tumors: report of an audit and review of the literature. *Eur J Cancer Prev* 2009; 18: 106-116 [PMID: 19337057 DOI: 10.1097/CEJ.0b013e32830c8da8]
- 8 彭树松, 崔建芳, 刘霆, 杨根欢, 阳静, 冷爱民. 小肠间质瘤57例临床分析. *中国医学工程* 2012; 20: 32-34
- 9 May A, Nachbar L, Ell C. Double-balloon enteroscopy (push-and-pull enteroscopy) of the small bowel: feasibility and diagnostic and therapeutic yield in patients with suspected small bowel disease. *Gastrointest Endosc* 2005; 62: 62-70 [PMID: 15990821 DOI: 10.1016/S0016-5107(05)01586-5]
- 10 李邦库, 谢惠君, 胡乃中, 许建明, 杨桂芳, 方加旭. 245例双气囊电子小肠镜检查应用分析. *安徽医学* 2011; 32: 423-425
- 11 Hirota S, Isozaki K. Pathology of gastrointestinal stromal tumors. *Pathol Int* 2006; 56: 1-9 [PMID: 16398673 DOI: 10.1111/j.1440-1827.2006.01924.x]
- 12 李祖云, 浣孝强, 梁秀就, 李志尚, 谭爱周. 网膜和肠系膜胃肠道外间质瘤的临床病理研究. *中华病理学杂志* 2005; 34: 11-14
- 13 Langer C, Gunawan B, Schüller P, Huber W, Füzesi L, Becker H. Prognostic factors influencing surgical management and outcome of gastrointestinal stromal tumours. *Br J Surg* 2003; 90: 332-339 [PMID: 12949790 DOI: 10.1002/ijc.11374]

- 12594669 DOI: 10.1002/bjs.4046]
14 DeMatteo RP, Lewis JJ, Leung D, Mudan SS, Woodruff JM, Brennan MF. Two hundred gastrointestinal stromal tumors: recurrence patterns and prognostic factors for survival. *Ann Surg* 2000; 231: 51-58

- [PMID: 10636102 DOI: 10.1097/00000658-200001000-00008]
15 杜春艳, 师英强, 傅红, 赵广法, 周焯, 蔡国响. 胃肠道间质瘤103例预后分析. *中国实用外科杂志* 2007; 27: 297-299

■同行评价
本文有较好的科学性及实用性, 对临床实践有较大的指导意义.

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界胃肠病学杂志(英文版)》总被引频次6 979次, 影响因子0.873, 综合评价总分88.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第1位、第3位、第1位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第11位、第156位、第18位; 其他指标: 即年指标0.219, 他引率0.89, 引用刊数619种, 扩散因子8.84, 权威因子2 144.57, 被引半衰期4.7, 来源文献量758, 文献选出率0.94, 地区分布数26, 机构分布数1, 基金论文比0.45, 海外论文比0.71。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界胃肠病学杂志(英文版)》再度被收录为“中国科技核心期刊”(中国科技论文统计源期刊)。根据2011年度中国科技论文与引文数据库(CSTPCD 2011)统计结果,《世界胃肠病学杂志(英文版)》荣获2011年“百种中国杰出学术期刊”称号。

地佐辛-丙泊酚与芬太尼-丙泊酚在无痛肠镜麻醉中的效果

杨云, 王亚杰, 梁辉, 邓仕坤, 张袭凤

■背景资料

无痛纤维结肠镜在临床上应用较为广泛, 通过有效麻醉解决了患者检查过程中肠道反射性痉挛以及疼痛感, 提高了患者的耐受性, 为临床医师开展肠镜检查提供了有利条件。无痛肠镜作为一种安全有效的诊断方法, 合理选择有效的麻醉药物是实施的关键。

杨云, 王亚杰, 梁辉, 邓仕坤, 张袭凤, 六盘水市水城矿业总医院麻醉科 贵州省六盘水市 553000

杨云, 副主任医师, 主要从事临床麻醉的研究。

作者贡献分布: 此课题由杨云设计; 研究过程由杨云与王亚杰完成; 数据分析由梁辉、邓仕坤及张袭凤完成; 写作由于杨云、王亚杰、梁辉、邓仕坤及张袭凤共同完成。

通讯作者: 杨云, 副主任医师, 553000, 贵州省六盘水市钟山区龙塘街, 六盘水市水城矿业总医院麻醉科。

yangyun553@126.com

收稿日期: 2014-05-05 修回日期: 2014-06-05

接受日期: 2014-06-19 在线出版日期: 2014-08-08

Clinical effects of dezocine plus propofol vs fentanyl plus propofol in painless colonoscopy

Yun Yang, Ya-Jie Wang, Hui Liang, Shi-Kun Deng, Xi-Feng Zhang

Yun Yang, Ya-Jie Wang, Hui Liang, Shi-Kun Deng, Xi-Feng Zhang, Department of Anesthesia, Shuichengkuangye Hospital of Liupanshui, Liupanshui 553000, Guizhou Province, China

Correspondence to: Yun Yang, Associate Chief Physician, Department of Anesthesia, Shuichengkuangye Hospital of Liupanshui, Longtang Street, Zhongshan District, Liupanshui 553000, Guizhou Province, China. yangyun553@126.com

Received: 2014-05-05 Revised: 2014-06-05

Accepted: 2014-06-19 Published online: 2014-08-08

Abstract

AIM: To compare the clinical effects of dezocine plus propofol vs fentanyl plus propofol in painless colonoscopy.

METHODS: One hundred and sixty-two patients who would undergo painless colonoscopy were divided into either a dezocine + propofol group ($n = 83$) or a fentanyl + propofol group ($n = 79$). They were anesthetized with dezocine plus propofol and fentanyl plus propofol, respectively. The heart rate (HR), mean arterial pressure (MAP), respiratory rate (RR), oxygen saturation (SPO₂), the total dosage of propofol, wake-up time, observation time, visual analogue scale (VAS) and adverse reactions were compared between the two groups.

RESULTS: There were no significant differences

in HR, MAP, RR or SPO₂ between the two groups ($P > 0.05$). The wake-up time and observation time in the dezocine + propofol group were significantly shorter than those in the fentanyl + propofol group ($38.53 \text{ s} \pm 21.35 \text{ s}$ vs $53.56 \text{ s} \pm 24.84 \text{ s}$, $16.08 \text{ min} \pm 9.22 \text{ min}$ vs $22.55 \text{ min} \pm 12.60 \text{ min}$, $P < 0.05$). The rates of apnea, postoperative nausea, vomiting and dizziness in the dezocine + propofol group were significantly lower than those in the fentanyl + propofol group (2.41% vs 15.19% , 2.41% vs 17.72% , 7.23% vs 15.19% , $P < 0.05$).

CONCLUSION: Dezocine plus propofol could achieve satisfactory anesthesia effects in painless colonoscopy and has less adverse reactions and high safety, representing a preferred way for anesthesia in painless colonoscopy.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Dezocine; Fentanyl; Propofol; Painless colonoscopy; Anesthesia

Yang Y, Wang YJ, Liang H, Deng SK, Zhang XF. Clinical effects of dezocine plus propofol vs fentanyl plus propofol in painless colonoscopy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(22): 3340-3343 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3340.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3340>

摘要

目的: 比较地佐辛-丙泊酚与芬太尼-丙泊酚在无痛肠镜麻醉中的效果。

方法: 按照患者意愿将六盘水市水城矿业总医院收治的162例需进行无痛肠镜检查的患者分为地佐辛-丙泊酚组83例和芬太尼-丙泊酚79例, 两组患者分别给予地佐辛联合丙泊酚和芬太尼联合丙泊酚麻醉, 比较两组患者给药前(T₀)、注药后检查开始前(T₁)、检查开始时(T₂)、肠镜过结肠脾曲(T₃)、肠镜退出体外(T₄)5个时间心率(heart rate, HR)、平均动脉压(mean arterial pressure, MAP)、呼吸频率(respiratory rate, RR)、血氧饱和度(oxygen saturation, SPO₂)水平、术中丙泊酚总用量、

■同行评议者

唐文富, 副教授, 四川大学华西医院中西医结合科

术后可唤醒时间、留观时间、术后视觉模拟评分(visual analogue scale, VAS)以及不良反应(呼吸暂停、头晕、恶心等)的发生情况。

结果: 两组患者不同时间HR、MAP、RR、SPO₂水平比较, 差异无统计学意义($P>0.05$); 地佐辛-丙泊酚组患者术后可唤醒时间、留观时间均显著低于芬太尼-丙泊酚组($38.53 \pm 21.35 \text{ s}$ vs $53.56 \pm 24.84 \text{ s}$, $16.08 \text{ min} \pm 9.22 \text{ min}$ vs $22.55 \text{ min} \pm 12.60 \text{ min}$), 差异具有统计学意义($P<0.05$); 地佐辛-丙泊酚组患者呼吸暂停、术后恶心、呕吐、术后头晕发生率均显著低于芬太尼-丙泊酚组(2.41% vs 15.19% , 2.41% vs 17.72% , 7.23% vs 15.19%), 差异具有统计学意义($P<0.05$)。

结论: 地佐辛-丙泊酚用于无痛肠镜检查麻醉效果令人满意, 不良反应少, 安全性高, 可作为无痛肠镜检查的优选麻醉方式。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 地佐辛; 芬太尼; 丙泊酚; 无痛肠镜; 麻醉

核心提示: 本研究结果显示, 两组患者均顺利完成镜检, 不同时间心率(heart rate)、平均动脉压(mean arterial pressure)、呼吸频率(respiratory rate)、血氧饱和度(oxygen saturation)水平差异无统计学意义, 表明地佐辛-丙泊酚和芬太尼-丙泊酚两种麻醉方式应用于肠镜检查麻醉效果均良好, 不影响手术成功率, 且镇痛效果基本一致, 均可保持患者生命体征平稳, 安全性较高。但地佐辛-丙泊酚组患者术后可唤醒时间、留观时间均显著低于芬太尼-丙泊酚组, 表明地佐辛-丙泊酚麻醉起效更快、苏醒更快, 麻醉效果优于芬太尼-丙泊酚。

杨云, 王亚杰, 梁辉, 邓仕坤, 张袭凤. 地佐辛-丙泊酚与芬太尼-丙泊酚在无痛肠镜麻醉中的效果. 世界华人消化杂志 2014; 22(22): 3340-3343 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3340.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i22.3340>

0 引言

无痛电子结肠镜在临床上应用较为广泛, 通过有效麻醉减轻了患者检查过程中肠道反射性痉挛以及疼痛感, 提高了患者的耐受性, 为临床医师开展肠镜检查提供了有利条件^[1]。无痛肠镜作为一种安全有效的诊断方法, 合理选择有效的麻醉药物是实施的关键^[2]。本研究通过对比地佐辛与芬太尼分别联合丙泊酚的麻醉效果和安全性, 旨

在探讨无痛肠镜中的最佳麻醉药物, 现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2013-03/2014-03六盘水市水城矿业总医院收治的需进行无痛肠镜检查的患者162例作为研究对象。所有患者均符合美国麻醉师协会(American Society of Anesthesiologists, ASA) I-II级分级标准^[3], 且无本研究所用相关药物过敏史和阿片类药物滥用史。排除合并重要脏器疾病以及其他可对本研究结果产生影响的疾病患者。按照患者个人意愿将162例患者分为地佐辛-丙泊酚组83例和芬太尼-丙泊酚79例。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 所有患者行无痛肠镜检查前均禁食8 h、禁水4 h。麻醉前建立上肢静脉通路, 患者取左侧卧位, 静脉滴注乳酸林格纳注射液, 并给予鼻导管吸氧, 氧流量设定为3 L/min, 密切监控患者生命体征。地佐辛-丙泊酚组患者随即给予地佐辛5 mg静脉注射, 10 min后再静脉注射丙泊酚1.5-2.0 mg/kg进行麻醉诱导; 芬太尼-丙泊酚组患者随即给予芬太尼0.5 $\mu\text{g/kg}$ 静脉注射, 10 min后再静脉注射丙泊酚1.5-2.0 mg/kg进行麻醉诱导^[4]。待患者意识消失、睫毛反射消失后两组患者均开始进行肠镜检查, 术中出现体动或痛苦表情者可适当追加丙泊酚0.5 mg/kg, 镜检至回盲部时停止追加^[5]。

1.2.2 观察指标: 记录两组患者给药前(T_0)、注药后检查开始前(T_1)、检查开始时(T_2)、肠镜过结肠脾曲(T_3)、肠镜退出体外(T_4)5个时间心率(heart rate, HR)、平均动脉压(mean arterial pressure, MAP)、呼吸频率(respiratory rate, RR)、血氧饱和度(oxygen saturation, SPO₂)水平、术中丙泊酚总用量、术后可唤醒时间、留观时间、术后视觉模拟评分(visual analogue scale, VAS)以及不良反应(呼吸暂停、头晕、恶心等)的发生情况。

VAS评分标准: 无痛: 0分; 轻微疼痛但可忍受: 1-3分; 疼痛影响睡眠但可忍受: 4-6分; 疼痛剧烈, 难以忍受, 影响睡眠和食欲: 7-10分^[6]。

统计学处理 使用SPSS17.0统计分析, 用mean \pm SD表示计量资料, 采用 t 检验, 用百分比表示计数资料, 采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者一般情况比较 两组患者均顺利完成镜检, 患者及检查医生均对麻醉表示满意, 两

■ 研发前沿

麻醉是无痛肠镜实施的重要环节, 选择安全、可靠、起效快、苏醒快、不良反应少的麻醉药物是提高麻醉效果的关键。

■ 相关报道

目前, 丙泊酚是临床麻醉中应用较为广泛的药物, 能够有效减轻无痛肠镜检查患者的痛苦和不良反应。但临床实践表明, 丙泊酚应用于无痛肠镜检查镇痛效果不完善且所需剂量偏大, 易引起呼吸和循环抑制。因此临床上常与其他麻醉药物配合使用。

■应用要点

地佐辛-丙泊酚用于无痛肠镜检查麻醉效果令人满意, 不良反应少, 安全性高, 可作为无痛肠镜检查的首选麻醉方式。

表 1 两组患者一般情况比较

分组	n	性别n(%)		平均年龄 (岁)	平均体质量 (kg)	平均检查时间 (min)
		男	女			
地佐辛-丙泊酚组	83	54(65.06)	29(34.94)	40.82 ± 5.13	60.06 ± 4.77	23.08 ± 8.31
芬太尼-丙泊酚组	79	51(64.56)	28(35.44)	41.57 ± 5.76	61.12 ± 3.92	25.71 ± 7.83

表 2 两组患者不同时间HR、MAP、RR、SPO₂水平比较 (mean ± SD)

项目	分组	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄
HR(次/min)	地佐辛-丙泊酚组	83.62 ± 6.21	79.21 ± 6.79	81.42 ± 8.29	81.30 ± 12.51	83.49 ± 10.11
	芬太尼-丙泊酚组	81.12 ± 7.33	86.53 ± 6.71	83.52 ± 9.23	84.11 ± 7.42	86.50 ± 9.32
MAP(mmHg)	地佐辛-丙泊酚组	86.39 ± 7.33	78.11 ± 6.20	84.19 ± 6.12	83.50 ± 10.13	85.12 ± 6.20
	芬太尼-丙泊酚组	78.30 ± 8.39	87.22 ± 9.20	86.71 ± 9.73	86.52 ± 5.89	85.60 ± 6.71
RR(次/min)	地佐辛-丙泊酚组	17.50 ± 1.81	16.52 ± 2.30	16.01 ± 2.10	16.82 ± 1.72	18.30 ± 2.89
	芬太尼-丙泊酚组	17.41 ± 2.06	16.62 ± 2.69	16.23 ± 2.49	16.81 ± 3.10	18.22 ± 1.11
SPO ₂ (%)	地佐辛-丙泊酚组	98.81 ± 1.20	96.09 ± 3.19	97.29 ± 1.51	98.49 ± 1.61	98.71 ± 1.80
	芬太尼-丙泊酚组	98.40 ± 1.49	96.51 ± 1.81	97.11 ± 1.61	98.60 ± 1.32	98.39 ± 1.40

HR: 心率; MAP: 平均动脉压; RR: 呼吸频率; SPO₂: 血氧饱和度。

组患者在性别、年龄、体质量、检查时间及麻醉期间生命体征监测等上差异无统计学意义($P>0.05$)(表1), 具有可比性。

2.2 两组患者不同时间HR、MAP、RR、SPO₂水平比较 两组患者不同时间HR、MAP、RR、SPO₂水平比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)(表2)。

2.3 两组患者丙泊酚总用量、术后可唤醒时间、留观时间及术后VAS评分比较 地佐辛-丙泊酚组患者术后可唤醒时间、留观时间均显著低于芬太尼-丙泊酚组, 差异具有统计学意义($P<0.05$)(表3)。

2.4 两组患者不良反应发生情况比较 地佐辛-丙泊酚组患者呼吸暂停、术后恶心、呕吐、术后头晕发生率均显著低于芬太尼-丙泊酚组, 差异具有统计学意义($P<0.05$)(表4)。

3 讨论

电子结肠镜是一种安全有效的诊断治疗方法, 但患者清醒状态下多处于紧张、恐惧状态, 肠道反射性痉挛, 尤其是肠镜通过结肠脾曲和肝曲等部位时可引发腹部剧烈疼痛, 因此要求使用无痛技术的患者越来越多^[7]。无痛肠镜检查通过术前麻醉, 有效避免了因患者情绪紧张、耐受性差以及不合作等引起的诸多并发症, 如肠道穿孔、肠道出血以及心脑血管意外等^[8]。同时, 在全麻状态下, 患者肠道松弛、蠕动减慢, 也为

内镜操作创造了良好肠内环境, 提高了手术视野的清晰度和稳定性, 降低了误诊、漏诊的发生率。但无痛肠镜检查过程中也需要注意检查前对患者的基本情况、疾病史、过敏史等进行充分评估, 认真准备好急救药物, 严密观察术中患者生命体征, 检查后留院观察小段时间, 确保患者安全度过苏醒期, 预防可能发生的并发症^[9]。

麻醉是无痛肠镜实施的重要环节, 选择安全、可靠、起效快、苏醒快、不良反应少的麻醉药物是提高麻醉效果的关键^[10]。目前, 丙泊酚是临床麻醉中应用较为广泛的药物, 能够有效减轻无痛肠镜检查患者的痛苦和不良反应^[11]。但临床实践表明, 丙泊酚应用于无痛肠镜检查镇痛效果不完善且所需剂量偏大, 易引起呼吸和循环抑制^[12]。因此临床上常与其他麻醉药物配合使用。小剂量芬太尼与丙泊酚联合使用, 能够增强丙泊酚的镇痛效果, 减小丙泊酚使用剂量, 但芬太尼本身具有一定不良反应, 包括呼吸抑制、头晕、嗜睡等, 可引起胸壁僵直、血压下降等, 不利于肠镜检查 and 手术, 与本研究结果相似^[13]。而地佐辛为混合受体型激动拮抗剂, 不易引起呼吸抑制和胃肠道反应等不良反应, 也不会产生药物依赖, 其镇痛效果和患者耐受性均良好^[14]。小剂量地佐辛与丙泊酚联合使用不仅镇痛效果满意, 且能够促使患者胃肠道平滑肌松弛, 有利于肠镜操作^[15]。

表 3 两组患者丙泊酚总用量、术后可唤醒时间、留观时间及术后VAS评分比较 (mean ± SD)

分组	丙泊酚总用量(mg)	术后可唤醒时间(s)	留观时间(min)	术后VAS评分(分)
地佐辛-丙泊酚组	152.82 ± 18.10	38.53 ± 21.35 ^a	16.08 ± 9.22 ^a	0.84 ± 1.24
芬太尼-丙泊酚组	155.18 ± 18.15	53.56 ± 24.84	22.55 ± 12.60	0.91 ± 1.18

^a*P* < 0.05 vs 对照组. VAS: 术后视觉模拟评分.表 4 两组患者不良反应发生情况比较 *n*(%)

分组	<i>n</i>	术中体动	呼吸暂停	术后恶心、呕吐	术后头晕
地佐辛-丙泊酚组	83	4(4.82)	2(2.41) ^a	2(2.41) ^a	6(7.23) ^a
芬太尼-丙泊酚组	79	8(10.13)	12(15.19)	14(17.72)	12(15.19)

^a*P* < 0.05 vs 对照组.

本研究结果显示, 两组患者均顺利完成镜检, 不同时间HR、MAP、RR、SPO₂水平差异无统计学意义, 表明地佐辛-丙泊酚和芬太尼-丙泊酚两种麻醉方式应用于肠镜检查麻醉效果均良好, 不影响检查成功率, 且镇痛效果基本一致, 均可保持患者生命体征平稳, 安全性较高. 但地佐辛-丙泊酚组患者术后可唤醒时间、留观时间均显著低于芬太尼-丙泊酚组, 表明地佐辛-丙泊酚麻醉起效更快、苏醒更快, 麻醉效果优于芬太尼-丙泊酚. 另外, 地佐辛-丙泊酚组患者术后VAS评分略低于芬太尼-丙泊酚, 主要是由于地佐辛的镇痛作用具有一定持续性, 在患者苏醒后的一段时间仍有效果, 能够减少患者痛苦, 提高舒适度, 与相关文献报道结果相似. 地佐辛-丙泊酚组患者呼吸暂停、术后恶心、呕吐、术后头晕发生率均显著低于芬太尼-丙泊酚组, 表明地佐辛-丙泊酚麻醉不良反应发生率低, 患者舒适度更高, 具有显著临床应用优势.

总之, 地佐辛-丙泊酚用于无痛肠镜检查麻醉效果令人满意, 不良反应少, 安全性高, 可作为无痛肠镜检查的优选麻醉方式.

4 参考文献

- 1 范玉林, 郭先科, 王金玲, 尹雷明, 程俊峰. 老年心肺疾病患者无痛肠镜检查的安全性研究. 中国内镜杂志 2013; 19: 1343-1344
- 2 徐贵森, 吴晓玲, 刘合年. 无痛内镜术在胃肠道疾病诊治中的应用. 世界华人消化杂志 2008; 16: 1890-1896
- 3 Vargo J, Howard K, Petrillo J, Scott J, Revicki DA. Development and validation of the patient and clinician

- sedation satisfaction index for colonoscopy and upper endoscopy. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: 156-162 [PMID: 18930167 DOI: 10.1016/j.cgh.2008.09.004]
- 4 林锋, 张雅玲. 丙泊酚复合舒芬太尼、瑞芬太尼、芬太尼在无痛人流中应用效果的对比观察. 实用药物与临床 2013; 16: 915-917
- 5 郑周鹏, 柳子明, 范雯, 陈亚秋, 周国军. 布托啡诺与芬太尼联用丙泊酚在无痛肠镜检查中的应用比较. 上海医学 2010; 33: 346-349
- 6 曹卉娟, 邢建民, 刘建平. 视觉模拟评分法在症状类结局评价测量中的应用. 中医杂志 2009; 50: 600-602
- 7 叶芬, 王红玲, 郑国荣, 韩洁, 王一鸣, 黄星, 黄梅芳, 施先艳, 夏冰. 无痛胃肠镜与常规胃肠镜临床应用1800例. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1264-1269
- 8 Sun ZT, Yang CY, Cui Z, Zhang J, Han XP. Effect of intravenous dezocine on fentanyl-induced cough during general anesthesia induction: a double-blinded, prospective, randomized, controlled trial. *J Anesth* 2011; 25: 860-863 [PMID: 21935685 DOI: 10.1007/s00540-011-1237-x]
- 9 李铁强, 邓碧珠, 卢斌, 李艳华. 老年患者无痛肠镜与普通肠镜检查的安全性比较研究. 微创医学 2012; 7: 617-618
- 10 钟惠, 江英强. 瑞芬太尼与芬太尼在无痛肠镜检查中麻醉效果对比观察. 人民军医 2012; 55: 510-511
- 11 李顺洪. 布托啡诺复合丙泊酚在无痛肠镜麻醉中的应用. 川北医学院学报 2011; 26: 432-434
- 12 张俊. 丙泊酚与小剂量芬太尼在无痛人流手术麻醉中的应用效果观察. 亚太传统医药 2012; 8: 144-145
- 13 李慎占, 董河. 地佐辛的临床应用研究. 医学综述 2012; 18: 4021-4023
- 14 张继刚, 雷黎明, 刘杨, 何绍明. 地佐辛联合丙泊酚用于无痛肠镜诊疗的临床观察. 现代生物医学进展 2013; 13: 2730-2733
- 15 Correia LM, Bonilha DQ, Gomes GF, Brito JR, Nakao FS, Lenz L, Rohr MR, Ferrari AP, Libera ED. Sedation during upper GI endoscopy in cirrhotic outpatients: a randomized, controlled trial comparing propofol and fentanyl with midazolam and fentanyl. *Gastrointest Endosc* 2011; 73: 45-51, 51.e1 [PMID: 21184869 DOI: 10.1016/j.gie.2010.09.025]

编辑 田滢 电编 闫晋利



■同行评价
本文研究内容实用, 有一定的参考价值.

莎尔福联合有益菌种对UC的效应及其机制

刘萍, 孙亮, 张振海, 张鹏, 张鉴

■背景资料

至今, 临床上治疗活动期溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)多集中于改善临床症状和内镜下黏膜愈合状况, 并无法将其根治。莎尔福治疗的病程较长, 且易延时愈合和复发。文献报道有益菌种可以减轻炎症过程、防止溃疡性结肠炎复发, 肠道菌群在溃疡性结肠炎发病机制中的地位越来越重要。因此本研究将比较单用莎尔福与有益菌种联合莎尔福治疗UC的疗效, 探讨其效应机制, 为临床治疗溃疡性结肠炎提供用药依据。

刘萍, 张鉴, 山东大学附属省立医院药剂科 山东省济南市 250021
孙亮, 山东大学附属省立医院泌尿外科 山东省济南市 250021
张振海, 山东大学附属省立医院肝胆外科 山东省济南市 250021
张鹏, 山东大学附属省立医院骨科 山东省济南市 250021
刘萍, 主管药师, 主要从事药物临床疗效及其作用机制的研究。
国家自然科学基金资助项目, No. 81300964
中国博士后科学基金面上资助项目, No. 2013M531611
山东省中医药科学技术研究基金资助项目, No. 2013-190
山东省自然科学基金资助项目, No. ZR2013HM069
作者贡献分布: 刘萍负责实验设计、数据统计分析、文章撰写;
孙亮、张振海、张鹏及张鉴参与研究过程和数据分析。
通讯作者: 张鉴, 主任药师, 250021, 山东省济南市经五纬七路324号, 山东大学附属省立医院药剂科。330632664@qq.com
电话: 0531-68776460
收稿日期: 2014-04-09 修回日期: 2014-06-05
接受日期: 2014-06-19 在线出版日期: 2014-08-08

Clinical efficacy of Salofalk combined with beneficial bacteria in patients with ulcerative colitis

Ping Liu, Liang Sun, Zhen-Hai Zhang, Peng Zhang, Jian Zhang

Ping Liu, Jian Zhang, Department of Pharmacy, Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Ji'nan 250021, Shandong Province, China

Liang Sun, Department of Urology, Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Ji'nan 250021, Shandong Province, China

Zhen-Hai Zhang, Department of Hepatobiliary Surgery, Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Ji'nan 250021, Shandong Province, China

Peng Zhang, Department of Orthopaedic Surgery, Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Ji'nan 250021, Shandong Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81300964; China Postdoctoral Science Foundation, No. 2013M531611; Scientific and Technological Program for Traditional Chinese Medicine of Shandong Province, No. 2013-190; and Natural Science Foundation of Shandong Province of China, No. ZR2013HM069

Correspondence to: Jian Zhang, Chief Pharmacist, Department of Pharmacy, Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, 324 Jingwu Weiqi Road, Ji'nan 250021, Shandong Province, China. 330632664@qq.com

Received: 2014-04-09 Revised: 2014-06-05

Accepted: 2014-06-19 Published online: 2014-08-08

■同行评议者

刘杰民, 副主任医师, 贵州省人民医院消化内科

Abstract

AIM: To compare the clinical efficacy of benefi-

cial bacteria combined with Salofalk vs Salofalk alone in patients with ulcerative colitis (UC) and to explore the underlying mechanisms.

METHODS: Eighty-four UC patients treated at our hospital from September 2010 to September 2012 were randomly and equally divided into two groups and treated with Bifidobacterium triple viable bacterial preparation with Salofalk and Salofalk alone, respectively. The clinical symptoms in both groups were observed, and the Sutherland disease activity index was compared between the two groups. The total grade change of colonoscopy, pathological and therapeutic efficiency before and after treatment were also compared. ELISA assays were used to measure serum levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-8 (IL-8) and interleukin-10 (IL-10).

RESULTS: After treatment, serum levels of TNF- α and IL-8 were decreased in both groups of patients, but the decline was more significant in the combined treatment group ($P < 0.05$). Serum level of IL-10 in the combination group was significantly higher than that in the Salofalk group ($P < 0.05$). Sutherland disease activity index score was decreased more significantly in the combined treatment group (from 5.36 ± 1.01 to 1.85 ± 1.40) than in the Salofalk group (from 5.42 ± 1.53 to 3.60 ± 1.22) ($t = 2.093$, $P = 0.043$). The total effective rate was significantly higher in the combined treatment group (92.8%) than in the Salofalk group (76.2%) ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Salofalk combined with probiotics shows a good therapeutic effect for UC. Joint beneficial bacteria can significantly improve clinical symptoms and therapeutic effects possibly by reducing the inflammatory response and recurrence.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Salofalk; Beneficial bacteria; Ulcerative colitis; Inflammation; Combination therapy

Liu P, Sun L, Zhang ZH, Zhang P, Zhang J. Clinical efficacy of Salofalk combined with beneficial bacteria in patients with ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(22): 3344-3348 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3344.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3344>

摘要

目的: 比较单用莎尔福与有益菌种联合莎尔福治疗溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的疗效, 探讨其效应机制, 为临床治疗UC提供科学用药依据。

方法: 将2010-09/2012-09于山东大学附属省立医院治疗UC的84例患者, 采用随机分组法分为莎尔福组和联合用药组($n = 42$ 例), 分别接受莎尔福与双歧三联活菌联合莎尔福的治疗方法。观察治疗期间两组的临床症状, 采用Sutherland法分析两组患者的疾病活动指数, 并比较两组的治疗总有效率和治疗前后的肠镜、病理组织学的分级变化。采用ELISA试剂盒(酶联免疫吸附剂测定法)测定患者血清中肿瘤细胞坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-8(interleukin-8, IL-8)及白介素-10(interleukin-10, IL-10)的水平, 比较治疗前后炎症反应情况。

结果: 由Sutherland疾病活动指数总积分知, 联合用药组(从 5.36 ± 1.01 降至 1.85 ± 1.40)与莎尔福组(从 5.42 ± 1.53 降至 3.60 ± 1.22)相比, 下降幅度具有显著性差异($t = 2.093$, $P = 0.043$)。患者的治疗总有效率, 联合用药组(92.8%)与莎尔福组(76.2%)相比, 具有显著差异($P < 0.05$)。经过治疗后, 两组患者的TNF- α 、IL-8水平均有所降低, 联合用药组患者明显低于莎尔福组($P < 0.05$); 而IL-10的水平均有所升高, 联合用药组显著高于莎尔福组($P < 0.05$)。

结论: 莎尔福与双歧三联活菌联合莎尔福对UC均有一定的治疗效应。联合有益菌种可以明显改善患者临床症状, 提高治疗效果。其治疗作用机制可能与其显著减少炎症反应发生, 提高免疫力减少复发有关。本研究虽没有更进一步的理论支持, 但可为临床科学用药提供相关依据。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 莎尔福; 有益菌种; 溃疡性结肠炎; 炎症反应; 联合用药

核心提示: 本研究通过选择性测定治疗前后UC

患者血清中肿瘤细胞坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-8(interleukin-8, IL-8)及白介素-10(interleukin-10, IL-10)水平的变化, 发现联合用药组患者血清中TNF- α 、IL-8的含量下降水平和IL-10含量升高水平均较莎尔福组明显。这说明有益菌种联合莎尔福更有效的抑制了巨噬细胞、T细胞等相关炎症细胞释放TNF- α 和IL-8, 调节炎症细胞因子与抗炎细胞因子的平衡, 而发挥其治疗UC的作用, 并且帮助恢复肠道的免疫系统平衡, 避免炎症的进一步发展, 减少反复发作的可能性。

刘萍, 孙亮, 张振海, 张鹏, 张鉴. 莎尔福联合有益菌种对UC的效应及其机制. *世界华人消化杂志* 2014; 22(22): 3344-3348 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3344.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3344>

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种非特异性慢性炎症反应的疾病, 其非弥漫性黏膜炎症病灶多集中于结肠, 难治愈且易于复发。至今, 临床上治疗活动期UC多集中于改善临床症状和内镜下黏膜愈合状况, 并无法将其根治。莎尔福作为一种美沙拉嗪的制剂, 对一些前列腺素、白三烯B₄、C₄等炎症介质的生物合成和释放有一定抑制作用, 并通过抑制血小板激活因子的活性、结肠黏膜脂肪酸的氧化, 来用以改善结肠黏膜炎症^[1,2]。但莎尔福治疗的病程较长, 且易延时愈合和复发^[3]。随着大量文献报道有益菌种可以减轻炎症过程、防止溃疡性结肠炎复发, 肠道菌群在溃疡性结肠炎发病机制中的地位越来越重要^[4-6]。因此本研究将比较单用莎尔福与有益菌种联合莎尔福治疗UC的疗效, 探讨其效应机制, 为临床治疗溃疡性结肠炎提供用药依据。

1 材料和方法

1.1 材料 本研究经过医院伦理委员会批准, 争得患者及其家属的知情同意书。选择2010-09/2012-09山东大学附属省立医院收治的溃疡性结肠炎患者84例, 年龄25-62岁, 采用随机分组法将患者分为两组($n = 42$ 例): 莎尔福组和联合用药组, 分别接受莎尔福与双歧三联活菌联合莎尔福治疗。临床选择溃疡性结肠炎病例主要参考中华医学会发布的《对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见》, 并根据临床症状、内腔肠镜和病理组织学检查确诊。病例排除标准为: (1)治疗期间自主服用其他中、西药,

■研究前沿

莎尔福作为一种美沙拉嗪的制剂, 对一些前列腺素、白三烯B₄、C₄等炎症介质的生物合成和释放有一定抑制作用, 并通过抑制血小板激活因子的活性、结肠黏膜脂肪酸的氧化, 来用以改善结肠黏膜炎症。但莎尔福治疗的病程较长, 且易延时愈合和复发。

■相关报道

目前临床已有保加利亚乳酸杆菌和双歧杆菌经科学验证安全有效,可维持胃肠功能,有助于增加肠道有益菌种的数量,保持良好的胃肠道消化环境,提高免疫功能。

表 1 临床主要症状评分标准和疾病活动指数总积分

临床症状	0	1	2	3
腹痛	无	轻度	中度	重度
腹泻	大便次数正常	<2次/d	<4次/d	>5次/d
黏液脓血便	正常	少量脓血	明显脓血	较多脓血
暖气	无	轻度	中度	反应较大
病变活动指数总积分	0-2分完全缓解	3-5分轻度活动期	6-10分中度活动期	11-12分重度活动期

表 2 肠镜分级、结肠黏膜的病理学组织分级标准

项目分级	0 级	I 级	II 级	III 级	IV 级
肠内镜	肠道黏膜正常	肠道黏膜轻度充血,血管模糊	肠道黏膜出血	肠道黏膜出血	肠道黏膜存在溃疡斑块
结肠黏膜病理学组织	黏膜无中性粒细胞浸润	少量中性粒细胞浸润	大量中性粒细胞浸润	大量中性粒细胞浸润并伴脓肿	肠黏膜溃疡形成

不按要求服药; (2)具有其他自身免疫性疾病; (3)已患有肠道细菌或寄生虫感染; (4)患有严重心肝肾血液疾病等; (5)对实验用药过敏; (6)回访资料不全且疗效无法判定。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 联合用药组口服莎尔福(美沙拉嗪肠溶片, 德国Falk药厂生产, 4次/d, 每次1.0 g)和双歧三联活菌(商品名为金双歧, 内蒙古双奇药业股份有限公司生产, 3次/d, 每次2.0 g); 莎尔福组口服同等剂量的莎尔福。两药服用间隔半小时, 治疗疗程为8 wk, 所有患者于治疗前和治疗8 wk后分别进行肠内镜检查。

1.2.2 实验指标: (1)治疗总有效率和肠黏膜病变活动指数(sutherland disease activity index, DAI): 观察并记录患者治疗期间腹痛、腹泻、黏液脓血便和暖气等临床症状, 参考相关文献进行DAI评分^[7], 评分标准和Sutherland疾病活动指数如表1。根据治疗前后的疾病活动指数总积分的下降变化, 将疗效分为完全缓解显效、有效、无效3个档次; (2)血清样品的收集和肠内镜检测: 患者分别于治疗当日和治疗8 wk后, 取晨起空腹时的肘静脉血5 mL, 4℃冷冻低速离心, 取上层血清样品于-80℃保存备用。采用ELISA试剂盒(酶联免疫吸附剂测定法)检测血清中肿瘤细胞坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-8(interleukin-8, IL-8)和IL-10的水平, 操作步骤按试剂盒说明书进行。并同天进行肠内镜检查, 取同一部位的两小块结肠黏膜, 用甲醛固定, 储存于液氮瓶。观察并记录治疗前后肠镜分

级、结肠黏膜的病理学组织的分级变化。各指标分级标准如表2。

统计学处理 采用SPSS19.0统计学软件进行分析, 计量资料以mean \pm SD表示, 治疗前后的比较采用配对 t 检验; 计数资料采用有序多分类资料秩和检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基线资料比较 两组均在研究期间无失效病例出现。两组患者在性别、年龄、体质量以及病情轻/中度程度等方面比较无明显差异, 无统计学意义($P>0.05$)(表3)。

2.2 Sutherland疾病活动指数总积分与肠镜、病理组织学分级比较 根据两组患者治疗前后的腹痛、腹泻次数、便血和暖气的临床症状情况, 其Sutherland疾病活动指数和肠镜、结肠黏膜病理学组织分级的病例数比较如图1。结果可知, Sutherland疾病活动指数总积分联合用药组(从 5.36 ± 1.01 降至 1.85 ± 1.40)与莎尔福组(从 5.42 ± 1.53 降至 3.60 ± 1.22)相比, 下降幅度具有显著差异($t=2.090$, $P=0.041$)。联合用药组的肠镜、结肠黏膜病理学分级变化与莎尔福组相比($t=2.434$, $P=0.022$; $t=2.607$, $P=0.013$), 差异有显著性统计学意义。疗效评价得出两组患者的总有效率, 联合用药组为92.8%与莎尔福组76.2%相比($t=2.605$, $P=0.012$), 差异具有显著统计学意义。肠镜、结肠黏膜病理学组织分级的变化显示联合用药组有利于损伤黏膜的愈合。

2.3 血清中炎症因子TNF- α 、IL-8和IL-10的水平

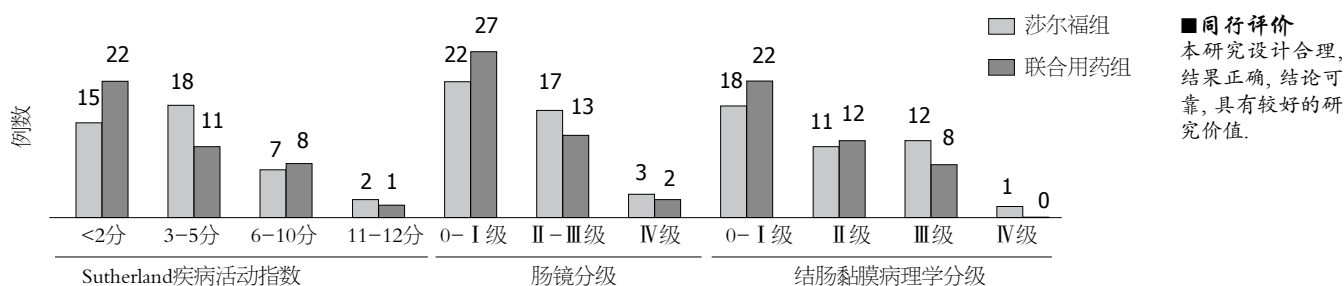


图 1 治疗后2组的疾病活动指数与肠镜、病理组织学分级比较

表 3 4组患者的基线资料比较 ($n = 42$, mean \pm SD)

分组	性别(男/女)	年龄(岁)	体质量(kg)	轻度/中度症状比值
莎尔福组	19/23	40.2 \pm 5.2	60.3 \pm 5.2	28/14
联合用药组	20/22	42.8 \pm 4.8	58.2 \pm 6.0	26/16
统计值	$\chi^2 = 47.980$	$t = 2.544$	$t = 4.431$	$\chi^2 = 56.360$
P值	0.193	0.280	0.128	0.087

表 4 莎尔福组与联合用药组患者治疗前后血清中TNF- α 、IL-8和IL-10的水平比较 ($n = 42$, mean \pm SD)

分组	采样时间	TNF- α (μ g/L)	IL-8(ng/L)	IL-10(ng/L)
莎尔福组	治疗前	36.09 \pm 3.21	16.62 \pm 2.86	10.26 \pm 1.42
	治疗后	20.34 \pm 2.68 ^a	12.32 \pm 1.80 ^a	16.23 \pm 2.40 ^a
联合用药组	治疗前	35.52 \pm 4.62	15.98 \pm 1.56	10.65 \pm 3.10
	治疗后	17.38 \pm 3.90 ^{ac}	9.41 \pm 1.24 ^{ac}	18.79 \pm 3.51 ^{ac}

^a $P < 0.05$ vs 治疗前; ^c $P < 0.05$ vs 莎尔福组. TNF- α : 肿瘤细胞坏死因子- α ; IL: 白介素.

比较 与治疗前相比, 治疗后莎尔福组($t = 2.867$, $P = 0.031$; $t = 2.480$, $P = 0.016$)和联合用药组($t = 2.849$, $P = 0.028$; $t = 3.536$, $P = 0.001$)的患者血清中TNF- α 、IL-8的含量均显著降低; 血清中IL-10的含量均显著升高(联合用药组 $t = 5.820$, $P = 0.000$; 莎尔福组 $t = 2.708$, $P = 0.010$). 治疗后与莎尔福组相比, 联合用药组患者血清中TNF- α ($t = 2.484$, $P = 0.018$)、IL-8($t = 3.558$, $P = 0.001$)的含量下降水平具有显著差异; 联合用药组患者血清中IL-10($t = 3.012$, $P = 0.004$)的含量升高水平具有显著差异(表4).

3 讨论

常见的有益菌种有双歧杆菌、嗜酸乳杆菌、发酵乳杆菌、枯草杆菌、植物乳杆菌、罗伊氏乳杆菌、鼠李糖乳杆菌等乳酸菌菌株^[8]. 但并非每种菌种都可以作为益生菌而辅助治疗相关疾病. 目前临床已有保加利亚乳酸杆菌和双歧杆菌经科学验证安全有效, 可维持胃肠功能, 有助于增

加肠道有益菌种的数量, 保持良好的胃肠道消化环境, 提高免疫功能^[9,10]. 肠道菌群失调后致病菌分泌的毒素、脂多糖等会引起肠道应答反应, 导致胃肠功能紊乱, 肠黏膜损伤, 继而引起相关疾病. 双歧杆菌三联活菌肠溶片(金双歧)是选用临床有效的长型双歧杆菌、粪肠球菌、嗜酸乳杆菌经适当比例配成的活菌制剂. 运用有益菌种制剂对肠道菌群进行调节是目前治疗UC的新方法^[11].

UC是一个病因和发病机制尚不明确的慢性肠道炎症疾病, 较多认为与环境、免疫、遗传以及肠道微环境等多种因素有关. 临床报道, UC患者血清及肠黏膜中TNF- α 表达水平会明显升高^[12,13], 血清中IL-8水平也常会异于健康对照组, 并且其水平与病情的严重程度成正比. 因此可认为溃疡性结肠炎的一个重要发病机制可能是体内的炎症细胞因子与抗炎细胞因子的平衡失调导致^[14,15]. 公认的参与UC发病的相关细胞因子有TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、

TGF- β 、IL-8和IL-10等. 本研究通过选择性测定治疗前后UC患者血清中TNF- α 、IL-8和IL-10水平的变化, 发现联合用药组患者血清中TNF- α 、IL-8的含量下降水平以及IL-10含量升高水平均较莎尔福组明显. 这说明有益菌种联合莎尔福更有效的抑制了巨噬细胞、T细胞等相关炎症细胞释放TNF- α 和IL-8^[16,17], 调节炎症细胞因子与抗炎细胞因子的平衡, 而发挥其治疗UC的作用, 并且帮助恢复肠道的免疫系统平衡, 避免炎症的进一步发展, 减少反复发作的可能性.

基于以上研究结果, 可知双歧三联活菌肠溶片联用莎尔福比单用莎尔福治疗溃疡性结肠炎的疗效更好, 患者的总有效率更高. 说明联合用药中有益菌种通过调节促炎症因子(IL-8和TNF- α)和抑制炎症因子(IL-10)的水平, 有效抑制免疫炎症反应, 辅助治疗UC. 然而, 益生菌在辅助治疗溃疡性结肠炎方面还未进行大规模的临床研究, 观察样本有限, 莎尔福联合有益菌种对UC的药效作用机制, 还有待深入研究. 而且对于不同症状的UC患者也需要进行科学用药, 在益生菌种类选择的和药物用量方面还需要进一步研究, 以期在治疗疾病的同时, 提高患者的舒适度, 预防复发.

4 参考文献

- Kornbluth A, Sachar DB. Ulcerative colitis practice guidelines in adults: American College Of Gastroenterology, Practice Parameters Committee. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 501-523; quiz 524 [PMID: 20068560]
- 杨志平. 慢性溃疡性结肠炎诊治要点. 健康指南·中老年 2012; 21: 18-19
- Meucci G, Fasoli R, Saibeni S, Valpiani D, Gullotta R, Colombo E, D'Inca R, Terpin M, Lombardi G. Prognostic significance of endoscopic remission in patients with active ulcerative colitis treated with oral and topical mesalazine: a prospective, multicenter study. *Inflamm Bowel Dis* 2012; 18: 1006-1010 [PMID: 21830282 DOI: 10.1002/ibd.21838]
- Ardizzone S, Cassinotti A, Duca P, Mazzali C, Penati C, Manes G, Marmo R, Massari A, Molteni P, Maconi G, Porro GB. Mucosal healing predicts late outcomes after the first course of corticosteroids for newly diagnosed ulcerative colitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011; 9: 483-489. e3 [PMID: 21195796]
- Cucchiara S, Iebba V, Conte MP, Schippa S. The microbiota in inflammatory bowel disease in different age groups. *Dig Dis* 2009; 27: 252-258 [PMID: 19786749 DOI: 10.1159/000228558]
- 魏思忱, 郑国启, 田树英, 张秀刚, 孔郁, 李春英, 魏新亮. IL-10在溃疡性结肠炎患者血清中的表达及意义. *河北医药* 2010; 32: 559-560
- 赵贤, 秦咏梅. 溃疡性结肠炎患者血清肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-8水平变化及其临床意义. *西安交通大学学报(医学版)* 2009; 30: 646-647
- 朱云, 张南征, 潘武, 江兴松, 马文青, 杜文琪. 溃疡性结肠炎内镜、病理组织学分级的相关性研究及其临床意义. 《第九届国际治疗内镜和消化疾病学术会议论文汇编》, 2008
- Tursi A, Brandimarte G, Papa A, Giglio A, Elisei W, Giorgetti GM, Forti G, Morini S, Hassan C, Pistoia MA, Modeo ME, Rodino' S, D'Amico T, Sebkova L, Sacca' N, Di Giulio E, Luzzza F, Imeneo M, Larussa T, Di Rosa S, Annese V, Danese S, Gasbarrini A. Treatment of relapsing mild-to-moderate ulcerative colitis with the probiotic VSL#3 as adjunctive to a standard pharmaceutical treatment: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 2218-2227 [PMID: 20517305 DOI: 10.1038/ajg.2010.218]
- Kruis W, Jonaitis L, Pokrotnieks J, Mikhailova TL, Horynski M, Bátorvský M, Lozynsky YS, Zakharash Y, Rácz I, Kull K, Vcev A, Faszczuk M, Dilger K, Greinwald R, Mueller R. Randomised clinical trial: a comparative dose-finding study of three arms of dual release mesalazine for maintaining remission in ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 33: 313-322 [PMID: 21138455 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04537.x]
- 刘闻莺, 丘洪, 李英梅, 余雪君, 杨根妹. 益生菌联合美沙拉嗪治疗轻中度溃疡性结肠炎的临床疗效. *中国临床医学* 2013; 20: 150-156
- Liu LL, Qin Y, Cai JF, Wang HY, Tao JL, Li H, Chen LM, Li MX, Li XM, Li XW. Th17/Treg imbalance in adult patients with minimal change nephrotic syndrome. *Clin Immunol* 2011; 139: 314-320 [PMID: 21450528 DOI: 10.1016/j.clim.2011.02.018]
- 金石昆, 林琳, 贾宁, 林宇静. 肾活检患者451例临床与病理构成对比分析. *临床肾脏病杂志* 2011; 11: 77-78
- Wang Y, Ito S, Chino Y, Goto D, Matsumoto I, Murata H, Tsutsumi A, Hayashi T, Uchida K, Usui J, Yamagata K, Sumida T. Laser microdissection-based analysis of cytokine balance in the kidneys of patients with lupus nephritis. *Clin Exp Immunol* 2010; 159: 1-10 [PMID: 19807734 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2009.04031.x]
- Summers SA, Steinmetz OM, Li M, Kausman JY, Semple T, Edgton KL, Borza DB, Braley H, Holdsworth SR, Kitching AR. Th1 and Th17 cells induce proliferative glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20: 2518-2524 [PMID: 19820122 DOI: 10.1681/ASN.2009030337]
- 杨桦, 杜广胜. 炎症肠病肠道微生态改变及益生菌的治疗价值. *中华胃肠外科杂志* 2011; 14: 165-167
- 安丽婷, 霍丽娟, 师永盛. 美沙拉嗪与培菲康联合治疗对溃疡性结肠炎患者血清TNF- α 、IL-10的影响. *山西医科大学学报* 2011; 42: 324-326

编辑 田滢 电编 闫晋利



同期手术与分期手术治疗同时性结直肠癌肝转移疗效及安全性的荟萃分析

王波, 钱叶本, 金雯, 宋新跃, 刘月琴

王波, 钱叶本, 安徽医科大学第一附属医院肝胆外科 安徽省合肥市 230022

王波, 金雯, 宋新跃, 刘月琴, 铜陵职业技术学院医学系 安徽省铜陵市 244000

王波, 在读硕士, 主要从事肝胆肿瘤的研究。

作者贡献分布: 王波负责文献检索、数据资料提取、整理及论文撰写; 金雯、宋新跃及刘月琴负责文献质量评价及数据分析; 钱叶本负责论文的审阅及修改。

通讯作者: 钱叶本, 教授, 主任医师, 230022, 安徽省合肥市绩溪路218号, 安徽医科大学第一附属医院肝胆外科。

qianyeben@hotmail.com

电话: 0551-62922052 传真: 0551-62922052

收稿日期: 2014-05-19 修回日期: 2014-06-03

接受日期: 2014-06-06 在线出版日期: 2014-08-08

Efficacy and safety of simultaneous vs staged operation for synchronous colorectal liver metastases: A meta-analysis

Bo Wang, Ye-Ben Qian, Wen Jin, Xin-Yue Song, Yue-Qin Liu

Bo Wang, Ye-Ben Qian, Department of Hepatic Biliary Surgery, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022, Anhui Province, China

Bo Wang, Wen Jin, Xin-Yue Song, Yue-Qin Liu, Medical Department of Tongling Polytechnic College, Tongling 244000, Anhui Province, China

Correspondence to: Ye-Ben Qian, Professor, Chief Physician, Department of Hepatic Biliary Surgery, First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, 218 Jixi Road, Hefei 230022, Anhui Province, China. qianyeben@hotmail.com

Received: 2014-05-19 Revised: 2014-06-03

Accepted: 2014-06-06 Published online: 2014-08-08

Abstract

AIM: To assess the efficacy and safety of simultaneous vs staged operation for synchronous colorectal liver metastases.

METHODS: The relevant studies published between March 2004 and March 2014 were searched, and meta-analysis was performed to evaluate operative time, postoperative complications rate, perioperative mortality, postoperative 1-, 3-, 5-year survival rates and related indicators.

RESULTS: A total of 16 non-randomized controlled studies were included in this analysis. Comparing simultaneous to staged resection, there were no significant differences in operative time (WMD = -49.81, 95%CI: -125.07-25.46, $P = 0.19$), postoperative complications rate (OR = 1.26, 95%CI: 0.84-1.88, $P = 0.26$), perioperative mortality (OR = 1.69, 95%CI: 0.82-3.52, $P = 0.16$), postoperative 1- (OR = 0.69, 95%CI: 0.46-1.04, $P = 0.08$), 3- (OR = 0.69, 95%CI: 0.46-1.04, $P = 0.08$) and 5-year survival rates (OR = 1.00, 95%CI: 0.74-1.36, $P = 0.98$).

CONCLUSION: Simultaneous and staged resections show no significant differences in either safety or efficacy. The patient's general condition, primary tumor, tumor position, and number of liver metastases should be comprehensively assessed to formulate individualized approach.

© 2014 Baishide45ng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colorectal Neoplasms; Neoplasm metastasis; Liver; Hepatectomy; Meta-analysis

Wang B, Qian YB, Jin W, Song XY, Liu YQ. Efficacy and safety of simultaneous vs staged operation for synchronous colorectal liver metastases: A meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(22): 3349-3355
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3349.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3349>

摘要

目的: 应用Meta分析同期手术与分期手术治疗同时性结直肠癌肝转移的疗效和安全性。

方法: 选取2004-03/2014-03发表的研究, 应用Meta分析评价手术时间、术后并发症率、围手术期死亡率、术后1年生存率、术后3年生存率和术后5年生存率等相关指标。

结果: 共有16篇非随机对照研究纳入此分析。同期手术组与分期手术组相比, 手术时间

■背景资料

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是常见的消化系统肿瘤之一, 在结直肠癌的发展中, 约50%的患者可出现肝转移。同时性肝转移是指患者在诊断为结直肠癌时即已发生肝脏转移。结直肠癌肝转移不同于其他恶性肿瘤的转移灶, 结直肠癌原发灶和肝切除术可以明显改变其预后。

■同行评议者

李正荣, 副教授, 副主任医师, 南昌大学附属第一医院胃肠外科(普六病区)

■ 研发前沿

手术切除是目前唯一能为结直肠癌患者提供长期存活率的方法,但由于病情的复杂,手术方式的选择,尤其是肝脏转移灶的切除时机仍存在争议。结直肠癌手术后2-3 mo后再施行肝脏转移灶切除即分期手术与同期行结直肠癌和肝脏转移灶切除是现在争议较大的两种手术方式。

无明显统计学差异(WMD = -49.81, 95%CI: -125.07-25.46, $P = 0.19$), 两者并发症发生率无明显统计学差异(OR = 1.15, 95%CI: 0.76-1.75, $P = 0.49$), 围手术期死亡率无明显统计学差异(OR = 1.69, 95%CI: 0.82-3.52, $P = 0.16$), 术后1年生存率无明显统计学差异(OR = 0.69, 95%CI: 0.46-1.04, $P = 0.08$), 术后3年生存率无明显统计学差异(OR = 1.05, 95%CI: 0.81-1.37, $P = 0.69$), 术后5年生存率无明显统计学差异(OR = 1.00, 95%CI: 0.74-1.36, $P = 0.98$)。

结论: 同期手术与分期手术在治疗同时性结直肠癌肝转移的安全性和疗效上没有差异, 手术方式需通过综合判定患者的全身情况、原发肿瘤状况、肝转移灶的位置、数目后制定个体化方案。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 结直肠肿瘤; 肿瘤转移; 肝; 肝切除术; 荟萃分析

核心提示: 单纯从研究数据的比较上观察, 两类手术在安全性和疗效上都没有差异, 这就说明在同时性结直肠癌肝转移患者的术式的选择上, 需要判定患者的全身情况、原发肿瘤状况、肝转移灶的位置、数目后再制定治疗方案。

王波, 钱叶本, 金雯, 宋新跃, 刘月琴. 同期手术与分期手术治疗同时性结直肠癌肝转移疗效及安全性的荟萃分析. 世界华人消化杂志 2014; 22(22): 3349-3355 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3349.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3349>

0 引言

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是常见的消化系统肿瘤之一, 其发病率位于西欧和北美恶性肿瘤的第2位^[1]. 在结直肠癌的发展中, 约50%的患者可出现肝转移^[2], 并且对于20%的患者, 肝脏是其唯一的转移灶^[3]. 肝转移灶可根据出现的时间分为同时性和异时性结直肠癌肝转移, 其中同时性肝转移(synchronous colorectal liver metastases, SCLM)是指患者在诊断为结直肠癌时即已发生肝脏转移, 此类患者约占15%-25%^[4]. 手术切除是目前唯一能为结直肠癌患者提供长期存活率的方法, 但针对SCLM的患者, 由于病情的复杂, 手术方式的选择尤其是肝脏转移灶的切除时机仍存在争议. 部分学者认为在结直肠癌手术后2-3 mo后再施行肝脏转移灶切除即分期手术, 可以减低同期手术的高并发症和高

死亡率; 而另一部分学者则指出同期行结直肠癌和肝脏转移灶切除可以避免二次手术带来的创伤, 防止患者在等待二期手术时肿瘤进展而失去手术机会. 为此, 我们检索国内外文献, 采用Meta分析的方法对同期手术与分期手术治疗同时性结直肠癌肝转移进行定量分析, 以期为临床决策提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料 文献检索采用计算机检索关键词途径. 英文数据库采用PubMed及Cochrane library对照实验中心注册数据库, 中文数据库采用中文万方数据库、中国生物医学文献数据库(China Biology Medicine disc, CBM)、维普数据库. 外文检索词: synchronous、colorectal cancer、colorectal carcinoma、liver metastases、simultaneous resection、concurrent resection、staged resection、delayed resection. 中文检索词: 同时性结直肠癌、肝转移、同期手术、同时手术、分期手术、延时手术. 发表时间限定为近10年文献, 即2004-03/2014-03. 作为电子数据库搜索的补充, 我们阅读了入选文献和相关综述的参考文献, 手工检索国内外相关杂志。

1.2 方法

1.2.1 文献的评价及资料的提取、分析: 采用双人平行摘录方法, 两位研究人员独立进行文献质量评价并按设计好的表格提取资料, 如遇分歧, 通过讨论解决, 必要时由第3名研究人员协助解决. 搜索中仅检及一篇^[5]随机对照研究(andomized controlled trial, RCT), 但其发表年份为1997年, 将其排除. 故所纳入的研究均为非随机对照研究(nonrandomized controlled study, NRCT), 选用Newcastle-Ottawa Scale(NOS)方法^[6]评价纳入文献的质量。

1.2.2 文献纳入标准: (1)研究中患者必须为经CT、MRI、PET-CT等诊断为同时性结直肠癌肝转移; (2)研究必须对比同期手术与分期手术治疗同时性结直肠癌肝转移的疗效和安全性; (3)研究必须含有1个或1个以上疗效或安全性评价指标; (4)如果为同一作者在不同期刊发表的相似文献, 则选取最近发表的或影响因子较高的文献. 不符合纳入标准的文献予以排除; (5)NOS评分6分以上。

1.2.3 疗效及安全性评价指标: (1)手术时间; (2)术后并发症率(包括与手术相关的切口感染、胆漏、肝周或膈下脓肿、肝功能不全、吻合口

表 1 纳入文献的一般资料

姓名	实验年份	国家	文献质 量评分	例数			男性比		平均年龄(岁)	
				同期组	分期组	总数	同期组	分期组	同期组	分期组
Chua等 ^[7] 2004	1996–1999	美国	8	64	32	96	0.61	0.56	63 ± 11	61 ± 12
Vassiliou等 ^[17] 2007	1996–2004	希腊	7	25	78	103	0.60	0.60	63 ± 12	61 ± 14
Reddy等 ^[13] 2007	1985–2006	美国	8	135	475	610	0.62	0.58	58(48–66)	58(49–66)
Thelen等 ^[15] 2007	1988–2005	德国	7	40	179	219	0.60	0.54	60.5 ± 13.4	59.7 ± 10.7
Turrini等 ^[16] 2007	1994–2005	法国	8	57	62	119	0.84	0.82	60	62
Yan等 ^[19] 2007	未提及	澳大利亚	6	73	30	103	0.45	0.50	60 ± 10	59 ± 13
赵义军等 ^[22] 2008	1996–2004	中国	6	47	27	74	0.77	0.74	53	56
Wang等 ^[18] 2008	1995–2005	中国	8	37	46	83	0.59	0.67	57	55
Martin等 ^[11] 2009	1997–2008	美国	8	70	160	230	0.77	0.36	61(23–83)	58(27–78)
Slupski等 ^[14] 2009	1997–2006	波兰	7	28	61	89	0.64	0.56	59.4	60.2
李彦良等 ^[21] 2010	2003–209	中国	7	49	29	78	0.73	0.69	53	56
de Haas等 ^[8] 2010	1990–2006	法国	8	55	173	228	0.51	0.62	56 ± 12	58 ± 11
Kaibori等 ^[9] 2010	1993–2007	日本	8	32	42	74	0.53	0.64	65.0 ± 9.9	62.3 ± 9.3
Luo等 ^[10] 2010	1994–2008	中国	8	129	276	405	0.59	0.57	58	60
Popescu等 ^[12] 2012	1995–2012	罗马尼亚	6	168	41	209	未提及		未提及	
胡俊杰等 ^[20] 2013	1999–2009	中国	6	40	13	53	0.63	0.46	未提及	

■ 相关报道

以往有学者认为分期手术,可以降低同期手术的高并发症和高死亡率;而另一部分学者则指出同期手术可以避免二次手术带来的创伤,防止患者在等待二期手术时肿瘤进展而失去手术机会。为此,我们检索国内外文献,采用Meta分析的方法对同期手术与分期手术治疗同时性结直肠癌肝转移进行定量分析,以期临床决策提供参考。

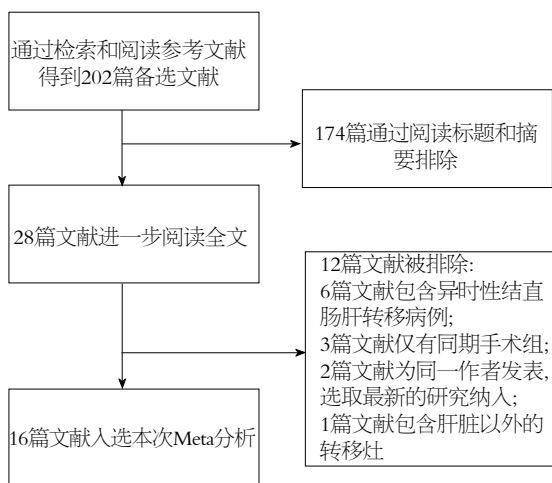


图 1 文献检索过程流程图。

漏、肠梗阻等); (3)围手术期死亡率(包括文中明确指出为围手术期死亡率或手术时至术后12 d内与手术相关的死亡); (4)术后1年生存率、术后3年生存率和术后5年生存率。

统计学处理 采用Cochrane协作网提供的RevMan 5.0软件进行Meta分析。数据合并之前,根据 χ^2 值、异质性检验的 P 值以及 I^2 指数评估纳入的文献的异质性程度。数据合并之前,根据 χ^2 值、异质性检验的 P 值以及 I^2 指数评估纳入的文献的异质性程度,异质性阳性研究采用随机效应模型进行统计分析,异质性阴性即同质性较高的研究采用固定效应模型分析。统计结果用95%CI表示,按照 $\alpha = 0.05$ 的检验水准, $P < 0.05$ 为差异有

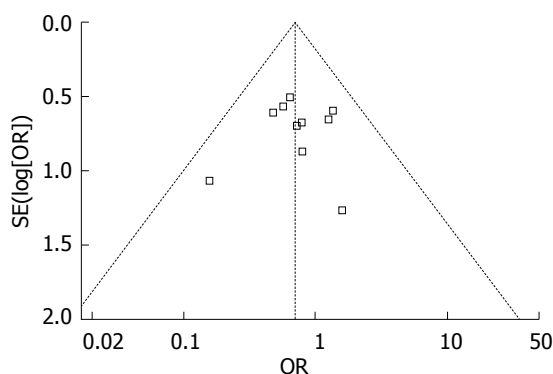


图 2 两组术后1年生存率的漏斗图。

统计学意义。采用漏斗图评估发表性偏倚。

2 结果

2.1 文献筛选结果及纳入文献特征 通过检索和阅读参考文献获得相关文献202篇,按照纳入标准排除不合格文献174篇,其中可能符合纳入标准的文献28篇。仔细阅读全文后,最终纳入16篇文献^[7-22],研究对象2670例,其中英文文献13篇,中文文献3篇。文献检索过程流程图如图1,纳入文献特征如表1。

2.2 发病偏倚分析 使用RevMan 5.0软件绘制倒漏斗图。各观察指标基本位于95%CI内,且分布基本对称,总体呈倒漏斗状分布,提示纳入文献无明显的发表偏倚。漏斗图如图2。

2.3 统计分析

2.3.1 手术安全性: 经异质性检验,同期手术

■创新盘点

本文我们纳入了全世界范围内10年来的16篇研究共2670例患者,经过Meta分析的方法,对比同期手术与分期手术的手术时间、术后并发症率、围手术期死亡率、术后1、3、5年生存率,综合比较了这两种手术方式的安全性和疗效。

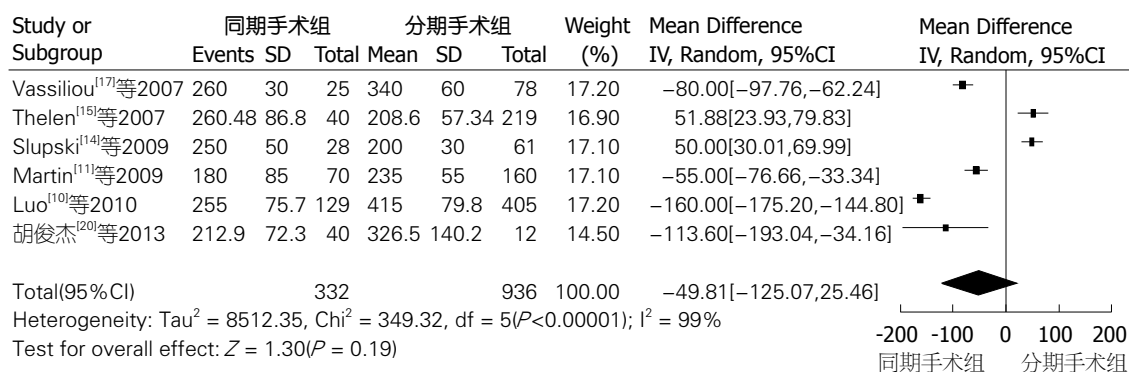


图3 两组手术时间比较

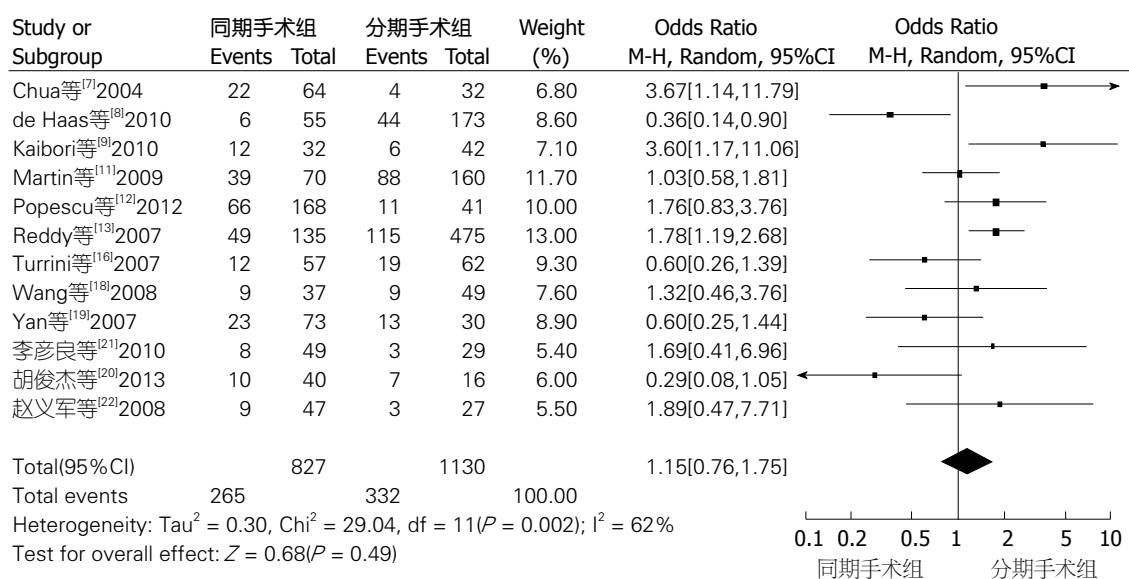


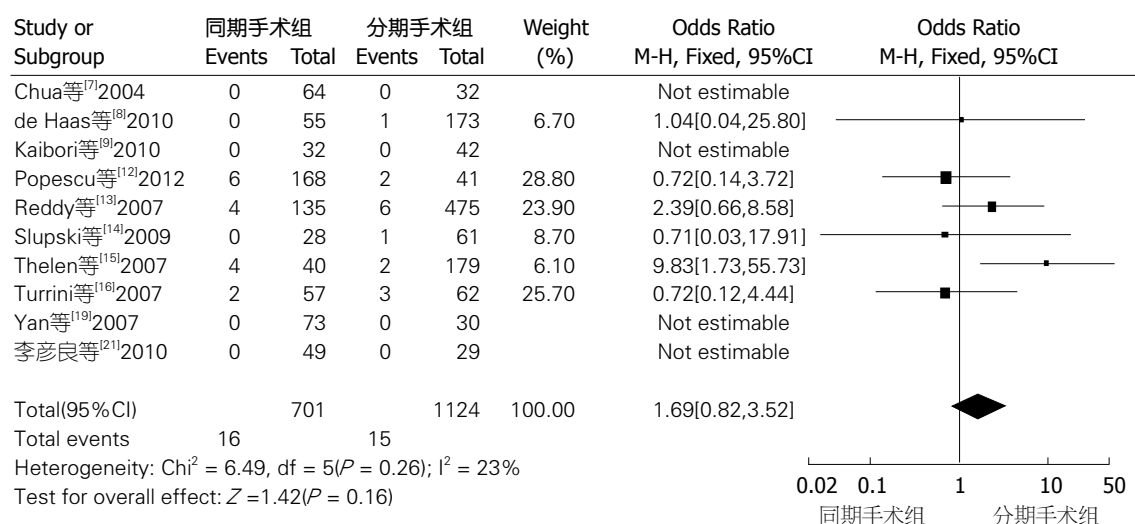
图4 两组术后并发症发生率比较

组与分期手术组的手术时间($P < 0.00001$, $I^2 = 99\%$), 术后并发症发生率($P = 0.002$, $I^2 = 62\%$) 在不同的研究中存在异质性, 故采用随机效应模型分析; 两组间围手术期死亡率经异质性检验无明显异质性($P = 0.26$, $I^2 = 23\%$), 采用固定效应模型分析。同期手术组相比分期手术组, 其手术时间无明显差异(WMD = -49.81, 95%CI: -125.07-25.46, $P = 0.19$)(图3)。同期手术组术后并发症发生率为32.04%, 分期手术组术后并发症发生率为28.50%, 两组相比无明显统计学差异(OR = 1.15, 95%CI: 0.76-1.75, $P = 0.49$)(图4)。同期手术组围手术期死亡率为2.28%, 分期手术组围手术期死亡率为1.33%, 两组相比无统计学差异(OR = 1.69, 95%CI: 0.82-3.52, $P = 0.16$)(图5)。

2.3.2 疗效: 经异质性检验, 同期手术组与分期手术组术后1年($P = 0.83$, $I^2 = 0\%$)、3年($P = 0.17$, $I^2 = 29\%$)、5年($P = 0.58$, $I^2 = 0\%$)生存率在纳入的

研究中均不存在异质性, 故采用固定效应模型进行分析。同期手术组术后1年生存率为86.23%, 分期手术组术后1年生存率为90.37%, 两组相比无明显统计学差异(OR = 0.69, 95%CI: 0.46-1.04, $P = 0.08$)(图6)。同期手术组术后3年生存率为54.53%, 分期手术组术后3年生存率为57.17%, 两组相比无明显统计学差异(OR = 1.05, 95%CI: 0.81-1.37, $P = 0.69$)(图7)。同期手术组术后5年生存率为29.96%, 分期手术组术后5年生存率为34.38%, 两组相比无明显统计学差异(OR = 1.00, 95%CI: 0.74-1.36, $P = 0.98$)(图8)。

2.4 敏感性分析 敏感性分析显示, 排除低质量文献后, 同期手术组与分期手术组之间手术时间仍无明显差异(WMD = -38.96, 95%CI: -121.07-43.14, $P = 0.35$), 同样, 排除低质量文献后, 两组术后并发症发生率也仍无明显差异(OR = 1.28, 95%CI: 0.78-2.11, $P = 0.33$)。



■应用要点

本研究提示,在同时性结直肠癌肝转移患者的术式的选择上,我们需要通过综合判定患者的一般情况后制定个体化的治疗方案。

图 5 两组围手术期死亡率比较.

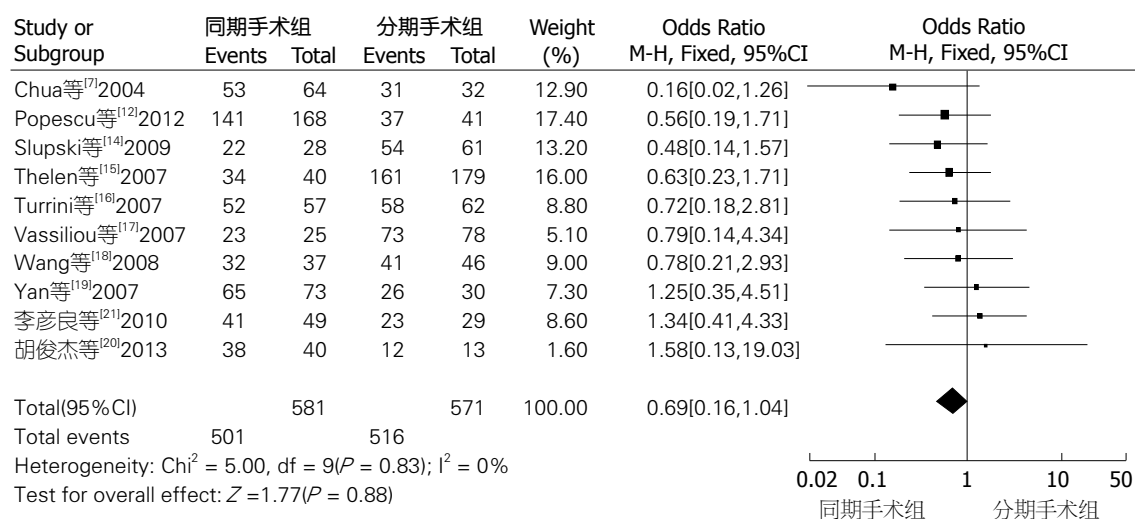


图 6 两组术后1年生存率比较.

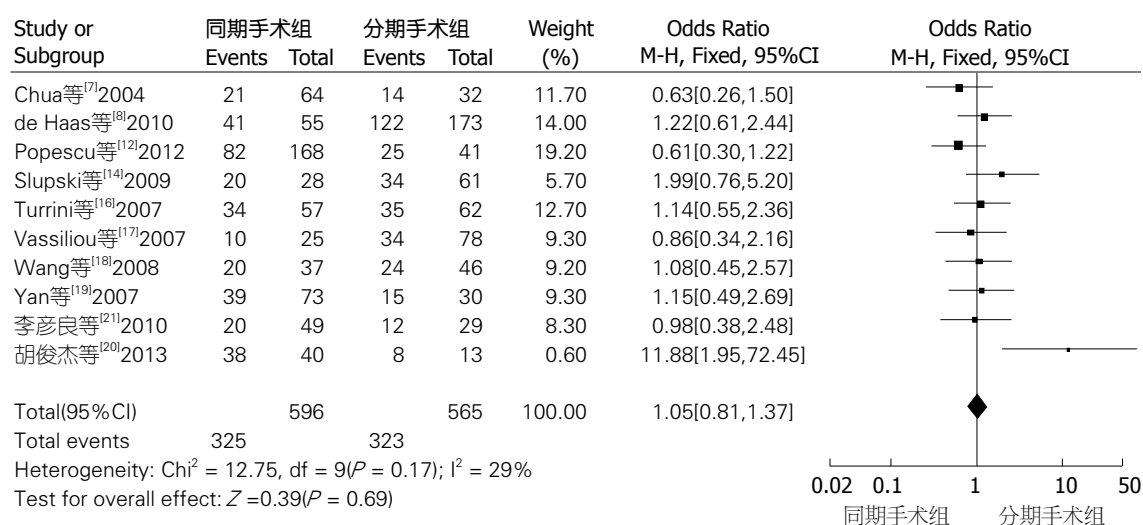


图 7 两组术后3年生存率比较.

■ 同行评价

循证医学现已成为临床医学的发展趋势, 本文就同期手术与分期手术治疗同时性结直肠癌肝转移疗效及安全性进行了Meta分析, 分析步骤比较完整, 结论可信。

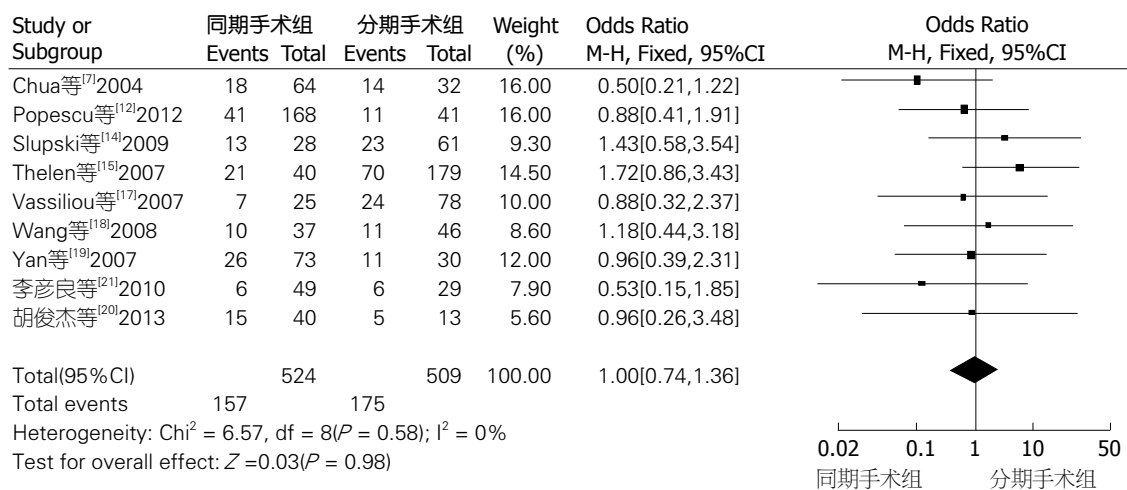


图 8 两组术后5年生存率比较。

3 讨论

不同于其他恶性肿瘤导致的肝脏转移, 同时性结直肠癌肝转移可以通过手术方式得到良好的预后, 但肝脏转移灶切除的时机, 即同期手术亦或分期手术的选择, 是困扰国内外学术界的一个难题。有部分学者倾向于分期手术, 因为有研究^[7,9]表明同期手术创伤大, 可以造成手术的死亡率、并发症率的升高, 并且结直肠癌手术为污染手术, 会导致肝脏手术区域的污染。但另一部分学者认为, 行分期手术的患者在一期行结直肠癌切除后的2-3 mo后, 肝脏转移灶随时有转移扩散的可能, 少数患者会因等待而失去了手术根治的机会, 而且随着近年来手术技术的进步, 结直肠癌合并肝脏切除手术对于很多外科医生而言不再是禁区, 手术污染率减低, 手术时间缩短, 这都为同期结直肠癌肝转移切除术降低了风险, 增加了患者的生存几率。本文纳入了全世界范围内10年来的16篇研究共2670例患者, 经过Meta分析的方法, 对比同期手术与分期手术的手术时间、术后并发症率、围手术期死亡率、术后1、3、5年生存率, 综合比较了这两种手术方式的安全性和疗效。

在2008年1篇对比同时性结直肠癌肝转移同期手术与分期手术的荟萃分析中^[23], 研究者收集了1991-2007年的27篇研究, 得到的结论是同期手术的术后并发症率和围手术期死亡率均高于分期手术, 从而说明同期手术的手术安全性低于分期手术。本文在限定研究时间为2004-2014年后, 评价了同期手术与分期手术的手术时间、术后并发症率和围手术期死亡率, 未发现两种手术方式的安全性之间存在统计学意义的

差异, 得到了与先前研究完全不同的结论, 这说明了近年来手术技术、麻醉技术以及围手术期处理技术的进步, 切实地提高了同时性结直肠癌肝转移同期手术的安全性。另外随着影像学水平的提高, 结直肠癌肝转移灶的诊断越来越趋向微小化、早期化, 这也为改善同时性结直肠癌肝转移同期手术的安全性提供了便利。而在同期手术与分期手术的疗效方面, 本研究对比了两者术后1、3和5年的生存率, 均没有发现有统计学意义的差异。由此可见, 单纯从研究数据的比较上观察, 两类手术在安全性和疗效上都没有差异, 这就说明在同时性结直肠癌肝转移患者的术式的选择上, 我们需要通过综合判定患者的全身情况、原发肿瘤状况、肝转移灶的位置、数目后制定个体化的治疗方案。在患者一般情况良好、转移灶局限于肝脏、肝脏切除术后可保留有>30%的肝脏组织、原发肿瘤和转移灶可以允许患者长期生存的情况下, 我们应争取对其行同期手术治疗。而如若患者一般情况差, 不能耐受同期手术, 且肝脏转移灶过大, 一次性切除有难度时, 则需要将肝脏转移灶切除延迟在原发灶切除后2-3 mo后施行。

需要明确的是, 本文受到了以下几个方面因素的限制: (1)Meta分析是二次分析, 潜在存在混杂偏倚、发表偏倚等一些自身的不足, 所以有一定的局限性, 本文纳入的文献均为非RCT文献, 这在分析中会产生更多的偏倚; (2)各研究中结直肠癌原发灶的部位、分期、分化程度、转移情况, 肝脏转移灶的位置、大小、数目, 以及患者术前的一般情况, 辅助化疗方案不完全相同, 不能忽视这些因素对研究结果造成的偏倚,

故需要更多样本量更大的随机对照实验来对同时性结直肠癌肝转移同期手术与分期手术的安全性和疗效来进一步研究, 以期得到更完备的结论。

4 参考文献

- Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2007. *CA Cancer J Clin* 2007; 57: 43-66 [PMID: 17237035 DOI: 10.3322/canj-clin.57.1.43]
- Pawlik TM, Choti MA. Surgical therapy for colorectal metastases to the liver. *J Gastrointest Surg* 2007; 11: 1057-1077 [PMID: 17530336]
- Scheele J, Stangl R, Altendorf-Hofmann A, Gall FP. Indicators of prognosis after hepatic resection for colorectal secondaries. *Surgery* 1991; 110: 13-29 [PMID: 1866690]
- Scheele J, Stangl R, Altendorf-Hofmann A. Hepatic metastases from colorectal carcinoma: impact of surgical resection on the natural history. *Br J Surg* 1990; 77: 1241-1246 [PMID: 2253003 DOI: 10.1002/bjs.1800771115]
- Korpan NN. Hepatic cryosurgery for liver metastases. Long-term follow-up. *Ann Surg* 1997; 225: 193-201 [PMID: 9065296]
- Wells GA, Shea B, O'Connell D, Peterson J, Welch V, Losos M, Tugwell P. The Newcastle-Ottawa Scale(NOS) for assessing the quality of nonrandomized studies in Meta-analyses. Available from: URL: <http://www.lri.ca/programs/ceu/oxford.htm>
- Chua HK, Sondenaa K, Tsiotos GG, Larson DR, Wolff BG, Nagorney DM. Concurrent vs. staged colectomy and hepatectomy for primary colorectal cancer with synchronous hepatic metastases. *Dis Colon Rectum* 2004; 47: 1310-1316 [PMID: 15484344 DOI: 10.1007/s10350-004-0586-z]
- de Haas RJ, Adam R, Wicherts DA, Azoulay D, Bismuth H, Vibert E, Salloum C, Perdigao F, Benkabbou A, Castaing D. Comparison of simultaneous or delayed liver surgery for limited synchronous colorectal metastases. *Br J Surg* 2010; 97: 1279-1289 [PMID: 20578183 DOI: 10.1002/bjs.7106]
- Kaibori M, Iwamoto S, Ishizaki M, Matsui K, Saito T, Yoshioka K, Hamada Y, Kwon AH. Timing of resection for synchronous liver metastases from colorectal cancer. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 3262-3270 [PMID: 20112062 DOI: 10.1007/s10620-009-1124-6]
- Luo Y, Wang L, Chen C, Chen D, Huang M, Huang Y, Peng J, Lan P, Cui J, Cai S, Wang J. Simultaneous liver and colorectal resections are safe for synchronous colorectal liver metastases. *J Gastrointest Surg* 2010; 14: 1974-1980 [PMID: 20676791 DOI: 10.1007/s11605-010-1284-x]
- Martin RC, Augenstein V, Reuter NP, Scoggins CR, McMasters KM. Simultaneous versus staged resection for synchronous colorectal cancer liver metastases. *J Am Coll Surg* 2009; 208: 842-850; discussion 850-852 [PMID: 19476847 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2009.01.031]
- Popescu I, Alexandrescu ST. Metastatic colorectal cancer--what about the primary? *Acta Chir Iugosl* 2012; 59: 47-55 [PMID: 23373358 DOI: 10.2298/ACI202047P]
- Reddy SK, Pawlik TM, Zorzi D, Gleisner AL, Ribero D, Assumpcao L, Barbas AS, Abdalla EK, Choti MA, Vauthey JN, Ludwig KA, Mantyh CR, Morse MA, Clary BM. Simultaneous resections of colorectal cancer and synchronous liver metastases: a multi-institutional analysis. *Ann Surg Oncol* 2007; 14: 3481-3491 [PMID: 17805933 DOI: 10.1245/s10434-007-9522-5]
- Slupski M, Wlodarczyk Z, Jasinski M, Masztalerz M, Tujakowski J. Outcomes of simultaneous and delayed resections of synchronous colorectal liver metastases. *Can J Surg* 2009; 52: E241-E244 [PMID: 20011158]
- Thelen A, Jonas S, Benckert C, Spinelli A, Lopez-Hänninen E, Rudolph B, Neumann U, Neuhaus P. Simultaneous versus staged liver resection of synchronous liver metastases from colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis* 2007; 22: 1269-1276 [PMID: 17318552 DOI: 10.1007/s00384-007-0286-y]
- Turrini O, Viret F, Guiramand J, Lelong B, Bège T, Delperro JR. Strategies for the treatment of synchronous liver metastasis. *Eur J Surg Oncol* 2007; 33: 735-740 [PMID: 17400418 DOI: 10.1016/j.ejso.2007.02.025]
- Vassiliou I, Arkadopoulos N, Theodosopoulos T, Fragulidis G, Marinis A, Kondi-Paphiti A, Samanides L, Polydorou A, Gennatas C, Voros D, Smyrniotis V. Surgical approaches of resectable synchronous colorectal liver metastases: timing considerations. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 1431-1434 [PMID: 17457976]
- Wang QX, Xu B, Yan JJ, Zhou FG, Yan YQ. [Treatment strategy for synchronous liver metastasis from colorectal cancer]. *Ai Zheng* 2008; 27: 748-751 [PMID: 18606070]
- Yan TD, Chu F, Black D, King DW, Morris DL. Synchronous resection of colorectal primary cancer and liver metastases. *World J Surg* 2007; 31: 1496-1501 [PMID: 17534545 DOI: 10.1007/s00268-007-9085-4]
- 胡俊杰, 周志祥, 梁建伟, 王征, 周海涛, 钟宇新. 结直肠癌同时性肝转移同期手术切除疗效分析. *中华肿瘤杂志* 2013; 35: 63-66
- 李彦良, 马恒, 孙现军, 宋希林. 肝转移结直肠癌同期与分期手术疗效比较(附78例报告). *山东医药* 2010; 50: 53-54
- 赵义军, 王葵, 阎振林, 王蒙, 施乐华, 沈锋, 吴孟超. 结直肠癌同时肝转移的手术疗效分析. *肝胆外科杂志* 2008; 16: 337-340
- Hillingsø JG, Wille-Jørgensen P. Staged or simultaneous resection of synchronous liver metastases from colorectal cancer--a systematic review. *Colorectal Dis* 2009; 11: 3-10 [PMID: 18637099 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2008.01625.x]

编辑 田滢 电编 闫晋利



血浆miR-1290在结直肠癌中的表达及临床意义

徐学虎, 李 勇, 江庆萍, 陈 戎, 李志发, 刘海波, 黎淑玲, 伍尚标

■背景资料

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是最常见的恶性肿瘤之一,也是引起死亡的主要癌症之一,且发病率逐年上升,严重危害人累健康。大肠癌早期症状隐匿,无特异性,早期发现面临很大困难。寻找理想的用于早期诊断CRC肿瘤标志物具有重要的临床意义。

徐学虎, 李勇, 陈戎, 李志发, 黎淑玲, 伍尚标, 广州医科大学附属第三医院胃肠外科 广东省广州市 510150

江庆萍, 广州医科大学附属第三医院病理科 广东省广州市 510150

刘海波, 广州医科大学附属第三医院妇产科研究所实验部 广东省广州市 510150

徐学虎, 主任医师, 主要从事胃肠乳腺外科和肿瘤分子生物学与临床应用的研究。

广东省第三批重大科技专项基金资助项目, No. 2011A080300002

广东省部产学研结合引导基金资助项目, No. 2011B090400526

广州市科技和信息化局科技支撑计划基金资助项目, No. 2010J-E141

作者贡献分布: 徐学虎统筹组织基金项目, 完成论文修改、投稿; 李勇完成实验, 整理分析数据, 撰写文章; 江庆萍完成患者病理诊断; 陈戎、李志发及伍尚标收集样本; 刘海波处理储存样本; 黎淑玲整理患者临床及病理资料。

通讯作者: 徐学虎, 主任医师, 510150, 广州市荔湾区多宝路63号行政楼5楼501, 广州医科大学附属第三医院胃肠外科。

maxtiger@126.com

电话: 020-81292822

收稿日期: 2014-05-09 修回日期: 2014-06-05

接受日期: 2014-06-22 在线出版日期: 2014-08-08

Clinical significance of plasma miR-1290 in colorectal cancer

Xue-Hu Xu, Yong Li, Qing-Ping Jiang, Rong Chen, Zhi-Fa Li, Hai-Bo Liu, Shu-Ling Li, Shang-Biao Wu

Xue-Hu Xu, Yong Li, Rong Chen, Zhi-Fa Li, Shu-Ling Li, Shang-Biao Wu, Department of Gastrointestinal Surgery, the Third Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510150, Guangdong Province, China

Qing-Ping Jiang, Department of Pathology, the Third Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510150, Guangdong Province, China

Hai-Bo Liu, Department of Gynaecology and Obstetrics, the Third Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510150, Guangdong Province, China

Supported by: Foundation of Guangdong Provincial Department of Science and Technology, Nos. 2011A080300002 and 2011B090400526; Foundation of Science and Information Technology of Guangzhou, No. 2010J-E141

Correspondence to: Xue-Hu Xu, Chief Physician, Department of Gastrointestinal Surgery, the Third Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, 63 Duobao Road, Liwan District, Guangzhou 510150, Guangdong Province, China. maxtiger@126.com

Received: 2014-05-09 Revised: 2014-06-05

Accepted: 2014-06-22 Published online: 2014-08-08

Abstract

AIM: To assess the clinical significance of plasma miR-1290 in patients with colorectal cancer (CRC).

METHODS: Plasma levels of miR-1290 in 219 patients with CRC and 45 healthy subjects were measured using real-time quantitative PCR. The relationship between miR-1290 expression and clinical characteristics of CRC was analyzed. The diagnostic value of miR-1290 for CRC was evaluated.

RESULTS: Plasma miR-1290 levels were increased significantly in CRC patients compared with healthy controls ($P < 0.05$). Plasma levels of miR-1290 were not significantly associated with gender ($P > 0.05$), but were significantly associated with TNM stage and age of patients.

CONCLUSION: Increased plasma miR-1290 levels are detected in patients with colorectal cancer, which suggests that miR-1290 might be used as a potential marker for colorectal cancer.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: miRNA; miR-1290; Colorectal cancer; Plasma; Biomarker

Xu XH, Li Y, Jiang QP, Chen R, Li ZF, Liu HB, Li SL, Wu SB. Clinical significance of plasma miR-1290 in colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(22): 3356-3360 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3356.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3356>

摘要

目的: 研究miR-1290在结直肠癌(colorectal cancer, CRC)患者及健康体检者血浆中的表达差异,并探讨其与临床特征之间的关系。

方法: 采用实时荧光定量PCR检测检测219例CRC患者及年龄、性别相匹配的45例健康体检者血浆中miR-1290的表达情况,分析其与临床特点之间的关系。

结果: 在健康体检者与CRC患者两组中, CRC组血浆中miR-1290表达量增高,有统计学意义($P < 0.05$);以年龄分组(≥ 60 岁, < 60 岁),高龄组人群中血浆miR-1290的表达水平较低龄组

■同行评议者

孙学英, 教授, 哈尔滨医科大学第一附属医院; 卢晓梅, 教授, 研究员, 新疆医科大学第一附属医院临床医学研究院

增高, 有统计学意义($P < 0.05$); 以性别(男、女)分组, 血浆miR-1290的表达水平变化无统计学意义($P > 0.05$).

结论: miR-1290在CRC患者血浆中表达上调, 其高表达与CRC的分期相关, 有望成为CRC诊断及治疗的指标之一.

© 2014年版权归归世登出版集团有限公司所有.

关键词: miRNA; miR-1290; 结直肠癌; 血浆; 生物标志物

核心提示: 本实验用实时荧光定量PCR检测手段系统地分析健康人群、不同分期结直肠癌(colorectal cancer, CRC)患者血浆之间的miRNA表达差异, 发现miR-1290在CRC中差异表达, 并且随肿瘤进展呈现动态变化. 提示miR-1290在CRC发生发展阶段发挥重要作用.

徐学虎, 李勇, 江庆萍, 陈戎, 李志发, 刘海波, 黎淑玲, 伍尚标. 血浆miR-1290在结直肠癌中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(22): 3356-3360 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3356.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i22.3356>

0 引言

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是最常见的恶性肿瘤之一, 也是引起死亡的主要癌症之一. 在发达国家高居恶性肿瘤第2位; 在我国, 其发病率与死亡率呈逐年上升趋势^[1]. 作为危害人类健康的常见恶性肿瘤, CRC发病机制的研究始终是临床基础研究的重点之一. miRNA是一类由21-23个核苷酸构成的非编码单链RNA分子, 通过与靶基因mRNA 3'端非编码区的完全或不完全互补结合, 抑制靶mRNA翻译或降解靶mRNA, 使基因在转录后水平产生沉默, 从而调节生物体内的基因表达^[2]. 越来越多的研究表明, miRNA具有癌基因或抑癌基因的作用, 他在细胞的生长、增殖和凋亡过程中发挥着重要作用, 其表达水平的异常与许多肿瘤的发生发展相关^[3], 研究miRNA与肿瘤的关系对于探索肿瘤的发生、发展及治疗有重要意义. 本课题组前期的研究表明, miRNA能够鉴别结直肠肿瘤组织与瘤旁正常组织^[4]. miR-1290是新近发现的一种miRNA. 可通过调控细胞增殖周期进而参与肿瘤的演进过程^[5], 但其在CRC中的具体表达状况尚未见研究报道. 本实验通过检测对比CRC患者及健康体检者血浆中miR-1290的表达

水平, 分析其与CRC患者临床特征的关系, 探讨miR-1290在CRC发生发展中的作用.

1 材料和方法

1.1 材料 收集广州医科大学第三附属医院2010-09/2013-09收治的219例CRC患者的外周血, 标本获得前患者未经任何放、化疗, 患者均经病理检查确诊, 无其他肿瘤病史, 所有患者均有完整的临床、病理资料. 男114例、女105例; 年龄38-82岁, 平均64.16岁 \pm 12.36岁; 按照美国癌症联合会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)第7版标准进行TNM分期, I期24例、II期60例、III期111例和IV期24例. 另外, 收集45例健康体检者外周血, 其中男30例、女15例; 年龄53-87岁, 平均67.67岁 \pm 10.31岁. CRC患者和健康体检者的年龄和性别匹配($P > 0.05$). 本研究已通过广州医科大学第三附属医院医学伦理委员会的审核批准, 所有标本的采集均获得患者的知情同意.

1.2 方法

1.2.1 血浆样本的收集: 使用EDTA试管采集的每例待检者外周血2 mL, 在室温(22 °C-25 °C)下1 h内进行处理. 在4 °C、1900 g离心10 min: 吸取上清至洁净的1.5 mL DEPC管, 4 °C、16000 g离心10 min, 小心吸取上清到新的DEPC管中, 置于-80 °C冰箱中保存备用.

1.2.2 血浆总RNA的提取: 用TRIzol法, 取适量的血浆, 加入1 mL TRIzol, 震荡混匀室温放置5 min; 加入0.2 mL氯仿, 剧烈震荡15 s, 静置3 min; 4 °C 10000 r/min离心10 min, 把上层水相转移到新的管中; 加入等体积异丙醇, 混匀, 静置20 min; 4 °C 10000 r/min离心10 min, 去上清; 用1 mL 75%DEPC乙醇洗涤沉淀; 4 °C 5000 r/min离心5 min, 弃去液体; 室温晾干后, 加入30 μ L DEPC处理过的ddH₂O水, 溶解RNA, 取1 μ L RNA在NanoDropND-2000(美国NanoDrop公司)上测定RNA浓度及A_{260/280}比值. 抽提获得的RNA置于-80 °C冰箱中保存备用.

1.2.3 cDNA合成: 以2 μ g总RNA为模板, 按照Bestar qPCR RT Kit说明书配制逆转录反应体系, 5 \times RT Buffer 4.0 μ L; RT Enzyme Mix 1.0 μ L; Primer Mix Rnase Free dH₂O 4.0 μ L. 总体积为20 μ L, 配置置于冰上进行. 37 °C, 60 min; 98 °C, 10 min, 合成cDNA, 收集后-20 °C保存备用.

1.2.4 荧光定量RT-PCR检测miR-1290: 特异性引物序列在miRBASE中检索, miR-1290及U6序

■ 研发前沿

miRNA是一种具有调控功能的内源性非编码RNA, 在转录后对靶标基因的表达水平进行调节. 与许多疾病相关尤其是恶性肿瘤. 近年来, 肿瘤相关miRNA陆续在患者的血清中被发现, 为肿瘤的无创性早期诊断提供了一条新的途径. miRNA稳定性非常好, 可作为潜在的肿瘤标志物.

■ 相关报道

2008年Lawrie等发现弥漫性大B细胞淋巴瘤患者血清中miR-21水平很高, 并证实后者与无复发存活率增高密切相关, Allen等研究发现血浆中miRNA性质非常稳定, 即便在100 °C煮沸10 min或室温下放置不同的时间(4、12、24 h)或反复冻融, 其表达水平基本不变.

■创新盘点

本实验用实时荧光定量PCR检测手段系统地分析健康人群及不同分期CRC患者之间血浆miRNA表达差异, miR-1290是本实验中发现的特异性miRNA之一,能够准确的鉴别CRC患者及健康人群,同时随着肿瘤的进展表达情况呈动态变化,这在CRC中尚属首次报道。

列如下: hsa-miR-1290: F: 5'-ACACTCCAGCTGGGTGGATTTTGG-3', R: 5'-CTCAACTGTGTGTCGTGGA-3'; U6: F: 5'-CTCGCTTCG-GCAGCACA-3', R: 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'。引物由生工生物工程公司合成。荧光定量RT-PCR的条件优化对 Mg^{2+} 、引物等浓度进行优化。Real-time PCR 扩增的反应体系为20 μ L(DBI Bestar[®] SybrGreen qPCR master Mix)具体为Bestar[®] SybrGreen qPCR master Mix 10 μ L; PCR Forward Primer(10 μ mol/L) 0.5 μ L; PCR Reverse Primer(10 μ mol/L) 0.5 μ L; DNA模板(上述cDNA)1.0 μ L; dH_2O (灭菌蒸馏水) 8.0 μ L。反应条件为: 94 $^{\circ}$ C 2 min, 94 $^{\circ}$ C 30 s, 58 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 20 s, 40循环, 采用Agilent Stratagene荧光定量PCR仪Mx3000P进行荧光定量检测, 反应结束后由计算机自动计算各反应管内的Ct值。

对于实时定量PCR结果的统计, 目的基因的表达量以 $2^{-\Delta Ct}$ 表示, 每个血浆标本miRNA-1290 PCR平均扩增值 $\Delta Ct = Ct_{miR-1290} - Ct_{U6}$ ^[6]。CRC患者血浆中miRNA-1290表达量的平均 $2^{-\Delta Ct}$ 值除以健康体检者血浆中miRNA-1290表达量的平均 $2^{-\Delta Ct}$ 值, 为CRC患者血浆中miRNA-1290的表达倍数变化。

统计学处理 采用SPSS20.0统计软件, miRNA相对表达量呈偏态分布、方差不齐, 以中位数和四分位数间距表示; 两组间或多组间比较采Mann-Whitney *U*检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 CRC患者与健康体检者血浆中miR-1290 扩增情况 miR-1290及U6的Real-time PCR扩增曲线均呈“S”型; PCR产物熔解曲线均为单峰, 说明扩增的目的基因特异性好且结果可靠(图1)。

2.2 miR-1290在CRC及健康体检者血浆中的表达情况 以U6为内参, CRC患者血浆中miR-1290的表达量为0.481(0.05-1.54); 健康体检者血浆中表达量为0.012(0.00-0.05)。CRC患者血浆中miR-1290的表达量明显高于健康体检者。采用非参数秩和检验, 两者差异有统计学意义($P < 0.05$)(图2)。

2.3 血浆miR-1290 的表达水平与CRC患者临床特征之间的关系 对CRC患者血浆中的表达与临床病理资料进行分析, 结果显示血浆中miR-1290的表达水平与CRC患者的性别无关($P > 0.05$), 但与年龄、临床分期密切相关, 在不

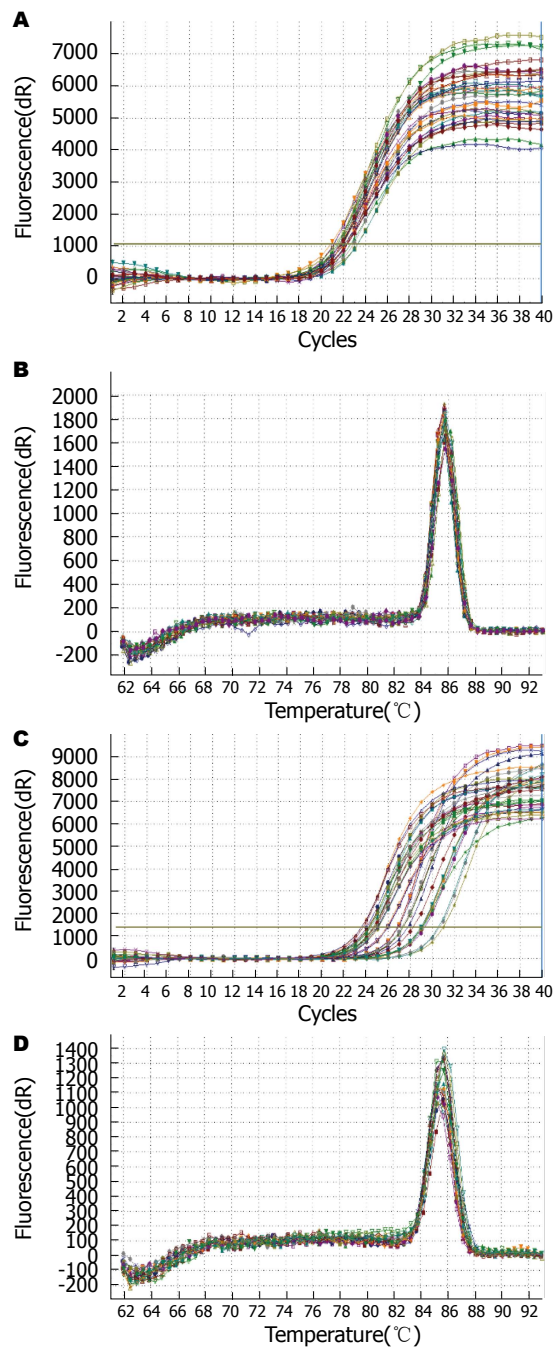


图1 Realtime PCR 检测患者与健康体检者血浆中miR-1290的表达。A: 部分样本的U6扩增曲线; B: U6熔解曲线; C: miR-1290 扩增曲线; D: miR-1290溶解曲线。

同TNM分期的患者血浆miR-1290的与健康对照组均有统计学差异(均 $P < 0.05$)(表1)。

3 讨论

提高CRC早期阶段的检出率能显著提高患者生存率, 降低癌症死亡率及延长患者生存时间。癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)是最早发现的CRC血液肿瘤标志物, 但CEA在大多数恶性肿瘤患者血中均有不同程度的上调, 特异

■应用要点

miR-1290作为CRC中特异性表达的miRNA之一,能够准确的鉴别CRC患者及健康人群,同时随着肿瘤的进展呈动态变化,结合其他被发现在CRC中发现有差异变化的miRNA,有望建立CRC的miRNA诊断模型,使血浆miRNA成为CRC常规临床诊断的非侵入性标志物。

表 1 血浆miR-1290的RQ与患者临床特征之间的关系

临床特点	n	miR-1290表达量 ¹	P值
性别			0.052
男	114	0.439(0.05–1.47)	
女	105	0.528(0.05–1.54)	
年龄(岁)			0.01
≥60	136	0.514(0.05–1.48)	
>60	83	0.428(0.05–1.54)	
TNM分期			0.00
I	24	0.511(0.13–0.90)	
II	60	0.628(0.05–1.54)	
III	111	0.443(0.05–1.45)	
IV	21	0.263(0.09–0.50)	

¹miR-1290的表达量以中位数和四分位间距表示。

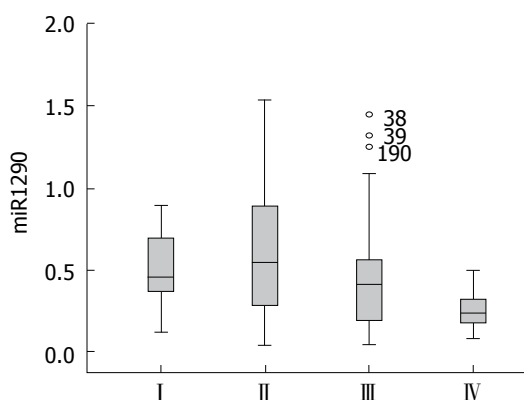


图 2 miR-1290在结直肠癌不同分期中的表达量。

性较低,对CRC的早期诊断价值不高。因此,寻找理想的特异度强和灵敏度高的肿瘤标志物是提高肿瘤早期诊断的重要手段之一。近年来的研究发现循环miRNA是一种具有功能的miRNA,其在生物发育过程中存在着许多特异性的表达,与人体许多种疾病都有非常密切的联系,尤其是在肿瘤的发生和发展过程中发挥着非常重要的作用,已发现若干miRNA直接参与某些肿瘤的发生和发展^[7-13]。2008年Lawrie等^[14]发现弥漫性大B细胞淋巴瘤患者血清中miR-21水平很高,并证实后者与无复发存活率增高密切相关,血清miR-21成为第1个被发现的血清miRNA标志物,同时开启了对游离miRNA的研究。Ho等^[15]研究发现血浆中miRNA性质非常稳定,即便在100℃煮沸10 min或室温下放置不同的时间(4、12、24 h)或反复冻融,其表达水平基本不变,这为今后的研究奠定了基础。随后在乳腺癌、胃癌、胰腺癌、肝癌及肺癌等恶性肿瘤患

者的血浆中发现:miRNAs 异常的表达与组织病理学特征以及疾病的不同阶段之间有着密切的关系。

miR-1290在人胚胎肝细胞中首次被发现^[16],随后研究者发现其表达量在胰腺癌、乳腺癌中均有不同程度的变化^[17,18],同时Wu等^[5]发现上调miR-1290能损害胞质分裂,影响结肠癌细胞的重编程。但是miR-1290在CRC患者的体液(包括血液、尿液、胸腹水、唾液等)中的研究仍然缺乏,这将是今后研究的新领域。本研究中,miR-1290在CRC患者血浆中表达量相比健康对照组显著升高,两者差异有统计学意义,这与Li等^[17]报道的在其他消化系肿瘤中情况相符。I期、II期CRC患者血浆miR-1290的表达量随肿瘤进展逐渐增加并达到高峰,到III期、IV期其表达量有所下降但维持在较高水平($P<0.05$);这种在CRC早期开始升高,病程中期达到高峰后开始缓慢下降,病程晚期仍维持在一个较高的水平。早期、中期、晚期的值与健康体检者相比均有显著性差异($P<0.05$)的表达趋势,与肿瘤细胞迅速生长繁殖,中晚期开始有所坏死凋亡,但仍维持较高的活跃增殖程度相符合,提示miR-1290可能在CRC发生发展阶段发挥重要作用;同时患者年龄与miR-1290表达量亦呈正相关($P<0.05$),提示年龄也是一个影响其表达的相关因素之一。

本实验研究结果表明,miR-1290可能通过突变、缺失、调节转录因子或抑癌基因等机制来发挥促癌miRNA的作用,但是具体机制还有待进一步研究。粪便隐血试验、血清CEA检测及肠镜仍是目前临床上发现CRC的常用手段,但粪便隐血试验及CEA不够敏感而肠镜属于侵入性操作,如果进一步研究更大样本量的miR-1290表达水平及临床意义,结合其他研究者发现在CRC中发现有变化的miRNA^[7],有望建立CRC的miRNA联合诊断模型,使血浆miRNA成为CRC常规临床诊断的非侵入性标志物。总之,miR-1290参与了CRC的发生和发展,可能作为CRC诊断和治疗的新指标。

4 参考文献

- 1 Siegel R, Ma J, Zou Z, Jemal A. Cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin* 2014; 64: 9-29 [PMID: 24399786 DOI: 10.3322/caac.21208]
- 2 Yanaihara N, Harris CC. MicroRNA Involvement in Human Cancers. *Clin Chem* 2013; 59: 1811-1812 [PMID: 23462030 DOI: 10.1373/

■名词解释

$2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示的是实验组目的基因的表达相对于对照组的变化倍数,使用这一方法可以直接得到目的基因相对于内参基因的定量。 $\Delta\Delta Ct = (Ct_{目的基因} - Ct_{内参基因})_{实验组} - (Ct_{目的基因} - Ct_{内参基因})_{对照组}$; 实验组目的基因的表达相对于对照组的变化倍数 = $(目的基因的拷贝数 / 内参基因的拷贝数)_{实验组} / (目的基因的拷贝数 / 内参基因的拷贝数)_{对照组}$ 。

■同行评价

本文针对血浆 miR-1290在CRC中的表达展开研究,发现miR-1290在CRC患者血浆中的表达显著增高,同时与患者年龄及肿瘤分期密切相关,该研究条理分明,结果可靠,具有一定的科学性和创新性。

- 3 Corté H, Manceau G, Blons H, Laurent-Puig P. MicroRNA and colorectal cancer. *Dig Liver Dis* 2012; 44: 195-200 [PMID: 22105087 DOI: 10.1016/j.dld.2011.10.010]
- 4 徐学虎, 吴小兵, 伍尚标, 江庆萍, 刘海波, 陈戎, 孙嫣. miR-490-5p和miR-363作为结直肠癌诊断标记的研究. *中华胃肠外科杂志* 2014; 17: 45-50
- 5 Wu J, Ji X, Zhu L, Jiang Q, Wen Z, Xu S, Shao W, Cai J, Du Q, Zhu Y, Mao J. Up-regulation of microRNA-1290 impairs cytokinesis and affects the reprogramming of colon cancer cells. *Cancer Lett* 2013; 329: 155-163 [PMID: 23142292 DOI: 10.1016/j.canlet.2012.10.038]
- 6 Schmittgen TD, Livak KJ. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method. *Nat Protoc* 2008; 3: 1101-1108 [PMID: 18546601 DOI: 10.1038/nprot.2008.73]
- 7 Huang Z, Huang D, Ni S, Peng Z, Sheng W, Du X. Plasma microRNAs are promising novel biomarkers for early detection of colorectal cancer. *Int J Cancer* 2010; 127: 118-126 [PMID: 19876917 DOI: 10.1002/ijc.25007]
- 8 Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116: 281-297 [PMID: 14744438 DOI: 10.1016/S0092-8674(04)00045-5]
- 9 Ng EK, Chong WW, Jin H, Lam EK, Shin VY, Yu J, Poon TC, Ng SS, Sung JJ. Differential expression of microRNAs in plasma of patients with colorectal cancer: a potential marker for colorectal cancer screening. *Gut* 2009; 58: 1375-1381 [PMID: 19201770 DOI: 10.1136/gut.2008.167817]
- 10 Schetter AJ, Harris CC. Plasma microRNAs: a potential biomarker for colorectal cancer? *Gut* 2009; 58: 1318-1319 [PMID: 19749133 DOI: 10.1136/gut.2009.176875]
- 11 Reid G, Kirschner MB, van Zandwijk N. Circulating microRNAs: Association with disease and potential use as biomarkers. *Crit Rev Oncol Hematol* 2011; 80: 193-208 [PMID: 21145252 DOI: 10.1016/j.critrevonc.2010.11.004]
- 12 Jazdzewski K, Murray EL, Franssila K, Jarzab B, Schoenberg DR, de la Chapelle A. Common SNP in pre-miR-146a decreases mature miR expression and predisposes to papillary thyroid carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 7269-7274 [PMID: 18474871 DOI: 10.1073/pnas.0802682105]
- 13 Si ML, Zhu S, Wu H, Lu Z, Wu F, Mo YY. miR-21-mediated tumor growth. *Oncogene* 2007; 26: 2799-2803 [PMID: 17072344 DOI: 10.1038/sj.onc.1210083]
- 14 Lawrie CH, Gal S, Dunlop HM, Pushkaran B, Liggin AP, Pulford K, Banham AH, Pezzella F, Boulton J, Wainscoat JS, Hattton CS, Harris AL. Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol* 2008; 141: 672-675 [PMID: 18318758 DOI: 10.1111/j.1365-2141.2008.07077.x]
- 15 Ho AS, Huang X, Cao H, Christman-Skieller C, Bennewith K, Le QT, Koong AC. Circulating miR-210 as a Novel Hypoxia Marker in Pancreatic Cancer. *Transl Oncol* 2010; 3: 109-113 [PMID: 20360935]
- 16 Morin RD, O'Connor MD, Griffith M, Kuchenbauer F, Delaney A, Prabhu AL, Zhao Y, McDonald H, Zeng T, Hirst M, Eaves CJ, Marra MA. Application of massively parallel sequencing to microRNA profiling and discovery in human embryonic stem cells. *Genome Res* 2008; 18: 610-621 [PMID: 18285502 DOI: 10.1101/gr.7179508]
- 17 Li A, Yu J, Kim H, Wolfgang CL, Canto MI, Hruban RH, Goggins M. MicroRNA array analysis finds elevated serum miR-1290 accurately distinguishes patients with low-stage pancreatic cancer from healthy and disease controls. *Clin Cancer Res* 2013; 19: 3600-3610 [PMID: 23697990 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-3092]
- 18 Endo Y, Toyama T, Takahashi S, Yoshimoto N, Iwasa M, Asano T, Fujii Y, Yamashita H. miR-1290 and its potential targets are associated with characteristics of estrogen receptor α -positive breast cancer. *Endocr Relat Cancer* 2013; 20: 91-102 [PMID: 23183268 DOI: 10.1530/ERC-12-0207]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



伴气腹征的原发性腹膜炎诊治18例

王大禹, 魏 锋, 陈 鹰

王大禹, 魏锋, 陈鹰, 湖州市中心医院普通外科 浙江省湖州市 313000

王大禹, 副主任医师, 主要从事普通外科学的研究。

作者贡献分布: 论文由王大禹设计; 病例整理由王大禹完成; 数据统计分析由魏锋与陈鹰完成; 本论文写作由王大禹完成。

通讯作者: 王大禹, 副主任医师, 313000, 浙江省湖州市红旗路198号, 湖州市中心医院普通外科。12460856@qq.com

电话: 0572-2036795

收稿日期: 2014-04-25 修回日期: 2014-06-04

接受日期: 2014-06-11 在线出版日期: 2014-08-08

Diagnosis and treatment of primary peritonitis with signs of pneumoperitoneum: Analysis of 18 cases

Da-Yu Wang, Feng Wei, Ying Chen

Da-Yu Wang, Feng Wei, Ying Chen, Huzhou Central Hospital, Huzhou 313000, Zhejiang Province, China

Correspondence to: Da-Yu Wang, Associate Chief Physician, Huzhou Central Hospital, 198 Hongqi Road, Huzhou 313000, Zhejiang Province, China. 12460856@qq.com

Received: 2014-04-25 Revised: 2014-06-04

Accepted: 2014-06-11 Published online: 2014-08-08

Abstract

AIM: To explore the diagnosis and treatment of primary peritonitis with signs of pneumoperitoneum.

METHODS: Clinical data for 18 patients with primary peritonitis with signs of pneumoperitoneum treated from August 2004 to February 2014 were retrospectively analyzed. The 18 patients were divided into two groups: an operation group and a non-operation group. Length of hospital stay, body temperature, leucocyte count, abdominal pain, sign of peritonitis, onset, cure rate, and basic disease were compared between the two groups.

RESULTS: All the 18 patients were cured. The length of hospital stay was significantly longer in the operation group ($6.7 \text{ d} \pm 1.0 \text{ d}$) than in the non-operation group ($6.7 \text{ d} \pm 1.0 \text{ d}$) ($P < 0.05$). The rate of complications in the operation group was 16.7% (one case of incision infection and one case of pulmonary infection), and no com-

plications occurred in the non-operation group. There were no significant differences between the two groups in body temperature, leucocyte count, abdominal pain, sign of peritonitis, onset, or basic disease.

CONCLUSION: If the symptoms of peritonitis are mild, conservative treatment and close observation should be carried out in patients with primary peritonitis with signs of pneumoperitoneum.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Pneumoperitoneum; Spontaneous bacterial peritonitis

Wang DY, Wei F, Chen Y. Diagnosis and treatment of primary peritonitis with signs of pneumoperitoneum: Analysis of 18 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(22): 3361-3364 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3361.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3361>

摘要

目的: 探讨伴气腹征(pneumoperitoneum)的原发性腹膜炎(spontaneous bacterial peritonitis, SBP)适宜的诊断治疗方法。

方法: 通过对湖州市中心医院2004-08/2014-02收治的伴气腹征的SBP患者18例的临床资料进行的回顾性分析, 对比手术组(12例)和非手术组(6例)的住院时间, 入院时体温、白细胞计数、腹痛程度、腹膜炎体征、起病时间、治愈率、合并基础疾病情况, 并进行统计学分析。

结果: 18例伴气腹征的SBP患者全部治愈, 手术组平均住院时间($12 \text{ d} \pm 1.9 \text{ d}$)明显高于非手术组平均住院时间($6.7 \text{ d} \pm 1.0 \text{ d}$), 手术组并发症发生率为16.7%(1例切口感染, 1例肺部感染), 非手术组无并发症。手术组及非手术组在入院时白细胞计数、体温、腹痛评分、腹膜炎体征严重程度、起病时间、合并基础病变率等方面均无显著性差异。

■背景资料

伴气腹征(pneumoperitoneum)的原发性腹膜炎(spontaneous bacterial peritonitis, SBP)临床上甚为少见, 其与伴腹内空腔脏器穿孔的继发性腹膜炎鉴别诊断颇为困难。常导致该病患者承受不必要的剖腹探查手术。

■同行评议者

张进祥, 副教授, 华中科技大学同济医学院附属协和医院

■研发前沿

SBP尤其是伴气腹征者的精确诊断及与继发性腹膜炎的鉴别诊断。学者们对伴气腹征的SBP治疗方式的探讨与反思-应用剖腹探查术治疗是否适当。

结论: 对伴发气腹征之SBP患者, 若腹膜炎症状较轻应首选在严密观察病情变化前提下积极保守治疗。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 气腹征; 原发性腹膜炎

核心提示: 伴气腹征(pneumoperitoneum)的原发性腹膜炎(spontaneous bacterial peritonitis)颇为罕见, 与继发性腹膜炎不易鉴别。通过对患者症状、体征、病史、辅助检查等的仔细分析能够做出准确诊断, 若该病患者腹膜炎症状较轻应首选在严密观察病情变化前提下积极保守治疗。

王大禹, 魏锋, 陈鹰. 伴气腹征的原发性腹膜炎诊治18例. 世界华人消化杂志 2014; 22(22): 3361-3364 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3361.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i22.3361>

0 引言

伴气腹征(pneumoperitoneum)的原发性腹膜炎(spontaneous bacterial peritonitis, SBP)为甚为少见的急腹症, 临床极易误诊为消化系穿孔引发之继发性腹膜炎, 目前尚未有统一的诊疗规范。我们对2004-08/2014-02湖州市中心医院收治的伴气腹征的SBP患者18例之临床资料进行回顾性分析, 并将诊治体会报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 回顾分析了湖州市中心医院2004-08/2014-02收治的伴气腹征的SBP患者共18例之临床资料。其中男性患者10例, 女性患者8例, 年龄最小24岁, 最大68岁, 平均49.0岁±13.4岁。患者的白细胞计数、体温、腹痛及腹膜炎体征取刚入院时检查结果, 腹痛评分采用视觉模拟评分, 0分表示无痛楚, 10分为痛楚无法忍受。发病时间指患者出现腹痛症状时算起到住院之时间。腹膜炎体征指腹部压痛、反跳痛及肌紧张。

1.2 方法

1.2.1 伴气腹征的SBP诊断标准: 有急性腹痛病史, 腹部有腹膜炎体征, 腹部彩超提示腹腔积液, 腹部平片或和腹部CT提示腹腔内游离气体。其中12例经手术证实为SBP。6例经保守治愈者除有上述标准外均经消化系造影证实无消化系穿孔。

1.2.2 治疗: 其中12例经剖腹探查术, 术中均未发现消化系穿孔, 予以腹腔渗液采样做细菌培养, 腹腔冲洗, 放置腹腔引流管。术后予三代头孢+

甲硝唑抗感染治疗。6例经消化系造影证实无消化系穿孔采取禁食胃肠减压等保守治疗, 腹腔积液较多者采用彩超定位下腹腔穿刺置管引流。并予以三代头孢+甲硝唑抗感染治疗。

统计学处理 用SAS8.1统计软件进行处理。计数资料的比较采用 t 检验, 基础疾病、腹膜炎体征及治愈率的比较采用 χ^2 检验, 检验水准 $\alpha = 0.05$ 。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

手术组及非手术组在入院时白细胞计数、体温、腹痛评分、腹膜炎体征严重程度、合并基础病变率等方面均无显著性差异($P > 0.05$)(表1)。治疗后, 18例伴气腹征的SBP患者全部治愈, 治愈率100%, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 手术组平均住院时间为12 d±1.9 d, 非手术组平均住院时间6.7 d±1.0 d, 在住院时间方面手术组明显长于非手术组($P < 0.05$)。手术组并发症发生率为16.7%(1例切口感染, 1例肺部感染), 非手术组无并发症。

3 讨论

SBP尤其是伴气腹征者与继发性腹膜炎在临床上不易鉴别。SBP起病前常有上呼吸道感染, 或者合并有肾炎、肾病综合征、系统性红斑狼疮、肝硬化腹水等基础疾病, 起病通常没有继发性腹膜炎急骤。腹痛为持续性疼痛, 腹痛的范围多为全腹痛, 部分盆腔炎的患者疼痛主要在下腹部。腹痛的程度相对较轻。本研究的18例患者腹痛及腹部体征均相对较轻, 大多数患者腹部不像消化系穿孔引发腹膜炎形成的明显肌紧张甚至硬如“板状腹”, 而是呈现一种比正常腹部触诊较“韧”的感觉。腹部有压痛反跳痛, 但相对较轻。甚至有部分患者没有明显的反跳痛。虽然SBP可出现体温升高, 白细胞总数增高, 中性粒细胞增高, 但感染性休克在SBP早期极少出现。另外本研究中部分患者出现气腹征明显, 腹内游离气体较多但腹膜炎体征轻微的表现, 这一点常与继发于消化系穿孔的腹膜炎不同。诊断性腹腔镜穿刺和细菌学检查对SBP的诊断和治疗有着重要的意义。SBP与继发性腹膜炎比较有以下特点: (1)腹腔内没有原发感染灶; (2)常有上呼吸道感染, 或者患有肝硬化腹水、肾炎、肾病综合征等疾病; (3)腹膜炎体征比继发性腹膜炎轻; (4)腹腔穿刺液白细胞 $> 0.3 \times 10^9/L$, 中性粒细胞比例 > 0.5 或腹

■相关报道

伴气腹征的SBP颇为罕见。国内外医疗工作者均认为该种疾患不易术前正确诊断, 误诊率高, van Gelder等报道9例伴气腹征的急腹症均承受了阴性结果的腹部手术探查, Karaman等学者倾向于若伴气腹的腹膜炎体征并不明显, 应首先考虑保守治疗。细致的体检、完善的实验室和辅助检查可以帮助避免不必要的手术治疗。

表 1 患者临床资料

分组	入院时白细胞($10^9/L$)	腹痛评分	入院时体温($^{\circ}C$)	发病时间(d)	合并基础疾病(n)	腹膜炎体征
手术治疗组	9.0 ± 3.3	4.4 ± 1.1	37.3 ± 0.6	1.3 ± 0.7	7	轻度7, 中度5
非手术组	8.4 ± 3.0	4.4 ± 0.7	37.1 ± 0.6	1.7 ± 0.8	3	轻度4, 中度2

腔穿刺液涂片发现细菌或细胞培养阳性(包括厌氧菌培养); (5)治疗以保守治疗为主。

气腹征是诊断消化系穿孔的重要依据, 约85%的病例在放射线检查可见气腹征^[1]。85%-95%的急腹症中的气腹患者是因胃肠道穿孔引起, 胃或十二指肠溃疡穿孔是最常见原因^[2-4]。原发性细菌性腹膜炎为相对少见的外科急腹症, 致病菌来自肠道菌群, 多为单株需氧革兰阴性菌, 其中尤以大肠埃希菌最常见, 占40%-63%^[5,6]。而在这其中, 伴气腹征的SBP更是罕见^[7]。国内外医疗工作者均认为该种疾患不易术前正确诊断, 误诊率高, 国外学者报道9例伴气腹征的急腹症均承受了阴性结果的腹部手术探查^[4,8,9], 国内研究也有SBP患者承受阴性剖腹探查报道^[10-12]。随着该疾病报道的增多, 临床医生对其认识日渐深入。部分学者倾向于若伴气腹的腹膜炎体征并不明显, 应首选考虑保守治疗。细致的体检, 完善的实验室和辅助检查可以帮助避免不必要的手术治疗^[3]。国外相关研究也认为腹部疼痛分散且不显著, 缺乏典型腹膜炎体征, 不伴有白细胞明显升高及发热症状者应该首选予以严密观察下保守治疗^[2,13,14]。临床上一般认为腹腔内游离气体多来自于空腔脏器穿孔, 尤其是在伴有腹膜炎体征的患者中, 往往被认为是剖腹探查手术的强烈指征。甚至于手术医生术中未发现消化系穿孔却往往认为穿孔必定存在, 只是存在于较为隐匿的部位。从而不断的延长手术时间和切口, 却劳而无功。近些年的研究表明即使伴有气腹征的腹膜炎患者未必存在空腔脏器穿孔。在决定该部分患者是否手术时应慎重^[4,15,16]。回顾本组病例报道中大多数患者腹膜炎临床表现较轻, 12例接受手术患者术中所见腹膜炎病变较轻, 且未发现空腔脏器穿孔, 保守治疗痊愈可能性很大。接合对国内外相关文献的查询学习和前12例病例的诊治经验, 我们对后面6例患者采取了严密观察病情变化下的积极保守治疗, 均在较短时间内治愈。其住院时间、费用均少于行剖腹探查术组, 提示对伴发气腹征之SBP患者, 若患者腹膜炎症

状较轻应首先考虑在严密观察病情变化前提下积极保守治疗。

4 参考文献

- López-Cano M, Vilallonga-Puy R, Lozoya-Trujillo R, Espin-Basany E, Sánchez-García JL, Armengol-Carrasco M. [Idiopathic pneumoperitoneum]. *Cir Esp* 2005; 78: 112-114 [PMID: 16420808 DOI: 10.1016/S0009-739X]
- Mularski RA, Ciccolo ML, Rappaport WD. Non-surgical causes of pneumoperitoneum. *West J Med* 1999; 170: 41-46 [PMID: 9926735]
- Karaman A, Demirbilek S, Akin M, Gürünlüoğlu K, Irşi C. Does pneumoperitoneum always require laparotomy? Report of six cases and review of the literature. *Pediatr Surg Int* 2005; 21: 819-824 [PMID: 16096797 DOI: 10.1007/s00383-005-1489-3]
- Tuveri M, Borsezio V, Melis G, Muntoni G, Gabbas A, Tuveri A. [Pneumoperitoneum: is exploratory laparotomy always indicated?]. *Chir Ital* 2006; 58: 611-618 [PMID: 17069190]
- Wu CJ, Lee HC, Chang TT, Chen CY, Lee NY, Chang CM, Sheu BS, Cheng PN, Shih HI, Ko WC. *Aeromonas* spontaneous bacterial peritonitis: a highly fatal infectious disease in patients with advanced liver cirrhosis. *J Formos Med Assoc* 2009; 108: 293-300 [PMID: 19369176 DOI: 10.1016/S0929-6646(09)60069-3]
- 骆成林, 呼闯营, 殷国建, 睦振宇, 程桂莲, 王少峰. 产ESBLs细菌在肝硬化合并自发性腹膜炎患者腹水中的检测及其耐药性. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1567-1569
- Lai FC, Wu CC, Hwu DH, Liu TJ, P'eng FK. Pneumoperitoneum caused by spontaneous bacterial peritonitis: a case report. *Zhonghua Yixue Zazhi (Taipei)* 1994; 54: 373-375 [PMID: 7834563]
- van Gelder HM, Allen KB, Renz B, Sherman R. Spontaneous pneumoperitoneum. A surgical dilemma. *Am Surg* 1991; 57: 151-156 [PMID: 2003702]
- Eslick GD, Chalasani V, Salama AB. Idiopathic pneumoperitoneum. *Eur J Intern Med* 2006; 17: 141-143 [PMID: 16490696 DOI: 10.1016/j.ejim.2005.08.014]
- 傅军. 原发性腹膜炎七例误诊分析. *铁道医学* 2000; 28: 60-61
- 黄玉玮, 于海川. 隐匿性肝硬化并发原发性腹膜炎18例误诊分析. *辽宁医学杂志* 2002; 16: 213-214
- 吴泉峰, 王凤平, 廖康恕. 原发性腹膜炎26例误诊分析. *临床外科杂志* 1998; 6: 113-114
- Mularski RA, Sippel JM, Osborne ML. Pneumoperitoneum: a review of nonsurgical causes. *Crit Care Med* 2000; 28: 2638-2644 [PMID: 10921609]
- Pitiakoudis M, Zezos P, Oikonomou A, Kirmanidis M, Kouklakis G, Simopoulos C. Spontaneous idiopathic pneumoperitoneum presenting as an acute

■创新盘点

伴气腹征的SBP颇为罕见, 其与伴腹内空腔脏器穿孔的继发性腹膜炎鉴别诊断相当困难。我们总结了18例伴气腹征SBP患者的临床资料, 并对两组不同治疗方案治疗效果进行对比。对该疾病的诊断治疗提出了自己的观点。

■应用要点

本论文对伴气腹征的SBP的诊断及治疗原则进行了回顾性分析, 并提出自己的观点: 对临床上伴气腹征的腹膜炎患者的诊断要慎重, 对伴气腹征的SBP患者若腹膜炎症状较轻应首先考虑在严密观察病情变化前提下积极保守治疗。避免不必要的剖腹探查术。

■同行评价

本文对临床工作有一定的借鉴意义。

- 15 abdomen: a case report. *J Med Case Rep* 2011; 5: 86 [PMID: 21352588 DOI: 10.1186/1752-1947-5-86]
- 16 Omori H, Asahi H, Inoue Y, Irinoda T, Saito K. Pneumoperitoneum without perforation of the gastrointestinal tract. *Dig Surg* 2003; 20: 334-338 [PMID: 12806202 DOI: 10.1159/000071762]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014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;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。如马连生^[1]报告……,潘伯荣等^[2-5]认为……;PCR方法敏感性高^[6-7]。文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献,包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和 *World Journal of Gastroenterology* (<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>)。期刊: 序号, 作者(列出全体作者)。文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

缺血性脑卒中后便秘相关因素的分析评价及护理

黄萍, 张彩艳

黄萍, 张彩艳, 华中科技大学同济医学院附属梨园医院 湖北省武汉市 460077

黄萍, 主管护师, 主要从事神经内科护理的研究。

作者贡献分布: 此课题由黄萍设计; 研究过程由黄萍与张彩艳实施完成; 数据分析由张彩艳完成; 本论文写作由黄萍与张彩艳共同完成。

通讯作者: 黄萍, 主管护师, 460077, 湖北省武汉市武昌区东湖生态风景区沿湖大道39号, 华中科技大学同济医学院附属梨园医院神经内科。lyhp4232@qq.com

电话: 027-86772577

收稿日期: 2014-03-19 修回日期: 2014-04-21

接受日期: 2014-04-24 在线出版日期: 2014-08-08

Constipation after ischemic stroke: Risk factors and nursing measures

Ping Huang, Cai-Yan Zhang

Ping Huang, Cai-Yan Zhang, Liyuan Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 460077, Hubei Province, China

Correspondence to: Ping Huang, Charge Nurse, Department of Neurology, Liyuan Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 39 Yanhu Road, East Lake Ecological Scenic Spot of Wuchang Area, Wuhan 460077, Hubei Province, China. lyhp4232@qq.com

Received: 2014-03-19 Revised: 2014-04-21

Accepted: 2014-04-24 Published online: 2014-08-08

Abstract

AIM: To explore the risk factors for constipation after ischemic stroke and the nursing measures.

METHODS: Sixty patients with constipation after ischemic stroke and 60 patients without constipation after ischemic stroke were included in an experiment group and a control group, respectively. Risk factors for constipation after ischemic stroke were analyzed by comparing the two groups. The experiment group received comprehensive nursing intervention. The constipation symptom score, mini-mental state examination (MMSE) score, Barthel index (BI), modified Rankin scale (MRS) score were compared between the two groups.

RESULTS: The frequencies of acute stage, paralysis, use of dehydration, nasal feeding and MRS score in the experiment group were sig-

nificantly higher than those in the control group (70.00% vs 41.67%, 66.67% vs 30.00%, 56.67% vs 25.00%, 21.67% vs 8.33%, 4.02 ± 0.86 vs 3.10 ± 1.22 ; $P < 0.05$ or $P < 0.01$). MMSE score, BI and rate of regular defecation in the experiment group were significantly lower than those in the control group (25.91 ± 3.22 vs 28.30 ± 2.51 , 44.41 ± 23.35 vs 90.06 ± 15.21 , 30.00% vs 75.00%; $P < 0.05$ or $P < 0.01$). In the experiment group, the constipation symptom score and MRS score were significantly lower (2.91 ± 2.33 vs 11.10 ± 1.83 , 2.93 ± 1.17 vs 4.02 ± 0.86 ; $P < 0.01$), and MMSE score and BI were significantly higher (28.36 ± 2.40 vs 25.91 ± 3.22 , 89.69 ± 13.28 vs 44.41 ± 23.35 ; $P < 0.01$) after intervention than before intervention.

CONCLUSION: The major risk factors for constipation after ischemic stroke are acute stage, paralysis, use of dehydration, frequent nasal feeding, irregular defecation, cognitive disorder, decreased daily activities and decreased quality of life. Interventional measures have significant effects in reducing constipation after ischemic stroke.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Ischemic stroke; Constipation; Risk factor; Nursing measures

Huang P, Zhang CY. Constipation after ischemic stroke: Risk factors and nursing measures. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(22): 3365-3368 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3365.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3365>

摘要

目的: 探讨缺血性脑卒中后便秘发生的主要因素及护理干预效果。

方法: 将华中科技大学同济医学院附属梨园医院收治的60例脑卒中后便秘患者和60例脑卒中后非便秘患者分别作为实验组和对照组, 比较两组患者相关因素差异, 实验组患者给予综合护理干预, 观察实验组患者干预前后便秘症状评分、简易智能精神状态检查量表(mini-

■背景资料

缺血性脑卒中属于突发性脑血液循环障碍性疾病, 多发于中老年人群, 死亡率和致残率均较高。缺血性脑卒中患者发病后易发生便秘, 尤其是长期卧床的脑卒中偏瘫患者便秘发生率更高。临床研究表明, 脑卒中后便秘患者排便用力易引发颅内压升高, 增加了再出血和脑梗死的风险, 严重影响脑卒中的预后效果。

■同行评议者

李永翔, 主任医师, 教授, 博士生导师, 普外腔镜外科主任, 安徽医科大学第一附属医院普外科

■研究前沿

本研究并未对这一危险因素进行明确研究,在之后的临床研究中会对梗死部位等其他相关因素进行深入探讨。

mental state examination, MMSE)评分、Barthel生活指数(Barthel index, BI)评分及改良Rankin量表(modified rankin seale, MRS)评分变化情况。

结果: 实验组患者急性期、偏瘫、使用脱水剂、鼻饲饮食比例以及MRS评分均明显高于对照组[(70.00% vs 41.67%)、(66.67% vs 30.00%)、(56.67% vs 25.00%)、(21.67% vs 8.33%)、(4.02分±0.86分 vs 3.10分±1.22分)], 差异具有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 实验组MMSE评分、BI评分及排便时间固定比例均明显低于对照组[(25.91分±3.22分 vs 28.30分±2.51分)、(44.41分±23.35分 vs 90.06分±15.21分)、(30.00% vs 75.00%)], 差异具有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 实验组患者干预后便秘症状评分和MRS评分均明显降低[(2.91分±2.33分 vs 11.10分±1.83分)、(2.93分±1.17分 vs 4.02分±0.86分)], MMSE评分和BI评分均明显升高[(28.36分±2.40分 vs 25.91分±3.22分)、(89.69分±13.28分 vs 44.41分±23.35分)], 与干预前比较, 差异具有统计学意义($P<0.01$)。

结论: 缺血性脑卒中急性期、偏瘫、使用脱水剂、鼻饲饮食、排便时间不固定、认知功能障碍、日常生活活动能力降低以及生活质量下降均为诱发便秘的主要危险因素, 采取针对性综合护理干预措施临床效果显著, 具有较高临床推广价值。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 缺血性脑卒中; 便秘; 危险因素; 护理干预

核心提示: 本研究对缺血性脑卒中患者中发生便秘和未发生便秘患者的相关因素进行了比较分析, 结果显示缺血性脑卒中急性期、偏瘫、使用脱水剂、鼻饲饮食、排便时间不固定、认知功能障碍、日常生活活动能力降低以及生活质量下降均为诱发便秘的主要危险因素, 与相关文献报道相似。

黄萍, 张彩艳. 缺血性脑卒中后便秘相关因素的分析评价及护理. 世界华人消化杂志 2014; 22(22): 3365-3368 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3365.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3365>

■相关报道

相关文献报道对缺血性脑卒中患者脑梗死部位与便秘的发生进行了研究, 指出梗死位于基底节区的患者更容易发生便秘。

是长期卧床的脑卒中偏瘫患者便秘发生率更高。临床研究表明, 脑卒中后便秘患者排便用力易引发颅内压升高, 增加了再出血和脑梗死的风险, 严重影响脑卒中预后效果^[1]。现对华中科技大学同济医学院附属梨园医院收治的60例发生便秘和60例未发生便秘的脑卒中患者相关因素进行比较分析, 探讨脑卒中后便秘发生的主要危险因素以及采取针对性综合护理干预的临床效果, 报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2013-01/2014-01华中科技大学同济医学院附属梨园医院收治的60例脑卒中后便秘患者和60例脑卒中后非便秘患者分别作为实验组和对照组研究对象。所有患者均符合《中国脑卒中康复治疗指南》^[2]中缺血性脑卒中相关诊断标准, 经电子计算机X射线断层扫描技术(electronic computer X-ray tomography technique, CT)或核磁共振成像(nuclear magnetic resonance imaging, MRI)检查确诊。实验组患者均符合《功能性便秘的罗马III标准》^[3]中脑卒中后便秘相关诊断标准。所有患者均为首次发生脑卒中且入院前1 wk排便完全正常, 排除合并严重脏器功能障碍、既往有直肠、结肠器质性病变、伴有其他脑部或脊髓疾病、合并耳聋或认知障碍不能配合治疗以及病情急性加重者。两组患者在性别、年龄、病程以及受教育程度等方面差异无统计学意义($P>0.05$)(表1), 具有可比性。所有患者均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 护理措施: 实验组患者以常规便秘护理措施为基础结合脑卒中后便秘患者的实际临床情况给予综合护理干预, 包括: 健康教育、饮食指导、早期康复运动指导、腹部、脐周及肛门按摩、腹式呼吸指导、定时排便训练、认知功能训练指导(包括: 定向力训练、记忆力训练、注意力训练和言语沟通能力训练)以及心理护理^[4]。

1.2.2 观察指标: 比较两组患者相关因素差异, 分析脑卒中后发生便秘的主要危险因素, 观察实验组患者干预前后便秘症状评分、简易智能精神状态检查量表(mini-mental state examination, MMSE)评分、Barthel生活指数(Barthel index, BI)评分及改良Rankin量表(modified Rankin seale, MRS)评分变化情况。便秘症状评分标准参照《便秘症状及疗效评估》^[5]对患者排便困难, 粪便性状, 排便时间, 排便频度, 腹胀

0 引言

缺血性脑卒中属于突发性脑血液循环障碍性疾病, 多发于中老年人群, 死亡率和致残率均较高。缺血性脑卒中患者发病后易发生便秘, 尤其

表 1 两组患者临床资料比较 ($n = 60$)

分组	性别 $n(\%)$		平均年龄(岁)	平均病程(h)	受教育程度 $n(\%)$			
	男	女			文盲	小学	初中	高中及以上
实验组	37(61.67)	23(38.33)	58.92 ± 8.13	52.33 ± 8.71	9(15.00)	31(51.67)	15(25.00)	5(8.33)
对照组	38(63.33)	22(36.67)	58.27 ± 8.76	51.96 ± 8.58	10(16.67)	32(53.33)	13(21.67)	5(8.33)

表 2 两组患者相关因素比较 ($n = 60$)

分组	不同时期 $n(\%)$			瘫痪 $n(\%)$	MMSE评 分(分)	BI评分 (分)	MRS评 分(分)	使用脱水剂 $n(\%)$	排便时间 固定 $n(\%)$	鼻饲饮食 $n(\%)$
	急性期	恢复期	后遗症期							
实验组	42(70.00) ^b	6(10.00)	12(20.00)	40(66.67) ^b	25.91 ± 3.22 ^b	44.41 ± 23.35 ^b	4.02 ± 0.86 ^b	34(56.67) ^b	18(30.00%) ^b	13(21.67) ^a
对照组	25(41.67)	14(23.33)	21(35.00)	18(30.00)	28.30 ± 2.51	90.06 ± 15.21	3.10 ± 1.22	15(25.00)	45(75.00%)	5(8.33)

^a $P < 0.05$; ^b $P < 0.01$ vs 对照组. MMSE: 简易智能精神状态检查量表; BI: Barthel生活指数; MRS: 改良Rankin量表.

表 3 两组患者干预前后便秘症状评分、MMSE评分、BI评分及MRS评分变化情况比较 (mean ± SD)

时间	便秘症状评分	MMSE评分	BI评分	MRS评分
干预前	11.10 ± 1.83	25.91 ± 3.22	44.41 ± 23.35	4.02 ± 0.86
干预后	2.91 ± 2.33 ^b	28.36 ± 2.40 ^b	89.69 ± 13.28 ^b	2.93 ± 1.17 ^b

^b $P < 0.01$ vs 干预前. MMSE: 简易智能精神状态检查量表; BI: Barthel生活指数; MRS: 改良Rankin量表.

以及下坠、不尽、胀感6方面便秘症状进行评估, 每项0-3分, 分数越高症状越严重, 总分即为便秘症状评分. MMSE评分用于评估认知功能, 包括地点定向力、时间定向力、即刻记忆、注意及计算力、延迟记忆、语言及视空间7个方面30项题目, 受教育年限<4年者总分加2分, 受教育年限为4-8年者加1分, 总分低于25分者判断为存在认知障碍^[6]. BI评分用于评估日常生活活动能力, 包括进食、转移、修饰、入厕、洗澡、平地行走、上下楼梯、穿衣、大小便控制10项内容, 每项0-10分, 总分100分, 分值越高日常生活活动能力越强^[7]. MRS评分标准: 无症状: 0分; 轻度临床症状, 可进行正常工作和生活: 1分; 轻度残疾, 无需日常生活照顾: 2分; 中度残疾, 可独立行走, 部分生活需要照顾: 3分; 中等程度严重残疾, 生活和行走需照顾: 4分; 严重残疾, 长期卧床, 大小便失禁, 需专人照顾: 5分^[8].

统计学处理 使用SPSS17.0统计分析, 用mean ± SD表示计量资料, 采用 t 检验, 用百分比表示计数资料, 采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者相关因素比较 实验组患者急性期、偏瘫、使用脱水剂、鼻饲饮食比例以及MRS评分均明显高于对照组, 差异具有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 实验组MMSE评分、BI评分及排便时间固定比例均明显低于对照组, 差异具有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)(表2).

2.2 实验组患者干预前后便秘症状评分、MMSE评分、BI评分及MRS评分变化情况比较 实验组患者干预后便秘症状评分和MRS评分均明显降低, MMSE评分和BI评分均明显升高, 与干预前比较, 差异具有统计学意义($P < 0.01$)(表3).

3 讨论

便秘是脑卒中患者常见并发症, 国内大量研究表明脑卒中后便秘对患者有较大危害, 其中最明显的是过度排便可导致颅内压升高而加重患者病情, 可引发出血性脑卒中患者再次出血, 同时也对患者的日常生活能力产生较大影响^[9].

本研究对缺血性脑卒中患者中发生便秘和未发生便秘患者的相关因素进行了比较分析,

■应用要点

针对脑卒中患者易发便秘的情况, 采取有效预防措施, 避免急性期、偏瘫、使用脱水剂、鼻饲饮食、排便时间不固定、认知功能障碍、日常生活活动能力降低以及生活质量下降等诱发便秘的主要危险因素出现, 可有效预防便秘发生. 而对于已经发生便秘的患者采取针对性综合护理干预措施临床效果显著, 具有较高临床推广价值.

■同行评价

本文选题实用,虽然创新性一般,但是对临床护理有一定参考价值。

结果显示缺血性脑卒中急性期、偏瘫、使用脱水剂、鼻饲饮食、排便时间不固定、认知功能障碍、日常生活活动能力降低以及生活质量下降均为诱发便秘的主要危险因素,与相关文献报道相似^[10]。其中瘫痪和日常生活能力低下者肢体活动少,运动量不足,导致胃肠蠕动减弱,一方面造成粪便在肠道内停留时间延长,水分被过度重吸收后变干变硬不利于排出^[11];另一方面导致腹压有所降低,排便能力受到影响。因此,注意帮助这类患者时常翻身和更换体位。排便时间不固定者直肠牵张感受器会逐渐减弱对粪便的敏感性,排便时不能形成条件反射,更易发生便秘^[12]。使用脱水剂可导致患者大便干燥,鼻饲饮食影响胃肠蠕动功能,认知功能障碍可影响患者对排便的敏感性,甚至丧失排便意识^[13]。

相关文献报道对缺血性脑卒中患者脑梗死部位与便秘的发生进行了研究,指出梗死位于基底节区的患者更容易发生便秘^[14]。本研究并未对这一危险因素进行明确研究,在之后的临床研究中会对梗死部位等其他相关因素进行深入探讨。

本研究中针对脑卒中后便秘患者的危险因素以及实际临床情况采取综合护理干预取得了良好的临床效果,患者便秘症状、认知功能、日常生活活动能力以及生活质量均有明显改善,表明综合护理干预对治疗脑卒中后便秘具有重要意义。需要注意的是,本研究中特意针对患者认知功能障碍这一特点开展了认知功能训练指导。其中定向力训练能够知道患者逐步掌握时间感,记忆力训练主要提高患者对进食、排便等行为的记忆力,注意力训练通过刺激-反应的方法帮助患者产生排便意识;言语沟通能力训练可提高患者的沟通、理解能力以及主观能动性^[15]。

总之,针对脑卒中患者易发便秘的情况,采取有效预防措施,避免急性期、偏瘫、使用脱水剂、鼻饲饮食、排便时间不固定、认知功能

障碍、日常生活活动能力降低以及生活质量下降等诱发便秘的主要危险因素出现,可有效预防便秘发生。而对于已经发生便秘的患者采取针对性综合护理干预措施临床效果显著,具有较高临床推广价值。

4 参考文献

- 1 侯淑敏, 陈长香. 脑卒中患者便秘的原因分析及护理进展. 护理实践与研究 2012; 9: 110-112
- 2 中华医学会神经病学分会神经康复学组, 中华医学会神经病学分会脑血管病学组, 卫生部脑卒中筛查与防治工程委员会办公室. 中国脑卒中康复治疗指南(2011完全版). 中国康复理论与实践 2012; 18: 301-318
- 3 张丹, 夏志伟. 功能性便秘的罗马Ⅲ标准. 中国医刊 2008; 43: 63-64
- 4 代怀静, 王小静, 韩福红. 护理干预对脑卒中患者便秘及预后的影响. 齐鲁护理杂志 2010; 16: 34-35
- 5 中华医学会外科学分会肛肠外科学组. 便秘症状及疗效评估. 中华胃肠外科杂志 2005; 8: 355
- 6 崔杨, 韩雪梅, 邢影, 徐忠信, 杨宏. 缺血性脑血管病轻度认知障碍MoCA与MMSE评估的比较及分析. 吉林大学学报(医学版) 2010; 36: 969-974
- 7 张方, 傅书勇, 王曼, 杜琨. 采用SS-QOL测量中国急性缺血性脑卒中患者生存质量和BI结果值的相关性研究. 中国药物经济学 2010; 24: 35-40
- 8 周思远, 刘婷, 覃海知, 李瑛. 临床常用便秘诊断和疗效评价量表的特征. 世界华人消化杂志 2013; 21: 2611-2616
- 9 缪虹, 赵杨. 卒中后便秘研究进展. 辽宁中医药大学学报 2011; 13: 257-259
- 10 Ingeman A, Andersen G, Hundborg HH, Svendsen ML, Johnsen SP. In-hospital medical complications, length of stay, and mortality among stroke unit patients. *Stroke* 2011; 42: 3214-3218 [PMID: 21868737 DOI: 10.1161/STROKEAHA.110.610881]
- 11 刘瑞华, 王素娟, 王尚书, 陈长香, 侯淑敏. 饮食干预治疗脑卒中后便秘的疗效. 中国老年学杂志 2013; 33: 2352-2353
- 12 迟玉花, 赵刚. 功能性便秘动力学改变与情志因素的相关性. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1685-1689
- 13 陈建伟, 许红梅, 陈晓琳, 马学英, 马敬霞, 徐文香. 早期认知功能训练对脑卒中康复的作用. 中华护理杂志 2012; 47: 201-203
- 14 Lim YH, Kim DH, Lee MY, Joo MC. Bowel dysfunction and colon transit time in brain-injured patients. *Ann Rehabil Med* 2012; 36: 371-378 [PMID: 22837973 DOI: 10.5535/arm.2012.36.3.371]
- 15 张继华, 王强, 谢家兴, 魏娜, 张红云. 强化认知训练对脑卒中后认知障碍患者日常生活活动能力的影响. 中国康复理论与实践 2012; 18: 778-780

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



胃后壁间质瘤误诊为黄体破裂1例

杨丹, 黄成龙, 邓明明

杨丹, 邓明明, 泸州医学院附属医院消化内科 四川省泸州市 646000

黄成龙, 泸州医学院附属医院口腔医院口腔颌面外科 四川省泸州市 646000

杨丹, 主要从事消化内科的相关研究.

作者贡献分布: 此病例报告主要由杨丹与黄成龙搜集资料; 杨丹撰写文章; 邓明明审核.

通讯作者: 邓明明, 教授, 主任医师, 646000, 四川省泸州市太平街25号, 泸州医学院附属医院消化内科. 793070544@qq.com

收稿日期: 2014-05-22 修回日期: 2014-06-05

接受日期: 2014-06-06 在线出版日期: 2014-08-08

Gastric stromal tumor misdiagnosed as rupture of the corpus luteum: A case report

Dan Yang, Cheng-Long Huang, Ming-Ming Deng

Dan Yang, Ming-Ming Deng, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Cheng-Long Huang, Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Hospital of Stomatology, Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Correspondence to: Ming-Ming Deng, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, 25 Taiping Road, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. 793070544@qq.com

Received: 2014-05-22 Revised: 2014-06-05

Accepted: 2014-06-06 Published online: 2014-08-08

Abstract

Gastric stromal tumor is a rare clinical entity, and that protruding outside the cavity is even more rare. Here we report one case of gastric stromal tumor located on the posterior wall misdiagnosed as rupture of the corpus luteum in a 24-year-old female patient whose chief complaints were abdominal pain for 12 h and pain aggravation for 2 h. After 12 h of treatment, the symptoms did not remit, and she developed palpitation and a blood pressure drop. The blood suctioned was incoagulable during diagnostic abdominocentesis. An initial gynecological diagnosis was rupture of the corpus luteum. However, no lesions were found in the uterus and the accessories during emergency operation, but a lump on the posterior wall of the stomach, protruding outside the cavity, was noted. Postoperative pathology suggested gastric

stromal tumor (moderate risk). Immunohistochemistry revealed CD117 (+) and Dog-1 (+). The patient was discharged from the hospital 8 d after operation.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gastric stromal tumors; Rupture of the corpus luteum

Yang D, Huang CL, Deng MM. Gastric stromal tumor misdiagnosed as rupture of the corpus luteum: A case report. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(22): 3369-3370 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3369.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3369>

摘要

胃间质瘤在临床较为少见, 突向腔外生长的报道更是少见. 现报道胃后壁突向腔外生长的间质瘤破裂出血并误诊为黄体破裂1例. 患者, 女, 24岁, 因中上腹痛12 h, 加重2 h入院, 治疗12 h后, 症状无好转, 并发心慌, 血压下降, 诊断性腹穿抽出不凝血, 妇科诊断为: 黄体破裂? 急诊手术中子宫及附件未见异常, 发现胃体底交界处包块, 突向外侧生长, 术后病理: 胃间质瘤(中度危险). 免疫组织化学: CD117(+), Dog-1(+). 术后8 d治愈出院.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胃间质瘤; 黄体破裂

核心提示: 急腹痛是消化内科常见病之一, 其病因复杂、起病急、变化快, 是消化科临床医生最为棘手的疾病之一. 胃间质瘤在近年来才被得到广泛重视及认可, 医生在实际工作中对其认识有限, 常易导致误诊. 本文旨在通过该病例提高临床医生对该病认识, 提高诊断率.

杨丹, 黄成龙, 邓明明. 胃后壁间质瘤误诊为黄体破裂1例. *世界华人消化杂志* 2014; 22(22): 3369-3370 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/3369.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i22.3369>

■背景资料

既往由于受到诊断手段限制, 胃肠间质瘤在近十余年才被重视. 但由于对其临床认识不足, 在实际工作中往往误诊、漏诊. 超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS), 可显示5层消化道管壁结构, 是诊断GIST较为准确的方法之一.

■同行评议者

袁建业, 副研究员, 上海中医药大学附属龙华医院脾胃病研究所

■ 研发前沿

超声内镜是新兴热门内镜技术,他可清楚分辨消化系统壁内肿瘤的生长层次,判断肿瘤浸润的深度,是诊断消化系黏膜下肿瘤的金标准,明显优于腹部CT等影像学检查。

0 引言

胃肠间质瘤是原发于胃肠道的罕见肿瘤,具有潜在恶性,临床表现多样,较易被漏诊、误诊。现报道我院新近收治的以腹痛为首表现,病程中因肿瘤破裂导致腹腔内出血,误诊为黄体破裂,最后手术确诊为胃间质瘤的妇女病例1例,以提高临床医师对本病的重视。

1 病例报告

女, 24岁, 因中上腹痛12 h, 加重2 h于2013-12-27入院。患者平素月经规律, 末次月经2013-12-10。患者于12 h前突发中上腹痛, 2 h前觉腹痛加重, 并扩散至全腹部, 伴恶心、呕吐、腹胀、身软、乏力, 不伴畏寒、发热、黄疸、心慌、腹泻、呕血、黑便、肛门坠胀、阴道流血流液等。查体: T 36.2 °C, P 114次/min, BP 92/56 mmHg, 皮肤巩膜苍白, 腹丰满, 全腹压痛、反跳痛, 尤以左上腹为甚, 腹部未扪及包块, 移动性浊音阳性, 肠鸣音减弱。彩超示: 盆腹腔积液(约深8.9 cm); 子宫附件未见异常。血常规: NEU $14.77 \times 10^9/L$, HB 140 g/L。肝肾功、血尿淀粉酶、消化系肿瘤标志物均未见异常; 大便隐血、尿HCG阴性。入院诊断为: 腹痛(急性胰腺炎?)。予相应处理12 h后, 患者诉无好转, 并转为以下腹痛为主, 伴心慌, 血压降至82/47 mmHg, 急查HB 80 g/L。立即行诊断性腹腔穿刺, 抽出暗红色不凝血。请妇产科急会诊, 妇科查体: 宫颈举摆痛阳性, 宫体压痛明显, 双附件未扪及明显包块; 妇产科诊断: 黄体破裂? 急诊剖腹探查。术中见盆腔积血约1100 mL, 探查子宫及附件未见异常, 请外科术中会诊, 术中探查肝、胆、胰、脾、横结肠及下腹腔均正常, 胃颜色正常, 打开胃结肠韧带, 发现小网膜囊内血凝块约300 g, 胃体底交界处质硬包块, 突向外侧生长, 蒂长约3 cm, 基底约0.5 cm², 包块约4 cm×4 cm大小, 包块顶部破裂伴活动性出血, 行胃壁肿瘤切除术。术后病理: 胃间质瘤(中度危险)。免疫组织化学: CD117(+), Dog-1(+). 术后8 d治愈出院。

2 讨论

黄体破裂^[1]是妇科常见的急腹症之一, 好发于

14-30岁的年轻女性, 右侧多于左侧, 其发病时间与月经周期有关, 多发生在月经周期的分泌期。黄体可自发破裂, 但临床多见在如外伤、剧烈运动、腹压突然增高、性生活等诱因下破裂。在临床上黄体破裂易误诊为如异位妊娠、急性盆腔炎、尿路结石、卵巢肿瘤蒂扭转、急性阑尾炎等多种急腹症。B超为其主要确诊方法, 必要时可在腹腔镜下确诊。

胃肠间质瘤^[2](gastrointestinal stromal tumors, GIST)是胃肠道最常见的间叶源性肿瘤, 免疫组织化学检测通常为CD117或DOG-1表达阳性。GIST的发病率^[3]低, 仅占消化道肿瘤的1%-3%, 好发于胃(占39%-65%), 腔外生长较腔内生长少见, 主要发病年龄在50-60岁, 多以消化道出血为主要临床表现。所有GIST均有潜在恶性, 生长部位是其预后影响因素, 胃GIST的预后较其他部位GIST好。据其生长方式的不同, 临床表现各异, 腔外生长(即外生性)时多无明显症状, 肿瘤过大可引起局部压迫症状或腹部包块; 腔内生长时多表现为腹部不适感; 肿瘤过大时可出血坏死, 出现消化系出血症状。GIST缺乏特异性临床表现, 多数因体检或肿瘤破裂出血发现, 内窥镜、CT、MRI及PET-CT可帮助其诊断。内窥镜, 尤其是超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS), 可显示5层消化道管壁结构, 是诊断GIST较为准确的方法之一。因GIST多起源于黏膜下层, 所以采用“挖掘式”活检方法可提高活检阳性率。早期诊断, 早期手术是GIST最重要的治疗手段, 伊马替尼辅助治疗可有效改善中高危患者的预后。本例误诊原因分析: (1)医师忽视患者生命体征异常, 对不明原因腹水未及时行诊断性腹腔穿刺; (2)本例消化系出血症状不典型, 大便隐血阴性, 故未考虑消化道肿瘤破裂出血可能; (3)临床医师对该病认识不足, 经验不够。

3 参考文献

- 1 朝格图, 姜晓晶. 卵巢黄体破裂77例临床分析. 大连: 大连医科大学, 2013
- 2 CSCO胃肠间质瘤专家委员会. 中国胃肠间质瘤诊断治疗共识(2013年版). 临床肿瘤学杂志 2013; 11: 1025-1033
- 3 王金泗, 陈晓耕. 170例胃肠间质瘤的临床特征及预后因素分析. 福州: 福建医科大学, 2012

编辑 田滢 电编 闫晋利



■ 同行评价

本病例因为患者为女性, 在排除消化道常见病后主要考虑妇科疾病, 造成误诊。幸及时行剖腹探查明确诊断。本文对病例分析详尽, 有很好的临床指导意义。

《世界华人消化杂志》投稿须知

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期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 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483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 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*, *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。OAJ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42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》,

《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(*International Committee of Medical Journal Editors*)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(*Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals*)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 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

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig。s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P^H, *H. pylori*不能写成HP, $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T, 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*-methylaniline(*N*-甲基乙酰胺), *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。

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应改为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。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值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO₂, 50 mL/L CO₂; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45 × 10⁻⁶; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ²; (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1 000-1 500 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6 347意指6 000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3 614.5 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1 486 800.475 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致谢中. 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.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, E-mail: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象。应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度。研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准。如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 P , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材

料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: $^aP<0.05$, $^bP<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP<0.05$, $^dP<0.01$; 第3套为 $^eP<0.05$, $^fP<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上角注码号。如马连生^[1]报告……, 潘伯荣等^[2-5]认为……;

PCR方法敏感性高^[6-7]。文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊: 序号, 作者(列出全体作者), 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传。读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程。

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcyj.asp>

4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/>

tgxz.pdf。审稿过程平均时间需要14-28天。所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审。

6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 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。

2014年国内国际会议预告

2014-03-12/15

2014年亚太肝病研究协会肝病周(APASL)

会议地点: 澳大利亚

联系方式: <http://apasl2014.com/>

2014-04-05/09

2014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/home/scientists/meetings--workshops/meetings--workshops-calendar.aspx>

2014-04-09/13

2014年第49届欧洲肝病研究协年会(EASL)

会议地点: 英国

联系方式: http://www.easl.eu/_the-international-liver-congress/general-information

2014-04-18/05-20

2014中国超声医学学术大会

会议地点: 北京市

联系方式: <http://www.cuda.org.cn/new/meeting>

2014-04-26/27

中华医学会临床药学会2014年全国学术会议

会议地点: 成都市

联系方式: <http://www.cncscp.org/>

2014-05-04/06

2014年美国消化疾病周(DDW)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.ddw.org/attendees/faqs>

2014-05-16/18

2014第七届世界癌症大会

会议地点: 南京市

联系方式: <http://www.bitlifesciences.com/cancer2014/cn/meeting.asp>

2014-05-23/24

第六届药源性疾病与安全用药中国论坛-消化系统与肝病药物专题研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: adrhuiyi@126.com

2014-05-30/06-03

2014年美国临床肿瘤协会年会(ASCO)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.asco.org/meetings/calendar-events>

2014-06-04/07

2014年第20届国际肝移植协会年会(ILTS)

会议地点: 英国

联系方式: <http://www.ilts.org/meetings/>

2014-06-09/12

2014年第47届欧洲儿科胃肠病、肝病和营养学协会大会(ESPGHAN)

会议地点: 以色列

联系方式: <http://www.espghan2014.org/>

2014-06-18/21

2014年欧洲胃肠与腹部放射学协会肝部成像研讨会(ESGAR)

会议地点: 奥地利

联系方式: <http://www.esgar.org/files/File/ESGAR14>

2014-06-25/28

2014年世界胃肠癌大会(WGIC)

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://worldgicancer.com/WCGI>

2014-06-25/28

2014年第14届欧洲内窥镜手术协会国际大会(EAES)

会议地点: 法国

联系方式: hdimcs@163.com

2014-06-27/28

2014中华医学会肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 上海市

联系方式: lilyjia@163.com

2014-07-26/31

2014年世界移植大会

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.wtc2014.org/>

2014-07-28/30

第3届国际肠胃病学与泌尿学大会

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.omicsgroup.com/gastroenterology-urology-conference-2014/registration.php>

2014-09-05/07

2014年第8届国际肝癌协会大会(ILCA)

会议地点: 日本

联系方式: <http://www.ilca2014.org/>

2014-09-26/30

2014年欧洲临床肿瘤协会年会(ESMO)

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/>

2014-10-18/22

2014年第22届欧洲联合胃肠病学周(UEG)

会议地点: 奥地利

联系方式: <http://www.ueg.eu/week/past-future/future-ueg-week/>

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

白爱平 副教授
江西省南昌大学第一附属医院消化病研究所

崔莲花 副教授
青岛大学医学院公共卫生系

冯志杰 主任医师
河北医科大学第二医院消化内科

傅华群 教授
南昌大学第二附属医院

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

何敏 教授
广西医科大学医学科学实验中心

李正荣 副教授
南昌大学附属第一医院胃肠外科

李涛 副主任医师
北京大学人民医院肝胆外科

刘杰民 副主任医师
贵州省人民医院消化内镜科

刘绍能 主任医师
中国中医科学院广安门医院

林潮双 主任医师
中山大学附属第三医院

吕凌 副教授
江苏省人民医院肝脏外科

彭亮 副主任医师
中山大学附属第三医院感染科

任粉玉 教授
吉林省延边大学附属医院消化内科

汤华 研究员
重庆医科大学感染性疾病分子生物学教育部重点实验室

齐清会 教授
大连医科大学附属第一医院

王刚 副研究员
哈尔滨医科大学附属第一医院

王娅兰 教授
重庆医科大学基础医学院病理教研室

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

吴泰璜 教授
山东省立医院肝胆外科

肖恩华 教授
中南大学湘雅二医院

肖秀英 主治医师
上海交通大学医学院附属仁济医院肿瘤科

薛东波 教授
哈尔滨医科大学附属第一医院

殷正丰 教授
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院

袁红霞 研究员
天津中医药大学

袁建业 副研究员
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

郑鹏远 教授
郑州大学第二附属医院消化科

张宗明 教授
清华大学第一附属医院

周晓武 副主任医师
中国人民解放军空军总医院普外科

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士:

我们谨此郑重通知:依据文献计量学的原理和方法,经研究人员对相关文献的检索、统计和分析,以及学科专家评审,贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系,列出了73个学科的核心期刊表,并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括:题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作,是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动,研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊(光盘版)电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究,进一步改进了核心期刊评价方法,使之更趋科学合理,力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标,选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种,统计到的文献数量共计221177余万篇次,涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审,从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是,该研究成果只是一种参考工具书,主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考,例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等,不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会
代章:





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

