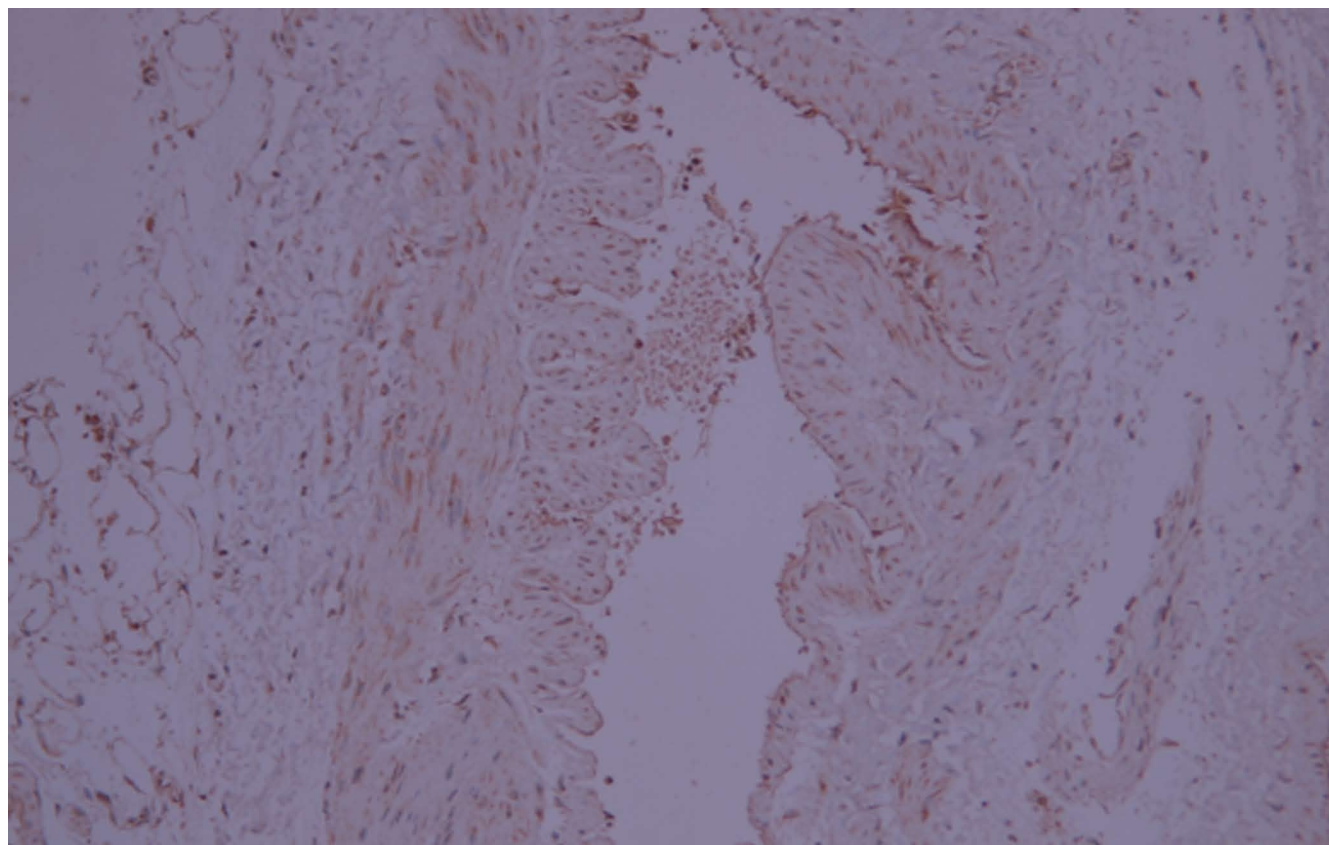


世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 9 月 28 日 第 21 卷 第 27 期 (Volume 21 Number 27)



27/2013

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

《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
杨思凤教授
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
陈洪副教授
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

李国忠教授

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

王俊平教授

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

张志强教授

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

陈凇教授

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

单云峰副主任医师

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
黄国教授
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
吴江锋副教授
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 ● 2013年9月28日 第21卷 第27期 (总第431期)

述 评	2759 代谢综合征与慢性肝病 石毓君, 步宏
基础研究	2765 缬沙坦对门脉高压性胃病大鼠门静脉TGF- β 1和胶原纤维的影响 黄蔚, 钱静蓉 2772 小干扰RNA靶向抑制 <i>DcR3</i> 基因对肝癌细胞凋亡和迁移的影响 苏传丽, 罗殿中, 陈昱, 覃新干
文献综述	2780 肝脏分段解剖学的研究进展 刘巧云, 马心逸, 喻智勇 2787 维生素E对非酒精性脂肪性肝病的疗效及机制的研究进展 舒祥兵, 宋海燕, 季光 2792 微生态制剂与炎症性肠病 张峰睿, 缪应雷 2802 溃疡性结肠炎与肠道菌群的研究进展 刘玉婷, 郝微微, 历娜娜, 温红珠, 曹丽静, 李佳 2808 超声内镜在消化系黏膜下病变中的应用 邢珺, 张开光
研究快报	2815 慢传输型便秘大鼠胃肠黏膜5-羟色胺3受体的表达 索静宇, 徐华, 毕淑英, 张旭, 郑倩 2820 转录因子ETS1 RNA干扰质粒的构建及其稳定转染胰腺癌细胞株的建立 王钟晗, 王彩莲, 陈蓉, 周旻, 陈岩
临床经验	2826 胃癌恶性腹水患者的临床特征及预后分析223例 张慧卿, 谢梅, 何波, 芦珊, 万以叶, 宋荣峰 2832 RhoGDI2在胃癌中的原位表达及与临床病理特征的相关性 石千, 田德安, 何星星, 廖家智 2838 PHB1 mRNA在肝硬化及肝癌组织中的表达 黄东风, 黄介飞, 张弘, 黄小平, 魏群, 李峰 2843 中晚期肝癌患者行TACE治疗后CT灌注参数与生存期的相关性分析41例 何二霞, 聂忠仕, 朱明月, 林海峰, 王琳, 张英辉, 李孟森 2849 超声造影灌注诊断多种类型肝转移癌55例 张国栋, 邹单东, 王鹤, 何珏, 黄东 2854 HLA-DRB1*08/16等位基因与广西肝癌家族聚集性的相关性 刘芳, 李国坚, 吴继周, 吴健林, 陈务卿, 马莎莎, 胡蝶飞, 宁秋悦, 鹿裕 2860 胆道再次手术时胆管癌的诊断和治疗 李潼, 柴新群, 李锦锦, 吴军卫, 孟元普 2865 胰腺癌中KGF的表达及其临床病理学意义 金益峰, 周建平, 盛伟伟, 张丹华, 董明 2870 结直肠癌 <i>AREG</i> 基因的表达与甲基化水平 吴涛, 赵滢, 李丹, 何红梅, 李娜, 张阳, 赵丹懿 2875 MicroRNA-214在结直肠癌中的表达及其对细胞增殖的影响 张丽静, 吴晨鹏, 张志勇, 刘博, 樊智彬, 裴永彬, 赵增仁 2881 直肠癌Dixon手术后吻合口瘘相关因素的Logistic分析289例 张展志, 于军辉, 刘刚, 廖代祥, 罗成华 2886 大肠息肉癌变的相关因素及内镜、病理特征 张海涛, 赵秀珍, 孙浩, 李凯 2890 儿童消化系重复畸形诊治19例 李慧, 殷宪敏, 崔红, 张爱华, 孟斌
病例报告	2894 Felty综合征合并肝硬化1例 俞蕾敏, 陈锦龙, 吕宾

附 录	I - V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2013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	2764 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 2771 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 2786 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 2807 《世界华人消化杂志》参考文献要求 2814 《世界华人消化杂志》修回稿须知 2825 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 2831 《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 2848 《世界华人消化杂志》栏目设置 2864 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 2874 《世界华人消化杂志》外文字符标准 2880 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
封面故事	黄蔚, 钱静蓉. 缬沙坦对门脉高压性胃病大鼠门静脉TGF- β 1和胶原纤维的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2765-2771 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2765.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2765
本期责任人	编务 车鑫鑫; 送审编辑 鲁亚静, 闫晋利; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范 审核编辑部主任 田滢; 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 2013-09-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

程英升, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心

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

王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科

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

张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部

田滢, 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

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 Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart

Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

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)》,《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68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有

World Chinese Journal of Digestology

September 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 27

EDITORIAL	2759 Metabolic syndrome and chronic liver diseases <i>Shi YJ, Bu H</i>
BASIC RESEARCH	2765 Treatment with valsartan reduces TGF- β 1 expression and collagen fiber content in the portal vein of rats with portal hypertensive gastropathy <i>Huang W, Qian JR</i> 2772 SiRNA-mediated inhibition of <i>DcR3</i> gene expression induces apoptosis and reduces migration of hepatocellular carcinoma HepG2 cells <i>Su CL, Luo DZ, Chen G, Qin XG</i>
REVIEW	2780 Advances in research of segmental anatomy of the liver <i>Liu QY, Ma XY, Yu ZY</i> 2787 Efficacy and mechanism of action of vitamin E in treatment of nonalcoholic fatty liver disease <i>Shu XB, Song HY, Ji G</i> 2792 Microbial ecological agents and inflammatory bowel disease <i>Zhang FR, Miao YL</i> 2802 Ulcerative colitis and intestinal flora <i>Liu YT, Hao WW, Li NN, Wen HZ, Cao LJ, Li J</i> 2808 Endoscopic ultrasonography for gastrointestinal submucosal lesions <i>Xing J, Zhang KG</i>
RAPID COMMUNICATION	2815 Expression of 5-hydroxytryptamine 3 receptor in the gastrointestinal tract of rats with slow transit constipation <i>Suo JY, Xu H, Bi SY, Zhang X, Zheng Q</i> 2820 Construction of plasmids carrying shRNAs targeting the <i>ETS1</i> gene and their stable transfection of PANC-1 cell line <i>Wang ZH, Wang CL, Chen R, Zhou M, Chen Y</i>
CLINICAL PRACTICE	2826 Clinicopathological features and prognostic factors of gastric cancer patients with malignant ascites: Analysis of 223 cases <i>Zhang HQ, Xie M, He B, Lu S, Wan YY, Song RF</i> 2832 Clinicopathological significance of expression of RhoGDI2 in gastric carcinoma <i>Shi G, Tian DA, He XX, Liao JZ</i> 2838 Expression of PHB1 mRNA in hepatocellular carcinoma and cirrhosis <i>Huang DF, Huang JF, Zhang H, Huang XP, Wei Q, Li F</i> 2843 Correlation between computer tomography perfusion parameters and survival in patients with middle/advanced stage liver cancer after TACE: Analysis of 41 cases <i>He EX, Nie ZS, Zhu MY, Lin HF, Wang L, Zhang YH, Li MS</i> 2849 Value of contrast-enhanced ultrasound in diagnosis of liver metastases: Analysis of 55 cases <i>Zhang GD, Zou DD, Wang H, He Y, Huang D</i> 2854 Association between HLA-DRB1*08/16 alleles and familial aggregation of hepatocellular carcinoma in Guangxi <i>Liu F, Li GJ, Wu JZ, Wu JL, Chen WQ, Ma SS, Hu DF, Ning QY, Pang Y</i> 2860 Diagnosis and treatment of cholangiocarcinoma in bile duct reoperation <i>Li T, Chai XQ, Li JJ, Wu JW, Meng YP</i> 2865 Clinicopathological significance of expression of keratinocyte growth factor protein in pancreatic ductal adenocarcinoma <i>Jin YF, Zhou JP, Sheng WW, Zhang DH, Dong M</i> 2870 Expression and promoter methylation of <i>AREG</i> in colorectal neoplasms <i>Wu T, Zhao Y, Li D, He HM, Li N, Zhang Y, Zhao DY</i> 2875 Expression of miR-214 in colorectal cancer and effect of miR-214 overexpression on colorectal cancer cell proliferation <i>Zhang LJ, Wu CP, Zhang ZY, Liu B, Fan ZB, Pei YB, Zhao ZR</i> 2881 Risk factors for anastomotic fistula after Dixon operation for rectal cancer: Analysis of 289 cases <i>Zhang ZZ, Yu JH, Liu G, Liao DX, Luo CH</i> 2886 Endoscopic and pathological features of colorectal polyps and risk factors for their malignant transformation <i>Zhang HT, Zhao XZ, Sun H, Li K</i> 2890 Treatment of digestive duplication in children: Our experience with 19 cases <i>Li H, Yin XM, Cui H, Zhang AH, Meng B</i>

CASE REPORT	2894 Felty's syndrome with liver cirrhosis: Report of one case and review of the literature <i>Yu LM, Chen JL, Lv B</i>
APPENDIX	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2013
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
COVER	<i>Huang W, Qian JR</i> . Effects of valsartan on portal hypertensive gastropathy rats of portal vein TGF- β 1 and collagen fibers. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2013; 21(27): 2765-2771 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2765.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2765
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: <i>Xin-Xin Che</i> Review Editor: <i>Ya-Jing Lu, Jin-Li Yan</i> Electronic Page Editor: <i>Ya-Jing Lu</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Peng Guo</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</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 September 28, 2013

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

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

EDITOR-IN-CHIEF

Ying-Sheng Cheng, Professor, Medical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, 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 Pathology,

Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, 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

Ying Tian, 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

Fax: +86-10-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai,

Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpg@baishideng.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 68 Yuan for each issue

RMB 2448 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved. 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 this journal represent the viewpoints of the authors except where indicated otherwise.

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.

代谢综合征与慢性肝病

石毓君, 步宏

石毓君, 四川大学华西医院, 卫生部移植工程与移植免疫重点实验室 四川省成都市 610041

步宏, 四川大学华西医院病理科 四川省成都市 610041

石毓君, 副研究员, 硕士研究生导师, 主要从事移植病理学、肝细胞再生等研究.

国家自然科学基金资助项目, No. 81170424

作者贡献分布: 石毓君负责查阅文献和文章的撰写; 步宏协助指导和文章修改.

通讯作者: 石毓君, 副研究员, 610041, 四川省成都市高新区科园4路1号, 四川大学华西医院, 卫生部移植工程与移植免疫重点实验室. shiyujun@scu.edu.cn

收稿日期: 2013-05-27 修回日期: 2013-07-05

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-09-28

Metabolic syndrome and chronic liver diseases

Yu-Jun Shi, Hong Bu

Yu-Jun Shi, Key Laboratory of Transplant Engineering and Transplant Immunology, Ministry of Health, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Hong Bu, Department of Pathology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Supported by: Natural Science Foundation of China, No. 81170424

Correspondence to: Yu-Jun Shi, Associate Professor, Key Laboratory of Transplant Engineering and Transplant Immunology, Ministry of Health, West China Hospital, Sichuan University, 1 Keyuan Si Road, Gaoxin District, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. shiyujun@scu.edu.cn

Received: 2013-05-27 Revised: 2013-07-05

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-09-28

Abstract

Drastic changes in diet and lifestyle as well as rapid population aging in China have made the morbidity of metabolic syndrome (MetS) quite close to the levels of industrialized countries. MetS is one of the highest risk factors for cardiovascular diseases; accumulating epidemiological data also show that MetS is an independent risk factor of the development of chronic liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. The synergism between MetS and HBV infection is considered to robustly increase the morbidity and mortality of end-stage liver diseases, and this needs particular attention because of the huge HBV-positive

population in China. The purpose of this review is to discuss the association between MetS and the development of end-stage liver diseases.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Metabolic syndrome; Non-alcoholic fatty liver disease; Chronic liver cirrhosis; Hepatocellular carcinoma

Shi YJ, Bu H, Metabolic syndrome and chronic liver diseases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(27): 2759-2764 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2759.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2759>

摘要

饮食结构和生活方式的剧变以及日益突出的人口老龄化, 使我国代谢综合征(metabolic syndrome, MetS)发病率已相当接近工业化国家水平. MetS是罹患心脑血管疾病的高危因素, 而越来越多的流行病学资料显示MetS还是导致慢性肝硬化及肝细胞肝癌的独立危险因素. 加之我国HBV携带者人数众多, 如果合并MetS势必将加大患者发生终末期肝病的风 险, 尤其需要引起高度重视. 本文将就MetS与慢性终末期肝病的相关性进行阐述.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 代谢综合征; 非酒精性脂肪性肝病; 慢性肝硬化; 肝细胞肝癌

核心提示: 代谢综合征(metabolic syndrome, MetS)是慢性终末期肝病的独立危险因素, 其发病率在我国已接近工业化国家和地区, 加之乙型肝炎病毒(hepatitis B virus)的高携带率, 使罹患慢性肝病的高风险人口基数相当惊人. 有必要开展大规模临床试验并加强基础研究, 阐明MetS患者发生慢性肝病的高危因素并深入探讨其机制, 尤其是本身具有基础肝病者.

石毓君, 步宏. 代谢综合征与慢性肝病. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2759-2764 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2759.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2759>

■背景资料

越来越多的临床研究发现MetS是慢性终末期肝病的独立危险因素. 随着人口老龄化和饮食结构的改变, 我国居民罹患MetS的人口比例已相当接近欧美工业化国家水平, MetS在导致国民慢性终末期肝病中的作用需要得到足够重视.

■同行评议者

唐南洪, 教授, 福建医科大学附属协和医院肝胆外科研究所

■ 研发前沿

本文介绍了MetS的定义和流行病学资料,重点综述了MetS作为慢性终末期肝病的独立危险因素的临床研究证据,简要介绍了MetS导致慢性终末期肝病的机制及其干预措施。

0 引言

多种原因可导致肝细胞损伤,因肝细胞本身再生能力极强,一些急性损伤可通过肝再生短期内使肝细胞数量和功能完全恢复^[1-3]。乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)或丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染、长期肝毒性物质(如酒精)暴露等,肝脏遭受持续性损伤,则常发展为慢性进行性肝病。至终末期,多表现为肝纤维化、肝硬化甚至原发性肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)。HBV的持续感染和迁延不愈是引起国人肝病慢性进行性发展及HCC的最主要因素^[4-6]。而在欧美工业化国家,HCV感染是引起慢性终末期肝病的首要原因,但在美国仅约半数HCC与病毒感染或长期酗酒有关,另有20%-50%HCC病因不清^[7]。越来越多的大样本临床试验发现,与病毒感染并无直接关联的众多因素可能是肝硬化及HCC发生的独立危险因素。其中最为重要的就是代谢综合征(metabolic syndrome, MetS)^[8-14]。

1 代谢综合征的定义及流行病学

MetS是多种代谢成分异常聚集的病理状态,是一组复杂的代谢紊乱症候群,临床表现为中心性肥胖、血压升高、糖耐量降低或糖尿病、血脂水平紊乱,是导致糖尿病(diabetes mellitus, DM)、心血管疾病(cardiovascular diseases, CVD)的危险因素。随着研究的深入,目前MetS涵盖的范畴越来越多,还包括多囊卵巢综合征、高胰岛素血症或高胰岛素原血症、高纤维蛋白原血症和纤溶酶原激活物抑制物-1增高、高尿酸血症、内皮细胞功能紊乱-微量白蛋白尿和炎症等。胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)可能是MetS的最主要原因。IR指正常数量的胰岛素不足以产生对脂肪细胞、肌肉细胞和肝细胞正常的胰岛素响应的状况,故MetS又可称为“胰岛素抵抗综合征”^[15,16]。2005年国际糖尿病联盟(International Diabetes Federation, IDF)颁布了MetS诊断标准:中心性肥胖(西方男性和女性腰围分别 ≥ 94 cm和 ≥ 80 cm,华人男性和女性腰围分别 ≥ 90 cm和 ≥ 80 cm)且符合以下2项者,(1)高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)-C:男性 <1.04 mmol/L、女性 <1.29 mmol/L,或已接受相应治疗;(2)TG >1.7 mmol/L或已接受相应治疗;(3)血压 $\geq 130/85$ mmHg,或已接受相应治疗;(4)空腹血糖 ≥ 5.6 mmol/L,或此前已诊断为2型糖尿病。根据上述标准,美国20岁以上成年人中约有40%可诊断为MetS患者,男性略多

于女性^[17]。在饮食结构和生活方式骤变,人口老龄化日益突出的当下,我国MetS患者人数骤升。中国疾控中心2008年报道为6000万例,中华医学会糖尿病分会2008年对14省市调查显示,男女性患病率分别为16.7%和11.7%,而WHO数据显示香港地区发病率更是高达21%。

MetS受累器官众多,非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)被认为是MetS的肝脏组份(NAFLD is the hepatic component of metabolic syndrome)。综合多个中心发表的数据,工业化国家和地区(其中一个数据来自上海市)NAFLD患者已超过成年人口的1/3,位居各种肝病的首位^[18-20],也是导致慢性终末期肝病的最重要原因^[21]。中国内分泌协会近期报道,国人NAFLD患病率约为15%-30%^[22]。越来越多的证据表明,美国的那些20%-50%病因不清的HCC患者就大多由NAFLD及其继发的非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)引起。NASH引起的终末期肝病是目前美国肝移植的第3位原因,预计到2020年将成为肝移植的首要原因^[23,24]。

2 代谢综合征是肝硬化的独立危险因素

NAFLD如合并病毒感染将加速病情进展。30%-70%的慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)患者伴有肝脂肪变,其进展为肝硬化的速度加快,同时对聚乙二醇干扰素和利巴韦林治疗的病毒学应答明显降低,与HCV基因型无关^[25]。基因1型和4型HCV感染者,IR与高病毒载量和严重的肝硬化相关;基因3型HCV则可直接导致肝脂肪变^[26]。国人终末期肝病90%以上为HBV相关性^[27],MetS是否参与了慢性肝硬化发生发展呢?来自杭州^[28]和台湾^[29]的两项大规模临床研究观察了慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)和MetS的关系。在杭州($n = 7437$)和台湾($n = 53528$)的HBsAg阳性者中的MetS患病率分别为11.5%和12.6%,略低于对照人群。肝脂肪变与体质指数(body mass index, BMI)、腰围、糖尿病和血脂异常等多个MetS指标相关,而病毒因素(HBeAg状态和HBV DNA载量)并不是CHB患者肝脂肪变发生的危险因素。CHB似乎并不增加患MetS的风险,那么MetS是否增加CHB患者肝纤维化的风险呢?杭州的试验发现伴MetS的CHB患者51%出现“可能的肝硬化”,无MetS者仅为29%;“很可能的肝硬化”在有和无MetS者中分别为24%和11%。在接受肝活检的

病例中, 伴MetS者39%为肝硬化, 而无MetS者仅为11%。香港中文大学通过对1466例CBH患者进行前瞻性队列研究也证实了MetS是CBH患者肝硬化的独立危险因素, 伴发MetS者罹患肝硬化的风险更高, MetS组分越多者肝硬化的风险越大^[30]。

3 代谢综合征与HCC发生发展密切相关

美国近期开展的一项临床试验中, 纳入了16448例HCC患者(有效病例数为3649)和195953例健康对照, 结果显示HCC患者中MetS发病率明显高于普通人群(37.1% vs 17.1%), 校正多因素回归分析表明MetS显著增加了罹患HCC的风险^[31]。北欧一项纳入578700例成年人的前瞻性试验中发现, BMI、血糖水平以及MetS综合评分(composite MS score)与HCC发生率成正相关^[32]。人们已经注意到IR或MetS与HCV感染相关HCC密切相关^[33,34]。国内东方肝胆外科医院最近报道, 在179例HBV相关HCC患者中, 其平均BMI、血糖、胰岛素水平和胰岛素抵抗明显高于对照组^[35]。有报道指出肥胖使罹患HCC的风险增加2-5倍, 远高于肥胖对其他肿瘤的影响^[36]; 而糖尿病则能使该风险增加一倍。台湾的一个研究报道甚至认为肥胖与糖尿病能成百倍地增加HBV/HCV感染者罹患HCC的风险^[37]。此外, 多项临床试验还证实了MetS中的多个独立指标(如尿酸水平), 与肝硬化和HCC的发生发展密切相关^[38,39]。MetS患者发生HCC时可能并无明显的肝硬化改变^[40-42]。MetS甚至可以影响HCC患者的预后, 伴MetS者发生肿瘤转移、复发的可能性增大, 其原因可能与浸润转移相关信号通路的激活有关。可见, 以MetS为主的多种复杂因素参与了肝病慢性进行性过程, 与HCC发生、发展及预后密切相关。

4 代谢综合征致肝细胞损伤机制及干预

MetS的肝损伤主要表现为NAFLD及NASH, 随着病程进展, 肝细胞发生脂肪变性, 严重者出现肝细胞坏死, 进而导致坏死性炎症, 肝细胞代偿性增殖, 纤维组织增生, 肝脏组织结构被破坏重构, 最后发展为肝纤维化甚至HCC^[43]。人们普遍用所谓“二次打击”甚至“多重打击”学说来解释NAFLD^[44-47]。肝细胞脂肪变性, 饱和和游离脂肪酸(free fatty acids, FFA)、游离胆固醇(free cholesterol, FC)、超长链多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid, PUFA)等过度沉积; 由于

脂肪变性的肝细胞活力下降, 产生的氧化代谢产物增多引发氧化应激, 直接或间接地激活JNK信号通路或者线粒体/溶酶体细胞死亡通路, 使得脂肪变性的肝细胞发生坏死; 进而肝脏内非实质细胞(Kupffer细胞、肝星状细胞、内皮细胞等)活化, 分泌大量细胞因子或炎症介质, 肝组织出现炎症、坏死甚至纤维化。事实上, MetS时肝细胞还受到肝外有害因素的攻击。内脏脂肪被认为是肿瘤坏死因子- α 、巨噬细胞趋化蛋白(macrophage chemoattractant protein-1, MCP-1)等炎症介质的来源。此外, 循环中的淋巴细胞释放的大量炎症介质以及肠源性内毒素等都可能通过先天性免疫系统, 参与肝细胞损伤。

MetS所致肝损伤的治疗仍然缺乏特异有效的手段, 目前主要采取系统性治疗方案, 如减轻质量、体育锻炼、改变饮食习惯、控制血糖、改善胰岛素抵抗、降血脂等。此外, 平衡肝细胞脂代谢、抑制氧化应激反应、抑制炎症反应、改善肠道菌群等的策略也成为研究热点^[44,48-53]。

5 结论

肝脏通常仅仅被看作是MetS的靶器官。然而, 肝脏是糖、脂肪、蛋白质3大营养物质的代谢中心。肝细胞功能的异常将直接导致多种营养物质的代谢障碍。IR是MetS的核心事件, 其本身就包括了肝细胞自身IR: 肝细胞表面胰岛素受体(insulin receptor, InsR)下调, 合成存储糖原能力下降进而导致血糖升高。因此肝细胞的病变也极可能是引起MetS的重要原因^[54,55]。NASH甚至被看作是MetS的使动因素^[56]。肝脏在MetS发生发展中的作用目前还知之甚少, 值得深入探讨。

在饮食结构、生活方式发生巨大变化和人口老龄化日益突出的当下, 我国MetS患者人数激增, 单独罹患2型糖尿病、高血压、血脂紊乱的人口数量均超过1亿例。近年来美国HCC发病率并未随着HCV感染者数量的下降而下降, 反而逐年上升, MetS成为其中最主要原因。我国MetS发病率已相当接近工业化国家水平, 加之HBV感染者人数众多, 这些高危因素的共同存在使罹患慢性肝病的高风险人口基数相当惊人。目前国内已开展的临床试验纳入病例数还较少, 尤其对无病毒感染的MetS患者发生慢性肝病的重视程度还非常薄弱。有必要开展大规模的临床试验和加强基础研究, 阐明MetS患者发生慢性肝病的高危因素并深入探讨其机制, 尤其是本身具有基础肝病者。

■ 相关报道

国外关于MetS所致慢性肝病研究报道较多。国内范建高等于第三届全国肝病治疗进展与临床药理学学术研讨会(2009年)上介绍了《代谢综合征、非酒精性脂肪性肝病与慢性乙型肝炎》, 2013年在中华肝脏病杂志发表了《加强代谢综合征与肝病关系及其对策的研究》。

■创新盘点

已有不少研究性论文报道了MetS与慢性终末期肝病的相关性,本文首次对这些报道进行了综述,并结合国内研究现状,介绍了MetS合并乙型肝炎病毒感染对慢性终末期肝病的影响。

6 参考文献

- 1 Michalopoulos GK, DeFrances MC. Liver regeneration. *Science* 1997; 276: 60-66 [PMID: 9082986 DOI: 10.1126/science.276.5309.60]
- 2 Taub R. Liver regeneration: from myth to mechanism. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004; 5: 836-847 [PMID: 15459664 DOI: 10.1038/nrm1489]
- 3 Fausto N. Liver regeneration and repair: hepatocytes, progenitor cells, and stem cells. *Hepatology* 2004; 39: 1477-1487 [PMID: 15185286 DOI: 10.1002/hep.20214]
- 4 Yu MC, Yuan JM. Environmental factors and risk for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2004; 127: S72-S78 [PMID: 15508106 DOI: 10.1016/j.gastro.2004.09.018]
- 5 Merican I, Guan R, Amarapuka D, Alexander MJ, Chutaputti A, Chien RN, Hasnain SS, Leung N, Lesmana L, Phiet PH, Sjalfoellah Noer HM, Sollano J, Sun HS, Xu DZ. Chronic hepatitis B virus infection in Asian countries. *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15: 1356-1361 [PMID: 11197043 DOI: 10.1046/j.1440-1746.2000.0150121356.x]
- 6 Tsai JF, Jeng JE, Ho MS, Chang WY, Hsieh MY, Lin ZY, Tsai JH. Effect of hepatitis C and B virus infection on risk of hepatocellular carcinoma: a prospective study. *Br J Cancer* 1997; 76: 968-974 [PMID: 9328161 DOI: 10.1038/bjc.1997.493]
- 7 Davila JA, Morgan RO, Shaib Y, McGlynn KA, El-Serag HB. Hepatitis C infection and the increasing incidence of hepatocellular carcinoma: a population-based study. *Gastroenterology* 2004; 127: 1372-1380 [PMID: 15521006 DOI: 10.1053/j.gastro.2004.07.020]
- 8 Rosmorduc O. Relationship between hepatocellular carcinoma, metabolic syndrome and non-alcoholic fatty liver disease: which clinical arguments? *Ann Endocrinol (Paris)* 2013; 74: 115-120 [PMID: 23597944 DOI: 10.1016/j.ando.2013.02.008]
- 9 Turati F, Talamini R, Pelucchi C, Polesel J, Franceschi S, Crispo A, Izzo F, La Vecchia C, Boffetta P, Montella M. Metabolic syndrome and hepatocellular carcinoma risk. *Br J Cancer* 2013; 108: 222-228 [PMID: 23169288 DOI: 10.1038/bjc.2012]
- 10 Vullierme MP, Paradis V, Chirica M, Castaing D, Belghiti J, Soubrane O, Barbare JC, Farges O. Hepatocellular carcinoma--what's new? *J Visc Surg* 2010; 147: e1-e12 [PMID: 20595072 DOI: 10.1016/j.jvisurg.2010.02.003]
- 11 Takamatsu S, Noguchi N, Kudoh A, Nakamura N, Kawamura T, Teramoto K, Igari T, Arii S. Influence of risk factors for metabolic syndrome and non-alcoholic fatty liver disease on the progression and prognosis of hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2008; 55: 609-614 [PMID: 18613418]
- 12 Siegel AB, Zhu AX. Metabolic syndrome and hepatocellular carcinoma: two growing epidemics with a potential link. *Cancer* 2009; 115: 5651-5661 [PMID: 19834957 DOI: 10.1002/cncr.24687]
- 13 Farges O, Ferreira N, Dokmak S, Belghiti J, Bedossa P, Paradis V. Changing trends in malignant transformation of hepatocellular adenoma. *Gut* 2011; 60: 85-89 [PMID: 21148580 DOI: 10.1136/gut.2010.222109]
- 14 Faulds MH, Dahlman-Wright K. Metabolic diseases and cancer risk. *Curr Opin Oncol* 2012; 24: 58-61 [PMID: 22123235 DOI: 10.1097/CCO.0b013e32834e0582]
- 15 Gallagher EJ, Leroith D, Karnieli E. The metabolic syndrome--from insulin resistance to obesity and diabetes. *Med Clin North Am* 2011; 95: 855-873 [PMID: 21855696 DOI: 10.1016/j.mcna.2011.06.001]
- 16 Kassi E, Pervanidou P, Kaltsas G, Chrousos G. Metabolic syndrome: definitions and controversies. *BMC Med* 2011; 9: 48 [PMID: 21542944 DOI: 10.1186/1741-7015-9-48]
- 17 Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, Fruchart JC, James WP, Loria CM, Smith SC. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* 2009; 120: 1640-1645 [PMID: 19805654 DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644]
- 18 Bedogni G, Miglioli L, Masutti F, Tiribelli C, Marchesini G, Bellentani S. Prevalence of and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease: the Dionysos nutrition and liver study. *Hepatology* 2005; 42: 44-52 [PMID: 15895401]
- 19 Minervini MI, Ruppert K, Fontes P, Volpes R, Vizzini G, de Vera ME, Gruttadauria S, Miraglia R, Pipitone L, Marsh JW, Marcos A, Gridelli B, Demetris AJ. Liver biopsy findings from healthy potential living liver donors: reasons for disqualification, silent diseases and correlation with liver injury tests. *J Hepatol* 2009; 50: 501-510 [PMID: 19155086 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.10.030]
- 20 Fan JG, Zhu J, Li XJ, Chen L, Lu YS, Li L, Dai F, Li F, Chen SY. Fatty liver and the metabolic syndrome among Shanghai adults. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 1825-1832 [PMID: 16336439 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2005.04058.x]
- 21 McCullough AJ. Epidemiology of the metabolic syndrome in the USA. *J Dig Dis* 2011; 12: 333-340 [PMID: 21091931 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2010.00469.x]
- 22 Gao X, Fan JG; Study Group of Liver and Metabolism, Chinese Society of Endocrinology. The Diagnosis and Management of Non-alcoholic Fatty Liver Disease and Related Metabolic Disorders: Consensus by the Study Group of Liver and Metabolism, Chinese Society of Endocrinology. *J Diabetes* 2013 Apr 8. [Epub ahead of print] [PMID: 23560695 DOI: 10.1111/1753-0407.12056]
- 23 Starley BQ, Calcagno CJ, Harrison SA. Nonalcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma: a weighty connection. *Hepatology* 2010; 51: 1820-1832 [PMID: 20432259 DOI: 10.1002/hep.23594]
- 24 Rosmorduc O, Fartoux L. HCC and NASH: how strong is the clinical demonstration? *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2012; 36: 202-208 [PMID: 22326764 DOI: 10.1016/j.clinre.2011.12.011]
- 25 El-Zayadi AR, Anis M. Hepatitis C virus induced insulin resistance impairs response to anti viral therapy. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 212-224 [PMID: 22294824 DOI: 10.3748/wjg.v18.i3.212]
- 26 Moucari R, Asselah T, Cazals-Hatem D, Voitot H, Boyer N, Ripault MP, Sobesky R, Martinot-Peignoux M, Maylin S, Nicolas-Chanoine MH, Paradis V, Vidaud M, Valla D, Bedossa P, Marcellin P. Insulin resistance in chronic hepatitis C: association with genotypes 1 and 4, serum HCV RNA level,

- and liver fibrosis. *Gastroenterology* 2008; 134: 416-423 [PMID: 18164296 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.11.010]
- 27 Lim YS, Kim WR. The global impact of hepatic fibrosis and end-stage liver disease. *Clin Liver Dis* 2008; 12: 733-746, vii [PMID: 18984463 DOI: 10.1016/j.cld.2008.07.007]
 - 28 Luo B, Wang Y, Wang K. Association of metabolic syndrome and hepatitis B infection in a Chinese population. *Clin Chim Acta* 2007; 380: 238-240 [PMID: 17316590 DOI: 10.1016/j.cca.2007.01.012]
 - 29 Jan CF, Chen CJ, Chiu YH, Chen LS, Wu HM, Huang CC, Yen MF, Chen TH. A population-based study investigating the association between metabolic syndrome and hepatitis B/C infection (Keelung Community-based Integrated Screening study No. 10). *Int J Obes (Lond)* 2006; 30: 794-799 [PMID: 16404404 DOI: 10.1038/sj.ijo.0803204]
 - 30 Wong GL, Wong VW, Choi PC, Chan AW, Chim AM, Yiu KK, Chan HY, Chan FK, Sung JJ, Chan HL. Metabolic syndrome increases the risk of liver cirrhosis in chronic hepatitis B. *Gut* 2009; 58: 111-117 [PMID: 18832522 DOI: 10.1136/gut.2008.157735]
 - 31 Welzel TM, Graubard BI, Zeuzem S, El-Serag HB, Davila JA, McGlynn KA. Metabolic syndrome increases the risk of primary liver cancer in the United States: a study in the SEER-Medicare database. *Hepatology* 2011; 54: 463-471 [PMID: 21538440 DOI: 10.1002/hep.24397]
 - 32 Borena W, Strohmaier S, Lukanova A, Bjørge T, Lindkvist B, Hallmans G, Edlinger M, Stocks T, Nagel G, Manjer J, Engeland A, Selmer R, Häggström C, Tretli S, Concini H, Jonsson H, Stattin P, Ulmer H. Metabolic risk factors and primary liver cancer in a prospective study of 578,700 adults. *Int J Cancer* 2012; 131: 193-200 [PMID: 21805476 DOI: 10.1002/ijc.26338]
 - 33 Hung CH, Wang JH, Hu TH, Chen CH, Chang KC, Yen YH, Kuo YH, Tsai MC, Lu SN, Lee CM. Insulin resistance is associated with hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C infection. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 2265-2271 [PMID: 20458764 DOI: 10.3748/wjg.v16.i18.2265]
 - 34 Khattab MA, Eslam M, Mousa YI, Ela-adawy N, Fathy S, Shatat M, Abd-Aalhalim H, Kamal A, Sharawe MA. Association between metabolic abnormalities and hepatitis C-related hepatocellular carcinoma. *Ann Hepatol* 2012; 11: 487-494 [PMID: 22700630]
 - 35 Zhao J, Zhao Y, Wang H, Gu X, Ji J, Gao C. Association between metabolic abnormalities and HBV related hepatocellular carcinoma in Chinese: a cross-sectional study. *Nutr J* 2011; 10: 49 [PMID: 21569630 DOI: 10.1186/1475-2891-10-49]
 - 36 Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *N Engl J Med* 2003; 348: 1625-1638 [PMID: 12711737 DOI: 10.1056/NEJMoa021423]
 - 37 Chen CL, Yang HI, Yang WS, Liu CJ, Chen PJ, You SL, Wang LY, Sun CA, Lu SN, Chen DS, Chen CJ. Metabolic factors and risk of hepatocellular carcinoma by chronic hepatitis B/C infection: a follow-up study in Taiwan. *Gastroenterology* 2008; 135: 111-121 [PMID: 18505690 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.03.073]
 - 38 Afzali A, Weiss NS, Boyko EJ, Ioannou GN. Association between serum uric acid level and chronic liver disease in the United States. *Hepatology* 2010; 52: 578-589 [PMID: 20683957 DOI: 10.1002/hep.23717]
 - 39 Davila JA, Morgan RO, Shaib Y, McGlynn KA, El-Serag HB. Diabetes increases the risk of hepatocellular carcinoma in the United States: a population based case control study. *Gut* 2005; 54: 533-539 [PMID: 15753540 DOI: 10.1136/gut.2004.052167]
 - 40 Bullock RE, Zaitoun AM, Aithal GP, Ryder SD, Beekingham IJ, Lobo DN. Association of non-alcoholic steatohepatitis without significant fibrosis with hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2004; 41: 685-686 [PMID: 15464253]
 - 41 Ertle J, Dechêne A, Sowa JP, Penndorf V, Herzer K, Kaiser G, Schlaak JF, Gerken G, Syn WK, Canbay A. Non-alcoholic fatty liver disease progresses to hepatocellular carcinoma in the absence of apparent cirrhosis. *Int J Cancer* 2011; 128: 2436-2443 [PMID: 21128245 DOI: 10.1002/ijc.25797]
 - 42 Paradis V, Zalinski S, Chelbi E, Guedj N, Degos F, Vilgrain V, Bedossa P, Belghiti J. Hepatocellular carcinomas in patients with metabolic syndrome often develop without significant liver fibrosis: a pathological analysis. *Hepatology* 2009; 49: 851-859 [PMID: 19115377 DOI: 10.1002/hep.22734]
 - 43 Sugimoto K, Takei Y. Clinicopathological features of non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatol Res* 2011; 41: 911-920 [PMID: 21951869 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2011.00867.x]
 - 44 Farrell GC, van Rooyen D, Gan L, Chitturi S. NASH is an Inflammatory Disorder: Pathogenic, Prognostic and Therapeutic Implications. *Gut Liver* 2012; 6: 149-171 [PMID: 22570745 DOI: 10.5009/gnl.2012.6.2.149]
 - 45 Kawada N, Otagawa K. Role of oxidative stress and Kupffer cells in hepatic fibrosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22 Suppl 1: S85-S86 [PMID: 17567475 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2006.04661.x]
 - 46 Fan J, Zhong L, Wang G, Wu X, Li M, Jing D, Zhang P. The role of Kupffer cells in non-alcoholic steatohepatitis of rats chronically fed with high-fat diet. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2001; 9: 16-18 [PMID: 11242127]
 - 47 Browning JD, Horton JD. Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury. *J Clin Invest* 2004; 114: 147-152 [PMID: 15254578 DOI: 10.1172/JCI200422422]
 - 48 St-Jules DE, Watters CA, Nagamori K, King J. The effect of weight loss on pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *ISRN Gastroenterol* 2013; 2013: 398297 [PMID: 23781345 DOI: 10.1155/2013/398297]
 - 49 Ross AB, Godin JP, Minehira K, Kirwan JP. Increasing whole grain intake as part of prevention and treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *Int J Endocrinol* 2013; 2013: 585876 [PMID: 23762052 DOI: 10.1155/2013/585876]
 - 50 Wong VW, Chan RS, Wong GL, Cheung BH, Chu WC, Yeung DK, Chim AM, Lai JW, Li LS, Sea MM, Chan FK, Sung JJ, Woo J, Chan HL. Community-based lifestyle modification programme for non-alcoholic fatty liver disease: A randomized controlled trial. *J Hepatol* 2013; 59: 536-542 [PMID: 23623998]
 - 51 Eguchi A, Povero D, Alkhouiri N, Feldstein AE. Novel therapeutic targets for nonalcoholic fatty liver disease. *Expert Opin Ther Targets* 2013; 17: 773-779 [PMID: 23600493 DOI: 10.1517/14728222.2013.789502]
 - 52 Xiao J, Guo R, Fung ML, Liong EC, Tipoe GL. Therapeutic approaches to non-alcoholic fatty liver

应用要点

本文有助于读者了解MetS在慢性肝病发生发展中的地位, 呼吁更多临床医生和科研工作者重视MetS对肝脏的危害, 加强相关研究。

■同行评价

本文引用最新的文献阐述了代谢综合征与慢性肝病的关系研究现状,为该领域的研究做了较好的总结并提出展望,具有一定指导意义。

- disease: past achievements and future challenges. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2013; 12: 125-135 [PMID: 23558065]
- 53 Smart JE, Familletti PC, Weber DV, Keeney RF, Bailon P. Purification of the IL-2 receptor (TAC) by ligand-affinity chromatography and utilization of the immobilized receptor for receptor-affinity chromatography (RAC) purification of IL-2, mutant IL-2, and IL-2 fusion proteins. *J Invest Dermatol* 1990; 94: 158S-163S [PMID: 2351848 DOI: 10.1097/MPG.0b013e318290d138]
- 54 Byrne CD. Ectopic fat, insulin resistance and non-alcoholic fatty liver disease. *Proc Nutr Soc* 2013 May 14: 1-8. [Epub ahead of print] [PMID: 23668723]
- 55 Medina-Santillán R, López-Velázquez JA, Chávez-Tapia N, Torres-Villalobos G, Uribe M, Méndez-Sánchez N. Hepatic manifestations of metabolic syndrome. *Diabetes Metab Res Rev* 2013 Mar 7. [Epub ahead of print] [PMID: 23471889 DOI: 10.1002/dmrr.2410]
- 56 Hurjui DM, Niță O, Graur LI, Mihalache L, Popescu DS, Huțanașu IC, Ungureanu D, Graur M. Non-alcoholic fatty liver disease is associated with cardiovascular risk factors of metabolic syndrome. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi* 2012; 116: 692-699 [PMID: 23272512]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.775

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《世界华人消化杂志》总被引频次3871次, 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第5位、第7位、第5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65位、第238位、第138位; 其他指标: 即年指标0.081, 他引率0.82, 引用刊数526种, 扩散因子13.59, 权威因子1260.02, 被引半衰期4.3, 来源文献量642, 文献选出率0.93, 地区分布数29, 机构分布数302, 基金论文比0.45, 海外论文比0.01。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界华人消化杂志》再度被收录为“中国科技核心期刊”(《世界华人消化杂志》编辑部)。

缬沙坦对门脉高压性胃病大鼠门静脉TGF- β 1和胶原纤维的影响

黄蔚, 钱静蓉

黄蔚, 钱静蓉, 上海市普陀区利群医院消化科 上海市 200333
黄蔚, 上海市第二军医大学硕士生, 副主任医师, 主要从事肝硬化门脉高压的临床和基础研究。

上海市普陀区卫生系统自主创新科研基金资助项目, No. 普科委[2010]33号

作者贡献分布: 黄蔚与钱静蓉对此文所作贡献均等; 此课题由黄蔚设计; 研究过程由黄蔚与钱静蓉操作完成; 研究所用试剂及分析工具由黄蔚提供; 数据分析由钱静蓉完成; 本论文写作由黄蔚与钱静蓉完成。

通讯作者: 黄蔚, 副主任医师, 200333, 上海市普陀区高陵路910号, 上海市普陀区利群医院消化科。

huangwei_71_0502@126.com

电话: 021-52780030 传真: 021-52766654

收稿日期: 2013-07-19 修回日期: 2013-08-15

接受日期: 2013-08-23 在线出版日期: 2013-09-28

Treatment with valsartan reduces TGF- β 1 expression and collagen fiber content in the portal vein of rats with portal hypertensive gastropathy

Wei Huang, Jing-Rong Qian

Wei Huang, Jing-Rong Qian, Department of Gastroenterology, Lique Hospital, Shanghai 200333, China

Supported by: the Independent Innovation Scientific Research Project of Shanghai Putuo District Health System, No. PuKeWei [2010]33

Correspondence to: Wei Huang, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Lique Hospital, 910 Gaoling Road, Putuo District, Shanghai 200333, China. huangwei_71_0502@126.com

Received: 2013-07-19 Revised: 2013-08-15

Accepted: 2013-08-23 Published online: 2013-09-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of treatment with valsartan on portal vein lesions in rats with portal hypertensive gastropathy (PHG).

METHODS: Forty-eight SD rats were randomly divided into a sham operation group, a PHG model group, a valsartan prevention group, a normal dose valsartan group, and a double dose valsartan group. Partial portal vein ligation was used to induce PHG. Portal venous pressure (PVP) and heart rate (HR) were measured. Immunohistochemistry was used to detect TGF- β 1

protein expression in the portal vein, and Masson's trichrome technique was used to determine the content of collagen fibers.

RESULTS: The PVP decreased significantly in the normal dose valsartan group, double dose valsartan group and prevention group compared with the model group ($13.32 \text{ cmH}_2\text{O} \pm 0.96 \text{ cmH}_2\text{O}$ vs $9.54 \text{ cmH}_2\text{O} \pm 0.80 \text{ cmH}_2\text{O}$, $9.04 \text{ cmH}_2\text{O} \pm 0.96 \text{ cmH}_2\text{O}$, $8.30 \text{ cmH}_2\text{O} \pm 0.41 \text{ cmH}_2\text{O}$, all $P < 0.01$). TGF- β 1 expression and collagen fiber content were significantly higher in the model group than in the sham operation group (8.51 ± 1.42 vs 5.73 ± 0.87 , 2.01 ± 1.25 vs 0.82 ± 0.54); however, TGF- β 1 expression and collagen fiber content were significantly lower in the valsartan normal dose group, double dose group and prevention group than in the model group (6.54 ± 1.09 , 6.45 ± 1.37 , 6.42 ± 1.98 vs 8.51 ± 1.42 ; 0.92 ± 0.53 , 1.09 ± 0.40 , 1.03 ± 0.36 vs 2.01 ± 1.25 , all $P < 0.05$).

CONCLUSION: TGF- β 1 expression and collagen fiber content in the portal vein increase in rats with PHG. Treatment with valsartan can not only reduce portal pressure and TGF- β 1 expression in the portal vein but also decrease collagen synthesis.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Valsartan; Portal hypertensive gastropathy; Transforming growth factor-beta 1; Collagen

Huang W, Qian JR. Treatment with valsartan reduces TGF- β 1 expression and collagen fiber content in the portal vein of rats with portal hypertensive gastropathy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2765-2771 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2765.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2765>

摘要

目的: 探讨缬沙坦对门脉高压性胃病大鼠门静脉血管病变的作用。

方法: 48只SD大鼠随机分为假手术组、门脉

■背景资料

肝硬化门脉高压性胃病是肝功能失代偿期的表现, 其所致的上消化道出血仅次于食管胃底静脉曲张破裂出血。加之此类患者凝血功能差, 常导致肝脏功能进一步恶化, 加速肝性脑病、肝肾综合征等并发症出现, 影响患者预后。选择既能平稳降低门脉压力, 又能改善肝脏功能药物已经成为人们关注的热点。

■同行评议者

张宗明, 教授, 清华大学第一附属医院消化医学中心

■ 研发前沿

肝硬化门脉高压症是导致门脉高压性胃病的重要发病机制之一,有效降低门脉高压理论上可以阻止和改善胃黏膜病变。目前治疗方法包括手术、介入和药物。肝移植手术费用高,肝源少;经颈静脉肝内门腔静脉分流术(transjugular intrahepatic portosystemic shunt, TIPS)短期内能够降低门脉高压,但远期并发症较多;药物治疗是目前研究热点。

高压性胃病模型组、缬沙坦预防组、缬沙坦正常剂量组和加倍剂量组。采用门静脉主干部分结扎法复制门脉高压性胃病模型。测量门静脉压力(portal venous pressure, PVP)、心率(heart rate, HR),免疫组织化学SABC法检测各组大鼠门静脉转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor beta 1, TGF- $\beta 1$)蛋白表达,Masson三色染色测定胶原纤维定量。

结果:缬沙坦正常剂量组、加倍剂量组和预防组的PVP($9.54 \text{ cmH}_2\text{O} \pm 0.80 \text{ cmH}_2\text{O}$, $9.04 \text{ cmH}_2\text{O} \pm 0.96 \text{ cmH}_2\text{O}$, $8.30 \text{ cmH}_2\text{O} \pm 0.41 \text{ cmH}_2\text{O}$)明显下降,与造模组($13.22 \text{ cmH}_2\text{O} \pm 0.96 \text{ cmH}_2\text{O}$)比较差异具有统计学意义($P < 0.01$)。假手术组门静脉TGF- $\beta 1$ 表达(5.73 ± 0.87)和胶原纤维定量(0.82 ± 0.54)最低,模型组TGF- $\beta 1$ 表达(8.51 ± 1.42)和胶原纤维定量(2.01 ± 1.25)明显增高,缬沙坦正常剂量组、加倍剂量组和预防组TGF- $\beta 1$ 表达(6.54 ± 1.09 , 6.45 ± 1.37 , 6.42 ± 1.98)和胶原纤维定量(0.92 ± 0.53 , 1.09 ± 0.40 , 1.03 ± 0.36)与造模组(8.51 ± 1.42 , 2.01 ± 1.25)比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

结论:门脉高压性胃病时门静脉TGF- $\beta 1$ 表达和胶原纤维定量升高,缬沙坦不仅可以降低门脉压力,而且抑制门静脉TGF- $\beta 1$ 活性,降低胶原纤维合成,对门静脉血管病变具有一定治疗作用。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词:缬沙坦; 门静脉高压性胃病; 转化生长因子- $\beta 1$; 胶原

核心提示:门脉高压性胃病时门静脉血管内膜受损、管腔增厚、附壁血栓形成,管壁转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor beta 1, TGF- $\beta 1$)和胶原纤维表达明显升高,提示门静脉血管病变形成。缬沙坦除了能够降低门静脉压力,而且通过抑制门静脉TGF- $\beta 1$ 活性,降低胶原纤维的合成,对门静脉血管病变具有一定治疗作用。

黄蔚, 钱静蓉. 缬沙坦对门脉高压性胃病大鼠门静脉TGF- $\beta 1$ 和胶原纤维的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2765-2771
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2765.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2765>

0 引言

门脉高压性胃病(portal hypertension gastropathy, PHG)是一种累及胃黏膜的血管性病变^[1],其发病机制主要与门脉高压症(portal hypertension,

PHT)有关。PHT时门静脉系统阻力增加,血流量随之增加,形成高动力循环状态,导致门静脉管壁平滑肌细胞肥大增生,内膜增厚,肌纤维增粗、致密,出现明显的动脉化构型改变^[2]。转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor beta 1, TGF- $\beta 1$)在肝脏纤维化的发生和发展过程中发挥重要作用^[3,4],本课题组前期临床研究发现肝硬化PHG患者胃黏膜TGF- $\beta 1$ 蛋白表达明显增加,且随着胃黏膜病变程度加重,TGF- $\beta 1$ 表达量明显增高,提示TGF- $\beta 1$ 可能参与了门静脉高压性胃病胃黏膜血管病变的形成^[5]。此外,PHG的治疗关键在于降低门静脉压力,使用药物有效平稳地降低门静脉压力成为研究的热点^[6-8]。近年来国内外研究发现血管紧张素II(angiotensin II, Ang II)1型受体拮抗剂有降低门脉压力、抗肝纤维化和改善胃黏膜血供的作用,其作用机制可能主要与抑制TGF- $\beta 1$ 的合成和激活有关^[9,10],但该类药物对PHG门静脉血管构型的影响,目前国内未见相关报道。因此,本实验通过建立PHG大鼠模型,应用Ang II 1型受体拮抗剂缬沙坦进行干预后,观察其降低门静脉压力的疗效及对门静脉血管壁TGF- $\beta 1$ 蛋白表达和胶原纤维定量的影响,以进一步明确缬沙坦的作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料 实验动物为成年健康♂ Sprague-Dawley(SD)大鼠48只,体质量200-220 g,由上海第二军医大学实验动物中心提供(许可证号:scxk(沪)2008-0016)。缬沙坦(商品名:代文,北京诺华制药有限公司馈赠,批号X0830),TGF- $\beta 1$ 抗体(Santa Cruz公司,货号为sc-146),SABC试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司),Masson试剂盒(福州迈新生物技术开发有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组和模型建立:大鼠随机分成5组,假手术组即对照组($n = 6$)、模型组($n = 6$)、缬沙坦预防组($n = 12$)、缬沙坦正常剂量治疗组($n = 12$)、缬沙坦加倍剂量治疗组($n = 12$)。各组大鼠体质量、年龄相比无显著性差异。本实验参照国内段进东等^[11]的造模方法,该方法可造成大鼠门静脉横截面积缩窄90%,2 wk就能形成PHG模型。具体方法如下:模型组大鼠实验前24 h禁食,自由饮水,3%戊巴比妥钠溶液0.11-0.13 mL/100 g体质量腹腔内注射麻醉;开腹后暴露并游离门静脉,沿其纵轴外置一20 G钝性针头,于近肝门处用3-0丝线结扎门静脉主干

表 1 各组大鼠门静脉压力和心率比较(mean \pm SD)

分组	n	门静脉压力(cmH ₂ O)	心率(次/min)
假手术组	6	6.92 \pm 0.96 ^b	452 \pm 25
造模组	6	13.22 \pm 0.96	445 \pm 21
缬沙坦预防组	10	8.30 \pm 0.41 ^b	453 \pm 24
缬沙坦正常剂量组	10	9.54 \pm 0.80 ^b	449 \pm 18
缬沙坦加倍剂量组	9	9.04 \pm 0.96 ^b	464 \pm 12

^b $P < 0.01$ vs 造模组.

及外置针头后拔针, 形成肝前性门静脉狭窄; 假手术组仅游离门静脉主干而不结扎, 4 wk后与药物干预组一起进行指标检测. 缬沙坦预防组于造模开始每天清晨缬沙坦20 mg/kg灌胃, 1次/d, 连续4 wk. 缬沙坦常规剂量治疗组和加倍剂量治疗组在造模术后第3周给药, 前者每天清晨20 mg/kg灌胃, 1次/d; 后者40 mg/kg灌胃, 1次/d, 连续2 wk. 造模组和假手术组于术后第3周予等量0.9%NaCl溶液灌胃, 连续2 wk.

1.2.2 门静脉压力(portal venous pressure, PVP)及心率(heart rate, HR)测定: 造模4 wk后动物禁食12 h, 饮水, 3%戊巴比妥0.1 mL/100 g腹腔内麻醉后, 仰于一平面上, 用计时器记录其1 min的心跳数. 然后沿腹中线进腹, 切口长约3 cm, 暴露腹腔, 找到肠系膜上静脉和脾静脉汇合点上方, 将一充满肝素生理盐水的5号静脉输液针逆行穿刺刺入门静脉, 固定套管针后, 由助手连接到门静脉测压管, 测压管“0”点与大鼠右心房保持同一水平面, 以最终水柱固定点为门静脉压力值. 术后结扎穿刺处血管.

1.2.3 门静脉血管标本制备: 完成门静脉压力和心率测定后取大鼠门静脉主干约1 cm, 4%多聚甲醛固定石蜡包埋, 4 μ m厚连续切片, 行HE染色.

1.2.4 免疫组织化学染色检测门静脉血管壁TGF- β 1蛋白表达: 采用SABC法, 严格按说明书操作. 免疫组织化学染色后先在光镜下做定性观察, 200倍高倍镜下每张切片测定3个视野, 通过显微摄像系统摄取图像, 在图像分析仪上测定其光密度值, 取平均值.

1.2.5 Masson三色染色法测定门静脉血管壁胶原纤维含量: 严格按说明书操作. 以蓝色胶原沉积为阳性信号, 染色后先在光镜下做定性观察, 200倍高倍镜下每张切片测定3个视野, 通过显微摄像系统摄取图像, 在图像分析仪上测定其光密度值, 取平均值.

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件, 所得数据以mean \pm SD表示. 多组间比较采用单因素方差分析; 若方差齐性, 两两比较采用LSD法, 若方差不齐, 采用Dunnett T3检验. $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 造模情况 缬沙坦加倍剂量组大鼠死亡3只, 其中2只由于灌胃后呛咳、窒息死亡, 1只考虑为腹水伴腹腔感染, 缬沙坦预防组和正常剂量组分别有2只大鼠死亡, 死因为灌胃后呛咳、窒息. 造模组和假手术组无大鼠死亡.

2.2 PVP和HR的变化 造模组PVP明显上升, 与假手术组比较差异有统计学意义($P < 0.01$), 缬沙坦预防组、加倍剂量组和正常剂量组PVP与造模组比较明显降低($P < 0.01$), 虽然缬沙坦预防组、加倍剂量组和正常剂量组PVP逐渐升高, 但3组间比较无统计学差异($P > 0.05$, 表1).

2.3 光镜下观察 造模后1 wk大鼠开始厌食、懒动, 2 wk后腹腔增大, 厌食加剧. HE染色结果显示, 假手术组大鼠门静脉内膜光滑, 内皮细胞无破坏, 中膜平滑肌细胞排列整齐. 造模组门静脉管壁明显增厚, 内膜受损且增厚, 内皮细胞不完整, 附壁血栓形成. 中膜平滑肌细胞增多, 增大并排列紊乱. 缬沙坦预防组、正常剂量组和加倍剂量组大鼠内膜较光滑, 内皮细胞破坏不明显, 可见少量附壁血栓. 平滑肌细胞稍增多, 排列较整齐(图1).

2.4 门静脉血管TGF- β 1表达的变化 免疫组织化学结果显示, TGF- β 1表达主要在门静脉血管内皮细胞和平滑肌细胞的细胞浆和细胞膜, 阳性结果为细胞质染成棕黄色, 细胞核染成淡蓝色. 造模组大鼠门静脉血管壁TGF- β 1表达量明显增加, 与假手术组大鼠比较差异有统计学意义($P < 0.01$), 缬沙坦预防组、正常剂量组和加倍剂

■ 相关报道

研究报道肝硬化门脉高压性胃病是一种血管性疾病, 血管紧张素II与肝硬化门脉高压症的形成密切相关. 血管紧张素II 1型受体拮抗剂沙坦类药物能够降低门静脉压力, 改善胃黏膜微循环, 且不良反应少, 不引起明显的血压、心率改变.

■创新盘点

缬沙坦改善肝硬化门脉高压性胃黏膜病变的作用机制目前不清楚。本课题发现缬沙坦能够调控门静脉血管TGF- β 1的合成和分泌,减少门静脉管壁胶原纤维形成,减少血管损伤,减轻血管病变的程度。

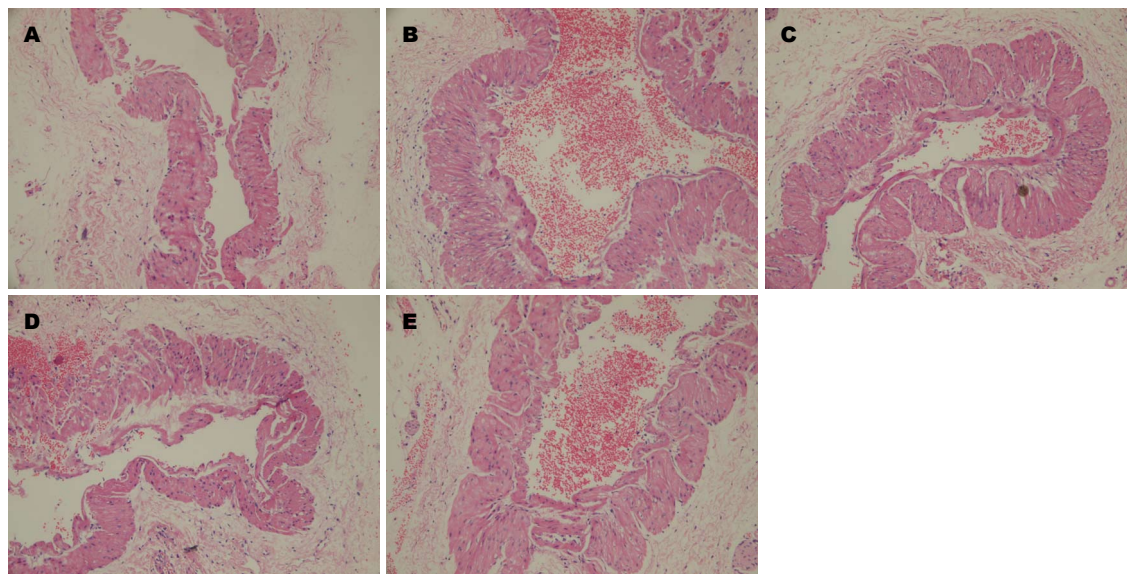


图1 门静脉血管HE染色结果($\times 200$). A: 假手术组; B: 造模组; C: 缬沙坦预防组; D: 缬沙坦正常剂量组; E: 缬沙坦加倍剂量组。

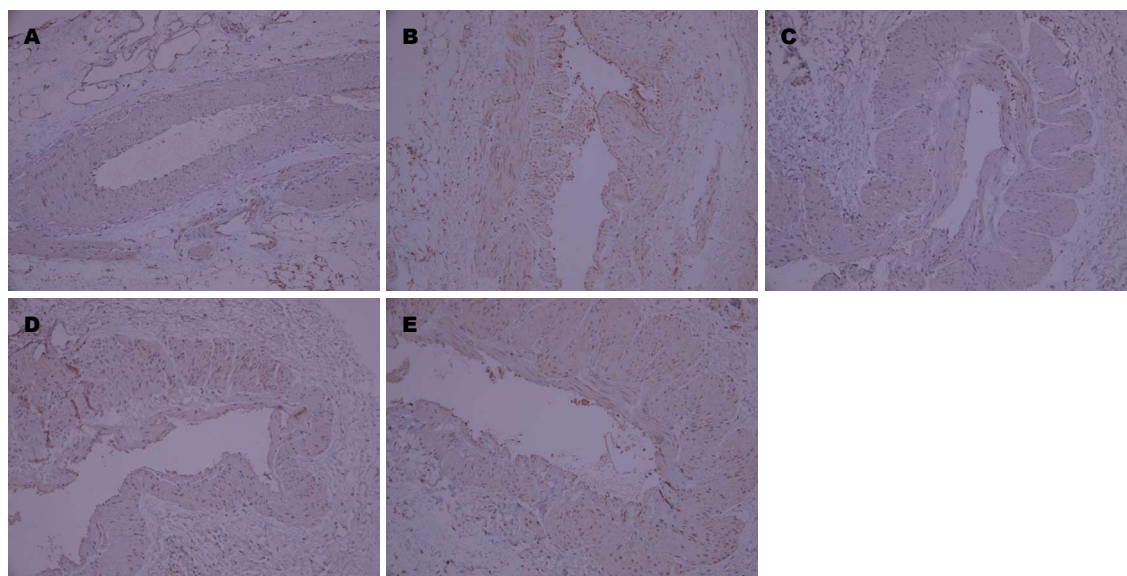


图2 免疫组织化学染色检测门静脉血管TGF- β 1表达情况($\times 200$). A: 假手术组; B: 造模组; C: 缬沙坦预防组; D: 缬沙坦正常剂量组; E: 缬沙坦加倍剂量组. TGF- β 1: 转化生长因子- β 1.

量组大鼠胃黏膜组织TGF- β 1阳性表达水平较造模组降低($P < 0.05$), 但高于假手术组(图2, 表2).

2.5 门静脉血管壁胶原纤维定量情况 Masson染色结果显示, 胶原纤维呈蓝色, 肌纤维呈红色, 红细胞呈橘红色. 造模组大鼠门静脉胶原纤维表达明显增强, 与假手术组大鼠比较差异有统计学意义($P < 0.01$), 缬沙坦预防组、正常剂量组和加倍剂量组大鼠门静脉血管胶原纤维表达水平较造模组降低($P < 0.05$), 但高于假手术组(图3, 表2).

3 讨论

PHG是指在门静脉高压基础上发生的胃黏膜病

变, 常见于肝硬化伴PHT, 是发生上消化道出血的常见原因之一^[12-14]. 该病的发生发展与PHT密切相关^[15,16]. 近年国内外研究发现^[2,17] PHT患者的内脏血管壁出现特征性的构型改变, 表现为内脏静脉的动脉化构型改建, 电镜下可见门静脉、脾静脉和胃冠状静脉均存在着明显的增殖、肥大、迁移、重构病变, 血管直径增加及弹性降低. 导致这种血管病变的机制目前仍未完全阐明^[18,19], 门脉系统的血流动力学改变^[20,21]、免疫反应^[2]、基因调控^[22,23]、血管活性物质^[24,25]等因素可能参与了门脉高压性血管病变的过程. 有文献报道^[2,26], PHT时门静脉血管病变

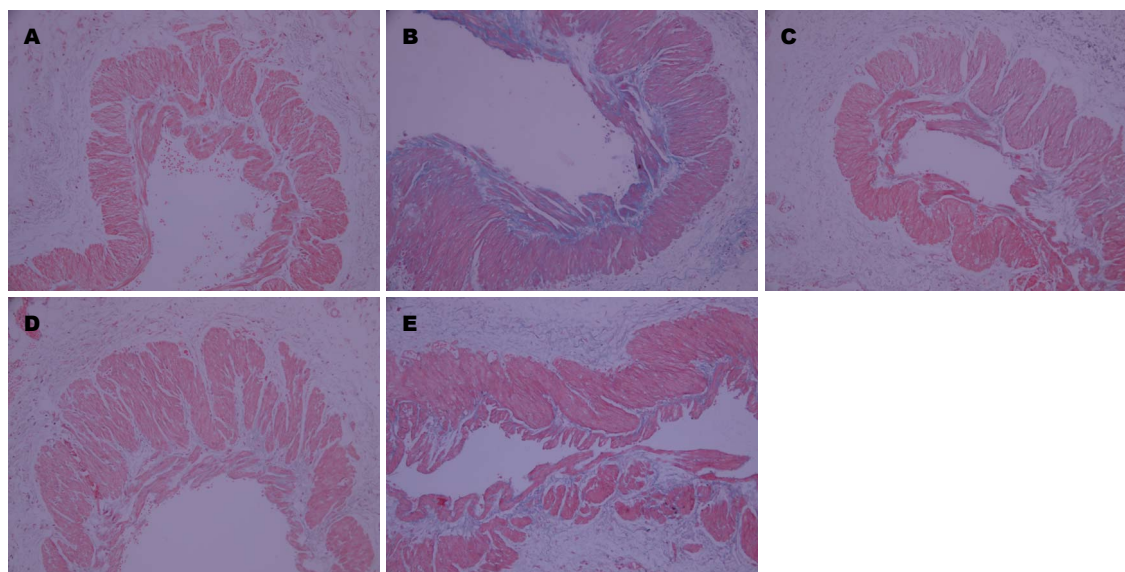


图3 Masson三色染色法测定门静脉血管壁胶原纤维含量情况($\times 200$)。A: 假手术组; B: 造模组; C: 缬沙坦预防组; D: 缬沙坦正常剂量组; E: 缬沙坦加倍剂量组。

■应用要点

肝硬化门脉高压性胃病及其并发症是肝硬化患者的主要威胁。缬沙坦能够通过降低大鼠门静脉血管阻力、减少水钠潴留、减轻门静脉血管损伤,降低血管构型改建等多种作用治疗门脉高压性胃病相关的内脏血管病变,为临床使用缬沙坦提供了理论依据。

表2 各组大鼠门静脉血管TGF- β 1表达和胶原定量情况(mean \pm SD)

分组	n	积分光密度值	
		TGF- β 1	胶原纤维
假手术组	6	5.73 \pm 0.87 ^b	0.82 \pm 0.54 ^b
造模组	6	8.51 \pm 1.42	2.01 \pm 1.25
缬沙坦预防组	10	6.42 \pm 1.98 ^a	1.03 \pm 0.36 ^a
缬沙坦正常剂量组	10	6.54 \pm 1.09 ^a	0.92 \pm 0.53 ^a
缬沙坦加倍剂量组	9	6.45 \pm 1.37 ^a	1.09 \pm 0.40 ^a

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 造模组。TGF- β 1: 转化生长因子- β 1。

格外明显,具体表现为:(1)内膜明显增厚,呈现弥漫性增厚和局灶性增厚斑,形成新内膜,增生斑块呈丘状突向腔内。受损血管内皮表面有血小板和血细胞粘附聚集,逐步形成微小血栓;(2)中膜明显增厚,平滑肌增生肥大,肌纤维粗大,层次增多,排列紊乱;(3)静脉壁增厚,包括内膜下间隙和中膜内平滑肌细胞增多和细胞外基质的异常积聚。我们通过直接光镜下观察门静脉血管壁发现,造模组门静脉血管壁增厚,内膜受损,内皮细胞肿胀,可见附壁血栓形成,而假手术组血管壁内膜完整,内皮细胞排列整齐,内皮细胞损伤不明显,与上述文献结果一致。

胶原纤维是一种重要的血管细胞外基质蛋白,可保持血管壁的韧性和强度。TGF- β 对于基质蛋白聚集和胶原纤维沉积具有重要调控作用。TGF- β 在减少基质降解酶及增加抑制剂合成的

同时,还促进成纤维细胞增殖,在血管病变的发生发展中起关键作用^[27,28]。TGF- β 1在哺乳动物体细胞中所占比例最高(>90%),活性最强,与疾病关系最密切^[29]。本课题组研究发现造模组大鼠门静脉血管壁TGF- β 1蛋白水平及胶原纤维含量明显高于假手术组($P < 0.01$),提示TGF- β 1参与了门静脉血管胶原的合成,促进血管壁纤维增生,导致血管构型改变。其原因可能是:(1)PHG时血管组织缺氧,门静脉血管内皮层受损,以及血管纤维化及平滑肌细胞大量增生影响氧和物质交换,缺氧产生代谢物质和氧自由基,刺激血管壁表达TGF- β 1^[30];(2)PHT导致门静脉系统血流加速、血流量增加,高动力循环直接导致门静脉血管壁受损,内皮细胞完整性的破坏可以直接刺激血管壁表达TGF- β 1;(3)循环及血管局部其他细胞因子如低氧诱导因子(hypoxia induced factor 1, HIF1)、结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)等可以刺激血管平滑肌表达TGF- β 1^[31]。

目前,缬沙坦作为一种新型降压药物,在降低门静脉压力和保护肝脏方面的作用机制引起多数学者的关注^[7,8]。本研究发现,缬沙坦确实能够降低门静脉压力,缬沙坦干预各组大鼠的门静脉压力明显低于造模组($P < 0.01$),进一步资料分析,缬沙坦正常剂量组、加倍剂量组和预防组大鼠的门静脉压力逐渐降低,但3组间比较差异无统计学意义,提示我们尽早应用Ang II 1型受体拮抗剂可能会取得较好的降低门脉压力疗效。但是我们也看到缬沙坦并不能阻止门脉高

■同行评价

文章具有一定的科学性、创新性和可读性。

压症和PHG的最终形成。缬沙坦通过阻断Ang II 1型受体来特异性拮抗Ang II的作用,从而抑制TGF- β 1合成和表达^[32,33]。应用缬沙坦干预后门静脉管壁轻度增厚,内膜受损较轻,内皮细胞稍有肿胀,排列较规整,附壁血栓减少。缬沙坦预防组、正常剂量组和加倍剂量组大鼠门静脉TGF- β 1蛋白表达水平与胶原纤维含量均明显低于造模组($P<0.05$),推测缬沙坦通过抑制TGF- β 1蛋白表达进一步导致内皮细胞凋亡减少,平滑肌细胞增殖、迁移、重构和细胞外基质合成明显减弱,减少血管胶原纤维合成,对门静脉血管壁具有一定保护作用。但是我们也发现,缬沙坦干预各组间门静脉血管壁TGF- β 1蛋白表达水平与胶原纤维含量比较无显著性差异,提示缬沙坦对门静脉血管壁的保护作用与用药剂量和时间无明显关系。

总之,门静脉系统持续高压力和高血流量的刺激是引起门静脉血管内膜损伤的主要因素。肝硬化时肝、肾功能障碍、氧自由基清除率下降,门静脉血中有害物质及氧自由基可直接损伤血管内膜,内皮损伤后处直接影响血管结构外,其释放的血管活性物质对循环的影响更严重。本研究证实,PHG大鼠存在门静脉血管内膜损伤,血管活性物质TGF- β 1释放增加,缬沙坦可能通过抑制TGF- β 1的释放,减少血管壁胶原纤维合成,有助减缓门静脉血管病变的发展。

4 参考文献

- Khomeriki SG, Zhukov AG. [Morphological features of the gastric mucosa capillary network in patients with portal hypertension]. *Arkh Patol* 2011; 73: 43-47 [PMID: 22164432]
- 李涛, 杨镇. 门脉高压性血管病变研究进展. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 64-68
- Jia D, Duan F, Peng P, Sun L, Liu X, Wang L, Wu W, Ruan Y, Gu J. Up-regulation of RACK1 by TGF- β 1 promotes hepatic fibrosis in mice. *PLoS One* 2013; 8: e60115 [PMID: 23555900 DOI: 10.1371/journal.pone.0060115]
- Sun YC, Liang Q, Qian KL, Xiao L, Liu Q, Shi XF. [Effect of TGF- β 1 siRNA-mediated silencing on Smad proteins in hepatic fibrosis rats]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2012; 20: 289-293 [PMID: 22964151]
- 黄蔚, 陈岳祥. VEGF、TGF- β 1在门脉高压性胃病中的作用研究. *中国医药指南* 2009; 7: 38-39
- Al-Busafi SA, McNabb-Baltar J, Farag A, Hilzenrat N. Clinical manifestations of portal hypertension. *Int J Hepatol* 2012; 2012: 203794 [PMID: 23024865 DOI: 10.1155/2012/203794]
- Fierbinteanu-Braticevici C, Dragomir P, Tribus L, Negreanu L, Bengus A, Usvat R, Andronescu D. The effect of valsartan, an angiotensin II receptor antagonist, on portal and systemic hemodynamics and on renal function in liver cirrhosis. *J Gastrointest Liver Dis* 2006; 15: 337-342 [PMID: 17205144]
- Huo LJ, Zhang SJ, Liu Y. [Clinical evaluation of valsartan on portal hypertension in patients with hepatic cirrhosis]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2010; 18: 622-623 [PMID: 20825720]
- Hidaka H, Nakazawa T, Shibuya A, Minamino T, Takada J, Tanaka Y, Okuwaki Y, Watanabe M, Koizumi W. Effects of 1-year administration of olmesartan on portal pressure and TGF- β 1 in selected patients with cirrhosis: a randomized controlled trial. *J Gastroenterol* 2011; 46: 1316-1323 [PMID: 21850387]
- 霍丽娟, 刘莹, 张锁娟. 缬沙坦对肝硬化患者门静脉压力和肝纤维化指标的影响. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1139-1142
- 段进东, 管洪庚, 陈易人, 钱海鑫, 汪良. 一期门静脉狭窄复制大鼠门脉高压性胃病模型. *中华实验外科杂志* 2000; 17: 356-357
- Kalafateli M, Triantos CK, Nikolopoulou V, Burroughs A. Non-variceal gastrointestinal bleeding in patients with liver cirrhosis: a review. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 2743-2754 [PMID: 22661272 DOI: 10.1007/s10620-012-2229-x]
- Fontana RJ, Sanyal AJ, Ghany MG, Bonkovsky HL, Morgan TR, Litman HJ, Reid AE, Lee WM, Naishadham D. Development and progression of portal hypertensive gastropathy in patients with chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 884-893 [PMID: 21139575]
- de Macedo GF, Ferreira FG, Ribeiro MA, Szutan LA, Assef MS, Rossini LG. Reliability in endoscopic diagnosis of portal hypertensive gastropathy. *World J Gastrointest Endosc* 2013; 5: 323-331 [PMID: 23858376 DOI: 10.4253/wjge.v5.i7.323]
- 李瑞, 毛华, 黄纯焱. 门脉高压性胃病发病机制的研究进展. *国际消化病杂志* 2011; 31: 277-279
- Cubillas R, Rockey DC. Portal hypertensive gastropathy: a review. *Liver Int* 2010; 30: 1094-1102 [PMID: 20536720]
- Kovaleva OI, Khomeriki SG, Zhukov AG, Kovi-azina IO, Golovanova EV. [Capillary collusion of gastric mucosa in patients with Helicobacter pylori gastritis and portal hypertension]. *Eksp Klin Gastroenterol* 2010; (2): 13-18 [PMID: 20496803]
- Li T, Yang Z. Research progress of vasculopathy in portal hypertension. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 6079-6084 [PMID: 16273630]
- Lo GH. Mechanism of portal hypertensive gastropathy: an unresolved issue. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 1482-1483 [PMID: 19743994 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.06012.x]
- 林德新, 刘景丰. 门脉高压症血管构型改建及其机制. *中华综合医学杂志* 2004; 6: 80-82
- Curvêlo LA, Brabosa W, Rhor R, Lanzoni V, Parise ER, Ferrari AP, Kondo M. Underlying mechanism of portal hypertensive gastropathy in cirrhosis: a hemodynamic and morphological approach. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 1541-1546 [PMID: 19743998 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.05871.x]
- Marques C, Mauriz JL, Simonetto D, Marrón CA, Tuñón MJ, González-Gallego J, Marrón NP. Glutamine prevents gastric oxidative stress in an animal model of portal hypertension gastropathy. *Ann Hepatol* 2011; 10: 531-539 [PMID: 21911895]
- Lan C, Sun X, Dong L, Huang B, Yuan S, Wu K. The role of endotoxin in the pathogenesis of gas-

- tric mucosal damage in cirrhotic rats with portal hypertensive gastropathy. *Asian Pac J Trop Med* 2011; 4: 212-214 [PMID: 21771455 DOI: 10.1016/S1995-7645(11)60071-0]
- 24 Pan WD, Liu Y, Lin N, Xu R. The expression of PEDF and VEGF in the gastric wall of prehepatic portal hypertensive rats. *Hepatogastroenterology* 2011; 58: 2152-2155 [PMID: 22024088 DOI: 10.5754/hge11227]
- 25 Shibuya M. Vascular endothelial growth factor-dependent and -independent regulation of angiogenesis. *BMB Rep* 2008; 41: 278-286 [PMID: 18452647]
- 26 Kitao A, Sato Y, Sawada-Kitamura S, Harada K, Sasaki M, Morikawa H, Shiomi S, Honda M, Matsui O, Nakanuma Y. Endothelial to mesenchymal transition via transforming growth factor- β 1/Smad activation is associated with portal venous stenosis in idiopathic portal hypertension. *Am J Pathol* 2009; 175: 616-626 [PMID: 19608867 DOI: 10.2353/ajpath.2009.081061]
- 27 曾伟杰, 陈灿, 黄石安. 血管纤维化过程中TGF- β 及信号转导的作用. *医学综述* 2008; 14: 332-334
- 28 马绍骏. 转化生长因子 β 1在血管损伤后再狭窄形成中的作用. *中国组织工程研究与临床康复* 2008; 12: 5965-5968
- 29 Gressner AM, Weiskirchen R. Modern pathogenetic concepts of liver fibrosis suggest stellate cells and TGF- β as major players and therapeutic targets. *J Cell Mol Med* 2006; 10: 76-99 [PMID: 16563223]
- 30 Molina F, Rua A, Peinado MA, Del Moral ML. Short-term hypoxia/reoxygenation activates the angiogenic pathway in rat caudate putamen. *J Biosci* 2013; 38: 363-371 [PMID: 23660671]
- 31 Lee YK, Kim EJ, Lee JE, Noh JW, Kim YG. Hypoxia induces connective tissue growth factor mRNA expression. *J Korean Med Sci* 2009; 24 Suppl: S176-S182 [PMID: 19194549 DOI: 10.3346/jkms.2009.24.S1.S176]
- 32 Subeq YM, Ke CY, Lin NT, Lee CJ, Chiu YH, Hsu BG. Valsartan decreases TGF- β 1 production and protects against chlorhexidine digluconate-induced liver peritoneal fibrosis in rats. *Cytokine* 2011; 53: 223-230 [PMID: 21129996 DOI: 10.1016/j.cyt.2010.11.004]
- 33 Gong ZJ, Song SL, Huang YQ, Ruan P. [Effects of perindopril and valsartan on the expression of TGF β 1 and TGF β receptor II mRNA, Smad3 and Smad7 in experimental hepatic fibrotic rats]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2004; 12: 737-740 [PMID: 15619341]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

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

小干扰RNA靶向抑制*DcR3*基因对肝癌细胞凋亡和迁移的影响

苏传丽, 罗殿中, 陈 昱, 覃新干

■背景资料

肝癌是我国常见的恶性肿瘤之一, 其转移和复发率很高, 对健康危害大。DcR3在HCC中过表达, 抑制肿瘤细胞的凋亡并与肿瘤的浸润、转移有关, 若能抑制HCC中DcR3的表达, 则可能抑制肿瘤的发生发展, 并为肿瘤的治疗提供新策略。

苏传丽, 罗殿中, 陈昱, 广西医科大学病理学教研室 广西医科大学第一附属医院病理科 广西壮族自治区南宁市 530021
覃新干, 广西医科大学第一附属医院胃肠腺体外科 广西壮族自治区南宁市 530021

苏传丽, 主治医师, 主要从事肿瘤的分子生物学研究。

广西研究生教育创新计划基金资助项目, No. 2007105981001M02

作者贡献分布: 此课题由苏传丽与罗殿中设计; 研究过程由苏传丽与覃新干操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由苏传丽、陈昱及罗殿中提供; 数据分析由苏传丽与覃新干完成; 本论文写作由苏传丽与罗殿中完成。

通讯作者: 罗殿中, 教授, 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病理科。

luodianzhong@yahoo.com.cn

电话: 0771-5748712

收稿日期: 2013-07-09 修回日期: 2013-08-12

接受日期: 2013-08-23 在线出版日期: 2013-09-28

SiRNA-mediated inhibition of *DcR3* gene expression induces apoptosis and reduces migration of hepatocellular carcinoma HepG2 cells

Chuan-Li Su, Dian-Zhong Luo, Gang Chen, Xin-Gan Qin

Chuan-Li Su, Dian-Zhong Luo, Gang Chen, Department of Pathology, Guangxi Medical University and the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Xin-Gan Qin, Department of Gastrointestinal and Gland Surgery, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Graduate Innovation Fund of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 2007105981001M02

Correspondence to: Dian-Zhong Luo, Professor, Department of Pathology, Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. luodianzhong@yahoo.com.cn

Received: 2013-07-09 Revised: 2013-08-12

Accepted: 2013-08-23 Published online: 2013-09-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of siRNA-mediated inhibition of *DcR3* gene expression on apoptosis and migratory ability of HepG2 cells.

METHODS: Four *DcR3*-specific siRNAs and one random siRNA were designed, synthesized, and

transfected into HepG2 cells using Lipofectamine™ 2000. Semi-quantitative RT-PCR was used to screen the siRNA that had the best interfering effect. Immunocytochemistry was used to assess the expression of *DcR3* protein. Cell apoptosis was assessed by flow cytometry, and cell migratory ability was determined by wound healing assay.

RESULTS: All four *DcR3*-specific siRNAs could decrease the expression of *DcR3* mRNA, and siRNA4 had the best interfering effect, which could silence the mRNA expression by 62.9% and inhibit the expression of *DcR3* protein. The apoptosis rate was significantly higher in the specific interference group than in the three control groups ($22.97\% \pm 2.10\%$ vs $1.17\% \pm 0.32\%$, $1.44\% \pm 0.43\%$, $1.22\% \pm 0.40\%$, all $P < 0.001$). The relative migratory ability of HepG2 cells in the specific interference group at 24, 48 and 72 h after transfection was significantly lower than that in control groups (all $P < 0.001$).

CONCLUSION: *DcR3* plays an important role in the apoptosis and migration of HepG2 cells. Inhibition of expression of *DcR3* can induce apoptosis and repress migration of HepG2 cells.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: *DcR3*; HCC; RNAi; Apoptosis; Migration

Su CL, Luo DZ, Chen G, Qin XG. SiRNA-mediated inhibition of *DcR3* gene expression induces apoptosis and reduces migration of hepatocellular carcinoma HepG2 cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2772-2779
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2772.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2772>

摘要

目的: 应用RNA干扰技术抑制人肝细胞癌细胞系HepG2细胞*DcR3*表达, 并研究*DcR3*基因沉默后对HepG2细胞凋亡和迁移能力的影响。

方法: 设计并合成特异性*DcR3*-siRNA 4条和

■同行评议者

高润平, 教授, 吉林大学第一医院肝胆胰内科

阴性对照siRNA 1条, 转染HepG2细胞, 通过半定量反转录-PCR(RT-PCR)及免疫细胞化学方法检测其对DcR3表达的抑制作用并筛选出干扰效果最强的siRNA, 应用流式细胞仪、DNA ladder方法检测细胞的凋亡情况, 应用划痕实验检测细胞体外迁移能力的变化。

结果: 各特异性DcR3-siRNA均能抑制DcR3 mRNA表达($P<0.05$), 其中以DcR3-siRNA4的抑制作用最明显, 抑制作用达62.9%; 将DcR3-siRNA4转染HepG2细胞能明显抑制HepG2细胞DcR3蛋白的表达($P<0.01$)。流式细胞仪检测结果显示, 特异性DcR3-siRNA转染组细胞的凋亡率($22.97\% \pm 2.10\%$)明显高于空白对照组($1.17\% \pm 0.32\%$)、脂质体转染组($1.44\% \pm 0.43\%$)和非特异性siRNA转染组($1.22\% \pm 0.40\%$)(均 $P<0.001$); DNA ladder实验发现特异性DcR3-siRNA转染组出现DNA ladder, 而空白对照组、脂质体转染组和非特异性siRNA转染组均未出现DNA ladder。划痕实验结果显示, 转染后24、48和72 h, 特异性DcR3-siRNA转染组细胞的相对迁移率均低于空白对照组、脂质体转染组和非特异性siRNA转染组。

结论: DcR3在肝癌细胞的凋亡及迁移中发挥重要作用, 抑制DcR3的表达能诱导肝癌细胞凋亡并降低肝癌细胞的迁移能力。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: DcR3; 肝细胞癌; RNAi; 凋亡; 迁移

核心提示: 诱捕受体3(decoy receptor 3, DcR3)在肝癌细胞中过表达, 并在肝癌细胞的凋亡及迁移中发挥重要作用, 抑制DcR3的表达能诱导肝癌细胞凋亡并降低肝癌细胞的迁移能力。

苏传丽, 罗殿中, 陈罡, 覃新干. 小干扰RNA靶向抑制DcR3基因对肝癌细胞凋亡和迁移的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2772-2779 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2772.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2772>

0 引言

诱捕受体3(decoy receptor 3, DcR3)是肿瘤坏死因子受体超家族成员之一, 在多种恶性肿瘤中呈现过表达, 能抑制肿瘤细胞的凋亡并与肿瘤的浸润、转移有关, 若能抑制恶性肿瘤中DcR3的表达, 则可能阻抑肿瘤的发生发展, 并为肿瘤的治疗提供新策略。RNA干扰(RNA interference, RNAi)是近年新发展的一种特异抑制基因表达

的技术, 主要用于基因功能和基因治疗研究方面。本研究应用RNAi技术, 将合成的针对DcR3的siRNA转染人肝细胞癌细胞系HepG2细胞, 观察DcR3表达受抑制后肝细胞癌细胞凋亡和迁移能力的变化情况。

1 材料和方法

1.1 材料 根据DcR3 mRNA的序列(Genbank, DcR3: NM_003823)由上海吉玛制药技术有限公司设计并合成4段DcR3特异性siRNA片段和一段与任何基因皆无同源性的非特异性siRNA即阴性对照siRNA, 各siRNA序列具体为: DcR3特异性siRNA序列: siRNA1: sense: 5'-GGCUGUACGCGGAGUGGCATT-3', anti-sense: 5'-UGCCACUCCGCGUACAGCCGG-3'; siRNA2: sense: 5'-GCUCCAGCAAGGACCAUGATT-3', anti-sense: 5'-UCAUGGUCCUUGCUGGAGCAG-3'; siRNA3: sense: 5'-GCCAGAACACGCAGUGCCATT-3', anti-sense: 5'-UGGCACUGCGUGUUCUGGCTG-3'; siRNA4: sense: 5'-CGCAGUUCUGGAACUACCUTT-3', anti-sense: 5'-AGGUAGUCCAGAACUGCGTG-3'; 非特异性siRNA序列: sense: 5'-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3', antisense: 5'-ACGUGACACGUUCGGAGAATT-3'。人肝细胞癌细胞系HepG2购自中国科学院上海细胞生物研究所, DMEM培养基购自美国GIBCO公司, FBS购自天津灏洋生物制品科技有限责任公司, 脂质体Lipofectamine™ 2000购自美国Invitrogen公司, Simply P总RNA提取试剂盒购自BioFlux公司, 逆转录试剂盒购自Fermentas公司, Taq DNA聚合酶购自日本TaKaRa公司, 抗DcR3兔多克隆抗体购自美国Santa Cruz公司, 二抗和DAB显色液购自北京中杉金桥生物技术有限公司, AnnexinV-异硫氰酸荧光素 (fluorescein isothiocyanate, FITC)细胞凋亡检测试剂盒购自南京凯基生物科技发展有限公司, 血液/细胞/组织基因组DNA提取试剂盒购自天根生化科技(北京)有限公司, PCR引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: HepG2细胞培养于含10%胎牛血清的DMEM培养液, 并置于37℃、50 mL/L CO₂、饱和湿度培养箱培养。实验采用对数生长期细胞。

1.2.2 细胞转染: 根据Lipofectamine™ 2000说

■研发前沿
肿瘤基因靶向治疗的研究目前备受关注, 在恶性肿瘤发生发展过程中起重要作用的癌基因的发现和抑制基因表达技术的发展, 将对提高肿瘤的治疗效果, 改善患者预后起积极的推动作用。

■相关报道

以往研究发现DcR3在多种恶性肿瘤中过表达,抑制肿瘤细胞的凋亡并与肿瘤的浸润、转移有关,可作为恶性肿瘤基因治疗的靶点。

表 1 各组DcR3 mRNA相对表达水平 (mean ± SD)

分组	DcR3/ β -actin相对灰度值
空白对照组	0.5892 ± 0.0634
脂质体转染组	0.5769 ± 0.0575
非特异性siRNA转染组	0.5966 ± 0.0604
siRNA1组	0.2315 ± 0.0424 ^{acegi}
siRNA2组	0.3999 ± 0.0526 ^{ace}
siRNA3组	0.4538 ± 0.0761 ^{ace}
siRNA4组	0.2187 ± 0.0394 ^{acegi}

^a $P < 0.05$ vs 空白对照组; ^c $P < 0.05$ vs 脂质体转染组; ^e $P < 0.05$ vs 非特异性siRNA转染组; ^g $P < 0.05$ vs siRNA2组; ⁱ $P < 0.05$ vs siRNA3组。DcR3: 诱捕受体3。

说明书实验步骤进行转染,细胞分为实验组和对照组,实验组分siRNA1、siRNA2、siRNA3、siRNA4 4组,对照组分空白对照组、脂质体组和非特异性siRNA转染组,各组siRNA转染的终浓度为100 nmol/L。用荧光显微镜和流式细胞仪检测转染效率。

1.2.3 RT-PCR检测DcR3 mRNA表达情况: 转染后24 h收集各组细胞,用Simply P总RNA提取试剂盒提取细胞总RNA、定量,各组取等量RNA逆转录后进行PCR。DcR3 PCR上游引物为: 5'-TCCACCGCGCCACTACAC-3', 下游引物为: 5'-ACGGCACGCTCACACTCC-3', 扩增片段长度426 bp; 内参照为 β -actin, 上游引物为: 5'-TTCCAGCCTTCCTTCCTGG-3', 下游引物为: 5'-TTGCGCTCAGGAGGAGCAAT-3', 扩增片段长度224 bp。PCR反应条件: 95 °C 5 min, 95 °C 45 s, 58 °C 45 s, 72 °C 1 min共32个循环, 72 °C 10 min。PCR产物经2%琼脂糖凝胶电泳后用凝胶成像分析系统分析。

1.2.4 细胞免疫化学实验检测DcR3蛋白的表达: 制备细胞爬片,按照分组对细胞进行相应处理,转染48 h后,进行免疫细胞化学染色,反应条件为: 1:300稀释的一抗室温孵育2 h,二抗室温孵育30 min, DAB染液显色10 min。再由两名病理科医师采用双盲法阅片和评分,计数细胞1000个以上,靶细胞阳性率<5%为0分, 5%-25%为1分, 26%-50%为2分, 51%-75%为3分, >75%为4分; 显色程度按切片中细胞显色有无及染色深浅记分,细胞无染色为0分, 浅棕黄色为1分, 棕黄色为2分, 棕褐色为3分; 将两分相乘,结果分为4个等级, 0分为(-), 1-4分为(+), 5-8分为(++), ≥9分为(+++)。

1.2.5 流式细胞仪检测细胞凋亡情况: 细胞分为空白对照组、脂质体转染组、非特异性siRNA转染组及干扰效果最佳的特异性DcR3-siRNA转染组。转染后72 h, 收集各组细胞,按试剂盒说明书,加入500 μ L的Binding Buffer悬浮细胞,然后加入2 μ L Annexin V-FITC混匀,再加入5 μ L碘化丙啶(propidium iodide, PI)混匀,室温避光反应5-15 min,在1 h内,应用流式细胞仪进行检测,计算凋亡细胞的百分比。

1.2.6 DNA ladder检测细胞凋亡情况: 转染后72 h,收集各组细胞,按说明书提取各组细胞的基因组DNA,提取的基因组DNA经琼脂糖凝胶电泳,然后用凝胶成像分析系统观察是否出现反映细胞凋亡的DNA ladder。

1.2.7 划痕实验检测肝癌细胞的运动迁移能力: 转染前用10 μ L Tip头在每孔中央划痕,用PBS冲洗3遍,洗掉脱落细胞,镜下记录划痕区相对距离作为划痕区的原始距离,并拍照。在转染后24、48、72 h分别测量划痕创面的宽度,以原始距离减去各个时间点划痕创面的宽度计算出细胞迁移的相对距离,每组设三个孔,每孔等距离取三个点作为测量点,测量后取均数,按下面公式计算细胞的相对迁移率: 细胞相对迁移率 = 细胞迁移的相对距离/划痕区的原始距离 × 100%。

统计学处理 应用SPSS16.0统计软件进行分析,实验数据以mean ± SD表示,计量资料多组之间比较采用ANOVA进行,等级资料多组之间比较采用随机区组设计的秩和检验(Friedman检验),计数资料比较采用四格表确切概率法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 转染效果的鉴定 荧光显微镜计数和流式细胞仪检测结果显示转染效率约为85%,保证了后续实验顺利进行。

2.2 特异性DcR3-siRNA对DcR3 mRNA表达的影响及siRNA的筛选 半定量RT-PCR结果显示,各DcR3特异性siRNA均有抑制DcR3 mRNA表达的作用($P < 0.05$),其中以siRNA4的作用更明显,干扰作用达62.9%, siRNA1、siRNA2、siRNA3的干扰作用分别为60.7%、32.1%、23.0%,而脂质体转染组和非特异性siRNA转染组对DcR3 mRNA的表达无影响($P > 0.05$)(表1, 图1)。因此,我们选择干扰效果最佳的siRNA4进行后续实验。

2.3 特异性DcR3-siRNA对DcR3蛋白表达的影

表 2 各组细胞诱捕受体3蛋白表达情况

HepG2	C组	C1组	C2组	S4组
1	+++	+++	+++	+ ^{bdf}
2	+++	++	+++	— ^{bdf}
3	++	+++	++	— ^{bdf}
4	+++	++	+++	— ^{bdf}
5	+++	+++	+++	+ ^{bdf}
6	+++	+++	+++	— ^{bdf}

^b $P<0.01$ vs 空白对照组(C组); ^d $P<0.01$ vs 脂质体转染组(C1组);^f $P<0.01$ vs 非特异性siRNA转染组(C2组)。表 3 各组细胞的凋亡情况 (mean \pm SD)

分组	凋亡率(%)
空白对照组	1.17 \pm 0.32
脂质体转染组	1.44 \pm 0.43
非特异性siRNA转染组	1.22 \pm 0.40
特异性DcR3-siRNA4转染组	22.97 \pm 2.10 ^{bdf}

^b $P<0.01$ vs 空白对照组; ^d $P<0.01$ vs 脂质体转染组; ^f $P<0.01$ vs 非特异性siRNA转染组。DcR3: 诱捕受体3。

响 将DcR3-siRNA4转染入HepG2细胞, 免疫细胞化学结果显示, 空白对照组、脂质体转染组和非特异性siRNA转染组细胞DcR3蛋白呈阳性表达(++-+++), 特异性DcR3-siRNA4转染组细胞DcR3蛋白表达明显弱于前3组, 呈阴性或弱阳性表达(--+), 特异性DcR3-siRNA4明显降低DcR3蛋白的表达($P<0.01$), 而脂质体转染组和非特异性siRNA转染组对DcR3蛋白的表达无影响($P>0.05$)(表2, 图2)。

2.4 流式细胞仪检测RNA干扰DcR3基因后对细胞凋亡的影响 流式细胞仪检测细胞凋亡结果显示, 特异性DcR3-siRNA4转染组细胞与空白对照组、脂质体转染组和非特异性siRNA转染组细胞相比, 凋亡率明显增高, 差异有统计学意义($P<0.001$), 而空白对照组、脂质体转染组和非特异性siRNA转染组细胞凋亡率每两组间比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)(表3)。

2.5 DNA ladder实验检测RNA干扰DcR3基因后对细胞凋亡的影响 DNA ladder实验结果显示特异性DcR3-siRNA4转染组出现DNA ladder, 而其余几组均未见DNA ladder出现($P<0.01$)(图3)。

2.6 RNA干扰DcR3基因后细胞迁移能力的变化 转染后各个时间点细胞相对迁移率如表4所示, 特异性DcR3-siRNA4转染组细胞相对迁移率在

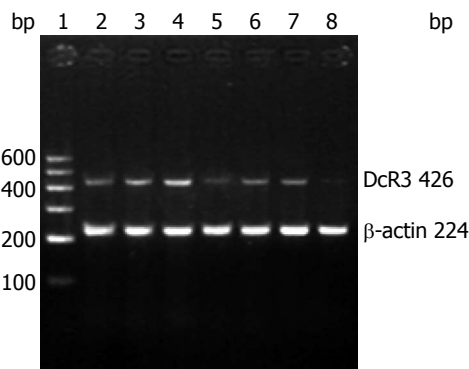


图 1 不同DcR3-siRNA干扰DcR3基因RT-PCR靶位点筛选图。

1: DNA marker; 2: 空白对照组; 3: 脂质体转染组; 4: 非特异性siRNA转染组; 5: siRNA1组; 6: siRNA2组; 7: siRNA3组; 8: siRNA4组。DcR3: 诱捕受体3。

24、48和72 h均低于空白对照组、脂质体转染组和非特异性siRNA转染组, 差异有统计学意义($P<0.01$), 而空白对照组、脂质体转染组和非特异性siRNA转染组每两组间比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)。结果表明, 特异性DcR3-siRNA4转染组细胞的迁移能力低于空白对照组、脂质体转染组和非特异性siRNA转染组(图4)。

3 讨论

肿瘤的转移和复发是导致肿瘤治疗困难和患者预后不良的重要原因。肝癌是我国常见的恶性肿瘤之一, 其发病率逐年升高, 且其转移和复发率很高, 对健康危害极大。近年来发现的TNFR超家族成员DcR3是FasL、LIGHT和TL1A的诱捕受体, 通过影响FasL、LIGHT和TL1A的促凋亡作用和免疫调节作用而抑制机体的抗肿瘤免疫, 与肿瘤的发生、发展相关^[1-6]。刘忠臣等^[7]研究肝癌发展中FasL及其受体Fas/DcR3表达情况发现, 实验小鼠在接种肝细胞癌H22细胞后的第4天, 接种部位可以检测到有DcR3表达, 第6天开始表达上调, 其表达水平随时间的延长而增加, 在FasL高表达的部位DcR3的表达量也较高, 而Fas的表达则随时间的延长而减少直至丢失, 表明肿瘤细胞通过大量表达DcR3来竞争结合FasL, 从而逃避机体的免疫监视。Yang等^[8,9]研究发现, DcR3与TL1A相互作用, 促进人脐静脉内皮细胞的增殖和迁移, 上调基质金属蛋白酶-2的表达和活性, 在体外DcR3诱导人脐静脉内皮细胞形成索状血管样结构, 在体内则诱导其形成血管, 促进肿瘤的生长和转移。陈张铭等^[10,11]研究指出DcR3在肝癌组织中表达明显增高, 肝癌组微血管密度(microvessel density, MVD)值明显

■创新盘点

本研究应用RNA干扰技术抑制人肝细胞癌细胞系HepG2细胞DcR3表达, 并研究DcR3基因沉默后对HepG2细胞凋亡和迁移能力的影响, 探讨以DcR3为靶点进行基因治疗可能性。

■应用要点

*DcR3*基因沉默可以诱导肝癌细胞凋亡,抑制肝癌细胞的运动和迁移能力,以*DcR3*为靶点进行基因治疗可以作为临床治疗肝癌细胞癌的新方向.

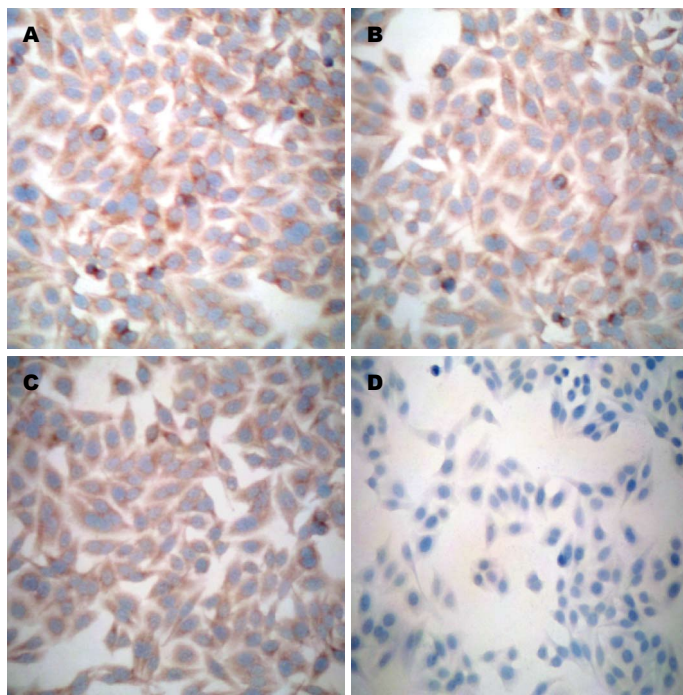


图2 免疫细胞化学检测干扰后*DcR3*蛋白的表达情况($\times 100$). A: 空白对照组; B: 脂质体转染组; C: 非特异性siRNA转染组; D: *DcR3*-siRNA4转染组. *DcR3*: 诱捕受体3.

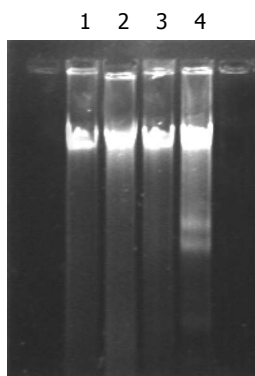


图3 DNA ladder检测RNA干扰*DcR3*基因后细胞凋亡情况. 1: 空白对照组, 未见DNA ladder; 2: 脂质体转染组, 未见DNA ladder; 3: 非特异性siRNA转染组, 未见DNA ladder; 4: 特异性*DcR3*-siRNA4转染组, 见DNA ladder. *DcR3*: 诱捕受体3.

高于癌旁组和正常对照组, *DcR3*表达水平与癌组织MVD值呈正相关. Wu等^[12]对胃癌研究发现血清*DcR3*的水平与肿瘤的TNM分期和分化程度相关, TNM分期 $\leq T2/N1/M0$ 的患者血清*DcR3*的水平低于 $>T2/N1/M0$ 的患者, 肿瘤分化不良患者比高分化者血清*DcR3*水平高. Takahama等^[13]在也是对胃癌研究中发现, *DcR3* mRNA过表达患者的生存期短于*DcR3*不表达的患者. Shen等^[14,15]和陈罡等^[16,17]以前的研究结果发现HCC组织存在*DcR3* mRNA和蛋白的过表达, 而癌旁组织无阳性表达, *DCR3*的高表达可影响凋亡并与肿瘤大小、TNM分期、浸润或转移有关. 杨梅松竹等^[18]研究结果显示HCC组和肝硬化组血清*DcR3*水平均明显高于正常对照组, HCC血清

*DcR3*水平与伴有肝硬化、包膜浸润和复发转移有关, *DcR3*蛋白在HCC癌组织中的表达与血清水平呈正相关. 若能抑制*DcR3*的表达, 则可使肿瘤细胞失去*DcR3*的保护作用, 诱导肿瘤细胞凋亡, 降低肿瘤的转移和复发率, 改善患者的预后.

RNAi技术是新发展的一种特异抑制基因表达的技术, 主要是利用外源导入的dsRNA启动细胞内的RNAi机制, 诱导同源序列的基因表达受抑制, 是一种序列特异的转录后基因沉默, 主要应用于基因功能和基因治疗学方面的研究^[19-23]. Elbashir等研究发现外源导入的<30个碱基的siRNA可对哺乳动物细胞造成特异性基因的抑制, 但不会激活细胞干扰素系统造成非特异性基因降解和细胞死亡, 而且体外合成的siRNA具有抑制作用强、稳定性高、细胞摄取相对容易等优点^[24], 这一研究成果对在哺乳动物细胞进行RNAi试验起到了极大的指导作用.

目前大部分研究中所报道的siRNA都是利用21个碱基对的短双链RNA, 主要是因为体内Dicer酶消化双链RNA的产物为21nt^[24-26]. 而我们实验中也使用21个碱基对的siRNA. 进行RNAi实验时, siRNA能否对靶基因产生沉默效应, 关键在于siRNA序列的结构, 不同的siRNA序列沉默基因的效率差别很大. 因此, 理性设计有效的siRNA就成为实验成功的一个关键因素. 虽然Elbashir等^[27]提出的siRNA设计方法具有一定的指导意义, 但是siRNA筛选效率仍然很低. 因此本实验设计了多条siRNA, 并通过半定量

表 4 RNA干扰DcR3基因后细胞迁移能力的变化 (mean ± SD)

时间	细胞相对迁移率(%)			
	空白对照组	脂质体转染组	非特异性siRNA转染组	特异性DcR3-siRNA4转染组
24 h	26.18 ± 1.93	25.83 ± 3.22	25.02 ± 2.75	14.05 ± 2.92 ^{bdf}
48 h	72.78 ± 7.02	70.45 ± 7.92	71.53 ± 8.00	40.13 ± 1.94 ^{bdf}
72 h	95.83 ± 4.08	96.33 ± 3.55	97.31 ± 3.47	50.51 ± 3.52 ^{bdf}

^b $P < 0.01$ vs 空白对照组, ^d $P < 0.01$ vs 脂质体转染组, ^f $P < 0.01$ vs 非特异性siRNA转染组.

同行评价

本研究通过 siRNA 有效阻断人肝细胞癌细胞系(HepG2)DcR3 mRNA 转录和蛋白的合成, 进而使 HepG2 细胞凋亡增加和迁移能力降低. 本研究是以人肝癌细胞为靶细胞, 诱捕受体(DcR3)为治疗靶点的实验研究, 对于探索肝癌基因治疗的可能性提供了实验基础.

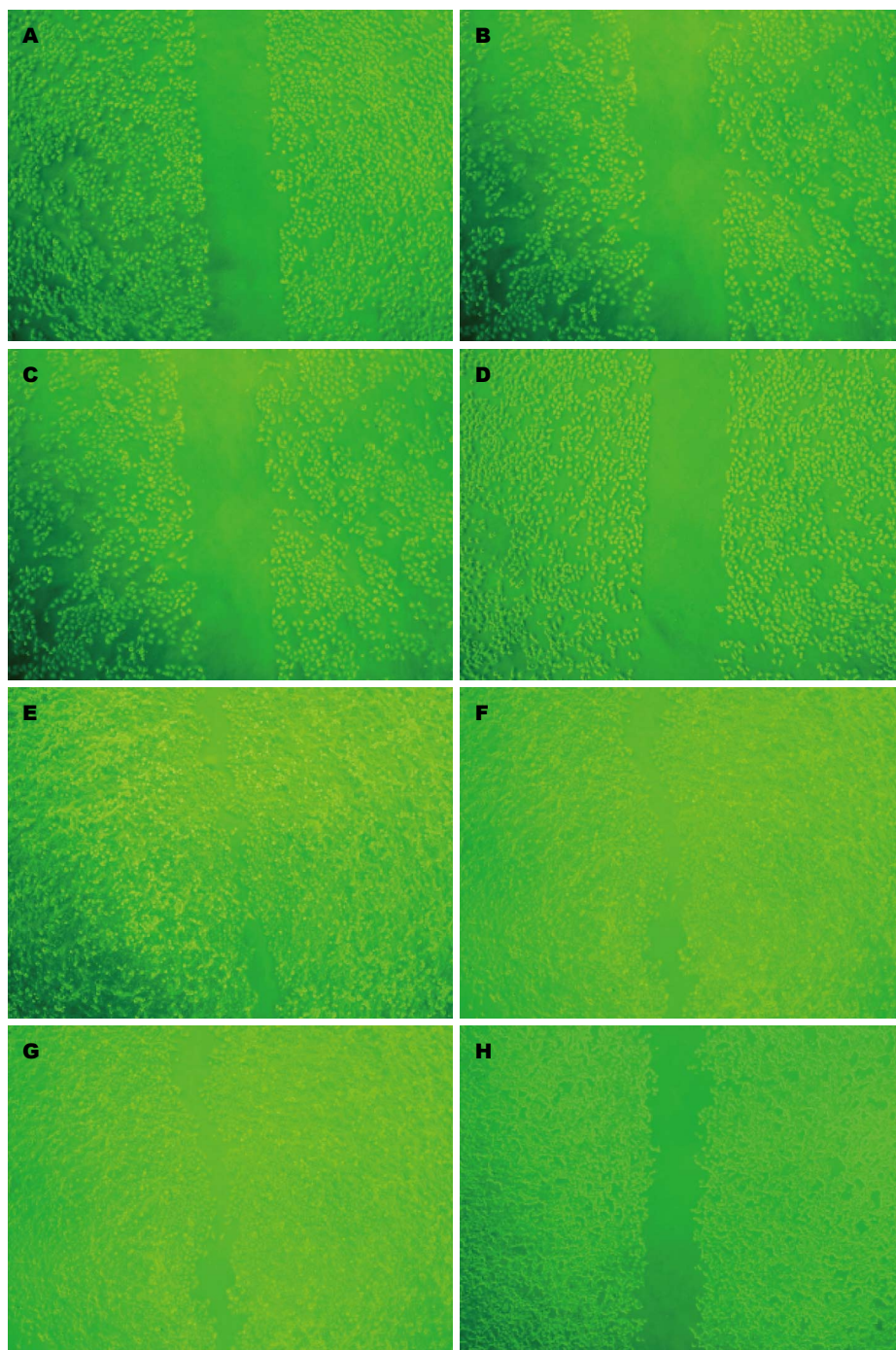


图 4 RNA干扰DcR3基因后对HepG2细胞迁移能力的影响(×40). 特异性DcR3-siRNA4转染组细胞相对迁移率低于空白对照组、脂质体转染组和非特异性siRNA转染组. A: 0 h 空白对照组; B: 0 h 脂质体转染组; C: 0 h 非特异性siRNA转染组; D: 0 h DcR3-siRNA4转染组; E: 72 h 空白对照组; F: 72 h 脂质体转染组; G: 72 h 非特异性siRNA转染组; H: 72 h DcR3-siRNA4转染组.

RT-PCR筛选干扰效果最佳的一条siRNA进行后续实验。半定量RT-PCR结果显示,各DcR3特异性siRNA均有抑制DcR3 mRNA表达的作用,其中以siRNA4的作用更明显,干扰作用达62.9%, siRNA1、siRNA2、siRNA3的干扰作用分别为60.7%、32.1%、23.0%,而脂质体转染组和非特异性siRNA转染组对DcR3 mRNA的表达无影响。将筛选出的siRNA4转染HepG2细胞,免疫细胞化学染色结果显示其可明显抑制DcR3蛋白的表达。为后续功能实验顺利进行奠定了基础。

细胞凋亡分为早期凋亡与晚期凋亡两个阶段。Annexin V和PI双染法检测的是凋亡早期细胞;DNA ladder检测的是凋亡晚期细胞,出现DNA ladder说明有足够多的凋亡晚期细胞,故我们应用Annexin V-FITC和PI双染法和DNA ladder实验分别检测凋亡早期和晚期细胞。转染后72 h,流式细胞仪检测细胞凋亡率结果显示,特异性DcR3-siRNA转染组细胞与空白对照组、脂质体转染组和非特异性siRNA转染组细胞相比,凋亡率明显增高。DNA ladder实验显示特异性DcR3-siRNA转染组出现DNA ladder,而空白对照组、脂质体转染组和非特异性siRNA转染组均未出现DNA ladder,说明特异性DcR3-siRNA转染组细胞的凋亡率明显高于其他组细胞。这些结果与以前的研究者用DcR3反义mRNA和DcR3中和性抗体处理肝癌细胞所得的结果一致^[28-31]。表明以RNAi技术抑制DcR3表达后,肿瘤细胞失去DcR3保护,循FasL、LIGHT或其他凋亡途径进入死亡程序。

通过划痕实验,我们发现转染后24、48和72 h各个时间点特异性DcR3-siRNA转染组细胞相对迁移率均低于空白对照组、脂质体转染组和非特异性siRNA转染组,表明特异性DcR3-siRNA可以明显的降低肝癌细胞的运动和迁移能力,在DcR3存在的情况下,肝癌细胞能够更快速的运动,从而发生临床上的浸润、复发和转移。这与陈罡等用DcR3中和性抗体处理肝癌细胞所得的结果一致^[32]。Yang等^[8,9]证实,DcR3在体内可诱导血管形成,促进肿瘤的生长和转移。我们在体外实验观察到特异性DcR3-siRNA可以直接抑制肝癌细胞的运动和迁移能力,其具体机制未明,值得进一步深入研究。

通过以上实验,我们发现,DcR3基因沉默可以诱导肝癌细胞凋亡,抑制肝癌细胞的运动和迁移能力,表明DcR3在肿瘤的免疫逃逸和复发、转移中发挥重要作用。以DcR3为靶点进行

基因治疗可以作为临床治疗肝细胞癌的新方向。

4 参考文献

- 1 Pitti RM, Marsters SA, Lawrence DA, Roy M, Kischkel FC, Dowd P, Huang A, Donahue CJ, Sherwood SW, Baldwin DT, Godowski PJ, Wood WI, Gurney AL, Hillan KJ, Cohen RL, Goddard AD, Botstein D, Ashkenazi A. Genomic amplification of a decoy receptor for Fas ligand in lung and colon cancer. *Nature* 1998; 396: 699-703 [PMID: 9872321 DOI: 10.1038/25387]
- 2 Yu KY, Kwon B, Ni J, Zhai Y, Ebner R, Kwon BS. A newly identified member of tumor necrosis factor receptor superfamily (TR6) suppresses LIGHT-mediated apoptosis. *J Biol Chem* 1999; 274: 13733-13736 [PMID: 10318773 DOI: 10.1074/jbc.274.20.13733]
- 3 Migone TS, Zhang J, Luo X, Zhuang L, Chen C, Hu B, Hong JS, Perry JW, Chen SF, Zhou JX, Cho YH, Ullrich S, Kanakaraj P, Carrell J, Boyd E, Olsen HS, Hu G, Pukac L, Liu D, Ni J, Kim S, Gentz R, Feng P, Moore PA, Ruben SM, Wei P. TL1A is a TNF-like ligand for DR3 and TR6/DcR3 and functions as a T cell costimulator. *Immunity* 2002; 16: 479-492 [PMID: 11911831 DOI: 10.1016/S1074-7613(02)00283-2]
- 4 Roth W, Isenmann S, Nakamura M, Platten M, Wick W, Kleihues P, Bähr M, Ohgaki H, Ashkenazi A, Weller M. Soluble decoy receptor 3 is expressed by malignant gliomas and suppresses CD95 ligand-induced apoptosis and chemotaxis. *Cancer Res* 2001; 61: 2759-2765 [PMID: 11289159]
- 5 Shi G, Wu Y, Zhang J, Wu J. Death decoy receptor TR6/DcR3 inhibits T cell chemotaxis in vitro and in vivo. *J Immunol* 2003; 171: 3407-3414 [PMID: 14500635]
- 6 Wan X, Shi G, Semenuk M, Zhang J, Wu J. DcR3/TR6 modulates immune cell interactions. *J Cell Biochem* 2003; 89: 603-612 [PMID: 12761893 DOI: 10.1002/jcb.10523]
- 7 刘忠臣, 罗芳洪, 陈彩霞, 杨东海, 范鑫, 程小峰, 庄国洪. 肝癌发展中FasL及其受体Fas/DcR3的表达分析. *免疫学杂志* 2010; 26: 242-245
- 8 Yang CR, Hsieh SL, Teng CM, Ho FM, Su WL, Lin WW. Soluble decoy receptor 3 induces angiogenesis by neutralization of TL1A, a cytokine belonging to tumor necrosis factor superfamily and exhibiting angiostatic action. *Cancer Res* 2004; 64: 1122-1129 [PMID: 14871847 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-03-0609]
- 9 Yang CR, Hsieh SL, Ho FM, Lin WW. Decoy receptor 3 increases monocyte adhesion to endothelial cells via NF-kappa B-dependent up-regulation of intercellular adhesion molecule-1, VCAM-1, and IL-8 expression. *J Immunol* 2005; 174: 1647-1656 [PMID: 15661928]
- 10 陈张铭, 任四兰, 张蕾. 陷阱受体3在肝细胞性肝癌中的表达及其对血管生成的影响. *中国现代医学杂志* 2009; 19: 1792-1792
- 11 陈张铭, 张阳德, 任四兰, 张蕾. 肝细胞性肝癌中DcR3的表达及其对微血管密度的影响. *长沙医学院学报* 2007; 12: 18-23
- 12 Wu Y, Han B, Sheng H, Lin M, Moore PA, Zhang J, Wu J. Clinical significance of detecting elevated serum DcR3/TR6/M68 in malignant tumor patients. *Int J Cancer* 2003; 105: 724-732 [PMID: 12740925 DOI: 10.1002/ijc.11138]
- 13 Takahama Y, Yamada Y, Emoto K, Fujimoto H,

- Takayama T, Ueno M, Uchida H, Hirao S, Mizuno T, Nakajima Y. The prognostic significance of overexpression of the decoy receptor for Fas ligand (DcR3) in patients with gastric carcinomas. *Gastric Cancer* 2002; 5: 61-68 [PMID: 12111580 DOI: 10.1007/s101200200011]
- 14 Shen HW, Gao SL, Wu YL, Peng SY. Overexpression of decoy receptor 3 in hepatocellular carcinoma and its association with resistance to Fas ligand-mediated apoptosis. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 5926-5930 [PMID: 16273601]
- 15 Shen HW, Wu YL, Peng SY. [Overexpression and genomic amplification of decoy receptor 3 in hepatocellular carcinoma and significance thereof]. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2003; 83: 744-747 [PMID: 12899749]
- 16 陈罡, 罗殿中, 王云, 廖芝玲, 张美艳. 肝细胞癌中DcR3表达和癌细胞凋亡的关系研究. *中华病理学杂志* 2007; 36: 113-117
- 17 陈罡, 罗殿中. 原发性肝细胞癌中诱捕受体3的过度表达及临床意义. *广东医学* 2006; 27: 1438-1440
- 18 杨梅松竹, 陈罡, 党裔武, 陈霜, 罗殿中. 肝细胞癌患者血清DcR3水平与临床意义. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 2042-2047
- 19 Fire A, Xu S, Montgomery MK, Kostas SA, Driver SE, Mello CC. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 1998; 391: 806-811 [PMID: 9486653 DOI: 10.1038/35888]
- 20 Hutvagner G. Small RNA asymmetry in RNAi: function in RISC assembly and gene regulation. *FEBS Lett* 2005; 579: 5850-5857 [PMID: 16199039 DOI: 10.1016/j.febslet.2005.08.071]
- 21 Scherer LJ, Rossi JJ. Approaches for the sequence-specific knockdown of mRNA. *Nat Biotechnol* 2003; 21: 1457-1465 [PMID: 14647331 DOI: 10.1038/nbt915]
- 22 Ait-Si-Ali S, Guasconi V, Harel-Bellan A. [RNA interference and its possible use in cancer therapy]. *Bull Cancer* 2004; 91: 15-18 [PMID: 14975801]
- 23 Hannon GJ. RNA interference. *Nature* 2002; 418: 244-251 [PMID: 12110901 DOI: 10.1038/418244a]
- 24 Elbashir SM, Harborth J, Lendeckel W, Yalcin A, Weber K, Tuschl T. Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells. *Nature* 2001; 411: 494-498 [PMID: 11373684 DOI: 10.1038/35078107]
- 25 Czauderna F, Fechtner M, Dames S, Aygün H, Klippel A, Pronk GJ, Giese K, Kaufmann J. Structural variations and stabilising modifications of synthetic siRNAs in mammalian cells. *Nucleic Acids Res* 2003; 31: 2705-2716 [PMID: 12771196 DOI: 10.1093/nar/gng066]
- 26 Zou GM, Wu W, Chen J, Rowley JD. Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in differentiated mouse ES cells. *Biol Cell* 2003; 95: 365-371 [PMID: 14519553 DOI: 10.1016/S0248-4900(03)00079-0]
- 27 Elbashir SM, Harborth J, Weber K, Tuschl T. Analysis of gene function in somatic mammalian cells using small interfering RNAs. *Methods* 2002; 26: 199-213 [PMID: 12054897 DOI: 10.1016/S1046-2023(02)00023-3]
- 28 吴泰璜, 段伟宏, 苏忠学, 吴亚光. 反义DcR3 RNA转染诱导肝癌细胞凋亡的作用. *中华微生物学和免疫学杂志* 2005; 25: 799-802
- 29 段伟宏, 苏忠学, 吴泰璜. DcR3反义RNA与顺铂对肝癌细胞凋亡影响的比较. *中国现代普通外科进展* 2005; 8: 90-92
- 30 段伟宏, 苏忠学, 吴泰璜. 转染反义DcR3真核表达载体协同氟尿嘧啶诱导肝癌细胞凋亡. *中华肝胆外科杂志* 2006; 12: 98-100
- 31 陈罡, 党裔武, 罗殿中. 诱捕受体3和中性抗体在HepG2细胞凋亡中的作用. *中华肝脏病杂志* 2008; 16: 791-792
- 32 陈罡, 罗殿中, 党裔武. DcR3对肝癌细胞生长迁移的影响. *陕西医学杂志* 2009; 38: 344-347

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



肝脏分段解剖学的研究进展

刘巧云, 马心逸, 喻智勇

■背景资料

尽管从第一部肝脏解剖学著作 Francis Glisson 的《肝脏解剖学》诞生到现在已有将近400年的历史,但是直到19世纪50-60年代对肝脏内部解剖结构的认识才逐渐清晰,并产生了多种分段方法,然而由于肝脏内部结构的自身复杂性,各种分段方法都存在诸多的争论。

刘巧云, 马心逸, 喻智勇, 昆明医科大学第一附属医院肝胆外科 云南省昆明市 650032

刘巧云, 硕士, 主要从事肝脏外科的基础与临床研究。

国家自然科学基金面上资助项目, No. 81060041

作者贡献分布: 本文综述由刘巧云与马心逸共同完成; 喻智勇负责审校。

通讯作者: 喻智勇, 副教授, 副主任医师, 650032, 云南省昆明市西昌路295号, 昆明医科大学第一附属医院肝胆外科。

rsyby@139.com

电话: 0871-65324888

收稿日期: 2013-05-06 修回日期: 2013-06-03

接受日期: 2013-07-03 在线出版日期: 2013-09-28

Advances in research of segmental anatomy of the liver

Qiao-Yun Liu, Xin-Yi Ma, Zhi-Yong Yu

Qiao-Yun Liu, Xin-Yi Ma, Zhi-Yong Yu, Department of Hepatobiliary Surgery, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81060041

Correspondence to: Zhi-Yong Yu, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, 295 Xichang road, Kunming 650032, Yunnan Province, China. rsyby@139.com

Received: 2013-05-06 Revised: 2013-06-03

Accepted: 2013-07-03 Published online: 2013-09-28

Abstract

Since the concept of liver segmental anatomy was first put forward by Francis Glisson in 1654, Hjortsjo segmentation, Healey arteriobiliary segmentation, Couinaud portal and hepatic vein segmentation have been proposed. Although the nomenclature of hepatic anatomy and resections was introduced in the international conference of HPB held in Brisbane, Australia in 2000, the development of liver anatomical techniques (such as iconography and virtual digital technique) as well as the constantly updating knowledge about segmentation of the liver lobe and understanding of the anatomy have raised some new issues. Retrospective analysis and understanding of the features of various segmentation methods and the rules of clinical practice will help us find the most suitable idea of "precise liver resection" in nowadays.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Liver segmentation; New ideas of segmentation; Liver resection

Liu QY, Ma XY, Yu ZY. Advances in research of segmental anatomy of the liver. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(27): 2780-2786 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2780.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2780>

摘要

自1654年英国人Francis Glisson在其著作《肝脏解剖学》中首次提出肝段解剖学概念,对肝脏解剖分段的认识先后出现了Hjortsjo分段、Healey动脉/胆管分段、Couinaud门静脉/肝静脉分段等十几种肝脏分段的方法。尽管2000年国际肝胆胰学会在澳大利亚布里斯班会议上统一对肝脏解剖及肝脏切除术进行了命名。但是随着肝脏解剖研究技术(例如影像学、虚拟数字化研究等)的不断发展,对肝脏分叶、分段解剖及其应用的认识仍在不断更新。回顾过去的肝脏分段方法,深入的了解各种分段方法的特点,结合临床实际,寻求适合当代“精准肝切除”理论的肝脏解剖分段的新思路。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝脏分段法; 分段新思路; 肝切除术

核心提示: 近半个世纪以来,对于肝脏解剖的认识取得了迅猛的发展,肝脏外科也因此一次次突破所谓的手术禁区。每一次肝脏解剖有新的认识都会引起肝脏外科技术理论的革新。回顾过去的各种分段方法,从而寻求适应当代肝脏外科新理论的新分段思路。

刘巧云, 马心逸, 喻智勇. 肝脏分段解剖学的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2780-2786 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2780.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2780>

0 引言

1654年英国人Francis Glisson在其著作《Anatomia hepatis》中首次描述肝段解剖学的概念^[1]。1891年德国人Rex、英国人Cantlie提出肝左、

■同行评议者

李华, 副教授, 中山大学器官移植研究所, 中山大学附属第三医院肝脏移植中心

右叶分界线为Rex-Cantlie线^[2]。进入20世纪50年代, 肝脏外科进入了解剖学与外科学相结合而推动肝脏外科发展的时代^[3], 而后各国学者相继提出了多种肝脏分叶、分段方法, 其中, 相对经典且应用较为广泛的主要是Healey等^[4-6]以肝动脉、胆管走形为基础分段法(北美分段法)和Couinaud^[7]、Bismuth^[8]等以门静脉、肝静脉走形为基础分段法(法国分段法)。尽管2000年国际肝胆胰学会在澳大利亚布里斯班会议上统一对肝脏解剖及肝脏切除术进行了命名^[9], 2000-10我国肝胆外科专家组也在“第六届全国肝脏外科学术会议”上提出了一组肝脏解剖和肝脏手术切除的统一的英文名称^[10]。但是, 由于存在不同地域的学者对肝脏应用解剖学认识的差异, 且肝脏解剖研究技术(例如影像学、虚拟数字化研究等)仍在不断发展, 对肝脏分叶、分段解剖及其应用的认识仍在不断更新。

1 传统的肝脏分段方法

1.1 Hjortsjo分段法和Healey分段法 1951年瑞典学者Hjortsjo^[11]通过对肝脏管道铸型腐蚀标本和胆道造影结果的观察, 将肝脏以主裂为界分为左、右两半肝。左半肝以附裂为界(相当于镰状韧带与左矢状裂)分为中部分、外侧部分, 外侧部分又以段间裂(平行于右段间裂)分为背外侧段与腹外侧段; 右肝以背段裂和腹段裂分为背尾侧段、中段、腹头侧段。

1952年美国学者Elias等^[12]通过对8例成人、2例儿童、4例婴儿、1例胎儿新鲜的肝脏腐蚀铸型标本及3例尸体标本, 20例胆管造影标本, 3只猫、5只成犬、3只婴儿犬的肝脏进行铸型。以各血管鞘所供应的肝脏区域为界, 认为肝脏的右主干分出中间支、外侧支、右下支、尾状叶右侧小分支及尾状突支; 左主干分出上支、中间支、左下支、方叶支及左尾状叶小分支。在外侧区域, 门静脉、肝动脉、胆管是相互伴随的, 而在门板区这并不如此。并且从胚胎学的角度提出, 左肝在胎儿期是由脐静脉供应, 起初是比右肝大的, 出生后由于左侧门静脉血流反转, 左肝尺寸才开始逐渐减小。

1953年美国学者Healey等^[6]进一步观察研究肝脏局部解剖与肝动脉/胆管系统, 提出了以Rex-Cantlie线将肝脏分为左、右两叶; 以右段间裂将右叶分为前、后两段, 以左段间裂将左叶分为中段、外侧段, 尾状叶作为一个独立的部分单独称为一个叶。左、右叶的4个段中, 每个

肝段根据其胆管引流情况又各自分为上、下两区, 尾状叶根据其胆管引流情况被应该被划分为3个部分, 分别是尾状突、左尾状叶部分、右尾状叶部分。

1.2 Goldsmith和Woodburne分段法 1957年美国学者Goldsmith和Woodburne根据活体肝脏研究, 以门静脉和肝静脉的走形为基础, 提出了一种新的分段方法他们将肝脏以通过下方的胆囊窝和上方肝中静脉的垂直平面分为左、右两叶, 左叶以下方的圆韧带到上方肝左静脉的垂直平面分为外、中两段, 右叶以肝右静脉走形的垂直平面分为前、后两段, 每个段又分为上、下两个亚段。尾状叶作为一个独立的叶, 接受肝左、肝右动脉的血液供应, 其肝静脉直接汇入下腔静脉。3条主要肝静脉走形于肝段之间, Glisson鞘进入每个段的中央。但是在Goldsmith和Woodburne的分段中对于主段中亚段的划分并没有提出明确的分段界限^[13]。

1.3 Couinaud分段法 1957年法国学者Couinaud^[7]通过对100多个离体肝脏的门静脉^[14]、肝固有动脉^[15]、胆管系统^[15,16]进行解剖研究, 以由门静脉、肝固有动脉、胆管系统组成的Glisson鞘在肝内的走形, 主要是以门静脉的走形为基础, 以肝静脉的3个主要分支为分区界线, 同时结合肝的自然沟、裂、窝和韧带, 提出了以肝静脉三个主要分支为界, 将肝脏划分为左外、右外、左旁正中、右旁正中4个扇区, 而后每个扇区又被门静脉左、右支的水平切面分成上、下两段, 由于尾状叶的特殊性, 最初Couinaud将其定义为单独的I段, 后来对于尾状叶认识不断深入, 1989年Couinaud又将其重新定义, 称其为背扇区^[17]。1994年又将背扇区分为I、IX两个段^[18]。这就是为何Couinaud门静脉分段法出现8个段或者9个段的原因。

1.4 吴孟超分段法 1960年第二军医大学吴孟超等^[19]采用肝内管道系统灌注法研究肝内血管、胆管的分布规律, 结合肝内分叶的自然分界线, 即肝裂, 提出了将肝脏分成左、右、前、后及尾状叶, 左外和右后分成上、下两段, 尾状叶分为左、右两段的五叶六段法。后来觉得尾状叶较小, 将其分为左、右两段缺乏临床手术意义, 于是后来将其合并而改称为五叶四段法。

1.5 Gupta分段法 1976年印度学者Gupta等^[20]通过对85例死亡24 h内的肝脏标本进行铸型, 基于肝门静脉^[21]、胆管^[22]、动脉^[23]走形提出通过“功能性平面(functional plane)”将肝脏分为

■ 研发前沿
肝脏解剖作为肝脏外科的基础, “精准肝切除术”作为当代肝脏外科的新理念, 为适应“精准肝切除术”的理论体系, 肝脏影像解剖、虚拟数字化三维重建及比较解剖是当前的研究热点。

■创新盘点

本文将对过去的各国、各区域肝脏解剖分段法及其分段依据进行的详细的论述,并且对各种分段方法之间存在的差异进行细致的比较,同时介绍了该领域的最新研究成果,寻求新的研究趋势。

“生理性的左、右两叶(physiological lobes)”,这个平面在肝脏的表面是从胆囊窝至下腔静脉。也像Healey等一样将肝脏分为右前、右后、中、左外4个主段8个亚段,尾状叶被单独看成第9段。但其对各段的命名顺序与Healey等完全不同,其第1段为右后上段。同时指出,完全符合这一标准9段的样本只占总样本的48.23%,而另外一半的样本中都或多或少存在变异。并且认为Healey等之所以没有提及那些变异,是因为Healey等观察标本时仅仅只是基于胆管,而没有将门静脉和肝动脉归入其中。所以Gupta等指出在术前对肝脏实行胆管造影或静脉造影是很有必要的。

1.6 Bismuth分段法 1982年法国学者Bismuth^[15]结合Goldsmith和Woodburne分段法与Couinaud分段法。他结合了三条肝主静脉所形成的平面和通过左右门静脉的一水平平面,将肝脏分为左、右半肝,右半肝分为前内、后外两个扇区,每个扇区分成为上下两个段(这与Goldsmith和Woodburne分段法相同,而且适合超声和CT等放射学分段)。左半肝分为左前、左后两个扇区(这与Couinaud门静脉分段法分法相同,是体外肝脏平面分段法)。并且将IV段分为IVa段和IVb段两个亚段。

1.7 Takasaki K(高崎健)分段法 1986年日本学者Takasaki^[24,25]从临床手术的角度,根据肝脏血供来源于Glisson系统的三个二级分支,每个二级分支供应一个肝段,同时加上一个直接接受一级分支营养的尾状叶,然后又各肝段按三级分支分成6-8个单元(即锥状单元)。提出了将肝脏分为肝左段(Couinaud S2、3、4)、肝中段(Couinaud S5、8)、肝右段(Couinaud S6、7)三段和一个尾状叶(Couinaud S1、9)的Takasaki K分段法。

1.8 Akihiro Cho(竜崇正)分段法 1999年日本学者竜崇正(Cho A)等^[26]以门静脉走行、肝静脉回流为基础,结合影像学、胚胎学。提出将肝脏分为左肝的外上段、外下段和内侧段,右肝^[27]分为前腹段、前背段、后段,尾状叶看成一段,共7段的分段法。并且提出了一个新的概念—隐藏在肝里的第3扇门:前裂^[28],在这个前裂内走行着一支前裂静脉。并在其论著中指出门静脉是左、右对称的,后段对应Couinaud S2,前背段对应Couinaud S3,前腹段对应Couinaud S4,门静脉右前主干对应左门静脉脐部。肝静脉也是对称的,以肝中静脉为中轴,肝右静脉相对肝左静

脉,脐裂静脉相对前裂静脉。

1.9 1-2-20概念 2009年瑞士学者Fasel等^[29]通过对25例门静脉铸型解剖学标本进行螺旋CT扫描,发现来自左、右门静脉二级分支水平的分支不是8支,而是9-44支,平均20支。虽然他们的发现与Couinaud八段分法存在矛盾,但他们认为Couinaud八段分法对于肝门静脉的二级的各个分支进行集合重组而得出的结论。于是他们建议将肝脏在门静脉主干水平称为1个门静脉区,在左、右门静脉一级分支水平分为左、右2个区,在左、右门静脉二级分支水平分为20个区,就是“1-2-20概念”。

1.10 统一肝脏解剖术语 1965年,第八届国际解剖学联合会议同意使用Healey动脉/胆道系统分段法。

1998年,解剖命名联合委员会(FCAT)建议使用Couinaud门静脉/肝静脉分段法。将I段定义在尾状叶,剩下的II-VIII段,以II段为起始位置,在肝膈面以顺时针方向依次排列^[30]。

2000年国际肝胆胰协会(International Hepato-Pancreato-Biliary Association, IHPBA)在Brisbane提出了国际统一的肝脏解剖及外科手术命名方法^[31]。

2 各肝脏分段方法之比较

2.1 各种分段方法基础的差异 目前全世界存在多种类型的肝脏分段法,各地采用的分段法不尽相同。比如,在美国放射学界,一般采纳Goldsmith和Woodburne分段法;在亚洲和欧洲则更倾向于采纳Couinaud分段法;随着肝脏外科的不断实践,Takasaki K根据其分段法提出的“Glisson蒂横断式肝切除术”理论,使肝脏区域性血流控制和解剖性病灶切除技术水平得到了很大的提升而越来越被重视。各分段方法所基于的肝脏解剖基础一般存在以下几种:如Hjortsjo分段法、Hans Elias分段法、Healey分段法以肝动脉/胆管系统走行了解剖基础,Couinaud分段法、Bismuth分段法、Goldsmith和Woodburne分段法、吴氏分段法以门静脉/肝静脉走行了解剖学基础,S.C.Gupta等则以Glisson鞘内的肝门静脉、动脉、胆管各自走行了解剖学基础,竜崇正等则以门静脉走行、肝静脉回流为基础,并结合了胚胎学及影像学。而Takasaki K分段法以肝脏血供Glisson系统来源为解剖学基础,1-2-20概念则单独以门静脉走行了解剖为基础。

2.2 各分段法命名之间的比较 对个分段法命名

表 1 各分段法命名之间的比较

Couinaud分段法	左半肝				右半肝				尾状叶		
	Ⅱ 段	Ⅲ 段	Ⅳ 段		V 段	Ⅵ段	Ⅶ段	Ⅷ段	I 段	Ⅸ段	
	左外扇区	左旁正中扇区			右旁正中扇区		右外扇区		背扇区		
Healey分段法	左外段		左内段		右前段		右后段		尾状段		
	左外上区	左外下区	左内上区	左内下区	右前下区	右前上区	右后下区	右后上区	左尾状叶部分	右尾状叶部分	尾状突
Goldsmith分段法	外侧段		中段		前段		后段		尾状段		
	上段	下段	上段	下段	下段	上段	下段	上段			
吴孟超5叶4段法	左外叶		左内叶		右前叶		右后叶		尾状叶		
	上段	下段			下段	上段					
S.C.Gupta分段法	外侧段		中段		前段		后段		尾状叶		
	5段	6段	7段	8段	4段	3段	2段	1段	9段		
Bismuth分段法	后扇区		前扇区		前内扇区		后外扇区		尾状叶		
	Ⅱ 段	Ⅲ 段	Ⅳ 段		V 段	Ⅵ段	Ⅶ段	Ⅷ段	I 段		
Takasaki分段法	肝左段				肝中段		肝右段		尾状叶		
竜崇正分段法	外侧叶		内侧叶		前叶		后叶		尾状叶		
	外上段	外下段	内侧段		前腹段		后段				
					前背段						
FCAT命名1998年	左外扇区		左中扇区		右中扇区		右外扇区		尾状叶		
	Ⅱ 段	Ⅲ 段	Ⅳ 段		V 段	Ⅵ段	Ⅶ段	Ⅷ段	I 段		
Brisbane命名	左外区		左内区		右前区		右后区		尾状叶		
	Ⅱ 段	Ⅲ 段	Ⅳ 段		V 段	Ⅵ段	Ⅶ段	Ⅷ段	I 段	Ⅸ段	

■应用要点

本文通过对过去的各国、各区域肝脏解剖分段法及其分段依据进行的详细的阐述,对各种分段方法之间存在的差异进行细致的比较,为肝脏外科临床医师深入认识肝脏解剖提供参考,降低术中风险减少术后并发症。

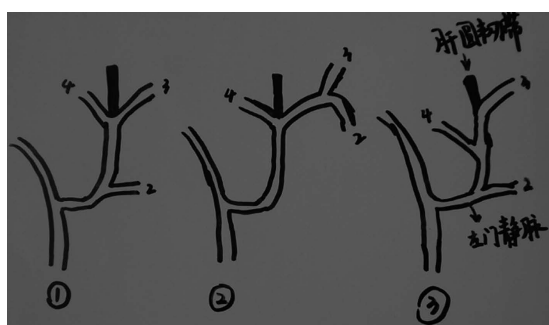


图 1 左肝门静脉供应的描述。(1): Couinaud的描述; (2): Healey的描述; (3): 吴孟超的描述。

的比较如表1。

2.3 对于左肝认识差异

2.3.1 对于左肝门静脉的认识不同: 门静脉左支主干分为横部、角部、矢状部和囊部4段。Couinaud、竜崇正等^[32]认为门静脉2段的分支和门静脉脐部是门静脉横部的两个终末支, 门静脉2段分支位于门静脉角部, 3、4段的分支由门静脉囊部发出。而Healey^[6]则认为在左肝门静脉囊部同时分出左内段的分支和左外段的共干, 而后发出左外段上、下区的分支, 同时Healey等认为门静脉左支是不规则的, 故他使用了动脉/胆管系统的分支作为其分段的基础。吴孟超则认为左肝门静脉角部外侧缘发出2段分支, 门静

脉囊部外侧缘发出3段分支, 门静脉矢状部内侧缘发出4段分支(图1)。

2.3.2 对于左肝Ⅲ段的认识不同: 尽管Takasaki^[24]没有对左肝进行细分, 而对于Couinaud八段的第Ⅲ段Healey、Goldsmith、Woodburne、吴孟超等^[6,13,19]将其并入左外侧区, 他们认为左外区与左内区的分解线应该是传统意义上得左右半肝的分界线, 即镰状韧带和脐裂。而Couinaud、Ishibashi等^[33]很多学者却更愿意把他看成为左内区的一部分, 他们认为肝左静脉主干走行于Ⅱ、Ⅲ之间, 且门静脉左支的分支形态是在角部分出P2与门静脉矢状部, 再由矢状部在左侧分出P3, 向右侧分出P4, 所以P3、P4应该属于3级分支, 而P2是2级分支。如此无论是以肝静脉来划, 还是以门静脉来的2、3级分支来划分, Ⅲ段都应该归入左内区。后来Couinaud又从胚胎学的角度进行研究, 认为肝Ⅱ段的发育早于Ⅲ、Ⅳ两段^[34]。

2.3.3 对于左肝Ⅳ的认识不同: 大部分学者对于Ⅳ段没有进行在分段, 将其看成为一个总体部分, 而日本学者Onishi^[35]及Kawarada^[36]则将Ⅳ段分为下方的Ⅳa亚段及上方的Ⅳb段两个亚段以利于肝门部胆管癌及胆囊癌的手术切除范围的确定, 尽可能的保存正常肝组织。即使对于Ⅳ段

■同行评价

本文对肝脏分段的解剖的历史、现状及趋势进行了详尽的论述,思路清晰,资料详实,能够反映该领域的状况。

亚段的划分,我国与日本在命名上也存在差异,两者的位置刚好相反。同时对于P4的来源及其分支数目也存在着诸多争议,以门静脉为分段基础的学者认为其发自门静脉矢状部,而以动脉/胆管为分段基础的学者则认为其发自左门静脉横部。对于其分支数是1、2甚至3支也一直没有得到完全的定论。

2.4 对于右肝的认识差异

2.4.1 对于右前段的认识差异: Goldsmith^[13]、Couinaud^[7]、Healey^[6]等将右前段定义为肝中静脉与肝右静脉之间的区域,且将其分为上、下两段。而Takasaki^[24]、吴孟超等^[19]学者则将其看作为一个总体以便于手术切除。而目前以日本竜崇正^[37-39]、Kogure^[40]、国内赵振美等^[41]为代表的学者,通过对CT三维重建研究,建议将右前叶分为腹侧段及背侧段,而不是上、下两段,前腹段由肝中静脉引流,前背段由肝右静脉引流,前腹段与前背段的分界线是位于其中的前裂静脉。谢于等^[42]则基于肝内门静脉解剖将右前叶分为腹侧段部分(S8v+S5)和背侧段部分(S8d)。日本学者Takayasu等^[43]则把S8门静脉支分为4个亚区支,即P8a(腹支)、P8b(背外支)、P8c(背支)、P8d(内支)。

2.4.2 对于右后段的认识差异: 对于右后段,虽然各学者之间命名存在差异,但大部分学者均将其分为上、下两段,且上、下两段的分界线为Glisson鞘一级分支水平面。而近些年竜崇正等^[44]对其提出了质疑,他们通过对门静脉进行3D重建,发现右后支的二级分支只有30%的存在明显的上、下两个分支,70%的二级分支存在多个细小的分支,故他们建议将右后段看称为一个整体部分。

2.5 对于尾状叶认识差异 Healey等^[6]先将尾状叶分为固有尾状叶及尾状突,而后以肝中裂为界将固有尾状叶(caudate lobe proper)分为左尾状叶部分、右尾状叶部分,加上尾状突为3部分。因为一般情况下尾状叶存在三支独立引流的肝管,且相互汇合及汇入左右肝管的形式多种多样。而Couinaud等^[7,45]对于尾状叶的分法曾在两种,一种是1957年提出的肝段划分法将其定义为I段(背扇区),而后于1989年将尾状叶搁置一边,以占肝背侧而且在下腔静脉前面的肝门背侧形成肝静脉下面的区域定义为肝背侧区,且将相当于以往I段的左侧部分称为I_l,右侧部分称为I_r,I_r的门静脉分为下腔右静脉前面的b-静脉,右缘的c-静脉,下腔静脉右背侧的d-静

脉。1994年Couinaud^[18]提出将I_r段定义为IX段,以适应肝尾状叶部分切除术的要求。2002年我国学者刘允怡等^[46]对Couinaud所提出的肝IX段做了详细的说明,将IX段定义在I段的右侧和下腔静脉的右前方,IX段分为IXb、IXc、IXd三个亚段,IXb位于肝右静脉与肝中静脉之间,IXc位于肝右静脉的下方,IXd位于肝右静脉的后方。吴孟超等^[19]则认为尾状叶左、右之间的血管分布多是相互交错,且肝静脉的引流都是极短小的静脉,因此,有时在解剖上亦难以加以划为段,同时临床上因其体积小,更难以分段,故不主张将其分为两段。Takayama等^[47]经过临床实践的先游离肝短静脉,使尾状叶与腔静脉分离,并创造了单独全尾状叶切除的方法,故将认为将其看做一个段比较合适。

3 结论

肝脏解剖学虽然有多种分段方法,但目前普遍使用的是Couinaud门静脉分段法。即使分类方法很多,但每一种分段法不可避免存在局限性,并有一定的争议。比如,被广泛应用的Couinaud分段法,其真实的解剖结构与理论上的肝段分界线有较大的差异,且更为复杂^[48]。又比如, Takasaki分段法则是基于临床手术的研究而提出的分段方法,尽管在临床实践中起到了十分积极的作用^[49],然而该分段方法每一段的体积30%,且分段时只到达主干的二级结构,似乎显得有点过于粗略。每一种肝脏解剖学的分段方法都于其所处的时代相适应。随着影像学技术的发展、肝脏外科技术的革新以及“精准肝切除”概念^[50,51]的提出,从实地解剖学、胚胎发生学、影像学 and 比较解剖学等方面对肝脏分叶、分段进行更深层次的研究,使肝脏分叶、分段更符合其客观实际并使临床获益,将是肝脏分段应用解剖研究新的方向。

4 参考文献

- 1 Glisson F. Anatomia hepatis. London: Pullein, 1654
- 2 Cantlie J. On a new arrangement of the right and left lobes of the liver. *J Anat Physiol* 1898; 32: IV-IX
- 3 黄志强. 肝脏外科技术的发展. *消化外科* 2002; 1: 1-6
- 4 Healey JE, Schroy PC, Sorensen RJ. The intrahepatic distribution of the hepatic artery in man. *J Int Coll Surg* 1953; 20: 133-148 [PMID: 13084954]
- 5 Healey JE. Clinical anatomic aspects of radical hepatic surgery. *J Int Coll Surg* 1954; 22: 542-550 [PMID: 13212155]
- 6 Healey JE, Schroy PC. Anatomy of the biliary ducts within the human liver; analysis of the prevailing pattern of branchings and the major varia-

- tions of the biliary ducts. *AMA Arch Surg* 1953; 66: 599-616 [PMID: 13039731 DOI: 10.1001/arch-surg.1953.01260030616008]
- 7 Couinaud C. [Intrahepatic anatomy. Application to liver transplantation]. *Ann Radiol (Paris)* 1994; 37: 323-333 [PMID: 7993018]
 - 8 Bismuth H. Surgical anatomy and anatomical surgery of the liver. *World J Surg* 1982; 6: 3-9 [PMID: 7090393 DOI: 10.1007/BF01656368]
 - 9 Strasberg SM, Phillips C. Use and dissemination of the brisbane 2000 nomenclature of liver anatomy and resections. *Ann Surg* 2013; 257: 377-382 [PMID: 22895397 DOI: 10.1097/SLA.0b013e31825a01f6]
 - 10 中国肝脏专家组. 肝脏解剖和肝脏手术切除术统一名称. *中华外科杂志* 2002; 40: 22-24
 - 11 Hjortsjo CH. The topography of the intrahepatic duct systems. *Acta Anat (Basel)* 1951; 11: 599-615 [PMID: 14829155 DOI: 10.1159/000140534]
 - 12 Elias H, Petty D. Gross anatomy of the blood vessels and ducts within the human liver. *Am J Anat* 1952; 90: 59-111 [PMID: 14902689 DOI: 10.1002/aja.1000900104]
 - 13 Goldsmith NA, Woodburne RT. The surgical anatomy pertaining to liver resection. *Surg Gynecol Obstet* 1957; 105: 310-318 [PMID: 13467662]
 - 14 Couinaud C. [Study of the intrahepatic portal vein]. *Presse Med* 1953; 61: 1434-1438 [PMID: 13120752]
 - 15 Couinaud C. Intrahepatic distribution of hepatic artery. *Acta Anat (Basel)* 1954; 22: 49-81 [DOI: 10.1159/000140947]
 - 16 Couinaud C. [Studies on intrahepatic bile ducts]. *J Chir (Paris)* 1954; 70: 310-328 [PMID: 13183966]
 - 17 Couinaud C. Surgical Anatomy of the Liver Revisited. Paris: Acheve D, imprimer Sur Les Presses, 1989: 130-132
 - 18 Couinaud C. The paracaval segments of the liver. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 1994; 2: 145-151 [DOI: 10.1007/BF01222238]
 - 19 吴孟超, 张晓华, 陈汉. 肝癌与肝病—中国人民解放军肝胆外科研究所论文集. 北京: 人民军医出版社, 1991: 71-79
 - 20 Gupta SC, Gupta CD, Arora AK. Subsegmentation of the human liver. *J Anat* 1977; 124: 413-423 [PMID: 591437]
 - 21 Gupta SC, Gupta CD, Arora AK. Intrahepatic branching patterns of portal vein. A study by corrosion cast. *Gastroenterology* 1977; 72: 621-624 [PMID: 838215]
 - 22 Baykov AA, Alexandrov AP, Smirnova IN. A two-step mechanism of fluoride inhibition of rat liver inorganic pyrophosphatase. *Arch Biochem Biophys* 1992; 294: 238-243 [PMID: 1312806 DOI: 10.1016/0003-9861(92)90163-Q]
 - 23 Gupta CD, Gupta SC. Evaluation of intrahepatic arterial branching patterns in corrosion casts. *J Anat* 1976; 122: 31-41 [PMID: 977481]
 - 24 Takasaki K. Glissonean pedicle transection method for hepatic resection: a new concept of liver segmentation. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 1998; 5: 286-291 [PMID: 9880776 DOI: 10.1007/s005340050047]
 - 25 Takasaki K. [Hepatic resection using glissonean pedicle transection]. *Nihon Geka Gakkai Zasshi* 1998; 99: 245-250 [PMID: 9642694]
 - 26 Cho A, Okazumi S, Makino H, Miura F, Ohira G, Yoshinaga Y, Toma T, Kudo H, Matsubara K, Ryu M, Ochiai T. Relation between hepatic and portal veins in the right paramedian sector: proposal for anatomical reclassification of the liver. *World J Surg* 2004; 28: 8-12 [PMID: 14648049 DOI: 10.1007/s00268-003-7038-0]
 - 27 Cho A, Asano T, Yamamoto H, Nagata M, Takiguchi N, Kainuma O, Soda H, Mori M, Narumoto S, Okazumi S, Makino H, Ochiai T, Ryu M. Relationship between right portal and biliary systems based on reclassification of the liver. *Am J Surg* 2007; 193: 1-4 [PMID: 17188078 DOI: 10.1016/j.jamsurg.2006.10.007]
 - 28 Cho A, Okazumi S, Makino H, Miura F, Shuto K, Mochiduki R, Tohma T, Kudo H, Matsubara K, Gunji H, Yamamoto H, Ryu M, Ochiai T. Anterior fissure of the right liver—the third door of the liver. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2004; 11: 390-396 [PMID: 15619014 DOI: 10.1007/s00534-004-0919-2]
 - 29 Fasel JH, Majno PE, Peitgen HO. Liver segments: an anatomical rationale for explaining inconsistencies with Couinaud's eight-segment concept. *Surg Radiol Anat* 2010; 32: 761-765 [PMID: 20111966 DOI: 10.1007/s00276-010-0626-4]
 - 30 Allen WE. Terminologia anatomica: international anatomical terminology and Terminologia Histologica: International Terms for Human Cytology and Histology. *J Anat* 2009 May 28. [Epub ahead of print] [PMID: 19486203]
 - 31 Pang YY. The Brisbane 2000 terminology of liver anatomy and resections. *HPB* 2000; 4: 333-339. author reply 99-100
 - 32 Pang YY. The Brisbane 2000 terminology of liver anatomy and resections. *HPB (Oxford)* 2002; 4: 333-339; author reply 99-100 [PMID: 18332933]
 - 33 Ishibashi Y, Sato TJ, Hirai I, Murakami G, Hata F, Hirata K. Ramification pattern and topographical relationship between the portal and hepatic veins in the left anatomical lobe of the human liver. *Okajimas Folia Anat Jpn* 2001; 78: 75-82 [PMID: 11732208]
 - 34 Couinaud C. Liver anatomy: portal (and suprahepatic) or biliary segmentation. *Dig Surg* 1999; 16: 459-467 [PMID: 10805544 DOI: 10.1159/000018770]
 - 35 Onishi H, Kawarada Y, Das BC, Nakano K, Gadziyev EM, Ravnik D, Isaji S. Surgical anatomy of the medial segment (S4) of the liver with special reference to bile ducts and vessels. *Hepatogastroenterology* 2000; 47: 143-150 [PMID: 10690598]
 - 36 Kawarada Y, Das BC, Onishi H, Taoka H, Gadziyev EM, Ravnik D, Tabata M, Isaji S. Surgical anatomy of the bile duct branches of the medial segment (B4) of the liver in relation to hilar carcinoma. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2000; 7: 480-485 [PMID: 11180874 DOI: 10.1007/s005340070018]
 - 37 Cho A, Okazumi S, Miyazawa Y, Makino H, Miura F, Ohira G, Yoshinaga Y, Tohma T, Kudo H, Matsubara K, Ryu M, Ochiai T. Limited resection based on reclassification of segment 8 of the liver. *Hepatogastroenterology* 2004; 51: 575-576 [PMID: 15086205]
 - 38 Cho A, Okazumi S, Miyazawa Y, Makino H, Miura F, Chiba S, Tohma T, Kudo H, Matsubara K, Ryu M, Ochiai T. Limited resection of the right hemiliver based on reclassification of the right anterior segment of the liver. *Hepatogastroenterology* 2004; 51: 820-821 [PMID: 15143924]
 - 39 Cho A, Okazumi S, Takayama W, Takeda A, Iwasaki K, Sasagawa S, Natsume T, Kono T, Kondo S, Ochiai T, Ryu M. Anatomy of the right anterosuperior area (segment 8) of the liver: evaluation with helical CT during arterial portography. *Radiology* 2000; 214: 491-495 [PMID: 10671598]

- 40 Kogure K, Kuwano H, Fujimaki N, Ishikawa H, Takada K. Reproposal for Hjortsjo's segmental anatomy on the anterior segment in human liver. *Arch Surg* 2002; 137: 1118-1124 [PMID: 12361415 DOI: 10.1001/archsurg.137.10.1118]
- 41 赵振美, 刘树伟, 林祥涛, 刘学静, 李振平, 汤煜春, 马刚, 娄丽. 国人肝段的再认识. *解剖学杂志* 2008; 31: 400-403
- 42 谢于, 蔡守望, 董家鸿, 周丁华, 周宁新. 基于肝内肝门静脉解剖的肝脏右前叶分段新概念. *中国临床解剖学杂志* 2010; 28: 651-654
- 43 Takayasu K, Moriyama N, Muramatsu Y, Shima Y, Goto H, Yamada T. Intrahepatic portal vein branches studied by percutaneous transhepatic portography. *Radiology* 1985; 154: 31-36 [PMID: 3964948]
- 44 Cho A, Okazumi S, Miyazawa Y, Makino H, Miura F, Ohira G, Yoshinaga Y, Tohma T, Kudo H, Matsubara K, Ryu M, Ochiai T. Proposal for a reclassification of liver based anatomy on portal ramifications. *Am J Surg* 2005; 189: 195-199 [PMID: 15720989 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2004.04.014]
- 45 Filipponi F, Romagnoli P, Mosca F, Couinaud C. The dorsal sector of human liver: embryological, anatomical and clinical relevance. *Hepatogastroenterology* 2000; 47: 1726-1731 [PMID: 11149043]
- 46 刘允怡, 迟田毅. 肝脏IX段. *中华外科杂志* 2002; 40: 25-26
- 47 Takayama T, Tanaka T, Higaki T, Katou K, Teshima Y, Makuuchi M. High dorsal resection of the liver. *J Am Coll Surg* 1994; 179: 72-75 [PMID: 8019729]
- 48 沈柏用, 施源. 肝脏分段解剖的新认识. *世界华人消化杂志* 2008; 18: 913-918
- 49 Yamamoto M, Katagiri S, Ariizumi S, Kotera Y, Takahashi Y. Glissonean pedicle transection method for liver surgery (with video). *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2012; 19: 3-8 [PMID: 21938411 DOI: 10.1007/s00534-011-0443-0]
- 50 董家鸿, 黄志强. 精准肝切除—21世纪肝脏外科新理念. *中华外科杂志* 2009; 47: 1601-1605
- 51 Yin DL, Jiang HC, Liang YJ, Meng XZ, Wang JB, Zheng TS, Liu LX. Precise hepatectomy guided by minimally invasive surgery: a novel strategy for liver resection. *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 1951-1959 [PMID: 22819915]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng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。

维生素E对非酒精性脂肪性肝病的疗效及机制的研究进展

舒祥兵, 宋海燕, 季光

舒祥兵, 宋海燕, 季光, 上海中医药大学脾胃病研究所 上海中医药大学附属龙华医院消化内科 上海市 200032
舒祥兵, 在读硕士, 主要从事非酒精性脂肪肝的机制与临床研究。上海市教委重点学科建设项目基金资助项目, Nos. J50305, E03008, 2012JW35
高等学校博士学科点专项科研基金新教师类基金资助项目, No. 20113107120002
作者贡献分布: 本文综述由舒祥兵完成; 宋海燕与季光审校。
通讯作者: 季光, 教授, 主任医师, 200032, 上海市宛平南路725号, 上海中医药大学脾胃病研究所。jiliver@vip.sina.com
电话: 021-64286261
收稿日期: 2013-06-09 修回日期: 2013-07-09
接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-28

Efficacy and mechanism of action of vitamin E in treatment of nonalcoholic fatty liver disease

Xiang-Bing Shu, Hai-Yan Song, Guang Ji

Xiang-Bing Shu, Hai-Yan Song, Guang Ji, Institute of Digestive Diseases, Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China
Supported by: the Leading Academic Discipline Project of Shanghai Municipal Education Commission, Nos. J50305, E03008, and 2012JW35; the Specialized Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education, No. 20113107120002
Correspondence to: Guang Ji, Professor, Chief Physician, Institute of Digestive Diseases, Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 725 Wanping South Road, Shanghai 200032, China. jiliver@vip.sina.com
Received: 2013-06-09 Revised: 2013-07-09
Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-28

Abstract

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is closely related to oxidative stress. Vitamin E (VE) is an effective antioxidant, which can relieve NAFLD symptoms by improving the balance between oxidation and anti-oxidation. However, recent research indicates that the mechanism of action of VE is not only limited to anti-oxidation, but also involves adjusting glucose and lipid metabolism disorders. Currently, the efficacy of VE in the treatment of NAFLD remains controversial, and its indications, dosage and treatment duration remain to be optimized. In this paper we review recent progress of clinical application of VE in the treatment of NAFLD and discuss the underlying mechanism.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Vitamin E; Nonalcoholic fatty liver disease; Oxidative stress; Glucose and lipid metabolism

Shu XB, Song HY, Ji G. Efficacy and mechanism of action of vitamin E in treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2787-2791 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2787.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2787>

摘要

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的发病与氧化应激密切相关。维生素E(vitamine E, VE)是一种有效的抗氧化剂, 能够通过改善氧化平衡缓解NAFLD症状, 新近研究表明其发挥作用的机制并不局限于此, 还包括对糖、脂质等代谢紊乱的调节。然而迄今在NAFLD治疗中, VE的应用疗效仍然存在争议, 临床适用病情、药物剂量、疗程等尚待探讨。本文就VE治疗NAFLD的临床应用及机制的近期研究进展做一综述。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 维生素E; 非酒精性脂肪性肝病; 氧化应激; 糖脂代谢

核心提示: 维生素E在改善氧化应激、糖脂代谢、铁代谢等方面起重要作用, 维生素E单独或与其他药物联合使用可能是治疗非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease)的有效策略之一。

舒祥兵, 宋海燕, 季光. 维生素E对非酒精性脂肪性肝病的疗效及机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2787-2791
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2787.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2787>

0 引言

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是指除外酒精和其他明确的损肝因素所致的、以弥漫性肝细胞大泡性脂

■背景资料

随着生活水平的提高和生活方式的改变, 非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)发病率不断上升, 已经成为21世纪全球重要的公共健康问题之一。维生素E(vitamine E, VE)有可能在NAFLD的治疗中发挥重要作用。

■同行评议者

方今女, 教授, 延边大学医学院预防医学教研室

■ 研发前沿

目前国际上尚缺乏对NAFLD稳定有效的治疗方案, 本文通过综述VE在NAFLD中的疗效及相关机制, 以期探讨VE是否能够成为治疗NAFLD的安全有效的药物。

脂肪变为主要病理表现的临床综合征^[1], 是代谢综合征在肝脏中的体现。随着肥胖和代谢综合征在全球的流行, 近20年亚洲国家NAFLD发病率增长迅速, 且呈低龄化发病趋势, 中国的上海、广州和香港等发达地区成人NAFLD患病率达15%左右^[2]。NAFLD已成为转氨酶异常的最常见的慢性肝病, 伴有炎症、肝细胞气球样变的进展为非酒精性脂肪型肝炎(non-alcoholic steatotic hepatitis, NASH), 部分NASH患者可进一步恶化为肝纤维化、肝硬化、肝癌等晚期肝病, 因此有必要积极防治NAFLD。普遍被认可的“二次打击”学说认为, 胰岛素抵抗和氧化应激是NAFLD的主要发病机制, 脂溶性维生素E(vitamine E, VE)作为一种有效的自由基清除剂, 成为NAFLD治疗药物之一, 但其临床长期应用效果不一, 并且其治疗NAFLD的机制还包括其他非抗氧化活性。因此, 本文整理VE对NAFLD的作用及其相关机制的相关报道, 以作为对VE在临床中应用的指导依据。

1 VE在NAFLD中的应用

1.1 VE的临床疗效 目前对于NAFLD的治疗还没有确切有效的方法, 由于氧化应激在NAFLD的发生和发展中起着核心的作用, 因此减少患者体内的氧应激水平不失为一种有效的策略。不过VE的早期临床研究出现了相互矛盾的结果。Hasegawa等^[3]评估了22例经肝活检证实为NASH的患者, 经过1年的VE(300 mg/d)治疗后, 肝脏组织学得到显著改善。Lavine等^[4]用VE(400-1200 IU/d)治疗肥胖的NASH儿童患者, 4-10 mo后, 血清转氨酶水平显著降低。Hoofnagle等^[5]也证实VE能够改善NASH患者的肝脏组织学和降低血清转氨酶水平, 不管是否伴随着体质量的下降。但Kugelmas等^[6]用VE(800 IU/d)治疗16例经活检证实为NASH患者12 wk后, 不能够证明VE有任何疗效。在最近两个大型的多中心随机对照试验中^[7], 对247例不伴有糖尿病的NASH成年患者, 随机接受吡格列酮(30 mg/d)、维生素E(800 IU/d)或安慰剂治疗96 wk后, 与安慰剂相比, VE明显改善NASH, 减少了肝细胞脂肪变性、小叶内炎症和肝细胞气球样变性, 而吡格列酮虽有趋势但没有统计学差异。但是两个治疗组都没有明显改善患者的肝纤维化水平^[8]。不过在一个小型的VE联合吡格列酮治疗的试验研究中发现, 联合治疗明显优于单独VE治疗, 不仅显著缓解脂肪变性和炎症, 也减轻了

组织纤维化水平^[9]。而在随后进行的另一项大型研究中, 173例NAFLD儿童随机接受VE(400 IU, 2次/d)、二甲双胍(500 mg, 2次/d)或安慰剂治疗96 wk后, 并没有显著减轻脂肪变性和炎症^[10]。同样, 这两项试验均未改善纤维化水平。上述结果表明至少在NAFLD的早期阶段, VE单药治疗能够提高肝功能和改善肝组织的某些病理变化。由于NAFLD的多因素发病, 药物组合可能是更合适的治疗策略^[11]。有研究表明VE(400 IU/d)和吡格列酮的组合在改善肝脏组织学方面明显优于单独使用VE^[9]。Pietu等^[12]研究也发现VE(500 IU/d)联合熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)治疗NASH, 4年后能够有效改善肝功能, 同时约有33%左右患者的肝组织学明显改善。最近的研究也表明VE(600 mg/d)联合生活干预6 mo后, 与单纯生活方式干预相比, 能够有效降低氧化应激水平和改善有氧代谢, 从而改善肥胖的NAFLD儿童的肝功能、糖脂代谢和胰岛素抵抗^[13]。

1.2 VE的用药原则 美国非酒精性脂肪性肝病诊疗指南指出VE(800 IU/d)对肝活组织检查证实的NASH以及可疑NASH儿童的肝组织学损害有改善作用。VE(800 IU/d)能改善无糖尿病的成年NASH患者的肝组织学损伤, 因此, VE可作为成年无糖尿病的NASH患者的首选用药。不推荐VE用于治疗合并糖尿病的NASH、没有肝活组织检查资料的NAFLD、NASH肝硬化或隐源性肝硬化。因其疗效仍待考证, 暂不推荐用于儿童NASH的常规治疗^[14,15]。

1.3 VE的用药安全 Miller等^[16]的一项荟萃分析指出补充高剂量的VE可能增加全因死亡率, 然而一项大型的随机对照试验, 对使用者平均随访8年结果显示VE(400 IU, 隔日)对总死亡率没有显著影响, 但会增加出血性中风的风险^[17,18]。此外, 另一项近期的随机对照试验表明, 男性补充VE(400 IU/d)会增加前列腺癌的风险^[19], 所以对VE的用药安全仍需引起注意。同时对大鼠研究也表明, 大量VE(10000 mg/kg)反而会导致机体抗氧化酶活性的下降^[20]。Hajiani等^[21]对小鼠实验也发现, 饲料添加VE(600 mg/kg)饲养6 wk, 可降低抗氧化酶的活性, 诱导肝脏出现脂质过氧化。说明VE的剂量过高, 可能会对机体产生不利的影响。

2 VE防治NAFLD的机制

2.1 维生素E和氧化应激脂质过氧化的关系 在

NAFLD发病过程中, 肝内大量活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)的产生造成线粒体功能的损害和抗氧化系统的消耗, 引起氧应激, 直接导致肝细胞膜脂质过氧化使细胞受到损伤, 或通过增加细胞因子表达引起肝细胞凋亡或坏死、炎性浸润、星状细胞活化等病理改变^[22]. VE能与自由基反应以清除ROS, 使脂质过氧化链中断. 在自由基进攻的早期, VE通过消除细胞膜中产生的自由基, 保护细胞膜中的高不饱和脂肪酸, 阻断其氧化过程, 从而抑制膜磷脂形成脂质过氧化. 通过抑制磷脂过氧化^[23,24], VE能够提高线粒体的膜电位, 改善线粒体的功能, 从而抑制线粒体ROS的产生^[25]. 同时VE还能降低小鼠的丙二醛(malondialdehyde, MDA)水平, 同时降低机体脂质及蛋白质损伤程度, 升高谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPX)和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性, 提高机体的抗氧化能力^[26]. 核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)是重要的对氧化应激敏感的核转录因子, 过多ROS的堆积使NF- κ B激活, 而上调肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、白介素(interleukin, IL-6)等炎症因子表达, 反过来增加ROS的生成, VE能通过调控氧应激和炎症信号降低这些细胞因子的表达, 改善肝脏炎症和纤维化反应^[27].

2.2 VE和脂代谢的关系 脂质在肝脏异常异位蓄积是NAFLD发生的主要原因. 在对哺乳动物的研究中发现VE通过抑制甲基戊二酰辅酶A还原酶(HMG-CoAR)的表达, 降低胆固醇的堆积^[28]. 此外, Burdeos等^[29]在HepG2细胞和F344大鼠中发现, VE通过下调脂肪酸合成酶的表达、升高脂肪酸 β 氧化相关基因(细胞色素氧化酶P450 3A4和肉毒碱棕榈酰转移酶)的表达降低甘油三酯, 而对胆固醇则没有明显的改变, 表明VE在降低胆固醇方面的作用还存在争议. 同时临床研究也表明, VE能够降低高胆固醇血症患者的血清总胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、载脂蛋白B和甘油三酯的水平, 改善脂代谢^[30]. 3T3-L1前脂肪细胞在诱导剂诱导下能够分化为成熟的脂肪细胞, 有研究表明, VE可通过抑制磷酸酯酶A2的活性从而抑制前列腺素的产生和Akt磷酸化来降低胰岛素诱导的3T3-L1细胞分化, 降低小鼠体质量^[31,32].

2.3 VE和糖代谢的关系 近年来研究发现, 氧化应激对糖代谢有一定影响, 同时升高的葡萄糖

也可以促进线粒体ROS的产生, 引起细胞内氧化应激反应^[33]. 流行病学研究显示低血浆VE的男性患糖尿病的风险相比对照组增加4倍^[34]. 而VE通过其抗氧化能力可增强肝细胞功能, 改善胰岛素抵抗^[35,36]. 同时VE也能够清除氧自由基, 降低caspase3的活性, 保护STZ诱导的胰岛 β 细胞损伤^[37]. 同时有研究发现, VE可以有效降低糖尿病大鼠的血糖和糖化血红蛋白, 同时在(600-900 mg/kg)范围内可能存在剂量反应关系^[38]. 脂联素能够刺激AMP-活化蛋白激酶, 增加骨骼肌中脂肪酸的氧化和葡萄糖转运, 同时抑制肝脏中脂肪的生成. VE通过激活PPAR及其内源性受体上调脂联素的表达^[39,40], 从而上调GLUT4的表达, 改善大鼠对葡萄糖的利用, 并提高胰岛素的敏感性^[41,42]. 有研究也发现VE能够独立于胰岛素信号而通过增加肌肉中AMPK和脂肪酸氧化酶的表达而改善DEX诱导的糖尿病大鼠的糖耐量^[43].

2.4 维生素E和铁代谢的关系 铁代谢失常和NAFLD的关系还存在争议. 美国对经活检证实的NAFLD患者的大型研究表明, 1/3的患者存在铁代谢异常^[44]. 相关研究也发现, NAFLD患者的转铁蛋白受体1(TfR1)、转铁蛋白受体2(TfR2)、铁调素(hepcidin)、血清铁和铁蛋白都明显升高^[45,46], 铁超载的NAFLD患者的氧化应激的标志物血清硫氧还蛋白也显著升高, 表明铁超载能够通过Fenton反应催化ROS引起氧应激^[47], 提示铁代谢失常是NAFLD发生发展的因素之一. Chalasani等^[48]发现VE能够改善铁诱导的大鼠肝脏脂质过氧化和肝细胞损伤, 防止肝纤维化的发生. 同时VE能减轻铁诱导的毒性反应^[49], 降低大鼠肝组织的不稳定铁离子^[50], 增强肝细胞活力^[51]. 李敏等^[52]也报导VE还能够降低高糖培养下L02细胞活性氧的含量, 降低IRP1、TfR1、TfR2蛋白表达和铁调素的水平, 改善铁介导的氧应激和糖脂代谢紊乱, 逆转肝细胞损伤.

3 结论

VE在改善肝脏氧应激、脂质过氧化、糖脂代谢、铁代谢方面发挥重要作用. 在治疗NAFLD中发挥重要作用, 但其临床应用仍需考虑病情进展等因素来决定其应用与否和使用的剂量.

4 参考文献

- 1 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组.

■ 相关报道

据报道VE在改善氧应激和糖脂代谢等方面具有作用, 但其在NAFLD中的应用疗效方面研究结果不一.

■创新盘点

本文总结了近几年有关维生素E对NAFLD的疗效及相关机制的研究报道,同时综合阐述了维生素E的用药原则、不良反应等,为VE治疗NAFLD合理使用提供依据和指导。

- 2 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南. 中华肝脏病杂志 2006; 14: 161-163
- 3 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南. 现代医药卫生 2011; 27: 641-643
- 4 Hasegawa T, Yoneda M, Nakamura K, Makino I, Terano A. Plasma transforming growth factor-beta1 level and efficacy of alpha-tocopherol in patients with non-alcoholic steatohepatitis: a pilot study. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15: 1667-1672 [PMID: 11564008]
- 5 Lavine JE. Vitamin E treatment of nonalcoholic steatohepatitis in children: a pilot study. *J Pediatr* 2000; 136: 734-738 [PMID: 10839868]
- 6 Hoofnagle JH, Van Natta ML, Kleiner DE, Clark JM, Kowdley KV, Loomba R, Neuschwander-Tetri BA, Sanyal AJ, Tonascia J. Vitamin E and changes in serum alanine aminotransferase levels in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 38: 134-143 [PMID: 23718573 DOI: 10.1111/apt.12352]
- 7 Kugelmas M, Hill DB, Vivian B, Marsano L, McClain CJ. Cytokines and NASH: a pilot study of the effects of lifestyle modification and vitamin E. *Hepatology* 2003; 38: 413-419 [PMID: 12883485]
- 8 Pacana T, Sanyal AJ. Vitamin E and nonalcoholic fatty liver disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2012; 15: 641-648 [PMID: 23075940 DOI: 10.1097/MCO.0b013e328357f747]
- 9 Armstrong MJ, Houlihan DD, Rowe IA. Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med* 2010; 363: 1185; author reply 1186 [PMID: 20843257 DOI: 10.1056/NEJMc1006581]
- 10 Sanyal AJ, Mofrad PS, Contos MJ, Sargeant C, Luketic VA, Sterling RK, Stravitz RT, Shiffman ML, Clore J, Mills AS. A pilot study of vitamin E versus vitamin E and pioglitazone for the treatment of nonalcoholic steatohepatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2: 1107-1115 [PMID: 15625656]
- 11 Lavine JE, Schwimmer JB, Van Natta ML, Mollleston JP, Murray KF, Rosenthal P, Abrams SH, Scheimann AO, Sanyal AJ, Chalasani N, Tonascia J, Ünalp A, Clark JM, Brunt EM, Kleiner DE, Hoofnagle JH, Robuck PR. Effect of vitamin E or metformin for treatment of nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents: the TONIC randomized controlled trial. *JAMA* 2011; 305: 1659-1668 [PMID: 21521847 DOI: 10.1001/jama.2011.520]
- 12 Adinolfi LE, Restivo L. Does vitamin E cure non-alcoholic steatohepatitis? *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2011; 5: 147-150 [PMID: 21476908 DOI: 10.1586/egh.11.27]
- 13 Pietu F, Guillaud O, Walter T, Vallin M, Hervieu V, Scoazec JY, Dumortier J. Ursodeoxycholic acid with vitamin E in patients with nonalcoholic steatohepatitis: long-term results. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2012; 36: 146-155 [PMID: 22154224 DOI: 10.1016/j.clinre.2011.10.011]
- 14 D'Adamo E, Marcovecchio ML, Giannini C, de Giorgis T, Chiavaroli V, Chiarelli F, Mohn A. Improved oxidative stress and cardio-metabolic status in obese prepubertal children with liver steatosis treated with lifestyle combined with Vitamin E. *Free Radic Res* 2013; 47: 146-153 [PMID: 23205728 DOI: 10.3109/10715762.2012.755262]
- 15 Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, Charlton M, Sanyal AJ. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice guideline by the American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology. *Gastroenterology* 2012; 142: 1592-1609 [PMID: 22656328 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.04.001]
- 16 范建高, 沈峰, 丁晓东. 美国非酒精性脂肪性肝病诊疗指南简介. 中华肝脏病杂志 2012; 26: 430-431
- 17 Miller ER, Pastor-Barriuso R, Dalal D, Riemersma RA, Appel LJ, Guallar E. Meta-analysis: high-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. *Ann Intern Med* 2005; 142: 37-46 [PMID: 15537682]
- 18 Sesso HD, Buring JE, Christen WG, Kurth T, Belanger C, MacFadyen J, Bubes V, Manson JE, Glynn RJ, Gaziano JM. Vitamins E and C in the prevention of cardiovascular disease in men: the Physicians' Health Study II randomized controlled trial. *JAMA* 2008; 300: 2123-2133 [PMID: 18997197 DOI: 10.1001/jama.2008.600]
- 19 Schürks M, Glynn RJ, Rist PM, Tzourio C, Kurth T. Effects of vitamin E on stroke subtypes: meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ* 2010; 341: c5702 [PMID: 21051774 DOI: 10.1136/bmj.c5702]
- 20 Klein EA, Thompson IM, Tangen CM, Crowley JJ, Lucia MS, Goodman PJ, Minasian LM, Ford LG, Parnes HL, Gaziano JM, Karp DD, Lieber MM, Walther PJ, Klotz L, Parsons JK, Chin JL, Darke AK, Lippman SM, Goodman GE, Meyskens FL, Baker LH. Vitamin E and the risk of prostate cancer: the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). *JAMA* 2011; 306: 1549-1556 [PMID: 21990298 DOI: 10.1001/jama.2011.1437]
- 21 Eder K, Flader D, Hirsch F, Brandsch C. Excess dietary vitamin E lowers the activities of antioxidative enzymes in erythrocytes of rats fed salmon oil. *J Nutr* 2002; 132: 3400-3404 [PMID: 12421858]
- 22 Hajiani M, Golestani A, Sharifabrizi A, Rastegar R, Payabvash S, Salmasi AH, Dehpour AR, Pasalar P. Dose-dependent modulation of systemic lipid peroxidation and activity of anti-oxidant enzymes by vitamin E in the rat. *Redox Rep* 2008; 13: 60-66 [PMID: 18339248 DOI: 10.1179/135100008X259114]
- 23 李艳丽, 顾兴平, 张丽. 非酒精性脂肪肝研究进展. 实用中医药杂志 2012; 28: 880-881
- 24 张智峰, 朱英, 周园芳. 维生素E辅助治疗成年人非酒精性脂肪性肝病的荟萃分析. 世界华人消化杂志 2010; 18: 424-426
- 25 Kleszczewska E. [Biological role of reactions of L-ascorbic acid with metals]. *Postepy Hig Med Dosw* 2001; 55: 81-94 [PMID: 11355536]
- 26 Nowak G, Bakajsova D, Hayes C, Hauer-Jensen M, Compadre CM. γ-Tocotrienol protects against mitochondrial dysfunction and renal cell death. *J Pharmacol Exp Ther* 2012; 340: 330-338 [PMID: 22040679 DOI: 10.1124/jpet.111.186882]
- 27 Kinalski M, Sledziewski A, Telejko B, Zarzycki W, Kinalska I. Lipid peroxidation and scavenging enzyme activity in streptozotocin-induced diabetes. *Acta Diabetol* 2000; 37: 179-183 [PMID: 11450500]
- 28 Kuhad A, Chopra K. Attenuation of diabetic nephropathy by tocotrienol: involvement of NFκB signaling pathway. *Life Sci* 2009; 84: 296-301 [PMID: 19162042 DOI: 10.1016/j.lfs.2008.12.014]
- 29 Parker RA, Pearce BC, Clark RW, Gordon DA,

- Wright JJ. Tocotrienols regulate cholesterol production in mammalian cells by post-transcriptional suppression of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase. *J Biol Chem* 1993; 268: 11230-11238 [PMID: 8388388]
- 29 Burdeos GC, Nakagawa K, Kimura F, Miyazawa T. Tocotrienol attenuates triglyceride accumulation in HepG2 cells and F344 rats. *Lipids* 2012; 47: 471-481 [PMID: 22367056 DOI: 10.1007/s11745-012-3659-0]
- 30 Qureshi AA, Sami SA, Salser WA, Khan FA. Dose-dependent suppression of serum cholesterol by tocotrienol-rich fraction (TRF25) of rice bran in hypercholesterolemic humans. *Atherosclerosis* 2002; 161: 199-207 [PMID: 11882333]
- 31 Uto-Kondo H, Ohmori R, Kiyose C, Kishimoto Y, Saito H, Igarashi O, Kondo K. Tocotrienol suppresses adipocyte differentiation and Akt phosphorylation in 3T3-L1 preadipocytes. *J Nutr* 2009; 139: 51-57 [PMID: 19056650 DOI: 10.3945/jn.108.096131]
- 32 郑奕迎, 刘声远, 马兰, 龙儒桃. 维生素E抑制3T3-L1前脂肪细胞的分化. 海南医学院学报 2010; 16: 1117-1119
- 33 毛晓明, 刘志民, 石勇栓, 蒋克春, 王爱萍, 饶亚平. 维生素E与维生素C联合治疗对糖耐量受损患者糖代谢的影响. 中华糖尿病杂志 2004; 12: 413-416
- 34 Salonen JT, Nyyssönen K, Tuomainen TP, Mäenpää PH, Korpela H, Kaplan GA, Lynch J, Helmrach SP, Salonen R. Increased risk of non-insulin dependent diabetes mellitus at low plasma vitamin E concentrations: a four year follow up study in men. *BMJ* 1995; 311: 1124-1127 [PMID: 7580706]
- 35 Vinayaga Moorthi R, Bobby Z, Selvaraj N, Sridhar MG. Vitamin E protects the insulin sensitivity and redox balance in rat L6 muscle cells exposed to oxidative stress. *Clin Chim Acta* 2006; 367: 132-136 [PMID: 16458280]
- 36 Manning PJ, Sutherland WH, Walker RJ, Williams SM, De Jong SA, Ryalls AR, Berry EA. Effect of high-dose vitamin E on insulin resistance and associated parameters in overweight subjects. *Diabetes Care* 2004; 27: 2166-2171 [PMID: 15333479]
- 37 王仁忠, 贾雪丽, 张能, 吕立生, 余华荣. 维生素E抗胰岛细胞损伤的相关机制研究. 西南国防医药 2009; 19: 45-46
- 38 鲁丽君, 李莉. 不同剂量维生素E对糖尿病大鼠血糖的影响. 临床医药实践 2011; 20: 46-47
- 39 Shen XH, Tang QY, Huang J, Cai W. Vitamin E regulates adipocytokine expression in a rat model of dietary-induced obesity. *Exp Biol Med* (Maywood) 2010; 235: 47-51 [PMID: 20404018 DOI: 10.1258/ebm.2009.009122]
- 40 Gray B, Swick J, Ronnenberg AG. Vitamin E and adiponectin: proposed mechanism for vitamin E-induced improvement in insulin sensitivity. *Nutr Rev* 2011; 69: 155-161 [PMID: 21348879 DOI: 10.1111/j.1753-4887.2011.00377.x]
- 41 Tzanetakou IP, Doulamis IP, Korou LM, Agrogianis G, Vlachos IS, Pantopoulou A, Mikhailidis DP, Patsouris E, Vlachos I, Perrea DN. Water Soluble Vitamin E Administration in Wistar Rats with Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Open Cardiovasc Med J* 2012; 6: 88-97 [PMID: 22930662 DOI: 10.2174/1874192401206010088]
- 42 Moller DE. Potential role of TNF-alpha in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Trends Endocrinol Metab* 2000; 11: 212-217 [PMID: 10878750]
- 43 Williams DB, Wan Z, Frier BC, Bell RC, Field CJ, Wright DC. Dietary supplementation with vitamin E and C attenuates dexamethasone-induced glucose intolerance in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2012; 302: R49-R58 [PMID: 22031784 DOI: 10.1152/ajpregu.00304.2011]
- 44 Nelson JE, Wilson L, Brunt EM, Yeh MM, Kleiner DE, Unalp-Arida A, Kowdley KV. Relationship between the pattern of hepatic iron deposition and histological severity in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2011; 53: 448-457 [PMID: 21274866 DOI: 10.1002/hep.24038]
- 45 Mitsuyoshi H, Yasui K, Harano Y, Endo M, Tsuji K, Minami M, Itoh Y, Okanoue T, Yoshikawa T. Analysis of hepatic genes involved in the metabolism of fatty acids and iron in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatol Res* 2009; 39: 366-373 [PMID: 19054139 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2008.00464.x]
- 46 李水淼, 黄子成, 王木成. 非酒精性脂肪肝患者血清铁、转铁蛋白、血清铁蛋白水平测定. 上海医药 2006; 27: 517-518
- 47 Nelson JE, Klintworth H, Kowdley KV. Iron metabolism in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Curr Gastroenterol Rep* 2012; 14: 8-16 [PMID: 22124850 DOI: 10.1007/s11894-011-0234-4]
- 48 Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, Charlton M, Sanyal AJ. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 811-826 [PMID: 22641309 DOI: 10.1038/ajg.2012.128]
- 49 Omara FO, Blakley BR. Vitamin E is protective against iron toxicity and iron-induced hepatic vitamin E depletion in mice. *J Nutr* 1993; 123: 1649-1655 [PMID: 8410355]
- 50 Ibrahim W, Chow CK. Dietary vitamin E reduces labile iron in rat tissues. *J Biochem Mol Toxicol* 2005; 19: 298-303 [PMID: 16292753]
- 51 Milchak LM, Douglas Bricker J. The effects of glutathione and vitamin E on iron toxicity in isolated rat hepatocytes. *Toxicol Lett* 2002; 126: 169-177 [PMID: 11814705]
- 52 李敏, 乔燕. 维生素E对不同糖浓度培养L02细胞铁代谢相关蛋白表达的影响. 山西医科大学学报 2012; 43: 494-497

■同行评价

本文对VE能否成为NAFLD的辅助治疗及预防制剂有一定参考价值。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



微生态制剂与炎症性肠病

张峰睿, 缪应雷

■背景资料

微生态制剂(益生菌、益生元)在炎症性肠病的治疗中已经取得了临床医师的认可,虽国内外有大量基础及临床研究,但其作用机制、临床药物剂型的选择、用量等问题尚无统一标准,对微生态制剂的合理运用造成了困难,本文选取大量国内外相关研究,并提出微生态制剂研究中的相关问题。

张峰睿, 缪应雷, 昆明医科大学第一附属医院消化内科 云南省昆明市 650032

张峰睿,在读硕士,主要从事炎症性肠病的研究。

作者贡献分布: 本文综述由张峰睿完成; 缪应雷审校。

通讯作者: 缪应雷, 主任医师, 650032, 云南省昆明市西山区西昌路295号, 昆明医科大学第一附属医院消化内科。myldu@sina.com
电话: 0871-65324888-2532

收稿日期: 2013-05-22 修回日期: 2013-07-17

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-09-28

Microbial ecological agents and inflammatory bowel disease

Feng-Rui Zhang, Ying-Lei Miao

Feng-Rui Zhang, Ying-Lei Miao, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical College, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Correspondence to: Ying-Lei Miao, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical College, 295 Xichang Road, Xishan District, Kunming 650032, Yunnan Province, China. myldu@sina.com

Received: 2013-05-22 Revised: 2013-07-17

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-09-28

Abstract

Inflammatory bowel disease (IBD), including ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD), is a chronic non-specific inflammatory condition of the gastrointestinal tract with unknown etiology. During the exploration of the etiology, treatment and other aspects of IBD, it has been gradually realized that microbial ecological agents (MEAs) are helpful in the treatment of IBD. This article reviews the relationship between MEAs and IBD with regard to the intestinal environment in IBD, the therapeutic effect of MEA in IBD and the possible mechanisms involved.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Inflammatory bowel disease; Intestinal environment; Microbial ecological agents

Zhang FR, Miao YL. Microbial ecological agents and inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2792-2801 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2792.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2792>

■同行评议者

季国忠, 教授, 南京医科大学第二附属医院消化科

摘要

炎症性肠病(inflammation bowel disease, IBD), 是一种病因不清的, 慢性非特异性肠道炎症性疾病, 包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)与克罗恩病(Crohn's disease, CD). 在对IBD病因、治疗等方面的探索过程中, 人们逐渐开始重视微生态制剂(microbial ecological agent, MEA)对IBD的重要作用, 国内外大量研究提示微生态制剂对于IBD的治疗有所帮助. 本文总结了近年来MEA与IBD关系的研究进展, 就IBD肠道环境、MEA的治疗效果及作用机制等方面作一综述。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 炎症性肠病; 肠道环境; 微生态制剂

核心提示: 微生态制剂在治疗炎症性肠病中的运用已经逐渐常规化, 国内外亦在探索其作用机制及临床效果, 但微生态制剂的确切作用机制以及临床使用中剂型、剂量、用药时间等相关问题仍无统一结论, 本文选取大量相关文献, 并提出亟待解决的问题, 为实验研究及临床运用提出了一定的建议与参考。

张峰睿, 缪应雷. 微生态制剂与炎症性肠病. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2792-2801 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2792.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2792>

0 引言

炎症性肠病(inflammation bowel disease, IBD)病因未明, 治疗主要依赖柳氮磺胺吡啶(salazosulfapyridine, SASP)制剂或氨基水杨酸制剂(5-amino salicylic acid, 5-ASA), 反应不佳或病情严重者可加用糖皮质激素或免疫抑制剂, 近年来, 众多有关微生态制剂(microbial ecological agent, MEA)在IBD治疗中的研究成果, 不断地阐释和验证了MEA在IBD治疗中的机制与疗效. 在临床工作中, 对MEA的运用也逐渐成为IBD治疗中的常规选择, 本文就MEA与IBD的基础研究及临床运用作一综述。

1 正常人肠道菌群

1.1 正常肠道菌群组成 正常人体消化系统中含近500余种细菌, 数量达 10^{14} 个左右, 主要由厌氧菌、需氧菌及兼性厌氧菌组成, 据报道^[1], 成人体内杆菌属及厚壁菌属常占据主导地位, 而放线菌、变形细菌虽常见, 但仅是次要组成部分, 在不同人群中, 虽然肠道菌群的主要成分保持一致性, 但肠道微生态的相对比例和种类, 仍存在显著差异. 不同种类细菌的分布与肠道位置息息相关, G⁺菌与需氧菌主要位于上段小肠, 而厌氧菌则密集于回盲部, 结肠中的厌氧菌数量则更多, 如双歧杆菌、乳酸菌、类杆菌等, 不同种类的细菌共存于肠道环境中, 共同参与并调节肠道微环境, 并维护肠道微生物生态系统的平衡.

1.2 正常肠道菌群分类 肠道菌群可根据来源分为常驻菌群与过路菌群, 常驻菌群是指一类长期定居于人体肠腔内, 并维持正常肠道功能的一组细菌. 过路菌群又称病原菌, 长期定植机会较少, 故正常情况下人体内该种菌群数量少, 不足以致病, 一旦肠道微环境破坏, 正常菌群优势消失, 病原菌群则可导致肠道疾病发生.

根据细菌作用分为生理菌、条件致病菌及病原菌, 生理菌为宿主所长期携带, 为肠道优势菌群, 对人体无害, 并且具有营养、生物拮抗、免疫等作用; 条件致病菌为非优势菌群, 在肠道环境平衡的情况下可与宿主共存, 特定条件下可致病, 主要包括肠球菌、大肠杆菌等; 病原菌多为过路菌, 当一定数量的该种细菌进入宿主后, 可导致疾病发生, 如变形杆菌、产气荚膜杆菌等.

2 IBD患者肠道菌群

2.1 UC患者肠道菌群的改变 多项国内外研究皆提示溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)患者肠道菌群与正常人肠道菌群存在差异, 无论处于活动期、缓解期, UC患者和健康对照者粪便细菌存在着显著的差异. Yukawa等^[2]提出, 在UC患者粪便中, 发现了增高的*varium*梭杆菌; Nemoto等^[3]选取48例临床诊断UC的患者, 利用终端-限制性片段长度多态性(terminal-restriction fragment length polymorphism, T-RFLP)、实时荧光定量PCR(Real-time PCR)以及细胞培养, 结果提示UC患者肠道菌群多样性较健康人明显下降, 其中杆菌明显下降, 而肠球菌数量则较健康人升高, 同时发现UC患者粪便内有机酸含量下

降. Linskens等^[4]提出UC患者粪便中, 兼性厌氧菌含量升高, 乳杆菌、双歧杆菌等正常菌群数量下降. 崔海宏等^[5]采用梯度稀释, 进行肠道菌群分析, 发现UC急性期菌群中肠杆菌、肠球菌等致病菌数量明显上升, 而乳杆菌等正常菌群数量明显下降, 缓解期患者的拟杆菌属双歧杆菌较急性期明显上升, 且与对照组无明显差别. Kleessen等^[6]利用荧光原位杂交, 发现在83%的UC结肠黏膜标本中存在细菌对肠黏膜的侵袭, 但在对照组中并未发现.

2.2 CD患者肠道菌群的改变 Aomatsu等^[7]将UC、克罗恩病(Crohn's disease, CD)及健康人肠道菌群进行对比, 发现CD患者肠道菌群中梭状芽胞杆菌及*Faecalibacterium*属细菌含量均明显较UC患者及健康人降低, 杆菌属细菌同样较健康人明显下降, Shannon多样性指数提示CD患者的肠道细菌多样性较健康人下降. Ricanek等^[8]的团队利用rRNA分子探针技术对CD患者回肠及结肠病变部位黏膜的细菌分布情况, 结果提示CD患者杆菌较健康对照组明显下降(CD: 42%, 对照: 71%); 厚壁菌属上升(CD: 42%, 对照: 28%); 变形菌上升(CD: 15%, 对照: 0%). 国内Liu等^[9]选取了15例CD患者, 23例肠道结核患者以及21例健康志愿者, 分别对3组对象进行粪便细菌检测, 结果提示在CD患者中, 乳酸杆菌及双歧杆菌明显较健康志愿者下降, 但拟杆菌数量上升. Verma等^[10]将共计84例IBD患者(UC: 72例, CD: 12例)及65例健康对照者纳入实验, 经内镜取材后, 利用rRNA探针技术及RT-PCR技术分析肠黏膜细菌情况, 他们发现乳酸杆菌、瘤胃球菌属、双歧杆菌属在UC与CD患者均有明显下降. 梭状芽胞杆菌在CD患者中的变化不显著, 但在UC患者中明显增加; 革兰氏阳性球菌及消化链球菌属细菌在CD患者体内数量增加; 和健康对照者相比, CD患者及UC患者体内有明显增加的弯曲杆菌属细菌, 而其两者之间又存在显著差异, 且弯曲菌属数量随疾病的进展而变化, 当疾病进入缓解期时, 则弯曲菌属数量亦趋于恢复正常.

可见, IBD患者普遍存在肠道菌群失调, 以致病菌增加、正常菌群减少为其特点, 而肠道菌群失调将进一步导致肠屏障功能障碍, 从而促进IBD病情的发展, 故IBD患者肠道菌群的调整十分必要.

2.3 两种特殊细菌与IBD的关系 目前在关注IBD患者肠道菌群失调的同时, 亦不断提出一些肠

■研发前沿

微生态制剂在炎症性肠病中的研究热点集中于各类型益生菌及益生元在溃疡性结肠炎或克罗恩病治疗中的作用机制及临床效果, 虽有大量上述研究报道, 但针对微生态制剂作用机制以及其剂型、剂量、用药时间等临床问题的选择, 仍缺乏统一的共识, 亟待解决.

■创新盘点

本文不仅涉及益生菌在炎症性肠病治疗中的运用及机制研究,亦涉及国外对益生元及合生元运用的讨论,且提出了难辨梭状芽孢杆菌及普拉梭菌在炎症性肠病中的影响,在综合近年来国内外相关最新研究的同时,亦提出了微生物制剂在炎症性肠病治疗中尚存的相关问题。

道细菌在IBD病情发生、发展中的相关机制,其中以难辨梭状芽孢杆菌与普拉梭菌相关的研究较多。

2.3.1 难辨梭状芽孢杆菌: 难辨梭状芽孢杆菌(*clostridium difficile*, *Cd*)是一种较为常见的革兰氏阳性杆菌,在长期应用抗生素的情况下,其在肠道生长速度加快,可以造成抗生素相关性肠炎。而*Cd*在IBD中的重要性逐渐被人们重视,国外流行病学报道称IBD患者的*Cd*易感性高于普通人群^[11],IBD与*Cd*间的关联可能是由于多种因素的影响,包括可能改变肠道菌群并促进*Cd*定植的治疗药物、改变免疫与营养状态的药物以及频繁的住院^[12]。*Cd*对于肠黏膜的破坏有可能来自于其黏附于肠黏膜后引发的过度免疫反应^[13]在很多的临床试验以及流行病学研究结果中,我们同样可以看到存在*Cd*感染的IBD患者,往往有更高的结肠切除率、死亡率等更差的预后^[14-17]。

*Cd*在致病过程当中释放毒素A、B,毒素A可以通过活化包括钙/钙调蛋白(Ca^{2+} /calmodulin)、钙调素蛋白激酶(calcium/calmodulin-dependent kinase)、酪氨酸蛋白激酶(presence of protein tyrosine kinase, PTK)、核因子- κB (nuclear factor- κB , NF- κB)以及激活蛋白-1在内的通路,从而使单核细胞分泌白介素-8(interleukin-8, IL-8)增加^[18]。对于毒素B而言,其在人体肠道内已经被证明可以诱导肠上皮细胞损伤、增加肠黏膜通透性、刺激IL-8的合成并引发以中性粒细胞募集为特征的急性炎症反应^[19]。毒素B可以通过活化表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)以及ERK-MAP激酶而增加IL-8的基因表达。总之,毒素A、B介导的炎症反应机制涉及到激活MAP激酶、NF- κB 、AP-1以及促进IL-8的合成释放。

在Navaneethan等^[20]的研究中,UC患者并*Cd*感染(*clostridium difficile* infection, CDI)的情况下,初次就诊的急诊室就诊率远高于无*Cd*感染的UC患者(37.8% vs 4.0%, $P<0.001$),CDI在一年后的结肠切除率率的比较中仍然远高于对照组(35.6% vs 9.9%, $P<0.001$);CDI患者在一年内有55.8%需要治疗上的升级,而对照组则仅有12.9%患者的治疗需要提升,从多个角度对比*Cd*感染与否,均提示*Cd*的感染是IBD发展、加重的潜在原因。国内刘晶晶等^[21]研究提示,IBD患者中存在一定的*Cd*感染率(UC: 16.7%, CD: 8.6%),特别是在IBD活动期,且随着IBD疾病严重程度

的上升,*Cd*感染率亦逐步逐步增高。

到目前为止,尚未有明确证据提示*Cd*的感染先于IBD的发生,然而*Cd*激活的炎症反应则有助于IBD的发展与加重。随着对*Cd*在IBD发生、发展中作用认识的深入,对IBD患者检测*Cd*感染已成为了决定治疗策略及判断患者预后的重要指标。

2.3.2 普拉梭菌: 普拉梭菌(*faecalibacterium prausnitzii*, *Fp*)属于厚壁菌属,在人体内可以代谢肠道未吸收的糖类并产生大量的丁酸,成为了肠道中主要产丁酸的细菌,而丁酸被广泛认为是肠黏膜上皮细胞的主要能量物质,对于维持肠黏膜屏障功能起到了重要作用^[22]。*Fp*在IBD患者体内减少,且经国内外研究证实,*Fp*具有抗炎特性,而*Fp*的减少有可能带来由细菌介导的黏膜抗炎活性的下降^[23]。

在Sokol等^[24]的研究中,22例活动期CD患者、10例缓解期CD患者、13例活动期UC患者、4例缓解期UC患者、8例感染性肠炎患者及27例健康对照者参与到实验当中,运用RT-PCR及16S rRNA探针技术测定各组患者粪便细菌并进行比较,*Fp*在活动期IBD及感染性肠炎患者中明显降低,同时他们提出*Fp*对于肠道微生物的稳定可能是至关重要的,而*Fp*的减少可能带来肠道黏膜保护能力的降低。

除了*Fp*分泌丁酸的机制外,关于*Fp*在IBD中抗炎机制的研究仍有很多提示。在Sokol等^[25]的研究中发现,*Fp*不仅仅能够产生丁酸供能,尚可调节肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、IL-10、IL-12等多种细胞因子的合成与释放,调整肠道菌群的组成,从而达到对IBD的治疗效果。国内洪娜等^[26]的研究提示,*Fp*具有上调外周血和脾内的Foxp³⁺Treg水平,抑制促炎因子IL-17、IL-6分泌,重建Treg/Th17平衡等作用,从而达到降低局部炎症反应的作用。提示*Fp*在IBD治疗过程中参与免疫调节。

可见对于IBD而言,*Fp*具有全面的作用机制,包括维持和增强肠黏膜屏障功能、调节肠黏膜免疫反应、维持肠道微生态环境等方面,故*Fp*应该更加具有开发潜力。

3 微生物制剂

3.1 微生物制剂分类 MEA包括益生菌(probiotic)与益生元(prebiotic),益生菌(probiotics)是指活微生物,口服后影响并改变肠道微环境,最终起到

有益作用, Thompson-Chagoyan将其定义为: 人体自有的, 且对宿主自身无致病性, 可定植于肠道并于肠道内繁殖, 有抗菌作用, 可调节免疫, 并对宿主代谢活动产生影响的多种微生物^[27], 当前临床常用制剂包括双歧杆菌、乳酸杆菌、地衣芽孢杆菌等。益生元是一种通过选择性的刺激一种或少数种菌落中的细菌的生长与活性而对寄主产生有益的影响从而改善寄主健康的不可被消化的食品成分, 可以将益生元理解为肠道益生菌的“食物”, 帮助益生菌的生长和繁殖。主要包括菊粉、乳果糖等多种寡糖类物质。合生元是益生菌与益生元的混合物, 既补充了益生菌, 同时也使用益生元促进了益生菌的生长与繁殖。目前临床常用的微生态制剂包括金双歧、贝飞达、丽珠肠乐、整肠生等。

3.2 微生态制剂的药理作用机制

3.2.1 增强肠道屏障: Anderson等^[28]通过跨膜电阻检测(transsepithelial electrical resistance, TEER)发现, 益生菌可使TEER上升, 达到增强紧密连接, 提升肠道屏障功能的作用, 其中又以植物乳杆菌DSM2648效果最佳; MEA尚可与其他厌氧菌等形成生物学屏障, 从而阻止病原菌的入侵与定植^[29]。尚有报道提出^[30], 布拉氏酵母菌能够通过活化 $\alpha 2\beta 1$ 整合胶原蛋白受体增强肠上皮自身修复能力, 加强肠道屏障功能。可见, 通过增强肠黏膜上皮间的紧密连接、增强肠上皮自身修复能力、形成生物学屏障等途径, MEA可有效增强肠道屏障作用, 从而达到改善IBD患者肠道病变的目的。

3.2.2 免疫调节: Rajput等^[31]在动物实验中, 给予肉鸡益生菌, 后在肉鸡肠黏膜发现明显升高的肠道细胞因子; Dharmani等^[32]在临床实验中发现, VSL#3可以影响胃粘蛋白Muc-5ac的合成, 并调节细胞因子IL-10、环氧酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)及多种生长因子的合成与分泌。在Sokol等^[25]的试验中, 他们发现 Fp 能够在体外刺激单核细胞, 并使其与正常情况下相比分泌较多的IL-10以及更少的IL-12与干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)。免疫因素的参与已被广泛认为与IBD的发生、发展密不可分, 对促炎因子的抑制、抗炎因子的促进均体现了MEA在IBD患者中的免疫调节作用。

3.2.3 抗肿瘤: Mano Horinaka等^[33]利用细胞培养技术, 发现乳杆菌属可以使肿瘤坏死因子相关凋亡配体(tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL)在人体外周血单核细胞

中产生增加, 并可以使自然杀伤细胞(nature killer cell, NK)活性升高, 从而增强机体抗肿瘤能力; 益生菌在结肠癌的预防中, 涉及多种信号传导通路以及细胞代谢途径的改变, 也被广泛认同^[34-36]。IBD潜在的癌变可能已被证实, 但MEA抗肿瘤作用在IBD治疗过程中的机制及临床效果均缺乏相关研究证据, 有待进一步研究。

3.2.4 营养作用: 肠道菌群能够合成人体多种营养物质, 如B族维生素(维生素B1、B2、B6、B12), 维生素K等, 还可合成非必需氨基酸, 如天冬氨酸、丙氨酸、缬氨酸和苏氨酸等, 并参与糖类和蛋白质的代谢, 同时还能促进铁、镁、锌等矿物元素的吸收。IBD患者常伴不同程度的营养不良, 而运用MEA维系肠道菌群, 将直接关系到上述多方面营养物质的合成或代谢。

4 微生态制剂在IBD治疗中的应用

4.1 微生态制剂治疗UC中的应用

4.1.1 临床试验: 在Tursi等^[37]的研究中, 他们选出总计144例确诊UC患者, 这些患者均为正在接受5-ASA或免疫抑制剂治疗, 在此基础上, 将他们随机分为两组, 治疗组71例, 安慰剂组73例, 其中, 给予治疗组患者益生菌制剂VSL#3(剂量为 3.6×10^{12} 细菌/d)治疗, 给予安慰剂组患者安慰剂, 结果在完成实验的共计131例患者(治疗组65例, 安慰剂组66例)中统计分析, 在服用VSL#3的治疗组中, 溃疡性结肠炎活动指数(ulcerative colitis activity index, UCDAI)的降低较安慰剂组明显(63.1 vs 40.8 ; PP: $P = 0.010$, 95%CI: $0.51-0.74$; ITT: $P = 0.031$, 95%CI: $0.47-0.69$); 治疗组缓解率亦高于安慰剂组(47.7% vs 32.4% ; PP: $P = 0.069$, 95%CI: $0.36-0.60$; ITT: $P = 0.132$, 95%CI: $0.33-0.56$)。在另一项研究中, Miele等^[38]将共计29例平均年龄9.8岁的明确诊断UC的患者随机分为治疗组与对照组, 治疗组给予常规IBD治疗及VSL#3(计量根据体重而定, $0.45 \times 10^{12}-1.8 \times 10^{12}$ 细菌/d), 安慰剂组给予安慰剂及常规IBD治疗, 并于治疗开始后1、2、6 mo及1年时评估患者病情活动情况, 得到结论: 治疗组中13例患者(92.8%)的症状得到缓解, 安慰剂组中4例患者(36.4%)的症状得到缓解($P < 0.001$); 在接下来的1年中, 治疗组中有3例患者(21.4%)复发, 安慰剂组中有11例患者(73.3%)复发($P = 0.014$, RR = 0.32 , 95%CI: $0.025-0.773$, NNT = 2), 其中3例治疗组患者及6例安慰剂组患者在6 mo内复发。在Ishikawa等^[39]的实验中, 将41例临床诊断

■应用要点

本文通过总结国内外对微生态制剂在炎症性肠病中作用机制及临床运用的最新研究报道, 提示了其运用中的机制研究热点及有效的临床运用模式, 为相关实验研究的开展及临床工作提供了参考。

■同行评价

本文综述了微生态制剂与炎症性肠病的研究进展,有一定的临床参考价值。

UC的患者随机分为两组,治疗组给予合生元(益生菌:1 g/次,3次/d,每次剂量 1×10^9 细菌/g;5.5 g半乳糖寡糖)治疗,持续1年,对照组则仅给予基本UC治疗,不给予合生元。在试验开始前后分别使用肠镜指标、MPO定量及粪便细菌计数等方法判断疾病活动情况。结果经过1年合生元治疗,治疗组患者肠镜下改善较对照组明显,且MPO亦有明显下降,在粪便细菌中,治疗组粪便内类杆菌科细菌及粪便PH均较对照组下降。

4.1.2 Meta分析:在Sang等^[40]关于益生菌对UC诱导缓解及维持缓解疗效的系统评价中,他们利用计算机检索Cochrane、MEDLINE、EMBASE等数据库,经Meta分析后得出结论:益生菌联合标准方案对诱导和维持UC缓解的疗效明显优于空白对照治疗方案;在丁娟等^[41]关于益生菌制剂VSL#3对UC诱导缓解作用的系统评价中,他们同样利用计算机检索MEDLINE、EMBASE、Cochrane Library和中国生物医学文献数据、万方数据库,并系统评价了益生菌尤其是VSL#3诱导UC缓解的有效性和安全性,并最终得出结论:VSL#3对UC的诱导缓解作用优于对照组且安全性高。尚有多项^[42,43]关于微生态制剂治疗UC的Meta分析,均提出微生态制剂在UC诱导缓解及维持缓解中的明确作用。

在MEA治疗UC的临床实验以及Meta分析中可以发现,使用MEA联合常规治疗药物的联合用药模式,相对单纯使用常规IBD治疗药物而言,拥有更高的疾病缓解率及更低的复发率,MEA对于UC的治疗作用得到了临床应用的肯定。但国内外相关研究仅提示在常规治疗基础上联合运用益生菌或合生元治疗相比单用常规治疗更加有效,但均未涉及益生菌与合生元治疗效果的比较,即未明确益生元的治疗效果,亦未提出UC患者MEA治疗的剂型、剂量、运用时间等相关问题的用药原则,上述问题均有待进一步研究。

4.2 微生态制剂治疗CD中的应用

4.2.1 临床试验:Steed等^[44]及他的团队对35例临床诊断活动性CD的患者进行了一项随机、双盲以及空白对照的试验,给予治疗组合生元(其中包括双歧杆菌 2×10^{11} 细菌/g,2次/d),并分别于试验开始时、试验3、6 mo进行患者病情评估,包括临床表现、肠道活检、细胞因子等方面,结果提示:在克罗恩病活动指数方面(Crohn's disease activity index, CDAI),治疗组明显得到改善(起始:219±74.6;结束:147±74, $P = 0.020$),

而对照组则无明显改变(起始:249±79.4;结束:233±155, $P = 0.810$);在细胞因子方面,治疗组3 mo时TNF- α 已有明显下降,而对照组无明显改变。Garcia Vilela等^[45]将34例临床诊断CD的患者随机选出,并在基础治疗药物(美沙拉嗪、硫唑嘌呤、强的松等)治疗的情况下,给予啤酒酵母菌治疗,并在试验开始前以及给予布拉氏酵母菌(saccharomyces boulardii)治疗后第一个月及第3个月先后三次检测患者肠道通透性,同时选取15例健康志愿者作为空白对照。结果提示:试验开始前,健康志愿者肠道果糖/甘露醇为 0.005 ± 0.0037 ,CD患者为 0.021 ± 0.01 ,治疗3 mo后,CD患者该比值降低为 0.008 ± 0.006 ,提示肠道通透性得到改善,从而改善了肠道屏障功能。Fujimori等^[46]及团队随即选择10例未经手术治疗,且经过初期对氨基水杨酸及激素治疗未达缓解的CD患者,给予合生元(益生菌:双歧杆菌及乳酸杆菌 7.5×10^{10} CFU/d;益生元:欧车前9.9 g/d),整个实验过程中,药物的计量与用药持续时间均由患者自行调整,平均治疗时间为 $13.0 \text{ mo} \pm 4.5 \text{ mo}$,治疗结束后,CDAI及IOIBD两项评分均较治疗前明显下降(CDAI:治疗前255 vs 治疗后136, $P = 0.009$; IOIBD:治疗前3.5 vs 治疗后2.1, $P = 0.03$)。结果提示高剂量的益生菌与益生元合用可以有效而安全的治疗活动性CD。

4.2.2 Meta分析:Doherty等^[47]对术后CD复发与益生菌的使用进行了Meta分析,但结果提示在CD复发的危险性方面,益生菌的使用与安慰剂的使用结果没有明显差异,但仍值得进一步研究。同Doherty等相类似,Rahimi等^[48]与他的团队查询了PUMBED与Cochrane中心,对益生菌与防治CD维持缓解的关系进行了Meta分析,但结果类似,仍没有证明益生菌在CD维持缓解、预防复发方面的有效性,但建议使用含有乳酸菌与大肠杆菌或酵母的混合物。

在CD的治疗方面,MEA同样得到临床研究的认可,在临床实验中,通过MEA在增强肠黏膜屏障、调节免疫、改善肠道菌群等方面的作用,与治疗UC患者相比,CD患者同样在缓解率及复发率等方面取得了与常规治疗相比更好的水平,并且论证了MEA在治疗过程中的安全性,但Meta分析的结论无论在MEA治疗CD的有效性亦或是安全性方面,均没有支持上述临床研究结论,故MEA在CD治疗中的相关问题尚需进一步研究。同时,与MEA治疗UC存在的问题一致,MEA在CD中的运用同样缺乏MEA剂量、剂

型、用药时间等问题的用药原则总结, 益生元的使用与否亦未得到论证。

5 微生态制剂治疗IBD作用机制

通过上文可以明确MEA在IBD治疗中的作用, 但其作用机制尚不清, 目前国内外关于MEA在IBD治疗中的机制研究包括动物实验与临床研究, 主要以细胞因子、机体活性物质的调节为主要研究对象。

5.1 动物实验 国内曹艳菊^[49]将10-12周龄♂SD大鼠30只随机分为正常对照组、模型组及实验组, 每组10只, 利用葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)针对模型组及实验组建立实验性结肠炎大鼠模型, 建立后给予实验组大鼠双歧三联活菌500 mg/(kg·d)灌胃, 1次/d, 共计2 wk, 期间对照组及模型组同期使用生理盐水灌胃, 2 wk后处死大鼠取材, 并利用RT-PCR及免疫组织化学分别检测大鼠肠上皮细胞内Toll样受体2及受体4(Toll-like receptors 2、4, TLR2、TLR4)表达及NF-κB p65活化情况, 结果提示实验组中TLR2表达上调, TLR4的表达及NF-κB p65活化受到抑制, 推测益生菌对于UC的治疗作用可能与上调TLR2表达、抑制TLR4-NF-κB信号通路相关。

Hudcovic等^[50]将免疫缺陷SCID小鼠及免疫正常Balb/c小鼠共分为6组, SCID小鼠及Balb/c小鼠各3组, 以SCID小鼠为例, SCID1组给予DSS诱导建立结肠炎模型, 并给予梭状芽胞杆菌灌肠治疗, SCID2组仅给予DSS诱导建立结肠炎模型, SCID3组为空白对照, Balb/c小鼠分组同SCID小鼠, 结果提示, 经梭状芽胞杆菌治疗的小鼠, 其肠黏膜上皮内TNF-α、IL-18均较未经治疗的小鼠降低, 而紧密连接蛋白ZO-1也在治疗组中得到保护。

Zhao等^[51]将40只C57/BL小鼠随机分为4组, 即空白对照组、模型组(由TNBS建模, 不给予治疗)、培菲康组(由TNBS建模, 每日给予双歧杆菌、乳杆菌、肠球菌三联胶囊345 mg/kg)及美沙拉嗪组(由TNBS建模, 每日给予美沙拉嗪300 mg/kg), 建模24 h后, 培菲康组及美沙拉嗪组开始给药, 持续治疗10 d, 同期, 空白对照组及模型组灌胃生理盐水。第11天处死小鼠, 利用流式细胞术、RT-PCR、ELISA等相关技术, 检测各组小鼠肠黏膜CD4(+), CD25(+), Fox3(+)及IL-2、IL-4、IL-10、TNF-α及IFN-γ等指标, 结果提示, 在培菲康组及美沙拉嗪组中, CD4(+), CD25(+), Fox3(+)及IL-2、IL-4、IL-10表达上

调, TNF-α及IFN-γ表达下调, 考虑益生菌对于Th1与Th2细胞因子间的平衡存在调控作用。

在另外一组实验中^[52], 实验人员利用DSS诱导建立结肠炎大鼠模型, 后随机分组, 治疗组给予合生元(益生菌: Ultrabiotique; 益生元: 菊粉)治疗, 对照组仅给予生理盐水灌胃, 后对大鼠腹腔巨噬细胞培养并于上清液中发现一氧化氮(NO)的量增高, 在治疗组的大鼠中, NO量明显低于对照组, 且治疗组大鼠的肠道恢复情况明显好于对照组, 考虑NO在UC的发病过程中可能扮演重要角色, 且再次说明了微生态制剂对于UC的治疗作用。

5.2 临床试验 Dotan等^[53]对益生菌在UC治疗中机制的回顾中提到, 使用益生菌治疗UC后, 患者体内促炎性细胞因子、干扰素-γ、TNF-α以及IL-12均会下降, 且益生菌可影响致病菌对于肠黏膜的黏附, 而在分子机制层面, 益生菌对于NF-κB与热休克蛋白(heat-shock protein, HSP)的抑制带来的抗炎作用也被提及。

Soo等^[54]针对UC患者肠黏膜上碱性鞘磷脂酶活性与益生菌相关性展开研究, 他们选取15例确诊溃疡性结肠炎患者, 在给予治疗前行肠镜并给予肠黏膜活检, 检测肠黏膜碱性鞘磷脂酶活性, 并评价患者UCDAI, 之后每日给予VSL#3 2次(9×10^{11} 个细菌/次), 持续5 wk, 治疗后再次于肠镜下取材活检, 检测黏膜碱性鞘磷脂酶活性, 并再次评价患者UCDAI, 结果发现接受治疗后, 患者UCDAI由 5.3 ± 1.8946 下降至 0.70 ± 0.34 ($P = 0.02$), 且黏膜碱性鞘磷脂酶活性交治疗前升高。

Bai等^[55]随机选择临床诊断UC的患者, 并行肠镜活检取材病变黏膜, 后将病变黏膜随机分为共培养组与对照组, 在共培养组中, 将病变黏膜与双歧杆菌共培养, 并利用酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)检测共培养后病变黏膜内TNF-α及IL-8的表达量, 利用免疫组织化学方法检测共培养病变黏膜内NF-κB P65阳性的固有层单核细胞(lamina propria mononuclear cells)数量, 结果提示共培养组TNF-α、IL-8及NF-κB P65阳性的固有层单核细胞数量均较空白对照组明显下降。

Lammers等^[56]在针对益生菌对于UC治疗机制的回顾性研究中发现, 经过益生菌治疗后的患者, 病变部位黏膜上的IL-1β、IL-8以及IFN-γ的mRNA均较空白对照组明显下降, 从而提示益生菌对于病变黏膜免疫反应存在调节作用, 降

低了促炎性细胞因子的合成与释放。

Hegazy等^[57]将明确诊断UC的30例患者随机分为两组, 实验组给予柳氮磺胺吡啶(SASP)(2400 mg/d)+益生菌, 对照组仅给予柳氮磺胺吡啶(2400 mg/d), 在给药前及治疗后8 wk, 分别利用紫外分光光度法检测病变部位结肠髓过氧化物酶活性; 利用ELISA检测病变部位肠黏膜IL-6及粪便钙卫蛋白的含量表达; 利用免疫组织化学及RT-PCR检测NF- κ B P65及TNF- α 在病变黏膜组织中的表达。结果发现上述指标均较对照组明显下降。

Cui等^[58]筛选出30例明确针对UC炎的患者, 并给予SASP及糖皮质激素治疗, 后将30例患者随机分为治疗组及对照组, 治疗组加用双歧三联活菌胶囊(BIFICO 1.26 g/d), 继续治疗8 wk, 后利用Western blot、RT-PCR、电泳迁移率变动分析(electrophoretic mobility shift assay, EMSA)等技术, 检测两组患者治疗后病变黏膜处NF- κ B p65、NF- κ B DNA表达、抗炎及促炎细胞因子表达等多项指标, 结果提示: 治疗组与对照组比较, 治疗组内NF- κ B p65、NF- κ B DNA表达、促炎细胞因子(TNF- α 、IL-1 β)均较对照组下降, 而抗炎细胞因子(IL-10)则较对照组上升。

Lin等^[59]利用乳酸杆菌所产生的分泌因子影响明确临床诊断CD患者体内单核细胞及巨噬细胞, 并使用定量免疫测定、RT-PCR、ELISA等相关技术, 检测受影响后细胞因子分泌的变化, 并寻找受影响的特殊转录因子, 结果发现, 乳酸杆菌通过由脂多糖激活的单核细胞以及单核细胞源性巨噬细胞, 能够明显强烈抑制人体TNF的分泌与合成, 细胞因子MCP-1/CCL2也受影响而数量减少, 并提示人体TNF转录的调节可能是益生菌相关的免疫调节机制的起始, 乳酸杆菌通过抑制MAP的活化、蛋白激酶调节的c-Jun以及转录因子AP-1来达到免疫调节作用。

Llopis等^[60]通过手术收集CD患者肠黏膜标本, 并在体外让病变黏膜分别与大肠埃希菌(*Escherichia coli*, *E. coli* ATCC 35345及干酪乳杆菌DN-114001或其DNA基因组共培养, 之后分别测定组织释放的关键促炎因子(如IL-6、TGF- β 、IL-23p19、IL-12p35、IL-17F)以及趋化因子(IL-8、CXCL1、CXCL2), 结果提示, 干酪乳杆菌DN-114001明显降低了TNF- α 、IFN- γ 、IL-2、IL-6、IL-8以及CXCL1的释放, 并下调了IL-8、IL-6以及CXCL1的表达, 但对IL-23 p19、IL-12 p35以及IL-17F的表达无调控作用, *E. coli*则明显

上调了上述所有细胞因子的表达, 而干酪乳杆菌DN-114001基因组DNA则对上述细胞因子没有调控作用, 他们还发现一个有趣的现象, 即干酪乳杆菌DN-114001可以抵消*E. coli* ATCC 35345在CD中的致炎作用。

此外, 益生菌在IBD治疗中的机制还涉及与病原菌竞争性黏附于肠上皮细胞、促进上皮细胞分泌黏液、防止细菌易位; 增强巨噬细胞吞噬能力及IgA的分泌^[61,62]。

上述大量动物及临床研究, 集中体现了MEA对IBD患者体内促炎细胞因子的抑制、抗炎细胞因子的促进, 其中广泛涉及IL、IFN、TNF、NF- κ B及HSP等。但不同种类的MEA对上述细胞因子的调节作用不同, 故因UC与CD在发病过程中细胞因子参与的不尽相同, MEA治疗UC与CD亦应有所区别, 但未见相关报道同种类MEA治疗UC与CD的对比, 亦未见不同种类MEA治疗UC或CD的疗效评价, 故针对不同IBD(UC或CD)患者, MEA治疗的个体化应当受到重视。

6 结论

MEA已经逐渐成为了IBD治疗中研究热点, 其针对IBD的诱导缓解及维持缓解作用已经逐渐得到的公认, 但在临床应用中, 仍然存在不少问题。

首先, 虽有越来越多的相关研究与试验^[63,64]证明了微生态制剂在一定剂量范围内的耐受性与安全性, 但仍有少量报道^[37]提出了微生态制剂的不良反应, 如流感样症状、腹胀等轻微反应, 也曾有心内膜炎、肝脓肿、脑膜炎等严重不良反应的报道^[65]。如今尚缺乏关于MEA治疗IBD不良反应的大样本、随机、双盲研究, 用药安全值得关注。

其次, 微生态制剂品种繁多, 不同菌株、剂量及疗程的选择对于疾病的治疗至关重要, 但由于微生态制剂药理作用及各种菌株作用机制研究的欠缺, 无法为临床提供指导, 从而造成了菌株、剂量及疗程的选择缺乏针对性, 往往无法做到“择优而用”。如上文所述, MEA治疗IBD机制尚未阐明, 但发现不同种类MEA对不同细胞因子的调节作用不同, 故MEA的个体化治疗当受到重视, 通过相关研究寻找UC或CD最佳的MEA治疗方案是将来研究的重点。

再次, 在IBD的治疗中, 特别是重症患者, 抗生素的运用较为普遍, 而MEA与抗生素同时使用的方式缺乏指导, 容易造成MEA, 特别是益生菌的补充成为“徒劳”, 造成实际益生菌用量

的不足, 导致治疗效果的下降. 故MEA与抗生素同时运用时的用药方法、时间、剂量等相关问题有待进一步研究阐述.

总之, MEA在IBD治疗中的研究与发展有目共睹, 虽目前尚存在一些问题, 但相信随着分子生物学和细胞生物学等基础学科的不断发展, 未来定能将各种MEA的作用机制明确区分, 也逐渐揭示出不同MEA间的内在联系, 从而让MEA的作用机制进一步得以揭示, 增强临床用药针对性, 进一步发挥MEA在IBD治疗中作用.

7 参考文献

- Lozupone CA, Stombaugh JL, Gordon JL, Jansson JK, Knight R. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature* 2012; 489: 220-230 [PMID: 22972295 DOI: 10.1038/nature11550]
- Yukawa T, Ohkusa T, Shibuya T, Tsukinaga S, Mitobe J, Takakura K, Takahara A, Odahara S, Matsudaira H, Nagatsuma K, Kitahara T, Kajihara M, Uchiyama K, Arakawa H, Koido S, Tajiri H. Nested culture method improves detection of *Fusobacterium* from stool in patients with ulcerative colitis. *Jpn J Infect Dis* 2013; 66: 109-114 [PMID: 23514906 DOI: 10.7883/yoken.66.109]
- Nemoto H, Kataoka K, Ishikawa H, Ikata K, Arimochi H, Iwasaki T, Ohnishi Y, Kuwahara T, Yasutomo K. Reduced diversity and imbalance of fecal microbiota in patients with ulcerative colitis. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 2955-2964 [PMID: 22623042 DOI: 10.1007/s10620-012-2236-y]
- Linskens RK, Huijsdens XW, Savelkoul PH, Vandenbroucke-Grauls CM, Meuwissen SG. The bacterial flora in inflammatory bowel disease: current insights in pathogenesis and the influence of antibiotics and probiotics. *Scand J Gastroenterol Suppl* 2001; (234): 29-40 [PMID: 11768558]
- 崔海宏, 陈村龙, 孙勇, 王亚东, 张耀东, 杨玉捷, 王群英, 潘令嘉. 炎症性肠病患者肠黏膜菌群改变及抗体反应. *胃肠病学和肝病学杂志* 2003; 12: 276-278
- Kleessen B, Kroesen AJ, Buhr HJ, Blaut M. Mucosal and invading bacteria in patients with inflammatory bowel disease compared with controls. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37: 1034-1041 [PMID: 12374228]
- Aomatsu T, Imaeda H, Fujimoto T, Takahashi K, Yoden A, Tamai H, Fujiyama Y, Andoh A. Terminal restriction fragment length polymorphism analysis of the gut microbiota profiles of pediatric patients with inflammatory bowel disease. *Digestion* 2012; 86: 129-135 [PMID: 22846404 DOI: 10.1159/000339777]
- Ricanek P, Lothe SM, Frye SA, Rydning A, Vatn MH, Tønnum T. Gut bacterial profile in patients newly diagnosed with treatment-naïve Crohn's disease. *Clin Exp Gastroenterol* 2012; 5: 173-186 [PMID: 23049264 DOI: 10.2147/CEG.S33858]
- Liu X, Cui Y, Ouyang C, Li X, Lu F, Wu X. [Characteristics and differential diagnosis of intestinal flora in Crohn's disease and intestinal tuberculosis]. *Zhongnan Daxue Xuebao Yixueban* 2010; 35: 1196-1200 [PMID: 21131744 DOI: 10.3969/j.issn.1672-7347]
- Verma R, Verma AK, Ahuja V, Paul J. Real-time analysis of mucosal flora in patients with inflammatory bowel disease in India. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 4279-4282 [PMID: 20861337 DOI: 10.1128/JCM.01360-10]
- Reddy SS, Brandt LJ. Clostridium difficile Infection and Inflammatory Bowel Disease. *J Clin Gastroenterol* 2013; 47: 666-671 [PMID: 23507767 DOI: 10.1097/MCG.0b013e31828b288a]
- Freeman HJ. Recent developments on the role of Clostridium difficile in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 2794-2796 [PMID: 18473400 DOI: 10.3748/wjg.14.2794]
- Bien J, Palagani V, Bozko P. The intestinal microbiota dysbiosis and Clostridium difficile infection: is there a relationship with inflammatory bowel disease? *Therap Adv Gastroenterol* 2013; 6: 53-68 [PMID: 23320050 DOI: 10.1177/1756283X12454590]
- Musa S, Thomson S, Cowan M, Rahman T. Clostridium difficile infection and inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 2010; 45: 261-272 [PMID: 20025557 DOI: 10.3109/00365520903497098]
- Wułańska D, Banaszkiewicz A, Radzikowski A, Obuch-Woszczatyński P, Młynarczyk G, Brazier JS, Pituch H, van Belkum A. Clostridium difficile infection in Polish pediatric outpatients with inflammatory bowel disease. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2010; 29: 1265-1270 [PMID: 20577773 DOI: 10.1007/s10096-010-0997-9]
- Bossuyt P, Verhaegen J, Van Assche G, Rutgeerts P, Vermeire S. Increasing incidence of Clostridium difficile-associated diarrhea in inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis* 2009; 3: 4-7 [PMID: 21172241 DOI: 10.1016/j.crohns.2008.09.003]
- Murthy SK, Steinhart AH, Tinmouth J, Austin PC, Daneman N, Nguyen GC. Impact of Clostridium difficile colitis on 5-year health outcomes in patients with ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 36: 1032-1039 [PMID: 23061526 DOI: 10.1111/apt.12073]
- Kim JM, Lee JY, Yoon YM, Oh YK, Youn J, Kim YJ. NF-kappa B activation pathway is essential for the chemokine expression in intestinal epithelial cells stimulated with Clostridium difficile toxin A. *Scand J Immunol* 2006; 63: 453-460 [PMID: 16764699 DOI: 10.1111/j.1365-3083.2006.001756.x]
- Lyras D, O'Connor JR, Howarth PM, Sambol SP, Carter GP, Phumoonna T, Poon R, Adams V, Vedantam G, Johnson S, Gerding DN, Rood JI. Toxin B is essential for virulence of Clostridium difficile. *Nature* 2009; 458: 1176-1179 [PMID: 19252482 DOI: 10.1038/nature07822]
- Navaneethan U, Mukewar S, Venkatesh PG, Lopez R, Shen B. Clostridium difficile infection is associated with worse long term outcome in patients with ulcerative colitis. *J Crohns Colitis* 2012; 6: 330-336 [PMID: 22405170 DOI: 10.1016/j.crohns.2011.09.005]
- 刘晶晶, 袁耀宗. 难辨梭状芽孢杆菌与炎症性肠病关系的初步研究. *中华消化杂志* 2012; 32: 245-248
- Sherman PM, Ossa JC, Johnson-Henry K. Unraveling mechanisms of action of probiotics. *Nutr Clin Pract* 2009; 24: 10-14 [PMID: 19244144 DOI: 10.1177/0884533608329231]
- Fujimoto T, Imaeda H, Takahashi K, Kasumi E, Bamba S, Fujiyama Y, Andoh A. Decreased abundance of *Faecalibacterium prausnitzii* in the gut microbiota of Crohn's disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2013; 28: 613-619 [PMID: 23216550 DOI: 10.1111/jgh.12073]

- 24 Sokol H, Seksik P, Furet JP, Firmesse O, Nion-Larmurier I, Beaugier L, Cosnes J, Corthier G, Marteau P, Doré J. Low counts of *Faecalibacterium prausnitzii* in colitis microbiota. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 1183-1189 [PMID: 19235886 DOI: 10.1002/ibd.20903]
- 25 Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, Lakhdari O, Bermúdez-Humarán LG, Gratadoux JJ, Blugeon S, Bridonneau C, Furet JP, Corthier G, Grangette C, Vasquez N, Pochart P, Trugnan G, Thomas G, Blottière HM, Doré J, Marteau P, Seksik P, Langella P. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 16731-16736 [PMID: 18936492 DOI: 10.1073/pnas.0804812105]
- 26 洪娜, 邱新运, 张明明, 杨晓彤, 于成功. 普拉梭菌对实验性大鼠结肠炎防治的初步研究. *中华消化杂志* 2012; 32: 459-465
- 27 Thompson-Chagoyán OC, Maldonado J, Gil A. Aetiology of inflammatory bowel disease (IBD): role of intestinal microbiota and gut-associated lymphoid tissue immune response. *Clin Nutr* 2005; 24: 339-352 [PMID: 15896420 DOI: 10.1016/j.clnu.2005.02.009]
- 28 Anderson RC, Cookson AL, McNabb WC, Kelly WJ, Roy NC. *Lactobacillus plantarum* DSM 2648 is a potential probiotic that enhances intestinal barrier function. *FEMS Microbiol Lett* 2010; 309: 184-192 [PMID: 20618863 DOI: 10.1111/j.1574-6968.2010.02038.x]
- 29 Ewaschuk JB, Diaz H, Meddings L, Diederichs B, Dmytrash A, Backer J, Looijer-van Langen M, Madsen KL. Secreted bioactive factors from *Bifidobacterium infantis* enhance epithelial cell barrier function. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 295: G1025-G1034 [PMID: 18787064 DOI: 10.1152/ajpgi.90227.2008]
- 30 Canonici A, Pellegrino E, Siret C, Terciolo C, Czerucka D, Bastonero S, Marvaldi J, Lombardo D, Rigot V, André F. *Saccharomyces boulardii* improves intestinal epithelial cell restitution by inhibiting $\alpha\beta 5$ integrin activation state. *PLoS One* 2012; 7: e45047 [PMID: 23028753 DOI: 10.1371/journal.pone.0045047]
- 31 Rajput IR, Li LY, Xin X, Wu BB, Juan ZL, Cui ZW, Yu DY, Li WF. Effect of *Saccharomyces boulardii* and *Bacillus subtilis* B10 on intestinal ultrastructure modulation and mucosal immunity development mechanism in broiler chickens. *Poult Sci* 2013; 92: 956-965 [PMID: 23472019 DOI: 10.3382/ps.2012-02845]
- 32 Dharmani P, De Simone C, Chadee K. The probiotic mixture VSL#3 accelerates gastric ulcer healing by stimulating vascular endothelial growth factor. *PLoS One* 2013; 8: e58671 [PMID: 23484048 DOI: 10.1371/journal.pone.0058671]
- 33 Horinaka M, Yoshida T, Kishi A, Akatani K, Yasuda T, Kouhara J, Wakada M, Sakai T. *Lactobacillus* strains induce TRAIL production and facilitate natural killer activity against cancer cells. *FEBS Lett* 2010; 584: 577-582 [PMID: 19995562 DOI: 10.1016/j.febslet.2009.12.004]
- 34 Kumar M, Nagpal R, Verma V, Kumar A, Kaur N, Hemalatha R, Gautam SK, Singh B. Probiotic metabolites as epigenetic targets in the prevention of colon cancer. *Nutr Rev* 2013; 71: 23-34 [PMID: 23282249 DOI: 10.1111/j.1753-4887.2012.00542.x]
- 35 Verma A, Shukla G. Probiotics *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus acidophilus* suppresses DMH-induced procarcinogenic fecal enzymes and preneoplastic aberrant crypt foci in early colon carcinogenesis in Sprague Dawley rats. *Nutr Cancer* 2013; 65: 84-91 [PMID: 23368917 DOI: 10.1080/01635581.2013.741746]
- 36 Bassaganya-Riera J, Viladomiu M, Pedragosa M, De Simone C, Hontecillas R. Immunoregulatory mechanisms underlying prevention of colitis-associated colorectal cancer by probiotic bacteria. *PLoS One* 2012; 7: e34676 [PMID: 22511958 DOI: 10.1371/journal.pone.0034676]
- 37 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]
- 38 Miele E, Pascarella F, Giannetti E, Quaglietta L, Baldassano RN, Staiano A. Effect of a probiotic preparation (VSL#3) on induction and maintenance of remission in children with ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 437-443 [PMID: 19174792 DOI: 10.1038/ajg.2008.118]
- 39 Ishikawa H, Matsumoto S, Ohashi Y, Imaoka A, Setoyama H, Umesaki Y, Tanaka R, Otani T. Beneficial effects of probiotic *bifidobacterium* and galactooligosaccharide in patients with ulcerative colitis: a randomized controlled study. *Digestion* 2011; 84: 128-133 [PMID: 21525768 DOI: 10.1159/000322977]
- 40 Sang LX, Chang B, Zhang WL, Wu XM, Li XH, Jiang M. Remission induction and maintenance effect of probiotics on ulcerative colitis: a meta-analysis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 1908-1915 [PMID: 20397271 DOI: 10.3748/wjg.v16.i15.1908]
- 41 丁娟, 熊光苏, 杨川华, 吴江红. 益生菌制剂VSL#3对溃疡性结肠炎诱导缓解作用的系统评价. *胃肠病学* 2012; 17: 521-526
- 42 Holubar SD, Cima RR, Sandborn WJ, Pardi DS. Treatment and prevention of pouchitis after ileal pouch-anal anastomosis for chronic ulcerative colitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2010; (6): CD001176 [PMID: 20556748 DOI: 10.1002/14651858]
- 43 Vegter S, Tolley K, Wilson Waterworth T, Jones H, Jones S, Jewell D. Meta-analysis using individual patient data: efficacy and durability of topical alicoforsen for the treatment of active ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 38: 284-293 [PMID: 23750909 DOI: 10.1111/apt.12369]
- 44 Steed H, Macfarlane GT, Blackett KL, Bahrami B, Reynolds N, Walsh SV, Cummings JH, Macfarlane S. Clinical trial: the microbiological and immunological effects of synbiotic consumption - a randomized double-blind placebo-controlled study in active Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 32: 872-883 [PMID: 20735782 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04417.x]
- 45 Garcia Vilela E, De Lourdes De Abreu Ferrari M, Oswaldo Da Gama Torres H, Guerra Pinto A, Carolina Carneiro Aguirre A, Paiva Martins F, Marcos Andrade Goulart E, Sales Da Cunha A. Influence of

- Saccharomyces boulardii on the intestinal permeability of patients with Crohn's disease in remission. *Scand J Gastroenterol* 2008; 43: 842-848 [PMID: 18584523 DOI: 10.1080/00365520801943354]
- 46 Fujimori S, Tatsuguchi A, Gudis K, Kishida T, Mitsui K, Ehara A, Kobayashi T, Sekita Y, Seo T, Sakamoto C. High dose probiotic and prebiotic cotherapy for remission induction of active Crohn's disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 1199-1204 [PMID: 17688660 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2006.04535.x]
 - 47 Doherty GA, Bennett GC, Cheifetz AS, Moss AC. Meta-analysis: targeting the intestinal microbiota in prophylaxis for post-operative Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 31: 802-809 [PMID: 20055785 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04231.x]
 - 48 Rahimi R, Nikfar S, Rahimi F, Elahi B, Derakhshani S, Vafaie M, Abdollahi M. A meta-analysis on the efficacy of probiotics for maintenance of remission and prevention of clinical and endoscopic relapse in Crohn's disease. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 2524-2531 [PMID: 18270836 DOI: 10.1007/s10620-007-0171-0]
 - 49 曹艳菊. 益生菌对实验性结肠炎大鼠肠黏膜TLR2、TLR4表达及NF- κ B活性的影响. *胃肠病学和肝病学杂志* 2012; 21: 760-763
 - 50 Hudcovic T, Kolinska J, Klepetar J, Stepankova R, Rezanka T, Srutkova D, Schwarzer M, Erban V, Du Z, Wells JM, Hrnecir T, Tlaskalova-Hogenova H, Kozakova H. Protective effect of Clostridium tyrobutyricum in acute dextran sodium sulphate-induced colitis: differential regulation of tumour necrosis factor- α and interleukin-18 in BALB/c and severe combined immunodeficiency mice. *Clin Exp Immunol* 2012; 167: 356-365 [PMID: 22236013 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2011.04498.x]
 - 51 Zhao HM, Huang XY, Zuo ZQ, Pan QH, Ao MY, Zhou F, Liu HN, Liu ZY, Liu DY. Probiotics increase T regulatory cells and reduce severity of experimental colitis in mice. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 742-749 [PMID: 23430765 DOI: 10.3748/wjg.v19.i5.742]
 - 52 Abdelouhab K, Rafa H, Toumi R, Bouaziz S, Medjber O, Touil-Boukoffa C. Mucosal intestinal alteration in experimental colitis correlates with nitric oxide production by peritoneal macrophages: effect of probiotics and prebiotics. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2012; 34: 590-597 [PMID: 22211319 DOI: 10.3109/08923973.2011.641971]
 - 53 Dotan I, Rachmilewitz D. Probiotics in inflammatory bowel disease: possible mechanisms of action. *Curr Opin Gastroenterol* 2005; 21: 426-430 [PMID: 15930982]
 - 54 Soo I, Madsen KL, Tejpar Q, Sydora BC, Sherbaniuk R, Cinque B, Di Marzio L, Cifone MG, Desimone C, Fedorak RN. VSL#3 probiotic upregulates intestinal mucosal alkaline sphingomyelinase and reduces inflammation. *Can J Gastroenterol* 2008; 22: 237-242 [PMID: 18354751]
 - 55 Bai AP, Ouyang Q, Xiao XR, Li SF. Probiotics modulate inflammatory cytokine secretion from inflamed mucosa in active ulcerative colitis. *Int J Clin Pract* 2006; 60: 284-288 [PMID: 16494642 DOI: 10.1111/j.1368-5031.2006.00833.x]
 - 56 Lammers KM, Vergopoulos A, Babel N, Gionchetti P, Rizzello F, Morselli C, Caramelli E, Fiorentino M, d'Errico A, Volk HD, Campieri M. Probiotic therapy in the prevention of pouchitis onset: decreased interleukin-1 β , interleukin-8, and interferon- γ gene expression. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11: 447-454 [PMID: 15867584 DOI: 10.1097/01.mpa.0000160302.40931.7b]
 - 57 Hegazy SK, El-Bedewy MM. Effect of probiotics on pro-inflammatory cytokines and NF- κ B activation in ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 4145-4151 [PMID: 20806430 DOI: 10.3748/wjg.v16.i33.4145]
 - 58 Cui HH, Chen CL, Wang JD, Yang YJ, Cun Y, Wu JB, Liu YH, Dan HL, Jian YT, Chen XQ. Effects of probiotic on intestinal mucosa of patients with ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1521-1525 [PMID: 15133865]
 - 59 Lin YP, Thibodeaux CH, Peña JA, Ferry GD, Versalovic J. Probiotic Lactobacillus reuteri suppress pro-inflammatory cytokines via c-Jun. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 1068-1083 [PMID: 18425802 DOI: 10.1002/ibd.20448]
 - 60 Llopis M, Antolin M, Carol M, Borruel N, Casellas F, Martinez C, Espin-Basany E, Guarner F, Malagelada JR. Lactobacillus casei downregulates commensals' inflammatory signals in Crohn's disease mucosa. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 275-283 [PMID: 18839424 DOI: 10.1002/ibd.20736]
 - 61 Sartor RB. Therapeutic manipulation of the enteric microflora in inflammatory bowel diseases: antibiotics, probiotics, and prebiotics. *Gastroenterology* 2004; 126: 1620-1633 [PMID: 15168372 DOI: 10.1053/j.gastro.2004.03.024]
 - 62 Candela M, Perna F, Carnevali P, Vitali B, Ciati R, Gionchetti P, Rizzello F, Campieri M, Brigidi P. Interaction of probiotic Lactobacillus and Bifidobacterium strains with human intestinal epithelial cells: adhesion properties, competition against enteropathogens and modulation of IL-8 production. *Int J Food Microbiol* 2008; 125: 286-292 [PMID: 18524406 DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2008.04.012]
 - 63 Jones ML, Martoni CJ, Di Pietro E, Simon RR, Prakash S. Evaluation of clinical safety and tolerance of a Lactobacillus reuteri NCIMB 30242 supplement capsule: a randomized control trial. *Regul Toxicol Pharmacol* 2012; 63: 313-320 [PMID: 22561556 DOI: 10.1016/j.yrtph.2012.04.003]
 - 64 Ulsemer P, Toutounian K, Kressel G, Schmidt J, Karsten U, Hahn A, Goletz S. Safety and tolerance of Bacteroides xylanisolvens DSM 23964 in healthy adults. *Benef Microbes* 2012; 3: 99-111 [PMID: 22417778 DOI: 10.3920/BM2011.0051]
 - 65 Donohue DC. Safety of probiotics. *Asia Pac J Clin Nutr* 2006; 15: 563-569 [PMID: 17077077]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



溃疡性结肠炎与肠道菌群的研究进展

刘玉婷, 郝微微, 历娜娜, 温红珠, 曹丽静, 李 佳

■背景资料

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 的发病被认为与宿主遗传易感性、黏膜免疫和肠道菌群有关。与正常人相比, UC患者存在不同程度的菌群失调。本文就UC患者肠道菌群分布、潜在致病菌和益生菌的研究现状进行阐述。

刘玉婷, 郝微微, 历娜娜, 温红珠, 曹丽静, 李佳, 上海中医药大学附属龙华医院消化内科 上海市 200032

刘玉婷, 硕士研究生, 主要从事中医药防治胃肠疾病的研究。

国家中医临床研究基地龙医团队基金资助项目, No. LYTD-09

2012年度上海市自然科学基金面上资助项目, No. 12ZR1432000

作者贡献分布: 本文由郝微微指导完成; 资料搜集和分析由刘玉婷与历娜娜完成; 资料筛选由温红珠、曹丽静及李佳完成; 综述由刘玉婷完成。

通讯作者: 郝微微, 副主任医师, 200032, 上海市徐汇区宛平南路725号, 上海中医药大学附属龙华医院消化内科。

hao2364@hotmail.com

电话: 021-64385700-6423

收稿日期: 2013-07-15 修回日期: 2013-07-23

接受日期: 2013-08-15 在线出版日期: 2013-09-28

Ulcerative colitis and intestinal flora

Yu-Ting Liu, Wei-Wei Hao, Na-Na Li, Hong-Zhu Wen, Li-Jing Cao, Jia Li

Yu-Ting Liu, Wei-Wei Hao, Na-Na Li, Hong-Zhu Wen, Li-Jing Cao, Jia Li, Institute of Digestive Diseases Affiliated to Shanghai University of TCM, Shanghai 200032, China

Supported by: the National TCM Clinical Research Base Longyi Team Project, No. LYTD-09; the 2012 Shanghai Natural Science Foundation, No. 12ZR1432000

Correspondence to: Wei-Wei Hao, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of TCM, 725 Wanping South Road, Shanghai 200032, China. hao2364@hotmail.com

Received: 2013-07-15 Revised: 2013-07-23

Accepted: 2013-08-15 Published online: 2013-09-28

Abstract

Ulcerative colitis (UC) is a serious chronic inflammatory disease characterized by recurrent episodes of intestinal ulcer, diarrhea, bloody stools and abdominal pain. The pathogenesis of UC is thought to be associated with genetic susceptibility, mucosal immunity and intestinal flora. Compared with normal people, UC patients often develop different degrees of dysbacteriosis, which mainly manifests as reduced number of good microorganisms and increased number of conditional pathogenic bacteria. In this paper, we will discuss the distribution of intestinal flora, mainly potential pathogenic bacteria and good microorganisms, in patients with UC.

■同行评议者

杜奕奇, 副教授, 中国人民解放军第二军医大学长海医院

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Ulcerative colitis; Intestinal flora; Pathogenic bacteria; Probiotics

Liu YT, Hao WW, Li NN, Wen HZ, Cao LJ, Li J. Ulcerative colitis and intestinal flora. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2802-2807 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2802.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2802>

摘要

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是以反复发生的肠道溃疡为特征的疾病, 以腹泻、血便、腹痛等症状为主。UC的发病被认为与宿主遗传易感性、黏膜免疫和肠道菌群有关。与正常人相比, UC患者存在不同程度的菌群失调, 主要表现在益生菌数量的减少和条件致病菌数量的增多。本文就UC患者肠道菌群分布、潜在致病菌和益生菌的研究现状进行了阐述。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 溃疡性结肠炎; 肠道菌群; 致病菌; 益生菌

核心提示: 溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 患者的肠道菌群与健康人群的存在差异, 表现在结构多样性的降低。但是在对肠道菌群进行定量培养和检测发现, 国内外的报道有差异。目前比较一致的观点认为UC患者肠道中双歧杆菌、乳杆菌数量减少。

刘玉婷, 郝微微, 历娜娜, 温红珠, 曹丽静, 李佳. 溃疡性结肠炎与肠道菌群的研究进展. 世界华人消化杂志. 2013; 21(27): 2802-2807 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2802.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2802>

0 引言

肠道的微生物数量巨大, 区系组成包括: 拟杆菌、真杆菌、厌氧链球菌、双歧杆菌、肠球菌、肠杆菌和乳酸菌、梭菌、酵母等^[1]。大致分为3类: (1)与宿主共生的生理性细菌: 以专性厌

氧菌为主, 包括双歧杆菌、乳杆菌、拟杆菌、梭菌; (2)与宿主共栖的条件致病菌: 以兼性厌氧菌为主, 包括肠球菌、肠杆菌; (3)病原菌: 多为过路菌。其中双歧杆菌和乳酸杆菌是两种最重要的菌群, 高厌氧菌水平和高B/E值(双歧杆菌与大肠杆菌比值)能反映人群良好的肠道环境^[2]。肠道菌群相互制约、相互依存, 保持微生物的生态平衡, 对宿主具有消化、吸收、营养、生物拮抗等生理作用, 是宿主生命必需的组成部分。

1 UC患者的肠道菌群

尽管目前UC的发病机制不明确, 但肠道菌群与UC发病的关系是近年的研究热点, 一系列的临床和动物实验显示UC患者与健康者的肠道菌群存在差异。首先, 活动期UC患者与健康对照者的肠道菌群存在差异, 而缓解期UC患者与健康者的肠道菌群无差异, 大多数的研究都支持这一观点。Nishikawa等^[3]使用细菌16S-rRNA基因限制性片段长度多态性的方法发现UC患者肠道黏膜菌群数量明显少于健康对照者。吴瑞丽等^[4]运用肠道细菌基因间重复序列-聚合酶链式反应(enterobacteria repetitive intergenic consensus-polymerase chain reaction, ERIC-PCR)技术对55例UC患者(30例活动期, 25例缓解期)及15例健康对照组粪便标本进行分析, 结果显示UC缓解期患者与对照组肠道菌群结构多样性无显著差异, 而UC活动期患者肠道菌群结构多样性明显降低。这与Rajilić-Stojanović等^[5]、Noor等^[6]、Andoh等^[7]、孙勇等^[8]研究结果相一致。但是, Nemoto等^[9]发现UC缓解期患者肠球菌比健康对照者增多。

对于活动期UC患者肠道菌群组成方面, 历来的研究结果千差万别。国内孙勇等^[8]、任科雨^[10]对肠道菌群进行培养, 均发现活动期UC患者的双歧杆菌、乳杆菌数量较正常对照组显著减少, 肠杆菌数量显著增加, 肠球菌及小梭菌也有增加的趋势。白鹏等^[11]也认为UC患者粪便中双歧杆菌属和乳酸杆菌属数量明显减少, 但是大肠杆菌、肠球菌含量均与正常对照无明显差异, 另外, UC患者间的肠道菌群存在个体差异较大的趋势, 而正常对照组之间差异较小, 说明UC患者肠道菌群不稳定。崔熠^[12]对UC患者乳杆菌属的研究显示乳杆菌属明显减少, 但在种的水平并非完全减少, 而是有的减少有的增加, 提示UC患者可能存在特殊的乳杆菌组, 另外肠球菌也增多, 而酵母菌、拟杆菌、双歧杆菌、大肠

杆菌、金黄色葡萄球菌及需氧菌与正常组接近。造成这些结果差异的原因可能与标本数量和实验操作有关。

国外Sha等^[13]运用实时定量基因扩增荧光检测技术(real-time quantitative polymerase chain reaction detecting system, Q-PCR)和聚合酶链式反应-变性梯度凝胶电泳(polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis, PCR-DGGE)技术对26例UC患者、14例健康对照者的肠道菌群进行分析, 发现UC患者拟杆菌属、双歧杆菌属、普雷沃菌属和卟啉单胞菌属的数量减少, 而乳酸杆菌未减少, 肠球菌增加。Schwartz等^[14]、Macfarlane等^[15]也发现UC患者粪便中双歧杆菌数量明显减少, 且UC患者与正常对照者双歧杆菌优势菌种亦明显不同。Nemoto等^[9]的定量研究显示UC患者拟杆菌比健康人减少近10%。但Vigsnaes等^[16]采用相同的技术发现UC患者革兰阴性细菌减少, 而其中乳酸杆菌的减少尤为重要, 与国内李雄彪等^[17]的研究相一致。

通过分析, 可以得出的结论为: UC患者的肠道菌群与健康人群的存在差异, 表现在结构多样性的降低, 主要是共生菌数量的减少。但是在对肠道菌群进行定量培养和检测发现, 国内外的报道有差异, 可能与样本数量、地理位置、饮食结构、实验操作等因素有关。但目前比较一致的观点认为UC患者肠道中双歧杆菌、乳杆菌数量减少, 这为UC的治疗提供了新的思路。

2 UC患者肠道中的潜在致病菌

张静等^[18]用ERIC-PCR技术建立UC患者和健康者的粪便DNA指纹图谱, 发现UC组电泳DNA条带少, 且主带分布非常一致。说明UC可能存在较单一的肠道优势细菌, 推测其发病机制可能与特定的肠道优势细菌感染有关。目前有学者认为硫酸盐还原菌(sulfate reducing bacteria, SRB)、艰难梭菌(*Clostridium difficile*, CDC)、大肠埃希菌(*Escherichia coli*, *E. coli*)与UC的发病存在一定关联。

2.1 硫酸盐还原菌 Roediger等^[19]认为SRB在UC患者的粪便中增多。正常的肠道菌群将碳水化合物、脂肪或蛋白质发酵转化为丙酸盐或丁酸盐, 丁酸盐能产生能量并且有抗炎和抗癌的作用, 丁酸盐由硬壁菌门转化乳酸而来。UC患者肠道产生大量硫化氢, 硫化氢对人类细胞和上皮屏障都有损害作用削弱N-丁酸盐的氧化, 从而导致IBD炎症的发生^[20]。而SRB使用乳酸作为他

■研究前沿
进一步阐明国内外对于UC患者肠道菌群分布、潜在致病菌和益生菌的研究状况, 对于临床用药有重要指导作用。

■相关报道

国外Sumei等发现UC患者拟杆菌属、双歧杆菌属、普雷沃菌属和卟啉单胞菌属的数量减少,而乳酸杆菌未减少,肠球菌增加。

们的首选的电子供体将某些物质硫酸化,因此他们与硬壁菌竞争获得碳和能源。因此SRB通过生成有毒物质和消耗生产丁酸的有益菌来加剧胃肠道疾病^[21]。SRB也在某些缓解期患者的肠道菌群中被发现^[7]。若要更深入地了解SRB在UC中的作用,还需要更深入地研究UC患者和健康者的SRB群落结构。

2.2 艰难梭菌 国内荀津等^[22]通过对56例IBD患者(36例UC患者和20例CD患者)和40例健康者粪便中艰难梭菌毒素A和毒素B的检测来分析IBD临床资料与CDC感染的相关性,结果显示,IBD患者CDC感染率明显升高,其中UC患者CDC感染率低于CD患者,活动期及结肠受累的IBD患者可能更易感染CDC。Murthy等^[23]对加拿大2002-2008年间UC住院患者的回顾性研究显示感染CDC的UC患者比未感染CDC的患者结肠切除率和死亡率增加了。Ricciardi等^[24]对IBD患者感染CDC的流行病学调查发现感染CDC的UC患者病死率大幅提高,且手术死亡率达到了25.7%。但是对于是CDC引起UC还是UC导致CDC的感染增加这一问题,目前还缺乏相关的治疗试验^[25]。这与Jodorkovsky等^[26]的研究结果一致。

2.3 大肠埃希菌 国内宋美茹等^[27]收集35例UC患者和健康对照者的粪便标本,从待测粪便标本中提取细菌基因组DNA,进行实时荧光定量PCR反应,定量分析不同细菌的数量,结果显示UC患者粪便中*E. coli*的数量较正常对照明显增多,提示*E. coli*与UC的发病有一定的关系。de Souza等^[28]采用细菌培养技术和PCR技术对11例CD患者、7例UC患者和14例健康者不同肠段活组织和粪便进行检测,发现粪便中*E. coli*没有差别,但活组织检查,尤其是CD患者的回肠、直肠和乙状结肠,UC患者的直肠和乙状结肠*E. coli*增加了。Pilarczyk-Zurek等^[29]通过对30例活动期UC患者的炎症组织和非炎症组织的结肠黏膜活检也发现在病变肠段*E. coli*增多。

3 益生菌在UC治疗中的作用

由于使用5-氨基水杨酸类药物或柳氮磺吡啶(sulfasalazine, SASP)或免疫抑制剂会产生不良作用,且治疗效果差,目前关于肠道菌群在UC患者中的研究越来越多,益生菌的使用也日益受到重视^[30,31]。一些学者^[32,33]认为UC患者致病菌分泌肠毒素,使肠上皮通透性增高,并且病菌分泌免疫抑制性蛋白,导致黏膜免疫失调,诱发炎

症的发生。而益生菌可以补充UC患者肠道中减少的菌群种类,使之恢复平衡。益生菌的标准来源于人、无致病性、高度耐受胃酸和胆汁、能黏附于肠黏膜而阻止病原微生物的黏附,有益于人体免疫。目前研究的益生菌以双歧杆菌、乳酸杆菌、酵母菌为主^[34],有研究^[35]表示双歧杆菌、乳酸杆菌、酵母菌的混合物能缓解炎症,改善结肠炎大鼠上皮屏障功能。并且服用培菲康的UC患者和小鼠,拟杆菌、双歧杆菌明显升高、小梭菌明显下降,为UC的临床治疗提供了参考^[36,37]。

3.1 乳酸杆菌 王坚镗等^[38]采用白介素10基因敲除的小鼠作为IBD动物模型,小鼠8周龄时出现肠道菌群紊乱,即乳酸杆菌和双歧杆菌减少,在连续4 wk植物乳酸杆菌治疗后,肠道菌群恢复正常。Liu等^[39]的研究显示乳杆菌K68显著抑制外周血单个核细胞产生肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2),疾病活动指数(disease activity index, DAI)和组织学评分(histological evaluation, HIS)显示口服乳杆菌K68的小鼠症状明显减轻,并且口服乳杆菌K68的小鼠TNF- α 、IL-1 β 、IL-6均减少,结肠TNF- α 、环氧化酶2(cyclooxygenase-2, COX-2)、转录因子(forkhead box P3, Foxp3)、抑制细胞因子的信号3(suppressors of cytokine signaling 3, SOCS3)、Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)mRNA的表达均显著降低,这与任科雨等^[10]的研究结果相一致,说明乳杆菌能够有效改善结肠黏膜炎症,具有促进抗炎作用和调节免疫活动的功能,从而达到对结肠炎的治疗作用。Wildt等^[40]对32例缓解期UC患者进行随机双盲试验,其中20例患者接受乳酸杆菌和双歧杆菌治疗,12例接受安慰剂对照治疗,结果显示治疗组未复发的比例为25%,而安慰剂组为8%,说明乳酸杆菌和双歧杆菌对缓解期的治疗起到了一定的效果。李才等^[41]也发现联合应用乳酸杆菌和SASP保留灌肠治疗UC,总有效率为93.8%,显著高于单独使用SASP保留灌肠。说明乳酸杆菌在临床上也起到了治疗效果。

3.2 双歧杆菌 目前对于双歧杆菌的作用机制研究颇多。有研究^[42]提示双歧杆菌可以提高外周血和肠系膜淋巴细胞中表达CD4⁺、CD25⁺、Foxp3⁺的T细胞的百分比率,通过调节肠道过度的免疫反应和抗炎作用,对UC发挥一定的治疗作用。翁志英等^[43]认为双歧杆菌与致病菌竞

争, 黏附于肠道黏膜, 通过抑制NF- κ B的核结合活性, 进而降低MMP-2的表达完成的, 其作用与SASP作用相当。所以, 双歧杆菌也具有改善肠道炎症和调节免疫的功能, 并且效果与SASP相当, 对UC患者有潜在的治疗作用, 为临床治疗提供了新的思路。

3.3 酵母菌 Guslandi等^[44]对24例激素治疗无效的UC患者给予美沙拉嗪和酵母菌治疗, 其中17例获得了临床缓解, 提示酵母菌能有效治疗UC。Lee等^[45]用酵母菌喂养结肠炎小鼠, 发现酵母菌可使PPAR- γ 表达增加, 并且抑制黏膜中促炎症细胞因子的表达。Chen等^[46]发现酵母菌可以调节血管生成来限制肠道炎症, 通过血管内皮生长因子受体(vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)信号的调节来促进黏膜组织修复。更有研究^[47]提示酵母菌能通过激活 α 2 β 1胶原受体整合素来增强肠上皮的修复, 酵母菌上清液含有运动因子, 能通过多种途径促进细胞恢复, 包括动态精细调节 α v β 5整合素结合活性。

4 结论

肠道菌群与UC的发病密切相关, 主要表现为共生菌的减少, 其发病机制与肠道黏膜免疫相关。但是究竟是肠道菌群改变引发了UC, 还是UC引起肠道菌群改变, 尚有待进一步研究。对于致病菌的观点也存在争议, 在这方面的研究有待完善。益生菌治疗UC已经取得了一定的疗效, 目前已有培菲康等益生菌制剂在临床使用并取得了良好的效果, 但是对于益生菌治疗时机选择、疗程、安全性等问题, 仍有待研究, 尚需大量的随机对照和长期观察研究。

一直以来, 中医药在溃疡性结肠炎的治疗中取得显著效果。目前, 已有研究^[48-50]证实中药具有改善UC大鼠肠道菌群的作用, 梁金花等^[50]用细菌培养的方法发现黄芪组的UC大鼠粪便中双歧杆菌、乳酸杆菌有所升高, 肠杆菌、肠球菌有所降低。但是在中药对UC大鼠肠道菌群的影响方面, 尚缺乏大量严谨的科学研究依据。如果能从生态学的角度阐明中药对UC患者的作用, 将会为临床治疗提供更多的选择。

5 参考文献

- 1 沈萍, 陈向东. 微生物学. 第二版. 北京: 高等教育出版社, 2006: 312-313
- 2 张敏, 范小兵. 青年人肠道菌群分布及关键益生菌群落结构分析. 微生物学报 2004; 44: 621-626
- 3 Nishikawa J, Kudo T, Sakata S, Benno Y, Sugiyama T. Diversity of mucosa-associated microbiota in

- active and inactive ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol* 2009; 44: 180-186 [PMID: 18825588 DOI: 10.1080/00365520802433231]
- 4 吴瑞丽, 孙自勤, 魏志. 溃疡性结肠炎肠道菌群结构ERIC-PCR指纹图谱分析. 胃肠病学和肝病杂志 2012; 21: 798-801
- 5 Rajilić-Stojanović M, Shanahan F, Guarner F, de Vos WM. Phylogenetic analysis of dysbiosis in ulcerative colitis during remission. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 481-488 [PMID: 23385241 DOI: 10.1097/MIB.0b013e31827fec6d]
- 6 Noor SO, Ridgway K, Scovell L, Kemsley EK, Lund EK, Jamieson C, Johnson IT, Narbad A. Ulcerative colitis and irritable bowel patients exhibit distinct abnormalities of the gut microbiota. *BMC Gastroenterol* 2010; 10: 134 [PMID: 21073731 DOI: 10.1186/1471-230X-10-134]
- 7 Andoh A, Imaeda H, Aomatsu T, Inatomi O, Bamba S, Sasaki M, Saito Y, Tsujikawa T, Fujiyama Y. Comparison of the fecal microbiota profiles between ulcerative colitis and Crohn's disease using terminal restriction fragment length polymorphism analysis. *J Gastroenterol* 2011; 46: 479-486 [PMID: 21253779 DOI: 10.1007/s00535-010-0368-4]
- 8 孙勇, 丁彦青. 溃疡性结肠炎患者肠道菌群与病理变化关系的探讨. 现代消化及介入诊疗 2009; 14: 8
- 9 Nemoto H, Kataoka K, Ishikawa H, Ikata K, Arimochi H, Iwasaki T, Ohnishi Y, Kuwahara T, Yasutomo K. Reduced diversity and imbalance of fecal microbiota in patients with ulcerative colitis. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 2955-2964 [PMID: 22623042 DOI: 10.1007/s10620-012-2236-y]
- 10 任科雨. 不同浓度嗜酸乳酸杆菌对急性实验性结肠炎的疗效和结肠菌群的影响及其免疫相关机制研究. 中南大学, 2010
- 11 白鹏, 吕愈敏, 顾芳. 细菌16SrDNA荧光定量PCR法分析溃疡性结肠炎患者肠道菌群变化. 胃肠病学和肝病杂志 2008; 17: 566-571
- 12 崔熠. 溃疡性结肠炎粪便乳杆菌种的研究. 中南大学, 2012
- 13 Sha S, Xu B, Wang X, Zhang Y, Wang H, Kong X, Zhu H, Wu K. The biodiversity and composition of the dominant fecal microbiota in patients with inflammatory bowel disease. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2013; 75: 245-251 [PMID: 23276768 DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2012.11.022]
- 14 Schwiertz A, Jacobi M, Frick JS, Richter M, Rusch K, Köhler H. Microbiota in pediatric inflammatory bowel disease. *J Pediatr* 2010; 157: 240-244. e1 [PMID: 20400104 DOI: 10.1016/j.jpeds.2010.02.046]
- 15 Macfarlane S, Furrie E, Cummings JH, Macfarlane GT. Chemotaxonomic analysis of bacterial populations colonizing the rectal mucosa in patients with ulcerative colitis. *Clin Infect Dis* 2004; 38: 1690-1699 [PMID: 15227614]
- 16 Vignæs LK, Brynskov J, Steenholdt C, Wilcks A, Licht TR. Gram-negative bacteria account for main differences between faecal microbiota from patients with ulcerative colitis and healthy controls. *Benef Microbes* 2012; 3: 287-297 [PMID: 22968374 DOI: 10.3920/BM2012.0018]
- 17 李雄彪, 马庆英, 催云龙. 益生菌在肠道黏膜损伤修复中的作用. 中华消化杂志 2007; 27: 359-360
- 18 张静, 韩英, 王继恒, 王志红. UC和其他肠道疾病肠道菌群结构的ERIC-PCR指纹图谱分析. 胃肠病学和肝病杂志 2007; 16: 430-433
- 19 Roediger WE, Moore J, Babidge W. Colonic sulfide

■创新盘点

本文重点描述了UC患者肠道菌群分布, 并总结了潜在致病菌的相关报道, 最后结合益生菌在UC治疗中的作用, 全面反映了UC目前的对于菌群的研究现状, 这类综述报告极少。

■应用要点

UC患者的肠道菌群是近年的研究热点,如果能从微生物学的角度阐明中菌群对UC的作用,将会为临床治疗提供更多的选择。

- 20 Zinkevich V, Beech IB. Screening of sulfate-reducing bacteria in colonoscopy samples from healthy and colitic human gut mucosa. *FEMS Microbiol Ecol* 2000; 34: 147-155 [PMID: 11102692]
- 21 Jia W, Whitehead RN, Griffiths L, Dawson C, Bai H, Waring RH, Ramsden DB, Hunter JO, Cauchi M, Bessant C, Fowler DP, Walton C, Turner C, Cole JA. Diversity and distribution of sulphate-reducing bacteria in human faeces from healthy subjects and patients with inflammatory bowel disease. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2012; 65: 55-68 [PMID: 22309113 DOI: 10.1111/j.1574-695X.2012.00935.x]
- 22 荀津, 夏冰, 彭谋, 陈立平, 王伟, 易烽明. 炎症性肠病与艰难梭菌感染的相关性. *武汉大学学报(医学版)* 2012; 33: 680-683
- 23 Murthy SK, Steinhart AH, Tinmouth J, Austin PC, Daneman N, Nguyen GC. Impact of *Clostridium difficile* colitis on 5-year health outcomes in patients with ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 36: 1032-1039 [PMID: 23061526 DOI: 10.1111/apt.12073]
- 24 Ricciardi R, Ogilvie JW, Roberts PL, Marcello PW, Concannon TW, Baxter NN. Epidemiology of *Clostridium difficile* colitis in hospitalized patients with inflammatory bowel diseases. *Dis Colon Rectum* 2009; 52: 40-45 [PMID: 19273954 DOI: 10.1007/DCR.0b013e31819733fd]
- 25 Goodhand JR, Alazawi W, Rampton DS. Systematic review: *Clostridium difficile* and inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 33: 428-441 [PMID: 21198703 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04548.x]
- 26 Jodorkovsky D, Young Y, Abreu MT. Clinical outcomes of patients with ulcerative colitis and co-existing *Clostridium difficile* infection. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 415-420 [PMID: 19255850 DOI: 10.1007/s10620-009-0749-9]
- 27 宋美茹, 姚萍. 应用实时荧光定量PCR定量检测溃疡性结肠炎肠道大肠埃希菌、乳酸杆菌及双歧杆菌属的变化. *中国微生态学杂志* 2012; 24: 239-243
- 28 de Souza HL, de Carvalho VR, Romeiro FG, Sassaki LY, Keller R, Rodrigues J. Mucosa-associated but not luminal *Escherichia coli* is augmented in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Gut Pathog* 2012; 4: 21 [PMID: 23234341 DOI: 10.1186/1757-4749-4-21]
- 29 Pilarczyk-Zurek M, Chmielarczyk A, Gosiewski T, Tomusiak A, Adamski P, Zwolinska-Wcislo M, Mach T, Heczko PB, Strus M. Possible role of *Escherichia coli* in propagation and perpetuation of chronic inflammation in ulcerative colitis. *BMC Gastroenterol* 2013; 13: 61 [PMID: 23566070 DOI: 10.1186/1471-230X-13-61]
- 30 麻继臣, 张晓岚. 微生态制剂做为溃疡性结肠炎缓解期维持治疗药物的系统评价. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 4123-4127
- 31 李佳, 郝微微, 温红珠, 历娜娜. 益生菌在溃疡性结肠炎中的应用. *辽宁中医药大学学报* 2012; 14: 44-47
- 32 常玉英, 欧阳钦. 微生态失衡与炎症性肠病. *国际消化病杂志* 2008; 28: 34-36
- 33 廖文燕, 周凌华, 王荫榆, 王豪, 周杰. 近年来益生菌肠道功能作用机制及研究方法的进展. *中国微生态学杂志* 2011; 23: 184-189
- 34 沈通一, 秦环龙. 益生菌对肠微生物生态学影响的研究进展. *肠外与肠内营养* 2004; 11: 242-246
- 35 Ghasemi-Niri, Seyedeh Farnaz, Solki, Sara. Better efficacy of lactobacillus casei in combination with bifidobacterium bifidum or saccharomyces boulardii in recovery of inflammatory markers of colitis in rat. *Asian journal of animal and veterinary advances* 2012; 7: 1148-1156 [DOI: 10.3923/ajava.2012.1148.1156]
- 36 Cui HH, Chen CL, Wang JD, Yang YJ, Cun Y, Wu JB, Liu YH, Dan HL, Jian YT, Chen XQ. Effects of probiotic on intestinal mucosa of patients with ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1521-1525 [PMID: 15133865]
- 37 Zhao HM, Huang XY, Zuo ZQ, Pan QH, Ao MY, Zhou F, Liu HN, Liu ZY, Liu DY. Probiotics increase T regulatory cells and reduce severity of experimental colitis in mice. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 742-749 [PMID: 23430765 DOI: 10.3748/wjg.v19.i5.742]
- 38 王坚镏, 丁在成, 张旻, 陈红旗, 秦环龙, 蒋燕群. 益生菌对炎症性肠病小鼠肠道菌群紊乱及细菌移位的影响. *上海交通大学学报(医学版)* 2010; 30: 186-190
- 39 Liu YW, Su YW, Ong WK, Cheng TH, Tsai YC. Oral administration of *Lactobacillus plantarum* K68 ameliorates DSS-induced ulcerative colitis in BALB/c mice via the anti-inflammatory and immunomodulatory activities. *Int Immunopharmacol* 2011; 11: 2159-2166 [PMID: 21996541 DOI: 10.1016/j.intimp.2011.09.013]
- 40 Wildt S, Nordgaard I, Hansen U, Brockmann E, Rumessen JJ. A randomised double-blind placebo-controlled trial with *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 for maintenance of remission in ulcerative colitis. *J Crohns Colitis* 2011; 5: 115-121 [PMID: 21453880 DOI: 10.1016/j.crohns.2010.11.004]
- 41 李才, 刘华莲, 李文峰. 复方乳酸杆菌联合柳氮磺吡啶灌肠治疗溃疡性结肠炎疗效观察. *中国现代医生* 2011; 49: 81-82
- 42 姚君, 王立生, 师瑞月, 王建尧, 李迎雪, 张茹, 莫镜. 双歧杆菌对溃疡性结肠炎小鼠外周血和肠系膜淋巴结CD4、CD25、Foxp3调节T细胞表达的影响. *中国微生物学杂志* 2011; 23: 784-787
- 43 翁志英, 操寄望, 罗和生. 双歧杆菌对大鼠溃疡性结肠炎黏膜MMP-2、NF- κ B激活的影响. *武汉大学学报(医学版)* 2006; 17: 699-702
- 44 Guslandi M, Giollo P, Testoni PA. A pilot trial of *Saccharomyces boulardii* in ulcerative colitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15: 697-698 [PMID: 12840682]
- 45 Lee SK, Kim YW, Chi SG, Joo YS, Kim HJ. The effect of *Saccharomyces boulardii* on human colon cells and inflammation in rats with trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 255-263 [PMID: 18612822 DOI: 10.1007/s10620-008-0357-0]
- 46 Chen X, Yang G, Song JH, Xu H, Li D, Goldsmith J, Zeng H, Parsons-Wingerter PA, Reinecker HC, Kelly CP. Probiotic yeast inhibits VEGFR signaling and angiogenesis in intestinal inflammation. *PLoS One* 2013; 8: e64227 [PMID: 23675530 DOI: 10.1371/journal.pone.0064227]
- 47 Canonici A, Pellegrino E, Siret C, Terciolo C, Czerucka D, Bastonero S, Marvaldi J, Lombardo D, Rigot V, André F. *Saccharomyces boulardii* improves intestinal epithelial cell restitution by inhibiting $\alpha\beta 5$ integrin activation state. *PLoS One* 2012; 7: e45047 [PMID: 23028753 DOI: 10.1371/journal.pone.0045047]

- 48 叶松. 中药清肠汤对溃疡性结肠炎模型大鼠肠道菌群和HLR/NF κ B信号通路的影响. 中华中医药学会第二十二届全国脾胃病学术交流会暨2010年脾胃病诊疗新进展学习班论文汇编. 中华中医药学会脾胃病分会 2010; 9
- 49 詹原泉. 肠黏膜损伤与肠道菌群失调的关系及肠炎清对二者影响. 广州中医药大学, 2008
- 50 梁金花, 郑科文, 金大伟. 黄芪多糖对溃疡性结肠炎大鼠肠道菌群调节作用的研究. 中国中医药科技 2012; 19: 4-6

编辑 黄新珍 电编 鲁亚静



■同行评价

本研究综述了UC与肠道菌群的研究进展, 能较全面地反映目前的研究现状. 肠道稳态在UC中的作用日益引起重视, 因此本综述具有较强的临床意义.

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

本刊讯 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上角注角码号. 如马连生^[1]报告……, 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.

超声内镜在消化系黏膜下病变中的应用

邢 珺, 张开光

■背景资料

超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)技术在80年代初应用于临床,目前已经逐渐发展成为观察消化系管壁及其周围结构的一项重要工具,被称为消化系内镜学中最精确的影像技术。随着EUS技术的发展,消化系黏膜下病变(submucosal lesions, SMLs)在临床上越来越多的被发现, EUS目前被认为是对于消化系SMLs诊断准确性最高的影像学方法。

邢珺, 张开光, 安徽医科大学附属医院安徽省立医院消化内科 安徽省合肥市 230001

邢珺, 安徽医科大学临床医学本硕连读专业在读研究生, 主要从事消化内科学的研究。

作者贡献分布: 本文综述由邢珺完成; 张开光审校。

通讯作者: 张开光, 教授, 主任医师, 230001, 安徽省合肥市庐江路17号, 安徽医科大学附属医院安徽省立医院消化内科。

zkg@medmail.com.cn

电话: 0551-62284093

收稿日期: 2013-06-04 修回日期: 2013-07-29

接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-28

Endoscopic ultrasonography for gastrointestinal submucosal lesions

Jun Xing, Kai-Guang Zhang

Jun Xing, Kai-Guang Zhang, Department of Gastroenterology, Anhui Provincial Hospital Affiliated to Anhui Medical University, Hefei 230001, Anhui Province, China

Correspondence to: Kai-Guang Zhang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Anhui Provincial Hospital Affiliated to Anhui Medical University, 17 Lujiang Road, Hefei 230001, Anhui Province, China. zkg@medmail.com.cn

Received: 2013-06-04 Revised: 2013-07-29

Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-28

Abstract

Advances in endoscopic imaging technology have led to the detection of more cases of gastrointestinal submucosal lesions (SMLs). Endoscopic ultrasonography (EUS) was previously known as the best imaging procedure to characterize SMLs. However, the progress of endoscopic submucosal dissection (ESD) has raised some new questions concerning the role of EUS in the diagnosis of SMLs. What is the diagnostic accuracy of EUS for SMLs? How is the nature of SMLs determined? How is the layer of origin identified? What is the preoperative value of EUS for ESD? In this review, we will discuss the endosonographic features of SMLs, the diagnostic accuracy of EUS, the ability of EUS to distinguish benign and malignant SMLs, the value of EUS-guided fine-needle aspiration (FNA), and the value of EUS in clinical surveillance.

Key Words: Endoscopic ultrasonography; Gastrointestinal submucosal lesions

Xing J, Zhang KG. Endoscopic ultrasonography for gastrointestinal submucosal lesions. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2808-2814 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2808.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2808>

摘要

随着内镜技术的发展,消化系黏膜下病变(submucosal lesions, SMLs)在临床上越来越多的被发现。超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)既往被认为是消化系SMLs诊断的一项可靠的技术。但随着EUS在临床的广泛应用和内镜下大黏膜剥离(endoscopic submucosal dissection, ESD)技术深入开展,现对EUS诊断SMLs提出了新的问题: EUS判断SMLs的准确性如何,能否鉴别各种SMLs的性质,对病变侵袭层次的定位及对ESD等手术的术前判断价值如何等。本文重点就这些问题总结了近10年来国内外文献相关研究报道,从EUS对消化系SMLs性质的判断、诊断的准确性、良恶性的鉴别、EUS引导下细针穿刺技术(EUS-guided fine needle aspiration, EUS-FNA)、EUS的随访价值等方面对EUS在消化系SMLs中的应用作一综述。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 超声内镜; 消化系黏膜下病变

核心提示: 本文从超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)对消化系黏膜下病变(submucosal lesions, SMLs)性质的判断、诊断的准确性、良恶性的鉴别、EUS引导下细针穿刺技术(EUS-guided fine needle aspiration, EUS-FNA)、EUS的随访价值等方面,系统综述了国内外近10年来关于EUS在消化系SMLs中的应用价值,认为EUS技术是目前对于消化系SMLs诊断最重要的工具,下一步需要更多的前瞻性、多中心、大样本的研究,来帮助制定临床对于消化系SMLs诊疗的规范。

■同行评议者

毛高平, 教授, 解放军空军总医院

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

邢珺, 张开光. 超声内镜在消化系黏膜下病变中的应用. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2808-2814 URL: <http://www.wjgnet.com>

wjgnet.com/1009-3079/21/2808.asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2808>

0 引言

超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)是经内镜导入高频微型超声探头, 通过体腔在内镜直视下对消化系管壁或邻近脏器进行超声扫描的方法. 在80年代初应用于临床, 目前已经逐渐成为观察消化系管壁及其周围结构的一项重要工具, 被称为消化系内镜学中最为精确的影像学技术. EUS是目前对于消化系黏膜下病变(submucosal lesions, SMLs)诊断准确性最高的影像学方法^[1-4].

消化系SMLs或称为黏膜下肿瘤(submucosal tumors, SMTs)是对生长于消化系黏膜层以下的, 非肿瘤性或肿瘤性(包括良性和恶性)病变的统称. 目前对SMLs在整个消化系的发病率尚缺乏准确的流行病学资料, 有报道称SMLs的发病率为0.36%^[5-7]. 大部分SMLs患者没有临床症状, 一般是在内镜或放射线检查中无意间被发现, 少数病例存在一些非特异性的症状, 包括出血、梗阻、腹痛、吞咽困难等^[8-10].

正常消化系的EUS图像特点: EUS扫描时, 正常消化系管壁从里至外可显示为“高-低-高-低-高”五层回声结构, 分别对应于黏膜层表面与腔内液体界面的反射(高回声带)、黏膜肌层(低回声带)、黏膜下层(高回声带)、固有肌层(低回声带)、浆膜(或外膜)层(高回声带).

1 EUS对消化系SMLs性质的判断

EUS可以通过病变大小、起源层次、回声结构、边缘等对SMLs的性质作出大致的判断^[11,12].

1.1 外压性改变 内镜检查首先需要将真正SMLs与外压性改变(包括: 脾、肝左叶、胆囊、胰腺假性囊肿或肿瘤、肿大淋巴结、扩大的左心房、主动脉瘤和脾动脉等)相鉴别. EUS优于普通内镜、经腹超声、CT、消化系钡餐等其他检查, 对器官外压性改变的诊断有接近100%的准确性^[1,5].

1.2 脂肪瘤 脂肪瘤可发生在消化系各个部位, 最常见于结肠. 内镜下表现为单个黄色、质软、边缘光滑的病变, EUS下表现为均质、高回声、边缘光滑清晰的圆形或卵圆形病变, 起源于第3层, EUS表现具有特异性, 内镜下的随访提示其生长速度缓慢.

1.3 平滑肌瘤 平滑肌瘤多数位于食道, 结直肠,

在胃及小肠比较少见. EUS下表现为均质, 低回声, 边缘光滑清晰的病变, 起源于第2或4层. 一般单纯通过EUS下表现难以与胃肠道间质瘤(gastrointestinal stromal cell tumors, GISTs)相鉴别, 免疫组织化学标记提示平滑肌瘤表达肌动蛋白和肌间线蛋白, 不表达CD117或CD34以及S-100蛋白^[13,14].

1.4 异位胰腺 异位胰腺又称迷路胰腺或副胰, 是存在于正常胰腺位置以外的孤立胰腺组织, 与正常胰腺之间无解剖学联系. 约90%的异位胰腺位于上消化道, 主要是胃(通常位于胃窦)、十二指肠、空肠. 内镜下异位胰腺呈实性, 略不规则的结节样改变, 多数在黏膜表面有脐样凹陷的腺管开口. EUS下异位胰腺大部分起源于第3层, 表现为低回声, 或者混合回声的不均质病变, 有的还包括无回声的腺管结构, 边缘不规则.

1.5 颗粒细胞瘤 颗粒细胞瘤是起源于神经组织的肿瘤, 多数为良性病变, 约30%的消化系颗粒细胞瘤发生在中段到远段食道, 内镜下表现为灰白色或黄色小结节样病变(其中95%的病变小于1 cm), EUS下表现为不均质、低回声、边界光滑的病变, 起源于第2、3层. 免疫组织化学标记表达S100蛋白和神经元特异性烯醇化酶(提示其神经组织来源).

1.6 曲张静脉 胃静脉曲张通常发生在胃底, 表现为正常黏膜覆盖下的浅蓝色波状或管状结构, 外压时会发生移动, 当怀疑为静脉曲张时禁忌活检. EUS下表现为圆形或卵圆形弯曲或管状无回声结构, 起源于第3层, 多普勒超声下检测到血流信号具有诊断意义.

1.7 囊肿及复生囊肿 消化系囊肿通常是炎症反应的结果, 也有的来源于胚胎发育. 内镜下囊肿表现为可压缩的结节, 多数凸向腔内, EUS下表现为圆形或卵圆形, 边界清楚的无回声病变, 起源于第3层. 炎性囊肿壁为1层高回声结构, 复生囊肿壁一般为3到5层结构.

1.8 施旺细胞瘤(神经鞘瘤) 施旺细胞瘤是发生在软组织的一种良性神经鞘瘤, 在消化系较少见, 与GISTs在消化系的发生率之比是1:50-100^[15], 大部分发生在胃, 多数无症状, 免疫组织化学标记表达S-100而不表达c-kit, EUS表现为均质、低回声、圆形或卵圆形病变, 边界清楚, 起源于第3、4层.

1.9 淋巴瘤 淋巴瘤累及消化系并不是真正意义上的SMLs, EUS表现为低回声、均质病变, 起源于第2、3层, 有时也累及各个层次.

■ 研发前沿

随着EUS技术在临床上的广泛应用, 越来越多的消化系SMLs得以被发现, 对于消化系SMLs的诊疗成为临床面临的新课题, 目前对于SMLs国内外尚无统一的诊疗规范可循, 本文在此基础上, 综述了国内外近10年的相关研究报道, 旨在为EUS对消化系SMLs的临床诊疗提供一定的参考价值.

■创新盘点

国内目前对于EUS在消化系SMLs中的应用有不少相关报道,但多数为回顾性病例报道,系统的综述性文献尚较少,本文对国内外近10年的相关研究进行了综述,对临床诊疗有一定的参考价值,为下一步的相关研究提供了一定的方向。

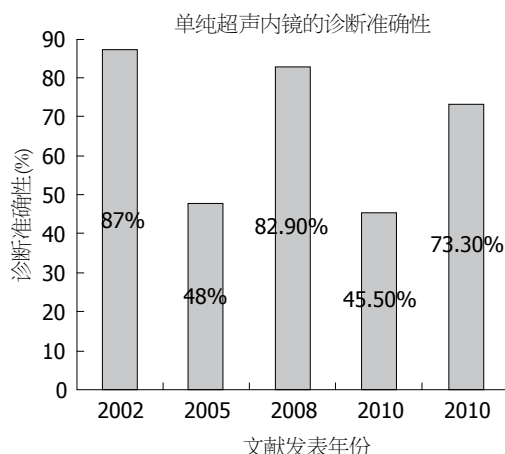


图1 超声内镜诊断的准确性。

1.10 类癌(神经内分泌肿瘤) 类癌是一种较为罕见的,生长缓慢的来源于嗜铬细胞的神经内分泌肿瘤,可以发生在整个消化系,具有恶性潜能,类癌是小肠最常见的肿瘤,小肠类癌占全部类癌的25%^[16]。其恶性程度部分取决于其大小(<2 cm的类癌一般很少为恶性)。大多数在EUS下表现为低回声、边界清楚、均质的病变,可起源于第1、2或3层。

1.11 GISTs GISTs是最常见的消化系间叶源性肿瘤,来源于可以分化为Cajal间质细胞(肠道起搏细胞)的前体细胞,GISTs大部分发生在胃(60%-70%)、小肠(20%-30%)、结直肠(5%),食管的发生率<5%,发生在小肠的GISTs更具有侵袭性^[1,15]。GISTs在光镜下的表现为梭形或上皮样细胞,常常容易与平滑肌瘤相混淆。约95%的GISTs在免疫组织化学染色表达c-kit(又称为CD117),约70%的GISTs表达CD34^[17]。EUS下表现为均质、低回声、边界清晰的病变,与第4层相延续。目前认为所有的GISTs都有恶性潜能,所以提倡按照恶性风险度的高低分为:极低风险、低风险、中等风险、高风险4类^[18,19]。

其他一些较为少见的SMLs,如:黏膜下转移瘤、血管瘤和淋巴管瘤等也都有其EUS下特点,本文就不再叙述。

2 EUS的诊断准确性

国内外有很多关于EUS的诊断准确性的研究。在一个76例间叶源性肿瘤的回顾性研究中,EUS对病变的定位准确性是98.7%,对间叶源性肿瘤诊断准确性为82.9%,对良恶性病变的鉴别准确性是80.3%^[20]。一个22例<2 cm的SMLs的回顾性研究中EUS的诊断准确性是45.5%,其中对于肿

瘤性病变和非肿瘤性病变的诊断准确性分别是30.8%和66.7%^[21]。另一个23例SMLs的前瞻性研究中,EUS的病理诊断符合率为48%^[22]。大部分错误的EUS诊断发生在起源于第3、4层的低回声病变^[21-23]。目前相关研究多以回顾性研究为主,EUS的诊断准确性在不同的研究中差异较大(图1),这可能与不同研究的设计方法不同以及操作者本身的差异有关。EUS目前认为对于脂肪瘤、复生囊肿、异位胰腺、外压性改变等有较高的诊断准确性。大部分病变,特别是起源于第3、4层的低回声病变,单纯凭借EUS的诊断准确性是有限的,需要结合活检,EUS-FNA,手术等方式通过组织学和细胞学才能得到特异性的诊断^[24-26]。

3 EUS对良恶性SMLs的鉴别

EUS对SMLs良恶性的鉴别有很重要的临床意义。有文献总结了病理证实的829例SMLs,恶性病变所占的比例平均为12%。恶性SMLs在食道和十二指肠比例分别为1%和5%,在胃为16%^[5]。

目前有许多关于消化系SMLs的超声表现与病变良恶性的相关性研究(表1),总体来说,病变大小(>3或者4 cm,根据不同的研究而异)以及边缘不规则,是推测恶性病变最重要的两个因素^[5,27,28]。其他被提到与恶性病变相关的因素有:回声焦点,囊性变,不均质回声结构,恶性淋巴结,侵袭性生长方式,黏膜表面溃疡以及非圆形或卵圆形结构等^[29,30]。相关研究之间结论的一致性较少,原因可能是病变大小的评估标准,统计学方法的不同,此外检查者本身也是非常重要的影响因素。有报道EUS下同一特征的出现,在不同的检查者的判断之间存在很大的差异。但现有的研究多以小样本回顾性研究为主,需要进一步大样本,多中心的前瞻性研究。

4 EUS-FNA

EUS-FNA在90年代早期应用于临床,是一项安全而有效的活检技术,被广泛应用于消化系SMLs的诊断,国内外也有很多相关报道。Ji等^[20]报道在112例起源于上消化道第4层的SMLs中,EUS-FNA确诊为61.6%,疑似诊断22.3%^[31]。Karaca等^[21]报道在141例连续的消化系SMLs中,EUS-FNA确诊病例占43.3%,疑似确诊病例占39%^[32]。在50例上消化系SMLs的前瞻性的研究中,EUS-FNA对间叶源性肿瘤的诊断敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值和诊断准确性分别为82.9%、73.3%、87.9%、64.7%和80%^[33]。图2总

表 1 SMLs EUS表现对病变良恶性的鉴别

作者、年份 研究类型(引用文献)	预测恶性的特征	诊断恶性的标准	敏感性	特异性
Chak等 ^[47] , 1997年, 回顾性研究	不规则边缘, 囊性变>4 mm, 回声焦点>3 mm	出现2个或以上	80%~90%(8~9/10)	无数据
Palazzo等 ^[27] , 2000年, 回顾性研究	不规则边缘, 囊性变, 恶性生长淋巴结	出现1个或以上	91%(20/22)	88%(30/34)
Brand等 ^[28] , 2002年, 回顾性研究	病变>3 cm, 不规则边缘, 不均质回声结构	同时出现2个	80%(16/20)	77%(51/66)
Rösch等 ^[48] , 2002年, 前瞻性研究	病变>3 cm, 不规则边缘, 不均质回声结构, 出现>10 mm的淋巴结	出现2个或以上	64%(7/11)	80%(24/30)
Nickl等 ^[49] , 2002年, 回顾性研究	病变>3 cm, 不规则边缘, 黏膜表面溃疡, 非圆形或非卵圆形结构, 异常区域淋巴结	出现1个或以上	100%(11/11)	无数据
Ando等 ^[50] , 2003年, 前瞻性研究	病变>5 cm, 不规则边缘, 囊性变	病变大于5 cm加其他任一条或两条	83%(5/6)	76%(13/17)
Will等 ^[2] , 2011年, 前瞻性研究	病变>3 cm, 不规则边缘, 不均质回声结构, 肿大的淋巴结	多元分析	71%	81%

■应用要点

本文从EUS对消化系SMLs性质的判断、诊断的准确性、良恶性的鉴别、EUS-FNA、EUS的随访价值等方面对EUS在消化系SMLs中的应用作一综述。肯定了EUS对于消化系SMLs诊断的重要价值, 同时介绍了单纯的EUS对于SMLs, 尤其是起源于第3、4层的低回声病变的诊断的局限性。明确了在将来需要更多的前瞻性、多中心、大样本的研究。

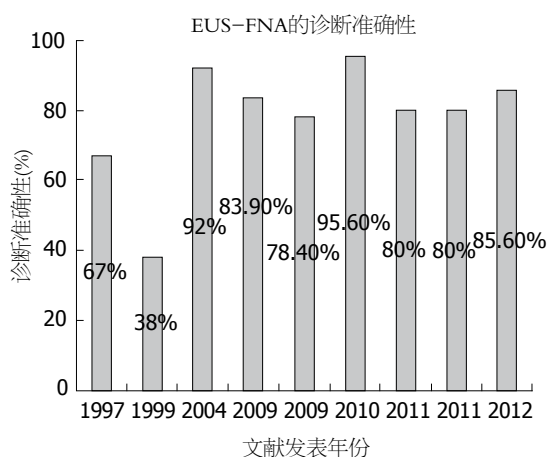


图 2 EUS-FNA诊断的准确性。所选取的数据包括了疑似诊断(镜下见梭形细胞但样本量不足用于免疫组织化学标记确诊)的数据。EUS-FNA: 超声内镜引导下细针穿刺技术。

总结了部分文献关于EUS-FNA对消化系SMLs的诊断准确性, 可以看出, 近年来随着EUS-FNA技术的进步, EUS-FNA对于SMLs的诊断准确性是相对较高的。研究认为EUS-FNA对SMLs的诊断率与病变的部位、大小、性质以及一些技术因素(包括穿刺针的型号, 活检技术材料)等有关, 此外操作者的技术, 现场即时的细胞病理学检查等对于EUS-FNA诊断率有重要影响。对于起源于第3、4层的低回声SMLs, 当病变直径超过2 cm时, 实施EUS-FNA明确组织学和细胞学类型是有益的, 可以帮助指导临床下一步诊疗^[34-38]。

5 EUS的随访

大部分良性SMLs如: 脂肪瘤、异位胰腺、复生

囊肿、神经鞘瘤等不再需要进一步的临床干预, 而一些有症状的或者明确为恶性的病变需要手术或内镜下治疗。约有50%消化系SMLs患者没有相关临床症状, 病变<3-4 cm, 也没有EUS下的恶性表现; 此外也有一些患者不适合切除或者不愿意接受手术^[5,39]。美国胃肠病学会推荐对于>3 cm的病变进行切除, 对于<3 cm的, 低回声, 起源于第3、4层, 无症状的病变(大部分可能是GISTs)进行周期性的内镜或EUS随访或者也可以选择切除^[40,41]。欧洲肿瘤学会最新的指南认为, 病理证实的>2 cm的GISTs需要手术切除, <2 cm者可以选择随访^[42,43]。

EUS在SMLs中的随访研究也有很多的报道, 有回顾性的研究报道, 大部分<3 cm的SMLs在中位数为23 mo(平均为30 mo)的时间里不发生变化, 同时在回声结构或病变大小方面发生变化的病变提示为GISTs可能^[44]。另一个49例起源于第4层的无症状低回声, <3 cm的SMLs随访研究报道, 在为期31 mo±20.8 mo的随访时间内, 89.8%(44/49)的病例在病变的大小及回声结构方面无变化。在病变大小发生改变病例中有3例经病理证实为极低或者低风险度的GISTs^[45]。

需要补充说明的是患者在随访中的依从性较差, 只有50%的患者有良好的依从性。分析认为费用以及患者对反复多次内镜检查的不耐受可能是随访丢失的主要原因^[46]。

对于内镜, EUS的随访缺乏有足够证据支持的标准, 关于SMLs的自然演变过程的数据也非常少。理智的选择是初期选择短期的随访(3 mo

同行评价

本文内容尚属翔实可靠, 重点突出, 对于超声内镜目前的临床应用现状评价客观, 是较好的一篇综述, 对临床有一定参考价值。

或者半年), 如果在随访过程中没有任何病变增大的证据, 就可放宽随访期限。相关研究表明大部分在随访中有病变大小或回声结构改变的病变为具有不同恶性风险程度的GISTs, 鉴于所有的GISTs都有恶性潜能, 所以超声内镜下的随访是必要的。

6 结论

EUS技术是目前对于消化系统SMLs诊断最重要的工具, 可以很好的鉴别SMLs和外压性改变, 对于部分具有特征性表现的SMLs具有很高的诊断准确性。单纯的EUS目前对于SMLs, 尤其是起源于第3、4层的低回声病变的诊断准确性有限, 联合EUS-FNA技术可以提高诊断的准确性, 同时EUS在SMLs的随访中具有重要意义。但目前对EUS的诊断价值方面的研究多以回顾性为主, 样本量较小, 下一步需要更多的前瞻性、多中心、大样本的研究, 来帮助制定临床对于消化系统SMLs诊疗的规范。

7 参考文献

- Sakamoto H, Kitano M, Kudo M. Diagnosis of subepithelial tumors in the upper gastrointestinal tract by endoscopic ultrasonography. *World J Radiol* 2010; 2: 289-297 [PMID: 21160683 DOI: 10.4329/wjr.v2.i8.289]
- Will U, Fueeldner F, Mueller AK, Meyer F. A prospective study on endoscopic ultrasonography criteria to guide management in upper GI submucosal tumors. *Pol Przegl Chir* 2011; 83: 63-69 [PMID: 22166282 DOI: 10.2478/v10035-011-0010-z]
- Alkhatib AA, Faigel DO. Endoscopic ultrasonography-guided diagnosis of subepithelial tumors. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 2012; 22: 187-205, vii [PMID: 22632943 DOI: 10.1016/j.giec.2012.04.006]
- Hata S, Arai M, Suzuki T, Maruoka D, Matsumura T, Nakagawa T, Katsuno T, Imazeki F, Yokosuka O. Clinical significance of endoscopic ultrasound for gastric submucosal tumors. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2013; 37: 207-212 [PMID: 22633196 DOI: 10.1016/j.clinre.2012.04.004]
- Polkowski M, Butruk E. Submucosal lesions. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 2005; 15: 33-54, viii [PMID: 15555950 DOI: 10.1016/j.giec.2004.07.005]
- Papanikolaou IS, Triantafyllou K, Kourikou A, Rösch T. Endoscopic ultrasonography for gastric submucosal lesions. *World J Gastrointest Endosc* 2011; 3: 86-94 [PMID: 21772939 DOI: 10.4253/wjge.v3.i5.86]
- Landi B, Palazzo L. The role of endosonography in submucosal tumours. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2009; 23: 679-701 [PMID: 19744633 DOI: 10.1016/j.bpg.2009.05.009]
- Kim MY, Jung HY, Choi KD, Song HJ, Lee JH, Kim do H, Choi KS, Lee GH, Kim JH. Natural history of asymptomatic small gastric subepithelial tumors. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45: 330-336 [PMID: 21278578 DOI: 10.1097/MCG.0b013e318206474e]
- Chung IK, Hawes RH. Advantages and limitations of endoscopic ultrasonography in the evaluation and management of patients with gastrointestinal submucosal tumors: a review. *Rev Gastroenterol Disord* 2007; 7: 179-192 [PMID: 18192954]
- Jenssen C, Dietrich CF. Endoscopic ultrasound of gastrointestinal subepithelial lesions. *Ultraschall Med* 2008; 29: 236-256; quiz 257-264 [PMID: 18516768 DOI: 10.1055/s-2008-1027388]
- Ponsaing LG, Kiss K, Loft A, Jensen LI, Hansen MB. Diagnostic procedures for submucosal tumors in the gastrointestinal tract. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 3301-3310 [PMID: 17659668]
- Oh JY, Nam KJ, Choi JC, Cho JH, Yoon SK, Choi SS, Kwon HJ, Yoon JH, Kim SJ. Benign submucosal lesions of the stomach and duodenum: imaging characteristics with endoscopic and pathologic correlation. *Eur J Radiol* 2008; 67: 112-124 [PMID: 17720347]
- Humphris JL, Jones DB. Subepithelial mass lesions in the upper gastrointestinal tract. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 556-566 [DOI: 10.1111/j.1440-1746.2007.05232.x]
- 陈立刚, 任建林. 超声内镜在食管常见疾病诊断中的价值. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 3216-3218
- Sepe PS, Brugge WR. A guide for the diagnosis and management of gastrointestinal stromal cell tumors. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2009; 6: 363-371 [PMID: 19365407]
- 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]
- Dietrich CF, Jenssen C, Hocke M, Cui XW, Woenckhaus M, Ignee A. Imaging of gastrointestinal stromal tumours with modern ultrasound techniques - a pictorial essay. *Z Gastroenterol* 2012; 50: 457-467 [PMID: 22581701 DOI: 10.1055/s-0031-1282076]
- Voiosu T, Voiosu A, Rimbaş M, Voiosu R. Endoscopy: possibilities and limitations in the management of GIST of the upper GI tract. *Rom J Intern Med* 2012; 50: 7-11 [PMID: 22788088]
- Faigel DO, Abulhawa S. Gastrointestinal stromal tumors: the role of the gastroenterologist in diagnosis and risk stratification. *J Clin Gastroenterol* 2012; 46: 629-636 [PMID: 22858511 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3182548f6c]
- Ji F, Wang ZW, Wang LJ, Ning JW, Xu GQ. Clinicopathological characteristics of gastrointestinal mesenchymal tumors and diagnostic value of endoscopic ultrasonography. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: e318-e324 [PMID: 18505417 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05322.x]
- Karaca C, Turner BG, Cizginer S, Forcione D, Brugge W. Accuracy of EUS in the evaluation of small gastric subepithelial lesions. *Gastrointest Endosc* 2010; 71: 722-727 [PMID: 20171632 DOI: 10.1016/j.gie.2009.10.019]
- Hwang JH, Saunders MD, Rulyak SJ, Shaw S, Nietsch H, Kimmey MB. A prospective study comparing endoscopy and EUS in the evaluation of GI subepithelial masses. *Gastrointest Endosc* 2005; 62: 202-208 [PMID: 16046979 DOI: 10.1016/S0016-5107(05)01567-1]
- Chien CH, Chien RN, Yen CL, Fang KM, Liu CJ, Lin CL, Chang JJ, Chen LW, Lee TS, Chen SW, Hu CC, Chang LC. The role of endoscopic ultrasonography examination for evaluation and surveillance of gastric subepithelial masses. *Chang Gung Med J* 2010;

- 33: 73-81 [PMID: 20184798]
- 24 Lee HL, Kwon OW, Lee KN, Jun DW, Eun CS, Lee OY, Jeon YC, Han DS, Yoon BC, Choi HS, Hahm JS, Paik SS. Endoscopic histologic diagnosis of gastric GI submucosal tumors via the endoscopic submucosal dissection technique. *Gastrointest Endosc* 2011; 74: 693-695 [PMID: 21762901 DOI: 10.1016/j.gie.2011.04.037]
- 25 Humphris JL, Jones DB. Subepithelial mass lesions in the upper gastrointestinal tract. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 556-566 [PMID: 18086121 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2007.05232.x]
- 26 丁向萍, 张锦华, 庄剑波, 缪连生, 张富花, 袁菊霞, 陈丽. 超声内镜下诊治上消化道良性隆起型病变118例. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 2208-2211
- 27 Palazzo L, Landi B, Cellier C, Cuillerier E, Roseau G, Barbier JP. Endosonographic features predictive of benign and malignant gastrointestinal stromal cell tumours. *Gut* 2000; 46: 88-92 [PMID: 10601061 DOI: 10.1136/gut.46.1.88]
- 28 Brand B, Oesterhelweg L, Binmoeller KF, Sriram PV, Bohnacker S, Seewald S, De Weerth A, Soehendra N. Impact of endoscopic ultrasound for evaluation of submucosal lesions in gastrointestinal tract. *Dig Liver Dis* 2002; 34: 290-297 [PMID: 12038814 DOI: 10.1016/S1590-8658(02)80150-5]
- 29 Huang ZG, Zhang XS, Huang SL, Yuan XG. Endoscopy dissection of small stromal tumors emerged from the muscularis propria in the upper gastrointestinal tract: Preliminary study. *World J Gastrointest Endosc* 2012; 4: 565-570 [PMID: 23293727 DOI: 10.4253/wjge.v4.i12.565]
- 30 Polkowski M. Endoscopic diagnosis and treatment of upper gastrointestinal tumors. *Endoscopy* 2010; 42: 916-920 [PMID: 21072707]
- 31 Hoda KM, Rodriguez SA, Faigel DO. EUS-guided sampling of suspected GI stromal tumors. *Gastrointest Endosc* 2009; 69: 1218-1223 [PMID: 19394006 DOI: 10.1016/j.gie.2008.09.045]
- 32 Mekky MA, Yamao K, Sawaki A, Mizuno N, Hara K, Nafeh MA, Osman AM, Koshikawa T, Yatabe Y, Bhatia V. Diagnostic utility of EUS-guided FNA in patients with gastric submucosal tumors. *Gastrointest Endosc* 2010; 71: 913-919 [PMID: 20226456 DOI: 10.1016/j.gie.2009.11.044]
- 33 Turhan N, Aydog G, Ozin Y, Cicek B, Kurt M, Oguz D. Endoscopic ultrasonography-guided fine-needle aspiration for diagnosing upper gastrointestinal submucosal lesions: a prospective study of 50 cases. *Diagn Cytopathol* 2011; 39: 808-817 [PMID: 20836005 DOI: 10.1002/dc.21464]
- 34 Williams DB, Sahai AV, Aabakken L, Penman ID, van Velse A, Webb J, Wilson M, Hoffman BJ, Hawes RH. Endoscopic ultrasound guided fine needle aspiration biopsy: a large single centre experience. *Gut* 1999; 44: 720-726 [PMID: 10205212 DOI: 10.1136/gut.44.5.720]
- 35 Wiersema MJ, Vilmann P, Giovannini M, Chang KJ, Wiersema LM. Endosonography-guided fine-needle aspiration biopsy: diagnostic accuracy and complication assessment. *Gastroenterology* 1997; 112: 1087-1095 [PMID: 9097990 DOI: 10.1016/S0016-5085(97)70164-1]
- 36 Vander Noot MR, Eloubeidi MA, Chen VK, Eltoun I, Jhala D, Jhala N, Syed S, Chhieng DC. Diagnosis of gastrointestinal tract lesions by endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy. *Cancer* 2004; 102: 157-163 [PMID: 15211474 DOI: 10.1002/cncr.20360]
- 37 Sepe PS, Moparty B, Pitman MB, Saltzman JR, Brugge WR. EUS-guided FNA for the diagnosis of GI stromal cell tumors: sensitivity and cytologic yield. *Gastrointest Endosc* 2009; 70: 254-261 [PMID: 19482280 DOI: 10.1016/j.gie.2008.11.038]
- 38 Rong L, Kida M, Yamauchi H, Okuwaki K, Miyazawa S, Iwai T, Kikuchi H, Watanabe M, Imaizumi H, Koizumi W. Factors affecting the diagnostic accuracy of endoscopic ultrasonography-guided fine-needle aspiration (EUS-FNA) for upper gastrointestinal submucosal or extraluminal solid mass lesions. *Dig Endosc* 2012; 24: 358-363 [PMID: 22925290 DOI: 10.1111/j.1443-1661.2012.01243.x]
- 39 Lok KH, Lai L, Yiu HL, Szeto ML, Leung SK. Endosonographic surveillance of small gastrointestinal tumors originating from muscularis propria. *J Gastrointest Liver Dis* 2009; 18: 177-180 [PMID: 19565047]
- 40 American Gastroenterological Association Institute. American Gastroenterological Association Institute medical position statement on the management of gastric subepithelial masses. *Gastroenterology* 2006; 130: 2215-2216 [PMID: 16762643 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.04.032]
- 41 Hwang JH, Rulyak SD, Kimmey MB. American Gastroenterological Association Institute technical review on the management of gastric subepithelial masses. *Gastroenterology* 2006; 130: 2217-2228 [PMID: 16762644 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.04.033]
- 42 ESMO/European Sarcoma Network Working Group. Gastrointestinal stromal tumors: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2012; 23 Suppl 7: vii49-vii55 [PMID: 22997454 DOI: 10.1093/annonc/mds252]
- 43 Sato T, Peiper M, Fritscher-Ravens A, Gocht A, Soehendra N, Knoefel WT. Strategy of treatment of submucosal gastric tumors. *Eur J Med Res* 2005; 10: 292-295 [PMID: 16055400]
- 44 Gill KR, Camellini L, Conigliaro R, Sassatelli R, Azzolini F, Messerotti A, Woodward TA, Wallace MB, Jamil LH, Raimondo M. The natural history of upper gastrointestinal subepithelial tumors: a multicenter endoscopic ultrasound survey. *J Clin Gastroenterol* 2009; 43: 723-726 [PMID: 19238092 DOI: 10.1097/MCG.0b013e31818a8457]
- 45 Bruno M, Carucci P, Repici A, Pellicano R, Mezzabotta L, Goss M, Magnolia MR, Saracco GM, Rizzetto M, De Angelis C. The natural history of gastrointestinal subepithelial tumors arising from muscularis propria: an endoscopic ultrasound survey. *J Clin Gastroenterol* 2009; 43: 821-825 [PMID: 19349904 DOI: 10.1097/MCG.0b013e31818f50b8]
- 46 Kim GH. Endoscopic resection of subepithelial tumors. *Clin Endosc* 2012; 45: 240-244 [PMID: 22977810 DOI: 10.5946/ce.2012.45.3.240]
- 47 Chak A, Canto MI, Rösch T, Dittler HJ, Hawes RH, Tio TL, Lightdale CJ, Boyce HW, Scheiman J, Carpenter SL, Van Dam J, Kochman ML, Sivak MV. Endosonographic differentiation of benign and malignant stromal cell tumors. *Gastrointest Endosc* 1997; 45: 468-473 [PMID: 9199902 DOI: 10.1016/S0016-5107(97)70175-5]
- 48 Rösch T, Kapfer B, Will U, Baronius W, Strobel M, Lorenz R, Ulm K. Accuracy of endoscopic ultrasonography in upper gastrointestinal submucosal

- lesions: a prospective multicenter study. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37: 856-862 [PMID: 12190103]
- 49 Nickl N. Hypoechoic intramural tumor study: final report [Abstract]. *Gastrointest Endosc* 2002; 55: AB98
- 50 Ando N, Goto H, Niwa Y, Hirooka Y, Ohmiya N,

Nagasaka T, Hayakawa T. The diagnosis of GI stromal tumors with EUS-guided fine needle aspiration with immunohistochemical analysis. *Gastrointest Endosc* 2002; 55: 37-43 [PMID: 11756912 DOI: 10.1067/mge.2002.120323]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng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出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,须经得《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。

慢传输型便秘大鼠胃肠黏膜5-羟色胺3受体的表达

索静宇, 徐华, 毕淑英, 张旭, 郑倩

索静宇, 张旭, 郑倩, 安徽医科大学 安徽省合肥市 230001
徐华, 毕淑英, 中国人民解放军空军总医院儿科 北京市 100142

索静宇, 安徽医科大学2011级硕士研究生, 主要从事小儿消化方向的研究。

作者贡献分布: 此课题由索静宇、徐华及毕淑英设计; 研究过程由索静宇操作完成; 研究所用动物及分析工具由张旭与郑倩提供; 数据分析由索静宇完成; 本论文写作由索静宇与徐华完成。

通讯作者: 徐华, 教授, 100142, 北京市海淀区阜成路30号, 中国人民解放军空军总医院儿科. doctorxuhua@yahoo.cn
电话: 010-66928283

收稿日期: 2013-07-18 修回日期: 2013-08-13

接受日期: 2013-08-23 在线出版日期: 2013-09-28

Expression of 5-hydroxytryptamine 3 receptor in the gastrointestinal tract of rats with slow transit constipation

Jing-Yu Suo, Hua Xu, Shu-Ying Bi, Xu Zhang, Qian Zheng

Jing-Yu Suo, Xu Zhang, Qian Zheng, Anhui Medical University, Hefei 230001, Anhui Province, China

Hua Xu, Shu-Ying Bi, Department of Pediatrics, Air Force General Hospital of PLA, Beijing 100142, China

Correspondence to: Hua Xu, Professor, Department of Pediatrics, Air Force General Hospital of PLA, 30 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100142, China. doctorxuhua@yahoo.cn

Received: 2013-07-18 Revised: 2013-08-13

Accepted: 2013-08-23 Published online: 2013-09-28

Abstract

AIM: To investigate the expression of 5-hydroxytryptamine 3 (5-HT₃) receptor in the gastrointestinal tract of rats with slow transit constipation (STC), and to explore its role in the pathogenesis of STC.

METHODS: Twenty-four healthy Wistar rats were divided into either an experimental group or a control group. The experimental group was daily administered with diphenoxylate (8 mg/kg) for 90 days to induce STC, while the control group was fed equal volume of normal saline. The number and weight of fecal granules and the body weight of rats were recorded every 5 days. An activated charcoal suspension pushing

test was performed one week after the administration of diphenoxylate to assess whether STC was successfully induced. RT-PCR was used to detect the expression of 5-HT₃ receptor in the stomach, small intestine and colon of rats.

RESULTS: By comparing the number of fecal granule, the mean weight of each fecal granule and the discharge time of the first granule of black feces between the experimental group and control group, we could judge that STC was successfully induced. 5-HT₃ receptor could be specifically amplified by RT-PCR. The expression of 5-HT₃ receptor in the stomach, small intestine and colon was significantly lower in rats with STC than in control rats (all $P < 0.05$).

CONCLUSION: The expression of 5-HT₃ receptor is decreased in the stomach, small intestine and colon of rats with STC, which may contribute to the pathogenesis of STC.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Slow transit constipation; 5-hydroxytryptamine 3 receptor; RT-PCR; Gastrointestinal tract

Suo JY, Xu H, Bi SY, Zhang X, Zheng Q. Expression of 5-hydroxytryptamine 3 receptor in the gastrointestinal tract of rats with slow transit constipation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2815-2819 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2815.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2815>

摘要

目的: 研究5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)₃受体在慢传输型便秘(slow transit constipation, STC)大鼠胃肠黏膜的表达, 探讨其在慢传输型便秘中的发病机制。

方法: 将24只健康Wistar大鼠随机分为实验组及对照组, 实验组予以复方苯乙哌啶混悬液[8 mg/(kg·d)]灌胃建立慢传输便秘模型, 对照组予以等剂量的生理盐水灌胃。每5 d记录1次大便粒数、大便干质量及大鼠体质量。饲养

■背景资料

目前, 慢传输型便秘(slow transit constipation, STC)已成为儿童慢性便秘的常见类型, 严重地影响了儿童的身心健康, 但目前临床治疗尚不能取得满意的疗效。因此, 深入研究STC的病理生理机制已成为当前的主要问题。

■同行评议者

刘宝林, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

■研发前沿

目前对于STC的研究已发现与多种因素有关,如胃肠道激素、Cajal细胞、*c-kit*基因等。STC与胃肠神经递质的关系已受到广泛的关注,5-HT信号系统通过与特异性受体结合,参与胃肠道运动、分泌和内脏感知调节。

90 d后停药1 wk,判断模型是否成功。采用实时荧光聚合酶链反应法(Real-time PCR, RT-PCR)检测5-HT₃受体在慢传输型便秘模型大鼠胃、小肠及结肠的表达。

结果:通过比较实验组及对照组的日均粪便粒数、平均每粒粪便质量及首粒黑便排出时间可判断造模成功。RT-PCR能特异性扩增5-HT₃受体,5-HT₃受体在慢传输型便秘大鼠胃、小肠、结肠组织中的表达均低于正常对照组(0.744 ± 0.065 , $P < 0.05$; 0.294 ± 0.044 , $P < 0.001$; 0.16 ± 0.027 , $P < 0.001$)。

结论:慢传输型便秘大鼠胃肠黏膜存在5-HT₃受体表达下调,其可能与STC发病机制有关。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词:慢传输型便秘; 5-HT₃受体; RT-PCR; 胃肠黏膜

核心提示:本研究通过人工喂养后的大鼠成功建立慢传输型便秘模型,针对与结肠传输功能有关的神经递质与受体进行研究,通过RT-PCR方法发现5-HT₃受体在慢传输型便秘(slow transit constipation, STC)大鼠胃肠黏膜中表达下调,提示STC大鼠胃肠道中5-HT₃受体的减少可能为慢传输型便秘的重要病理生理机制。

索静宇, 徐华, 毕淑英, 张旭, 郑倩. 慢传输型便秘大鼠胃肠黏膜5-羟色胺3受体的表达. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2815-2819 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2815.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2815>

0 引言

慢性便秘是小儿消化系统疾病中的常见症状,发生率约3%-5%^[1,2]根据文献报道^[3],小儿便秘可分为:慢传输型、出口梗阻型、混合型及结肠传输时间正常型4种类型。结合儿童结肠的发育特点,以慢传输型便秘(slow transit constipation, STC)最为多见。STC由多种因素引起,是指结肠运动功能低下导致粪便传输减慢所引起的便秘,表现为排便次数减少、便意减弱、甚至消失并伴有腹胀^[4,5]。目前其发病机制尚不明确,其与胃肠神经递质的关系已受到了广泛的关注。5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)是肠神经系统的重要介质^[6,7],研究表明5-HT及其受体与胃肠道疾病密切相关。其中,5-HT₃受体被认为是调节胃肠道动力的重要因子。以往对于5-HT₃R与STC关系的研究多以蛋白表达为主,尚无基因层

面论证。本文采用实时荧光PCR(Real-time PCR, RT-PCR)方法从基因水平探讨5-HT₃R在STC大鼠胃肠黏膜的表达,从而为其病理生理机制提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料 清洁级健康♂8周龄Wistar大鼠24只,体质量 $120 \text{ g} \pm 10 \text{ g}$,由中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心提供,生产许可证号SCXK-(军)2007-004,随机分为实验组和对照组($n = 12$)。所有大鼠均分笼饲养,饲养于中国人民解放军304医院动物实验室。预饲养1 wk以适应环境(室温 20°C - 22°C ,相对湿度50%-70%,清洁安静)。所有大鼠均以普通干饲料喂养(由北京华阜康生物科技股份有限公司提供)。复方苯乙哌啶(合肥久联制药有限公司),生理盐水(湖南康源制药有限公司),活性炭(国药集团化学试剂有限公司); TRNzol-A+Reagent、RNase-free ddH₂O、FastQuant cDNA第一链合成试剂盒、SuPerReal PreMix Plus均购自TIANGEN公司,PCR引物和内对照 β -actin均由SANGON公司合成(表1)。离心机(德国Heraeus公司),紫外分光光度计(UV-2201日本岛津公司),PCR扩增仪(中国SLAN公司)。

1.2 方法

1.2.1 慢传输型便秘大鼠的模型建立:参照陈飞波的方法建立慢传输型便秘大鼠模型^[8]。24只大鼠随机分为实验组和对照组,每组12只,且体质量及性别无明显差异。大鼠分笼饲养,实验组大鼠每日以复方苯乙哌啶灌胃(8 mg/kg),对照组灌以等量生理盐水。每5 d记录1次大鼠粪便粒数、粪便干重及大鼠体质量。饲养90 d后处死大鼠,取其胃窦、小肠、结肠肌肉组织各 $0.5 \text{ cm} \times 0.5 \text{ cm}$,储存于液氮中备用。通过首粒黑便排出时间判断模型建立是否成功。

1.2.2 肠道传输功能测定:采用活性炭灌胃法测定首粒黑便排出时间。停药1 wk后的大鼠禁食24 h(不禁水),经口灌入100 g/L活性炭悬液2 mL。从灌胃完毕开始计时,记录从灌胃到首粒黑便排出时间。

1.2.3 组织总RNA提取:组织块(约40 mg)加入TRNzol-A+1 mL,用匀浆器进行匀浆处理后置于Eppendorf管,15 $^\circ\text{C}$ -30 $^\circ\text{C}$ 放置5 min,使核蛋白复合物完全分离。4 $^\circ\text{C}$ 12000 r/min离心10 min,取上清,于上清液中加入氯仿200 mL,剧烈震荡15 s,室温放置3 min。4 $^\circ\text{C}$ 13000 r/min离

■相关报道

国外Deponti等报道5-HT可加快胃肠道运动及提高内脏痛觉的敏感性;国内丁建华等实验显示STC患者结肠中5-HT₃受体较对照组明显减少。

表 1 RT-PCR所用引物序列及片段大小

目的基因	引物序列	片段大小(bp)
5-HT3R	上游5'-CGCCTGTAGCCTTGACATCTAT-3'	160
	下游5'-CGACCTCACTTCTTCTGGTGTT-3'	
β -actin	上游5'-CCCATCTATGAGGGTTACGC-3'	150
	下游5'-TTTAATGTCACGCACGATTTTC-3'	

5-HT3R: 5-羟色胺3受体.

表 2 两组大鼠粪便粒数、粪便质量及首粒黑便排出时间 ($n = 12$, mean \pm SD)

分组	粪便粒数(粒/d)	粪便质量 (mg/粒)	首粒黑便排出时间(min)
实验组	24.04 \pm 1.52	147.73 \pm 6.94	970.00 \pm 15.28
对照组	34.56 \pm 2.74	131.60 \pm 9.83	402.86 \pm 22.33
P值	<0.01	<0.05	<0.01

心10 min后, 样品会分为3层, RNA主要存在于上层无色的水相中. 将水相移至新的离心管内, 加入等体积的异丙醇, 混匀, 室温放置25 min. 随后4 $^{\circ}\text{C}$ 13000 r/min离心10 min, 去上清后可在管侧或管底见到胶状沉淀, 即为RNA沉淀. 加入1 mL 750 mL/L乙醇洗涤沉淀, 再4 $^{\circ}\text{C}$ 5000 r/min离心3 min, 倒出液体, 室温干燥2 min, 加入50 μL RNase-free ddH₂O, 反复吹打、混匀以充分溶解RNA. 将已提取好的RNA用紫外分光光度仪检测其纯度: 取10 μL 样品加入390 μL RNase-free ddH₂O稀释, 充分混匀, 测其 A_{260} 与 A_{280} 数值, 每个样品重复3次, 取均值. $A_{260/280}$ 介于1.8-2.1提示RNA纯度较好. 余样品置于-80 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用.

1.2.4 逆转录合成cDNA: 严格按照FastQuant cDNA第一链合成试剂盒说明书操作, 将已提取的RNA逆转录成cDNA, 建立20 μL 的反应体系.

1.2.5 引物设计及合成: 通过PubMed数据库寻找相关引物, 采用Primer5.0软件进行分析并挑选出最为合适的引物.

1.2.6 PCR扩增: 严格按照SuPerReal PreMix Plus试剂盒说明书操作, 建立20 μL 的反应体系, 通过PCR扩增仪进行扩增, 每组样品重复3次. PCR反应条件(三步法): 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性15 min, 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性10 s, 57 $^{\circ}\text{C}$ 退火30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸32 s, 共40个循环. PCR产物经2%琼脂糖凝胶电泳分析. 电脑记录其融解曲线并记录每个样品的Ct值, 通过相对定量法比较两组间5-羟色胺3受体的表达.

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件进行数据分析, 数据以mean \pm SD表示并进行方差分析

和 t 检验. $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 大鼠慢传输型便秘模型建立成功 实验组大鼠日均粪便粒数明显少于对照组($P < 0.01$)、平均每粒粪便质量大于对照组($P < 0.05$); 实验组大鼠首粒黑便排出时间明显长于对照组($P < 0.01$), 说明实验组大鼠肠道传输时间延长, 表明造模成功(表2).

2.2 5-HT3受体mRNA表达水平 5-HT3受体和内参的RT-PCR产物融解曲线均为单一峰, 未发现非特异性扩增和引物二聚体产生, 其目的基因扩增曲线形态良好(图1). 5-HT3受体在慢传输型便秘胃、小肠、结肠组织的相对表达量($2^{-\Delta\Delta C_t}$)分别为 0.744 ± 0.065 、 0.294 ± 0.044 、 0.16 ± 0.027 , 均低于正常对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$, 表3).

2.3 电泳结果 5-HT3受体和 β -actin扩增产物经电泳后, 结果显示扩增片段大小与设计的大小完全一致. 2%琼脂糖凝胶电泳显示PCR产物为单一条带(图2), 表明RT-PCR能特异性扩增5-HT3受体, 结果可靠.

3 讨论

5-HT作为重要的单胺类神经递质, 广泛地存在于中枢及外周组织中, 其中95%来源于胃肠道, 且主要存在于肠嗜铬细胞(enterochromaffin cells, EC). 5-HT可通过与特异性受体结合, 从而参与胃肠道运动、分泌和内脏感知调节^[9,10]. 5-HT

■创新盘点

本实验首次采用RT-PCR技术从基因层面探讨5-HT3受体在STC中的表达, 并发现其在STC大鼠胃肠黏膜中表达下调, 提示5-HT3受体可能参与了STC的发生.

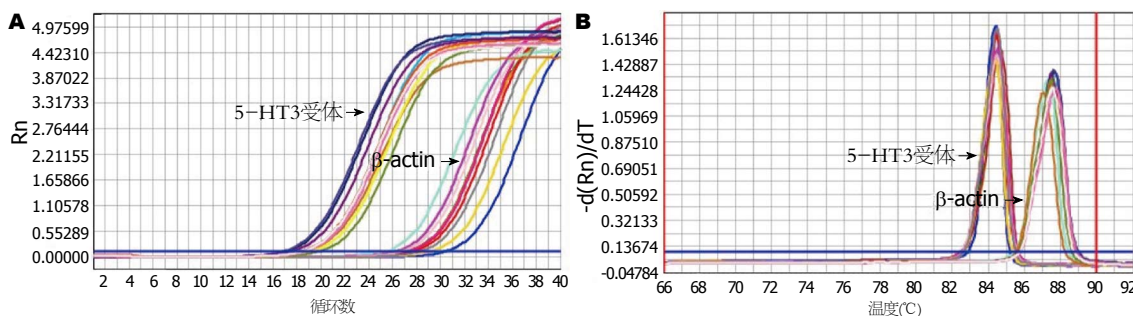
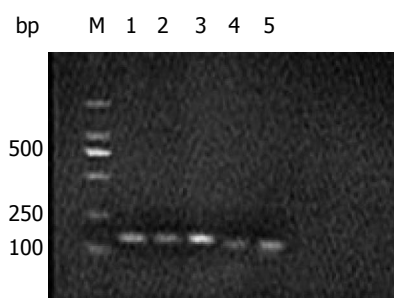
■应用要点

本文通过研究STC大鼠5-HT₃受体的表达水平,可为STC发生的病理生理机制提供理论依据,同时也可为临床选择性用药提供新思路。

表 3 慢传输型便秘大鼠胃、小肠、结肠组织中5-HT₃受体表达水平

	实验组			对照组		
	胃	小肠	结肠	胃	小肠	结肠
5-HT ₃ 受体相对表达量($2^{-\Delta\Delta Ct}$)	0.74 ± 0.065	0.29 ± 0.044	0.16 ± 0.027	1	1	1
<i>t</i> 值	-6.826	-28.061	-54.8			
<i>P</i> 值	<0.05	<0.001	<0.001			

5-HT₃: 5-羟色胺₃。

图 1 5-HT₃受体mRNA实时荧光定量扩增曲线和融解曲线. A: 实时荧光定量扩增曲线; B: 融解曲线。图 2 大鼠胃肠黏膜5-HT₃受体及β-actin mRNA表达电泳图. M: DNA marker; 1和2为实验组5-HT₃受体; 3: 对照组5-HT₃受体; 4: 实验组β-actin; 5: 对照组β-actin。

受体是目前已知的神经递质受体家族中最为庞大的个体,有7种类型,15个亚型。其中5-HT₁、5-HT₂、5-HT₃、5-HT₄、5-HT₇主要分布于胃肠道,其功能各异^[11]。De Ponti等^[12]报道5-HT可使胃肠道运动加快,并提高内脏痛觉的敏感性。

5-HT受体参与胃肠动力和内分泌的调控,通过激活5-HT₃受体可增强胃肠道收缩力、促进肠的分泌,从而加快胃肠道的传输速度,缩短肠内容物通过胃肠道的时间^[13]。5-HT₃受体是胃肠道5-HT受体中较为重要的类型^[14],可传递肠至脑的信息,介导胃结肠反射^[15],肠固有神经也可通过5-HT₃受体促进胃肠动力及肠分泌。因此,5-HT₃受体既介导肠感觉的传递,又参与胃肠动力的产生^[6,16]。近年来脑-肠轴的研究已成为慢传

输型便秘机制的研究重点^[17,18],而5-HT及5-HT₃受体作为重要的神经递质在此研究中发挥重要的作用。目前,关于5-HT₃受体在STC胃肠黏膜中的表达仅见蛋白水平,基因表达的研究尚鲜有报道。丁建华等^[16]通过免疫组织化学法证实STC患者结肠中5-HT₃受体阳性染色较对照组明显减少、强度降低。本次研究显示,5-HT₃受体在大鼠胃、小肠、结肠黏膜的表达较对照组明显降低,提示慢传输型便秘胃肠道存在5-HT₃受体的表达下调。因此,5-HT₃受体的表达下调一方面影响了肠感觉向脑的传递,使便意减少;另一方面又使胃肠动力减弱,减慢了胃肠道的传输,减少了肠的分泌,从而诱导便秘产生。

慢传输型便秘自1986年首次提出以来,便发现STC是以结肠传输减慢和对纤维素、缓泻剂治疗反应差为主要特点^[19]。本次实验中5-HT₃受体在胃黏膜中的下调没有小肠及结肠明显,且小肠下调趋势亦低于结肠。此实验结果考虑与STC本身的特点有关,且与5-HT₃受体于肠道内分布多于胃内有关。以往研究认为部分STC患者的发病与胃动力异常有关^[20],Madrid等^[21]通过放射学检查证实了STC患者也存在小肠动力障碍。我们的研究表明STC大鼠全胃肠5-HT₃受体表达下调,可能存在全胃肠动力异常,并且以肠动力障碍为著。

总之,慢传输型便秘大鼠胃肠道中5-HT₃受

体的表达明显低于对照组, 提示可能为慢传输型便秘的重要病理生理机制。

4 参考文献

- 1 Benninga M, Candy DC, Catto-Smith AG, Clayden G, Loening-Baucke V, Di Lorenzo C, Nurko S, Staiano A. The Paris Consensus on Childhood Constipation Terminology (PACCT) Group. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005; 40: 273-275 [PMID: 15735478 DOI: 10.1097/01.MPG.0000158071.24327.88]
- 2 Hyman PE, Milla PJ, Benninga MA, Davidson GP, Fleisher DF, Taminiau J. Childhood functional gastrointestinal disorders: neonate/toddler. *Gastroenterology* 2006; 130: 1519-1526 [PMID: 16678565 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.11.065]
- 3 Shahid S, Ramzan Z, Maurer AH, Parkman HP, Fisher RS. Chronic idiopathic constipation: more than a simple colonic transit disorder. *J Clin Gastroenterol* 2012; 46: 150-154 [PMID: 22011587 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.11.065]
- 4 Dinning PG, Di Lorenzo C. Colonic dysmotility in constipation. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2011; 25: 89-101 [PMID: 21382581 DOI: 10.1016/j.bpg.2010.12.006]
- 5 Gray JR. What is chronic constipation? Definition and diagnosis. *Can J Gastroenterol* 2011; 25 Suppl B: 7B-10B [PMID: 22114751]
- 6 Sikander A, Rana SV, Prasad KK. Role of serotonin in gastrointestinal motility and irritable bowel syndrome. *Clin Chim Acta* 2009; 403: 47-55 [PMID: 19361459 DOI: 10.1016/j.cca.2009.01.028]
- 7 Tonini M, Pace F. Drugs acting on serotonin receptors for the treatment of functional GI disorders. *Dig Dis* 2006; 24: 59-69 [PMID: 16699264 DOI: 10.1159/000090309]
- 8 陈飞波, 包云光, 舒小莉, 顾伟忠, 赵婵, 姚敏华, 欧弼悠, 江米足. 一氧化氮在慢传输型便秘大鼠中的作用及中药治疗评估. *临床儿科杂志* 2009; 27: 580-584
- 9 Kim YS, Choi SC, Park JM, Choi CH, Lee DH, Son HJ, Sung IK, Jeong JJ, Lee JS, Shim KN, Lee KJ, Hong SJ, Choi MG. The effect of tegaserod on symptoms and quality of life in Korean women with irritable bowel syndrome with constipation. *J Neurogastroenterol Motil* 2010; 16: 61-70 [PMID: 20535328 DOI: 10.5056/jnm.2010.16.1.61]
- 10 Camilleri M. Serotonin in the gastrointestinal tract. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2009; 16: 53-59 [PMID: 19115522 DOI: 10.1097/MED.0b013e32831e9c8e]
- 11 Gershon MD. Review article: serotonin receptors and transporters -- roles in normal and abnormal gastrointestinal motility. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20 Suppl 7: 3-14 [PMID: 15521849 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2004.02180.x]
- 12 De Ponti F, Tonini M. Irritable bowel syndrome: new agents targeting serotonin receptor subtypes. *Drugs* 2001; 61: 317-332 [PMID: 11293643 DOI: 10.2165/00003495-200161030-00001]
- 13 雷云霞, 蔡淦. 5羟色胺在肠易激综合征中的作用. *中国中西医结合消化杂志* 2005; 13: 410-413
- 14 Tong W, Kamiyama Y, Ridolfi TJ, Zietlow A, Zheng J, Kosinski L, Ludwig K, Takahashi T. The role of 5-HT3 and 5-HT4 receptors in the adaptive mechanism of colonic transit following the parasympathetic denervation in rats. *J Surg Res* 2011; 171: 510-516 [PMID: 20691988 DOI: 10.1016/j.jss]
- 15 林震群, 张维波, 周文博. 痛泻要方颗粒对腹泻型肠易激综合征的结肠黏膜5-HT3受体表达的影响. *福建中医药* 2011; 42: 14-16
- 16 丁健华, 赵荣华, 傅传刚, 毕丽霞, 孟荣贵, 喻德洪. 慢传输型便秘患者结肠中5羟色胺受体亚型的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 3111-3115
- 17 Devanarayana NM, Rajindrajith S. Association between constipation and stressful life events in a cohort of Sri Lankan children and adolescents. *J Trop Pediatr* 2010; 56: 144-148 [PMID: 19696192 DOI: 10.1093/tropej/fmp077]
- 18 Bassotti G, Villanacci V. Slow transit constipation: a functional disorder becomes an enteric neuropathy. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 4609-4613 [PMID: 16937428]
- 19 Bharucha AE, Phillips SF. Slow transit constipation. *Gastroenterol Clin North Am* 2001; 30: 77-95 [PMID: 11394038 DOI: 10.1016/S0889-8553(05)70168-0]
- 20 邹颖, 郑学宝. 慢传输型便秘发病机制研究进展. *现代实用医学* 2007; 19: 416-418
- 21 Madrid AM, Defilippi C. [Disturbances of small intestinal motility in patients with chronic constipation]. *Rev Med Chil* 2006; 134: 181-186 [PMID: 16554925]

同行评价

本文课题设计合理, 方法科学, 课题数据说明一定问题, 值得进一步研究。

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



转录因子ETS1 RNA干扰质粒的构建及其稳定转染胰腺癌细胞株的建立

王钟晗, 王彩莲, 陈蓉, 周旻, 陈岩

■背景资料

胰腺癌的发病率在全球范围内呈逐年上升趋势, 大部分患者在确诊时已失去了接受根治性手术的机会, 迫切需要我们探索发现新的生物标志物预测胰腺癌治疗效果和预后生存, 并且为胰腺癌治疗提供一个新的分子靶点。

王钟晗, 王彩莲, 陈蓉, 周旻, 陈岩, 东南大学附属中大医院肿瘤中心 江苏省南京市 210009

王钟晗, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤的研究。

江苏省自然科学基金资助项目, No. BK2011604

作者贡献分布: 王钟晗与王彩莲对此文所作贡献均等; 本课题由王钟晗、王彩莲、陈蓉、周旻及陈岩设计; 研究过程由王钟晗与王彩莲操作完成; 本论文写作由王钟晗与王彩莲完成。

通讯作者: 王彩莲, 主任医师, 博士生导师, 210009, 江苏省南京市鼓楼区丁家桥87号, 东南大学附属中大医院肿瘤中心。

wangcailian65@hotmail.com

电话: 025-83272338

收稿日期: 2013-05-25 修回日期: 2013-08-05

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-09-28

Construction of plasmids carrying shRNAs targeting the *ETS1* gene and their stable transfection of PANC-1 cell line

Zhong-Han Wang, Cai-Lian Wang, Rong Chen, Min Zhou, Yan Chen

Zhong-Han Wang, Cai-Lian Wang, Rong Chen, Min Zhou, Yan Chen, Department of Oncology, Affiliated Zhongda Hospital of Southeast University, Nanjing 210009, Jiangsu Province, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Jiangsu Province, No. BK2011604

Correspondence to: Cai-Lian Wang, Chief Physician, Department of Oncology, Affiliated Zhongda Hospital of Southeast University, 87 Dingjiaqiao District, Gulou District, Nanjing 210009, Jiangsu Province, China. wangcailian65@hotmail.com

Received: 2013-05-25 Revised: 2013-08-05

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-09-28

Abstract

AIM: To construct plasmids carrying shRNAs targeting the *ETS1* gene and to obtain a PANC-1 cell line stably transfected with the most efficient constructed plasmid.

METHODS: Three plasmids carrying shRNAs (shRNA-1, shRNA-2, shRNA-3) targeting the *ETS1* gene were constructed, and the most efficient one was identified by Western blot and then transfected into PANC-1 cell line. The stably transfected cell line was selected in the presence of G418. The expression of the *ETS1* protein

was detected by Western blot.

RESULTS: The plasmids carrying shRNAs were successfully constructed. The plasmid carrying shRNA-1 had the highest efficiency. The expression of *ETS1* protein in the stably transfected cell line was efficiently knocked down.

CONCLUSION: Plasmids carrying shRNAs targeting the *ETS1* gene and the stably transfected PANC-1 cell line have been successfully constructed.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Pancreatic cancer; *ETS1* transcription factor; RNAi; Stable transfection; PANC-1

Wang ZH, Wang CL, Chen R, Zhou M, Chen Y. Construction of plasmids carrying shRNAs targeting the *ETS1* gene and their stable transfection of PANC-1 cell line. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2820-2825
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2820.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2820>

摘要

目的: 构建针对人转录因子ETS1的RNA干扰质粒, 鉴定并建立干扰质粒稳定转染的人胰腺癌PANC-1细胞株。

方法: 分别构建3条针对*ETS1*基因的shRNA干扰质粒(shRNA-1, shRNA-2, shRNA-3), 并将其转染至人胰腺癌PANC-1细胞株, 用药物G418筛选出稳定细胞株, Western blot鉴定稳定转染细胞株中ETS1表达量。

结果: 3条针对*ETS1*基因的shRNA干扰质粒转染胰腺癌PANC-1细胞株后, Western blot检测结果显示干扰质粒1(shRNA-1)具有最佳干扰效果。将具有最佳干扰效果的质粒稳定转染人胰腺癌PANC-1细胞株后, 经Western blot鉴定相较于对照组稳定细胞株其ETS1表达量明显降低。

■同行评议者

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

结论: 成功构建了针对人转录因子ETS1的RNA干扰质粒, 并建立其稳定转染的人胰腺癌PANC-1细胞株。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胰腺癌; ETS1转录因子; RNA干扰; 稳定转染; PANC-1

核心提示: 近年来, 国内外针对ETS1和胰腺癌之间的相关性研究逐渐引起关注, 因此我们设计构建了针对人转录因子ETS1的RNA干扰质粒, 并将其转染至胰腺癌PANC-1细胞株, 因为稳定转染的细胞株相较于瞬时转染的细胞株具有生物学特性稳定等一系列优点。

王钟喆, 王彩莲, 陈蓉, 周旻, 陈岩. 转录因子ETS1 RNA干扰质粒的构建及其稳定转染胰腺癌细胞株的建立. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2820-2825 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2820.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2820>

0 引言

近年来, 胰腺癌的发病率在全球范围内呈逐年上升趋势, 但其发生发展的机制尚未完全阐明。研究显示, 转录因子ETS(v-ets鸟类骨髓成红细胞增多症病毒E26致癌基因)家族中的ETS1的异常表达和多种恶性肿瘤的发生、发展及预后密切相关, 如乳腺癌、肺癌、白血病^[1-3]。目前已有文献报道, ETS1在不同的胰腺癌组织中表达不同, 分化低且预后较差的胰腺癌组织中ETS1表达量相比于分化高且预后较好的胰腺癌组织明显升高^[4]。因此, 我们构建出针对ETS1 mRNA的干扰质粒, 并转染人胰腺癌PANC-1细胞, 筛选出稳定转染的细胞株, 以进一步研究转录因子ETS1在胰腺癌的发生发展中的作用。

1 材料和方法

1.1 材料 人胰腺癌细胞株PANC-1购自中科院上海细胞库, shRNA干扰质粒由上海吉凯公司构建并测序, DMEM培养基购自Wisent公司, 胎牛血清购自美国Gibco公司, Lipo-fectamine 2000购自Invitrogen公司, G418购自Sigma公司, PVDF膜购自Roche公司, WB Immobilon ECL发光液购自Millipore公司, 抗-ETS1抗体购自ABCAM公司, 抗-GAPDH抗体购自Bioworld公司, HPR标记的二抗购自Multisciences公司, 其余试剂均为分析纯。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: PANC-1细胞培养于含50 mL/L

胎牛血清的DMEM培养基中, 并置于含50 mL/L CO₂, 37 °C的培养箱中。细胞按1:3进行传代, 并取对数期生长细胞用于实验。

1.2.2 质粒构建: 由上海吉凯生物公司合成针对ETS1基因的干扰质粒并对其进行测序。

1.2.3 细胞转染及Western blot进行有效靶点的筛选: 转染前24 h取对数期的PANC-1细胞约6 × 10⁵个接种于6孔板中, 使转染时的细胞融合度在90%左右, 转染步骤按照Invitrogen的Lipofectamine 2000说明书严格操作, 取转染质粒2 μg稀释于500 μL Opti-MEM, 3 μL Lipofectamine 2000稀释于500 μL Opti-MEM, 两者混匀后静置20 min, 加入所需要转染的孔中, 3 h后加入500 μL完全培养基培养, 于转染24 h后观察荧光表达情况, 并于48 h后收集细胞并提取蛋白, 用Western blot检测目的蛋白的表达情况, 筛选出最有效的干扰靶点。

1.2.4 稳定转染细胞株的筛选: 用具有最有效干扰靶点的质粒转染细胞, 并于48 h后用含600 mg/L G418的筛选培养基进行筛选, 筛选3 wk后, 带有绿色荧光表达的阳性克隆形成, 用克隆环挑取阳性克隆细胞, 并转移至96孔板, 用二倍稀释法稀释阳性克隆细胞, 直至获得单个细胞, 并用最适培养基进行培养, 培养4 wk后, 挑选荧光强度较强的单克隆细胞进行扩大培养。

1.2.5 Western blot检测ETS1蛋白的表达: 收集足量的稳定转染的实验组及对照组细胞, 并用PBS洗2遍, 用适量的细胞裂解液进行裂解并提取蛋白, 以BCA定量的方法测得上样蛋白的浓度, 并计算相应的上样体积, 经SDS-PAGE凝胶电泳、转膜、脱脂奶粉封闭, 4 °C冰箱孵育一抗(工作浓度: ETS1 1:500; GAPDH 1:5000)12 h以上, TBST洗去一抗, 10 min × 3次, 然后室温孵育HPR标记的二抗(工作浓度为1:5000)1 h, 并用ECL化学发光法进行曝光显影, 以GAPDH作为内参, 实验均重复3次。

2 结果

2.1 ETS1 shRNA真核表达质粒构建及鉴定 由上海吉凯公司合成针对ETS1的3组干扰质粒及一组对照质粒, 经测序, 质粒构建成功。将这3个干扰质粒及对照质粒转染PANC-1细胞, 并于24h后在荧光显微镜下观察质粒的转染情况(图1)。质粒所具有的GFP结构可表达绿色荧光蛋白。荧光显示转染效率皆可达到50%以上。转染48 h后提取蛋白, 并用Western blot检测ETS1的表达情况

■ 研发前沿

目前对于ETS1在胰腺癌发生发展中的作用机制尚不清楚, 但令人鼓舞的是, 近来正逐渐引起国际重视, 已有文献证实ETS1在肿瘤发生、发展和侵袭转移过程中起着重要作用。

■相关报道

ETS家族在细胞的多种生物学行为如增殖、分化、转化、侵袭和凋亡中都发挥重要作用。此外, ETS家族已经被证实与一些恶性肿瘤的发生发展密切相关, 如前列腺癌、大肠癌、肺癌及乳腺癌等。

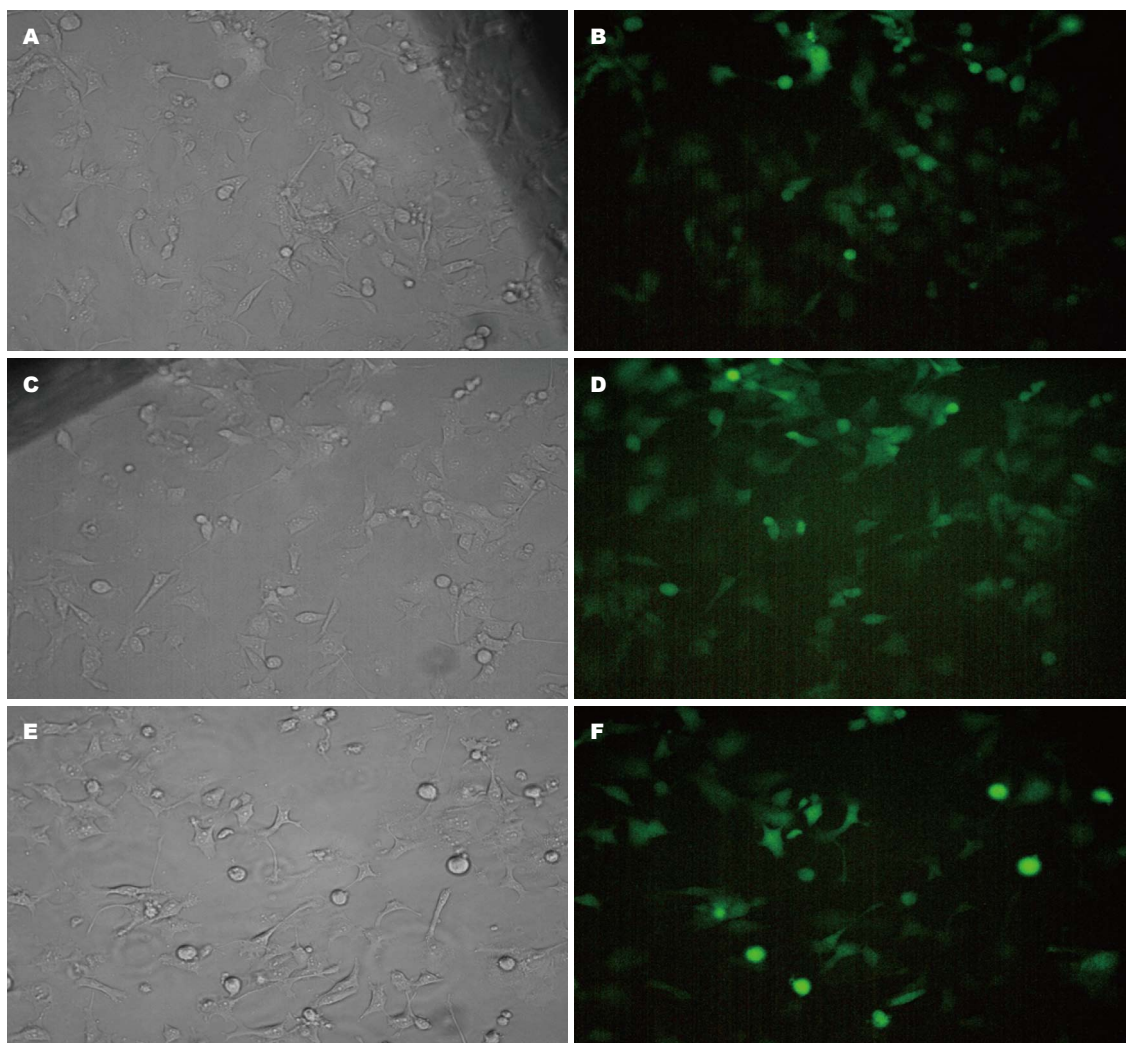


图1 荧光显微镜观察ETS1干扰质粒转染胰腺癌PANC-1细胞后荧光表达情况($\times 200$)。A, B: shRNA 1组; C, D: shRNA 2组; E, F: shRNA 3组; A, C, E: 白光; B, D, F: 荧光。

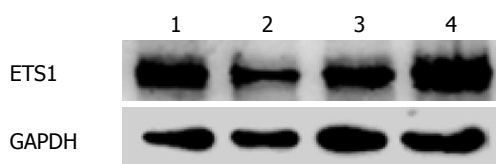


图2 Western blot检测3条干扰质粒转染细胞后ETS1蛋白表达情况。1: con-shRNA组; 2: shRNA 1组; 3: shRNA 2组; 4: shRNA 3组。GAPDH: 内参。

(图2)。干扰质粒1具有最佳的干扰效果, 后续实验皆选取此干扰质粒。

2.2 干扰质粒稳定转染PANC-1细胞及稳定株ETS1表达量的鉴定 分别将干扰质粒1及对照质粒转染PANC-1细胞, 并用G418进行筛选, 约3 wk后形成阳性克隆(图3)。挑取阳性克隆并用最适培养基进行培养, 培养4 wk后, 挑选荧光强度较强的单克隆细胞进行扩大培养。用Western blot鉴定, 所获得的干扰质粒稳定转染的细胞株

其ETS1表达水平相较于对照质粒稳定转染的细胞株明显降低(图4)。

3 讨论

ETS家族首先发现于鸟类白血病病毒E26中, 作为一类融合基因与*v-myb*基因及*gag*基因融合在一起。至今为止, 已有超过30个成员被陆续发现。ETS转录因子家族具有两个主要的功能域, 转录激活域和DNA结合域。这一家族的转录因子一个共同的特征就是具有一个独特的高度保守的DNA结合域, 又称ETS域。ETS域是由85个氨基酸构成, 可以特异性地识别具有GGAA/T核心元素的DNA序列并与之结合, 从而发挥其转录调控作用^[5,6]。ETS家族的绝大多数成员都是Ras-MAPK信号通路的核内靶基因, 因此, ETS家族在细胞的多种生物学行为如增殖、分化、转化、侵袭和凋亡中都发挥重要作用^[7]。此外, ETS家族已经

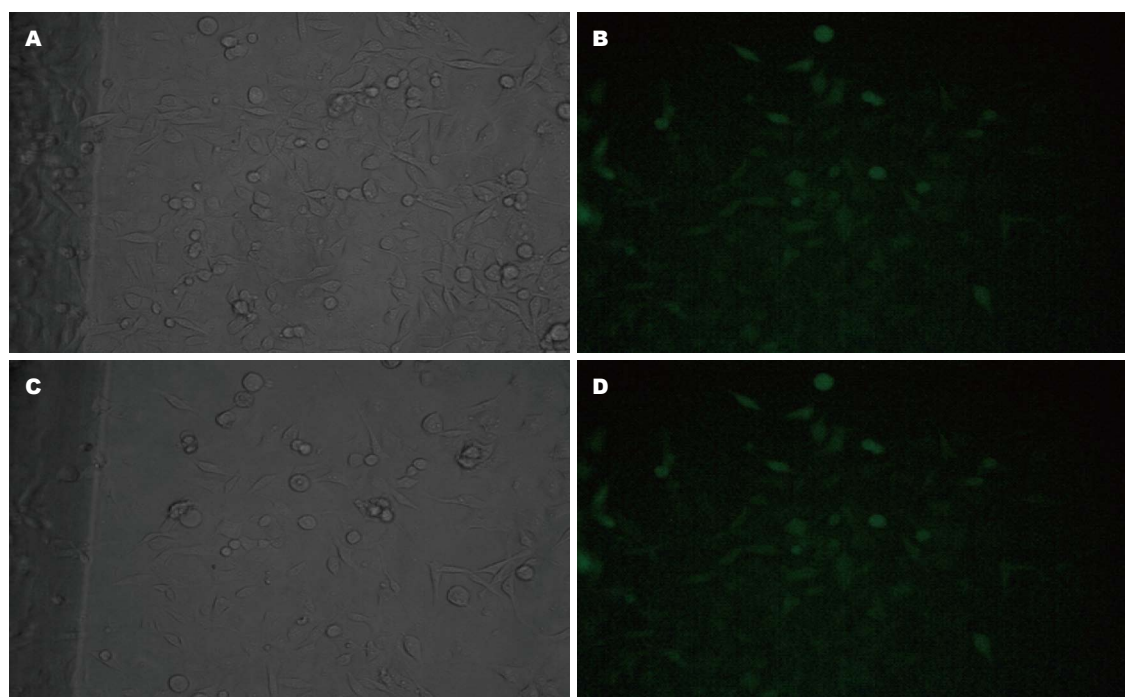


图 3 对照组及实验组经G418筛选3 wk后形成的阳性克隆在常规显微镜及荧光显微镜下观察结果($\times 200$)。A, B: shRNA 1 clone; C, D: con shRNA clone; A, C: 白光; B, D: 绿色荧光。

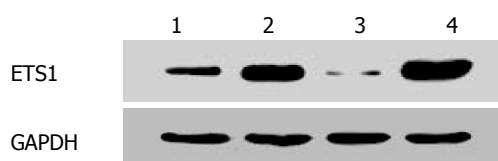


图 4 Western blot检测对照质粒和干扰质粒稳转的细胞系中ETS1表达情况。1: shRNA1 clone1; 2: control clone1; 3: shRNA1 clone2; 4: control clone2. GAPDH: 内参。

被证实与一些恶性肿瘤的发生发展密切相关, 如前列腺癌、大肠癌、肺癌及乳腺癌等^[8,9]。

ETS1是转录因子ETS家族中最具代表性的成员之一, 他主要有两种蛋白形式, 一种是51 kDa分子量大小, 另一种是42 kDa分子量大小。分子量为42 kDa的ETS1蛋白相较于分子量为51 kDa的ETS1蛋白缺乏内含子VII序列, 而内含子VII上具有一个自抑性的调节序列可以调节ETS1的DNA结合性^[10,11]。除了此种自身调控机制外, ETS1的转录活性还受到磷酸化的调节。ETS1的氨基末端具有一个RAS敏感的苏氨酸38磷酸化位点, 磷酸化这些残基可以显著增强ETS1的转录活性; 而内含子VII的氨基末端具有一个钙敏感磷酸化位点, 磷酸化这些丝氨酸残基则可以显著抑制ETS1的转录活性^[12-14]。ETS1受磷酸化修饰后, 将信号传导, 从而调控一系列基因的表达水平, 包括一些其他的转录因子, 细胞周期调

控基因, 凋亡相关基因以及一些生长因子, 从而影响细胞的增殖, 凋亡及血管生成等。近年来, 一些已经被证实是恶性肿瘤细胞外基质破坏, 细胞迁移及血管形成的标志如基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)-1、MMP-3、MMP-9、尿激酶以及血管内皮生长因子及其受体等, 都被发现是ETS1的下游效应物^[15-19], 由此可见, ETS1在肿瘤的发生、发展及侵袭转移中都发挥重要作用。

全球范围内胰腺癌的发病率呈逐年上升趋势, 由于缺乏有效的早期诊断手段及治疗方法, 患者的预后极差, 中位生存期为3-4 mo。分子靶向治疗已经成为现在及未来肿瘤治疗的主要方法之一, 因此, 寻找胰腺癌的早期诊断的分子标志物及分子靶向治疗靶点具有重要意义^[20,21]。ETS1在胚胎发育时参与胰腺的形成, 但在正常的胰腺组织中不表达或仅轻度表达, 而胚胎发育和肿瘤发生又有着密切关系, 从而我们推测ETS1在胰腺癌的发生发展中都具有重要作用^[22]。体外研究表明, ETS1在胰腺癌组织中呈高表达, 提示ETS1可能与胰腺癌的发生密切相关^[23-25], 我们前期研究中也检测了胰腺癌组织与癌旁胰腺组织中ETS1表达, 结果表明ETS1在胰腺癌组织中明显高于癌旁胰腺组织^[26]。本课题组前期实验对ETS1的表达与急性髓性白血病患者临床预后

■创新盘点

目前已有研究通过siRNA干扰技术或腺病毒转染技术对胰腺癌细胞株内ETS1表达进行调控, 并进行进一步实验检测下游功能。本文使用的质粒转染系统有别于前两者, 具有创新性。

■应用要点

ETS1与多种细胞生物学行为有关,在胰腺癌发生发展中具有重要的作用,这些作用亟待进一步实验阐明。作者的研究结果为后续实验奠定了良好的基础。

进行了相关性分析研究,结果提示ETS1和急性髓性白血病患者的临床预后密切相关。

近年来,国内外针对ETS1和胰腺癌之间的相关性研究逐渐引起关注,因此我们设计构建了针对人转录因子ETS1的RNA干扰质粒,并将其转染至胰腺癌PANC-1细胞株。由于稳定转染的细胞株相较于瞬时转染的细胞株具有生物学特性稳定等一系列优点,我们用药物G418加压筛选出稳定转染的胰腺癌PANC-1细胞株,并用Western blot反复鉴定,筛选出具有最佳敲除效果的细胞株两支,从而为进一步研究ETS1与胰腺癌发生发展之间的相关性研究奠定实验基础。

4 参考文献

- Kars MD, Işeri OD, Gündüz U. Drug resistant breast cancer cells overexpress ETS1 gene. *Biomed Pharmacother* 2010; 64: 458-462 [PMID: 20392592 DOI: 10.1016/j.biopha.2010.01.008]
- Sasaki H, Yukiue H, Moiriyama S, Kobayashi Y, Nakashima Y, Kaji M, Kiriya M, Fukai I, Yamakawa Y, Fujii Y. Clinical significance of matrix metalloproteinase-7 and Ets-1 gene expression in patients with lung cancer. *J Surg Res* 2001; 101: 242-247 [PMID: 11735282 DOI: 10.1006/jsre.2001.6279]
- Dreyfus F, Picard F, Gisselbrecht S, Varet B, Tambourin PE, Fichelson S. ets-1 and ets-2 proto-oncogene expression in human leukemia cells and cell lines. *Nouv Rev Fr Hematol* 1989; 31: 217-221 [PMID: 2694094]
- Ito T, Nakayama T, Ito M, Naito S, Kanematsu T, Sekine I. Expression of the ets-1 proto-oncogene in human pancreatic carcinoma. *Mod Pathol* 1998; 11: 209-215 [PMID: 9504693]
- Dittmer J. The biology of the Ets1 proto-oncogene. *Mol Cancer* 2003; 2: 29 [PMID: 12971829]
- Garrett-Sinha LA. Review of Ets1 structure, function, and roles in immunity. *Cell Mol Life Sci* 2013; 70: 3375-3390 [PMID: 23288305]
- Oikawa T, Yamada T. Molecular biology of the Ets family of transcription factors. *Gene* 2003; 303: 11-34 [PMID: 12559563 DOI: 10.1016/S0378-1119(02)01156-3]
- Shaikhibrahim Z, Wernert N. ETS transcription factors and prostate cancer: the role of the family prototype ETS-1 (review). *Int J Oncol* 2012; 40: 1748-1754 [PMID: 22366814 DOI: 10.3892/ijo.2012.1380]
- Nakayama T, Ito M, Ohtsuru A, Naito S, Sekine I. Expression of the ets-1 proto-oncogene in human colorectal carcinoma. *Mod Pathol* 2001; 14: 415-422 [PMID: 11353051 DOI: 10.1038/modpathol.3880328]
- Lulli V, Romania P, Riccioni R, Boe A, Lo-Coco F, Testa U, Marzali G. Transcriptional silencing of the ETS1 oncogene contributes to human granulocytic differentiation. *Haematologica* 2010; 95: 1633-1641 [PMID: 20435626 DOI: 10.3324/haematol.2010.023267]
- Choul-Li S, Leroy C, Lepruvier G, Laitem C, Tulasne D, Aumercier M. Caspase cleavage of Ets-1 p51 generates fragments with transcriptional dominant-negative function. *Biochem J* 2010; 426: 229-241 [PMID: 20001963 DOI: 10.1042/BJ20090877]
- Gardner KH, Montminy M. Can you hear me now? Regulating transcriptional activators by phosphorylation. *Sci STKE* 2005; 2005: pe44 [PMID: 16160121 DOI: 10.1126/stke.3012005pe44]
- Liu H, Grundström T. Calcium regulation of GM-CSF by calmodulin-dependent kinase II phosphorylation of Ets1. *Mol Biol Cell* 2002; 13: 4497-4507 [PMID: 12475968 DOI: 10.1091/mbc.E02-03-0149]
- Cowley DO, Graves BJ. Phosphorylation represses Ets-1 DNA binding by reinforcing autoinhibition. *Genes Dev* 2000; 14: 366-376 [PMID: 10673508]
- Park YH, Jung HH, Ahn JS, Im YH. Ets-1 up-regulates HER2-induced MMP-1 expression in breast cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 377: 389-394 [PMID: 18851945 DOI: 10.1016/j.bbrc.2008.09.135]
- Lefter LP, Dima S, Sunamura M, Furukawa T, Sato Y, Abe M, Chivu M, Popescu I, Horii A. Transcriptional silencing of ETS-1 efficiently suppresses angiogenesis of pancreatic cancer. *Cancer Gene Ther* 2009; 16: 137-148 [PMID: 18772901 DOI: 10.1038/cgt.2008.65]
- Naito T, Tanihata Y, Nishimura H, Tanaka T, Higuchi C, Taguchi T, Sanaka T. Expression of matrix metalloproteinase-9 associated with ets-1 proto-oncogene in rat tubulointerstitial cells. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 2333-2348 [PMID: 16046515]
- Sahin A, Velten M, Pietsch T, Knuefermann P, Okuducu AF, Hahne JC, Wernert N. Inactivation of Ets 1 transcription factor by a specific decoy strategy reduces rat C6 glioma cell proliferation and mmp-9 expression. *Int J Mol Med* 2005; 15: 771-776 [PMID: 15806297]
- Kato T, Fujita Y, Nakane K, Kojima T, Nozawa Y, Deguchi T, Ito M. ETS1 promotes chemoresistance and invasion of paclitaxel-resistant, hormone-refractory PC3 prostate cancer cells by up-regulating MDR1 and MMP9 expression. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 417: 966-971 [PMID: 22206665 DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.12.047]
- Campbell PJ, Yachida S, Mudie LJ, Stephens PJ, Pleasance ED, Stebbings LA, Morsberger LA, Latimer C, McLaren S, Lin ML, McBride DJ, Varela L, Nik-Zainal SA, Leroy C, Jia M, Menzies A, Butler AP, Teague JW, Griffin CA, Burton J, Swerdlow H, Quail MA, Stratton MR, Iacobuzio-Donahue C, Futreal PA. The patterns and dynamics of genomic instability in metastatic pancreatic cancer. *Nature* 2010; 467: 1109-1113 [PMID: 20981101 DOI: 10.1038/nature09460]
- Haug U, Wente MN, Seiler CM, Jesenofsky R, Brenner H. Stool testing for the early detection of pancreatic cancer: rationale and current evidence. *Expert Rev Mol Diagn* 2008; 8: 753-759 [PMID: 18999925 DOI: 10.1586/14737159.8.6.753]
- 张健, 高福祿, 刘芝华. Ets转录因子家族在发育和肿瘤发生中作用的研究进展. *世界华人消化杂志* 2003; 11: 1624-1627
- Khanna A, Mahalingam K, Chakrabarti D, Periyasamy G. Ets-1 expression and gemcitabine chemoresistance in pancreatic cancer cells. *Cell Mol Biol Lett* 2011; 16: 101-113 [PMID: 21225469 DOI: 10.2478/s11658-010-0043-z]
- Li YY, Wu Y, Tsuneyama K, Baba T, Mukaida N. Essential contribution of Ets-1 to constitutive Pim-3 expression in human pancreatic cancer cells. *Cancer Sci* 2009; 100: 396-404 [PMID: 19154409 DOI: 10.1002/cncr.24009]

- 10.1111/j.1349-7006.2008.01059.x]
- 25 Ito H, Duxbury M, Benoit E, Clancy TE, Zinner MJ, Ashley SW, Whang EE. Prostaglandin E2 enhances pancreatic cancer invasiveness through an Ets-1-dependent induction of matrix metalloproteinase-2.

- 26 *Cancer Res* 2004; 64: 7439-7446 [PMID: 15492268 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-1177]
- 王彩莲, 王文闻. ETS-1、p-53、VEGF、HER-2、COX-2在胰腺癌中的表达. *江苏医药* 2012; 38: 2393-2395

■同行评价

本文的研究结果为后续实验奠定了良好的基础, 具有一定指导意义.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

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

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

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

胃癌恶性腹水患者的临床特征及预后分析223例

张慧卿, 谢梅, 何波, 芦珊, 万以叶, 宋荣峰

■背景资料

恶性腹水是临床工作的难点与挑战, 18.3%的恶性腹水与胃癌相关, 有必要研究胃癌恶性腹水临床病理特征与预后关系, 指导临床治疗。

张慧卿, 谢梅, 何波, 芦珊, 万以叶, 宋荣峰, 江西省肿瘤医院江西省南昌市 330029

张慧卿, 硕士, 主要从事消化系统肿瘤的临床诊疗与基础研究。

作者贡献分布: 张慧卿与谢梅对此文为主要贡献; 何波、芦珊、万以叶及宋荣峰辅助此文完成; 此课题由张慧卿与何波设计; 研究过程由张慧卿与谢梅合作完成; 数据分析由芦珊与万以叶操作完成; 本论文写作由张慧卿与谢梅完成。

通讯作者: 张慧卿, 主治医师, 330029, 江西省南昌市北京东路519号, 江西省肿瘤医院内科。hgzhang888@sina.com

收稿日期: 2013-07-03 修回日期: 2013-07-31

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-09-28

Clinicopathological features and prognostic factors of gastric cancer patients with malignant ascites: Analysis of 223 cases

Hui-Qing Zhang, Mei Xie, Bo He, Shan Lu, Yi-Ye Wan, Rong-Feng Song

Hui-Qing Zhang, Mei Xie, Bo He, Shan Lu, Yi-Ye Wan, Rong-Feng Song, Jiangxi Provincial Tumor Hospital, Nanchang 330029, Jiangxi Province, China

Correspondence to: Hui-Qing Zhang, Attending Physician, Department of Medical Oncology (Division III), Jiangxi Provincial Tumor Hospital, 519 Beijing East Road, Nanchang 330029, Jiangxi Province, China. hgzhang888@sina.com.

Received: 2013-07-03 Revised: 2013-07-31

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-09-28

Abstract

AIM: To analyze the clinicopathological features and prognostic factors of gastric cancer patients with malignant ascites.

METHODS: Clinicopathological data for 223 gastric cancer patients with malignant ascites treated at the Jiangxi Provincial Tumor Hospital between January 2008 and December 2012 were retrospectively analyzed. Survival analysis was conducted using Kaplan-Meier method. Factors influencing survival were analyzed using univariate (Log-rank) and multivariate (Cox) models.

RESULTS: A total of 223 patients (95 females and 128 males, median age, 52 years) were included, accounting for 6.2% of all gastric cancer cases treated at our hospital during the same

period. Among them, 50 (22.4%) were young, 38 (17.0%) were senile, 122 (54.7%) underwent curative gastric resection or cytoreductive surgery, 97 (43.5%) presented with malignant ascites at the initial diagnosis of gastric cancer, and 148 (66.4%) received systematic and/or intraperitoneal chemotherapy. Proximal gastric cancer was diagnosed in 22 cases (9.9%) and whole stomach cancer in 12 cases (5.4%). Approximately 79.4% (177/223) of cases were diagnosed with poorly differentiated adenocarcinoma or undifferentiated adenocarcinoma. After a median follow-up period of 9.7 months, it was found that the median survival following diagnosis of malignant ascites was 4.9 months, and the overall one-year survival rate was 12.6%. Univariate analysis revealed that ECOG score, presence of malignant ascites at the initial diagnosis of gastric cancer, history of gastric cancer surgery, total bilirubin level, presence of metastasis in other site(s), and chemotherapy were significant factors affecting the survival (all $P < 0.05$). Multivariate analysis showed that ECOG score ($P = 0.01$), presence of malignant ascites at the initial diagnosis of gastric cancer ($P = 0.001$), presence of metastasis in other site(s) ($P = 0.002$) and chemotherapy ($P < 0.001$) were independent prognostic factors.

CONCLUSION: The survival of gastric cancer patients with malignant ascites is relatively short. Worse ECOG score, presence of malignant ascites at the initial diagnosis and presence of metastasis in other site(s) are associated with poor prognosis in gastric cancer patients with malignant ascites, and the survival time could be prolonged by systematic and intraperitoneal chemotherapy.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Malignant ascites; survival; Prognosis; Chemotherapy

Zhang HQ, Xie M, He B, Lu S, Wan YY, Song RF. Clinicopathological features and prognostic factors of gastric cancer patients with malignant ascites: Analysis of 223 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi*

■同行评议者
张凤春, 教授, 上海交通大学医学院附属仁济医院

2013; 21(27): 2826-2831 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2826.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2826>

摘要

目的: 探讨胃腺癌恶性腹水的临床病理特征和预后因素。

方法: 回顾性研究2008-01/2012-12收治的223例胃腺癌恶性腹水患者临床的资料, 采用Kaplan-Meier法进行生存分析, 预后因素的单因素分析采用Log-rank检验, 多因素分析采用Cox回归模型。

结果: 223例患者, 占我院同期收治胃癌病例的6.2%(223/3612), 中位年龄52岁(20-81岁), 青年胃癌50例(22.4%), 老年胃癌38例(17.0%)。近端胃癌22例(9.9%), 全胃癌12例(5.4%)。177例(79.4%)患者病理分化程度为低分化腺癌或未分化腺癌。97例(43.5%)患者在诊断胃癌时即有腹水, 122例(54.7%)患者有胃癌手术史, 148例(66.4%)患者接受了化疗。无一例其他疾病导致的死亡, 中位总生存期4.9 mo, 1年生存率12.6%(28/223)。单因素分析显示: ECOG评分、以腹水起病, 胃癌手术史、胆红素水平、合并其他部位转移以及是否接受化疗是影响患者预后的因素(均 $P<0.05$)。多因素分析显示, ECOG评分, 以腹水起病, 接受化疗, 合并其他部位转移是影响患者预后的独立因素(均 $P<0.05$)。

结论: 以腹水起病、行为评分差和合并其他部位转移的胃癌恶性腹水患者预后较差, 进行腹腔化疗和全身化疗能延长患者的生存时间。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃癌; 恶性腹水; 总生存期; 预后; 化学治疗

核心提示: 本组胃癌恶性腹水患者的中位生存时间为4.9 mo, 体力状况评分、以腹水起病和合并其他部位转移是独立的预后因素, 进行全身化疗和腹腔化疗能延长患者的生命。

张慧卿, 谢梅, 何波, 芦珊, 万以叶, 宋荣峰. 胃癌恶性腹水患者的临床特征及预后分析223例. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2826-2831 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2826.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2826>

0 引言

恶性腹水, 指肿瘤细胞播散种植至腹膜, 导致腹

膜腔内过多液体聚积^[1], 约占所有腹水病例的10%^[2]。诊断恶性腹水的金标准是腹水中找见脱落肿瘤细胞, 他常被视为肿瘤的终末期, 中位生存时间5.7 mo, 生活质量明显下降^[3-5]。据报道, 18.3%的恶性腹水与胃癌有关, 预后比卵巢癌和乳腺癌更差^[4]。因此, 有必要了解胃癌恶性腹水特征与预后的关系, 从而针对不同个体选择恰当的治疗方案, 实现“个体化”治疗, 达到尽量延长生存和避免过度治疗的目的。我们回顾性研究了本院2008-01/2012-12确诊为胃腺癌恶性腹水患者的临床资料, 探讨了胃癌恶性腹水临床特征与预后的关系, 现将结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2008-01/2012-12确诊为胃腺癌恶性腹水的患者223例, 临床资料入组标准: (1)外科手术或电子胃镜活检获取病理组织, 确诊为胃腺癌; (2)恶性腹水定义: 排除肝硬化、结核性腹膜炎等良性疾病的基础上, 腹水中找见脱落的肿瘤细胞^[3]。其中男性128例(57.4%), 女性95例(42.6%), 男女之比1.3:1。发病年龄20-81岁, 中位年龄52岁, 青年胃癌50例(22.4%), 老年胃癌38例(17.0%)。

1.2 方法

1.2.1 患者进入我院恶性腹水的临床诊疗路径: 腹腔穿刺引流、呋塞米和螺内酯利尿以及基于顺铂的腹腔灌注化疗和全身化疗, 共148例。拒绝化疗的患者给予引流腹水和利尿等最佳支持治疗, 共75例。

1.2.2 研究方法: 收集患者基本特征(性别、年龄、ECOG评分、是否以腹水起病、胃癌手术史), 实验室检查(胆红素、白蛋白、原发灶位置、病理类型、HER-2状态、其他部位转移), 治疗方法(化疗与否、化疗周期)等临床病理资料。

1.2.3 随访: 通过门诊复查、电话或信件等进行随访, 获得总生存期。生存期计算方法: 腹水中找见脱落肿瘤细胞至死亡时间或末次随访时间(2013-05-02)。

统计学处理 采用SPSS13.0软件进行统计分析, Kaplan-Meier法计算生存率, 并绘制生存曲线; Log-rank检验进行预后影响因素的单因素分析, Cox回归模型分析多因素对生存时间的影响, $P<0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胃癌恶性腹水患者的临床病理特征 入

■ 研发前沿

胃癌恶性腹水患者中位生存期短, 生活质量差, 如何实现“个体化”治疗是临床亟待解决的问题。

■相关报道

2007年,英国Ayantunde等研究发现恶性腹水患者的中位生存时间为5.7 mo,其中肿瘤来源与类型、肝转移和血清白蛋白是独立的预后因子。

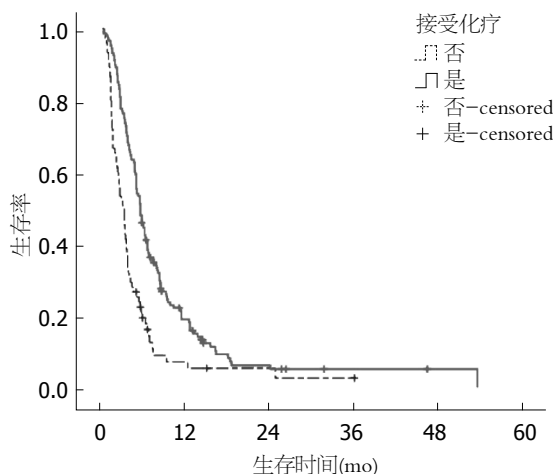


图1 接受与未接受化疗胃癌恶性腹水患者生存曲线。

组223例患者,占我院同期胃癌病例的6.2%(223/3612)。97例(43.5%)患者在诊断胃癌时即有腹水。141例(63.2%)患者表现出腹水相关的临床症状,分别为腹胀(49.3%)、腹痛(44.4%)、恶心(26.9%)和乏力(21.5%)。近端胃癌22例(9.9%),全胃癌12例(5.4%)。177例(79.4%)患者的病理类型为低分化腺癌或未分化腺癌。153例患者接受了表皮生长因子受体2(epidermal growth factor receptor 2, HER-2)检测,其中32例(20.9%)阳性。诊断恶性腹水时中位白蛋白为37.0 g/L(14.0-66.0 g/L),中位总胆红素11.0 $\mu\text{mol/L}$ (3.5-266.0 $\mu\text{mol/L}$),中位CEA为2.4 ng/mL(0.01-29250.0 ng/mL),中位CA125为70.2 U/mL(0.3-12304.0 U/mL)。最常见的并发转移部位为淋巴结(45.3%)、卵巢(24.7%)和肝脏(19.7%)。35例(15.7%)患者合并肠梗阻。148例患者(66.4%)接受了化疗,中位全身化疗2周期(1-11周期),中位腹腔灌注化疗3次(1-9次)。

2.2 生存情况 无1例其他疾病导致患者死亡。223例患者中位总生存期4.9 mo(0.3-53.4 mo),平均生存时间7.9 mo \pm 0.8 mo,1年生存率12.6%(28/223)。截止随访结束有21例患者存活。

2.3 预后影响因素分析 Kaplan-Meier法单因素分析显示, ECOG评分、以腹水起病、胃癌手术史、胆红素、其他部位转移的数目以及接受化疗是影响患者预后的因素($P < 0.05$)(表1,图1)。对接受化疗的患者进行亚组分析显示,全身化疗组、腹腔化疗组和联合化疗组的中位总生存时间分别为5.2、3.5和7.5 mo($P < 0.01$)。通过Cox回归模型分析得出: ECOG评分、以腹水起病、接受化疗和其他部位转移的数目是影响患者预后

的独立因素,贡献最大的是接受化疗和以腹水起病(表2)。

3 讨论

恶性腹水患者生活质量和预后较差,是临床姑息治疗的难题。恶性腹水的治疗一直缺乏高级别研究的证据,学术界尚未达成治疗共识^[6,7]。深入研究恶性腹水的病理生理机制,充分利用现有的治疗手段,有望改善患者的生存^[8]。

胃癌作为世界范围内的第二癌症杀手,是导致恶性腹水的常见病因^[4,9]。目前,有关恶性腹水预后因素的研究较少,大多囊括了所有肿瘤,而且距今已有数年时间^[4,10]。肖隆斌等^[11]比较了经手术治疗的合并与未合并腹水的胃癌患者临床特征,分析出盆腔结节、腹膜侵犯及脏器侵犯是胃癌发生腹水的最危险因素,但对胃癌恶性腹水患者的预后影响因素进行分析。

与既往报道有所不同^[4],本研究恶性腹水的定义为腹水中找见脱落肿瘤细胞。我们入组了胃癌恶性腹水患者223例,占同期胃癌病例的6.2%。患者中位生存期4.9 mo,比2007年英国报道的3 mo更长,分析可能得益于胃癌化疗药物的进步,以及对患者进行了腹腔穿刺引流、利尿、腹腔灌注化疗和全身化疗的综合治疗^[4]。43.5%的患者在诊断胃癌时即有腹水,略低于其他研究的49.0%-54.0%,分析与本研究未入组卵巢癌患者有关^[4,10]。Log-rank单因素分析显示,以腹水起病的患者中位生存时间仅3.9 mo,是预后不良的独立因素($P = 0.001$)。既往无胃癌手术史的患者,生存时间明显更短(3.9 mo vs 5.1 mo),这与Lee等^[12]关于胃癌一线化疗预测因素的报道一致。

63.2%的患者出现腹水相关的临床症状,影响生活质量。我们的研究结果支持体力状况评分好的患者生存期更长($P = 0.003$)。白蛋白下降是患者营养不良的表现,也是恶性腹水患者预后不良的因素^[10]。本研究中白蛋白 < 35 g/L的患者中位生存期较白蛋白正常组短1 mo,但差异无统计学意义($P = 0.178$)。胆红素也是中位生存期的影响因素($P = 0.027$),分析与胆红素升高的患者大多发生肝脏转移有关。临床分期是影响患者生存的重要因素。本研究显示,伴有其他脏器转移的患者预后明显更差($P = 0.004$),而且转移部位越多,生存期越短,存在2个以上脏器转移的患者中位生存期仅为2.4 mo。

■创新盘点

本文首次提出了胃癌恶性腹水患者生存的独立预测因子。

表 1 223例胃癌恶性腹水的临床病理特征和生存分析

临床特征	<i>n</i>	mOS(mo)	95%CI	χ^2 值	<i>P</i> 值
性别				0.369	0.544
男	128	4.9	4.09–5.71		
女	95	4.5	3.33–5.67		
年龄(岁)				1.905	0.386
<40	50	4.3	2.91–5.69		
40–65	135	4.1	4.23–5.97		
>65	38	3.0	1.49–4.51		
胃癌手术史				4.035	0.045
有	122	5.1	4.24–5.96		
无	101	3.9	2.83–4.97		
以腹水起病				4.420	0.036
是	97	3.9	2.85–4.95		
否	126	5.1	4.09–6.11		
病灶位置				2.108	0.550
胃底贲门	22	6.4	4.45–8.35		
胃体	128	4.5	3.67–5.33		
胃窦	61	4.7	3.46–5.94		
全胃	12	3.7	2.35–5.06		
分化程度				1.559	0.212
高–中分化	46	4.5	1.56–7.44		
低–未分化	177	4.9	4.22–5.58		
ECOG评分				8.683	0.003
0–2	197	5.1	4.37–5.83		
>2	36	3.4	2.22–4.58		
其他器官转移				10.866	0.004
0	70	5.5	4.70–6.30		
1–2	140	4.2	3.45–4.95		
>2	13	2.4	1.23–3.57		
接受化疗				21.806	0.000
是	148	5.7	4.96–6.44		
否	75	3.4	2.72–4.08		
白蛋白(35 g/L)				1.818	0.178
降低	77	4.1	2.95–5.25		
正常	146	5.1	4.30–6.07		
胆红素(20 μ mol/L)				4.898	0.027
正常	183	5.1	4.27–5.93		
升高	40	3.8	2.96–5.50		
CEA(5 μ g/mL)				0.336	0.562
正常	137	5.1	4.19–6.01		
升高	86	4.3	3.31–5.29		
CA125(35 U/mL)				0.685	0.408
正常	72	5.1	3.54–6.66		
升高	151	4.8	4.02–5.58		

ECOG: 美国东部肿瘤协作组; mOS: 中位总生存时间。

一般认为, 青年胃癌是指发病年龄<40岁的胃癌, 占有胃癌的12.7%–14.8%^[13,14]。本研究青年胃癌50例, 占22.4%, 高于文献报道的14.8%, 分析与青年胃癌更易发生腹膜转移有关^[15]。据

报道, 与中年患者相比, 青年患者胃癌根治术后的预后更好, 5年生存率更高(80.0% vs 76.0%, $P<0.018$)^[14]。我们的研究提示年龄并非影响胃癌恶性腹水患者预后的因素($P=0.386$), 这与San-

■应用要点

建议对行为评分 ≤ 2 分, 其他脏器转移数目 ≤ 2 个和以腹水起病的患者给予更为积极的综合治疗。

表 2 影响胃癌恶性腹水预后的Cox模型多因素分析

因素	β	Wald值	RR	95%CI	P值
接受化疗	-0.903	31.440	0.406	0.296-0.556	<0.001
以腹水起病	0.516	11.766	1.676	1.248-2.251	0.001
ECOG评分差	0.490	6.598	1.632	1.123-2.371	0.010
并发转移器官	0.426	9.908	1.531	1.174-1.995	0.002

toro等^[16]的报道相符。

据报道, 组织分化程度是影响胃癌预后的因素, 分化级别越低, 生存时间越短。本组中79.4%的胃癌恶性腹水患者为低分化腺癌或未分化腺癌, 显著高于Chiaravalli等^[17]关于胃癌病例报道的22%; 生存分析显示, 与高分化和中分化者相比较, 低分化和未分化患者的中位生存时间无统计学差异, 提示发生腹膜转移的胃癌细胞可能具有更为特殊的生物学特征。研究表明, 血清CA125水平的高低与肿瘤细胞腹膜播散的严重程度以及恶性腹水的存在密切相关^[18]。尽管CA125和CEA异常升高不是本组胃癌恶性腹水患者生存的影响因素, 但CA125的阳性表达率达到66.7%, 明显高于CEA的表达(38.6%), 提示在诊断恶性腹水的敏感性方面, 血清CA125比CEA更具应用价值。

本组66.4%的病例接受了全身化疗和腹腔内化疗, 与未接受化疗者相比, 中位生存期明显延长(5.7 mo vs 3.4 mo), 差异有统计学意义($P<0.001$)。亚组分析显示: 全身化疗组、腹腔化疗组和联合化疗组的中位总生存时间分别为5.2、3.5和7.5 mo($P<0.01$), 提示全身化疗和腹腔化疗的联合治疗更有助于改善胃癌恶性腹水患者的生存。

通过Cox模型多因素分析得出: 接受化疗、以腹水起病, ECOG评分和其他器官转移数目是胃癌恶性腹水患者的独立预后因素, 贡献最大的是接受化疗。因此, 建议对行为评分 ≤ 2 分、其他脏器转移数目 ≤ 2 个和以腹水起病的患者给予更为积极的综合治疗, 特别是以紫杉类药物为基础的化疗, 以获得更好的治疗效果^[8]。

总之, 胃癌恶性腹水患者的预后较差, 在引流腹水与利尿的基础上, 联合腹腔灌注化疗和全身化疗能延长患者的生存时间。43.5%的胃癌患者以恶性腹水起病, 生活质量下降, 有必要依据上述独立预测因子给患者选择恰当的治疗方案, 以实现基于临床特征的个体化治疗。

4 参考文献

- Barni S, Cabiddu M, Ghilardi M, Petrelli F. A novel perspective for an orphan problem: old and new drugs for the medical management of malignant ascites. *Crit Rev Oncol Hematol* 2011; 79: 144-153 [PMID: 20708947 DOI: 10.1016/j.critrevonc.2010.07.016]
- Runyon BA. Care of patients with ascites. *N Engl J Med* 1994; 330: 337-342 [PMID: 8277955 DOI: 10.1056/NEJM199402033300508]
- Aslam N, Marino CR. Malignant ascites: new concepts in pathophysiology, diagnosis, and management. *Arch Intern Med* 2001; 161: 2733-2737 [PMID: 11732940 DOI: 10.1001/archinte.161.22.2733]
- Ayantunde AA, Parsons SL. Pattern and prognostic factors in patients with malignant ascites: a retrospective study. *Ann Oncol* 2007; 18: 945-949 [PMID: 17298959 DOI: 10.1093/annonc/mdl499]
- Wimberger P, Gilet H, Gonschior AK, Heiss MM, Moehler M, Oskay-Oezcelik G, Al-Batran SE, Schmalfeldt B, Schmittl A, Schulze E, Parsons SL. Deterioration in quality of life (QoL) in patients with malignant ascites: results from a phase II/III study comparing paracentesis plus catumaxomab with paracentesis alone. *Ann Oncol* 2012; 23: 1979-1985 [PMID: 22734013 DOI: 10.1093/annonc/mds178]
- Becker G, Galandi D, Blum HE. Malignant ascites: systematic review and guideline for treatment. *Eur J Cancer* 2006; 42: 589-597 [PMID: 16434188 DOI: 10.1016/j.ejca.2005.11.018]
- Cavazzoni E, Bugiantella W, Graziosi L, Franceschini MS, Donini A. Malignant ascites: pathophysiology and treatment. *Int J Clin Oncol* 2013; 18: 1-9 [PMID: 22460778 DOI: 10.1007/s10147-012-0396-6]
- Imamoto H, Oba K, Sakamoto J, Iishi H, Narahara H, Yumiba T, Morimoto T, Nakamura M, Oriuchi N, Kakutani C, Morita S, Shiozaki H. Assessing clinical benefit response in the treatment of gastric malignant ascites with non-measurable lesions: a multi-center phase II trial of paclitaxel for malignant ascites secondary to advanced/recurrent gastric cancer. *Gastric Cancer* 2011; 14: 81-90 [PMID: 21327925 DOI: 10.1007/s10120-011-0016-6]
- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- Parsons SL, Lang MW, Steele RJ. Malignant ascites: a 2-year review from a teaching hospital. *Eur J Surg Oncol* 1996; 22: 237-239 [PMID: 8654603 DOI: 10.1016/S0748-7983(96)80009-6]
- 肖隆斌, 杨世斌, 许峰峰, 吴文辉, 黎文峰, 李明哲. 胃癌合并腹水182例临床病理特征及预后分析. 中华普

- 通外科学文献(电子版) 2012; 6: 238-242
- 12 Lee J, Lim T, Uhm JE, Park KW, Park SH, Lee SC, Park JO, Park YS, Lim HY, Sohn TS, Noh JH, Heo JS, Park CK, Kim S, Kang WK. Prognostic model to predict survival following first-line chemotherapy in patients with metastatic gastric adenocarcinoma. *Ann Oncol* 2007; 18: 886-891 [PMID: 17298958 DOI: 10.1093/annonc/mdl501]
- 13 Ramos-De la Medina A, Salgado-Nesme N, Torres-Villalobos G, Medina-Franco H. Clinicopathologic characteristics of gastric cancer in a young patient population. *J Gastrointest Surg* 2004; 8: 240-244 [PMID: 15019915 DOI: 10.1016/j.gassur.2003.12.009]
- 14 Lai JF, Kim S, Li C, Oh SJ, Hyung WJ, Choi WH, Choi SH, Wang LB, Noh SH. Clinicopathologic characteristics and prognosis for young gastric adenocarcinoma patients after curative resection. *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 1464-1469 [PMID: 18340495 DOI: 10.1245/s10434-008-9809-1]
- 15 Kunisaki C, Akiyama H, Nomura M, Matsuda G, Otsuka Y, Ono HA, Takagawa R, Nagahori Y, Takahashi M, Kito F, Shimada H. Clinicopathological features of gastric carcinoma in younger and middle-aged patients: a comparative study. *J Gastrointest Surg* 2006; 10: 1023-1032 [PMID: 16843873 DOI: 10.1016/j.gassur.2006.03.001]
- 16 Santoro R, Carboni F, Lepiane P, Ettorre GM, Santoro E. Clinicopathological features and prognosis of gastric cancer in young European adults. *Br J Surg* 2007; 94: 737-742 [PMID: 17330827 DOI: 10.1002/bjs.5600]
- 17 Chiaravalli AM, Klersy C, Vanoli A, Ferretti A, Capella C, Solcia E. Histotype-based prognostic classification of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 896-904 [PMID: 22408348 DOI: 10.3748/wjg.v18.i9.896]
- 18 Emoto S, Ishigami H, Yamashita H, Yamaguchi H, Kaisaki S, Kitayama J. Clinical significance of CA125 and CA72-4 in gastric cancer with peritoneal dissemination. *Gastric Cancer* 2012; 15: 154-161 [PMID: 21892754 DOI: 10.1007/s10120-011-0091-8]

■同行评价

本文分析了胃癌合并恶性腹水患者的临床病理特征及预后相关性,具有一定的创新,结论具有一定的临床意义,对于临床治疗胃癌恶性腹水具有一定指导意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng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%。

RhoGDI2在胃癌中的原位表达及与临床病理特征的相关性

石干, 田德安, 何星星, 廖家智

■背景资料

RhoGTP酶解离抑制蛋白2(RhoGTPase dissociation inhibitor 2, RhoGDI2)是近年来发现的一种肿瘤转移抑制基因。在不同类型的肿瘤以及同类肿瘤的不同研究层面, RhoGDI2表达水平的变化趋势不尽相同, 也发挥着不同的功能: 促进或抑制肿瘤的侵袭和转移。目前国内文献甚少有其在胃癌组织中的表达及其与临床病理特征相关性的研究报道。

石干, 田德安, 何星星, 廖家智, 华中科技大学同济医学院附属同济医院肝病研究所 湖北省武汉市 430030

石干, 武汉市中心医院消化内科 湖北省武汉市 430014

石干, 硕士, 主治医师, 主要从事消化系统肿瘤的研究。

国家青年自然科学基金资助项目, No. 81101824

作者贡献分布: 本课题由石干与廖家智共同设计; 研究过程由石干与何星星完成; 统计数据由石干提供; 本论文写作由石干与田德安完成。

通讯作者: 廖家智, 副教授, 副主任医师, 430030, 湖北省武汉市硚口区解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院肝病研究所。shigan_shigan@sina.cn

收稿日期: 2013-05-02 修回日期: 2013-07-21

接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-09-28

Clinicopathological significance of expression of RhoGDI2 in gastric carcinoma

Gan Shi, De-An Tian, Xing-Xing He, Jia-Zhi Liao

Gan Shi, De-An Tian, Xing-Xing He, Jia-Zhi Liao, Institute of Liver Diseases, Tongji Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Gan Shi, Department of Gastroenterology, the Central Hospital of Wuhan, Wuhan 430014, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81101824

Correspondence to: Jia-Zhi Liao, Associate Professor, Associate Chief Physician, Institute of Liver Diseases, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Dadao, Qiaokou District, Wuhan 430030, Hubei Province, China. shigan_shigan@sina.cn

Received: 2013-05-02 Revised: 2013-07-21

Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-09-28

Abstract

AIM: To detect the expression of RhoGTPase dissociation inhibitor 2 (RhoGDI2) in gastric cancer, and to assess its correlation with clinicopathological characteristic of gastric cancer.

METHODS: Immunohistochemistry was used to detect the expression of RhoGDI2 in 103 gastric cancer specimens.

RESULTS: RhoGDI2 was expressed mainly in the cytoplasm or the nucleus. The positive rate of RhoGDI2 protein expression was significantly higher in gastric cancer than in normal gastric tissue (72.82% vs 0.00%, $\chi^2 = 38.70$, $P < 0.05$). The

expression of RhoGDI2 protein was significantly correlated with tumor differentiation, invasion, lymph node metastasis, distant metastasis and stage ($\chi^2 = 6.37, 21.64, 54.50, 19.81, 24.90$, all $P < 0.05$), but not with gender, age, tumor location or size.

CONCLUSION: The expression of RhoGDI2 is closely related to the invasion and metastasis of gastric cancer.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; RhoGDI2; Immunohistochemistry; Clinicopathological characteristics

Shi G, Tian DA, He XX, Liao JZ. Clinicopathological significance of expression of RhoGDI2 in gastric carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2832-2837 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2832.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2832>

摘要

目的: 检测RhoGTP酶解离抑制蛋白2(RhoGTPase dissociation inhibitor 2, RHO GDI2)在胃癌患者中的表达状况, 并评价其与胃癌临床病理特征的相关性, 评估RhoGDI2在胃癌侵袭转移中的临床意义。

方法: 采用免疫组织化学技术检测103例胃癌标本中RhoGDI2的表达。

结果: RhoGDI2阳性表达细胞为肿瘤细胞, 主要位于胞浆或胞核。RhoGDI2在胃癌组织表达率为72.82%(75/103), 在非癌胃组织(病理结果显示“黏膜呈轻度慢性炎症改变”或“正常胃黏膜表现”)中无表达(0/21), 差异有统计学意义($\chi^2 = 38.70$, $P < 0.05$); 低分化型胃癌组显著高于高-中分化型胃癌组($\chi^2 = 6.37$, $P < 0.05$); 随浸润深度(分别浸润至黏膜层、黏膜下层、肌层、浆膜层)增加, RhoGDI2的表达率增加($\chi^2 = 21.64$, $P < 0.05$); 淋巴结转移组显著高于无转移组($\chi^2 = 54.50$, $P < 0.05$); 远处转移组显著高于无转移组($\chi^2 = 19.81$, $P < 0.05$); 临床分期Ⅲ+Ⅳ期组明显高于Ⅰ+Ⅱ期组($\chi^2 = 24.90$,

■同行评议者

杜雅菊, 教授, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科

$P<0.05$). RhoGDI2表达与性别、年龄(<60 岁或 ≥ 60 岁)、肿瘤部位(贲门胃底、胃体、胃角、胃窦)、原发灶大小(直径 <5 cm或 ≥ 5 cm)无相关性($P>0.05$).

结论: 在胃癌组织RhoGDI2的表达与胃癌侵袭转移病理特征密切相关. RhoGDI2可能参与调节胃癌的侵袭转移的过程.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胃癌; RhoGDI2; 免疫组织化学; 临床病理特征

核心提示: RhoGTP酶解离抑制蛋白2(RhoGTPase dissociation inhibitor 2, RhoGDI2)蛋白在大多数胃癌组织中的表达水平均较在胃正常黏膜组织中升高, 且与临床病理特征(胃癌分化程度、浸润深度、淋巴结转移、远处转移和TNM分期)密切相关. 提示RhoGDI2可能有促进胃癌侵袭和转移的作用.

石干, 田德安, 何星呈, 廖家智. RhoGDI2在胃癌中的原位表达及与临床病理特征的相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2832-2837 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2832.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2832>

0 引言

胃癌是消化系最多见的恶性肿瘤, 肿瘤转移则是致使胃癌患者死亡的主要原因, 研究导致胃癌发生侵袭和转移的相关基因具有重要意义. RhoGTP酶解离抑制蛋白2(RhoGTPase dissociation inhibitor 2, RhoGDI2)属于RhoGDI家族成员, 能使Rho家族GTP酶的活性下调, 是近年来发现的一种肿瘤转移抑制基因. 众多研究表明, 在不同类型的肿瘤以及同类肿瘤的不同研究层面, RhoGDI2表达水平的变化趋势不尽相同, 也发挥着不同的功能: 促进或抑制肿瘤的侵袭和转移^[1]. 目前国内外文献甚少有关RhoGDI2蛋白在胃癌组织中的表达及其与临床病理特征相关性的研究报道. 本研究用免疫组织化学方法检测103例胃癌组织中的RhoGDI2蛋白表达情况, 并分析其与临床病理特征的关系, 为胃癌的诊断及预后评估提供参考依据.

1 材料和方法

1.1 材料 共有103例胃癌病例入组, 均来源于2011-06/2012-06武汉同济医院的住院患者, 经消化内镜中心胃镜活检获取. 统计其性别、年

龄、肿瘤位置、原发灶直径和组织学分级等资料, 记录其住院病历诊疗资料、后续胃癌手术中所见、临床分期(肿瘤浸润深度、有无淋巴结转移及远处转移)并进行统计分析. 胃镜检查活检前所有患者均未行放化疗. 本研究经同济医学院伦理委员会批准, 履行告知义务并获病人知情同意. 具体入组病例临床资料分类如表1. 胃癌TNM分期采用AJCC标准(2010). 一抗兔抗人多克隆抗体RhoGDI2(#ab15198)、ElivisionTM plus试剂盒(#40405a)、DAB显色试剂盒(#AR1022)均购自武汉谷歌生物技术开发有限公司.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色检测(ElivisionTM plus): 切片脱蜡, 乙醇脱水, 水洗; 3% H_2O_2 去离子水避光孵育15 min, PBS洗涤3次 \times 5 min; 热修复抗原; 擦干边缘水分, 滴加0.3% Triton-100, 37 °C温盒孵育后PBS洗3次 \times 5 min; 滴加BSA封闭液, 室温下孵育20 min, 滴加一抗(1:200), 4 °C过夜; PBS洗3次 \times 5 min; 滴加聚合物增强剂(试剂A), 室温孵育20 min, PBS洗3次 \times 5 min; 滴加酶标羊抗鼠聚合物(试剂B), 室温孵育, PBS洗3次 \times 5 min; 新鲜配制DAB显色, 蒸馏水洗涤; 苏木素复染, 0.1%盐酸分化, PBS返蓝, 自来水冲洗; 梯度乙醇脱水干燥, 二甲苯透明, 中性树胶封片. 以已知的阳性切片作阳性对照, 以PBS代替一抗作阴性对照. RhoGDI2阳性细胞为棕色或黄色, 阳性颗粒均定位于细胞胞浆或细胞核.

1.2.2 免疫组织化学染色结果评定: 所有切片采用盲法由两位病理科医生独立阅片, 每个样本均选择2张切片, 采用十字分区取5个不同视野($\times 200$ 倍), 至少计数1000个细胞. 参照Remmele和Stegner提出的免疫反应积分(IRS)评分法^[2], 观察染色强度, 计数免疫组织化学标记定位准确的阳性细胞占视野内细胞数的比例并计分, 将二者计分乘积作为最后结果.

统计学处理 应用SPSS18.0软件进行 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

RhoGDI2阳性表达细胞为肿瘤细胞, 主要位于胞浆或胞核. RhoGDI2在胃癌组织表达率为72.82%(75/103), 在非癌胃组织(病理结果示“黏膜呈轻度慢性炎症改变”或“正常胃黏膜表现”)中无表达(0/21), 差异有统计学意义($\chi^2 = 38.70$, $P<0.05$); 低分化型胃癌组显著高于高-

■ 研发前沿
借助基因芯片分析转染RhoGDI2前后胃癌细胞的差异表达基因, 从而可发现RhoGDI2在调节胃癌细胞侵袭转移过程中所牵涉的上下游基因, 并研究探讨其调控作用分子机制.

■相关报道

2009年Hee等发现, RhoGDI2在进展期胃癌组织中高表达, 在正常胃黏膜组织中低表达或不表达。他们揭示RhoGDI2能够正向调节胃癌的生长, 通过蛋白检测分析, 其胃癌组织中的蛋白表达水平比正常胃黏膜组织中更高。其研究的局限性在于样本量较小。

表 1 RhoGDI2表达与胃癌病人临床病理特征的关系

临床病例特征	n	RhoGDI2表达		阳性率(%)	χ^2 值	P值
		-	+			
性别						
男	67	16	51	76.11	1.06	>0.05
女	36	12	24	66.66		
年龄(岁)						
< 60	52	12	40	76.92	0.9	>0.05
≥60	51	16	35	68.62		
肿瘤位置						
贲门胃底	20	5	15	75	1.18	>0.05
胃体	19	7	12	63.16		
胃角	34	9	25	73.53		
胃窦	30	7	23	76.67		
原发灶直径(cm)						
< 5	47	15	32	68.1	0.98	>0.05
≥5	56	13	43	76.79		
组织学分级						
高-中分化	23	11	12	52.17	6.37	<0.05
低分化	80	17	63	78.75		
原发灶分期						
T1-2	23	15	8	34.78	21.64	<0.05
T3-4	80	13	67	83.75		
淋巴结转移						
N0	27	22	5	18.52	54.50	<0.05
N1+N2+N3	76	6	70	92.11		
远处转移						
M0	32	18	14	43.75	19.81	<0.05
M1	71	10	61	85.91		
临床分期						
I+II	47	24	23	48.94	24.90	<0.05
III+IV	56	4	52	92.86		

中分化型胃癌组($\chi^2 = 6.37, P < 0.05$); 随浸润深度(分别浸润至黏膜层、黏膜下层、肌层、浆膜层)增加, RhoGDI2的表达率增加($\chi^2 = 21.64, P < 0.05$); 淋巴结转移组显著高于无转移组($\chi^2 = 54.50, P < 0.05$); 远处转移组显著高于无转移组($\chi^2 = 19.81, P < 0.05$); 临床分期III+IV期组明显高于I+II期组($\chi^2 = 24.90, P < 0.05$)。RhoGDI2表达与性别、年龄(<60岁或≥60岁)、肿瘤部位(贲门胃底、胃体、胃角、胃窦)、原发灶大小(直径<5 cm或≥5 cm)无相关性($P > 0.05$)(表1, 图1)。

3 讨论

胃癌在我国高发, 其死亡人数在我国居恶性肿瘤的首位。肿瘤侵袭转移是胃癌患者致死的主要原因。胃癌侵袭转移过程中涉及许多特殊基因, 包括促进转移的转移基因和控制转移的转

移抑制基因。有关胃癌侵袭转移的分子机制尚未完全阐明, 寻找及研究胃癌侵袭转移相关基因及其产物在胃癌侵袭转移过程中的表达变化与分子机制, 可以加深我们对于胃癌侵袭转移调控机制的理解和认识, 同时也为胃癌侵袭转移的早期诊断和靶向干预提供理论基础。

2009-04由美国弗吉尼亚大学的泌尿学与分子生理学教授Steven Christopher Smith与Dan Theodorescu博士领导研究小组系统对肿瘤转移抑制基因进行综述, 发表在Nat Rev Cancer(影响因子29.538)杂志上^[3], 揭示RhoGDI2是众多肿瘤转移抑制基因之一。并认为弄清楚肿瘤转移抑制蛋白的生物学功能可以为我们开发出更有效的疗法来为肿瘤治疗提供更多、更好的思路。RhoGDI2是肿瘤转移抑制基因其中的一种, 然而与传统意义上的肿瘤转移抑制基因不同, 近两

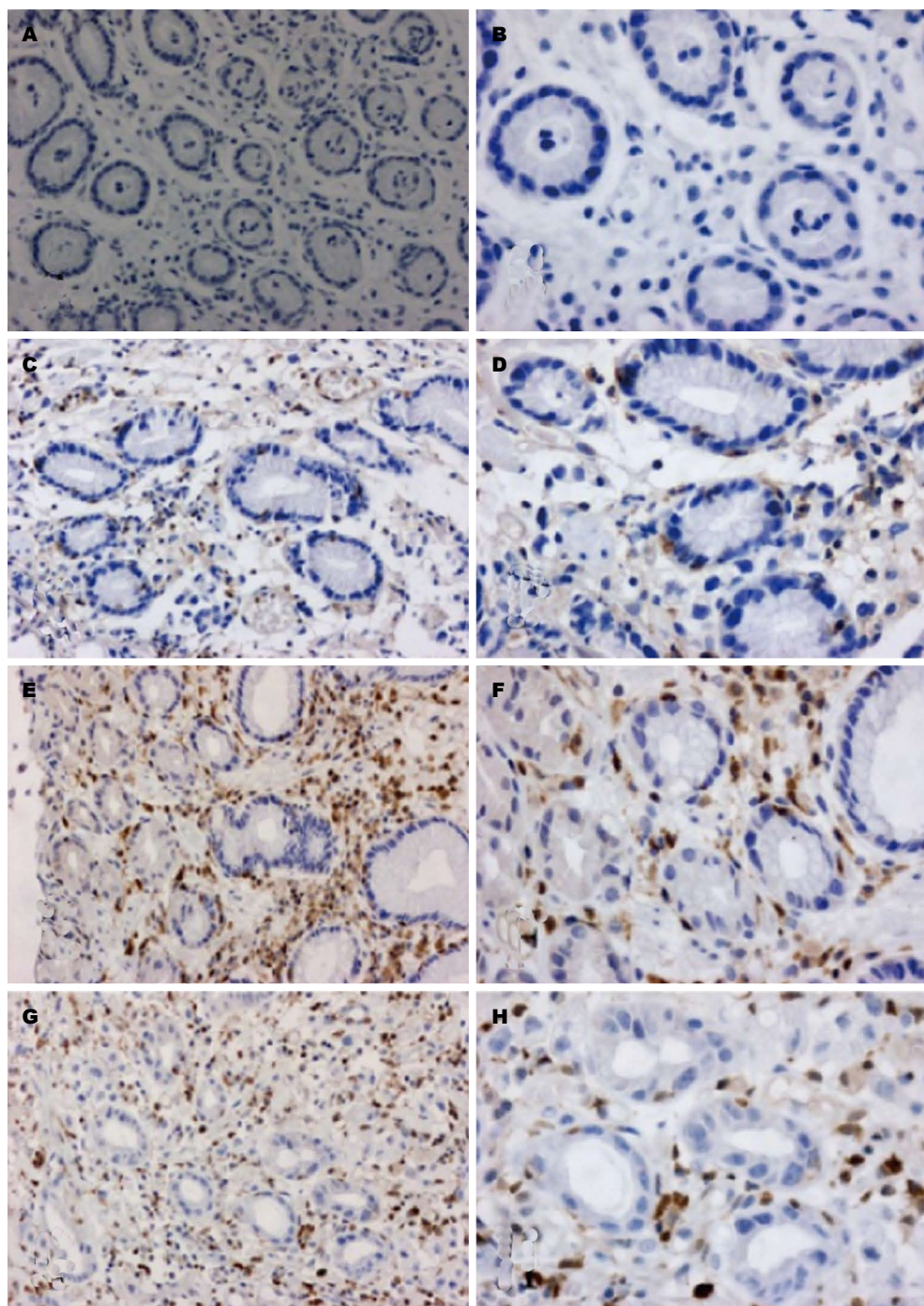


图 1 RhoGTP酶解离抑制蛋白2蛋白在胃(癌)组织的表达. A: 胃组织慢性炎症改变RhoGDI2蛋白表达阴性($\times 200$); B: 胃组织慢性炎症改变RhoGDI2蛋白表达阴性($\times 400$); C: 高分化胃癌组织RhoGDI2蛋白表达阳性($\times 200$); D: 高分化胃癌组织RhoGDI2蛋白表达阳性($\times 400$); E: 中分化胃癌组织RhoGDI2蛋白表达阳性($\times 200$); F: 中分化胃癌组织RhoGDI2蛋白表达阳性($\times 400$); G: 低分化胃癌组织RhoGDI2蛋白表达阳性($\times 200$); H: 低分化胃癌组织RhoGDI2蛋白表达阳性($\times 400$).

年已有研究揭示: 在不同类型的肿瘤以及同类肿瘤的不同研究层面, RhoGDI2表达水平不尽相同, 也发挥着不同的功能: 促进或抑制肿瘤的侵袭和转移^[1]. 曾有报道RhoGDI2在膀胱癌^[4,5]、肺癌^[6]以及霍奇金淋巴瘤中^[7]RhoGDI2表达下调, 也有研究提示RhoGDI2在卵巢癌^[8,9]、白血病^[10]和胃癌^[11,12]等组织中表达上调.

国内外关于RhoGDI2在胃癌中的研究报道甚少. 2009年Cho等^[11]通过对26例小样本量的胃癌组织检测后发现, RhoGDI2在进展期胃癌组织中高表达, 在正常胃黏膜组织中低表达或不表达. 在实验中, 他们揭示RhoGDI2能够正向调节胃癌的生长, 通过蛋白检测分析, 其胃癌组织中的蛋白表达水平比正常胃黏膜组织中更高. 免

■创新盘点

本实验对RhoGDI2在103例胃癌组织中蛋白水平的表达进行检测, 结果表明, RhoGDI2蛋白在大多数胃癌组织中的表达水平平均较在胃正常黏膜组织中升高, 且与胃癌分化程度、浸润深度、淋巴结转移、远处转移和TNM分期密切相关, 与前人研究相比, 样本量更大.

■应用要点

对RhoGDI2蛋白下游靶蛋白的深入研究,有望成为临床上针对恶性肿瘤治疗的新方法,同时对其结构和功能的探索也将为未来治疗肿瘤药物的开发提供新的策略。

疫组织化学结果也显示RhoGDI2的表达水平在胃癌进展期增高,且与淋巴转移明显相关。在胃癌组织中的定位也与其他组织不同:RhoGDI2在其他组织中多在细胞浆中表达,偶尔在细胞核内表达^[5],而其研究表明RhoGDI2除了在细胞浆中表达外,也在细胞核内频繁表达。实验同时表明,RhoGDI2的高表达显著促进了体内胃癌的生长、侵袭及肺部转移。其研究的局限性在于样本量较小。本研究观察到RhoGDI2在胃癌细胞中的细胞核或细胞浆均有表达,样本量达103例。

恶性肿瘤的侵袭、转移是肿瘤细胞和宿主细胞相互作用的连续过程,涉及到多因素、多环节。在胃癌方面,至今鲜有关于RhoGDI2大样本量表达状况检测及与临床病理参数相关性的分析报道。本实验通过免疫组织化学方法,对RhoGDI2在103例胃癌组织中蛋白水平的表达进行检测,结果表明,RhoGDI2蛋白在大多数胃癌组织中的表达水平均较在胃正常黏膜组织中升高,且与胃癌分化程度、浸润深度、淋巴结转移、远处转移和TNM分期密切相关:组织分化程度越低、胃壁浸润越深、有淋巴结转移、远处转移及临床分期越晚的患者,RhoGDI2蛋白表达大多数都明显升高。综合以上实验结果,提示RhoGDI2可能有促进胃癌侵袭和转移的作用。最初RhoGDIs被认为具有对Rho GTP酶的负向调节作用,当被外源性转入细胞内,RhoGDIs导致了Rho依赖性细胞活动的中断^[13]。然而,最近的研究表明其也存在对Rho GTP酶的正向调节作用,RhoGDIs协助Rho GTP酶转运到细胞膜上,此举对于GTP酶与其下游效应蛋白联络至关重要。有可能RhoGDI2作为RhoGTP酶信号肽的正向调节器在胃癌细胞中发挥功能。也有可能RhoGDI2影响了其他的信号通路,Groysman等^[14]发现RhoGDI2与Vav1(Rho GTP酶鸟嘌呤核苷酸交换因子)有关联,RhoGDI2不是抵消,而是增强了Vav1的效应-在T细胞感受器活化T细胞过程中诱导NFAT生成,说明在T细胞感受器信号通路中,RhoGDI2有可能作为信号转换器发挥协同功能。最近,Schunke等^[15]也揭示RhoGDI2在乳腺癌细胞中协同Vav1对NFAT产生活化效应。

寻找肿瘤治疗靶点是目前肿瘤研究的热点。在RhoGDI2抑制肿瘤转移机理的研究上,Theodorescu等^[5]将RhoGDI2转染到高转移性膀胱癌细胞T24T,并比较转染前后T24T细胞内随之发生显著表达量降低的基因来靶定一些与

RhoGDI2的表达状况相对、具有促进肿瘤转移功能并能被药物抑制的分子。选出T24T细胞转染RhoGDI2蛋白后,转录体下调,但在人膀胱癌细胞中转录体上调的基因进行继续研究。按此思路,Titus等在膀胱癌转移细胞中重新表达RhoGDI2基因,然后对比两组数据-被RhoGDI2基因抑制的细胞转录组数据和具转移能力的侵袭性膀胱癌转移细胞转录组数据,结果发现了内皮素^[16]和神经介素U^[17]这两个RhoGDI2基因的下游靶蛋白。内皮素1和神经介素U都在促进肿瘤细胞的肺部转移过程中发挥功效。虽然目前内皮素1和神经介素U受RhoGDI2调控的机制还处于未知阶段(内皮素1的作用可以被内皮素受体抑制剂阿曲生坦所抑制;目前尚无神经介素U的抑制剂),但因其能使肿瘤细胞降低转移能力,故仍具有十分重要的临床应用价值。

总之,胃癌组织RhoGDI2的表达与肿瘤侵袭转移有关。本研究由于病例观察时间受限,我们尚未发现RhoGDI2与胃癌预后的关系,未进一步显示其内在关联,需进行进一步基础及临床随访观察研究。借助基因芯片分析转染RhoGDI2前后胃癌细胞的差异表达基因,从而发现RhoGDI2在调节胃癌细胞侵袭转移过程中所牵涉的上下游基因,并研究探讨其调控作用的分子机制。对RhoGDI2蛋白下游靶蛋白的深入研究,有望成为临床上针对恶性肿瘤治疗的新方法,同时对其结构和功能的探索也将为未来治疗肿瘤药物的开发提供新的策略。

4 参考文献

- 1 Griner EM, Theodorescu D. The faces and friends of RhoGDI2. *Cancer Metastasis Rev* 2012; 31: 519-528 [PMID: 22718398 DOI: 10.1007/s10555-012-9376-6]
- 2 Friedrichs K, Gluba S, Eidtmann H, Jonat W. Overexpression of p53 and prognosis in breast cancer. *Cancer* 1993; 72: 3641-3647 [PMID: 8252480]
- 3 Smith SC, Theodorescu D. Learning therapeutic lessons from metastasis suppressor proteins. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 253-264 [PMID: 19242414 DOI: 10.1038/nrc2594]
- 4 Gildea JJ, Seraj MJ, Oxford G, Harding MA, Hampton GM, Moskaluk CA, Frierson HF, Conaway MR, Theodorescu D. RhoGDI2 is an invasion and metastasis suppressor gene in human cancer. *Cancer Res* 2002; 62: 6418-6423 [PMID: 12438227]
- 5 Theodorescu D, Sapinoso LM, Conaway MR, Oxford G, Hampton GM, Frierson HF. Reduced expression of metastasis suppressor RhoGDI2 is associated with decreased survival for patients with bladder cancer. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 3800-3806 [PMID: 15173088]
- 6 Niu H, Li H, Xu C, He P. Expression profile of RhoGDI2 in lung cancers and role of RhoGDI2 in

- lung cancer metastasis. *Oncol Rep* 2010; 24: 465-471 [PMID: 20596634]
- 7 Ma L, Xu G, Sotnikova A, Szczepanowski M, Giefing M, Krause K, Krams M, Siebert R, Jin J, Klapper W. Loss of expression of LyGDI (ARHGDIB), a rho GDP-dissociation inhibitor, in Hodgkin lymphoma. *Br J Haematol* 2007; 139: 217-223 [PMID: 17897297]
 - 8 Tapper J, Kettunen E, El-Rifai W, Seppälä M, Andersson LC, Knuutila S. Changes in gene expression during progression of ovarian carcinoma. *Cancer Genet Cytogenet* 2001; 128: 1-6 [PMID: 11454421]
 - 9 Stevens EV, Banet N, Onesto C, Plachco A, Alan JK, Nikolaishvili-Feinberg N, Midkiff BR, Kuan PF, Liu J, Miller CR, Vigil D, Graves LM, Der CJ. RhoGDI2 antagonizes ovarian carcinoma growth, invasion and metastasis. *Small GTPases* 2011; 2: 202-210 [PMID: 22145092]
 - 10 Cui JW, Li WH, Wang J, Li AL, Li HY, Wang HX, He K, Li W, Kang LH, Yu M, Shen BF, Wang GJ, Zhang XM. Proteomics-based identification of human acute leukemia antigens that induce humoral immune response. *Mol Cell Proteomics* 2005; 4: 1718-1724 [PMID: 16081408]
 - 11 Cho HJ, Baek KE, Park SM, Kim IK, Choi YL, Cho HJ, Nam IK, Hwang EM, Park JY, Han JY, Kang SS, Kim DC, Lee WS, Lee MN, Oh GT, Kim JW, Lee CW, Yoo J. RhoGDI2 expression is associated with tumor growth and malignant progression of gastric cancer. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 2612-2619 [PMID: 19351766 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-2192]
 - 12 Cho HJ, Baek KE, Kim IK, Park SM, Choi YL, Nam IK, Park SH, Im MJ, Yoo JM, Ryu KJ, Oh YT, Hong SC, Kwon OH, Kim JW, Lee CW, Yoo J. Proteomics-based strategy to delineate the molecular mechanisms of RhoGDI2-induced metastasis and drug resistance in gastric cancer. *J Proteome Res* 2012; 11: 2355-2364 [PMID: 22364609 DOI: 10.1021/pr2011186]
 - 13 Takaishi K, Kikuchi A, Kuroda S, Kotani K, Sasaki T, Takai Y. Involvement of rho p21 and its inhibitory GDP/GTP exchange protein (rho GDI) in cell motility. *Mol Cell Biol* 1993; 13: 72-79 [PMID: 8417362]
 - 14 Groysman M, Hornstein I, Alcover A, Katzav S. Vav1 and Ly-GDI two regulators of Rho GTPases, function cooperatively as signal transducers in T cell antigen receptor-induced pathways. *J Biol Chem* 2002; 277: 50121-50130 [PMID: 12386169]
 - 15 Schunke D, Span P, Ronneburg H, Dittmer A, Vetter M, Holzhausen HJ, Kantelhardt E, Krenkel S, Müller V, Sweep FC, Thomssen C, Dittmer J. Cyclooxygenase-2 is a target gene of rho GDP dissociation inhibitor beta in breast cancer cells. *Cancer Res* 2007; 67: 10694-10702 [PMID: 18006811]
 - 16 Titus B, Frierson HF, Conaway M, Ching K, Guise T, Chirgwin J, Hampton G, Theodorescu D. Endothelin axis is a target of the lung metastasis suppressor gene RhoGDI2. *Cancer Res* 2005; 65: 7320-7327 [PMID: 16103083]
 - 17 Wu Y, McRoberts K, Berr SS, Frierson HF, Conaway M, Theodorescu D. Neuromedin U is regulated by the metastasis suppressor RhoGDI2 and is a novel promoter of tumor formation, lung metastasis and cancer cachexia. *Oncogene* 2007; 26: 765-773 [PMID: 16878152]

同行评价

本文检测了胃癌组织中肿瘤转移抑制RhoGDI2蛋白的表达情况,发现该基因与肿瘤侵袭转移有关,具有一定指导意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



PHB1 mRNA在肝硬化及肝癌组织中的表达

黄东风, 黄介飞, 张弘, 黄小平, 魏群, 李峰

■背景资料

肝硬化和肝癌的发生、发展是一个多步骤演进的过程,了解肝硬化和肝癌发生、发展过程中的分子事件,阐明其复杂的发生机制具有重要的临床意义。抑癌蛋白(prohibitor, PHB)被认为是肿瘤抑制基因,但此观点目前存在较大争议。PHB在肝硬化和肝癌组织的mRNA表达如何,能否成为潜在的诊断标志及治疗靶点,值得我们进一步研究。本研究旨在用RT-PCR方法研究PHB1在肝硬化和肝癌组织中的表达,并初步探讨PHB1与肝硬化和肝癌组织发生、发展的关系。

■同行评议者

傅晓辉, 副教授, 副主任医师, 东方肝胆外科医院

黄东风, 黄介飞, 张弘, 黄小平, 魏群, 李峰, 南通大学附属医院消化内科 江苏省南通市 226001

黄东风, 副主任医师, 主要从事消化系统肿瘤的研究。

江苏省卫生厅医学科研基金资助项目, No.H200330

作者贡献分布: 张弘与黄东风对此文所作贡献均等; 此课题由黄介飞、张弘、魏群及黄东风设计; 研究过程由黄东风与黄小平操作完成; 数据分析由黄东风完成; 本论文写作由黄东风与张弘完成。

通讯作者: 张弘, 教授, 226001, 江苏省南通市西寺路20号, 南通大学附属医院消化内科。 zhanghong19@163.com

收稿日期: 2013-04-12 修回日期: 2013-07-20

接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-28

Expression of PHB1 mRNA in hepatocellular carcinoma and cirrhosis

Dong-Feng Huang, Jie-Fei Huang, Hong Zhang, Xiao-Ping Huang, Qun Wei, Feng Li

Dong-Feng Huang, Jie-Fei Huang, Hong Zhang, Xiao-Ping Huang, Qun Wei, Feng Li, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Supported by: the Medical Research Foundation of Health Department of Jiangsu Province, No. H200330

Correspondence to: Hong Zhang, Professor, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Nantong University, 20 Xisi Road, Nantong 226001, Jiangsu Province, China. zhanghong19@163.com

Received: 2013-04-12 Revised: 2013-07-20

Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-28

Abstract

AIM: To investigate the expression of prohibitin 1 (PHB1) mRNA in hepatocellular carcinoma and cirrhosis.

METHODS: RT-PCR was used to detect the expression of PHB1 mRNA in 36 specimens of hepatocellular carcinoma, cirrhosis, or normal liver tissues.

RESULTS: The positive rate of PHB1 mRNA expression showed no significant difference between hepatocellular carcinoma, cirrhosis and normal liver tissues (70%, 84.1% and 100% respectively; all $P > 0.05$). The expression level of PHB1 mRNA was significantly lower in hepatocellular carcinoma and cirrhosis than in normal liver tissues (0.81 ± 0.57 , 1.16 ± 0.58 vs 1.97 ± 1.24 ; both $P < 0.05$).

CONCLUSION: PHB1 may be involved in the development and progression of hepatocellular carcinoma and cirrhosis, and it may be used as a potential biomarker for diagnosis and target for therapy.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: PHB1 mRNA; Hepatocellular carcinoma; Cirrhosis; RT-PCR

Huang DF, Huang JF, Zhang H, Huang XP, Wei Q, Li F. Expression of PHB1 mRNA in hepatocellular carcinoma and cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2838-2842 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2838.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2838>

摘要

目的: 探讨肝癌组织、肝硬化组织及正常对照组织中抑癌蛋白1(prohibitin1, PHB1)mRNA的表达及关系。

方法: 采用逆转录-聚合酶链反应方法检测36例肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)患者肝癌组织、癌旁肝硬化组织、非肝癌的肝硬化患者活检组织、肝血管瘤及肝内胆管结石等对照组织中PHB1 mRNA的表达,用捷达801分析软件对结果进行相对定量分析。

结果: 肝癌组织、肝硬化组织对照组PHB1 mRNA表达率分别为70%、84.1%、100%,表达率之间无明显统计学差异($P > 0.05$),肝癌组织、肝硬化组织和对照组PHB1 mRNA表达量分别为 0.81 ± 0.57 、 1.16 ± 0.58 、 1.97 ± 1.24 ;扩增产物表现出表达量的不同,呈现渐变趋势,肝癌组织、肝硬化组织与对照组之间明显统计学差异($P < 0.05$),HCC组织与LC组织比较无统计学差异($P > 0.05$)。

结论: PHB1参与了肝硬化、肝癌的发生发展,可能是肝硬化和肝癌潜在诊断标志物和治疗靶点。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝癌; 肝硬化; PHB1 mRNA; RT-PCR

核心提示: 阻抑蛋白(prohibitin, *PHB*)被认为是肿瘤抑制基因, 但此观点目前存在较大争议, 目前在目前已有胃癌、肝癌、肠癌、乳癌、卵巢癌等肿瘤*PHB*表达改变的报道, 大部分肿瘤表达呈下调, 也有部分组织细胞上调的报道. 本课题组曾利用基因芯片筛选出肝硬化和肝癌组织的下调基因, *PHB*基因表达下调显著, 免疫组织化学检测*PHB*蛋白在肝硬化和肝癌组织中表达的研究, 发现肝硬化和肝癌组织中*PHB*蛋白水平上调. 其在人类肝癌细胞mRNA水平表达如何尚不明确. 本研究应用RT-PCR方法检测*PHB1*基因在肝硬化和肝癌组织中mRNA水平的表达, 发现*PHB1* mRNA在肝硬化和肝癌组织中表达下调.

黄东风, 黄介飞, 张弘, 黄小平, 魏群, 李峰. *PHB1* mRNA在肝硬化及肝癌组织中的表达. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2838-2842 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2838.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2838>

0 引言

肝硬化(liver cirrhosis, LC)尤其是乙型肝炎后肝硬化是肝癌发生重要的一个危险因素. 肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是世界上常见、恶性程度高的肿瘤之一. HCC的发生率和死亡率分别居全球恶性肿瘤的第5位和第3位, 居我国恶性肿瘤的第3位和第2位, 我国每年约有11万人死于HCC, 约占全球HCC死亡人数的45%^[1]. HCC进展快、预后差、治疗费用高、早期不易发现. LC和HCC的发生、发展涉及众多基因改变和分子事件, 均存在增殖与凋亡失衡, 及多基因于多阶段异常表达及基因的多效性. LC和HCC的发生、发展是一个多步骤演进的过程, 了解LC和HCC发生、发展过程中的分子事件, 阐明其复杂的发生机制具有重要的临床意义. 阻抑蛋白(prohibitin, *PHB*)被认为是肿瘤抑制基因. *PHB*包括*PHB1*和*PHB2*. 我们曾利用基因芯片筛选出LC和HCC相关基因^[2,3], 发现LC和HCC组织中*PHB1*下调显著. *PHB*在LC和HCC组织的mRNA表达如何, 能否成为潜在的诊断标志及治疗靶点, 值得我们进一步研究. 本研究旨在用RT-PCR方法研究*PHB1*在LC和HCC组织中的表达, 并初步探讨 *PHB1*与LC和HCC发生、发展的关系.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2006-03/2006-11于南通大学附属

医院经手术切除组织或活检组织标本共36例. 取得HCC的肝组织20例(其中高分化HCC 6例, 中分化HCC 11例, 低分化HCC 3例); 远癌的LC组织11例(定义: 距肿瘤边缘 ≥ 4 cm的肝组织), 非HCC的LC患者活检组织8例, 肝血管瘤4例, 肝内胆管结石2例. 其中男性23例, 女性13例. 切下的组织立即置液氮速冻后, 于-80 °C保存备用. 所有病例均据病理学进行分类.

1.2 方法

1.2.1 引物设计与合成: 根据基因芯片技术筛选LC及HCC相关基因差异性表达的芯片结果, 下调基因中*PHB1*作为验证基因^[1,2]. 从GenBank查取基因序列, *PHB2*及 β -actin基因编号分别为gb: NM_002634、gb: 5016088, 以Primer 5.0软件设计*PHB1*及 β -actin的引物各1对, 再经GenBank BLAST进行同源性检测, 其序列如下: *PHB*: 5'-TGGAAGGTTTGCGGATGAGG-3'; 5'-GCAGGCATAGAGCCCGTGAG-3'. β -actin 5'-AAGTACTCCGTGTGGATCGG-3'; 5'-ATGC-TATCACCTCCCTGTG-3'. 扩增片段大小分别为483、495 bp.

1.2.2 肝组织中总RNA样品的提取(Trizol法): 从-80 °C冰箱中取出肝细胞癌组织和正常肝组织, 解冻后每例组织称取50-100 mg置入匀浆器, 加入1 mL Trizol, 充分匀浆后倒入1.5 mL离心管, 以下步骤按操作说明书操作. 提取后加入适量DEPC水溶解, -20 °C冰箱保存备用.

1.2.3 RT-PCR扩增: 在0.5 mL离心管中按顺序加入10×PCR Buffer 5 μ L, $MgCl_2$ 5 μ L, dNTP(10 U/ μ L)1 μ L; cDNA 1 μ L, Taq酶(1 U/ μ L)1 μ L, 上游引物1 μ L, 下游引物1 μ L, 0.1%DEPC水35 μ L. 置于PCR扩增仪上扩增. 反应条件为预变性92 °C 2 min, 变性92 °C 30 s, 退火55 °C 30 s, 延伸72 °C 30 s, 循环30次, 最后72 °C延伸5 min, 得到最终产物. 取10 μ L PCR产物及上样缓冲液(0.25 g溴酚蓝、30%甘油水溶液100 mL)1 μ L, 混匀后短暂离心, 小心加入1.5%琼脂糖凝胶中, 以120 V电压电泳约30 min后, 于320 nm紫外透射仪下观察电泳结果. 用捷达801分析软件对结果进行分析, 以各样本目的基因平均A值/ β -actin平均A值表示目的基因的相对表达强度.

统计学处理 本研究实验数据采用Stata 7.0统计软件包处理分析, 计量资料以mean \pm SD表示, 率的比较采用Fisher's确切概率法, *PHB1* mRNA表达的相对定量采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为

■研究前沿

肝硬化和肝癌关系密切, 尤其是乙型肝炎后肝硬化是肝癌发生、发展最重要的一个危险因素. 因此, 探究肝硬化和肝癌发生发展过程中基因表达变化与病程的关系, 阻断肝硬化的发生、发展及早期预测癌仍为医学攻关的一个热点. *PHB*被认为是肿瘤抑制基因, 其在人类肝癌细胞表达如何尚不明确, 目前在肝硬化及肝癌组织中表达报道不多, 本实验用RT-PCR检测*PHB1* mRNA肝硬化及肝癌组织在表达情况.

■相关报道

本课题组曾利用基因芯片筛选出肝硬化和肝癌组织的下调基因, *PHB*基因表达下调显著, 免疫组织化学检测*PHB*蛋白在肝硬化和肝癌组织中表达的研究, 发现肝硬化和肝癌组织中*PHB*蛋白水平上调. 本研究应用RT-PCR方法检测*PHB1*基因在肝硬化和肝癌组织中mRNA水平的表达情况, 发现*PHB1* mRNA在肝硬化和肝癌组织中表达下调.

■创新盘点

*PHB*被认为是肿瘤抑制基因,但此观点目前存在较大争议,其mRNA在人类肝癌细胞的表达如何尚不明确.与部分肿瘤中*PHB*表达上调不同,本研究中*PHB1* mRNA在肝肝硬化及肝癌组织中表达下调.

表 1 PHB mRNA在相应组织中阳性表达率

分组	<i>n</i>	表达	不表达	阳性率(%)	<i>P</i> 值
肝癌组	20	14	6	70.00	0.280
肝硬化组	19	16	3	84.21	0.554
对照组	6	6	0	100.00	

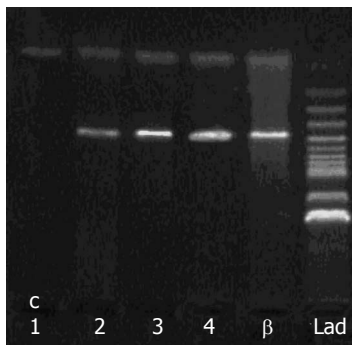


图 1 PHB mRNA的表达. 1: 肝癌组; 2: 肝硬化组; 3: 肝硬化组; 4: 对照组; β: 内参β-actin; Lad: 100 bp DNA ladder.

差异具有统计学意义.

2 结果

利用RT-PCR检测芯片结果中部分基因mRNA的表达情况,将*PHB1*(c)及内参β-actin的RT-PCR产物进行琼脂糖凝胶电泳后,其条带与100 bp DNA Ladder相比较,结果表明引物有较好的特异性,且其分子量大小与预先设计的相一致.*PHB1* mRNA虽然在LC及HCC与对照组间阳性表达率无明显统计学差异(均 $P>0.05$,表1),但在LC及HCC与对照组间,扩增产物表现出表达量的不同,且呈现渐变趋势,HCC及LC与对照组间表达有一定的渐变趋势(图1).

基因*PHB1*在LC及HCC与对照组间,扩增产物表现出表达量的不同,HCC及LC与对照组间表达有一定的渐变趋势,相应目的基因的mRNA的表达水平在HCC及LC与对照组间有明显统计学差异(均 $P<0.05$)(表2,图2).

3 讨论

HCC是世界上常见、恶性程度高的肿瘤之一.HCC进展快、预后差、治疗费用高、早期不易发现.LC尤其是乙型肝炎后LC是HCC发生重要的一个危险因素.LC和HCC的发生、发展涉及众多基因改变和分子事件,均存在增殖与凋亡失衡,及多基因于多阶段异常表达及基因的多效性^[4].LC和HCC的发生、发展是一个多步骤

表 2 PHB mRNA在相应组织表达的比较

分组	<i>n</i>	mean ± SD	<i>P</i> 值
肝癌组	20	0.81 ± 0.57	0.002
肝硬化组	19	1.16 ± 0.58	0.035
对照组	6	1.97 ± 1.24	

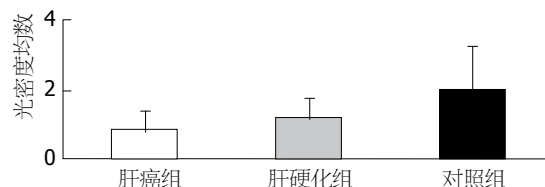


图 2 PHB1光密度均值及标准差. PHB: 阻抑蛋白.

演进的过程,了解LC和HCC发生、发展过程中的分子事件,阐明其复杂的发生机制具有重要的临床意义.我们曾利用基因芯片筛选出LC和HCC相关基因^[2,3],发现LC和HCC组织中*PHB1*基因下调显著.而*PHB*被认为是肿瘤抑制基因.*PHB*是一个具有抗增殖作用的基因,对细胞有抗损伤作用^[5-7].在一些癌症患者中发现存在多态性现象,该基因非翻译区C基因型编码的功能性RNA能阻滞细胞周期,因此被认为是一个候选肿瘤抑制基因,他与癌症的发生、发展以及遗传易感性的关系受到关注.*PHB*在LC和HCC组织的mRNA表达如何,能否成为潜在的诊断标志及治疗靶点,值得我们进一步研究.

*PHB*基因在进化上高度保守,从低等的酵母一直到鼠、人,其氨基酸序列具有高度的同源性.*PHB*基因家族包含*PHB1*和*PHB2*,*PHB1*基因定位于染色体17q21,*PHB2*基因定位于染色体12p13.*PHB1*蛋白和*PHB2*蛋白一起能形成一种高分子量的复合物.*PHB1*与*PHB2*相互依存,同时*PHB1*表达下调,*PHB2*也出现一定程度的减少^[22].*PHB*主要存在于线粒体内膜上,发挥分子伴侣作用,少量存在于细胞核内,具有负性转录调控作用^[8].有研究显示,细胞增殖时*PHB*表达明显降低;细胞分化时*PHB*表达明显升高,抑制细胞增殖^[9].*PHB*与起始转录因子E2F结合形成一种盘曲的结构域,这种结构域本身就可以表现出生长抑制作用^[10],所以*PHB*的调控作用可能是双向的,既能阻止细胞过度增殖,又能维持细胞的生存,推测*PHB*是一个双向调节子.研究^[11]发现*PHB*和*c-Fos*均受Rb的调控,在Rb过表达的细胞中*PHB*和*c-Fos*的表达受到抑制.*PHB*和抑癌

基因产物Rb在细胞核内存在共定位关系, PHB可通过与Rb作用, 结合E2F的不同部位共同抑制基因的转录, 调节E2F的转录活性, 抑制细胞增殖^[12-14]。还有研究表明, PHB和p53蛋白可以直接相互作用结合并在核内直接参与基因的表达调控。Fusaro等和Rastogi等^[15,16]曾在乳腺癌细胞研究中发现, PHB和p53及E2F1在细胞核内具有共定位关系, 认为PHB激活了p53介导的转录并增加p53与启动子的结合能力; 在接受凋亡信号刺激后, p53-PHB发生了向核周和细胞质中转移的现象。Peng等和Rastogi等^[17-19]研究证实, PHB是维生素D主要靶基因之一, 他可能通过与维生素D受体(VDR)相互作用从而调节VDR介导的增殖抑制作用。PHB还可以通过Rb依赖性的作用增强Rb对E2F的抑制作用。现有研究证明, 在不同环境应激及DNA损伤剂诱导细胞周期停滞, 这种生长停滞与老化相似, 参与炎症、肥胖、癌症等过程。Dart等^[20]用小RNA干扰技术使PHB功能缺失可使细胞老化表型减少, 在体外实验发现异染色质蛋白(HP1 heterochromatin protein 1)家族成员HP1 β 、HP1 γ 结合牢固, HP1 γ 与PHB相互作用对E2F转录活性有较大影响, 促进E2F介导转录及诱导的凋亡。认为PHB还可与P53相互作用, 调节Rb/E2F活性, 促进凋亡。并提出PHB有诱导促进细胞老化, 抑制肿瘤生长的作用。目前已有^[21,22]胃癌、HCC、肠癌、乳癌、卵巢癌等肿瘤PHB表达改变, 大部分肿瘤表达下调的报道。

本研究中, 我们用RT-PCR方法检测了PHB1 mRNA在对照组、LC组、HCC组中的表达, 结果表明, 对照组、LC组和HCC组PHB1 mRNA表达呈逐渐下调的趋势, LC组及HCC组PHB1 mRNA表达下调逐渐明显, 可能对阻滞细胞周期进展及DNA复制有抑制作用减弱, 促进肝内细胞外基质无限沉积, HCC细胞过度增殖。Ko等^[22]在实验中使PHB1缺失, 增殖增加, 使PHB1表达增加, 则凋亡增加, 实验结果表明PHB1至少在正常肝细胞发挥肿瘤抑制作用。我们的实验结果与之一致。另外, PHB1下调也可能使PHB通过与VDR相互作用抑制VDR介导的细胞增殖作用减弱。推测PHB1在LC形成、加重及HCC的发生、发展中可能发挥了重要作用。目前对PHB在不同肿瘤中的差异表达原因尚不清楚, 可能与组织细胞学类型、分期以及PHB不同亚型及其亚细胞定位有关。有观点认为PHB的抑癌或促癌取决

于其在细胞内定的定位, 浆膜表面的促癌, 核内的PHB同时有促进细胞分化和抑制细胞增殖的作用, 因而对细胞代谢、生长、分化、衰老以及凋亡等诸多方面发挥着重要的调控作用。PHB基因既能阻滞细胞周期进展, 还对DNA复制有抑制作用。

在我们的先期研究中, PHB1基因在2例LC和2例HCC共同表达差异基因中是下调基因。推测PHB1 mRNA的表达下调使肝星状细胞及HCC细胞老化表型减少, 凋亡减少, 是其得以永生化的原因之一。PHB1在LC及HCC细胞发挥作用、作用的机制以及PHB1的表达水平是否与功能平行, 有待进一步研究。从本研究结果和已有研究可以推断PHB1可能是诊断LC和HCC有效的检测标志物和治疗LC和HCC有意义的靶点。

4 参考文献

- 1 Lau WY, Lai EC. Hepatocellular carcinoma: current management and recent advances. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2008; 7: 237-257 [PMID: 18522878]
- 2 张弘, 黄介飞, 黄东风, 华婷琰, 魏群. 肝细胞癌组织中肿瘤相关基因的初步筛选. *中华肝病杂志* 2009; 17: 139-140
- 3 黄东风, 黄介飞, 张弘, 黄晓平, 鲍柏军, 魏群, 华婷琰. 应用基因芯片技术筛选肝硬化相关基因. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 3377-3384
- 4 Zhang H, Li F, Huang J, Huang D, Hua TY, Wei Q, Zhang J, Huang H. Screening and validation of tumor-associated genes in human hepatocellular carcinoma tissues. *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 1048-1053 [PMID: 22281981 DOI: 10.5754/hge11894]
- 5 Theiss AL, Vijay-Kumar M, Obertone TS, Jones DP, Hansen JM, Gewirtz AT, Merlin D, Sitaraman SV. Prohibitin is a novel regulator of antioxidant response that attenuates colonic inflammation in mice. *Gastroenterology* 2009; 137: 199-208, 208. e1-e6 [PMID: 19327358 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.03.033]
- 6 Lee JH, Nguyen KH, Mishra S, Nyomba BL. Prohibitin is expressed in pancreatic beta-cells and protects against oxidative and proapoptotic effects of ethanol. *FEBS J* 2010; 277: 488-500 [PMID: 20030709 DOI: 10.1111/j.1742-4658.2009.07505.x]
- 7 Liu X, Ren Z, Zhan R, Wang X, Wang X, Zhang Z, Leng X, Yang Z, Qian L. Prohibitin protects against oxidative stress-induced cell injury in cultured neonatal cardiomyocyte. *Cell Stress Chaperones* 2009; 14: 311-319 [PMID: 18958584 DOI: 10.1007/s12192-008-0086-5]
- 8 Mishra S, Murphy LC, Murphy LJ. The Prohibitins: emerging roles in diverse functions. *J Cell Mol Med* 2006; 10: 353-363 [PMID: 16796804]
- 9 Nijtmans LG, Artal SM, Grivell LA, Coates PJ. The mitochondrial PHB complex: roles in mitochondrial respiratory complex assembly, ageing and degenerative disease. *Cell Mol Life Sci* 2002; 59: 143-155 [PMID: 11852914]
- 10 Sun L, Liu L, Yang XJ, Wu Z. Akt binds prohibitin 2 and relieves its repression of MyoD and muscle

■应用要点
PHB1的表达下调可能与肝硬化、肝癌的发生、发展有关, 有可能成为肝癌的诊断标志物, 靶向治疗的靶点, 有助于改善肝癌患者的预后。

■同行评价

本文通过比较肝癌组织、肝硬化组织和正常肝组织中PHB mRNA表达水平的差异,探讨PHB在肝脏疾病中的作用。PHB和肝癌的发生发展的关系已得到大量的实验证据。本文的价值在于提供了临床证据。

- differentiation. *J Cell Sci* 2004; 117: 3021-3029 [PMID: 15173318]
- 11 Buchmann AM, Swaminathan S, Thimmapaya B. Regulation of cellular genes in a chromosomal context by the retinoblastoma tumor suppressor protein. *Mol Cell Biol* 1998; 18: 4565-4576 [PMID: 9671466]
- 12 Wang S, Fusaro G, Padmanabhan J, Chellappan SP. Prohibitin co-localizes with Rb in the nucleus and recruits N-CoR and HDAC1 for transcriptional repression. *Oncogene* 2002; 21: 8388-8396 [PMID: 12466959]
- 13 Fusaro G, Wang S, Chellappan S. Differential regulation of Rb family proteins and prohibitin during camptothecin-induced apoptosis. *Oncogene* 2002; 21: 4539-4548 [PMID: 12085232]
- 14 Wang S, Zhang B, Faller DV. Prohibitin requires Brg-1 and Brm for the repression of E2F and cell growth. *EMBO J* 2002; 21: 3019-3028 [PMID: 12065415]
- 15 Fusaro G, Dasgupta P, Rastogi S, Joshi B, Chellappan S. Prohibitin induces the transcriptional activity of p53 and is exported from the nucleus upon apoptotic signaling. *J Biol Chem* 2003; 278: 47853-47861 [PMID: 14500729]
- 16 Rastogi S, Joshi B, Fusaro G, Chellappan S. Camptothecin induces nuclear export of prohibitin preferentially in transformed cells through a CRM-1-dependent mechanism. *J Biol Chem* 2006; 281: 2951-2959 [PMID: 16319068]
- 17 Peng X, Mehta R, Wang S, Chellappan S, Mehta RG. Prohibitin is a novel target gene of vitamin D involved in its antiproliferative action in breast cancer cells. *Cancer Res* 2006; 66: 7361-7369 [PMID: 16849588]
- 18 Peng X, Mehta RG. Differential expression of prohibitin is correlated with dual action of Vitamin D as a proliferative and antiproliferative hormone in breast epithelial cells. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2007; 103: 446-450 [PMID: 17207617]
- 19 Rastogi S, Joshi B, Dasgupta P, Morris M, Wright K, Chellappan S. Prohibitin facilitates cellular senescence by recruiting specific corepressors to inhibit E2F target genes. *Mol Cell Biol* 2006; 26: 4161-4171 [PMID: 16705168]
- 20 Dart DA, Spencer-Dene B, Gamble SC, Waxman J, Bevan CL. Manipulating prohibitin levels provides evidence for an in vivo role in androgen regulation of prostate tumours. *Endocr Relat Cancer* 2009; 16: 1157-1169 [PMID: 19635783 DOI: 10.1677/ERC-09-0028]
- 21 Liu T, Tang H, Lang Y, Liu M, Li X. MicroRNA-27a functions as an oncogene in gastric adenocarcinoma by targeting prohibitin. *Cancer Lett* 2009; 273: 233-242 [PMID: 18789835 DOI: 10.1016/j.canlet.2008.08.003]
- 22 Ko KS, Tomasi ML, Iglesias-Ara A, French BA, French SW, Ramani K, Lozano JJ, Oh P, He L, Stiles BL, Li TW, Yang H, Martínez-Chantar ML, Mato JM, Lu SC. Liver-specific deletion of prohibitin 1 results in spontaneous liver injury, fibrosis, and hepatocellular carcinoma in mice. *Hepatology* 2010; 52: 2096-2108 [PMID: 20890892 DOI: 10.1002/hep.23919]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



中晚期肝癌患者行TACE治疗后CT灌注参数与生存期的相关性分析41例

何二霞, 聂忠仕, 朱明月, 林海锋, 王琳, 张英辉, 李孟森

何二霞, 海南省农垦总医院肿瘤内科 海南省海口市 570311
聂忠仕, 林海锋, 王琳, 张英辉, 海南省农垦总医院放射科 海南省海口市 570311
朱明月, 李孟森, 海南省肿瘤发生和干预重点实验室 海南医学院 海南省海口市 571199
何二霞, 主治医师, 主要从事肝癌诊治研究工作.
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81360307, 81260306, 81160261, 31060164
教育部新世纪优秀人才基金资助项目, No. NCET-10-0124
教育部重点科技基金资助项目, No. 211146
海南省重点科技基金资助项目, No. DZXM20110038
海南省自然科学基金资助项目, Nos. 309034, 310044
海南省卫生厅科研基金资助项目, No. 琼卫2011-71
作者贡献分布: 何二霞负责临床研究设计及临床样本收集; 聂忠仕负责肝癌的CT灌注扫描; 林海锋、王琳及张英辉负责肝癌的TACE治疗; 朱明月负责统计数据分析; 李孟森负责项目的总体设计、临床研究实施和协调、论文数据的整理与论文撰写、审校.
通讯作者: 李孟森, 教授, 571199, 海南省海口市龙华区学院路3号, 海南省肿瘤发生和干预重点实验室, 海南医学院.
mengsenli@163.com
电话: 0898-66895322
收稿日期: 2013-05-28 修回日期: 2013-08-22
接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-09-28

Correlation between computer tomography perfusion parameters and survival in patients with middle/advanced stage liver cancer after TACE: Analysis of 41 cases

Er-Xia He, Zhong-Shi Nie, Ming-Yue Zhu, Hai-Feng Lin, Lin Wang, Ying-Hui Zhang, Meng-Sen Li

Er-Xia He, Department of Tumor Internal Medicine, Hainan Nongken Hospital, Haikou 570311, Hainan Province, China
Zhong-Shi Nie, Hai-Feng Lin, Lin Wang, Ying-Hui Zhang, Department of Radioactive Medicine, Hainan Nongken Hospital, Haikou 570311, Hainan Province, China
Ming-Yue Zhu, Meng-Sen Li, Hainan Provincial Key Laboratory of Carcinogenesis and Intervention; Hainan Medical College, Haikou 571199, Hainan Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81360307, 81260306, 81160261 and 31060164; the Program for New Century Excellent Talents in University of China, No. NCET-10-0124; the Key Program of Science and Technology, Ministry of Education of China, No. 211146; the Key Program of Science and Technology of Hainan Province, No. DZXM20110038; the Natural Science Foundation of Hainan Province, Nos. 309034 and 310044; Department of Health of Hainan Province Research Fund Supported Project, No. 2011-71
Correspondence to: Meng-Sen Li, Professor, Hainan Pro-

vincial Key Laboratory of Carcinogenesis and Intervention, Hainan Medical College, 3 Xueyuan Road, Longhua District, Haikou 571199, Hainan Province, China. mengsenli@163.com
Received: 2013-05-28 Revised: 2013-08-22
Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-09-28

Abstract

AIM: To observe the correlation between computed tomography (CT) perfusion parameters and survival in patients who had middle/advanced stage liver cancer after transarterial chemoembolization (TACE).

METHODS: Forty-one patients who had middle/advanced stage liver cancer were selected to observe CT perfusion parameters four weeks after TACE. Hepatic blood flow (HBF), hepatic blood volume (HBV), mean transit time (MTT), hepatic artery fraction (HAF) and perfunctory transit (PT) were measured. The patients were followed for 1-2 years after TACE.

RESULTS: The blood flow disappeared in iodized oil deposited hepatoma regions in all the patients. HBF, HBV and MTT in non-iodized oil deposited hepatoma regions were significantly higher than those in normal liver tissue [$451.67 \text{ mL}/(100 \text{ g} \cdot \text{min}) \pm 121.45 \text{ mL}/(100 \text{ g} \cdot \text{min})$ vs $88.43 \text{ mL}/(100 \text{ g} \cdot \text{min}) \pm 12.31 \text{ mL}/(100 \text{ g} \cdot \text{min})$, $31.61 \text{ mL}/100 \text{ g} \pm 5.86 \text{ mL}/100 \text{ g}$ vs $12.15 \text{ mL}/100 \text{ g} \pm 1.97 \text{ mL}/100 \text{ g}$, $4.01 \text{ s} \pm 2.11 \text{ s}$ vs $9.13 \text{ s} \pm 1.89 \text{ s}$, all $P < 0.05$]. HAF and PT showed no significant differences between non-iodized oil deposited liver cancer region and normal liver tissue [$18.745 \text{ mL}/(100 \text{ g} \cdot \text{min}) \pm 13.669 \text{ mL}/(100 \text{ g} \cdot \text{min})$ vs $20.114 \text{ mL}/(100 \text{ g} \cdot \text{min}) \pm 14.613 \text{ mL}/(100 \text{ g} \cdot \text{min})$, $0.451\% \pm 0.121\%$ vs $0.395\% \pm 0.211\%$, both $P > 0.05$]. HBF, HBV, HAF and PT declined significantly in 19 dead patients compared to 22 surviving patients (all $P < 0.05$), but MTT showed no significant correlation with survival.

CONCLUSION: CT perfusion imaging has important value in predict the prognosis of liver

■背景资料

经导管动脉化疗栓塞术(transarterial chemoembolization, TACE)是临床上用于治疗中晚期肝癌的重要方法, 而CT各灌注参数的分析能判断TACE治疗的药物分布状况和效果, 本文采用前瞻性研究方法对确诊为中晚期肝癌患者进行TACE治疗, 并于治疗后行64排螺旋CT灌注成像, 依据所得灌注参数决定后续治疗的方案, 并随访患者1-2年的生存期, 以评估CT各灌注参数对临床治疗的指导价值及其与生存期的相关性, 应用CT灌注成像预测患者的生存期.

■同行评议者

党双锁, 教授, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

■ 研发前沿

TACE是治疗中晚期肝癌的重要手段,但是如何判断TACE治疗过程的药物分布以及可能效果,目前报道较少。所以采用CT灌注成像参数观察TACE治疗时碘油的渗透情况,可以预测药物渗入肝癌组织,根据药物分布能判断可能治疗效果,所以在TACE治疗前采用CT造影扫描,分析CT灌注成像参数,从而判断TACE治疗效果是需要开展的研究问题。

cancer after TACE. CT perfusion parameters may be used to evaluate survival of patients with middle/advanced stage liver cancer.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Middle/advanced hepatocellular cancer; Transarterial chemoembolization; Computer tomography perfusion imaging; Survival

He EX, Nie ZS, Zhu MY, Lin HF, Wang L, Zhang YH, Li MS. Correlation between computer tomography perfusion parameters and survival in patients with middle/advanced stage liver cancer after TACE: Analysis of 41 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2843-2848 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2843.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2843>

摘要

目的: 探讨中晚期肝癌经导管动脉化疗栓塞术(transarterial chemoembolization, TACE)后观察CT灌注参数与生存期之间的相关性。

方法: 41例中晚期肝癌患者TACE术后4 wk行CT灌注扫描,计算肝血流量(hepatic blood flow, HBF)、肝血容量(hepatic blood volume, HBV)、平均通过时间(mean transit time, MTT)、肝动脉分数(hepatic artery fraction, HAF)及表面通透性(perfunctory transit, PT)等参数,术后随访患者1-2年的生存期。

结果: 41例中晚期肝癌患者TACE术后各灌注参数显示碘油沉积区域肝癌组织血流灌注消失;非碘油沉积区域HBF、HBV及MTT等参数分别为 $451.67 \text{ mL}/(100 \text{ g}\cdot\text{min}) \pm 121.45 \text{ mL}/(100 \text{ g}\cdot\text{min})$ 、 $31.61 \text{ mL}/100 \text{ g} \pm 5.86 \text{ mL}/100 \text{ g}$ 和 $4.01 \text{ s} \pm 2.11 \text{ s}$,相对应的正常肝组织则分别为 $88.43 \text{ mL}/(100 \text{ g}\cdot\text{min}) \pm 12.31 \text{ mL}/(100 \text{ g}\cdot\text{min})$ 、 $12.15 \text{ mL}/100 \text{ g} \pm 1.97 \text{ mL}/100 \text{ g}$ 和 $9.13 \text{ s} \pm 1.89 \text{ s}$,在肝癌组织和正常肝组织这些参数比较有明显差异,均有统计学意义($P < 0.05$);PT及HAF的肝癌组织值分别为 $18.745 \text{ mL}/(100 \text{ g}\cdot\text{min}) \pm 13.669 \text{ mL}/(100 \text{ g}\cdot\text{min})$ 和 $0.451\% \pm 0.121\%$,相对应的正常肝组织值为 $20.114 \text{ mL}/(100 \text{ g}\cdot\text{min}) \pm 14.613 \text{ mL}/(100 \text{ g}\cdot\text{min})$ 和 $0.395\% \pm 0.211\%$,在肝癌组织和正常肝组织这些参数比较无显著性差异($P > 0.05$);19例死亡患者非碘油沉积区域HBF、HBV、HAF及PT等灌注参数明显降低,经Speraman相关分析显示这些参数降低与生存期密切相关,和生存者比较有统计学差异($P < 0.05$),而MTT灌注参数与生存期无明显相关性($P > 0.05$)。

结论: CT灌注成像对中晚期肝癌行TACE治疗的预后判断具有重要的临床指导价值;各灌注参数与患者生存期密切相关。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 中晚期肝癌; 经导管动脉化疗栓塞术; CT灌注成像; 生存期

核心提示: 经导管动脉化疗栓塞术(transarterial chemoembolization, TACE)治疗中晚期肝癌是临床上重要的治疗手段,但是如何评价TACE的治疗价值以及判断经TACE治疗后患者的生存时间,还没有明确的指标。本文通过CT灌注成像对中晚期肝癌行TACE治疗的预后判断,观察CT灌注参数与生存期之间的相关性,临床观察发现CT灌注参数能预期TACE治疗效果和患者的生存期。

何二霞, 聂忠仕, 朱明月, 林海峰, 王琳, 张英辉, 李孟森. 中晚期肝癌患者行TACE治疗后CT灌注参数与生存期的相关性分析41例. *世界华人消化杂志* 2013; 21(27): 2843-2848 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2843.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2843>

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是最常见的恶性肿瘤之一,是高死亡率的重大疾病^[1,2]。由于其发生有很强的隐蔽性,因而发现时多数已经进入中晚期,中晚期HCC有肿瘤体积大、常规药物难以到达肿瘤内部组织的特点,所以临床上对中晚期肝癌首选的治疗方法是经导管动脉化疗栓塞术(transarterial chemoembolization, TACE)^[3-5],为了及时了解TACE的治疗效果,本文拟采用前瞻性研究方法对确诊为中晚期肝癌患者进行TACE治疗,并于治疗4 wk后行64排螺旋CT灌注成像,依据所得灌注参数决定后续治疗的方案,并随访患者1-2年的生存期,以评估CT各灌注参数对临床治疗的指导价值及其与生存期的相关性。

1 材料和方法

1.1 材料 2011-01/2012-08海南省农垦总医院肿瘤内科共有41例符合实验条件的肝癌患者行TACE治疗并于治疗4 wk后行CT灌注成像,其中男性29例,女性12例,年龄36-75岁,中位年龄58岁,所有患者均按照2001版“原发性肝癌的临床诊断与分期标准”^[6],明确诊断为中晚期肝癌,且同时满足以下几点入选条件:(1)块状型肝细胞性肝癌伴/不伴肝内子灶;(2)不伴有肝外转移;

表 1 41例患者非碘油沉积区与正常肝组织血流灌注参数比较 (mean ± SD)

灌注参数	肝癌非碘油沉积区	正常肝组织	P值
肝血流量[mL/(100 g·min)]	451.67 ± 121.45	88.43 ± 12.31	<0.01
肝血容量(mL/100 g)	31.61 ± 5.86	12.15 ± 1.97	<0.01
平均通过时间(s)	4.01 ± 2.11	9.13 ± 1.89	<0.01
肝动脉分数(%)	0.451 ± 0.121	0.395 ± 0.211	>0.05
表面通透性[mL/(100 g·min)]	18.745 ± 13.669	20.114 ± 14.613	>0.05

(3)不伴门静脉/下腔静脉瘤栓; (4)没有经过手术治疗; (5)没有严重心肝肾功能衰竭; (6)白细胞计数 $>3.0 \times 10^6/L$; (7)无碘剂过敏。不符合入选标准, 或观察到以下任意1种则排除入选: (1)不能按照实验步骤配合完成实验; (2)非因肝癌导致死亡者; (3)实验中出现不良事件, 研究者认为受试者应该终止实验的。在试验研究过程, 均征得患者或家属同意, 且获得医院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 扫描: TACE治疗在意大利生产Sias型C臂下进行, 采用Seldinger穿刺技术行股动脉穿刺插管, 根据CTA重建肿瘤供血动脉情况选用不同型号的导管, 先行肝动脉造影, 进一步确认肿瘤供血情况, 对于多条供血动脉的肝癌尽可能把所有供血动脉全部栓塞, 化疗药物选用5-氟尿嘧啶、丝裂霉素、栓塞剂为EADM与40%碘化油混合乳化剂。经造影确认栓塞满意后, 结束治疗。

1.2.2 CT扫描方案: 41例患者均于TACE术后4 wk行肝脏CT灌注成像, 设备使用GE公司64排VCT机, 要求患者禁食4 h以上, 检查前训练呼吸并告知注意事项, 以取得患者的配合。先行CT平扫, 选取最大肿块中的最大层面进行CT灌注扫描, 灌注扫描条件为: 轴扫模式, 管电压120 kV, 管电流200 mA, 层厚及层间距均为5.0 mm, 造影剂为碘普罗胺370 mgI/mL, 经肘前静脉以4.5 mL/s的速度团注, 总量50 mL, 注药后延迟5 s行同层动态扫描, 扫描时间50 s, 共产生400幅图像。

1.2.3 图像后处理: 400幅灌注扫描图像通过局域网送至GE AW4.3工作站, 使用CT Perfusion 3肝脏灌注软件进行计算。腹主动脉确定为输入动脉。计算方法为去卷积法。根据CT灌注同层动态增强图多点选择肝癌碘油沉积区、肝癌碘油非沉积区及远离肝癌的背景肝组织进行测量, 测量时避开肝脏边缘及大血管影。系统自动计算生成各ROI的肝肝血流量(hepatic blood flow, HBF)、肝血容量(hepatic blood volume, HBV)、平均通过时间(mean transit time, MTT)、肝动脉

分数(hepatic artery fraction, HAF)及表面通透性(perfunctory transit, PT)等参数。

1.2.4 随访: 按照实验设计要求患者每月均需定期返院复查及治疗, 直到患者死亡, 对个别没有如期返院复查治疗的患者进行电话随访。从2011-01/2012-08共有19例患者因肝癌死亡, 其中男性14例, 女性5例, 年龄40-75岁, 中位年龄为55岁, 生存期2-18 mo, 中位生存期为10 mo。

统计学处理 应用SPSS16.0统计软件包进行统计学分析, 数据以mean ± SD表示。对非碘油沉积区域各灌注参数与正常肝组织各灌注参数比较采用两均数 t 检验, 对非碘油沉积区域各灌注参数与生存期的相关性研究采用Spearman相关分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝癌TACE术后各灌注参数表现 41例中晚期肝癌患者各灌注参数显示, 碘油沉积区域肝癌组织血流灌注消失或明显减少; 非碘油沉积区域与正常肝组织比较HBF及HBV等灌注参数均可见不同程度增加, MTT则可见不同程度降低, 经 t 检验具有统计学差异。HAF及PT等灌注参数也可见增高, 但经 t 检验未见统计学差异(图1, 表1)。

2.2 肝癌TACE术后非碘油沉积区域各灌注参数与生存期的相关性研究 19例中晚期肝癌患者非碘油沉积区域各灌注参数与生存期相关性分析显示, HBF、HBV、HAF及PT等灌注参数与生存期密切相关, 经Spearman相关分析具有统计学差异; MTT等灌注参数与生存期无明显相关性, 经Spearman相关分析未见有统计学差异(表2, 3)。

3 讨论

碘油作为一种载体携带抗癌药物选择性沉积于肿瘤组织, 并缓慢释放抗癌药物, 杀死肿瘤细胞, 成为中晚期肝癌最经典的治疗方法^[4]。肝癌的组织类型、肿瘤大小、肝癌供血动脉的多源性、侧支循环、动静脉分流、肝动脉栓塞不完全都

■创新盘点

已经有大量文献报道TACE治疗中晚期肝癌, 而且在行TACE治疗前用CT扫描肝癌的部位、形状和是否有转移, 以期指导TACE治疗。本文的创新点是, 利用CT灌注成像参数分析TACE治疗时的药物分布情况, 并用这些参数预测中晚期肝癌患者的生存期。

■应用要点

应用CT灌注成像参数评价TACE的治疗价值以及预期患者的生存期。

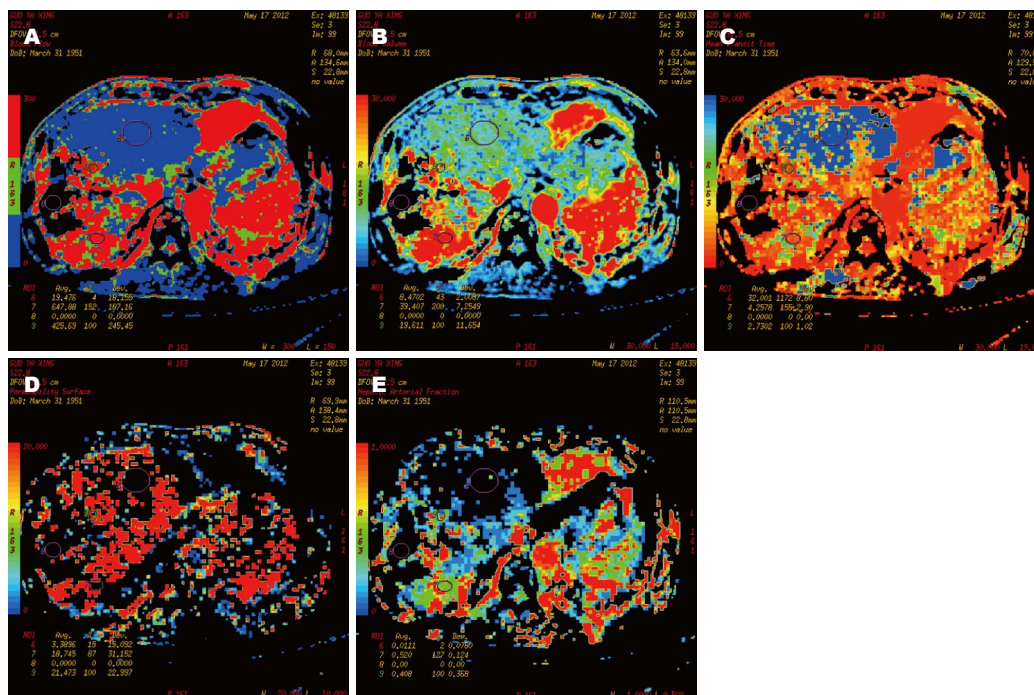


图1 肝右叶肝癌TACE术后非碘油沉积区CT灌注成像。A: 灌注参数HBF值为 $647.88 \text{ mL}/(100 \text{ g} \cdot \text{min}) \pm 187.16 \text{ mL}/(100 \text{ g} \cdot \text{min})$, 正常对照区HBF值为 $19.476 \text{ mL}/(100 \text{ g} \cdot \text{min}) \pm 18.155 \text{ mL}/(100 \text{ g} \cdot \text{min})$; B: 灌注参数HBV值为 $39.407 \text{ mL}/100 \text{ g} \pm 7.2549 \text{ mL}/100 \text{ g}$, 正常对照区HBV值为 $8.4702 \text{ mL}/100 \text{ g} \pm 2.0087 \text{ mL}/100 \text{ g}$; C: 灌注参数MTT值为 $4.2578 \text{ s} \pm 2.90 \text{ s}$, 正常对照区MTT值为 $32.001 \text{ s} \pm 8.8 \text{ s}$; D: 灌注参数PT值为 $31.152 \text{ mL}/(100 \text{ g} \cdot \text{min}) \pm 18.745 \text{ mL}/(100 \text{ g} \cdot \text{min})$, 正常对照区PT值为 $15.092 \text{ mL}/(100 \text{ g} \cdot \text{min}) \pm 3.3896 \text{ mL}/(100 \text{ g} \cdot \text{min})$; E: 灌注参数HAF值为 $52\% \pm 12.4\%$, 正常对照区HAF值为 $7.8\% \pm 1.1\%$ 。

表2 19例死亡患者非碘油沉积区各灌注参数与生存期的关系

灌注参数					生存期(mo)
肝血流量[mL/(100 g•min)]	肝血容量 (mL/100 g)	通过时间(s)	肝动脉分数(%)	表面通透性[mL/(100 g•min)]	
918.5	78.6	5.5	0.82	90.9	2
762.1	54.3	4.6	0.78	61.6	4
556.7	32.2	3.5	0.43	29.2	6
589.5	34.3	4.0	0.31	45.6	6
681.3	34.7	3.1	0.58	84.0	6
492.3	30.1	3.5	0.60	22.4	8
345.3	25.4	4.5	0.41	27.2	10
362.1	24.3	4.1	0.35	24.6	10
312.4	19.3	3.7	0.37	34.6	10
352.6	18.9	3.2	0.26	31.2	10
417.1	28.1	3.8	0.37	35.2	10
384.4	26.5	3.9	0.29	38.9	10
412.6	18.0	2.6	0.27	39.7	10
354.8	17.4	3.0	0.18	25.5	10
443.1	20.1	2.7	0.34	26.8	10
279.4	14.6	3.1	0.25	29.5	11
255.3	13.8	3.2	0.21	18.9	12
213.7	11.1	3.1	0.15	11.5	14
162.6	10.6	3.9	0.12	25.4	18

会影响碘油在肿瘤内的沉积^[7,8]。既往研究已经证实肝癌TACE术后, 肿瘤内碘油的聚积情况、沉积形态与肿瘤坏死、复发及患者生存期密切相关^[4]。目前, 研究者多采用CT增强扫描图像根据碘油沉积形态及非碘油沉积区病灶的增强表

现来评价肝癌TACE术的疗效及预后情况^[9], 然而由于TACE治疗后碘油密度很高, 有时很难与肝脏增强扫描时混杂在碘油中的高密度造影剂区分, 进而影响到肿瘤血供的判断, CT灌注成像属于功能成像, 可不受高浓度碘油的影响, 能对

表 3 19例死亡患者非碘油沉积区各灌注参数与生存期的相关分析

	Spearman相关系数	P值
HBF与生存期	-0.944	<0.001
HBV与生存期	-0.944	<0.001
MTT与生存期	-0.378	0.110
HAF与生存期	-0.848	<0.001
PT与生存期	-0.669	<0.002

HBF: 计算肝血流量; HBV: 肝血容量; MTT: 平均通过时间;
HAF: 肝动脉分数; PT: 表面通透性。

局部组织内的血流灌注情况进行定量评价。本研究资料显示, TACE术后肝癌组织碘油浓聚区域肝癌组织血流灌注消失或明显减少, 提示该区域肝动脉供血中断或明显减少。碘油缺损/松散区域与正常肝组织比较HBF及HBV等参数均可见不同程度增加, MTT则可见降低, 经统计学分析差异具有显著性, 而PT及HAF等参数也可见增加, 但经统计学分析差异不具有显著性, 提示该区域肿瘤仍有较多动脉血供, 从而为肝癌TACE治疗效果及后续治疗提供理论依据。

实体肿瘤的生物学特征依赖于肿瘤血管生成, 肿瘤血管不仅能促进肿瘤的生长和转移, 还会引起肿瘤血容积、灌注量及毛细血管通透性的变化, 这就是肿瘤CT强化的基础, 肝癌是一种实体肿瘤, 其血液供应丰富, 因而行TACE治疗是临床上有效的治疗手段。有研究^[10,11]证实肝细胞癌CT灌注参数可反映肿瘤的恶性程度及肿瘤微血管密度, 这就提示肝癌CT灌注参数与预后之间可能存在某种相关性, 然而目前研究两者之间相关性的还未见研究报道。我们前期临床观察发现, 中晚期肝癌患者甲胎蛋白升高和寄生血管存在是造成TACE治疗效果不佳的重要因素^[12], 而且异常血管生成对TACE的碘油分布也有较大的影响^[13,14], 由于碘油的分布可以确定药物的集中度, 所以观察碘油的灌注参数能确定药物对组织的渗透状况, 是判断治疗效果的一个指标。研究也显示CT灌注参数可以观察TACE对中晚期肝癌的治疗效果^[15-17], 本研究临床观察表明CT灌注参数HBF、HBV、HAF及PT均与生存期呈正相关, 进一步证实了CT灌注参数能够反映肝细胞癌生物学特征, 对预测患者生存期有着重要价值。但由于本研究的病例相对较少, 肝癌CT灌注参数与预后之间的关系还需要大样本病例研究, 同时也需要对TACE治

疗后两者变化进行连续动态跟踪观察, 所以我们将继续开展大样本分析, 并进一步动态观察患者生存期与CT灌注指标的相关性研究。

4 参考文献

- 1 Finn RS. Development of molecularly targeted therapies in hepatocellular carcinoma: where do we go now? *Clin Cancer Res* 2010; 16: 390-397 [PMID: 20068087 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2084]
- 2 Pollicino T, Saitta C, Raimondo G. Hepatocellular carcinoma: the point of view of the hepatitis B virus. *Carcinogenesis* 2011; 32: 1122-1132 [PMID: 21665892 DOI: 10.1093/carcin/bgr108]
- 3 Wu F, Wang ZB, Chen WZ, Zou JZ, Bai J, Zhu H, Li KQ, Jin CB, Xie FL, Su HB. Advanced hepatocellular carcinoma: treatment with high-intensity focused ultrasound ablation combined with transcatheter arterial embolization. *Radiology* 2005; 235: 659-667 [PMID: 15858105]
- 4 Chung GE, Lee JH, Kim HY, Hwang SY, Kim JS, Chung JW, Yoon JH, Lee HS, Kim YJ. Transarterial chemoembolization can be safely performed in patients with hepatocellular carcinoma invading the main portal vein and may improve the overall survival. *Radiology* 2011; 258: 627-634 [PMID: 21273524 DOI: 10.1148/radiol.10101058]
- 5 Gwon D, Ko GY, Yoon HK, Sung KB, Kim JH, Lee SS, Lee JM, Ohm JY, Shin JH, Song HY. Hepatocellular carcinoma associated with membranous obstruction of the inferior vena cava: incidence, characteristics, and risk factors and clinical efficacy of TACE. *Radiology* 2010; 254: 617-626 [PMID: 20093533 DOI: 10.1148/radiol.09090738]
- 6 杨秉辉, 夏景林. 原发性肝癌的临床诊断与分期标准. *中华肝脏病杂志* 2001; 9: 324-325
- 7 Ke-Wei L, Tian-Fu W, Xi L, Lü-Nan Y, Bo L, Yong Z, Wu-Sheng L, Wen-Tao W, Ming-Qing X, Jia-Yin Y, Yu-Kui M, Zhe-Yu C. The effect of postoperative TACE on prognosis of HCC with microscopic venous invasion. *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 1944-1946 [PMID: 22246191 DOI: 10.5754/hge11845]
- 8 Kim JH, Yoon HK, Ko GY, Gwon DI, Jang CS, Song HY, Shin JH, Sung KB. Nonresectable combined hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma: analysis of the response and prognostic factors after transcatheter arterial chemoembolization. *Radiology* 2010; 255: 270-277 [PMID: 20308463 DOI: 10.1148/radiol.09091076]
- 9 Wang X, Li J, Peng Y, Dai Y, Xu W. Influence of preoperative transarterial chemoembolization on the prognosis for patients with resectable hepatocellular carcinoma: a meta-analysis of randomized trials. *Hepatogastroenterology* 2011; 58: 869-874 [PMID: 21830407]
- 10 Zhu AX, Holalkere NS, Muzikansky A, Horgan K, Sahani DV. Early antiangiogenic activity of bevacizumab evaluated by computed tomography perfusion scan in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *Oncologist* 2008; 13: 120-125 [PMID: 18305056 DOI: 10.1634/theoncologist.2007-0174]
- 11 Petralia G, Summers P, Viotti S, Montefrancesco R, Raimondi S, Bellomi M. Quantification of variability in breath-hold perfusion CT of hepatocellular carcinoma: a step toward clinical use. *Radiology* 2012; 265: 448-456 [PMID: 22996748 DOI: 10.1148/radiol.12111232]

■同行评价

本文研究内容为临床关注度较高的问题, 选题较新, 运用CT灌注扫描成像对接受TACE治疗的中晚期肝癌病人的预后判断价值, 且发现有意义的线索, 对临床用TACE治疗中晚期肝癌有一定指导意义。

- 12 何二霞, 聂忠仕, 朱明月, 林海锋, 王琳, 林志东, 谢协驹, 李孟森. AFP含量和寄生血管对中晚期肝癌患者TACE治疗的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1931-1938
- 13 Miyayama S, Yamashiro M, Shibata Y, Hashimoto M, Yoshida M, Tsuji K, Toshima F, Matsui O. Arterial blood supply to the caudate lobe of the liver from the proximal branches of the right inferior phrenic artery in patients with recurrent hepatocellular carcinoma after chemoembolization. *Jpn J Radiol* 2012; 30: 45-52 [PMID: 22139759 DOI: 10.1007/s11604-011-0007-x]
- 14 Min YW, Kim J, Kim S, Sung YK, Lee JH, Gwak GY, Paik YH, Choi MS, Koh KC, Paik SW, Yoo BC, Lee JH. Risk factors and a predictive model for acute hepatic failure after transcatheter arterial chemoembolization in patients with hepatocellular carcinoma. *Liver Int* 2013; 33: 197-202 [PMID: 23295052 DOI: 10.1111/liv.12023]
- 15 Liu YS, Chuang MT, Tsai YS, Tsai HM, Lin XZ. Nitroglycerine use in transcatheter arterial (chemo)embolization in patients with hepatocellular carcinoma and dual-energy CT assessment of Lipiodol retention. *Eur Radiol* 2012; 22: 2193-2200 [PMID: 22618520 DOI: 10.1007/s00330-012-2484-4]
- 16 Bargellini I, Vignali C, Cioni R, Petruzzi P, Cicorelli A, Campani D, De Simone P, Filipponi F, Bartolozzi C. Hepatocellular carcinoma: CT for tumor response after transarterial chemoembolization in patients exceeding Milan criteria--selection parameter for liver transplantation. *Radiology* 2010; 255: 289-300 [PMID: 20308465 DOI: 10.1148/radiol.09090927]
- 17 Kubota K, Yamanishi T, Itoh S, Murata Y, Miyatake K, Yasunami H, Morio K, Hamada N, Nishioka A, Ogawa Y. Role of diffusion-weighted imaging in evaluating therapeutic efficacy after transcatheter arterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma. *Oncol Rep* 2010; 24: 727-732 [PMID: 20664980 DOI: 10.3892/or_00000914]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

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

超声造影灌注诊断多种类型肝转移癌55例

张国栋, 邹单东, 王鹤, 何珏, 黄东

张国栋, 王鹤, 何珏, 黄东, 广西医科大学基础医学院医疗仪器与临床工程教研室 广西壮族自治区南宁市 530021
邹单东, 广西医科大学第四附属医院(柳州市工人医院)检验科 广西壮族自治区柳州市 545000
王鹤, 何珏, 黄东, 江西赣南医学院 江西省赣州市 341000
张国栋, 讲师, 主要从事药物研发和纳米工程研究。
作者贡献分布: 主要课题设计和文章起草由张国栋完成; 病例选择、临床资料收集由邹单东完成; 数据分析由王鹤、何珏及黄东完成; 文章修改和审阅由张国栋完成。
通讯作者: 张国栋, 讲师, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路22号, 广西医科大学基础医学院医疗仪器与临床工程教研室。 zhangguodong_gx@163.com
收稿日期: 2013-05-29 修回日期: 2013-07-12
接受日期: 2013-07-18 在线出版日期: 2013-09-28

Value of contrast-enhanced ultrasound in diagnosis of liver metastases: Analysis of 55 cases

Guo-Dong Zhang, Dan-Dong Zou, He Wang, Yu He, Dong Huang

Guo-Dong Zhang, He Wang, Yu He, Dong Huang, Department of Medical Instruments and Clinical Engineering, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Dan-Dong Zou, Department of Laboratory Medicine, Liuzhou Worker Hospital, Liuzhou 545000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
He Wang, Yu He, Dong Huang, Medical College of Ganzhou City, Ganzhou 341000, Jiangxi Province, China
Correspondence to: Guo-Dong Zhang, Lecturer, Department of Medical Instruments and Clinical Engineering, Guangxi Medical University, 22 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. zhangguodong_gx@163.com
Received: 2013-05-29 Revised: 2013-07-12
Accepted: 2013-07-18 Published online: 2013-09-28

Abstract

AIM: To assess the value of contrast-enhanced ultrasound (CEU) in the diagnosis of liver metastases.

METHODS: Fifty-five patients who were diagnosed with a malignant tumor and focal liver lesions highly suspected of metastases underwent CEU and plain ultrasound. The size and number of intrahepatic lesions detected by CEU and plain ultrasound were recorded and compared.

RESULTS: CEU revealed 193 lesions in 53 patients, and ultrasound revealed 147 lesions in 50 patients. The perfusion characteristics of CEU had four main forms of manifestations: rapid ring enhancement of the tumor, rapid mass-like enhancement and rapid clearance during the arterial phase, no enhancement of the lesion during the period between the arterial phase and parenchymal phase, and delayed enhancement of the lesion during the arterial phase or portal venous phase and mild withdrawal in the parenchyma in the later stage.

CONCLUSION: CEU has a higher accuracy than plain ultrasound in the diagnosis of liver cancer, especially early liver cancer in which small lesions are newly formed.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Contrast-enhanced ultrasound; Ultrasound; Liver metastases

Zhang GD, Zou DD, Wang H, He Y, Huang D. Value of contrast-enhanced ultrasound in diagnosis of liver metastases: Analysis of 55 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2849-2853 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2849.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2849>

摘要

目的: 观察超声造影在肝转移癌患者中的诊断价值。

方法: 临床采用超声造影技术对55例诊断为恶性肿瘤并经超声检测高度怀疑存在肝占位患者进行影像学检查, 同时对55例患者进行普通超声。观察并记录两种影像学检查下肝内病灶的大小以及数目等。

结果: 超声造影检查共发现53例193个病灶, 普通超声共发现50例147个病灶。超声造影的灌注特征主要有4种表现形式: 第1种为肿瘤周边呈快速环状强化; 第2种为动脉期快速团块强化, 快速廓清; 第3种为动脉期至实质期病灶内

■背景资料

与传统的超声检查不同, 超声造影在超声结合造影剂的基础上, 能够显著增强肝脏的二维超声信号, 通过屏幕能够提供肿瘤组织与周围正常组织之间明显的血流灌注差异, 从而较大程度上提升了超声的灵敏性与特异性。SonoVue、CnTI实时灰阶超声造影匹配成像技术是目前临床上较常用的超声造影技术, 在肝脏、肾脏肿瘤检测方面, 已有较多研究报道。其能增加肿瘤血管性病变的检出率, 对于转移性癌的诊断亦有较高的准确性。

■同行评议者

吴泰瑞, 教授, 山东省立医院肝胆外科

■ 研发前沿

超声造影则是近年来被用于临床的一种新型超声检测手段,特别在联合使用了SonoVue、CnTI技术后,能够产生二次谐波图像,二次谐波图像的生成可以显著帮助区分肝实质与病灶之间的回声变化。

均无增强;第4种为门脉期或动脉期出现延迟增强现象,而在实质后期出现轻度退出。

结论: 超声造影在临床诊断肝转移瘤中具有较高的临床准确率,特别在病变早期,微小病灶刚形成阶段,有着较高的检测阳性率。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 超声造影; 灌注; 肝转移瘤

核心提示: 本研究采用SonoVue、CnTI实时灰阶超声造影匹配成像技术对临床怀疑为肝转移瘤患者中的诊断价值进行了临床观察,对肿瘤检出率、造影剂灌注时相以及回声变化规律进行了观察探讨,结果表明,超声造影在临床诊断肝转移瘤中具有较高的临床准确率,特别在病变早期,微小病灶刚形成阶段,有着较高的检测阳性率。

张国栋, 邹单东, 王鹤, 何珏, 黄东. 超声造影灌注诊断多种类型肝转移瘤55例. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2849-2850
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2849.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2849>

0 引言

随着近年来影像学技术的发展以及超声造影的广泛应用,目前对于脏、肾脏等脏器血管性病变造影的研究亦有了较大的进展,其在诊断肿瘤发病中的研究已有了一些文献报道^[1]. 与传统的超声检查不同,超声造影在超声结合造影剂的基础上,能够显著增强肝脏的二维超声信号,通过屏幕能够提供肿瘤组织与周围正常组织之间明显的血流灌注差异,从而较大程度上提升了超声的灵敏性与特异性^[2]. SonoVue、CnTI实时灰阶超声造影匹配成像技术是目前临床上较常使用的超声造影技术,在肝脏、肾脏肿瘤检测方面,已有较多研究报告^[3-5]. 其能增加肿瘤血管性病变的检出率,对于转移性癌的诊断亦有较高的准确性. 本研究采用SonoVue、CnTI实时灰阶超声造影匹配成像技术对临床怀疑为肝转移瘤患者中的诊断价值进行了临床观察,对肿瘤检出率、造影剂灌注时相以及回声变化规律进行了观察探讨,现报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 2011-01/2012-12我院共对197例肝占位患者进行超声造影检查,其中55例检查后被确诊为恶性肿瘤并高度怀疑存在肝转移. 对患者原发性癌进行统计,其中26例为消化系肿瘤、

12例为乳腺癌、6例为呼吸道肿瘤、7例为肉瘤、4例为其他肿瘤. 其中男性患者25例,女性患者30例,年龄34-79岁,平均年龄57.1岁±12.2岁. 55例患者均进行普通超声检查,结果示51例存在肝占位. 55例患者中,有40例在超声造影检查后进行手术或穿刺活检,已经病理检查而确诊,15例为患者已存在原发性肿瘤,近期经影像学检查发现肝脏内存在新发病灶而确诊. 病理检查需要2名病理科医师进行(临床工作至少10年以上),并对结果进行双盲诊断. 对于超声造影检查后呈现不明显病变的,或穿刺后经病理检测仍难以确诊者,可以重新进行1次超声造影或穿刺活检. 本研究在实施前已得到我院伦理委员会的批准. 同时亦取得患者及家属充分理解、知情,研究实施前均已签署知情同意书. 本研究所使用的仪器为Technos DU6,同时配备CnTI实时超声造影匹配成像技术. 超声造影剂为SonoVue(Bracco公司),造影剂微泡为磷脂微囊的六氟化硫(sulfur hexafluoride, SF₆), pH = 4.5-7.5,直径在2.5 μm左右. 在患者接受超声造影前,先将造影剂冻干粉溶解于5 mL生理盐水中,充分混匀,配成浓度为5 mg/mL, SF₆有效成分12 mg/人的造影剂. 每例患者均给予肘静脉注射2.4 mL造影剂,注射时间宜快,3 s内注射完毕.

1.2 方法 在进行造影剂静脉给药前,应进行一次常规肝脏超声检查,对患者肝脏内部肿瘤的位置、大小以及数目等进行详细的观察、记录. 由于肝转移瘤患者肝内转移病灶往往存在多处,所以在超声造影检查时,需要进行更多的灌注时相观察. 首先,根据普通超声的检查结果,我们将肿瘤病灶最多的部位作为扫查切面,扫描时使用CnTI技术. 此时,在机器屏幕上还不能见到肝灰阶图像. 当给患者注入造影剂后,即可见到该位置肿瘤灌注以及回声强度的改变. 当扫描后得到实质期有诊断价值的时相后,迅速对整个肝脏常进行扫描,能够发现造影剂已经退出呈弱回声的新肿瘤病灶区域. 对于图像效果显示不佳或需要进行其他位置造影的,一般在第一次检查后10 min后进行。

统计学处理 应用SPSS14.0软件,计量资料以mean±SD表示,均数比较采用 t 检验、方差因素分析,计数资料比较采用方差检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝内病灶大小及数目检测结果分析 超声造

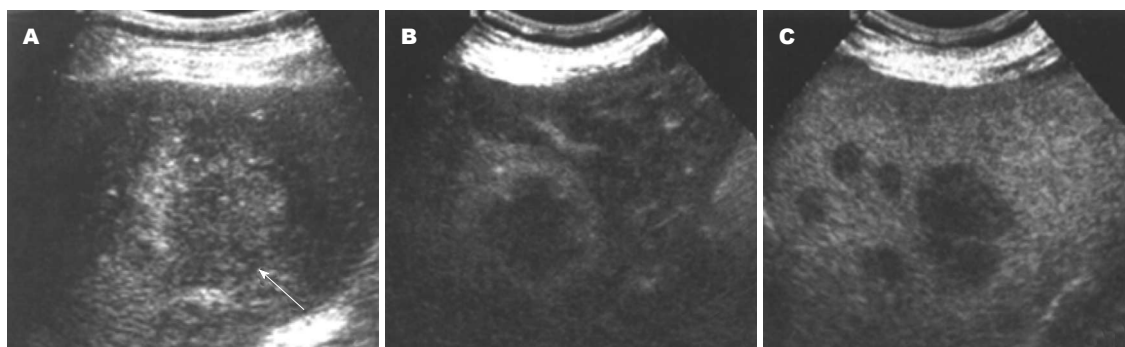


图1 结肠癌肝转移. A: 肝脏内不可见转移灶; B: 动脉期能够见到明显的环状强化; C: 实质期, 肝右后叶可见4个小转移灶.

■相关报道

临床研究表明, 25%-50%的肿瘤患者在原发性肿瘤发生之初, 就出现有肝转移. 目前研究认为, 肝转移好发机制可能与肝脏血液供应充足有关.

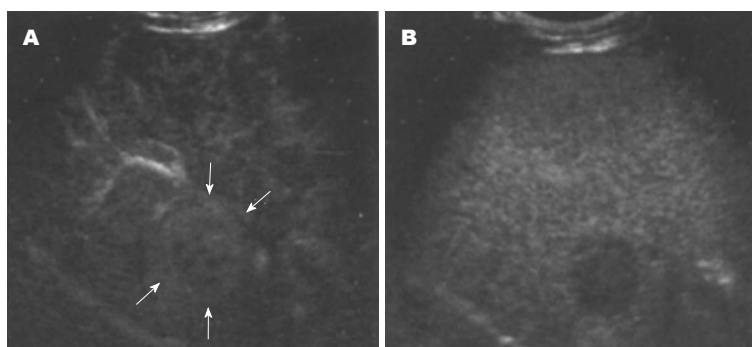


图2 胃癌术后1 mo. A: 造影剂注入15 s, 肝脏内肿瘤转移灶出现迅速环状强化; B: 1 min后, 肿瘤内部无回声.

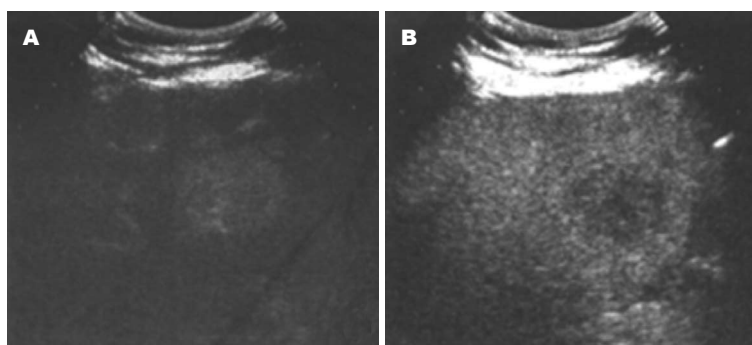


图3 肝内占位. A: 造影剂注入12 s后, 肿瘤内部出现迅速团状强化; B: 26 s后, 肿瘤内部造影剂逐渐廓清.

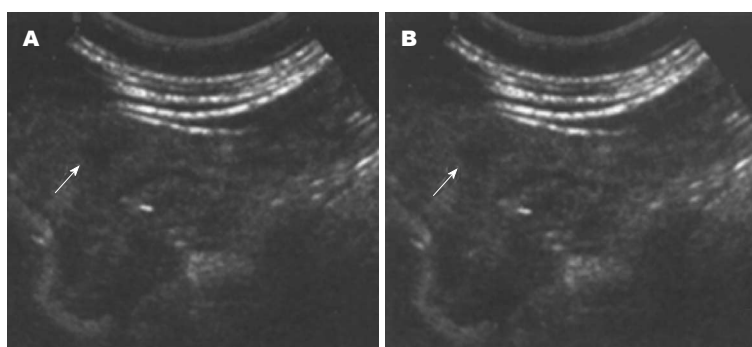


图4 肺癌肝转移. A: 动脉期肝右叶占位未见显著强化; B: 自动脉期至4 min时, 肿瘤内部一直未出现充盈, 回声低于肝脏.

影检查结果显示, 共检测出53例193个肝内转移癌病灶, 2例经检查排除肝转移癌可能, 典型图像表现如图1-5. 普通超声检查结果显示, 共检测出50例147个肝内转移癌病灶. 此外, 检查发现普通超声比超声造影少检测46个肝内病灶, 大多属于病灶大小0.8-1.5 cm之间. 超声造影检查

1 cm以下的小病灶能力明显优于普通超声, 两组差异比较有统计学意义($P<0.05$)(表1).

2.2 肝转移癌造影灌注特征 选择显示病灶最多的扫查切面观察109个病灶的灌注特征, 本研究发现, 在进行超声造影后, 可根据动脉期灌注形式分为以下几种表现: 环状增强、团状增强、

■应用要点

对于肝转移灶的数目、大小以及分布部位的检查,对于进一步治疗方案的确定提供了直接帮助。

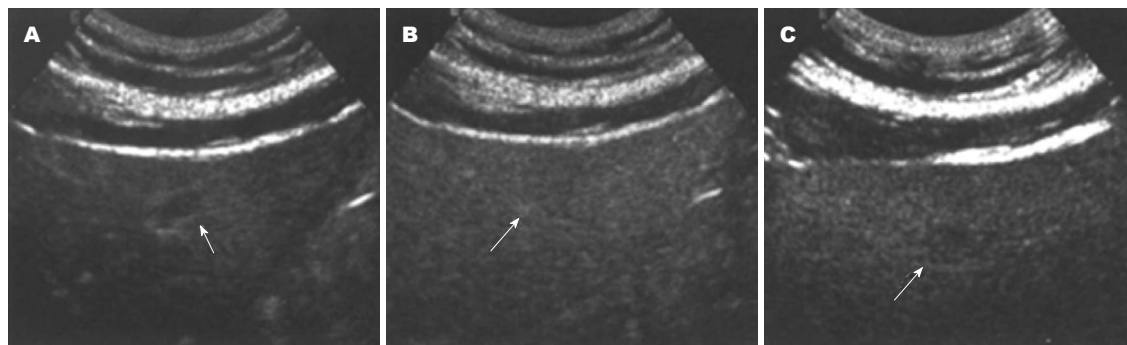


图5 乙状结肠癌肝转移1年。A: 肿瘤周围可见似环状增强为微泡闪烁血管; B: 35 s后, 门脉期肿瘤内部与肝同步灌注呈等回声; C: 4 min后, 造影剂轻度退出, 呈弱回声。

表1 肝内病灶大小及数目检测结果分析 (n , mean \pm SD)

检查方法	总病灶	病灶数				最小病灶大小(cm)
		<1 cm	1-3 cm	>3-5 cm	>5 cm	
超声造影	193	37	112	25	19	0.6
普通超声	147	16	84	26	21	0.9
χ^2 值		4.35	0.03	1.47	0.17	-
P 值		<0.05	>0.05	>0.05	>0.05	-

表2 肝转移癌109个病灶超声造影开始增强及开始消退时间 (n , mean \pm SD)

原发癌	n	开始增强时间(min)	开始消退时间(min)
消化系肿瘤	45	14.4 \pm 4.3	101.4 \pm 122.9
乳腺癌	23	13.9 \pm 7.5	34.8 \pm 26.0 ^{acog}
肺癌	15	13.8 \pm 0.9	84.7 \pm 25.8
间质肉瘤	17	22.8 \pm 7.8	87.6 \pm 30.7
其他	9	11.8 \pm 1.9	146.2 \pm 97.2

$t = 2.57$, $^{\circ}P < 0.05$ vs 消化系肿瘤; $t = 5.79$, $^{\circ}P < 0.05$ vs 肺癌; $t = 5.87$, $^{\circ}P < 0.05$ vs 间质肉瘤; $t = 5.19$, $^{\circ}P < 0.05$ vs 其他。

延迟增强、无增强。本研究中, 有79例为环状增强, 主要表现为, 造影后动脉期肿瘤病灶周围出现迅速环状增强, 造影剂在实质期逐渐出现不同程度的廓清; 17例为团状增强, 表现为造影后动脉期肿瘤病灶出现迅速的团状增强, 并在门脉期及实质期退出; 9例为无增强, 表现为造影后动脉期到实质期过程中, 肿瘤未发生任何增强、变化; 4例为延迟增强, 表现为造影后, 动脉期或门脉期出现明显的延迟增强或与肝同步, 并在实质后期轻度退出。109个经超声造影重点检查的肝转移癌灶灌注开始增强时间、开始消退时间如表2、表3所示。

3 讨论

原发性肿瘤出现肝转移在临床上较为多见, 临

表3 肝转移灶灌注后不同增强形式的造影剂开始增强及消退时间 (n , mean \pm SD)

增强形式	n	开始增强时间(min)	开始消退时间(min)
环状增强	79	16.1 \pm 7.8 ^a	81.0 \pm 88.2 ^e
团状增强	17	13.1 \pm 2.1 ^c	59.2 \pm 48.3 ^g
无增强	9	-	-
延迟增强	4	33.7 \pm 12.7	254.8 \pm 51.2

$t = 4.12$, $^{\circ}P < 0.05$; $t = 6.75$, $^{\circ}P < 0.05$; $t = 3.89$, $^{\circ}P < 0.05$; $t = 7.30$, $^{\circ}P < 0.05$ vs 延迟增强。

床研究表明^[6], 25%-50%的肿瘤患者在原发性肿瘤发生之初, 就出现有肝转移。目前研究认为^[7], 肝转移好发机制可能与肝脏血液供应充足有关。由于肝脏拥有门静脉以及肝动脉双重血供, 因此具有转移灶生长的理想环境^[8]。临床上如能对肝转移病灶进行迅速、可靠的检查, 对于患者的预后极为重要。此外, 对于肝转移灶的数目、大小以及分布部位的检查, 对于进一步治疗方案的确定提供了直接帮助^[9]。目前, 临床上用于检测肝转移癌的影像学方法较多, 常见的有超声、CT以及MRI等^[10]。当临床研究发现, 常规超声的特异性与灵敏性明显不如CT以及MRI。但是, 对于直径<1 cm的小肿瘤, CT与MRI检查往往也会出现漏诊^[11]。超声造影则是近年来被用于临床的一种新型超声检测手段, 特别在联合使用了SonoVue、CnTI技术后, 能够产生二次谐波

图像. 二次谐波图像的生成可以显著帮助区分肝实质与病灶之间的回声变化. 另外, 超声造影技术还可以通过低机械指数下的延续实时成像, 能够观察到病灶血管与微循环灌注时相改变, 从而帮助判断类型与组织学特征.

3.1 超声造影与肝转移癌检出率 本研究采用CnTI低机械指数成像技术进行超声造影检查, 发现超声造影比普通超声多检测出46个肝转移病灶, 其中以 <1 cm的病灶为主. 说明在小病灶的检查上, 超声造影相比较普通超声, 更有优势. 此外, 超声造影技术的使用, 对于微小病灶的实质期发现有较高的临床价值. 有研究表明, 超声造影与传统超声比较, 其在检测微小病变的能力方面更强, 当肿瘤大小超过0.3 cm时即可发现^[12]. 本研究结果表现, 超声造影检测出最小的肿瘤病灶大小为0.6 cm. 此外, 我们对造影检查过程中退回基波状态以及造影完毕后退回高机械指数状态下再次进行超声检测, 结果发现微小的肿瘤病灶还是不能被检测出来, 表明超声造影检查, 可以提高微小肝转移肿瘤的检查阳性率, 起到早期确诊的作用.

3.2 肝转移癌造影的灌注特征 目前, 关于动脉期的造影灌注形式主要有以下两个方面的认识^[13-15]: (1)原发性消化系癌, 发生肝转移: 低血流供应的病灶一般为周边环状增强, 并可见轻度点状回声的增强变化, 然后出现造影剂的迅速退出, 增强的病灶出现弱回声, 该类型与血管瘤灌注相比, 差异主要在于退出较快. 本研究发现, 在23例乳腺癌肝转移患者中, 超声造影下肿瘤可见环状增强, 但造影剂在发生退出的时间与其他肝转移肿瘤比较, 更为的迅速; (2)原发性肾细胞癌、恶性黑色素瘤等, 发生肝转移: 此类原发性肿瘤主要为富血管类肿瘤, 在超声造影下, 往往能够见到动脉期出现增强, 边缘增强或无增强, 实质期回声出现缺失, 在增强的肝脏组织中出现无回声或弱回声. 本研究结果发现, 肝转移癌主要存在4种灌注形式, 其中以状增强最为常见, 其实是团状增强, 这与一些国内学者的研究较为相近.

3.3 超声造影灌注时相病理意义 本研究中, 一些

患者肝转移癌灶动脉期的超声造影呈现团状增强, 而另一些患者则呈现无增强. 通过病例检查, 我们能够发现团状增强的肿瘤具有较强的活性, 而无增强的肿瘤则未诊断出明显的恶变倾向. 该表现能够说明超声造影动脉期时相的观察可能帮助临床评估病灶的存活程度, 为临床进一步治疗提供依据.

总之, 超声造影在临床诊断肝转移癌中具有较高的临床准确率, 特别在病变早期, 微小病灶刚形成阶段, 有着较高的检测阳性率.

4 参考文献

- 1 尹珊珊, 陈敏华, 严昆, 吴薇, 杨薇, 范智慧, 王艳滨, 戴莹. 超声造影对肝转移癌的诊断价值. 中华超声影像学杂志 2005; 14: 354-358
- 2 黄建国, 翁高龙, 查莉, 曾书娥, 褚丹, 梅丽丽, 王章容, 李倩, 卢志华. 乳腺浸润性导管癌肝转移的超声造影特性. 中国超声医学杂志 2012; 28: 413-416
- 3 周悦, 高剑波, 郭华, 万娅敏, 张瑞芳, 潘元威. 实时超声造影技术对VX2兔肝癌影像学模型的诊断价值. 世界华人消化杂志 2011; 19: 472-476
- 4 戴新, 李为民, 于立宝, 赵洪强. 超声造影在肝癌肝移植术后肝转移癌射频消融治疗之中的应用. 临床消化病杂志 2012; 24: 91-93
- 5 魏凌琳, 陈晓宇, 叶真. 超声造影误诊肝脏局灶性病变原因分析. 中国医学影像技术 2011; 27: 787-790
- 6 吴洁, 杨薇, 陈敏华. 超声造影在微小及隐匿性肝转移癌的应用进展. 中华临床医师杂志(电子版) 2012; 06: 966-968
- 7 廖继安, 张化诚, 金夏祥, 王爱玉. 不同分化程度、不同病理类型小肝癌患者超声造影表现分析. 中华医学超声杂志(电子版) 2012; 9: 136-141
- 8 陈新燕. 超声造影与增强CT扫描对肝脏局灶性病变的诊断价值比较. 中国基层医药 2013; 20: 507-508
- 9 张珍东, 黄品同, 刘德林, 过姿芳. 实时超声造影对胃肠道癌同时性肝转移微小病灶的诊断价值. 中华超声影像学杂志 2010; 19: 546-547
- 10 裴小青, 刘隆忠, 郑玮, 刘敏, 李静怡, 李安华. 肝局灶性病变超声造影的误诊病例分析. 中华超声影像学杂志 2010; 19: 314-316
- 11 罗葆明, 李高鹏. 超声引导射频消融治疗肝癌的一些难点及其解决方案研究进展. 中华医学超声杂志(电子版) 2011; 8: 1893-1898
- 12 何雁, 李水晶, 张玲, 耿丽娜, 李蕾, 曾金凤. 超声造影在肝肿瘤定性及射频消融治疗效果的评价. 中国超声医学杂志 2012; 28: 629-632
- 13 钱林学, 刘玉江, 丁惠国. 小肝癌的影像学诊断进展. 世界华人消化杂志 2010; 18: 479-486
- 14 刘晓玲, 刘健. 超声造影在肝硬化增生结节及小肝癌鉴别诊断中的研究进展. 中华医学超声杂志(电子版) 2011; 8: 2215-2219
- 15 黄婷, 董常峰, 罗婷婷, 徐伟韬, 李汉英, 何为芬. 小肝癌与肝硬化再生结节的超声造影定量分析的临床价值. 中国超声医学杂志 2012; 28: 733-736

同行评价

本文设计合理, 参考文献较新, 研究有一定指导意义.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



HLA-DRB1*08/16等位基因与广西肝癌家族聚集性的相关性

刘芳, 李国坚, 吴继周, 吴健林, 陈务卿, 马莎莎, 胡蝶飞, 宁秋悦, 庞裕

■背景资料

目前公认肝癌的发生与环境及遗传等因素相关。流行病学调查发现肝癌的发生常存在显著的家族聚集现象,且暴露在同样的环境危险因素下,最终只有少数人患肝癌,提示肝癌的发生可能与遗传密切相关。而HLA基因多态性被认为与肝癌等某些疾病的遗传易感性密切相关。

刘芳, 李国坚, 吴继周, 吴健林, 陈务卿, 马莎莎, 胡蝶飞, 宁秋悦, 庞裕, 广西医科大学第一附属医院感染性疾病科 广西壮族自治区南宁市 530021

刘芳, 硕士, 主要从事肝脏疾病的诊疗和发病机制的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30960170

广西卫生厅重点科研课题基金资助项目, No. 200924

作者贡献分布: 此课题由李国坚、吴继周及刘芳设计; 研究过程及标本采集由刘芳、吴健林、陈务卿、马莎莎、胡蝶飞、宁秋悦及庞裕共同完成; 数据分析由刘芳与吴健林共同完成; 研究器材由吴继周提供; 论文写作由刘芳、李国坚及吴继周共同完成; 吴继周审校。

通讯作者: 李国坚, 教授, 530021, 广西壮族自治区南宁市青秀区双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院感染性疾病科。

liguojianjy@yaho.com.cn

收稿日期: 2013-06-12 修回日期: 2013-07-11

接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-28

Association between HLA-DRB1*08/16 alleles and familial aggregation of hepatocellular carcinoma in Guangxi

Fang Liu, Guo-Jian Li, Ji-Zhou Wu, Jian-Lin Wu, Wu-Qing Chen, Sha-Sha Ma, Die-Fei Hu, Qiu-Yue Ning, Yu Pang

Fang Liu, Guo-Jian Li, Ji-Zhou Wu, Jian-Lin Wu, Wu-Qing Chen, Sha-Sha Ma, Die-Fei Hu, Qiu-Yue Ning, Yu Pang, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Nationality Autonomous Region, China
Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 30960170; and the Science Foundation of Health Bureau of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 200924

Correspondence to: Guo-Jian Li, Professor, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. liguojianjy@yaho.com.cn

Received: 2013-06-12 Revised: 2013-07-11

Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-28

Abstract

AIM: To investigate the association between HLA-DRB1*08/16 alleles and familial aggregation of hepatocellular carcinoma (HCC) in a high-incidence area in Guangxi, China.

METHODS: Two hundred subjects from families which have had two or more than two patients

with hepatocellular carcinoma (FHCC group) and another 200 subjects from families which have not had patients with any malignant tumor (FNC group) were selected. Polymerase chain reaction/sequence specific primer was used to determine the frequencies of HLA-DRB1*08/16 alleles.

RESULTS: There was no statistical difference in the frequency of HLA-DRB1*08 allele between the FHCC group and the FNC group (6.0% vs 5.5%, $\chi^2 = 0.046$, $P = 0.830$). The frequency of HLA-DRB1*08 allele did not significantly increase with the increase in the number of patients with HCC in the FHCC group (5.4% vs 6.5%, $\chi^2 = 0.120$, $P = 0.729$). However, the frequency of HLA-DRB1*16 allele in the FHCC group was significantly higher than that in the FNC group (24% vs 15.5%, $\chi^2 = 4.559$, $P = 0.033$), and the frequency of HLA-DRB1*16 allele rose significantly with the increase in the number of patients with HCC in the FHCC group (17.2% vs 29.9%, $\chi^2 = 4.401$, $P = 0.036$).

CONCLUSION: There may be a significant correlation between HLA-DRB1*16 allele and familial aggregation of hepatocellular carcinoma. However, HLA-DRB1*08 allele may not be associated with familial aggregation of hepatocellular carcinoma.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: HLA-DRB1*08/16; Hepatocellular carcinoma; Familial aggregation

Liu F, Li GJ, Wu JZ, Wu JL, Chen WQ, Ma SS, Hu DF, Ning QY, Pang Y. Association between HLA-DRB1*08/16 alleles and familial aggregation of hepatocellular carcinoma in Guangxi. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2854-2859
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2854.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2854>

摘要

目的: 探讨广西肝癌高发区HLA-DRB1*08/16

■同行评议者

高润平, 教授, 吉林大学第一医院肝胆胰内科

等位基因与广西原发性肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)家族聚集性的关系。

方法: 在广西肝癌高发区配对选择肝癌高发家族成员、无癌家族成员各200例作为研究对象。应用聚合酶链反应/序列特异性引物(polymerase chain reaction/sequence specific primer, PCR-SSP)检测研究对象中HLA-DRB1*08/16等位基因的频率, 分析其与广西肝癌高发区肝癌家族聚集性的关系。

结果: (1)HLA-DRB1*08等位基因在肝癌高发家族成员组携带率(6.0%)及无癌家族成员组的携带率(5.5%)经比较差别无统计学意义($\chi^2 = 0.046$, $P = 0.830$), 而HLA-DRB1*16等位基因在肝癌高发家族成员组携带率(24%)明显高于无癌家族成员组(15.5%), 该基因在两组中分布有显著差异($\chi^2 = 4.559$, $P = 0.033$); (2)随着高发家族中肝癌患者人数的增加, HLA-DRB1*08等位基因的表达频率无差别(5.4% vs 6.5%, $\chi^2 = 0.120$, $P = 0.729$), 而HLA-DRB1*16等位基因的表达频率明显升高(17.2% vs 29.9%, $\chi^2 = 4.401$, $P = 0.036$)。

结论: HLA-DRB1*08可能与广西肝癌家族聚集无明显关系, HLA-DRB1*16可能与广西肝癌家族聚集有关。

© 2013年版权归归世登出版集团有限公司所有。

关键词: HLA-DRB1*08/16; 肝细胞肝癌; 家族聚集性

核心提示: 广西具有其独特的民族、地域特点, 本研究认为HLA-DRB1*16可能与广西肝癌家族聚集有关, 而HLA-DRB1*08可能与其无关。

刘芳, 李国坚, 吴继周, 吴健林, 陈秀卿, 马莎莎, 胡蝶飞, 宁秋悦, 庞裕. HLA-DRB1*08/16等位基因与广西肝癌家族聚集性的相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2854-2859 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2854.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2854>

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是原发性肝癌的主要类型, 约占95%^[1]; 同时也是全球第6大常见肿瘤之一, 导致全球癌症死亡的第3大主因^[2]。目前乙型、丙型肝炎病毒感染, 黄曲霉毒素摄入, 饮水污染, 过量饮酒, 遗传等^[3-5]均被认为是肝癌致病的危险因素。流行病学调查证实, 暴露在同样的环境危险因素下, 如同一

地区饮用相同水源、食用同样黄曲霉毒素污染粮食的人群中, 最终发现只有少数人罹患肝癌^[6], 此外, 流行病学调查同样发现肝癌的发生存在显著的家族聚集现象^[7], 以上均提示肝癌的发生可能与机体的易感基因密切相关。HLA基因多态性已被研究表明与炎症、病毒感染、肿瘤等相关^[8], 其基因组中最具有多态性的基因HLA-DRB1与某些疾病的遗传易感性密切相关^[9]。广西是我国肝癌高发区之一, HLA-DRB1*08/16分别是广西地区的低频率和高频率等位基因^[10,11]。近年来HLA-DRB1的部分等位基因对与广西HBV相关性肝病已有研究^[12], 但尚无DRB1*08/16这两个位点对广西肝癌家庭聚集的影响关系的报道。

1 材料和方法

1.1 材料 在广西肝癌高发区应用配对方法选择研究对象: 即选择肝癌高发家庭成员和与之匹配的无癌家族成员, 其中肝癌高发家族成员为实验组、无癌家族成员为对照组; 配对条件为相同性别、年龄(± 5 岁)、相同民族、相同HB-sAg状况、相同生活环境、相同生活条件。肝癌高发家族成员入选标准为: 直系亲属中发生过两例或以上HCC患者的家庭成员, HCC诊断符合第四届全国肝癌学术会议修订的肝癌诊断标准; 无癌家族成员入选标准为: 直系亲属中未发生过任何恶性肿瘤病例的家族成员。肝癌高发和无癌家族成员各200例, 平均年龄分别为30.4岁 \pm 18.7岁、31.3岁 \pm 18.6岁。所有研究对象均未检测出受丙型肝炎病毒感染。

1.2 方法

1.2.1 标本采集及处理: 抽取研究对象空腹时静脉血5 mL收集于普通血清试管, 2 mL收集于依地酸二钠抗凝试管。血清管中血样离心后送血清于广西医科大学第一附属医院检验中心检测乙型肝炎两对半、HBV DNA、丙型肝炎抗体(若丙型肝炎抗体阳性则进一步检测HCR-RNA)、肝功能等项目。将抗凝管中血样混匀后分装, 每管300 μ L, 置于-80 $^{\circ}$ C美国Thermo Fisher超低温冰箱中保存, 待提取DNA。

1.2.2 DNA的提取及质量监控: 使用购自美国Promega公司的人基因组试剂盒并按其提供的详细步骤对冻存血液提取DNA。提取后用紫外分光光度仪及电泳对DNA质量进行双重监控, 选取纯度 $A_{260/280}$ 比值在1.6-1.8之间、同时电泳条带一、清晰、无杂质的DNA为合格样品。将合

■ 研究前沿

HLA等位基因多态性与乙型肝炎病毒感染及原发性肝癌发生的关系一直是研究热点。广西是我国肝癌高发区之一, 同样存在显著的肝癌家族聚集现象, 而HLA-DRB1*08/16分别是广西地区的低频率和高频率等位基因, 因此探讨HLA-DRB1*08/16位点与广西肝癌家族聚集是否存在密切关系成为本文研究重点。

■ 相关报道

HLA等位基因多态性与原发性肝癌、宫颈癌、鼻咽癌、甲状腺乳头状癌、白血病、脑神经胶质瘤等遗传易感密切相关。同时马莎莎等发现HLA-DRB1*04等位基因与广西肝癌高发区原发性肝癌家族聚集性存在相关性。

表 1 引物序列、退火温度及时间、目的基因长度

基因	引物序列(5'-3')	退火	目的片段(bp)
HLA-DRB1*08	上游 AGTACTCTACGGGTGAGTGTT	61 °C, 40 s	214
	下游 CTGCAGTAGGTGTCCACCAG		
HLA-DRB1*16	上游 TCCTGTGGCAGCCTAAGAG	56 °C, 40 s	137
	下游 CTCGTCACCGCCCGGT		
HGH(内参)	上游 CAGTGCCTTCCCAACCATTCCCTTA 下游 ATCCACTCACGGATTCTGTGTGTTTC	与位点相同	432

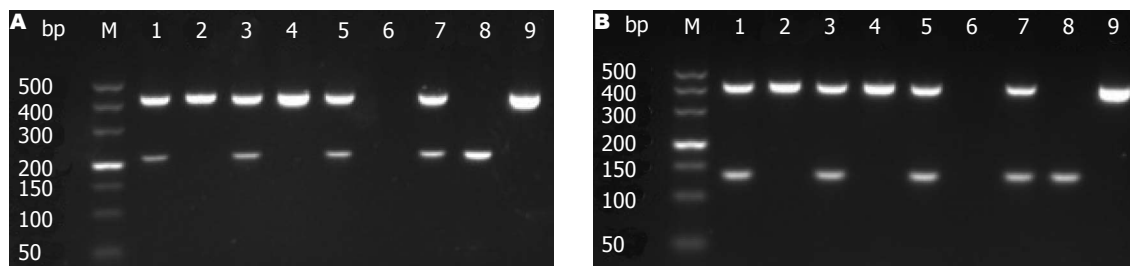


图 1 HLA-DRB1*08和HLA-DRB1*16电泳图。A: HLA-DRB1*08, M: Marker; 1, 3, 5: 为阳性扩增产物; 2, 4: 阴性扩增产物; 6: 标准阴性对照; 7: 标准阳性对照; 8: 无内参的阳性对照(214 bp); 9: 无目的基因的内参照(432 bp); B: HLA-DRB1*16, M: Marker; 1, 3, 5: 阳性扩增产物; 2, 4: 阴性扩增产物; 6: 标准阴性对照; 7: 标准阳性对照; 8: 无内参的阳性对照(137 bp); 9: 无目的基因的内参照(432 bp)。

格的DNA浓度调整为30-50 ng/ μ L, 放置于-20 °C 澳柯玛冰柜中保存备用。

1.2.3 引物的制备: 以Olerup等^[13]、Bunce等^[14]文献作为参照设计HLA-DRB1*08/16等位基因的特异性引物各一对(表1)。另再设计一对人类生长因子引物(human growth factor primer, HGH)作为内参照来判断PCR反应体系是否正常。各等位基因的引物序列及人类生长因子内参序列均由上海生工生物工程有限公司合成。

1.2.4 PCR反应体系及反应条件: (1)反应体系为25 μ L: TaKaRa公司的Premix Taq酶12.5 μ L, DNA模板为2 μ L, 目的基因引物上、下游各0.6 μ L(浓度均为10 μ mol/L), 内参基因引物上、下游各0.2 μ L(浓度均为10 μ mol/L), ddH₂O 8.9 μ L。(2)反应条件: 预变性94 °C 3 min \rightarrow 变性94 °C 30 s, 退火具体温度及时间如表1, 延伸72 °C 1 min(35次循环) \rightarrow 末次延伸72 °C 5 min。

1.2.5 PCR产物的确定: 将PCR产物加于3%琼脂糖凝胶孔中, 置胶于0.5 \times TBE液中进行电泳, 使用凝胶成像系统仪观看结果并与Marker条带比较初步确定阳性产物。将阳性产物送上海生工生物工程有限公司进行测序, 测序结果与从NCBI GenBank检索的相应基因序列进行比对BLAST, 相似性达95%-99%, 进一步确定所扩增的产物为目的基因片段。

统计学处理 采用SPSS16.0对数据进行分析。对各等位基因的表达频率进行直接计算, 各组之间等位基因表达频率的差异用 χ^2 检验, 若理论频数 $T < 1$ 或 $1 < T < 5$ 的格子数大于总格子数的1/5时采用Fisher确切概率法算P值, 取检验水准 $\alpha = 0.05$ 。关联强度采用比值比(OR)及其95%的可信区间(95%CI)来表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HLA-DRB1*08/16的电泳结果 PCR反应的质控为: 标准阴性对照、标准阳性对照、无内参的阳性对照、无目的基因的内参照(432 bp)。Marker由DNA片段为500、400、300、200、150、100、50 bp组成共7条带。结合Marker及PCR反应的质控, 从而初步确定HLA-DRB1*08/16阳性扩增产物及阴性扩增产物(图1)。

2.2 HLA-DRB1*08/16的测序结果图 利用Chromas软件查看HLA-DRB1*08/16测序结果(图2A、B), 并将其与NCBI GenBank检索的相应基因序列进行比对BLAST确定所扩增片段分别符合HLA-DRB1*08/16等位基因(图2)。

2.3 HLA-DRB1*08/16等位基因在肝癌高发、无癌家族成员组间的频率分布比较 肝癌高发家族成员中HLA-DRB1*08/16基因频率分别6.0%(12/200)和24%(48/200); 无癌家族

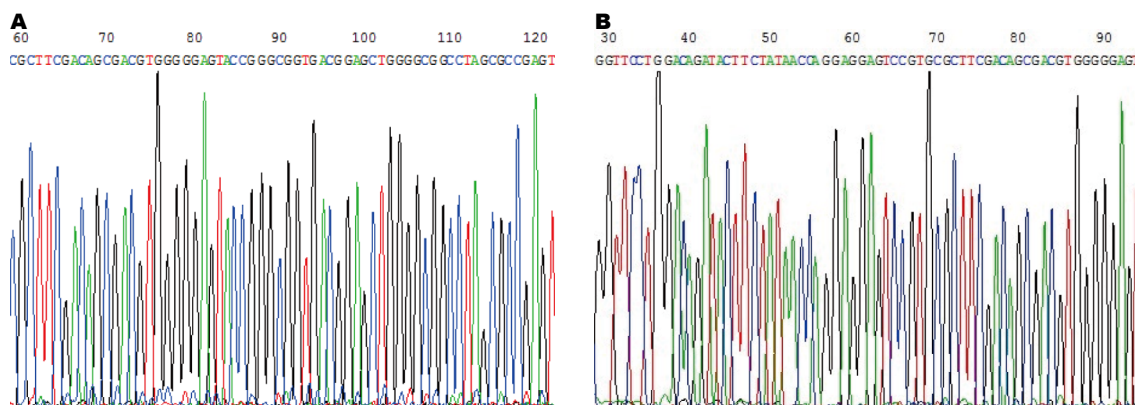


图 2 HLA-DRB1*08和HLA-DRB1*16测序结果. A: HLA-DRB1*08; B: HLA-DRB1*16.

■创新盘点

本研究非传统的病例-对照研究,通过对肝癌高发家族成员及无癌家族成员的HLA-DRB1*08/16位点的检测,研究HLA-DRB1等位基因在广西肝癌高发区肝癌家族聚集中的作用。

表 2 HLA-DRB1*08/16在肝癌高发、无癌家族组间的频率分布比较 [$n = 200, n(\%)$]

分组	HLA-DRB1*08	HLA-DRB1*16
肝癌高发家族成员	12(6.0)	48(24.0)
无癌家族成员	11(5.5)	31(15.5)
χ^2 值	0.046	4.559
P 值	0.830	0.033
OR(95%CI)	1.097(0.472-2.547)	1.722(1.042-2.844)

成员中HLA-DRB1*08/16基因频率分别为5.5%(11/200)、15.5%(31/200); HLA-DRB1*08/16在两组中的总表达频率分别是5.8%(23/400)、19.8%(79/400)。经统计学分析HLA-DRB1*08等位基因在肝癌高发、无癌家族成员组间的分布频率比较无明显差别(表2), 而HLA-DRB1*16等位基因在肝癌高发、无癌家族成员组间的分布频率比较差别具有统计学意义, 肝癌家族组明显高于无癌家族组(表2)。

2.4 HLA-DRB1*08/16等位基因与高发家族中患肝癌个数的关系 将肝癌高发家族成员按家族中患肝癌人数分组, 分析结果显示随着高发家族中肝癌患者人数的增加, HLA-DRB1*08等位基因的表达频率无差别(表3)。而HLA-DRB1*16等位基因的表达频率随着高发家族中肝癌患者人数的增加而增加(表4)。

3 讨论

HLA复合体是人类多态性极其丰富的遗传系统, 其II类基因区域中尤以HLA-DRB1等位基因多态性最复杂, 且是机体免疫基因I区所在区域, 因此与免疫应答关系非常密切^[15]。目前HLA-II类基因与肝癌相关性具体机制尚不清楚, 大多数学者^[16]认为HLA与原发性肝癌的关联机制很可能是通过影响机体的肿瘤免疫反应, 使肿

瘤具有逃避免疫监视的能力来实现的。HLA-II类分子参与细胞外抗原呈递, 抗原提呈细胞提呈的HLA-II-肽复合物与CD4分子直接相结合后CD4⁺ T细胞分泌不同的细胞因子激活B淋巴细胞、CD8⁺ T淋巴细胞、NK细胞、CTL(细胞毒性T细胞)等发挥各自的效应功能共同控制肿瘤细胞的免疫应答。遗传背景不同的HLA-II基因型个体所介导的免疫识别和激活能力及使肝癌逃避免疫监视的能力是不一样的, 与肝癌的发生可表现出促进、无关、抑制作用。因此, 不同的HLA-II基因型家族中可表现出肝癌家族聚集或者与肝癌家族聚集无关。

HLA-II类基因与原发性肝细胞癌之间的关联已经被国内外学者进行了大量的研究报道。埃及学者El-Chennawi等^[17]研究发现HLA-DRB1*04和DQB1*02等位基因在50例肝细胞癌患者组中的频率明显高于50例正常人对照组, 从而推测HLA-DRB1*04和DQB1*02可能为埃及人肝癌易感基因; Donaldson等^[18]认为HLA-DRB1*1501、DQA1*0102、DPB1*0503三个等位基因是香港人群肝癌的易感基因, 而DQA1*03、DQB1*0302、DPB1*0201是其人群的肝癌拮抗基因; 陈兰羽等^[19]研究上海汉族人群发现HLA-DRB1*17等位基因阳性的慢性乙型肝炎和乙型肝炎肝硬化患者容易转变为肝细胞癌; 罗双艳

■应用要点

本研究通过PCR-SSP技术检测HLA-DRB1等位基因多态性,以期寻找肝癌家族聚集的易感基因,对肝癌高发家族高发原因有待进一步深入研究。

表 3 HLA-DRB1*08表达频率与肝癌高发家族中患肝癌人数的关系 $n(\%)$

家族中患肝癌例数	n	HLA-DRB1*08		χ^2 值	P 值	OR(95%CI)
		阳性	阴性			
2-3	93	5(5.4)	88(94.6)	0.120	0.729	0.812(0.249-2.649)
≥ 4	107	7(6.5)	100(93.5)			

表 4 HLA-DRB1*16表达频率与肝癌高发家族中患肝癌人数的关系 $n(\%)$

家族中患肝癌例数	n	HLA-DRB1*16		χ^2 值	P 值	OR(95%CI)
		阳性	阴性			
2-3	93	16(17.2)	77(82.8)	4.401	0.036	0.487(0.247-0.960)
≥ 4	107	32(29.9)	75(70.1)			

等和黄爱春等^[20,21]研究发现HLA-DRB1*07及13等位基因可能是广西地区原发性肝癌的拮抗基因, HLA-DRB1*14等位基因可能是易感基因; 韩国学者Jin等^[22]发现HLA-DRB1*140101可能存在增加慢性乙型肝炎患者发展成肝癌的潜在风险. 广西是全国肝癌高发区, 且存在明显的肝癌家族聚集现象. 本文选择广西高频率基因HLA-DRB1*16、低频率基因HLA-DRB1*08进行研究, 探讨其与肝癌家族聚集性的关系. 实验结果显示HLA-DRB1*08/16总表达频率为5.8%、19.8%, 进一步证实其为低频率及高频率基因. HLA-DRB1*08基因在肝癌高发家族成员组及无癌家族成员组的分布频率分别为6.0%、5.5%; HLA-DRB1*16基因在肝癌高发家族成员组及无癌家族成员组的分布频率分别为24%、15.5%; 经统计学分析HLA-DRB1*08等位基因在肝癌高发、无癌家族成员组间的分布频率比较无明显差别($P = 0.830 > 0.05$), 而HLA-DRB1*16等位基因在肝癌高发、无癌家族成员组间的分布频率比较差别具有统计学意义($P = 0.033 < 0.05$), 肝癌家族成员组明显高于无癌家族成员组($OR = 1.722$, 95%CI: 1.042-2.844). 将肝癌高发家族成员按家族中患肝癌人数分为2-3例组、4例及以上组, HLA-DRB1*08等位基因的表达频率在两组中的分别为5.4%、6.5%, HLA-DRB1*16等位基因在上述两组中的表达频率分别为17.2%、29.9%. 分析结果显示随着高发家族中肝癌患者人数的增加, HLA-DRB1*08等位基因的表达频率无差别($P = 0.729 > 0.05$), 而 HLA-DRB1*16等位基因的表达频率明显升高($P = 0.036 < 0.05$, $OR = 0.487$, 95%CI: 0.247-0.960). 以上研究结果共同表明, HLA-DRB1*08等位基因可能与广西肝癌

家族聚集无明显关系, 而HLA-DRB1*16等位基因可能与广西肝癌家族聚集有关联.

广西壮族自治区具有其独特的民族、地域特点, 本研究认为HLA-DRB1*16可能与广西肝癌家族聚集有关, 而HLA-DRB1*08可能与其无关. 然而肝癌家族聚集性相关基因可能并不是由单一位点孤立发挥作用, 可能是多个位点表现出相互协同或拮抗的作用所导致. 后续研究中有必要针对HLA-DRB1等位基因扩大样本量进行更深入的研究.

致谢: 感谢万裴琦、韦柯利在本试验中给予的大力帮助.

4 参考文献

- 1 骆抗先, 陈金平, 李平. 乙型肝炎基础和临床. 第4版. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 731-732
- 2 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 10-29 [PMID: 22237781 DOI: 10.3322/caac.20138]
- 3 McGlynn KA, London WT. The global epidemiology of hepatocellular carcinoma: present and future. *Clin Liver Dis* 2011; 15: 223-243, vii-x [PMID: 21689610 DOI: 10.1016/j.cld.2011.03.006]
- 4 米登海, 罗好曾, 陈学鹏, 张文华, 陈瑞萍. 肝癌遗传模式与危险因素病例-对照研究. *中国公共卫生* 2006; 22: 849-850
- 5 任建松, 乔友林. 原发性肝癌危险因素与预防研究进展. *中国肿瘤* 2008; 17: 293-296
- 6 杨志国, 谢裕安, 匡志鹏, 罗小玲, 张维明, 冷朝晖. 广西扶绥人群GSTM1和GSTT1基因多态性与肝癌易感性关系的研究. *中华肿瘤防治杂志* 2009; 16: 970-973
- 7 吴继周, 李国坚, 陈务卿, 臧宁, 吴健林, 玉艳红, 陈茂伟, 韦颖华, 万裴琦, 胡蝶飞, 宁秋悦, 贺荣. 广西新发现肝癌高发点的初步流行病学研究. *内科* 2009; 4: 678-680
- 8 潘斌, 李伟毅. HLA多态性与疾病机制关联的研究进展. *细胞与分子免疫学杂志* 2011; 27: 1157-1160
- 9 Czaja AJ, Donaldson PT. Genetic susceptibilities for immune expression and liver cell injury in autoim-

- mune hepatitis. *Immunol Rev* 2000; 174: 250-259 [PMID: 10807521]
- 10 潘尚领, 刘承武, 龙桂芳, 袁志刚, 石文, 林伟雄, 陈萍, 陈晶, 陈文成, 周小玲. 广西壮族HLA-DRB1基因的多态性及其与主要周边名族的比较. *中华微生物学和免疫学杂志* 2005; 25: 48-51
- 11 Shi L, Huang XQ, Shi L, Tao YF, Yao YF, Yu L, Lin KQ, Yi W, Sun H, Tokunaga K, Chu JY. HLA polymorphism of the Zhuang population reflects the common HLA characteristics among Zhuang-Dong language-speaking populations. *J Zhejiang Univ Sci B* 2011; 12: 428-435 [PMID: 21634035 DOI: 10.1631/jzus.B1000285]
- 12 韦柯利, 陈务卿, 吴继周, 吴健林, 宁秋月, 李红玉. HLA-DRB1/12/15与广西HBV相关性肝病的关系. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 2570-2575
- 13 Olerup O, Zetterquist H. HLA-DR typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours: an alternative to serological DR typing in clinical practice including donor-recipient matching in cadaveric transplantation. *Tissue Antigens* 1992; 39: 225-235 [PMID: 1357775]
- 14 Bunce M, O'Neill CM, Barnardo MC, Krausa P, Browning MJ, Morris PJ, Welsh KI. Phototyping: comprehensive DNA typing for HLA-A, B, C, DRB1, DRB3, DRB4, DRB5 & DQB1 by PCR with 144 primer mixes utilizing sequence-specific primers (PCR-SSP). *Tissue Antigens* 1995; 46: 355-367 [PMID: 8838344]
- 15 Thio CL, Thomas DL, Karacki P, Gao X, Marti D, Kaslow RA, Goedert JJ, Hilgartner M, Strathdee SA, Duggal P, O'Brien SJ, Astemborski J, Carrington M. Comprehensive analysis of class I and class II HLA antigens and chronic hepatitis B virus infection. *J Virol* 2003; 77: 12083-12087 [PMID: 14581545]
- 16 Rees RC, Mian S. Selective MHC expression in tumours modulates adaptive and innate antitumour responses. *Cancer Immunol Immunother* 1999; 48: 374-381 [PMID: 10501850]
- 17 El-Chennawi FA, Auf FA, Metwally SS, Mosaad YM, El-Wahab MA, Tawhid ZE. HLA-class II alleles in Egyptian patients with hepatocellular carcinoma. *Immunol Invest* 2008; 37: 661-674 [PMID: 18821214 DOI: 10.1080/08820130802111605]
- 18 Donaldson PT, Ho S, Williams R, Johnson PJ. HLA class II alleles in Chinese patients with hepatocellular carcinoma. *Liver* 2001; 21: 143-148 [PMID: 11318984]
- 19 陈兰羽, 陈建杰, 章晓鹰. 上海地区汉族人群肝细胞癌与HLA-DRB1等位基因遗传易感性相关的研究. *浙江医学* 2007; 29: 305-306
- 20 罗双艳, 李国坚, 吴健林, 吴继周, 韦颖华, 万裴琦, 黄爱春, 李兰兰. HLA-DRB1及等位基因与原发性肝癌的相关性研究. *中国现代医学杂志* 2010; 20: 2000-2003
- 21 黄爱春, 吴继周, 吴健林, 陈务卿, 韦颖华, 罗双艳, 宁秋悦, 李兰兰. HLA-DRB1*14和*15等位基因与肝癌的相关性. *临床肝胆病杂志* 2010; 26: 420-422
- 21 Jin YJ, Shim JH, Chung YH, Kim JA, Choi JG, Park WH, Lee D, Lee YS, Kim SE, Kim SH, Yang SH. Relationship of HLA-DRB1 alleles with hepatocellular carcinoma development in chronic hepatitis B patients. *J Clin Gastroenterol* 2012; 46: 420-426 [PMID: 22499074 DOI: 10.1097/MCG.0b013e318239f9cc]

■同行评价

本文发现HLA-DRB1*16等位基因的高检出率与广西肝癌家族聚集有关. 本研究说明肝癌的发生与遗传具有一定关系.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



胆道再次手术时胆管癌的诊断和治疗

李 潼, 柴新群, 李锦锦, 吴军卫, 孟元普

■背景资料

胆道再次手术合并胆管癌患者因其病因、临床表现、诊断和治疗均和胆管原发疾病和既往手术史相关而具有一定特殊性。研究该类患者的临床特点有助于减少漏诊, 提高胆管癌的治疗效果。

李潼, 柴新群, 李锦锦, 吴军卫, 孟元普, 华中科技大学同济医学院附属协和医院肝胆外科 湖北省武汉市 430022

李潼, 主要从事肝胆疾病的基础与临床研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81070059

作者贡献分布: 此论题由柴新群与李潼设计; 手术由柴新群、李潼及李锦锦等操作完成; 数据分析由柴新群、吴军卫及孟元普完成; 本论文写作由李潼与柴新群完成。

通讯作者: 柴新群, 教授, 主任医师, 430022, 湖北省武汉市解放大道1227号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院肝胆外科。xinqunc@hotmail.com

电话: 027-85351623

收稿日期: 2013-05-13 修回日期: 2013-08-18

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-09-28

Diagnosis and treatment of cholangiocarcinoma in bile duct reoperation

Tong Li, Xin-Qun Chai, Jin-Jin Li, Jun-Wei Wu, Yuan-Pu Meng

Tong Li, Xin-Qun Chai, Jin-Jin Li, Jun-Wei Wu, Yuan-Pu Meng, Department of Hepatobiliary Surgery, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81070059

Correspondence to: Xin-Qun Chai, Professor, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Union Hospital, Tongji Medical College, 1227 Jiefang Road, Wuhan 430022, Hubei Province, China. xinqunc@hotmail.com

Received: 2013-05-13 Revised: 2013-08-18

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-09-28

Abstract

AIM: To investigate the key points to the diagnosis and treatment of cholangiocarcinoma in bile duct reoperation.

METHODS: The clinical data for 26 patients who underwent bile duct reoperation and were finally diagnosed with cholangiocarcinoma from November 2006 to December 2011 were retrospectively analyzed.

RESULTS: There were 15 cases of intrahepatic cholangiocarcinoma and 11 cases of extrahepatic cholangiocarcinoma. For extrahepatic cholangiocarcinomas, 5 were located around the site of biliary-enteric anastomosis, and one was located within the choledochol cyst. Fifteen patients had

cholelithiasis. Abdominal pain and obstructive jaundice were the most common symptom for intrahepatic cholangiocarcinomas and extrahepatic cholangiocarcinomas, respectively. Eight patients revealed atypical imaging findings, including inflammatory biliary strictures in 5 cases, atrophy of the liver in 2 cases and residual choledochol cyst in 1 case. Fourteen patients received en-bloc tumor resection.

CONCLUSION: Laboratory tests, imaging studies and frozen-section examinations should be combined to improve the diagnosis of cholangiocarcinomas in bile duct reoperation. The tumor and the residual lesion of the bile duct which causes the tumor should be removed completely.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Bile duct reoperation; Cholangiocarcinoma

Li T, Chai XQ, Li JJ, Wu JW, Meng YP. Diagnosis and treatment of cholangiocarcinoma in bile duct reoperation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2860-2864 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2860.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2860>

摘要

目的: 探讨胆道再次手术合并胆管癌的诊断和治疗要点。

方法: 回顾性分析2006-11/2011-12我院肝胆外科中心胆道再次手术病理确诊为胆管癌的病例26例。

结果: 肝内胆管细胞癌15例(57.7%); 肝外胆管癌11例(42.3%), 其中胆肠吻合口癌5例(45.5%), 残留胆总管囊肿继发癌变1例(9.0%)。本组26例, 15例(57.7%)同时合并有胆管结石。腹痛(93.3%)是肝内胆管癌患者最常出现的症状, 梗阻性黄疸(72.7%)是肝外胆管癌最常出现的症状。完善CT或MRI检查后, 8例(30.8%)影像学表现不典型, 其中胆管炎性狭窄5例(62.5%), 肝

■同行评议者

陈汝福, 教授, 中山大学第二附属医院肝胆胰外科;
陈进宏, 副主任医师, 复旦大学附属华山医院普外科

叶萎缩2例(25%), 残余总管囊肿1例(12.5%)。本组共14例(53.8%)完整切除肿瘤。

结论: 胆道再次手术合并胆管癌患者需结合实验室检查、影像学检查以及术中对可疑病灶的冰冻快检来提高诊断, 该类患者的治疗目标是完整清除肿瘤和引起肿瘤的残留病灶。

© 2013年版权归归世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胆道再次手术; 胆管癌

核心提示: 胆道再次手术合并胆管癌患者需结合实验室检查、影像学检查以及术中对可疑病灶的冰冻快检来提高诊断, 该类患者的治疗目标是完整清除肿瘤和引起肿瘤的残留病灶。

李潼, 柴新群, 李锦锦, 吴军卫, 孟元普. 胆道再次手术时胆管癌的诊断和治疗. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2860-2864
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2860.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2860>

0 引言

某些胆道疾病(胆管结石、胆道损伤、胆总管囊肿等)可能由于初次手术没能解决根本问题、或一段时间后结石复发而需要再次手术。由于病灶长期存在并不断刺激胆道, 导致部分患者发生胆管癌。本文回顾性分析我院2006-11/2011-12收治的胆道再次手术病理确诊为胆管癌患者的临床资料, 探讨其临床特点及诊疗要点。

1 材料和方法

1.1 材料 收集我院胆道再次手术病理确诊为胆管细胞癌的患者26例。其中男13例, 女13例, 年龄最小40岁, 最大80岁, 平均60.5岁±10.2岁。既往有1次手术史15例(57.7%), 2次手术史10例(38.4%), 3次及以上1例(3.8%)。胆道再次手术与上次手术间隔最短1年, 最长47年, 平均间隔17.8年±13.9年。初次手术以胆囊或胆管结石为病因共25例(96.2%), 以胆总管囊肿为病因1例(3.8%)。既往手术方式如表1。

1.2 方法 对26例患者的临床资料进行回顾性分析, 重点探讨该类患者的诊断及治疗。

2 结果

本组26例, 其中肝内胆管细胞癌15例(57.7%); 胆肠吻合口癌5例(19.2%); 肝门胆管癌3例(11.5%); 胆总管中、远段癌2例(7.7%); 残留胆总管囊肿继发癌变1例(3.8%)。同时合并有胆管结石15

例(57.7%)。肝内胆管癌与结石均位于相同肝叶。肝内胆管细胞癌患者的临床表现: 腹痛14例(93.3%)、黄疸7例(46.7%)和发热5例(33.3%)。肝外胆管细胞癌(包括胆肠吻合口癌)腹痛8例(72.7%)、黄疸8例(72.7%)、发热6例(54.5%)。本组患者均进行了CT或MRI检查, 其中有典型影像学表现18例(69.2%), 影像学表现不典型8例(30.8%)。影像学表现不典型的患者中7例肿瘤发生于肝内, 1例发生于肝外, 其不典型表现具体为肝内胆管狭窄及胆管周围脓肿5例, 肝叶萎缩2例, 残余胆总管囊肿1例, 8例患者中5例合并有胆管结石。本组共23例(88.5%)患者检测了血清CA19-9, 其值>100 U/L的有10例(38.5%), >1000 U/L 7例(26.9%)。本组肝内胆管癌手术切除率66.7%, 肝外胆管癌手术切除率36.4%。其中有1例行胰十二指肠切除术后第2天因感染性休克死亡, 该患者为残留胆总管囊肿合并胆管细胞癌。

3 讨论

3.1 胆道再次手术合并胆管癌患者的病因分析 胆管癌发生的具体原因目前还不清楚, 但是, 其相关因素包括: (1)残留胆管结石Kubo等^[1]报道, 约10%的胆管结石患者可发生胆管癌, 结石引起胆管癌的机制尚未完全阐明, 现多认为与其引起的细菌感染、机械刺激及胆汁淤积有关。本组26例, 同时合并有胆管结石15例, 占57.7%。并且, 结石与肿瘤有明显的位置相关性, 这提示胆石残留或复发是胆道再次手术患者发生胆管癌的主要原因; (2)既往行胆肠吻合术: 有关胆肠吻合术后发生胆管癌的报道较多^[2,3], 胆肠吻合术诱发胆管癌的机制多认为是该术式废弃了奥狄括约肌的抗返流功能并发生逆行性胆管炎, 长期的炎性刺激诱发了胆管癌; (3)残留胆管囊肿: 本组有1例患者为发生于残留胆总管囊肿的胆管癌。胆总管囊肿的致癌作用暂未完全阐明, 可能与胆汁淤积及胆汁与胰液合流有关^[4]。

此外, 原发性硬化性胆管炎、肝吸虫病、病毒性肝炎、化学致癌物等也是胆管癌的致病因素。多种因素可能并存并相互作用, 共同诱发胆管癌^[5,6]。

3.2 临床表现及诊断 胆道再次手术合并胆管癌患者的临床表现无特异性, 其与肿瘤的位置和胆道合并症有关。若肿瘤发生于肝内则以腹痛为主要临床表现, 发生于肝外则以梗阻性黄疸为主要表现, 若合并胆管结石或既往行胆肠吻

■研究前沿

不少学者研究了引起胆管癌的可能原因及治疗要点, 但对于胆道再次手术合并胆管癌的主要诱因及治疗却没有系统地分类研究。

■相关报道

目前许多报道探讨了胆管癌的治疗要点,重点是全面的术前评估,完整清除肿瘤病灶和尽量减少术后并发症的发生。

表 1 胆道再次手术合并胆管癌患者的既往手术方式

既往手术方式	n
胆囊切除	9
胆囊切除+胆道探查+T管引流	6
胆囊切除+胆总管空肠吻合	3
胆囊切除+肝门胆管空肠吻合	2
胆囊切除+胆总管十二指肠吻合	2
胆囊空肠吻合	1
胆囊切除+肝左外叶切除+左肝管空肠吻合	1
胆囊切除+左外叶切除+胆总管十二指肠吻合	1
胆囊切除+胆总管囊肿空肠吻合	1

合术则更容易发生胆管炎。Hur等^[7]曾报告,合并结石的肝内胆管细胞癌患者,其临床表现与单纯胆管结石患者无明显差异,该类患者应进行CT或MRI检查,尽量避免漏诊。

影像学检查中B超只能作为胆道再次手术合并胆管癌患者的初筛,发现可疑病灶时应行增强CT或MRI检查^[7]。然而,本组病例进行了CT或MRI检查后仍有8例(30.8%)没有典型的胆管癌影像学表现,其中表现胆管炎性狭窄5例(62.5%),肝叶萎缩2例(25%),胆总管囊肿1例(12.5%)。胆管炎性狭窄与肿瘤性狭窄的鉴别一直是诊疗的难点。虽有学者提出:狭窄胆管腔内不规则、狭窄胆管与肝实质界限不清、同侧门静脉梗塞及邻近淋巴结肿大等有助于胆管癌的鉴别^[8,9],但胆管结石合并胆管炎患者其胆管上皮可出现增生-化生-癌变的阶梯性变化,早期病灶仅局限于黏膜层或黏膜下层而难以在影像学上有所表现。此类患者只有在术中可疑病灶行冰冻快检才能提高诊断。同样,影像学检查提示为肝叶萎缩或胆总管囊肿的患者也需考虑到合并胆管癌的可能,术中应行冰冻快检,并将病灶完整切除。

血清CA19-9是最常使用的肿瘤标志物,Patel等^[10]曾报道其值>100 U/L在鉴别胆道良恶性疾病中的灵敏度为53%,特异性为76%-92%。Ong等^[11]报道CA19-9>1000 U/L对诊断胆胰恶性肿瘤的阳性预测值为93.5%,>5000 U/L可使其阳性预测值提高到96.7%。本组影像学表现不典型的患者中有4例(50%)CA19-9均>1000 U/L,对正确的术前诊断起了较大的辅助作用。然而CA19-9并不是胆管癌的特异性指标,呼吸、泌尿、风湿免疫系统的疾病、胆道炎症以及由良性疾病引起的梗阻性黄疸等均可使其值升高,部分患者甚至可>1000 U/L^[12,13]。

3.3 治疗

3.3.1 胆管结石合并胆管癌患者的治疗:合并结石的胆管细胞癌患者的治疗目标是同时清除结石和肿瘤并防止其复发。肝内胆管细胞癌合并胆管结石的患者在术前应详细了解结石的分布以及有无合并胆管狭窄、肝叶萎缩、及肝脓肿等不可逆病灶。应将不可逆病灶连同肿瘤一并切除。为减少结石复发,在残肝体积足够的情况下,切肝的范围应大于或等于结石分布的范围^[14]。本组有1例患者初次就诊时因左肝管结石行左外叶切除术,术后左内叶结石残留,再次手术时已发生左内叶胆管细胞癌。术前检查仅提示胆管狭窄或肝叶萎缩的患者应考虑到合并胆管癌的可能,此类患者应首选肝叶切除术,未切除病灶之前应避免使用胆道镜取石,因这可能使潜在的肿瘤短期内广泛转移^[15]。

合并结石的肝内胆管癌患者的治疗相对棘手,胆管炎可增加该类患者术后发生肝衰竭的风险,术前应使用敏感抗生素积极治疗,药物治疗无效时应行经皮肝穿刺胆道引流(percutaneous transhepatic cholangial drainage, PTCD)^[16]。本组有1例患者因胆道感染行PTCD,该患者行联合半肝切除的肝门胆管癌根治术后恢复良好。为减少术后肝衰竭的风险,对肿瘤侵犯双侧胆管但没有肝内转移的患者可采用改良的Kasai术式。即完整切除肿瘤后将左右肝管Glisson鞘及肝门板作为吻合口的四壁与空肠作吻合^[17,18],该术式不需切肝,且引流了所有肝胆管残端胆汁,对一般情况较差的胆道再次手术患者有较高应用价值。本中心有1例患者采用该术式,其术后恢复良好。

胆总管中、远段癌合并胆管结石患者的治疗目标仍是完整清除结石和肿瘤。肿瘤浸润胰腺时应行胰十二指肠切除术。同样,合并胆管炎的患者应首先控制胆道感染,必要时先一期行经内镜逆行性胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangio pancreatography, ERCP)或PTCD引流,二期再切除肿瘤。肿瘤无法完全切除但可能存活较长时间的患者可行姑息性胆肠吻合术^[19]。

3.3.2 既往行胆肠吻合术患者的治疗:既往行胆肠吻合术的患者若发生吻合口癌或出现长期的反流性胆管炎,再手术时除了需完整切除肿瘤外还应检查或更正既往胆肠吻合方式。胆管十二指肠吻合应改为胆管空肠吻合。吻合时空肠“Y”攀应控制在40-60 cm之间,胆管末端需用可吸收线间断缝合于空肠系膜对缘,并将线结打在吻合

口外^[20]。本组有1例患者既往手术方式为胆囊空肠Roux-en-Y吻合, 就诊时出现胆囊十二指肠瘘并继发胆囊癌。Pilgrim等^[21]报道了类似病例, 并认为肠内容物返流引起的慢性胆道炎症是该类患者发生胆囊癌的主要原因。胆囊空肠吻合术主要是作为一种急诊术式被应用于全身情况较差的胆道梗阻患者, 但对于胆道良性疾病者, 由于其术后生存时间较长, 使用该术式难免日后发生反流性胆管炎并继发胆管癌。因此Thomson等^[22]建议对返流明显的患者应尽早再手术切除胆囊并重建胆道。既往行胆管空肠吻合术患者应检查“Y”攀有无梗阻、黏连、套叠; “Y”攀是否过短或过长等以尽量减少发生逆行性胆管炎的可能。不少学者研究了各种抗反流措施, 但目前均没有满意的远期效果^[23], 行胆管空肠Roux-en-Y吻合并将“Y”攀控制在合理长度是目前较为认同的抗返流措施^[20]。

3.3.3 残留胆管囊肿继发癌变的治疗: 残留胆管囊肿继发胆管癌患者应明确囊肿的分布, 肝内外病灶均需完整切除。无法切除的肝内胆管囊肿应在狭窄胆管处置留支撑管并终身随访^[24]。肝外胆管囊肿胆管的切除范围为左右肝管汇合处至胆胰管汇合处, 既往行胆肠吻合术的患者应探查有无胰腺段胆管残留, 若怀疑该段胆管癌变应附加胰十二指肠切除术。胆道感染明显的患者术前应予以胆道减压, 必要时分期手术。本组的1例患者在行胰十二指肠切除术后第二天因感染性休克死亡, 是极其深刻的教训。

总之, 胆道再次手术合并胆管癌患者临床表现不典型, 需结合实验室检查、影像学检查以及术中对可疑病灶的冰冻快检来提高诊断。治疗时应完整清除肿瘤以及诱发肿瘤的胆管病灶。

4 参考文献

- 1 Kubo S, Kinoshita H, Hirohashi K, Hamba H. Hepatolithiasis associated with cholangiocarcinoma. *World J Surg* 1995; 19: 637-641 [PMID: 7676713]
- 2 Hakamada K, Sasaki M, Endoh M, Itoh T, Morita T, Konn M. Late development of bile duct cancer after sphincteroplasty: a ten- to twenty-two-year follow-up study. *Surgery* 1997; 121: 488-492 [PMID: 9142145]
- 3 Tocchi A, Mazzoni G, Liotta G, Lepre L, Cassini D, Miccini M. Late development of bile duct cancer in patients who had biliary-enteric drainage for benign disease: a follow-up study of more than 1,000 patients. *Ann Surg* 2001; 234: 210-214 [PMID: 11505067]
- 4 Ohtsuka T, Inoue K, Ohuchida J, Nabae T, Takahata S, Niiyama H, Yokohata K, Ogawa Y, Yamaguchi K, Chijiwa K, Tanaka M. Carcinoma arising in choledochocoele. *Endoscopy* 2001; 33: 614-619 [PMID: 11473335 DOI: 10.1055/s-2001-15324]
- 5 Palmer WC, Patel T. Are common factors involved in the pathogenesis of primary liver cancers? A meta-analysis of risk factors for intrahepatic cholangiocarcinoma. *J Hepatol* 2012; 57: 69-76 [PMID: 22420979 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.02.022]
- 6 Shin HR, Oh JK, Masuyer E, Curado MP, Bouvard V, Fang YY, Wiangnon S, Sripa B, Hong ST. Epidemiology of cholangiocarcinoma: an update focusing on risk factors. *Cancer Sci* 2010; 101: 579-585 [PMID: 20085587 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2009.01458.x]
- 7 Hur H, Park IY, Sung GY, Lee DS, Kim W, Won JM. Intrahepatic cholangiocarcinoma associated with intrahepatic duct stones. *Asian J Surg* 2009; 32: 7-12 [PMID: 19321396 DOI: 10.1016/S1015-9584(09)60002-6]
- 8 Kim JY, Lee JM, Han JK, Kim SH, Lee JY, Choi JY, Kim SJ, Kim HJ, Kim KH, Choi BI. Contrast-enhanced MRI combined with MR cholangiopancreatography for the evaluation of patients with biliary strictures: differentiation of malignant from benign bile duct strictures. *J Magn Reson Imaging* 2007; 26: 304-312 [PMID: 17623893 DOI: 10.1002/jmri.20973]
- 9 Park HS, Lee JM, Kim SH, Jeong JY, Kim YJ, Lee KH, Choi SH, Han JK, Choi BI. CT Differentiation of cholangiocarcinoma from periductal fibrosis in patients with hepatolithiasis. *AJR Am J Roentgenol* 2006; 187: 445-453 [PMID: 16861550 DOI: 10.2214/AJR.05.0247]
- 10 Patel AH, Harnois DM, Klee GG, LaRusso NF, Gores GJ. The utility of CA 19-9 in the diagnoses of cholangiocarcinoma in patients without primary sclerosing cholangitis. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 204-207 [PMID: 10638584 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2000.01685.x]
- 11 Ong SL, Sachdeva A, Garcea G, Gravante G, Metcalfe MS, Lloyd DM, Berry DP, Dennison AR. Elevation of carbohydrate antigen 19.9 in benign hepatobiliary conditions and its correlation with serum bilirubin concentration. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 3213-3217 [PMID: 18465243 DOI: 10.1007/s10620-008-0289-8]
- 12 Singh S, Tang SJ, Sreenarasimhaiah J, Lara LF, Siddiqui A. The clinical utility and limitations of serum carbohydrate antigen (CA19-9) as a diagnostic tool for pancreatic cancer and cholangiocarcinoma. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 2491-2496 [PMID: 21516323 DOI: 10.1007/s10620-011-1709-8]
- 13 Marrelli D, Caruso S, Pedrazzani C, Neri A, Fernandes E, Marini M, Pinto E, Roviello F. CA19-9 serum levels in obstructive jaundice: clinical value in benign and malignant conditions. *Am J Surg* 2009; 198: 333-339 [PMID: 19375064 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2008.12.031]
- 14 Li SQ, Liang LJ, Peng BG, Hua YP, Lv MD, Fu SJ, Chen D. Outcomes of liver resection for intrahepatic stones: a comparative study of unilateral versus bilateral disease. *Ann Surg* 2012; 255: 946-953 [PMID: 22504194 DOI: 10.1097/SLA.0b013e31824dedc2]
- 15 Su CH, Shyr YM, Lui WY, P'Eng FK. Hepatolithiasis associated with cholangiocarcinoma. *Br J Surg* 1997; 84: 969-973 [PMID: 9240138]
- 16 Sano T, Shimada K, Sakamoto Y, Yamamoto J, Yamasaki S, Kosuge T. One hundred two consecutive hepatobiliary resections for perihilar cholangiocarcinoma with zero mortality. *Ann Surg* 2006; 244: 240-247 [PMID: 16858186 DOI: 10.1097/01.sla.0000217605.66519.38]

■创新盘点

本文根据胆道再次手术胆管癌的主要诱因进行分类, 重点探讨各类患者的治疗要点, 强调了对于重症患者行分期手术的必要性。

■同行评议

本文提出胆道再次手术中发现胆管癌变的可能,并对其在术前、术中的诊断及治疗方法做出深入探讨,对临床工作有一定的指导意义。

- 17 Aydin U, Yedibela S, Yazici P, Aydinli B, Zeytunlu M, Kilic M, Coker A. A new technique of biliary reconstruction after "high hilar resection" of hilar cholangiocarcinoma with tumor extension to secondary and tertiary biliary radicals. *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 1871-1879 [PMID: 18454297 DOI: 10.1245/s10434-008-9926-x]
- 18 Gao JB, Bai LS, Hu ZJ, Wu JW, Chai XQ. Role of Kasai procedure in surgery of hilar bile duct strictures. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4231-4234 [PMID: 22072856 DOI: 10.3748/wjg.v17.i37.4231]
- 19 Witzigmann H, Lang H, Lauer H. Guidelines for palliative surgery of cholangiocarcinoma. *HPB (Oxford)* 2008; 10: 154-160 [PMID: 18773044 DOI: 10.1080/13651820801992567]
- 20 Muraji T, Tsugawa C, Nishijima E, Satoh S, Takamizawa S, Ise K, Maekawa T. Surgical management for intractable cholangitis in biliary atresia. *J Pediatr Surg* 2002; 37: 1713-1715 [PMID: 12483638 DOI: 10.1053/jpsu.2002.36703]
- 21 Pilgrim CH, Satgunaseelan L, Ward SM, Evans PM. Gallbladder carcinoma as a long-term complication of cholecystojejunostomy. *J Gastrointest Surg* 2009; 13: 2330-2332 [PMID: 19370383 DOI: 10.1007/s11605-009-0879-6]
- 22 Thomson SR. Sequelae of cholecystojejunostomy for benign intrapancreatic biliary strictures. *S Afr J Surg* 1998; 36: 26-29 [PMID: 9601828]
- 23 Ogasawara Y, Yamataka A, Tsukamoto K, Okada Y, Lane GJ, Kobayashi H, Miyano T. The intussusception antireflux valve is ineffective for preventing cholangitis in biliary atresia: a prospective study. *J Pediatr Surg* 2003; 38: 1826-1829 [PMID: 14666478]
- 24 Ono S, Fumino S, Shimadera S, Iwai N. Long-term outcomes after hepaticojejunostomy for choledochal cyst: a 10- to 27-year follow-up. *J Pediatr Surg* 2010; 45: 376-378 [PMID: 20152355 DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2009.10.078]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

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

胰腺癌中KGF的表达及其临床病理学意义

金益峰, 周建平, 盛伟伟, 张丹华, 董明

金益峰, 周建平, 盛伟伟, 张丹华, 董明, 中国医科大学附属第一医院普通外科 辽宁省沈阳市 110001

金益峰, 硕士, 主要从事腹部外科学的研究。

辽宁省自然科学基金资助项目, No. 20092131

作者贡献分布: 金益峰与周建平对此文所作贡献均等; 此课题由金益峰、周建平及张丹华设计; 董明与盛伟伟提供修改意见; 相关文献资料的收集由金益峰与张丹华完成; 相关实验操作与数据分析由金益峰与盛伟伟完成; 本论文写作由金益峰与周建平完成。

通讯作者: 周建平, 教授, 主任医师, 110000, 辽宁省沈阳市和平区南京街155号, 中国医科大学附属第一医院普通外科。

zjphama@163.com

收稿日期: 2013-04-17 修回日期: 2013-08-20

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-09-28

Clinicopathological significance of expression of keratinocyte growth factor protein in pancreatic ductal adenocarcinoma

Yi-Feng Jin, Jian-Ping Zhou, Wei-Wei Sheng, Dan-Hua Zhang, Ming Dong

Yi-Feng Jin, Jian-Ping Zhou, Wei-Wei Sheng, Dan-Hua Zhang, Ming Dong, Department of General Surgery, First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Supported by: Liaoning Provincial Natural Science Foundation of China, No. 20092131

Correspondence to: Jian-Ping Zhou, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, First Affiliated Hospital of China Medical University, 155 Nanjing Street, Heping District, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. zjphama@163.com

Received: 2013-04-17 Revised: 2013-08-20

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-09-28

Abstract

AIM: To assess the clinicopathological significance of expression of keratinocyte growth factor (KGF) protein in pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC).

METHODS: The expression of KGF protein in 51 paraffin-embedded PDAC specimens and matched tumor-adjacent pancreatic tissue specimens was detected by immunohistochemistry. The relationship between KGF protein expression and clinicopathological characteristics of PDAC was analyzed.

RESULTS: The expression of KGF protein was significantly higher in PDAC than in matched non-cancerous pancreatic tissues ($Z = -4.766, P < 0.001$). The expression of KGF protein was positively correlated with hepatic metastasis ($\chi^2 = 4.113, P < 0.05$). Mean survival time was shorter in KGF (+) patients than in KGF (-) ones (384 d vs 621 d).

CONCLUSION: Expression of KGF is up-regulated in PDAC. KGF up-regulation may be related with hepatic metastasis of PDAC. Mean survival time is shorter in KGF (+) patients than in KGF (-) ones.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Neoplasm; Pancreatic cancer; Keratinocyte growth factor; Metastasis

Jin YF, Zhou JP, Sheng WW, Zhang DH, Dong M. Clinicopathological significance of expression of keratinocyte growth factor protein in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2865-2869 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2865.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2865>

摘要

目的: 探讨胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)中角质细胞生长因子(keratinocyte growth factor, KGF)的表达水平及临床病理学意义。

方法: 应用免疫组织化学方法检测51例胰腺癌及癌旁组织标本中KGF蛋白的表达水平, 并且观察其表达与胰腺癌患者临床病理学资料的关系。

结果: 免疫组织化学结果显示: KGF在癌组织中表达明显高于配对的癌旁组织($Z = -4.766, P < 0.001$); KGF蛋白的表达与肿瘤肝转移呈正相关($\chi^2 = 4.113, P < 0.05$); 生存分析发现KGF阳性患者的平均生存时间短于表达阴性者(阳性者平均生存时间384 d, 阴性者621 d)。

结论: 在PDAC中KGF表达上调, 其表达与肿瘤肝转移呈正相关。KGF表达阳性患者生存时

■背景资料

胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)是一种常见的消化系统恶性肿瘤, 近年来其发病率有增高的趋势。而其手术切除率低, 术后复发率高, 对放疗不敏感, 预后差。至今没有有效的治疗手段及预后评价标准。近年来, 随着肿瘤微环境与肿瘤发生发展关系的相关研究不断深入, 角质细胞生长因子(keratinocyte growth factor, KGF)在肿瘤中的作用也逐步受到重视。

■同行评议者

夏时海, 副教授, 副主任医师, 行政主任, 武警后勤学院附属医院肝胆胰脾科(中心); 谷俊朝, 主任医师, 首都医科大学附属北京友谊医院普外科

■ 研发前沿

KGF可以刺激不同类型肿瘤细胞的迁移和侵袭,肿瘤组织中KGF的表达可能与肿瘤的恶性程度有关,是肿瘤转移进展的重要分子。KGF及其受体在人乳腺癌细胞、胰腺癌、胃腺癌细胞以及前列腺癌细胞系中均有发现,而在良性前列腺增生、食管、胰腺和大肠癌组织中也有表达,但其确切作用机制仍然尚不十分明确。

间短于阴性患者。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肿瘤; 胰腺癌; 角质细胞生长因子; 转移

核心提示: 角质细胞生长因子(keratinocyte growth factor, KGF)在癌和癌旁组织中的表达程度不一。KGF阳性表达者较阴性者肝转移发生率高,生存时间短。KGF可能成为评价胰腺癌患者预后的指标及为应用于抗肿瘤靶向治疗提供新的思路。

金益峰, 周建平, 盛伟伟, 张丹华, 董明. 胰腺癌中KGF的表达及其临床病理学意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2865-2869
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2865.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2865>

0 引言

胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)是一种侵袭性极强的恶性肿瘤,其5年生存率<5%。PDAC不良预后常与肿瘤发现晚,不能做根治性切除有关。即使做了根治性切除,局部复发、淋巴结转移、肝转移和腹膜转移依然在短期内发生。PDAC对于化疗和放疗都不敏感。另外有学者提出,胰腺癌的不良预后还与其早期就发生邻近脏器的侵犯及远处转移有关^[1,2]。

近年来,角质细胞生长因子(keratinocyte growth factor, KGF)对肿瘤的转移和侵袭的研究逐渐受到重视。KGF及其受体在人乳腺癌细胞、胰腺癌、胃腺癌细胞以及前列腺癌细胞系中均有发现,提示其可能与肿瘤的发生发展及预后有关。而在国内外与胰腺癌相关的研究报道较少见。本文采用免疫组织化学方法,探讨KGF在胰腺癌中的表达及其临床病理学意义。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2005-01/2012-12我院具有完整临床资料的PDAC手术切除标本51例,均有癌旁组织作为对照。51例患者术后病理证实为原发性管状腺癌,均有完整的随访资料。KGF羊抗人多克隆抗体购自美国Santa Cruz公司。SP法免疫组织化学试剂盒、DAB显色液购自福州迈新公司。蛋白裂解液、蛋白酶抑制剂、上样缓冲液、BCA定量及ECL发光试剂盒均购自上海碧云天生物公司。

1.2 方法 采用免疫组织化学SP法。所有组织标本均经40 g/L甲醛固定,常规石蜡包埋,4 μm厚连续切片,以二甲苯脱蜡、梯度乙醇水化。PBS清

洗后,置于pH 6.0的柠檬酸缓冲液121 °C高压热抗原修复2 min 20 s,自然冷却。3%过氧化氢室温15 min去除内源性过氧化酶。血清室温封闭20 min后滴加一抗,4 °C孵育过夜。次日复温45 min,依次滴加二抗及霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶37 °C 15 min, PBS清洗, DAB显色,苏木素复染。盐酸乙醇分化后常规脱水、透明,封片后于光学显微镜下观察结果。免疫组织化学结果评估:参考Masunaga^[3]文献评分方法:两个独立观察者分别进行评分:(1)染色强度:无着色0分;浅黄色1分;黄或深黄色2分;褐或棕褐色3分。(2)阳性细胞数:计算阳性细胞所占视野面积的平均百分数分为5级:无阳性细胞0%为0分;阳性细胞数1%-25%为1分;26%-50%为2分;51%-75%为3分;>76%为4分,上述两项之和为分级标准:>2分定义为阳性。

统计学方法 采用SPSS19统计软件,癌与癌旁组织KGF表达比较采用Wilcoxon符号秩和检验。不同临床病理学参数患者的KGF蛋白表达比较采用 χ^2 检验。采用Kaplan-Meier和Log-rank检验分析随访资料。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 KGF在胰腺癌和癌旁组织中表达 KGF在癌组织中的表达明显高于配对的癌旁组织($Z = -4.766$, $P<0.001$)。在51例胰腺癌组织中, KGF有17例(33.3%)呈阳性表达,而在癌旁组织中并没有看到达到阳性评价标准的染色。KGF蛋白表达于肿瘤细胞胞浆内,在胰岛、腺泡及纤维间质细胞中未见阳性表达(图1)。

2.2 KGF蛋白表达与胰腺癌患者临床病理学参数的关系 通过卡方检验,有无肝转移PDAC患者的KGF的表达差异有统计学意义($\chi^2 = 4.113$, $P = 0.043$),而KGF表达阳性与否和肿瘤肝转移呈正相关;不同性别、年龄、肿瘤部位、肿瘤大小、分化程度、浸润深度、淋巴结转移情况以及TNM分期等患者的KGF蛋白的表达差异无统计学意义(表1)。

2.3 Kaplan-Meier生存分析 本组患者平均随访时间428 d,最短30 d,最长1297 d。KGF表达阳性PDAC患者平均生存时间384 d,中位生存时间380 d,阴性者平均生存时间621 d,中位生存时间432 d。KGF表达阴性PDAC患者的生存时间明显长于表达阳性的患者,但是二者差异无统计学意义($P = 0.108$)(图2)。

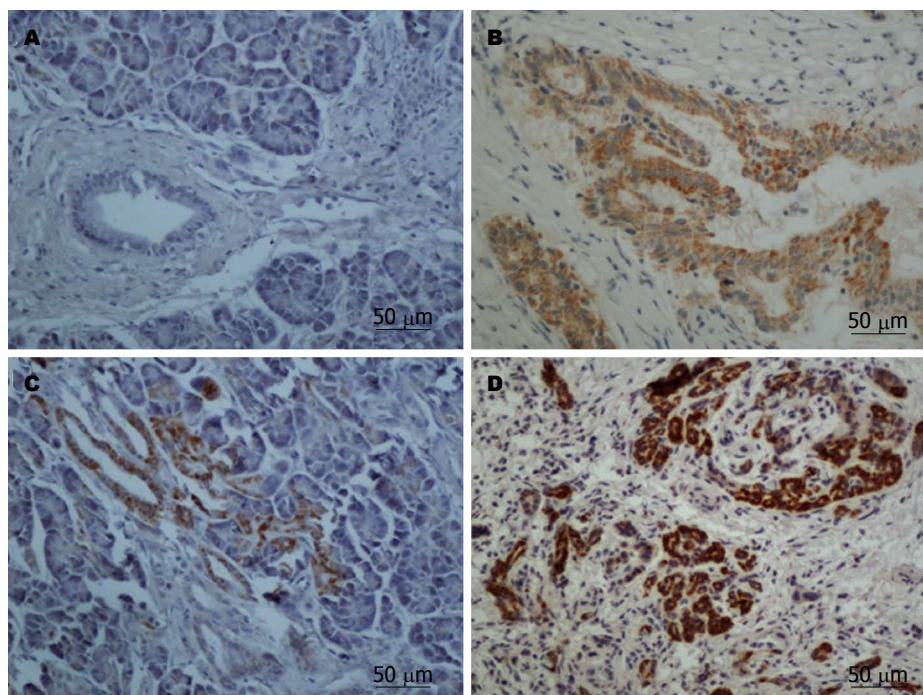


图 1 KGF在癌和癌旁的表达水平. A, C: KGF在癌旁组织中的表达, 腺泡及胰岛细胞中未见明显表达, 仅有极少导管有未达评价标准的表达; B, D: KGF在PDAC中的表达, 在癌组织中表达于细胞浆内, 且表达水平存在差异.

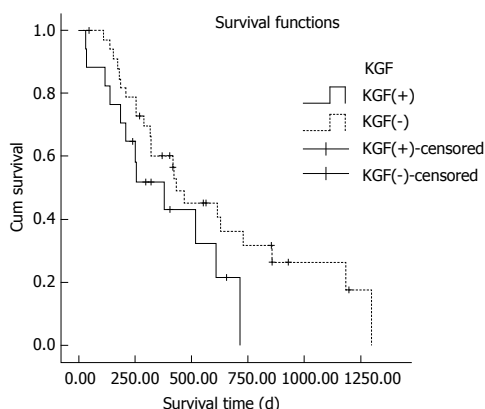


图 2 Cumulative Kaplan-Meier生存曲线. KGF: 角质细胞生长因子.

3 讨论

角质细胞生长因子首次于1989年由Rubin等^[4]从人胚胎肺成纤维细胞的培养液中提纯出来的单链多肽, 其分子量为26-28 kDa. 他是肝素结合相关生长因子-成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)家族中的一员, 又被称作FGF-7, 并且与其他FGF家族成员有30%-70%氨基酸序列同源. 他的生物学作用主要通过与其特异性受体KGFR的结合. KGFR具有潜在的酪氨酸激酶活性, 能够以高亲和力与KGF和aFGF结合. KGFR的细胞外区域由2或3个免疫球蛋白样区域组成, 而细胞内区域由非激酶插入序列

■ 相关报道

PDAC是一种侵袭性极强的恶性肿瘤, 其5年生存率<5%. PDAC不良预后常与早期诊断困难, 肿瘤发现晚有关. 即使根治性手术, 术后的局部复发、淋巴结转移、肝转移和腹膜转移依然在短期内发生. 而且PDAC对于化疗和放疗都不敏感. KGF是肿瘤转移进展的重要分子. 而且KGF及其受体在多种上皮组织来源的肿瘤细胞系中均有发现.

阻断的酪氨酸激酶区域组成^[5]. KGF首先在人胚胎肺的成纤维细胞中发现, 表达于多种组织来源的间质细胞中, 包括乳腺、肺、前列腺、胰腺和消化系等^[6-9]. 当KGF与其受体(keratinocyte growth factor receptor, KGFR)特异性结合后可促进上皮细胞DNA的合成、增殖和迁移, 并且与创伤修复、胚胎发育及肿瘤发生关系密切^[10-13]. KGF可以刺激不同类型上皮来源肿瘤细胞的迁移和侵袭, 表明肿瘤组织中KGF的表达可能与肿瘤的恶性程度有关, 是肿瘤转移进展的重要分子^[14-17].

国外文献报道, KGFR mRNA和KGF在人胰腺癌细胞系中有表达. 不仅如此, KGF可以诱导某些胰腺癌细胞的增殖及迁移等^[18,19]. 这些研究结果提示KGFR和KGF的协同表达, 与胰腺癌的恶性程度有重要关系. 为了更直白地反应角质细胞生长因子蛋白的表达与胰腺癌的关系, 我们通过免疫组织化学检测KGF在PDAC中表达情况并观察其结果与PDAC患者的临床病理表现是否有关联. 在本研究中, 我们发现51例胰腺癌组织中有33.3%的样本KGF表达呈阳性. 而国外报道在癌旁组织的胰岛、腺泡及纤维间质细胞中KGF呈中等至高表达^[20], 在本实验结果中并未得到证实. 并且我们发现KGF蛋白的表达与患者肝转移呈正相关, 而与年龄、性别及肿瘤

■创新盘点

本文应用免疫组织化学方法检测51例胰腺癌及癌旁组织标本中KGF蛋白的表达水平,同时观察其表达与胰腺癌患者临床病理学资料的关系,并通过统计学方法进行分析,直观地反应了KGF与胰腺癌患者生存时间及预后因素之间的关系。

表 1 KGF表达与PDAC患者临床病理学参数关系

项目	n	KGF表达		P值
		KGF(+)	KGF(-)	
n	51	17	34	
年龄(岁)				0.484
< 65	39	12	27	
≥65	12	5	7	
性别				0.534
男	33	10	23	
女	18	7	11	
肿瘤部位				0.192
胰头部	36	14	22	
胰体尾部	15	3	12	
肿瘤大小(cm)				0.691
< 2.5	23	7	16	
≥2.5	28	10	18	
分化程度				0.693
低分化	2	1	1	
中分化	27	8	19	
高分化	22	8	14	
浸润深度				0.82
T1+T2	13	4	9	
T3+T4	38	13	25	
淋巴结转移				0.81
N0(阴性)	40	13	27	
N1(阳性)	11	4	7	
TNM分期 ^a				0.834
I + II A	34	11	23	
II B+IV	17	6	11	
肝转移				0.043
无	31	7	24	
有	20	10	10	

^aTNM分期根据2008年UICC指南。KGF: 角质细胞生长因子; PDAC: 胰腺导管腺癌。

大小等无关,这与国外文献报道相一致^[21]。此外,国外尚有研究报道KGF蛋白的表达与PDAC的血管浸润密切相关^[22],但由于本组临床病理资料在血管浸润方面有缺失,未做统计学分析。

Cho等^[22]通过随访进一步证实,KGF蛋白的表达与胰腺癌患者预后呈正相关。本研究生存分析结果虽然KGF是否表达与患者生存时间之间的关系未达统计学意义($P = 0.108$),但趋势表明KGF蛋白表达阳性患者的总体生存时间短于KGF表达阴性者。随访结果不完善、样本量小或人种之间差异可能是导致此结果的主要原因。后期研究可通过增加样本量,完善随访调查来进一步明确KGF蛋白表达与肿瘤预后的关系。

总之,我们提出假设,KGF表达可能可以作为评估PDAC患者预后的一个指标。

本研究中,我们已经强调了KGF蛋白表达与肿瘤临床病理表现的关系。但是本实验没有通过体内及体外实验进一步验证KGF对肿瘤生物学功能产生的影响。近年来国外体内及体外研究发现,针对KGF/KGFR通路的抑制剂在一定程度上可抑制肿瘤进展。目前针对KGF信号通路的研究正在不断深入,其有望成为新的胰腺癌治疗靶点^[21,23]。

4 参考文献

- 1 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 10-29 [PMID: 22237781 DOI: 10.3322/caac.20138]
- 2 Bardeesy N, DePinho RA. Pancreatic cancer biology and genetics. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 897-909 [PMID: 12459728 DOI: 10.1038/nrc949]
- 3 Masunaga R, Kohno H, Dhar DK, Ohno S, Shibakita M, Kinugasa S, Yoshimura H, Tachibana M, Kubota H, Nagasue N. Cyclooxygenase-2 expression correlates with tumor neovascularization and prognosis in human colorectal carcinoma patients. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 4064-4068 [PMID: 11051257]
- 4 Rubin JS, Osada H, Finch PW, Taylor WG, Rudikoff S, Aaronson SA. Purification and characterization of a newly identified growth factor specific for epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989; 86: 802-806 [PMID: 2915979 DOI: 10.1073/pnas.86.3.802]
- 5 Miki T, Bottaro DP, Fleming TP, Smith CL, Burgess WH, Chan AM, Aaronson SA. Determination of ligand-binding specificity by alternative splicing: two distinct growth factor receptors encoded by a single gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89: 246-250 [PMID: 1309608 DOI: 10.1073/pnas.89.1.246]
- 6 Rubin JS, Bottaro DP, Chedid M, Miki T, Ron D, Cunha GR, Finch PW. Keratinocyte growth factor as a cytokine that mediates mesenchymal-epithelial interaction. *EXS* 1995; 74: 191-214 [PMID: 8527895 DOI: 10.1007/978-3-0348-9070-0_10]
- 7 Lendvay TS, Sweet R, Han CH, Soyguur T, Cheng JF, Plaire JC, Charleston JS, Charleston LB, Bagai S, Cochrane K, Rubio E, Bassuk JA. Compensatory paracrine mechanisms that define the urothelial response to injury in partial bladder outlet obstruction. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 293: F1147-F1156 [PMID: 17609292 DOI: 10.1152/ajprenal.00006.2007]
- 8 Grose R, Dickson C. Fibroblast growth factor signaling in tumorigenesis. *Cytokine Growth Factor Rev* 2005; 16: 179-186 [PMID: 15863033 DOI: 10.1016/j.cytogfr.2005.01.003]
- 9 Pedchenko VK, Imagawa W. Pattern of expression of the KGF receptor and its ligands KGF and FGF-10 during postnatal mouse mammary gland development. *Mol Reprod Dev* 2000; 56: 441-447 [PMID: 10911393 DOI: 10.1002/1098-2795(200008)56:4<441::AID-MRD1>3.0.CO;2-C]
- 10 Bates CM. Role of fibroblast growth factor receptor signaling in kidney development. *Am J Physiol Renal Physiol* 2011; 301: F245-F251 [PMID: 21613421 DOI: 10.1152/ajprenal.00186.2011]

- 11 Mondrinos MJ, Koutzaki S, Lelkes PI, Finck CM. A tissue-engineered model of fetal distal lung tissue. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007; 293: L639-L650 [PMID: 17526596 DOI: 10.1152/ajplung.00403.2006]
- 12 Yamayoshi T, Nagayasu T, Matsumoto K, Abo T, Hishikawa Y, Koji T. Expression of keratinocyte growth factor/fibroblast growth factor-7 and its receptor in human lung cancer: correlation with tumour proliferative activity and patient prognosis. *J Pathol* 2004; 204: 110-118 [PMID: 15307144 DOI: 10.1002/path.1617]
- 13 Gomperts BN, Belperio JA, Fishbein MC, Keane MP, Burdick MD, Strieter RM. Keratinocyte growth factor improves repair in the injured tracheal epithelium. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2007; 37: 48-56 [PMID: 17332441 DOI: 10.1165/rcmb.2006-0384OC]
- 14 Jenq RR, King CG, Volk C, Suh D, Smith OM, Rao UK, Yim NL, Holland AM, Lu SX, Zakrzewski JL, Goldberg GL, Diab A, Alpdogan O, Penack O, Na IK, Kappel LW, Wolchok JD, Houghton AN, Perales MA, van den Brink MR. Keratinocyte growth factor enhances DNA plasmid tumor vaccine responses after murine allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 2009; 113: 1574-1580 [PMID: 19011222 DOI: 10.1182/blood-2008-05-155697]
- 15 Hishikawa Y, Tamaru N, Ejima K, Hayashi T, Koji T. Expression of keratinocyte growth factor and its receptor in human breast cancer: its inhibitory role in the induction of apoptosis possibly through the overexpression of Bcl-2. *Arch Histol Cytol* 2004; 67: 455-464 [PMID: 15781986 DOI: 10.1679/aohc.67.455]
- 16 Shin EY, Ma EK, Kim CK, Kwak SJ, Kim EG. Src/ERK but not phospholipase D is involved in keratinocyte growth factor-stimulated secretion of matrix metalloproteinase-9 and urokinase-type plasminogen activator in SNU-16 human stomach cancer cell. *J Cancer Res Clin Oncol* 2002; 128: 596-602 [PMID: 12458339 DOI: 10.1007/s00432-002-0388-4]
- 17 Narita K, Fujii T, Ishiwata T, Yamamoto T, Kawamoto Y, Kawahara K, Nakazawa N, Naito Z. Keratinocyte growth factor induces vascular endothelial growth factor-A expression in colorectal cancer cells. *Int J Oncol* 2009; 34: 355-360 [PMID: 19148469]
- 18 Siddiqi I, Funatomi H, Kobrin MS, Friess H, Büchler MW, Korc M. Increased expression of keratinocyte growth factor in human pancreatic cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 215: 309-315 [PMID: 7575607 DOI: 10.1006/bbrc.1995.2467]
- 19 Zang XP, Lerner M, Brackett D, Pento JT. Influence of KGF on the progression of pancreatic cancer. *Anticancer Res* 2009; 29: 3417-3420 [PMID: 19661366]
- 20 Ishiwata T, Friess H, Büchler MW, Lopez ME, Korc M. Characterization of keratinocyte growth factor and receptor expression in human pancreatic cancer. *Am J Pathol* 1998; 153: 213-222 [PMID: 9665482 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)65562-9]
- 21 Cho K, Matsuda Y, Ueda J, Uchida E, Naito Z, Ishiwata T. Keratinocyte growth factor induces matrix metalloproteinase-9 expression and correlates with venous invasion in pancreatic cancer. *Int J Oncol* 2012; 40: 1040-1048 [PMID: 22159401]
- 22 Cho K, Ishiwata T, Uchida E, Nakazawa N, Korc M, Naito Z, Tajiri T. Enhanced expression of keratinocyte growth factor and its receptor correlates with venous invasion in pancreatic cancer. *Am J Pathol* 2007; 170: 1964-1974 [PMID: 17525264 DOI: 10.2353/ajpath.2007.060935]
- 23 Mehta M, Kesinger JW, Zang XP, Lerner ML, Brackett DJ, Brueggemeier RW, Li PK, Pento JT. Influence of novel KGFR tyrosine kinase inhibitors on KGF-mediated proliferation of breast cancer. *Anticancer Res* 2010; 30: 4883-4889 [PMID: 21187466]

■同行评价

本文具有一定临床指导意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



结直肠癌*AREG*基因的表达与甲基化水平

吴涛, 赵滢, 李丹, 何红梅, 李娜, 张阳, 赵丹懿

■背景资料

结直肠癌是常见的恶性肿瘤, 近年来由于环境、水源污染以及人们饮食结构的改变等原因, 其发病率逐渐上升, 已成为我国发病率增长最快的恶性肿瘤。结直肠癌治疗预后不佳, 严重影响患者生活质量。从分子遗传水平探究结直肠癌发病机制, 确定分子治疗靶标已成为现在基础研究工作重点。

吴涛, 李丹, 何红梅, 李娜, 张阳, 赵丹懿, 大连医科大学附属第二医院 辽宁省大连市 116027

赵滢, 中国医科大学附属盛京医院胃肠外科 辽宁省沈阳市 110004

吴涛, 副教授, 主要从事消化系统恶性肿瘤综合治疗。

辽宁省教育基金资助项目, No. L2012295

作者贡献分布: 吴涛与赵丹懿设计实验; 赵滢与赵丹懿提供试剂; 具体实验由吴涛、李丹、何红梅、李娜及张阳完成。

通讯作者: 赵丹懿, 主治医师, 116027, 辽宁省大连市沙河口区中山路465号, 大连医科大学附属第二医院. zhaodanyi1978@163.com

收稿日期: 2013-07-23 修回日期: 2013-08-12

接受日期: 2013-09-17 在线出版日期: 2013-09-28

Expression and promoter methylation of *AREG* in colorectal neoplasms

Tao Wu, Ying Zhao, Dan Li, Hong-Mei He, Na Li, Yang Zhang, Dan-Yi Zhao

Tao Wu, Dan Li, Hong-Mei He, Na Li, Yang Zhang, Dan-Yi Zhao, Department of Oncology, Second Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116207, Liaoning Province, China

Ying Zhao, Department of Gastrointestinal Surgery, Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China

Correspondence to: Dan-Yi Zhao, Attending Physician, Department of Oncology, Second Affiliated Hospital of Dalian Medical University, 465 Zhongshan Road, Shahekou District, Dalian 116207, Liaoning Province, China

Received: 2013-07-23 Revised: 2013-08-12

Accepted: 2013-09-17 Published online: 2013-09-28

Abstract

AIM: To investigate the expression and promoter methylation of amphiregulin (*AREG*) in colorectal neoplasms.

METHODS: The expression of *AREG* mRNA was detected by real-time quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (qRT-PCR) in 145 cases of colorectal neoplasms and matched normal colorectal tissues. The promoter methylation status of *AREG* in the above specimens was detected using methylation-specific polymerase chain reaction (MSP).

RESULTS: Overexpression of *AREG* was found in colorectal neoplasms compared with normal colorectal tissues. The rate of *AREG* gene pro-

moter methylation was significantly lower in colorectal neoplasms than in normal colorectal tissues (11.5% vs 67.7%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Higher expression of *AREG* has a significant correlation with patient age and tumor differentiation degree. Promoter demethylation may play an important role in *AREG* overexpression in colorectal neoplasms.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Colorectal neoplasms; *AREG*; qRT-PCR; Methylation-specific polymerase chain reaction

Wu T, Zhao Y, Li D, He HM, Li N, Zhang Y, Zhao DY. Expression and promoter methylation of *AREG* in colorectal neoplasms. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2870-2874 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2870.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2870>

摘要

目的: 检测双调蛋白(amphiregulin, *AREG*)在结直肠癌组织中的表达水平及其启动子区甲基化水平, 分析*AREG*基因与结直肠癌发生发展的关系, 以探讨其在结直肠癌诊断治疗中的意义。

方法: 采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)技术检测基因在145例结直肠癌组织及145例癌旁正常组织中的表达; 甲基化特异性聚合酶链反应(methylation-specific polymerase chain reaction, MSP)技术检测*AREG*基因启动子区甲基化水平。

结果: *AREG*基因在癌组织与正常组织中的相对表达量分别为 (2.214 ± 0.802) 和 (0.834 ± 0.356) , 癌组织与正常组织的表达水平差异显著, *AREG*的高表达与患者年龄及肿瘤的分化程度密切相关($P < 0.05$)。甲基化特异性PCR结果显示癌组织基因启动子区甲基化发生率(11.7%), 明显低于正常组织甲基化发生率(67.6%)。

结论: *AREG*基因的高表达与结直肠癌患者的

■同行评议者

陆云飞, 教授, 广西医科大学第一附属医院

年龄及肿瘤细胞分化程度密切相关, 其高表达可能与启动子区去甲基化有关。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 结直肠癌; *AREG*; qRT-PCR; MSP

核心提示: *AREG*基因可作为结直肠癌的一个候选检测靶点, 检测*AREG*基因的表达可作为判断结直肠癌恶性分化程度高低的有价值的指标之一, 进一步明确其作用机制能为结直肠癌治疗提供新的方向。

吴涛, 赵滢, 李丹, 何红梅, 李娜, 张阳, 赵丹懿. 结直肠癌*AREG*基因的表达与甲基化水平. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2870-2874 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2870.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2870>

0 引言

结直肠癌是常见的恶性肿瘤, 近年来由于环境、水源污染以及人们饮食结构的改变等原因, 其发病率逐渐上升^[1], 已成为我国发病率增长最快的恶性肿瘤^[2]. 结直肠癌治疗预后不佳, 严重影响患者生活质量. 从分子遗传水平探究结直肠癌发病机制, 确定分子治疗靶标已成为现在基础研究工作重点。

双调蛋白(amphiregulin, *AREG*)基因定位于4号染色体长臂, 所编码双调蛋白是表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)家族的成员^[3], 是一种自分泌生长因子, 同时也是星型胶质细胞、雪旺细胞以及成纤维细胞的促分裂素. *AREG*蛋白参与肿瘤细胞复制、侵袭以及凋亡抑制等过程, 本文探讨*AREG*基因在结直肠癌中的表达, 并进一步揭示其与肿瘤发生发展的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 收集我院胃肠外科2006-01/2012-09外科手术切除的原发性结直肠癌手术标本145例, 其中男性83例, 女性62例, 年龄42-85岁(62岁±10.23岁), 所有病例术前均未行放疗或化疗, 术后经病理确诊, 详细病理资料如表1. 同时收集距肿瘤边缘>5 cm的145例癌旁正常组织作为对照. RNA提取TRIzol试剂为Invitrogen公司产品, RNA提取试剂盒及DNA提取试剂盒均购自天根生化科技公司, 逆转录试剂盒及SYBR premix购自大连TaKaRa公司, 引物序列由上海生物工程有限公司合成; EZ DNA甲基化修饰试剂盒(Zymo Research, 美国), 亚硫酸氢盐修饰的通用

表 1 结直肠癌患者病理资料 (n)

病理参数	n	病理参数	n
性别		分化程度	
男	83	高分化	25
女	62	中高分化	58
年龄(岁)		低中分化	62
<60	57	转移情况	
≥60	88	淋巴结转移	52
肿瘤直径(cm)		无淋巴结转移	93
<5	81	远处转移	39
≥5	64	无远处转移	106

人类甲基化DNA标准(Bisulfite Converted Universal Methylated Human DNA Standard)(Zymo Research 美国)用作阳性对照, 以经亚硫酸氢盐修饰的人外周血淋巴细胞DNA作为甲基化阴性对照. qPCR仪(ABI公司 7500 Fast Real-Time PCR系统), 普通PCR仪(ABI公司 2720热循环仪)凝胶成像分析系统(GelDoc-It TS Imaging System UVP公司)。

1.2 方法

1.2.1 组织RNA及DNA提取: 依照试剂盒操作步骤进行RNA及DNA的提取, 提取过程中防止样品的污染和降解, RNA提取全程在冰上操作, 提取样品于-80 °C保存, DNA样品于-20 °C保存, 通过紫外分光光度仪测定所提取核酸浓度和纯度。

1.2.2 逆转录及定量PCR: 本实验采用比较Ct值的相对定量法, 以GAPDH为管家基因, 应用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 进行分析. 定量PCR反应体系(25 μL): SYBR premix(2×)12.5 μL, 目的基因上、下游引物各0.5 μL, cDNA模板2.0 μL, ddH₂O 9.5 μL, 反应条件: 95 °C预变性5 min, 95 °C 15 s, 59 °C 30 s, 72 °C 30 s, 40个循环。

1.2.3 甲基化特异性聚合酶链反应(methylation-specific polymerase chain reaction, MSP): EZ甲基化修饰试剂盒对500 ng组织DNA行亚硫酸氢盐修饰, 修饰后的DNA样本洗脱后立即使用或-80 °C保存待用. MSP参照Herman等^[4]方法, 每个MSP反应需20 ng修饰的DNA样本作为模板, 引物序列如表2, 反应体系(20 μL): 10 μL Hot Start PCR Master Mix, 20 ng DNA模板, 上下游引物各10 pmol. 反应条件: 95 °C变性1 min, 62 °C退火1 min, 72 °C延伸1 min. 每例样品设3个对照: 甲基化阳性、阴性对照以及水作为空白对照. 取8 μL扩增产物于2%含溴化乙锭琼脂糖凝胶上电泳,

■创新盘点

本文对比了结直肠癌患者组和癌旁正常组织的*AREG*基因表达情况, 结果显示患者组的*AREG*基因表达水平明显高于癌旁正常组织。

■同行评价

本研究设计合理,实验方法规范,结果可信,对了解*AREG*基因与结直肠癌的关系具有一定参考意义。

表 2 qRT-PCR及MSP所需引物

引物名称	上游引物	下游引物	Tm(°C)
<i>AREG(RT)</i>	TGGATTGGACCTCAATGACA	AGCCAGGTATTTGTGGTTCG	59.5
<i>GAPDH</i>	GAGTCAACGGATTTGGTCGT	TTGATTTTGGAGGGATCTCG	60
<i>AREG(MSP)</i>			
<i>AREG-M</i>	CGGCGTATATTTTCGGTTTTATTC	GTCTCGATCTCTAAAACAACCTCGAT	62
<i>AREG-U</i>	GAGAGTGGTGTATATTTTGGTTTTATTT	ATCTCAATCTCTAAAACAACCTCAAT	62

表 3 *AREG*表达与结直肠癌临床病理参数的关系

病理参数	<i>n</i>	<i>AREG</i> 表达量	<i>P</i> 值
年龄(岁)			0.034
<60	57	1.873 ± 0.973	
≥60	88	2.842 ± 1.212	
分化程度			0.021
高分化	25	3.023 ± 1.423	
中高分化	58	2.634 ± 1.103	
低中分化	62	1.843 ± 1.434	

两组样本采用Wilcoxon秩和检验,多种间采用H检验。

紫外光下凝胶拍照,分析。

统计学处理 应用SPSS16.0统计软件,计数资料用百分比表示,计量资料以mean±SD表示,组间比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 *AREG*在结直肠癌中表达结果 *AREG*基因与管家基因扩增产物特异,无引物二聚体或其他非特异性产物,根据 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法进行计算得出,*AREG*在结直肠癌组织和正常组织中的相对表达量分别为 2.214 ± 0.802 和 0.834 ± 0.356 ,差异具有统计学意义($P<0.05$,图1)。

2.2 *AREG*基因表达与结直肠癌临床病理参数的关系 结直肠癌145例患者*AREG*表达水平与肿瘤病理参数分析结果显示,基因的高表达与患者年龄及肿瘤分化水平密切相关,具有统计学意义($P<0.05$)(表3)。

2.3 *AREG*启动子区甲基化检测结果 癌旁正常组织共有98例出现甲基化,占67.6%,结直肠癌患者组甲基化17例,占11.7%。正常组与患者组差异具统计学意义(表4,图2)。

2.4 *AREG*启动子区甲基化与基因表达的关系 依据启动子区甲基化情况将癌组织及癌旁正常组织再次进行分组,分为甲基化组和非甲基化组,研究其表达情况(表4),癌组织及癌旁正常组织

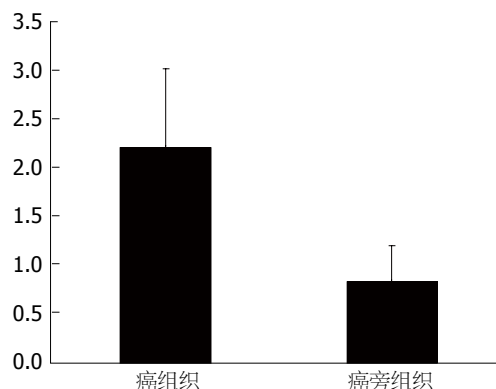


图 1 *AREG*基因在癌组织及癌旁正常组织中表达情况。

分析结果均显示,甲基化水平与基因表达具有相关性($P<0.05$)。

3 讨论

随着分子遗传学理论的发展及分子生物学检测手段的进步,人们对恶性肿瘤的发生发展有了更深层次的认识。染色体畸形、癌基因突变或扩增激活、抑癌基因失活等一系列改变在肿瘤形成发展过程中起到了非常重要的作用^[5,6]。外界环境因素以及体内大量微效基因的共同作用组成了结直肠癌的形成机制。

*AREG*基因定位于人类4号染色体长臂,编码双调蛋白是表皮生长因子EGF家族成员之一。研究发现,*AREG*基因在肿瘤组织中高表达,而在正常组织中低表达甚至不表达^[7,8]。*AREG*被认为是一种双官能的生长调节糖蛋白,可以激活成纤维细胞的增殖,同时又能抑制神经母细胞瘤和其他腺瘤细胞系的生长^[9]。在不同的生物学条件下,*AREG*既可以激活肺癌的增殖又可以抑制肺癌细胞的增殖^[10]。目前未见*AREG*基因表达及表观遗传学改变与结直肠癌相关性方面的报道,本研究从表达及甲基化水平初步阐释*AREG*基因与结直肠癌的关系。

表观遗传学不涉及遗传物质一级结构即核苷酸序列的改变,常见的表观遗传学改变如甲

表 4 癌组织和癌旁正常组织

	甲基化		非甲基化		P值
	n(%)	表达量	n(%)	表达量	
癌组织	17(11.7)	1.232 ± 0.984	128(88.3)	2.475 ± 1.257	0.031
癌旁正常组织	98(67.6)	1.326 ± 1.034	47(32.4)	2.501 ± 1.385	0.027

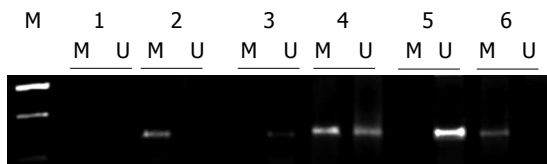


图 2 AREG启动子区甲基化检测结果. M: marker; 1: 以水为模板空白对照; 2: 甲基化阳性对照; 3: 甲基化阴性对照; 4: 部分甲基化; 5: 未甲基化; 6: 完全甲基化.

甲基化通过对基因启动子区CpG岛的修饰, 从而达到调节基因表达的目的, 大量研究表明, 甲基化在肿瘤发生发展过程中发挥重要作用^[11]. 研究发现, 相关基因的甲基化在结直肠癌发生发展中起到重要作用^[12,13].

本研究对比了结直肠癌患者组和癌旁正常组织的AREG基因表达情况, 结果显示患者组的AREG基因表达水平明显高于癌旁正常组织, 差异具统计学意义, 本研究结果与研究者在其他肿瘤中所得出结果相一致^[14-16]. 更高的年龄和肿瘤细胞分化程度的患者, 其表达水平相应也更高, 说明AREG基因在结直肠癌中与肿瘤的增殖、分化有着密切的关系, 其作用机制可能包括产生细胞增殖信号、激活细胞无限增殖潜力、增加肿瘤细胞组织侵袭力和转移能力以及血管生成、抑制细胞凋亡等方面.

甲基化水平研究结果提示, 启动子区的去甲基化可能是AREG基因高表达的一个重要原因, 可能存在上游调节因子影响基因的甲基化水平, 去甲基化原因可作为后续研究来阐明AREG基因作用机制.

总之, AREG基因可作为结直肠癌的一个候选检测靶点, 检测AREG基因的表达可作为判断结直肠癌恶性分化程度高低的有价值的指标之一, 进一步明确其作用机制能为结直肠癌治疗提供新的方向.

4 参考文献

- Yeoh KG, Ho KY, Chiu HM, Zhu F, Ching JY, Wu DC, Matsuda T, Byeon JS, Lee SK, Goh KL, Sollano J, Rerknimitr R, Leong R, Tsoi K, Lin JT, Sung JJ.

The Asia-Pacific Colorectal Screening score: a validated tool that stratifies risk for colorectal advanced neoplasia in asymptomatic Asian subjects. *Gut* 2011; 60: 1236-1241 [PMID: 21402615 DOI: 10.1136/gut.2010.221168]

- Yang L, Parkin DM, Li L, Chen Y. Time trends in cancer mortality in China: 1987-1999. *Int J Cancer* 2003; 106: 771-783 [PMID: 12866039]
- Ohchi T, Akagi Y, Kinugasa T, Kakuma T, Kawahara A, Sasatomi T, Gotanda Y, Yamaguchi K, Tanaka N, Ishibashi Y, Miyamoto S, Kage M, Shirouzu K. Amphiregulin is a prognostic factor in colorectal cancer. *Anticancer Res* 2012; 32: 2315-2321 [PMID: 22641668]
- 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]
- Downing JR. Cancer genomes--continuing progress. *N Engl J Med* 2009; 361: 1111-1112 [PMID: 19657111 DOI: 10.1056/NEJMe0906090]
- Pollard PJ, Ratcliffe PJ. Cancer. Puzzling patterns of predisposition. *Science* 2009; 324: 192-194 [PMID: 19359573 DOI: 10.1126/science.1173362]
- Castillo J, Erroba E, Perugorria MJ, Santamaría M, Lee DC, Prieto J, Avila MA, Berasain C. Amphiregulin contributes to the transformed phenotype of human hepatocellular carcinoma cells. *Cancer Res* 2006; 66: 6129-6138 [PMID: 16778186]
- Plowman GD, Green JM, McDonald VL, Neubauer MG, Distech CM, Todaro GJ, Shoyab M. The amphiregulin gene encodes a novel epidermal growth factor-related protein with tumor-inhibitory activity. *Mol Cell Biol* 1990; 10: 1969-1981 [PMID: 2325643]
- Shoyab M, McDonald VL, Bradley JG, Todaro GJ. Amphiregulin: a bifunctional growth-modulating glycoprotein produced by the phorbol 12-myristate 13-acetate-treated human breast adenocarcinoma cell line MCF-7. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988; 85: 6528-6532 [PMID: 3413110]
- Mallakin A, Sugiyama T, Kai F, Taneja P, Kendig RD, Frazier DP, Maglic D, Matise LA, Willingham MC, Inoue K. The Arf-inducing transcription factor Dmp1 encodes a transcriptional activator of amphiregulin, thrombospondin-1, JunB and Egr1. *Int J Cancer* 2010; 126: 1403-1416 [PMID: 19816943 DOI: 10.1002/ijc.24938]
- Suvà ML, Riggi N, Bernstein BE. Epigenetic reprogramming in cancer. *Science* 2013; 339: 1567-1570 [PMID: 23539597 DOI: 10.1126/science.1230184]
- Prabhu JS, Korlimarla A, Banerjee A, Wani S, K P, Sahoo R. Gene-specific methylation: potential markers for colorectal cancer. *Int J Biol Markers* 2009; 24: 57-62 [PMID: 19404924]
- Liu Y, Tham CK, Ong SY, Ho KS, Lim JF, Chew MH, Lim CK, Zhao Y, Tang CL, Eu KW. Serum methylation levels of TAC1, SEPT9 and EYA4 as di-

- agnostic markers for early colorectal cancers: a pilot study. *Biomarkers* 2013; 18: 399-405 [PMID: 23862763 DOI: 10.3109/1354750X.2013.798745]
- 14 Busser B, Sancey L, Josserand V, Niang C, Favrot MC, Coll JL, Hurbini A. Amphiregulin promotes BAX inhibition and resistance to gefitinib in non-small-cell lung cancers. *Mol Ther* 2010; 18: 528-535 [PMID: 19826406 DOI: 10.1038/mt.2009.226]
- 15 Ahn EY, Kim JS, Kim GJ, Park YN. RASSF1A-mediated regulation of AREG via the Hippo pathway in hepatocellular carcinoma. *Mol Cancer Res* 2013; 11: 748-758 [PMID: 23594797 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-12-0665]
- 16 Tinhofer I, Klinghammer K, Weichert W, Knödler M, Stenzinger A, Gauler T, Budach V, Keilholz U. Expression of amphiregulin and EGFRvIII affect outcome of patients with squamous cell carcinoma of the head and neck receiving cetuximab-docetaxel treatment. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 5197-5204 [PMID: 21653686 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-10-3338]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

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

MicroRNA-214在结直肠癌中的表达及其对细胞增殖的影响

张丽静, 吴晨鹏, 张志勇, 刘 博, 樊智彬, 裴永彬, 赵增仁

张丽静, 刘博, 樊智彬, 裴永彬, 赵增仁, 河北医科大学第一医院普外科 河北省石家庄市 050031
吴晨鹏, 张志勇, 唐山市工人医院病理科 河北省唐山市 063000

张丽静, 主治医师, 主要从事消化系统肿瘤的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81072034

作者贡献分布: 张丽静与吴晨鹏对此文所作贡献均等; 此课题由张丽静与赵增仁设计; 研究过程由吴晨鹏、刘博及樊智彬操作完成; 研究所用试剂及分析工具由赵增仁提供; 临床病理资料由张志勇与裴永彬提供; 数据分析由张丽静完成; 本论文写作由张丽静、吴晨鹏及赵增仁完成。

通讯作者: 赵增仁, 教授, 050031, 河北省石家庄市东岗路, 河北医科大学第一医院普外科, zzz-doctor@163.com

电话: 0311-85917006

收稿日期: 2013-05-29 修回日期: 2013-07-20

接受日期: 2013-07-31 在线出版日期: 2013-09-28

Expression of miR-214 in colorectal cancer and effect of miR-214 overexpression on colorectal cancer cell proliferation

Li-Jing Zhang, Chen-Peng Wu, Zhi-Yong Zhang, Bo Liu, Zhi-Bin Fan, Yong-Bin Pei, Zeng-Ren Zhao

Li-Jing Zhang, Bo Liu, Zhi-Bin Fan, Yong-Bin Pei, Zeng-Ren Zhao, Department of General Surgery, First Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050031, Hebei Province, China

Chen-Peng Wu, Zhi-Yong Zhang, Department of Pathology, Tangshan Gongren Hospital, Tangshan 063000, Hebei Province, China

Correspondence to: Zeng-Ren Zhao, Professor, Department of General Surgery, First Hospital of Hebei Medical University, Donggang Road, Shijiazhuang 050031, Hebei Province, China. zzz-doctor@163.com

Received: 2013-05-29 Revised: 2013-07-20

Accepted: 2013-07-31 Published online: 2013-09-28

Abstract

AIM: To assess the clinical significance of expression of microRNA-214 (miR-214) in colorectal cancer (CRC), and to investigate the effect of miR-214 overexpression on SW1116 cell proliferation.

METHODS: Total RNA was extracted from 44 surgical specimens of CRC and matched normal mucosa, as well as from seven colon cancer cell lines. MiR-214 expression was detected by real-time PCR, and its clinical significance was analyzed. MTS assay and colony formation assay

were used to assess the effect of miR-214 overexpression on CRC cell proliferation.

RESULTS: MiR-214 expression was down-regulated in 77.3 % (34/44) of tumor tissue specimens. The relative expression level of miR-214 was significantly lower in tumor tissues than in matched normal mucosal tissues (0.0264 vs 0.0505, $P = 0.0097$). Lower miR-214 level was strongly associated with mucinous cancer ($P = 0.0138$). The expression of miR-214 in colon cancer cell lines was lower than that in controls. Overexpression of miR-214 inhibited the growth and colony formation of tumor cells (both $P < 0.01$).

CONCLUSION: MiR-214 expression is down-regulated in CRC, particularly in mucinous cancer. MiR-214 might act as a tumor suppressor through inhibiting cell proliferation.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Colorectal cancer; MiRNA-214; Cell proliferation

Zhang LJ, Wu CP, Zhang ZY, Liu B, Fan ZB, Pei YB, Zhao ZR. Expression of miR-214 in colorectal cancer and effect of miR-214 overexpression on colorectal cancer cell proliferation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2875-2880 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2875.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2875>

摘要

目的: 探讨microRNA-214(miR-214)在结直肠癌(colorectal cancer, CRC)中的表达, 分析其与临床病理特征间的关系, 并观察对SW1116细胞增殖的影响。

方法: 通过Real-time PCR技术检测miR-214在结肠癌细胞株及44例结直肠癌组织、相应边缘无瘤黏膜组织中的表达水平, 分析miR-214的表达与结直肠癌患者临床病理特征的关系。采用脂质体介导的转染方法将miR-214模拟物转染SW1116; MTS及克隆形成试验检测对细胞增殖的影响。

■背景资料

miRNAs对细胞的增殖、分化和凋亡有重要的调节作用, 他们在正常组织和肿瘤组织中的表达显著不同。研究发现, miRNA在恶性肿瘤发生发展过程中起了癌基因或抑癌基因的作用。

■同行评议者

许剑民, 教授, 上海市复旦大学附属中山医院普外科

■研究前沿

研究发现miR-214在多种恶性肿瘤中均有异常表达,并且可通过多种机制影响肿瘤的发生发展。目前,miR-214在结直肠癌中的研究鲜有报道。本研究通过检测miR-214在结直肠癌组织和细胞中的表达,分析其在结直肠癌发生发展中的作用,为结直肠癌的发病机制提供新的理论依据。

结果: miR-214在77.3%(34/44)的结直肠癌组织中低表达;miR-214在结直肠癌组织和相应切缘无瘤黏膜中的表达水平分别为0.0264(0.0063, 0.0591)和0.0505(0.0250, 0.1122),结直肠癌组织中表达水平显著低于切缘无瘤黏膜,差异有统计学意义($Z = -2.591$, $P = 0.0097$)。miR-214在黏液癌中的表达水平显著低于非黏液癌($P = 0.0138$)。结肠癌细胞株中miR-214的表达普遍下调。SW1116细胞转染miR-214模拟物后,miR-214表达明显增加;miR-214模拟物转染组和阴性对照组相比,细胞生长减慢,细胞集落减少,细胞增殖活力明显受抑制($P < 0.01$)。

结论: miR-214在结直肠癌中低表达,黏液癌中下调更明显。上调miR-214表达可抑制结肠癌细胞增殖活性。miR-214可能在结直肠癌的发生发展中发挥抑癌作用。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 结直肠癌; miRNA-214; 细胞增殖

核心提示: MiR-214在结直肠癌中低表达,黏液癌中下调更明显。上调miR-214表达可抑制结肠癌细胞增殖活性。miR-214可能在结直肠癌的发生发展中发挥抑癌作用。

张丽静, 吴晨鹏, 张志勇, 刘博, 樊智彬, 裴永彬, 赵增仁. MicroRNA-214在结直肠癌中的表达及其对细胞增殖的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2875-2880 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2875.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2875>

0 引言

结直肠癌是最常见的恶性肿瘤之一,其发病率和死亡率均居于恶性肿瘤前列^[1]。microRNA(miRNA)为一种单链非编码RNA,作为调控因子参与了细胞的生长、增殖、分化、凋亡等多种生命过程^[2-4]。miRNA失调与肿瘤发生发展关系密切。研究表明miRNA-214(miR-214)可通过多种机制影响肿瘤的发生发展^[5-11]。目前,miR-214在结直肠癌中的研究鲜有报道。本研究通过检测miR-214在结直肠癌组织和细胞中的表达,分析其在结直肠癌发生发展中的作用,为结直肠癌的发病机制提供新的理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2009-05/2012-05河北医科大学第一医院44例结直肠癌组织标本,每例标本分别

取自结直肠原发肿瘤组织及上(下)切缘正常黏膜且术后病理证实无癌组织侵犯。离体后迅速置于液氮,存于-80℃备用。患者年龄31-83岁,平均64.52岁±13.97岁;男性25例,女性19例;结肠21例,直肠23例;未侵及浆膜9例,侵及浆(外)膜及以外35例;高分化2例,中分化35例,低分化7例;非黏液癌34例,黏液癌9例,资料缺失1例;无淋巴结转移28例,有淋巴结转移16例;Dukes分期A期5例,B期22例,C期13例,D期4例。所有患者术前未接受任何放化疗,术后经病理证实符合WHO结直肠癌诊断标准。实验所选用7种结肠癌细胞株(Caco-2、DLD1、HT29、LOVO、SW620、SW480、SW1116)由香港中文大学于君教授转赠。TRIzol试剂购自美国Invitrogen公司;Real-time PCR试剂盒All-in-One™ miRNA qRT-PCR Detection Kit、U6、miR-214引物,均购自美国复能基因有限公司;McCoy's 5A培养液、DMEM培养液、Leibovitz's L-15培养液、胎牛血清、青链霉素,均购自美国Gibco公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: HT-29细胞选用McCoy's 5A培养液,SW480、SW620、SW1116细胞选用Leibovitz's L-15培养液,DLD1、LOVO、Caco-2选用DMEM培养液,培养液均加入10%FBS和1%PEST。培养条件为37℃、5%CO₂,根据生长情况每2-3 d换液1次,当细胞数达长满培养瓶底部时,收集细胞。

1.2.2 总RNA的提取: 将约100 mg组织放入研钵研磨,放入加有1 mL TRIzol的EP管(如在细胞中提取,将细胞培养瓶中培养液吸净,加入1 mL TRIzol,反复吹打然后移入EP管中),静置5 min,加氯仿0.2 mL,混匀静置5 min,12000 g离心15 min,吸取上层无色液相,加入0.5 mL异丙醇,静置15 min,12000 g离心15 min,可见RNA沉淀,弃上清,加750 mL/L乙醇1 mL混匀,7500 g离心5 min,弃上清,DEPC水溶解。琼脂糖凝胶电泳检测RNA完整性、分光光度计检测RNA浓度及纯度。

1.2.3 Real-time PCR检测miR-214的表达: 取总RNA 2 μg进行逆转录反应,反应条件:37℃、60 min,85℃、5 min。取逆转录产物cDNA 2 μL进行实时定量PCR反应,反应条件:95℃预变性10 min,然后按95℃、10 s,60℃、30 s,72℃、10 s,进行40个循环。以上各步骤中,反应体系以及试剂用量均严格按照说明书进行。反应结束,检测各模板的Ct值。通过Ct值进行相对定量。miR-214的相对表达量用2^{-ΔΔCt}法计算,其中ΔCt =

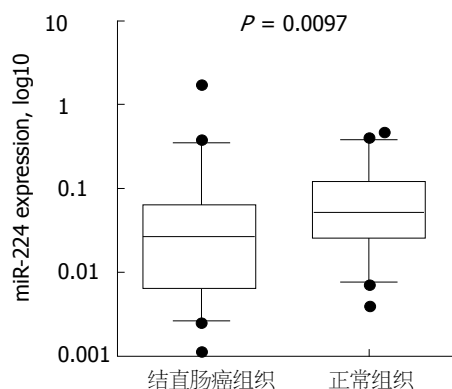


图1 结直肠癌组织及正常黏膜中miR-214的表达.

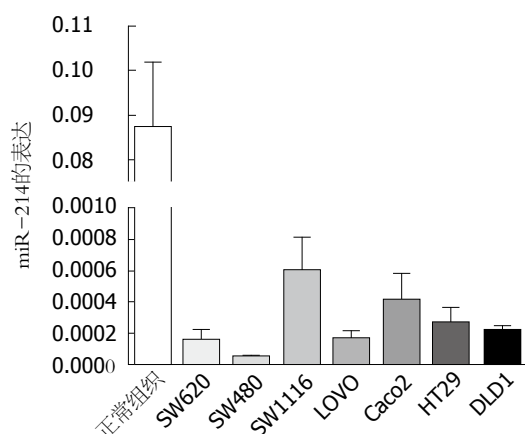


图2 结肠癌细胞株中miR-214的表达.

CT(miR-214)-CT(U6), 以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示样品中目的基因初始cDNA相对表达量.

1.2.4 miR-214模拟物的转染: 将结肠癌细胞 SW1116细胞接种后24 h, 待贴壁细胞达到40%-50%时进行转染, 参照脂质体转染试剂说明书分别转染miR-214模拟物和阴性对照(NC).

1.2.5 细胞增殖活性的检测: (1)MTS比色法来测定细胞活力: 转染miR-214模拟物组和NC组结肠癌SW1116细胞株, 于转染后24 h, 消化细胞, 按照1000个/孔接种于96孔细胞培养板中, 每孔100 μ L培养液, 分别于培养12、24、36、48、60 h按20 μ L/孔加入MTS检测试剂, 在培养箱中继续孵育2 h, 490 nm测定吸光度(A)值, 绘制增殖曲线; (2)克隆形成实验: 将各转染组细胞以 1×10^3 /mL的浓度接种于6孔板中, 设立3个复孔. 每孔加入2 mL培养液常规培养, 每3 d换液1次. 镜下见细胞克隆中细胞数>50个细胞时, 终止培养. 去除培养液后, PBS清洗1遍, 用结晶紫固定染色1-2 h, 去除结晶紫染料, 用清水洗去多余的染料, 晾干后肉眼进行计数.

统计学处理 应用SPSS13.0软件对数据进行

表1 结直肠癌组织中miR-214的表达与临床病理特征间的关系

临床病理特征	n	miR-214	P值
性别			0.722
男	25	0.413(0.144, 1.463)	
女	19	0.296(0.157, 0.614)	
年龄(岁)			0.371
≤60	14	0.418(0.254, 1.016)	
>60	30	0.249(0.137, 1.373)	
肿瘤位置			0.121
结肠	21	0.443(0.177, 2.612)	
直肠	23	0.226(0.138, 0.992)	
浸润深度			0.332
肌层	9	0.216(0.128, 0.748)	
浆膜层	35	0.350(0.170, 1.176)	
分化程度			0.893
中、高分化	37	0.296(0.174, 1.155)	
低分化	7	0.443(0.063, 6.168)	
组织学类型			0.0138
非黏液癌	34	0.418(0.204, 1.373)	
黏液腺癌	9	0.134(0.047, 0.409)	
淋巴结转移			0.502
有	28	0.571(0.223, 1.119)	
无	16	0.524(0.193, 1.092)	

统计分析, 非正态数据以中位数(四分位数间距), 两组间配对样本采用Wilcoxon检验, 独立样本采用Mann-Whitney检验, 正态数据以mean±SD表示, 采用配对t检验, 以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 结直肠癌组织中miR-214的表达 我们采用Real-time PCR技术检测miR-214的表达, 以U6为内参, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析结直肠癌组织相对无瘤正常黏膜组织的相对表达量. miR-214在77.3%(34/44)的结直肠癌组织中低表达; miR-214在结直肠癌组织和相应切缘无瘤黏膜中的表达水平分别为0.0264(0.0063, 0.0591)和0.0505(0.0250, 0.1122), 结直肠癌组织中表达水平显著低于切缘无瘤黏膜, 差异有统计学意义($Z = -2.591$, $P = 0.0097$)(图1).

2.2 miR-214的表达与临床病理特征间的关系 miR-214的表达水平与结直肠癌患者的组织学分型密切相关, 即非黏液癌中的表达水平显著高于黏液癌($U = 70$, $P = 0.0138$), 而与性别、年龄、部位、浸润深度、分化程度、淋巴结转移和临床分期无关(均 $P>0.05$)(表1).

■ 相关报道

Huang研究认为miR-214表达上调可以显著抑制食管鳞状细胞癌细胞的转移和侵袭能力. 同时有学者研究发现miR-214可以抑制宫颈癌及乳腺癌细胞的侵袭.

■ 创新盘点

本研究分析了miR-214在结直肠癌及切缘无瘤黏膜组织中的表达,并分析和临床病理特征间的关系。同时通过上调结肠癌细胞中miR-214的表达,探讨其对肿瘤细胞增殖的影响。

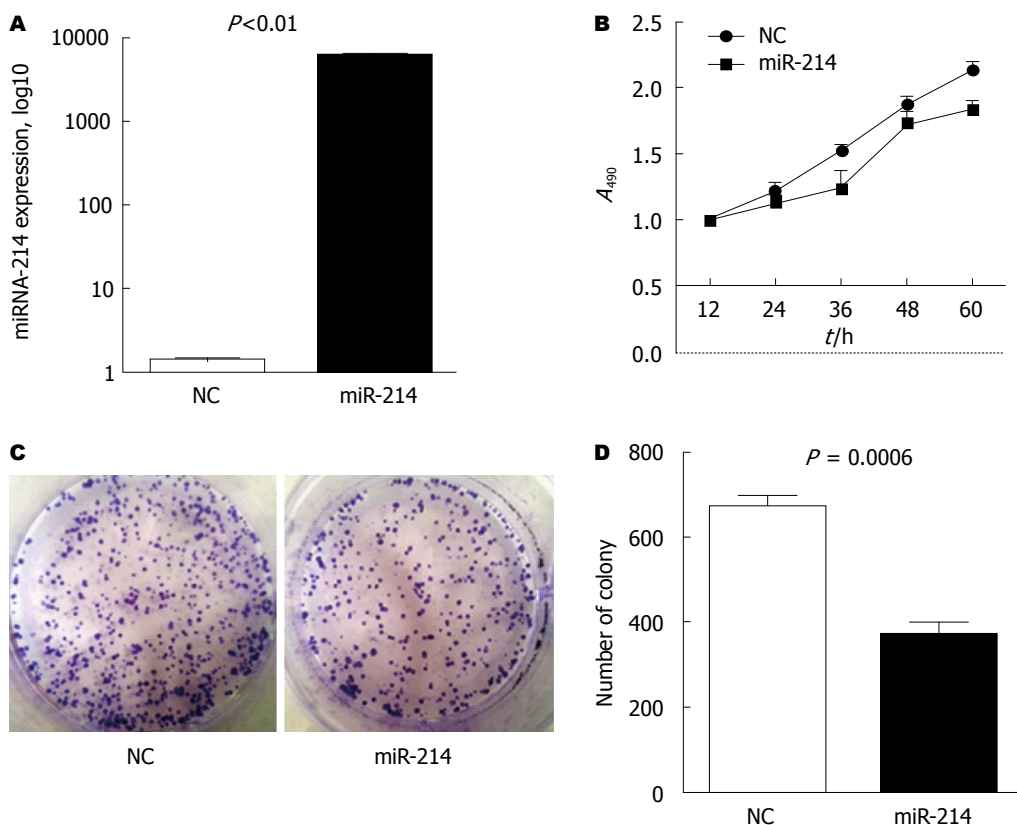


图3 miR-214上调对细胞增殖的影响。A: 转染miR-214模拟物后, miR-214表达明显增加; B: MTS试验, 转染miR-214模拟物组细胞生长较NC组缓慢; C: 平板克隆试验; D: 转染miR-214模拟物组, 细胞集落数明显减少。

2.3 miR-214在结肠癌细胞株中的表达 miR-214在结肠癌细胞Caco-2、DLD1、HT29、LOVO、SW620、SW480和SW1116中的表达均明显低于结直肠切缘无瘤黏膜组织($P < 0.01$)(图2)。

2.4 miR-214对结肠癌SW1116细胞增殖的影响 我们选取生长状态及细胞形态较好的SW1116细胞作为研究对象, 将SW1116细胞分别转染miR-214模拟物和阴性对照, 检测miR-214的表达, 结果证实, 转染miR-214模拟物组miR-214的表达水平约是NC对照组的5000倍(图3A)。随后MTS检测结果显示, 转染miR-214模拟物后细胞生长速度较NC对照组明显减慢, 差异有统计学意义($P < 0.01$)(图3B)。细胞克隆形成实验检测结果发现, 与阴性对照组比较, 经miR-214模拟物处理后SW1116细胞形成的集落数明显减少(图3C, D)。

3 讨论

microRNA是一种高度保守的单链非编码RNA, 主要在转录后水平调控基因的表达。miRNA几乎在所有细胞的生物学进程中发挥重要的调控作

用, 如细胞增殖、分化、代谢、凋亡和应激等。人类蛋白质编码基因约1/3受miRNA的调控^[12]。

最近发现miR-214在肿瘤中作用尤为活跃, 在多种恶性肿瘤中均有异常表达, 但在不同肿瘤中miR-214的表达情况却不尽相同, 具有一定的肿瘤特异性。Huang等^[5]研究表明miR-214在食管鳞癌中低表达并与食管鳞癌的病理分级、临床分期和淋巴结转移相关。Shih等^[6]发现在肝细胞肝癌中miR-214表达下调与患者的复发和预后差密切相关。另有学者认为在乳腺癌患者血清中miR-214也存在低表达, 并且与淋巴结转移情况相关^[7]。Yang等^[8]研究发现miR-214在宫颈癌组织中表达水平明显低于正常组织。另外一些研究发现, miR-214在某些肿瘤中呈现高表达, 通过促进癌细胞的增殖、增强化疗耐药性发挥癌作用。Zhang等^[9]认为miR-214在胰腺癌中高表达, 能促进胰腺癌细胞的生存并降低癌细胞对GEM的敏感性。Yang等^[10]发现miR-214可以促进卵巢癌细胞的存活, 并降低化疗药物顺铂敏感性。此外, miR-214可以对黑色素瘤细胞的转移和侵袭也具有促进作用^[11]。在本研究中, 我们发现, miR-214在多种结肠癌细胞以及

肿瘤组织中的表达水平均显著低于结直肠切缘无瘤黏膜, 随后分析其与临床病理特征的关系发现, 黏液腺癌中miR-214的表达明显降低. 结直肠黏液癌的发生机制、形态学表现及预后等均与非黏液癌显著不同. Song等^[13]收集2079例结直肠癌的临床病理及预后进行了回顾性研究, 结果显示同非黏液癌相比, 黏液癌分期更晚, 易发生转移, 预后往往较差. 提示结直肠黏液癌与非黏液癌不仅组织形态不同, 其生物学行为也不同, 二者可能具有不同的肿瘤发生机制. King-Yin Lam等^[14]对36例结直肠黏液癌和228例非黏液癌的研究结果相同. 在本研究中, 结直肠黏液癌中miR-214表达水平明显低于非黏液癌, 提示miR-214下调可能与黏液癌的发生密切相关.

miR-214在结直肠癌中表达下调, 可能参与了结直肠癌的发展过程, 然而其调控机制尚不明确. 为了深入了解miR-214在结肠癌发病过程中的具体作用及其对结肠癌细胞生物学行为的影响, 本研究使用化学合成的miR-214模拟物转染结肠癌SW1116细胞, 上调结肠癌细胞中miR-214的表达, 采用平板克隆形成试验, 观察细胞生长情况, 发现miR-214高表达可以减少细胞集落形成, 抑制细胞增殖. 目前, 有多项研究表明miR-214影响了肿瘤细胞的增殖、凋亡、侵袭、转移等生物过程. Huang等^[5]研究认为miR-214表达上调可以显著抑制食管鳞状细胞癌细胞Eca109的转移和侵袭能力. 同时有学者研究发现miR-214可以抑制宫颈癌^[5]及乳腺癌细胞的侵袭^[7].

细胞增殖过程有诸多蛋白参与, 推测miR-214可能直接或间接锚定其中某些蛋白mRNA 3'UTR区, 使蛋白合成抑制或减少, 使细胞周期与细胞增殖活性失调而发生恶性转化. 有研究发现, miR-214可以通过调节P53, 抑制DNA复制而发挥抑制骨髓瘤细胞生长的作用^[15]. 肝细胞癌的研究发现, miR-214通过抑制 β -catenin途径而发挥抑制细胞生长、侵袭的作用^[16,17]. 关于miR-214在结直肠癌中的具体作用机制, 调控的靶基因及参与调节的信号通路仍待进一步研究.

总之, miR-214在结直肠癌中表达下调, miR-214可能通过抑制细胞增殖发挥抑癌作用, 但具体信号通路有待进一步研究.

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 郁婷婷, 李硕, 傅敏根, 曹日昇, 朱宏, 施瑞华. miR-130b在食管鳞癌中的表达及对食管鳞癌细胞增殖和迁移的影响. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 1685-1692
- 3 马群英, 王新颖, 李钊, 姜泊, 许岸高. miR-106a在大肠癌中的表达及其与肠癌细胞侵袭的关系. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 3370-3374
- 4 冷弘, 臧文巧, 王涛, 王媛媛, 马晶, 赵国强. miR-451对食管癌EC9706细胞增殖、凋亡及侵袭能力的影响. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 1323-1327
- 5 Huang SD, Yuan Y, Zhuang CW, Li BL, Gong DJ, Wang SG, Zeng ZY, Cheng HZ. MicroRNA-98 and microRNA-214 post-transcriptionally regulate enhancer of zeste homolog 2 and inhibit migration and invasion in human esophageal squamous cell carcinoma. *Mol Cancer* 2012; 11: 51 [PMID: 22867052 DOI: 10.1186/1476-4598-11-51]
- 6 Shih TC, Tien YJ, Wen CJ, Yeh TS, Yu MC, Huang CH, Lee YS, Yen TC, Hsieh SY. MicroRNA-214 downregulation contributes to tumor angiogenesis by inducing secretion of the hepatoma-derived growth factor in human hepatoma. *J Hepatol* 2012; 57: 584-591 [PMID: 22613005 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.04.031]
- 7 Schwarzenbach H, Milde-Langosch K, Steinbach B, Müller V, Pantel K. Diagnostic potential of PTEN-targeting miR-214 in the blood of breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2012; 134: 933-941 [PMID: 22350790 DOI: 10.1007/s10549-012-1988-6]
- 8 Yang Z, Chen S, Luan X, Li Y, Liu M, Li X, Liu T, Tang H. MicroRNA-214 is aberrantly expressed in cervical cancers and inhibits the growth of HeLa cells. *IUBMB Life* 2009; 61: 1075-1082 [PMID: 19859982 DOI: 10.1002/iub.252]
- 9 Zhang XJ, Ye H, Zeng CW, He B, Zhang H, Chen YQ. Dysregulation of miR-15a and miR-214 in human pancreatic cancer. *J Hematol Oncol* 2010; 3: 46 [PMID: 21106054 DOI: 10.1186/1756-8722-3-46]
- 10 Yang H, Kong W, He L, Zhao JJ, O'Donnell JD, Wang J, Wenham RM, Coppola D, Kruk PA, Nicosia SV, Cheng JQ. MicroRNA expression profiling in human ovarian cancer: miR-214 induces cell survival and cisplatin resistance by targeting PTEN. *Cancer Res* 2008; 68: 425-433 [PMID: 18199536 DOI: 10.1158/0008-5472]
- 11 Penna E, Orso F, Cimino D, Tenaglia E, Lembo A, Quagliano E, Polisenio L, Haimovic A, Osella-Abate S, De Pittà C, Pinatel E, Stadler MB, Provero P, Bernengo MG, Osman I, Taverna D. microRNA-214 contributes to melanoma tumour progression through suppression of TFAP2C. *EMBO J* 2011; 30: 1990-2007 [PMID: 21468029 DOI: 10.1038/emboj.2011.102]
- 12 Lim LP, Lau NC, Garrett-Engle P, Grimson A, Schelter JM, Castle J, Bartel DP, Linsley PS, Johnson JM. Microarray analysis shows that some microRNAs downregulate large numbers of target mRNAs. *Nature* 2005; 433: 769-773 [PMID: 15685193]
- 13 Song W, Wu SJ, He YL, Cai SR, Zhang CH, Zhang XH, Zhan WH. Clinicopathologic features and survival of patients with colorectal mucinous, signet-ring cell or non-mucinous adenocarcinoma: experience at an institution in southern China. *Chin Med J (Engl)* 2009; 122: 1486-1491 [PMID: 19719934]
- 14 King-Yin Lam A, Ong K, Ho YH. Colorectal mucinous adenocarcinoma: the clinicopathologic features and significance of p16 and p53 expression. *Dis Colon Rectum* 2006; 49: 1275-1283 [PMID: 16912910]

■应用要点

MiR-214在结直肠癌发生发展过程中的作用研究尚处于初级阶段, 对其深入研究有助于了解并探索结直肠癌发生发展机制, 本实验为miR-214用于结直肠癌的靶向治疗提供了初步的理论依据.

■同行评价

本文分析结直肠癌组织中miR-214的表达,并探讨其与临床病理特征间的关系,具有一定的临床意义。

- 15 Misiewicz-Krzeminska I, Sarasquete ME, Quwaider D, Krzeminski P, Ticona FV, Paíno T, Delgado M, Aires A, Ocio EM, García-Sanz R, San Miguel JF, Gutiérrez NC. Restoration of microRNA-214 expression reduces growth of myeloma cells through positive regulation of P53 and inhibition of DNA replication. *Haematologica* 2013; 98: 640-648 [PMID: 23100276 DOI: 10.3324/haematol.2012.070011]
- 16 Wang X, Chen J, Li F, Lin Y, Zhang X, Lv Z, Jiang J. MiR-214 inhibits cell growth in hepatocellular carcinoma through suppression of β -catenin. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 428: 525-531 [PMID: 23068095 DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.10.039]
- 17 Xia H, Ooi LL, Hui KM. MiR-214 targets β -catenin pathway to suppress invasion, stem-like traits and recurrence of human hepatocellular carcinoma. *PLoS One* 2012; 7: e44206 [PMID: 22962603 DOI: 10.1371/journal.pone.0044206]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng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位胃肠病学和肝病专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志,旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章,使其成为一种公众资源,同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文,了解其领域的所有的关键的进展,更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务,为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

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

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

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

直肠癌Dixon手术后吻合口瘘相关因素的Logistic分析289例

张展志, 于军辉, 刘刚, 廖代祥, 罗成华

张展志, 于军辉, 刘刚, 廖代祥, 罗成华, 首都医科大学附属北京世纪坛医院普通外科三区 北京市 100038

张展志, 主治医师, 主要从事结肠直肠癌及腹膜后肿瘤的外科治疗。

作者贡献分布: 本课题设计由罗成华与张展志完成; 于军辉与刘刚负责资料的收集整理; 廖代祥参与写作指导; 本文的数据分析和写作由张展志完成。

通讯作者: 罗成华, 主任医师, 100038, 北京市海淀区羊坊店铁医路10号, 首都医科大学附属北京世纪坛医院普通外科三区。

zzzbmu@sina.com

收稿日期: 2013-07-31 修回日期: 2013-08-11

接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-09-28

Risk factors for anastomotic fistula after Dixon operation for rectal cancer: Analysis of 289 cases

Zhan-Zhi Zhang, Jun-Hui Yu, Gang Liu, Dai-Xiang Liao, Cheng-Hua Luo

Zhan-Zhi Zhang, Jun-Hui Yu, Gang Liu, Dai-Xiang Liao, Cheng-Hua Luo, Department of General Surgery (Division III), Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100038, China

Correspondence to: Cheng-Hua Luo, Department of General Surgery (Division III), Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100038, China. zzzbmu@sina.com

Received: 2013-07-31 Revised: 2013-08-11

Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-09-28

Abstract

AIM: To analyze the risk factors for anastomotic fistula after Dixon operation in patients with rectal cancer.

METHODS: Clinical data for 289 patients who underwent Dixon operation for rectal cancer from April 2009 to April 2013 at our hospital were retrospectively analyzed. Factors including gender, age, diabetes, TNM stage, nutritional indices and the distance between the anastomosis site and anal edge were analyzed statistically.

RESULTS: Among the factors possibly affecting the development of anastomotic fistula after Dixon operation for rectal cancer, the relative risk of TNM stage was biggest (OR = 2.165), and that of the distance between the anastomosis site and anal edge was smallest (OR = 0.194).

CONCLUSION: Among the factors possibly affecting the development of anastomotic fistula after Dixon operation for rectal cancer, TNM stage is the biggest risk factor, and the distance between the anastomosis site and anal edge is the biggest protective factor.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Rectal cancer; Dixon operation; Anastomotic fistula; Logistic analysis

Zhang ZZ, Yu JH, Liu G, Liao DX, Luo CH. Risk factors for anastomotic fistula after Dixon operation for rectal cancer: Analysis of 289 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2881-2885 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2881.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2881>

摘要

目的: 研究直肠癌患者行Dixon手术后发生吻合口瘘的相关因素。

方法: 回顾性分析2009-04/2013-04我院收治的289例行Dixon手术直肠癌患者的性别、年龄、伴有糖尿病、TNM分期、营养指标和吻合口距肛缘距离的情况, 统计吻合口瘘的发生情况, 并进行Logistic回归分析。

结果: 直肠癌Dixon手术后吻合口瘘的相关因素中, 相对危险度最大的是TNM分期(OR = 2.165), 相对危险度最小的是吻合口距肛缘距离(OR = 0.194)。

结论: 直肠癌Dixon手术后吻合口瘘的相关因素中TNM分期是最大的危险因素, 吻合口距肛缘距离是最大的保护因素。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 直肠癌; Dixon手术; 吻合口瘘; Logistic分析

核心提示: 围手术期, 通过营养支持和控制血糖, 针对可变因素采取积极措施, 可以降低直肠癌Dixon手术后吻合口瘘的发生几率。直肠癌Dixon

■背景资料

我国直肠癌的发病率逐年增高, 且患者中低位直肠癌所占比例可达70%, 行Dixon手术可免除肠造口带来的生活上的不便及心理上的困扰, 但术后的吻合口瘘是较为严重的并发症, 严重影响患者术后的康复过程, 甚至可导致死亡。研究吻合口瘘发生的相关因素, 围手术期针对可变因素采取积极措施, 可以降低其发生几率。对高危患者吻合口瘘的发生提高警惕, 早发现, 早采取可靠措施, 也可降低死亡率减轻患者痛苦并节省医疗费用。

■同行评议者

白雪, 副主任医师, 中国人民解放军北京军区总医院普通外科

■ 研发前沿

经过相关因素的分析,可筛选出术后吻合口瘘的高危患者。在进行Dixon手术的同时可进行预防性的回肠造口,术后3-6 mo,视患者的恢复情况,再行造口还纳,这样可以有效降低吻合口瘘的发生率,提高直肠癌保肛手术的安全性。

术后吻合口瘘的最大危险因素是TNM分期,最大保护因素是吻合口距离肛门距离,对高危患者吻合口瘘的发生提高警惕,早发现,早采取可靠措施,也可降低死亡率减轻患者痛苦并节省医疗费用,对高危患者同时进行预防性的回肠造口,术后3-6 mo,视患者的恢复情况,再行造口还纳,这样可以进一步降低吻合口瘘的发生率,进一步提高直肠癌保肛手术的安全性。

张展志, 于军辉, 刘刚, 廖代祥, 罗成华. 直肠癌Dixon手术后吻合口瘘相关因素的Logistic分析289例. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2881-2885 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2881.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2881>

0 引言

直肠恶性肿瘤患者,男女比例为2:1,多数为高龄患者,低位直肠癌占70%,确诊时往往超过30%伴有营养不良。吻合口瘘是较严重的并发症,尤其是继发严重感染时,可危及生命。分析吻合口瘘的危险因素,对直肠癌手术的安全性具有重要意义^[1]。多数吻合口瘘可经双套管冲洗等保守治疗治愈,少数经久不愈的还需要手术治疗。理解吻合口瘘发生的危险因素,围手术期针对可变因素采取积极措施,可以降低其发生率。对高危患者吻合口瘘的发生提高警惕,早发现,早采取可靠措施,也可降低死亡率减轻患者痛苦并节省医疗费用。故此进行了本研究分析,观察分析结果如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2009-04/2013-04于我科行Dixon手术的289例直肠癌患者均具有完整临床病理资料,其男179例、女110例,年龄32-82岁,平均57.5岁。伴有糖尿病患者79例。住院期间平均血红蛋白水平为95 g/L,平均白蛋白水平为33 g/L,平均吻合口距离肛缘为5.3 cm,手术后TNM分期为I期55例、II期95例、III期98例、IV期41例,术后吻合口瘘33例(表1,表2)。

1.2 方法 统计此289例患者年龄、性别、合并糖尿病及TNM分期情况,住院期间血红蛋白、白蛋白水平,手术中吻合口距离肛缘的距离,统计其行Dixon术后的吻合口瘘的发生率。并将上述各项数据进行Logistic回归分析。

统计学处理 全部数据均用SPSS13.0软件包处理行检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

Logistic回归分析显示,此组直肠癌患者,Dixon手术后吻合口瘘的相关因素中TNM分期是最大的危险因素,吻合口距肛缘距离是最大的保护因素(表3,表4)。

3 讨论

在西方国家,直肠癌的发病率和死亡率居高不下,在东亚如中国、日本、韩国和新加坡的发病率经历了2-4倍的增长^[2]。在我国已经发现的直肠癌患者中,低位直肠癌占很高的比例。保留肛门可明显提高患者的生活质量,配合放疗可以提高手术的切除率,临床的需求很大。低位保肛的手术方式包括低位前切除术(Dixon)、经括约肌间切除术(ISR)、经会阴切除术(Apear)。手工吻合后吻合口瘘的发生率是吻合器吻合的2倍^[3],所以临床上目前常规使用吻合器吻合。其中目前仍旧以Dixon作为主流手术方式,距离肿瘤远侧2 cm处切段直肠,双吻合器切除肿瘤并行吻合,可以使绝大部分低位直肠癌得到根治,但仍旧有一定的吻合口瘘的发生率。随着全直肠系膜切除术的推广及保肛手术的增加,直肠癌前切除术后吻合口瘘的发生率也在升高^[4]。目前有关的资料表明,双吻合器法Dixon手术后的吻合口瘘发生率在10%左右^[5]。多个因素参与吻合口瘘的发生。

首先,男性患者多发直肠癌,而在行Dixon手术的患者中男性发生吻合口瘘的几率更大。这可能与男性的骨盆相对女性狭窄有关。女性盆腔宽大,子宫在盆腔中占有一定的空间,术野暴露清楚,吻合口周围空隙较大,利于手术操作且吻合口的张力容易控制,吻合更加准确且不良损伤少^[6]。而在进行肿瘤切除和进行肠管吻合的时候,男性的骨盆狭窄,使得操作困难性加大,从而影响了吻合器吻合的质量,并影响了吻合口肠管浆膜层的减张加固缝合,甚至在某些极端困难的情况下,无法行减张缝合。从而相对于女性有可能增加吻合口瘘的发生率^[7]。

其次,目前直肠癌的患者日趋年轻化,但仍旧以中老年患者居多。老年患者合并多种内科疾病且多伴有营养不良,尤其是老年患者的代谢率低,组织愈合能力差,从而相对于较年轻的患者有可能增加吻合口瘘的发生率。

糖尿病患者普遍抗感染能力差,此观点已经被普遍接受。由于组织内和血液内的高血糖,影

表 1 289例直肠癌患者的临床资料 (n)

性别(n)		糖尿病(n)		年龄(岁)				TNM分期			
男	女	有	无	<45	45-54	55-65	>65	I期	II期	III期	IV期
179	110	79	210	8	99	90	92	55	95	98	41

表 2 289例直肠癌患者的临床资料 (n)

血红蛋白水平(g/L)				白蛋白水平(g/L)				吻合口距肛缘距离(cm)				吻合口瘘(n)	
<60	60-89	90-120	>120	<25	25-29	30-35	>35	<3	3-6	7-10	>10	有	无
92	49	50	98	55	95	90	49	45	84	95	65	33	256

表 3 吻合口瘘7个可能的危险因素的赋值

因素	自变量名	赋值说明
性别	VAR00001	男 = 0 女 = 1
糖尿病	VAR00002	无 = 0 有 = 1
年龄(岁)	VAR00003	<45 = 1 45-54 = 2 55-65 = 3 >65 = 4
TNM分期	VAR00004	I期 = 1 II期 = 2 III期 = 3 IV期 = 4
血红蛋白(g/L)	VAR00005	<60 = 1 60-89 = 2 90-120 = 3 >120 = 4
白蛋白(g/L)	VAR00006	<25 = 1 25-29 = 2 30-35 = 3 >35 = 4
吻合口距肛缘距离(cm)	VAR00007	<3 = 1 3-6 = 2 7-10 = 3 >10 = 4
吻合口瘘	Constant	无 = 0 有 = 1

响了巨噬细胞的趋化能力,使其从血管内皮间隙进入感染组织的效率下降.吻合口是易于形成脓肿的位置,如果患者的抗感染能力差,就容易形成吻合口脓肿,进一步形成吻合口瘘.因此围手术期糖尿病的内科治疗,将血糖控制在安全范围,是减少吻合口瘘的有效方法之一.赵航等^[8]报道,糖尿病患者术后吻合口瘘的发生率高于无糖尿病患者.

蛋白质是反映机体营养状态的重要指标.大量的研究证明蛋白质能量营养不良对免疫系统的各个环节均有显著的影响.肿瘤患者多伴有营养不良及免疫抑制,随着病情的发展而加重.术后患者的营养及免疫机制较术前差,这可能与手术的创伤和术后没能及时应用早期营养有关.营养和免疫功能低下,造成组织尤其是吻合口的生长和修复能力下降,从而引起吻合口瘘的几率增加.大多学者认为营养及免疫功能的低下与术后的吻合口瘘呈正相关,增强直肠癌患者的术前术后的营养支持,可降低吻合口瘘的发生率.Luna-Pérez等^[9]认为,血浆清蛋白水平低于30 g/L是吻合口瘘的独立危险因素,术前纠正患者的贫血和低蛋白血症有助于减少术后吻

合口瘘的发生.因此测定直肠癌患者手术前后的营养及免疫功能,并对结直肠癌患者进行营养支持是十分必要的.

行Dixon手术时,切除的肿瘤位置越低,吻合和行减张缝合时的困难性就越大,因此会影响到吻合的质量,增加瘘形成的几率.低位直肠癌切除后,两侧的肠管直径相差较大,肠蠕动恢复后会影响到内容物的通过顺畅程度,也可增加瘘的发生率.直肠解剖特点是腹膜反折以下10 cm的直肠段缺乏浆膜层,耐受张力能力差^[10].因此吻合口距离肛缘的位置越低其发生吻合口瘘的几率越大是有一定道理的.此外吻合口有张力是吻合口瘘发生的另一个原因,没有充分的游离左半结肠或左结肠动脉弓较短是吻合口张力大的主要原因.术后及时的扩张肛门,或有效的放置肛门排气管,都是预防吻合口瘘的有效措施.

当然,手术操作也是直肠癌术后吻合口瘘的重要因素.吻合口针距过密或过稀、线结结扎过紧或过松,均不利于组织靠拢修复及止血,易增加感染机会,且吻合口张力过大、吻合口血运不良等均能增加吻合口瘘的发生.然而,随着直肠癌外科治疗方法的不断改进及吻合器的应

■相关报道
国内的周灿等以19篇关于直肠癌术后吻合口瘘的文献为基础,进行Meta分析,系统阐述了多个危险因素与吻合口瘘发生的相关性,并纳入了放疗及急诊手术等因素,为我们提供了较为全面详实参考资料.

■创新盘点

此篇文章提出了最大危险因素是TNM分期,最大保护因素是吻合口距离肛门距离的观点,提炼出了多因素中的主要因素。

表 4 Logistic回归分析结果

		回归系数	标准误	Wald	Df	P值	Exp(B) OR值	95%CI for EXP(B)	
								下限	上限
第1步	VAR00001	-0.145	0.511	0.081	1	0.776	0.865	0.317	2.356
	VAR00002	0.536	0.562	0.912	1	0.340	1.710	0.568	5.144
	VAR00003	-0.219	0.267	0.673	1	0.412	0.803	0.476	1.356
	VAR00004	0.786	0.271	8.423	1	0.004	2.195	1.291	3.733
	VAR00005	-0.266	0.192	1.910	1	0.167	0.767	0.526	1.118
	VAR00006	-0.481	0.223	4.665	1	0.031	0.618	0.399	0.956
	VAR00007	-1.558	0.379	16.897	1	0.000	0.211	0.100	0.443
	Constant	1.202	1.699	0.500	1	0.479	3.327		
第2步	VAR00002	0.496	0.540	0.842	1	0.359	1.642	0.569	4.734
	VAR00003	-0.226	0.266	0.719	1	0.396	0.798	0.474	1.344
	VAR00004	0.779	0.268	8.423	1	0.004	2.179	1.288	3.687
	VAR00005	-0.260	0.192	1.848	1	0.174	0.771	0.530	1.122
	VAR00006	-0.496	0.216	5.254	1	0.022	0.609	0.398	0.931
	VAR00007	-1.569	0.377	17.315	1	0.000	0.208	0.099	0.436
	Constant	1.209	1.689	0.513	1	0.474	3.351		
第3步	VAR00002	0.551	0.534	1.065	1	0.302	1.736	0.609	4.946
	VAR00004	0.775	0.268	8.340	1	0.004	2.171	1.283	3.673
	VAR00005	-0.276	0.191	2.084	1	0.149	0.759	0.522	1.104
	VAR00006	-0.457	0.211	4.706	1	0.030	0.633	0.419	0.957
	VAR00007	-1.551	0.376	16.982	1	0.000	0.212	0.101	0.443
	Constant	0.469	1.450	0.105	1	0.746	1.599		
第4步	VAR00004	0.703	0.253	7.721	1	0.005	2.021	1.230	3.319
	VAR00005	-0.276	0.190	2.103	1	0.147	0.759	0.522	1.102
	VAR00006	-0.477	0.212	5.067	1	0.024	0.621	0.410	0.940
	VAR00007	-1.709	0.339	25.387	1	0.000	0.181	0.093	0.352
	Constant	1.288	1.197	1.158	1	0.282	3.624		
第5步	VAR00004	0.773	0.253	9.287	1	0.002	2.165	1.317	3.559
	VAR00006	-0.511	0.208	6.049	1	0.014	0.600	0.400	0.902
	VAR00007	-1.641	0.323	25.881	1	0.000	0.194	0.103	0.365
	Constant	0.372	1.032	0.130	1	0.718	1.451		

用,缩短了吻合时间,吻合切口缘组织整齐,组织反应轻,提高了吻合质量,减少了瘘的发生率。因此,吻合器吻合的安全性优于或等于手法吻合^[11]。本组患者全部采用双吻合器法进行手术,消除了手术方式带来的影响。

分期越晚、手术范围越大、肿瘤位置越低者,手术难度越大,且相对增加了吻合口的张力,影响局部愈合及抗感染能力,并加大细菌污染的机会^[12];并且TNM分期越晚的患者,肿瘤体积越大,病变范围越广,在手术时切除范围较广泛,手术操作难度更大,甚至远断端有癌细胞残留,增加术后吻合口瘘的发生率。

对于术前辅助放疗或新辅助放化疗是否影响吻合口瘘的发生几率,有着不同的观点。Martel等^[13]在其研究中证实术前新辅助放化疗并没

有影响吻合口瘘的发生率,Alves等^[14]及杨建光等均认为放射治疗将增大术后发生吻合口瘘的风险。随着术前辅助放疗和新辅助放化疗病例数的增加,我们将在以后的研究中进一步探讨其对吻合口瘘的影响。

直肠癌术后发生吻合口瘘后,主要采取3种处理方式:保守治疗、积极手术治疗、先保守治疗,病情无明显缓解后采取手术治疗^[15]。关于吻合口瘘发生后的治疗方式选择,有人推荐首选保守治疗^[16]。大部分的瘘是可以经保守治疗治愈的,其中最主要的措施是充分的骶前冲洗引流,并加强抗炎和营养治疗。营养治疗可使用肠外营养,如需肠内营养,可口服要素饮食,不产生粪便,为瘘口生长创造良好的环境。如长期不愈合,可行横结肠造口,粪便转流,待瘘口痊愈

后, 再还纳造口. 本组33例吻合口瘘患者, 经保守治疗痊愈30例, 发现瘘开始治疗到痊愈时间为5-40 d. 3例长时间不愈合, 经造口转流后愈合, 二期还纳造口, 效果良好.

直肠癌Dixon手术后吻合口瘘的相关因素中TNM分期是最大的危险因素, 吻合口距肛缘距离是最大的保护因素. 同时, 加强围手术期血糖的控制, 加强围手术期的营养支持, 手术中充分游离, 尽可能降低吻合口的张力, 术后放置肛门排气管或手法扩肛都是降低吻合口发生率的有效措施. 双套管冲洗和结肠造口为有效治疗手段. 由于样本量较小, 不能将更多的相关因素进行Logistic回归分析. 待扩大样本量后我们将纳入术前辅助放疗和新辅助放化疗, 肿瘤分化级别等更多因素进行分析, 并横向比较不同低位保留肛门的手术方式的效果, 以期得到更全面客观的结论.

4 参考文献

- 周灿, 陈武科, 何建军, 任予, 王珂, 牛利刚, 周瑜辉. 国内直肠癌术后吻合口瘘危险因素的Meta分析. 西安交通大学学报(医学版) 2010; 31: 115-121
- 邢晓宏, 程英升. 直肠癌MRI功能和分子成像的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1726-1732
- 董新舒, 徐海涛, 王平, 林罗强. 915例直肠癌前切除术并并发症临床分析. 中国实用外科杂志 2008; 28: 136-138
- 周海涛, 周志祥, 张海增, 毕建军, 赵平. 直肠癌前切除术后吻合口瘘的危险因素及治疗方法分析. 肿瘤学杂志 2009; 15: 28-31
- Peeters KC, Tollenaar RA, Marijnen CA, Klein Kranenbarg E, Steup WH, Wiggers T, Rutten HJ, van de Velde CJ. Risk factors for anastomotic failure after total mesorectal excision of rectal cancer. *Br J Surg* 2005; 92: 211-216 [PMID: 15584062 DOI: 10.1002/bjs.4806]
- 张洪伟, 王京华, 王为忠, 李孟彬, 康振华, 季刚, 刘晓南, 李纪鹏, 郑建勇. 低位直肠癌保肛术后吻合口漏9例的原因及治疗. 第四军医大学学报 2007; 28: 1139-1141
- 陈辉. 直肠癌全直肠系膜切除术后吻合口瘘的原因与处理. 中国现代医生 2010; 48: 16-18
- 赵航, 宋燕, 姜洋, 谢忠士, 柳福海. 老年直肠癌Dixon术后吻合口漏159例临床分析. 中国老年学杂志 2009; 29: 854-855
- Luna-Pérez P, Rodríguez-Ramírez SE, Gutiérrez de la Barrera M, Labastida S. [Multivariate analysis of risk factors associated with dehiscence of colorectal anastomosis after anterior or lower anterior resection for sigmoid or rectal cancer]. *Rev Invest Clin* 2002; 54: 501-508 [PMID: 12685217]
- Doeksen A, Tanis PJ, Vrouenraets BC, Lanschot van JJ, Tets van WF. Factors determining delay in re-laparotomy for anastomotic leakage after colorectal resection. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 3721-3725 [PMID: 17659732]
- 陈光, 王磊, 王广义, 所剑, 李有柱, 王有德, 谭毓铨. 应用双吻合器技术保留肛门功能治疗低位直肠癌. 吉林大学学报(医学版) 2003; 29: 194-195
- Penna Ch. [Management of anastomotic fistula following excision of rectal cancer]. *J Chir (Paris)* 2003; 140: 149-155 [PMID: 12910212]
- Martel G, Al-Suhaibani Y, Moloo H, Hagggar F, Friedlich M, Mamazza J, Poulin EC, Stern H, Boushey RP. Neoadjuvant therapy and anastomotic leak after tumor-specific mesorectal excision for rectal cancer. *Dis Colon Rectum* 2008; 51: 1195-1201 [PMID: 18523823 DOI: 10.1007/s10350-008-9368-3]
- Alves A, Panis Y, Trancart D, Regimbeau JM, Pocard M, Valleur P. Factors associated with clinically significant anastomotic leakage after large bowel resection: multivariate analysis of 707 patients. *World J Surg* 2002; 26: 499-502 [PMID: 11910487 DOI: 10.1007/s00268-001-0256-4]
- 秦光远, 唐卫, 姚敦武, 陈光谱, 左朝晖. 直肠癌术后吻合口漏危险因素分析及防治策略. 中国现代手术学杂志 2011; 15: 198-200
- 蔺海福, 宋志军, 李保义, 范永红, 白涛. 直肠癌低位前切除术后吻合口瘘的治疗体会. 中外健康文摘 2008; 5: 199

同行评价

本文具有一定指导意义.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



大肠息肉癌变的相关因素及内镜、病理特征

张海涛, 赵秀珍, 孙浩, 李凯

■背景资料

研究者发现, 大肠息肉发生癌变率 1.7%-20.8%, 且由于早期无明显症状, 一旦发现往往错过的治疗最佳时机。内镜显著提高了大肠息肉的诊断率和治疗水平, 降低了大肠的癌变率。关于大肠息肉的危险因素, 临床相关报道较多, 但其发病率、危险因素与人种、区域有一定关系, 因此充分认识本区域大肠息肉的临床特征及癌变因素, 对预防直肠癌具有重要的临床意义。

张海涛, 赵秀珍, 孙浩, 李凯, 青海省中医院胃肠镜室 青海省西宁市 810000

张海涛, 主治医师, 主要从事消化内镜的诊断和治疗。

作者贡献分布: 本文由张海涛主要负责; 赵秀珍、孙浩及李凯参与完成。

通讯作者: 张海涛, 主治医师, 810000, 青海省西宁市城中区七一路338号, 青海省中医院胃肠镜室。xnlana-428@163.com

收稿日期: 2013-09-03 修回日期: 2013-09-14

接受日期: 2013-09-17 在线出版日期: 2013-09-28

Endoscopic and pathological features of colorectal polyps and risk factors for their malignant transformation

Hai-Tao Zhang, Xiu-Zhen Zhao, Hao Sun, Kai Li

Hai-Tao Zhang, Xiu-Zhen Zhao, Hao Sun, Kai Li, Department of Gastroscopy, Qinghai Hospital, Xining 810000, Qinghai Province, China

Correspondence to: Hai-Tao Zhang, Attending Physician, Department of Gastroscopy, Qinghai Hospital, 338 Qiyi Road, Chengzhong District, Xining 810000, Qinghai Province, China. xnlana-428@163.com

Received: 2013-09-03 Revised: 2013-09-14

Accepted: 2013-09-17 Published online: 2013-09-28

Abstract

AIM: To summarize the endoscopic and pathological characteristics of colorectal polyps and to analyze risk factors for their malignant transformation.

METHODS: A total of 406 patients with colorectal polyps treated at our hospital were included in this study. The endoscopic and pathological characteristics of colorectal polyps (including age, size, shape, location, and pathological type) were explored and risk factors for their malignant transformation were analyzed.

RESULTS: The elderly group was associated with the highest incidence of colorectal polyps, followed by the middle-aged group and young group. Colorectal polyps were most commonly seen in the sigmoid colon and rectum, and ileocecal polyps were relatively rarely seen. Polyps with a diameter ≤ 1 cm were most commonly seen, and most of them were hyperplastic polyps. Polyps with a diameter of 1-2 cm were mostly adenomas. Polyps with a diameter > 2 cm were

mostly juvenile polyps. Non-lobulated colorectal polyps were more commonly seen. Lobulated polyps were mostly adenomatous, while non-lobulated ones were mostly proliferative. The rate of malignant transformation was significantly higher in the elderly group than in the young and middle-aged groups ($\chi^2 = 10.317, P < 0.05$). Malignant transformation was more commonly seen in the ileocecal junction, rectum, sigmoid colon than in other locations ($\chi^2 = 5.787, P < 0.05$). With the increase in polyp diameter, the probability of malignant transformation increased. The probability of malignant transformation was more commonly seen in adenomas than in other pathologic types ($\chi^2 = 67.183, P < 0.05$), and in lobulated adenomas than in non-lobulated ones.

CONCLUSION: Patients with colorectal polyps should undergo endoscopy to examine the whole colon to carefully observe the shape, size, site of polyps and conduct a biopsy. If possible, polyps should be removed to avoid the occurrence of malignant transformation.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Colorectal polyps; Malignant transformation; Endoscopy; Pathology

Zhang HT, Zhao XZ, Sun H, Li K. Endoscopic and pathological features of colorectal polyps and risk factors for their malignant transformation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2886-2889 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2886.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2886>

摘要

目的: 探讨大肠息肉的内镜、病理学特征, 并分析癌变的相关因素。

方法: 将我院治疗的406例大肠息肉患者作为研究对象, 分析大肠息肉发生的年龄、大小、形态、部位、病理类型以及癌变的相关因素。

结果: 老年组发生大肠息肉的比例最高, 青年组大肠息肉发生率最低。大肠息肉发生部位均以乙状结肠、直肠最为常见, 而回盲部息肉的

■同行评议者

许剑民, 教授, 上海市复旦大学附属中山医院普外科

发生几率较小. 息肉直径 ≤ 1 cm比例最高, 其中大部分为增生性息肉; 息肉直径1-2 cm中腺瘤性比例最高, 而直径 >2 cm中幼年性息肉发生比例最高. 无分叶组大肠息肉发生率较高, 其中分叶组以腺瘤性发生率最高, 无分叶组以增生性为主. 老年组发生癌变率显著高于青年组和中年组($\chi^2 = 10.317, P < 0.05$); 回盲部、直肠、乙状结肠等部位癌变率显著高于其他部位($\chi^2 = 5.787, P < 0.05$); 随着息肉直径增大, 癌变发生率越高; 腺瘤性癌变率明显高于其他病理类型($\chi^2 = 67.183, P < 0.05$); 而分叶状腺瘤的癌变率高于无分叶腺瘤.

结论: 临床上对大肠息肉患者镜检时应该尽可能检查全大肠, 仔细观察息肉的形态、大小、部位, 并进行病理活检; 如果条件允许, 应该摘除息肉, 避免发生大肠癌变.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 大肠息肉; 癌变; 内镜; 病理

核心提示: 本研究中, 老年组发生大肠息肉的比例最高, 其次为中年组, 青年组大肠息肉发生率最低. 大肠息肉发生部位均以乙状结肠、直肠最为常见, 而回盲部息肉的发生几率较小. 息肉直径 ≤ 1 cm比例最高, 其中大部分为增生性息肉; 息肉直径1-2 cm中腺瘤性比例最高, 而直径 >2 cm中幼年性息肉发生比例最高. 这说明息肉大小与病理类型有一定关系.

张海涛, 赵秀珍, 孙浩, 李凯. 大肠息肉癌变的相关因素及内镜、病理特征. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2886-2889
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2886.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2886>

0 引言

大肠息肉是临床上常见的消化系统疾病, 他是指所有向肠腔突出的赘生物的总称^[1]. 该病无明显特异性^[2], 即使出现某些胃肠道症状, 如腹胀、腹泻、便秘等, 也因较轻微或不典型而被忽视. 研究者发现^[3], 大肠息肉发生癌变率1.7%-20.8%, 且由于早期无明显症状, 一旦发现往往错过的治疗最佳时机. 内镜的应用显著提高了大肠息肉的诊断率和治疗水平, 降低了大肠的癌变率. 关于大肠息肉的危险因素, 临床相关报道较多, 但其发病率、危险因素与人种、区域有一定关系, 因此充分认识本区域大肠息肉的临床特征及癌变因素, 对预防直肠癌具有重要的临床意义. 本文通过对大肠息肉的内

镜、病理特点进行观察, 并分析癌变的危险因素, 以期为临床治疗提供参考, 现将研究成果报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2008-03/2013-03于我院治疗的406例大肠息肉患者作为研究对象, 男264例, 女142例. 年龄17-86岁, 平均年龄47.5岁 \pm 11.4岁. 患者主要临床表现为腹泻、黏液样便、腹绞痛、便血、便秘等. 所有患者均病理学证实, 其中确诊为息肉癌变患者23例, 癌变率5.67%. 按照大肠息肉患者的年龄分为^[4]: 青年组(≤ 40 岁)52例, 中年组(41-59岁)166例和老年组(≥ 60 岁)188例. 按照息肉直径的大小分为 ≤ 1 cm组320例, 1-2 cm组72例和 >2 cm组14例. 根据息肉的形态分为分叶组81例和无分叶组325例.

1.2 方法 采用Olympus CF-H260AI电子结肠镜和PSD-30高频电灼治疗仪, 将结肠镜95%送入盲肠, 镜检观察若息肉直径 <0.5 cm, 则采用活检钳将整个息肉钳取, 并送病理室检查. 若直径 >0.5 cm, 采用高频电灼治疗仪将完整的息肉套切, 送病理室检查; 电灼治疗仪采用混合电流, 按照息肉的大小选择合适的功率, 每次通电3-6 s, 直到息肉被完全切除. 若息肉直径 >2 cm, 则采取分段、分次和分块套切的方法切除息肉, 并送病理检查.

统计学处理 采用SPSS16.0统计学软件进行检验, 计数资料以率的形式表示, 率的比较采用 χ^2 检验, $\alpha = 0.05, P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 大肠息肉发病率与性别的关系 男性大肠息肉患者264例(65.02%), 女性142例(34.98%), 两者相比差异具有统计学意义, 大肠息肉发病率男性高于女性($\chi^2 = 18.048, P < 0.05$).

2.2 不同年龄段与发病部分的关系 老年组发生大肠息肉的比例最高, 为46.30%, 其次为中年组(40.89%), 青年组大肠息肉发生率最低(12.81%). 大肠息肉在3个年龄段中的发生部位均以乙状结肠、直肠最为常见(35.96%, 32.02%), 而回盲部息肉的发生几率较小(1.97%)(表1).

2.3 息肉大小与病理类型的关系 息肉直径 ≤ 1 cm比例最高(78.82%), 其中大部分为增生性息肉; 息肉直径1-2 cm中腺瘤性比例最高(69.44%), 而直径 >2 cm中幼年性息肉发生比例最高(57.14%, 表2).

■ 相关报道

报道称, 及时发现并将息肉切除的患者大肠发病率会显著降低, 因此了解大肠息肉的内镜、病理特点和癌变因素可以有效预防和治疗大肠癌发生.

■应用要点

临床上对大肠息肉患者镜检时应该尽可能全面检查,仔细观察息肉的形态、大小、部位,并进行病理活检;如果条件允许,应该摘除息肉,避免发生大肠癌变。

表 1 不同年龄段与发病部分的关系 $n(\%)$

分组	直肠	降结肠	乙状结肠	横结肠	回盲部	升结肠	合计
青年组	17(32.69)	6(11.54)	20(38.46)	3(5.77)	3(5.77)	3(5.77)	52(12.81)
中年组	53(31.93)	21(12.65)	57(34.34)	17(10.24)	2(1.20)	16(9.64)	166(40.89)
老年组	60(31.91)	23(12.23)	69(36.70)	19(10.10)	3(1.81)	14(7.45)	188(46.30)
合计	130(32.02)	50(12.32)	146(35.96)	39(9.61)	8(1.97)	33(8.13)	406

表 2 息肉大小与病理类型的关系 $n(\%)$

分组	腺瘤性	增生性	炎性	幼年性	合计
≤1 cm组	134(41.88)	175(54.69)	4(1.25)	7(2.18)	320(78.82)
1-2 cm组	50(69.44)	14(19.44)	3(4.18)	5(6.94)	72(17.73)
>2 cm组	1(7.14)	1(7.14)	4(28.58)	8(57.14)	14(3.45)
合计	185(45.57)	190(46.80)	11(2.71)	20(4.92)	406

表 3 息肉形态与病理类型的关系 $n(\%)$

分组	腺瘤性	增生性	炎性	幼年性	合计
分叶组	49(60.49)	23(28.40)	2(2.47)	7(8.64)	81(19.95)
无分叶组	137(42.15)	167(51.38)	8(2.47)	13(4.00)	325(80.05)
合计	186(45.81)	190(46.80)	10(2.46)	20(4.93)	406

表 4 结直肠息肉癌变相关因素分析

因素	分类	n	癌变率 $n(\%)$	χ^2	P 值
年龄	青年组	52	2(3.85)	10.317	0.001
	中年组	166	6(3.61)		
	老年组	188	15(7.98)		
部位	直肠	130	9(6.92)	5.787	0.016
	降结肠	50	1(2.00)		
	乙状结肠	146	10(6.85)		
	横结肠	39	1(2.56)		
	回盲部	8	1(12.5)		
	升结肠	33	1(3.03)		
	合计	320	9(2.81)		
大小	≤1 cm	320	9(2.81)	97.453	0.000
	1-2 cm	72	10(13.89)		
	>2 cm	14	4(28.57)		
病理类型	腺瘤性	186	21(11.29)	67.183	0.000
	增生性	190	1(0.53)		
	炎性	10	0		
	幼年性	20	1(5.00)		
形态	分叶	81	10(12.34)	4.636	0.031
	无分叶	325	13(4.00)		

2.4 息肉形态与病理类型的关系 无分叶组大肠息肉发生率为80.05%,分叶组为19.95%,说明大肠息肉以无分叶为主;其中分叶组以腺瘤性发

生率最高,无分叶组以增生性为主(表3)。

2.5 大肠息肉癌变相关因素分析 老年组发生癌变率显著高于青年组和中年组($P<0.05$);回盲部、直肠、乙状结肠等部位癌变率显著高于其他部位($P<0.05$);随着息肉直径增大,癌变发生率越高;腺瘤性癌变率明显高于其他病理类型($P<0.05$);而分叶状腺瘤的癌变率高于无分叶腺瘤(表4)。

3 讨论

大肠息肉是临床上常见的消化系疾病,一般男性多见,男女比例为1.17-2.31:1,本组男性患者约占65.02%,明显高于女性患者(34.98%),与单宏波等^[5]报道一致。由于该病无临床特异性,一般表现为腹痛、腹泻、便血和粘液便等,常误诊为痔疮等肛门疾患或“痢疾”而延误其必要的检查。有报道称^[6],及时发现并将息肉切除的患者大肠发病率会显著降低,因此了解大肠息肉的内镜、病理特点和癌变因素可以有效预防和治疗大肠癌的发生。

大肠息肉^[7-9]主要有腺瘤性、增生性、炎性和幼年性息肉。腺瘤性息肉主要结构特点是异型性,体积较大,多为分叶,一般分为管状绒毛腺瘤、绒毛腺瘤和管状腺瘤。增生性息肉常见

于乙状结肠和直肠, 其体积较小, 一般无分叶, 临床特征不明显. 炎症性息肉主要由炎症刺激导致, 多见于大肠感染性疾病, 形态表现为丘状或不规则状, 一般无蒂. 幼年性息肉一般发病年龄较小, 体积较大, 分叶较多. 本研究中, 老年组发生大肠息肉的比例最高, 其次为中年组, 青年组大肠息肉发生率最低. 大肠息肉发生部位均以乙状结肠、直肠最为常见, 而回盲部息肉的发生几率较小. 息肉直径 ≤ 1 cm比例最高, 其中大部分为增生性息肉; 息肉直径1-2 cm中腺瘤性比例最高, 而直径 > 2 cm中幼年性息肉发生比例最高. 这说明息肉大小与病理类型有一定关系. 分析息肉形态与病理类型的关系发现, 无分叶组大肠息肉发生率为80.05%, 分叶组为19.95%, 说明大肠息肉以无分叶为主; 其中分叶组以腺瘤性发生率最高, 无分叶组以增生性为主.

大量研究均证实^[10,11], 息肉癌变与大小、病理类型、形态均有相关性. 本研究显示, 老年组发生癌变率显著高于青年组和中年组($P<0.05$), 这提示要加强老年大肠息肉患者的随访, 定期检查, 从而预防息肉癌变的发生. 另外回盲部、直肠、乙状结肠等部位癌变率显著高于其他部位($P<0.05$); 其中回盲部癌变率较高未见其他文献报道^[12], 我们分析可能是因为本组病例较少, 虽然回盲部只有1例发生癌变, 但是比例较高, 因此可能存在一定偶然性. 随着息肉直径增大, 癌变发生率越高. 分叶状腺瘤的癌变率高于无分叶腺瘤. 这也说明在条件允许的情况下, 息肉发生在乙状结肠、直肠、息肉较大、分叶以及40岁以上患者均属于息肉癌变的高发人群应该及时切除息肉, 并定期复查, 从而降低癌变的发生率. 近年来大量报道均发现^[13,14]腺瘤性息肉癌变几率较高, 本研究也证实腺瘤性癌变率明显高于其他病理类型($P<0.05$). 腺瘤性息肉中存在大量的异型增生^[15], 而异型增生已被公认为癌变的前期, 最终将发生癌变, 因此我们认为腺瘤性息肉在癌变中起到重要的作用, 临床应该加以重视.

总之, 临床上对大肠息肉患者镜检时应该尽可能全面检查, 仔细观察息肉的形态、大小、部位, 并进行病理活检; 如果条件允许, 应该摘除息肉, 避免发生大肠癌变.

4 参考文献

- 1 罗庆峰, 石蕾, 唐永莲, 许乐. 老年大肠息肉患者临床特点、内镜下处理及安全性分析. 中国老年学杂志 2012; 32: 2232-2234
- 2 王萍, 吴杰, 黄晓东, 孙圣斌, 张姮, 郑丹, 宋敏, 刘文敏. 结肠镜高频电圈套器联合尼龙绳套扎和/或钛夹钳夹治疗大肠宽蒂和大息肉156例. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1838-1841
- 3 Sakamoto T, Mitsuzaki K, Utsunomiya D, Matsuda K, Yamamura S, Urata J, Kawakami M, Yamashita Y. Detection of flat colorectal polyps at screening CT colonography in comparison with conventional polypoid lesions. *Acta Radiol* 2012; 53: 714-719 [PMID: 22821957 DOI: 10.1258/ar.2012.110685]
- 4 Eiró N, González L, González LO, Andicoechea A, Fernández-Díaz M, Altadill A, Vizoso FJ. Study of the expression of toll-like receptors in different histological types of colorectal polyps and their relationship with colorectal cancer. *J Clin Immunol* 2012; 32: 848-854 [PMID: 22371291 DOI: 10.1007/s10875-012-9666-3]
- 5 单宏波, 李再尚, 高晓燕, 徐国良, 韩辉. 大肠息肉腺管开口与息肉组织内胰岛素样生长因子-1受体表达的关系. 中华实验外科杂志 2012; 29: 1388-1390
- 6 姜智敏, 戈之铮, 戴军, 李晓波, 薛寒冰, 赵福嘉, 高云杰. 自发荧光内镜与标准白光内镜在大肠息肉筛查中作用的对照研究. 中华消化内镜杂志 2010; 27: 173-177
- 7 Cheng H, Zhang T, Gu W, Shu X, Zhang Y, Zhang X, Wu X, Chen J, Jiang M. The presence of *Helicobacter pylori* in colorectal polyps detected by immunohistochemical methods in children. *Pediatr Infect Dis J* 2012; 31: 364-367 [PMID: 22189526 DOI: 10.1097/INF.0b013e3182467538]
- 8 Ohmi A, Tsukamoto A, Ohno K, Uchida K, Nishimura R, Fukushima K, Takahashi M, Nakashima K, Fujino Y, Tsujimoto H. A retrospective study of inflammatory colorectal polyps in miniature dachshunds. *J Vet Med Sci* 2012; 74: 59-64 [PMID: 21897060]
- 9 徐有坤, 李焕萍, 潘志刚, 印敏, 黄小燕, 丁杰. 扬州地区539例大肠息肉肉状病变临床、病理学特点分析. 苏州大学学报(医学版) 2010; 30: 603-604, 653
- 10 王志军, 杨志勇, 秦国涛, 李祺, 冯艳玲, 马伟艳. 老年人巨大大肠息肉351例内镜诊疗体会. 中华消化内镜杂志 2012; 29: 106-107
- 11 陈璐, 李静唐, 和兰, 韩全利, 陈英, 杨春敏. 老年人下消化道息肉内镜下治疗分析. 胃肠病学和肝病杂志 2013; 22: 446-448
- 12 毛华, 金少琴. 内镜下大肠息肉切除术后出血的防治. 中国内镜杂志 2012; 18: 1058-1062
- 13 Abbass K, Gul W, Beck G, Markert R, Akram S. Association of *Helicobacter pylori* infection with the development of colorectal polyps and colorectal carcinoma. *South Med J* 2011; 104: 473-476 [PMID: 21886044 DOI: 10.1097/SMJ.0b013e31821e9009]
- 14 张晓华, 朱人敏, 杨妙芳, 吴晓尉, 郭美霞, 王彬. 内镜下黏膜切除术治疗老年及老年前期胃肠道息肉的临床研究. 实用老年医学 2011; 25: 124-127
- 15 Gill MD, Rutter MD, Holtham SJ. Management and short-term outcome of malignant colorectal polyps in the north of England(1). *Colorectal Dis* 2013; 15: 169-176 [PMID: 22709241 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2012.03130.x]

■同行评价

本研究对青藏高原结肠息肉患者的临床表现、临床病理分型和内镜特征进行总结报道, 虽然病例数不多, 当作为我国西北地区患者病例总结, 有一定的参考价值.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



儿童消化系重复畸形诊治19例

李慧, 殷宪敏, 崔红, 张爱华, 孟斌

■背景资料

本文通过回顾性分析我院1995-04/2012-08门诊诊断及住院治疗的19例经手术病理证实的消化系重复畸形患儿的临床资料, 从而探讨消化系重复畸形患儿的临床特点、病理特点、诊断方法、治疗方法及效果。

李慧, 殷宪敏, 泰山医学院附属医院儿内科 山东省泰安市 271001

崔红, 泰安市中心医院彩超室 山东省泰安市 271001

张爱华, 泰安市妇幼保健院儿外科 山东省泰安市 271001

孟斌, 山东大学齐鲁医院病理科 山东省济南市 250012

李慧, 副主任医师, 主要从事小儿神经的相关研究。

作者贡献分布: 李慧为本文主要贡献者; 殷宪敏, 崔红, 张爱华及孟斌参与文章数据的整理。

通讯作者: 李慧, 副主任医师, 271001, 山东省泰安市泰山大街706号, 泰山医学院附属医院儿内科。lihui_xiaohui@163.com

收稿日期: 2013-01-05 修回日期: 2013-07-30

接受日期: 2013-09-17 在线出版日期: 2013-09-28

Treatment of digestive duplication in children: Our experience with 19 cases

Hui Li, Xian-Min Yin, Hong Cui, Ai-Hua Zhang, Bin Meng

Hui Li, Xian-Min Yin, Department of Pediatric Internal Medicine, the Affiliated Hospital of Taishan Medical College, Taian 271001, Shandong Province, China

Hong Cui, Color Ultrasonic Room, the Central Hospital of Taian, Taian 271001, Shandong Province, China

Ai-Hua Zhang, Department of Pediatric Surgery, MCH Hospital of Taian, Taian 271001, Shandong Province, China

Bin Meng, Department of Pathology, Qilu Hospital of Shandong University, Jinan 250012, Shandong Province, China

Correspondence to: Hui Li, Associate Chief Physician, Department of Pediatric Internal Medicine, the Affiliated Hospital of Taishan Medical College, 706 Taishang Street, Taian 271001, Shandong Province, China. lihui_xiaohui@163.com

Received: 2013-01-05 Revised: 2013-07-30

Accepted: 2013-09-17 Published online: 2013-09-28

Abstract

AIM: To summarize the clinical features, pathology, diagnosis and treatment of digestive duplication in children.

METHODS: Clinical data for 19 children with pathologically confirmed digestive duplication, who were treated at our hospital from April 1995 to August 2012, were analyzed retrospectively. All patients underwent ultrasound, and 12 patients received CT. All patients underwent surgical treatment.

RESULTS: Main clinical manifestations in-

cluded intestinal obstruction, peritonitis, bleeding and abdominal mass. A cystic mass was found in the abdomen by ultrasound in all patients. Seven cases had typical sonographic manifestations, including thick wall of the cystic mass, a clear boundary of the cystic wall, and a three-layer structure ("strong - weak - strong") of the intestinal wall. The majority (73.68%) of lesions were located in the small intestine. Cyst was the main form of lesions, accounting for 73.68% of all cases. One child died after surgery, and the mortality rate was 5.2%. The remaining patients were followed for 3 mo to 15 years, and their growth and development were normal.

CONCLUSION: Ultrasound is a simple, specific, non-radioactive method for the diagnosis of gastrointestinal duplication, and surgical resection is the best choice of treatment.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Digestive duplication; Children; Clinical features; Diagnosis; Treatment

Li H, Yin XM, Cui H, Zhang AH, Meng B. Treatment of digestive duplication in children: Our experience with 19 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2890-2893
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2890.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2890>

摘要

目的: 探讨消化系重复畸形患儿的临床特点、病理特点、诊断方法、治疗方法及效果。

方法: 回顾性分析我院1995-04/2012-08门诊诊断及住院治疗的19例经手术病理证实的消化系重复畸形患儿的临床资料, 该组患儿均经超声诊断, 12例行CT检查。全部经手术治疗。

结果: 19例患儿临床多表现为肠梗阻、腹膜炎、出血以及腹块。经超声检查均发现腹部囊性肿物, 其中7例有典型的声像图表现, 呈现为大小不等的厚壁囊性团块, 囊壁的边界清晰,

■同行评议者

施诚仁, 教授, 上海交通大学医学院附属新华医院小儿外科

肠壁呈“强-弱-强”3层结构特点. 病变主要位于小肠, 有14例, 占73.68%. 病变形态主要为囊肿型14例, 占73.68%. 所有患儿经手术治疗后死亡1例, 死亡率为5.2%. 其余患儿随访3 mo-15年, 生长发育正常.

结论: 超声诊断消化系重复畸形的特异性强, 方法简便, 无放射性, 手术切除是治疗消化系重复畸形的最好选择.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 消化系统重复畸形; 患儿; 临床特点; 诊断; 治疗

核心提示: 根据超声诊断结果对消化系重复畸形患儿实施相应手术, 患儿经治疗后均康复出院, 从而表明超声诊断消化系重复畸形的特异性强, 方法简便, 无放射性, 手术切除是治疗消化系重复畸形的最好选择.

李慧, 殷宪敏, 崔红, 张爱华, 孟斌. 儿童消化系重复畸形诊治19例. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2890-2893 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2890.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i27.2890>

0 引言

消化系重复畸形是小儿常见先天发育胃肠道畸形, 是指与肠壁结构相似的先天性结构重复, 可以发生在消化系的任何部位, 但最常见于回肠^[1]. 消化系重复畸形较少见, 发生率约为1:4000-1:5000, 无特异性临床表现及体征, 常表现为腹痛、呕吐、腹胀、便血、肠梗阻以及腹部肿物等, 多以出现并发症而就诊, 术前确诊率低^[2]. 以往消化系重复畸形多为X线诊断, 近年来发现超声在该病的诊断方面发挥着较大的优势, 可作为术前确诊及术后随访复查的首选方法^[3]. 临床上在明显确诊后首选方法为手术治疗, 往往能收到较好的效果. 为提高儿童消化系重复畸形的诊断率和治疗效果, 现回顾性分析我院1995-04/2012-08诊治的19例经手术病理证实的消化系重复畸形患儿的临床资料, 报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 19例消化系重复畸形的患儿, 所有病例均超声诊断并经手术病理证实, 其中男15例, 女4例, 年龄1 d-15岁, 其中3岁以内的患儿有12例, 占63.2%. 平均4.5岁±1.4岁, 病程1 d-8年. 19例患儿中以腹块为主要表现者7例, 占36.8%; 以腹

膜炎为主要表现者6例, 占31.5%; 以出血为主要表现者2例, 占10.5%; 以肠梗阻为主要表现者5例, 占26.3%; 以异位开口为主要表现者1例, 占5.2%, 其他3例, 占15.8%. 伴发畸形: 本组有并发畸形者5例, 占26.3%. 畸胎瘤2例, 肛门闭锁, 囊状结肠、脊膜膨出、脐膨出、肠闭锁、脐肠痿及重复肠管各1例, 先天性心脏病2例.

1.2 方法

1.2.1 诊断: 12例行CT检查. 所有患儿均经彩色多普勒超声检查, 使用PHILLIPS IU22型彩色多普勒超声诊断仪, 探头频率为7.5 MHz, 取仰卧位, 行常规腹部扫查, 不合作的患儿口服10%水合氯醛0.5-0.7 mL/kg, 入睡后进行观察. 先用凸阵探头扫查, 然后用高频线阵探头在病变区域纵向、横向及多方位扫查, 观察包块的部位、大小、形态、边界是否清晰、内部回声的均匀程度、纵横比、侧方及后方回声有无衰减及有无钙化, 病变与周围肠管的关系, 并改变患儿体位观察包块活动度. 然后在病灶区做彩色多普勒检查, 观察肿块内部及周边血流分布、血流信号丰富程度等. 管状型要用高频探头观察消化系黏膜, 追踪大致长度, 并观察周围系膜有否增厚粘连, 从而判断是否继发感染穿孔等. 囊肿型重复先用低频探头观察病变全貌, 之后采用高频探头观察腔内情况及囊壁以及与周围肠管的关系, 从而判断是否扭转及继发梗阻.

1.2.2 治疗: 全部患儿均经手术治疗, 单纯囊壁剥除3例, 囊肿切除4例(切除囊肿性重复肠管时, 对有共壁的小肠, 应尽力保护好平行的正常小肠的血供, 仅切除重复的小肠, 必要时仅切除重复小肠的黏膜肌层, 保留浆膜层), 单纯重复肠道切除术2例, 合并肠管切除7例, 左半结肠切除+间隔切除术1例, 全结肠直肠合并切除1例, 重复直肠部分切除+结肠开窗术1例, 胃黏膜剥除术+部分胃切除+囊膜封闭1例, 开窗内引流1例. 如果先剖腹发现有胸腹贯通性的消化系畸形, 应尽可能一次完成手术. 如胸部症状明显先剖胸手术, 切除胸部重复的肠管, 尽量切除到膈肌以下.

2 结果

2.1 诊断 继发性病变: 肠套叠5例, 肠梗阻5例(其中3例为腔内型继发梗阻), 肠扭转3例, 肠穿孔1例, 感染1例. 19例中1例超声提示需与炎性肠病鉴别, 1例超声提示需与肠系膜囊肿鉴别, 其余术前超声均诊断为消化系重复畸形. 超声声像图表现: (1)13例患者超声表现为囊性团块, 边界

■ 研发前沿

本文术前对患儿采用超声诊断, 并根据诊断结果对患者实施相应的手术, 目前国内对重复畸形患儿诊断主要采用CT检测, 而本研究在CT诊断的基础上应用超声诊断, 提高了患儿术前诊断准确率, 有利于手术的开展.

■ 相关报道

李恭才、陈琦等均对消化系统重复畸形患儿行超声检查,并根据超声诊断结果对患儿实施手术,患儿均获得较理想的治疗效果,本研究的结果与文献报告一致。

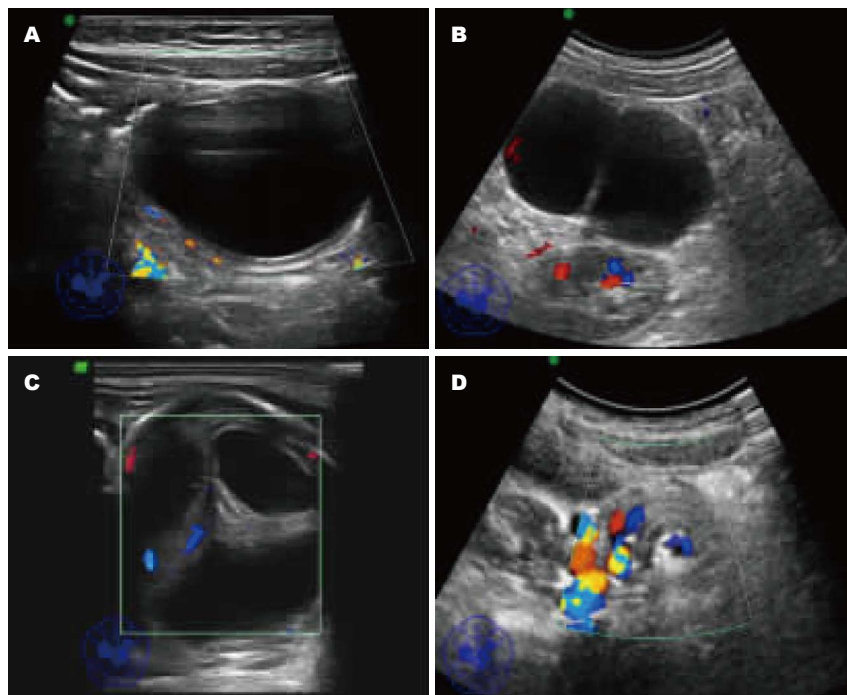


图1 重复畸形患儿超声诊断。A: 囊性团块, 边界清晰; B: 薄壁囊性团块, 边界不清晰囊中大小不等, 直径为2-11 cm, <5 cm; C: 右侧胸腔内肠管样回声; D: 肠系膜血管走行。

清晰, 囊中大小不等, 直径为2-11 cm, <5 cm者有7例(图1A)。肠壁呈现出较为典型的“强-弱-强”3层结构特点。彩色多普勒超声显示出囊壁丰富的血流新信号; (2)2例患者呈薄壁囊性团块, 边界不清晰, 可见分割样回声, 为显示典型的“强-弱-强”3层结构, 彩色多普勒超声未检测到有明显的血流信号(图1B); (3)1例超声下显示肠管扩张, 可见蠕动, 右侧胸腔内肠管样回声, 彩色多普勒超声可见点状血流信号(图1C); (4)其他: 1例仅表现为少量腹腔积液, 1例仅表现为部分肠管扩张、积液。 (5)3例肠扭转的患儿中1例显示肠系膜血管走行异常(图1D), 5例肠套叠患儿均显示出较为典型的肠套叠声像图, 1例肠穿孔的患儿无明显异常表现。

2.2 病理特点 19例均可见肌层, 16例重复畸形黏膜性质与主肠管相似。病理类型: 囊肿型14例, 占73.68%, 壁厚0.2-0.4 cm。其中壁外囊肿12例, 壁内囊肿2例。管状型5例, 占26.3%, 其中肠外管状型3例, 憩室型2例。病变位置: 食道1例(为囊肿型), 胃2例(全部为囊肿型, 其中1例在小网膜囊内, 1例经食管裂孔进入胸腔), 十二指肠2例(管状型1例, 囊肿型1例), 阑尾1例(为管状型), 小肠7例(囊肿型6例, 管状型1例; 回肠6例, 空肠1例), 结肠3例(囊肿型2例, 管状型1例), 直肠2例(囊肿型1例, 管状型1例), 回盲部1例(为囊肿型)。

2.3 手术治疗 19例患儿中14例通过手术一次即获得明确诊断并予切除治愈, 另外5例经历2次以上的手术(多为以肠梗阻腹膜炎为主要表现者,

由于术后发生粘连性肠梗阻需再次手术)。术后患儿全部存活, 经随访3 mo-15年, 生长发育正常。**2.4 手术与超声对照** 对于5例管状型患儿, 超声定位准确, 但判断重复长度与手术存在差异, 术中见到最长1例重复肠管达140 cm。术中见到回肠粗大1例, 而超声进表现为肠黏膜增厚。1例结肠重复, 重复的结肠无回盲瓣及阑尾。14例囊肿型患儿, 手术与超声表现无显著性差异。其中2例继发性扭转, 因囊中遮挡超声未能明确诊断, 进一步诊断为合并肠梗阻。

3 讨论

消化系统重复畸形是小儿较少见的先天性消化系统畸形, 绝大多数发生在新生儿及幼儿时期, 本研究中3岁以内的患儿有12例, 占63.2%。平均4.5岁±1.4岁, 病程1 d-8年。消化系统重复畸形以回肠末端为好发部位, 其次是食管, 结肠、十二指肠、胃、直肠等^[4], 本研究中回肠发病者有6例, 占31.5%。其基本病理类型可分为肠外囊肿型、肠内囊肿型和管状型, 其中以肠外囊肿类型最多见, 约有80%。本研究中肠外囊肿有12例, 占63.2%。

重复的消化系统外观呈球状或管状, 大部分为囊状, 少数为管状, 消化系内长充满液体, 在大多数情况下, 囊腔与正常肠腔不相通^[5]。消化系统重复畸形的临床表现取决于畸形发生的部位、大小、病理分型以及有无异位的胃黏膜及胰腺组织。其发病的部位, 形状、大小各不相同, 临

床上的表现各不相同,大多数表现为急性肠梗阻、消化系出血、肠穿孔腹膜炎等并发症或呼吸道症状^[6],加之并发症如:消化系出血、消化系梗阻、腹部包块、腹膜炎较多,故诊断有一定困难,文献报告术前确诊率仅20%-30%^[7]。

随着超声技术的迅速发展,特别是彩色多普勒超声技术的不断发展,其在早期发现、早期诊断和早期治疗消化系重复畸形中发挥着越来越重要的作用。对于腹部肠重复畸形,常规腹部超声即可观察清楚,其表现的生理基础为重复的肠管与正常肠管壁一样具有黏膜层、肌层和浆膜层3层结构。消化系重复畸形的超声表现按形态可为囊肿型和管状型。典型的囊肿型重复畸形超声表现为腹腔内囊性包块,腔内无回声囊腔,边界清,壁较厚,约2-4 mm,并且薄厚均匀,囊腔无分割,液体清亮。囊肿邻近肠管明显受压,与囊壁紧贴。囊壁呈3层,由外至内呈强、弱、强回声,即双环征^[8],这是肠重复畸形特征性的超声表现,本组绝大多数患儿有此典型的临床表现,由于重复畸形囊肿壁内存在发育良好的平滑肌,部分患者更可观察到囊肿蠕动收缩。囊肿型患儿临床上常表现为反复腹痛、呕吐、腹胀等肠梗阻症状。管状型与正常肠管有相似之处,但其壁厚、形态僵硬固定,较易辨认。管状型重复畸形的超声表现为:腹腔内管道状,壁较厚,厚度2-8 mm,迂曲,张力低,大多充盈液体,更容易判断为消化系的壁。在消化系重复性囊肿较小,隐匿于肠间并受肠气干扰时,可利用超声的高频线阵探头采用逐级加压法,能够充分显示团块与肠管的关系,识别囊壁回声及血流特点^[9]。本组患儿中管状型全部定位准确,囊肿型有11例定位准确。为进一步提高术前诊断率,在临床上有以下情况出现时应该作为可疑消化系重复畸形建议进行B超或CT检查:(1)小儿腹部触及囊性肿块,尤其是肠管状肿块者;(2)小儿以腹胀、呕吐等肠梗阻表现就诊者;(3)出现原因不明的慢性不完全性肠梗阻,尤其是伴有血便者。影像学检查虽有助于术前诊断,但最终需要由剖腹探查和病理检查确诊。

消化系重复畸形囊肿可发生恶变,因此,诊断确立后需要立刻进行手术治疗。手术是诊断和治疗消化系重复畸形的可靠方法,19例患儿

中14例通过手术一次即获得明确诊断并予切除治愈。一般认为重复畸形的肌纤维与主肠壁的肌纤维混杂无明显分界,其循环也与所附着的肠管不能分离^[10]。手术的原则是仔细探查,争取最大限度地保留肠管,不留后遗症状。手术的方式应该根据重复畸形的解剖情况而定,手术的原则是尽量保留主肠管的血运。就目前而言,对于与正常消化系不相通又无粘连的重复畸形采用单纯重复畸形切除术;小肠、结肠重复畸形及部分胃重复畸形采用重复肠管与其依附的正常肠管切除术;对于共壁的消化系重复畸形采用开窗式内引流术;对于管状重复畸形及部分胃重复畸形,采用中隔部分切除术。有研究认为,消化系重复畸形在多数情况下都难以单纯切除,而需要行邻近的主肠管部分切除,而对于需切除肠管过多、估计术后会出现严重并发症者,尚有必要尝试尽量保留正常肠管^[11]。本组患儿均采用手术治疗,结合具体情况选择手术方式,19例患儿经手术治疗后全部存活,经随访3 mo-15年,生长发育正常。

总之,超声诊断消化系重复畸形的特异性强,方法简便,无放射性,手术切除是治疗消化系重复畸形的最好选择。

4 参考文献

- 1 李恭才,高亚,李鹏,李磊,罗少波,施伟栋. 消化道重复畸形的诊断和治疗. 临床小儿外科杂志 2002; 1: 10-11
- 2 陈琦,孙雪花,吴学军,杨险峰,黄岩,张书峰. 小儿消化道重复畸形89例临床分析. 郑州大学学报(医学版) 2005; 40: 1165-1167
- 3 魏临淇. 魏秀清消化道重复畸形临床分析(附76例报告). 北京医学 2000; 22: 160
- 4 杜太平,吕淑宏,吕书珍. 肠重复畸形的诊断与治疗. 实用儿科临床杂志 2002; 17: 380
- 5 Teklali Y, Kaddouri N, Barahoui M. [Gastrointestinal system duplications in children (19 cases)]. *Arch Pediatr* 2002; 9: 903-906 [PMID: 12387170]
- 6 付桂兵,麻晓鹏,王斌. 婴幼儿回盲部肠重复畸形临床分析. 临床小儿外科杂志 2005; 4: 376-377
- 7 谭雄,易朝峰,尹强. 回盲部肠内囊肿型肠重复畸形7例诊疗体会. 临床小儿外科杂志 2008; 7: 76
- 8 胡烈榛,夏培,于红奎,林州,陶宏伟,刘力,冯霞,刘磊. 小儿消化道重复畸形超声诊断价值. 中华医学超声杂志(电子版) 2011; 08: 2196-2210
- 9 陈小知,黄福光,潘尹肠. 重复畸形的超声诊断. 中国超声诊断杂志 2006; 7: 108-110
- 10 施伟栋,张晋楚,罗少波,刘延黎,贾新建,孙利群. 儿童胸腹腔消化道重复畸形8例诊治分析. 陕西医学杂志 2003; 32: 72-73
- 11 孙俊杰,莫家颢,刘钧澄,余锦标,潘翠玲. 消化道重复畸形12例. 实用儿科临床杂志 2006; 21: 1589-1590

■同行评价

本文具有一定的实际应用意义,能有效地将消化系重复畸形患儿诊治措施阐述清晰,对基础医院开展同类手术具有一定实际指导意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



Felty综合征合并肝硬化1例

俞蕾敏, 陈锦龙, 吕宾

■背景资料

Felty综合征是类风湿性关节炎的一种少见特殊类型, 临床少见。

俞蕾敏, 陈锦龙, 浙江萧山医院消化内科 浙江省杭州市 311202

吕宾, 浙江中医药大学附属第一医院消化内科 浙江省杭州市 310006

俞蕾敏, 硕士研究生, 主治医师, 主要从事消化系统疾病的诊治及消化内镜的操作。

作者贡献分布: 收集整理资料与论文写作由俞蕾敏完成; 完善病例讨论内容由陈锦龙与吕宾完成。

通讯作者: 俞蕾敏, 主治医师, 311202, 浙江省杭州市萧山区育才北路728号, 浙江萧山医院消化内科. yulei369@sina.com
电话: 0571-83865191

收稿日期: 2013-07-02 修回日期: 2013-08-13

接受日期: 2013-08-23 在线出版日期: 2013-09-28

Felty's syndrome with liver cirrhosis: Report of one case and review of the literature

Lei-Min Yu, Jin-Long Chen, Bin Lv

Lei-Min Yu, Jin-Long Chen, Department of Gastroenterology, Zhejiang Xiaoshan Hospital, Hangzhou 311202, Zhejiang Province, China

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

Correspondence to: Lei-Min Yu, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Zhejiang Xiaoshan Hospital, 728 Yucai North Road, Xiaoshan District, Hangzhou 311202, Zhejiang Province, China. yulei369@sina.com
Received: 2013-07-02 Revised: 2013-08-13
Accepted: 2013-08-23 Published online: 2013-09-28

Abstract

Felty's syndrome is a rare special type of rheumatoid arthritis. Felty's syndrome with liver cirrhosis is even rarer. Here we report a case of felty's syndrome with liver cirrhosis that was diagnosed based on the analysis of clinical manifestations and laboratory and imaging findings. For patients with liver cirrhosis of unknown cause, Felty's syndrome should be considered if they have rheumatoid arthritis, neutropenia and splenomegaly.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Felty's syndrome; Liver cirrhosis

Yu LM, Chen JL, Lv B. Felty's syndrome with liver cirrhosis: Report of one case and review of the literature. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(27): 2894-2896

URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2894.asp>

DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2894>

摘要

Felty综合征是类风湿性关节炎的一种少见特殊类型。Felty综合征合并肝硬化文献见散见个例报道。通过分析本例病例的临床表现及辅助检查结果, 明确肝硬化原因由类风湿性关节炎引起。对于不明原因的肝硬化患者, 如果有类风湿性关节炎、粒细胞减少症和脾脏肿大, 需要考虑Felty综合征。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: Felty综合征; 肝硬化

核心提示: 对于不明原因的肝硬化患者, 如果有类风湿性关节炎、粒细胞减少症和脾脏肿大, 需要考虑Felty综合征。

俞蕾敏, 陈锦龙, 吕宾. Felty综合征合并肝硬化1例. 世界华人消化杂志 2013; 21(27): 2894-2896 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2894.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i27.2894>

0 引言

Felty综合征是类风湿性关节炎的一种少见特殊类型, 约占类风湿性关节炎患者1%左右, 临床少见。Felty综合征发病多为40-70岁的慢性类风湿性关节炎患者, 亦有个别幼年发病者^[1]。白人发病率高于黑人, 男、女比例约为1:3, 一般男性患者病程相对较短。Felty综合征合并肝硬化文献见散见个例报道。本文报告1例并结合文献进行复习。

1 病例报告

患者, 女性, 55岁, 因“呕血3 d”于2013-4-10入院。既往有“类风湿性关节炎(类风湿因子RF阴性)”病史30余年, 长期不规则服用“双氯芬酸片25 mg/d, 口服”止痛。入院查体: T 36.2 °C, P 80次/min, R 20次/min, BP 145/80 mmHg, 神志清、精神软, 贫血貌, 皮肤巩膜黄染不明显, 未见肝掌及蜘蛛痣, 双侧锁骨上淋巴结未及肿大,

■同行评议者

董蕾, 主任, 教授, 西安交通大学第二附属医院消化内科



图1 患者下肢踝关节僵硬畸形。



图2 患者上肢指间关节、掌指关节僵硬畸形(“天鹅颈”畸形)。

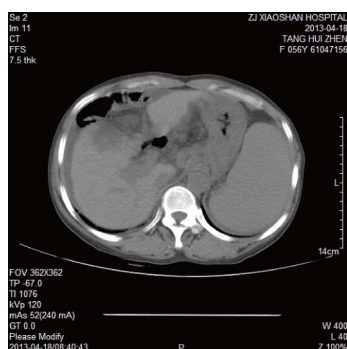


图3 腹部CT。

双肺呼吸音清, 未闻及干湿罗音, 心率80次/min, 律欠齐, 1 min可闻及1-2次早搏, 未闻及杂音, 腹软, 外形膨隆, 未见胃肠型及蠕动波, 无压痛, 无反跳痛, 肝脾触诊不满意, Murphy征阴性, 未及包块, 移动性浊音阳性, 肠鸣音5次/min, 振水音阴性, 双下肢无水肿, 双侧巴氏征阴性, 肛门指检未触及肿块, 指套染有暗红色血便, 下肢踝趾关节(图1)、上肢指间关节、掌指关节僵硬畸形(图2), 有晨僵现象。辅助检查: 血常规: WBC $3.26 \times 10^9/L$, Hb 59 g/L, 血小板(blood platelet, PLT) $54 \times 10^9/L$, CRP 11 mg/L; 血沉23 mm/第1小时末, RF阴性; 肌钙蛋白0.035 ng/mL, 心肌酶谱: CK-MB 30.6 U/L; 凝血功能: PT 14.1 s, Fbg 1.399 g/L, D-二聚体2.46 g/L; 肝纤4项: HA 289.11 $\mu g/L$, 余正常范围内; 甲型肝炎、丙型肝炎、丁型肝炎、戊型肝炎、庚型肝炎抗体阴性; 乙型肝炎三系: HBsAg阴性, HBsAb阳性, HBeAg阴性, HBeAb阴性, HBcAb阳性; HBV DNA低于检测下限; 肝功能: 白蛋白(albumin, Alb) 23.54 g/L, 总胆红素(total bilirubin, TBIL) 47.4 $\mu mol/L$, 结合胆红素(conjugated bilirubin, DBIL) 15.2 $\mu mol/L$, 丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT) 30.5 U/L, 谷草转氨酶(glutamic oxalacetic aminophosphatase, AST) 54.8 U/L, 碱性磷酸酶(alkalinephos-

phatase, ALP) 285 U/L; 胆碱酯酶(cholinesterase, CHE) 2664 U/L; ASO、SCC、CA72-4、甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)、癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、CA125、CA199、CA153、空腹血糖、血淀粉酶、甘油三酯、血钾、糖化血红蛋白正常范围内; 抗核抗体阴性; 幽门螺杆菌抗体阳性; 肾功能: 血尿素氮(blood ureanitrogen, BUN) 7.04 mmol/L, CR 57.3 $\mu mol/L$; 粪便隐血阳性++++, 褐色软便。胸部CT平扫: 两肺未见明显实质性病变, 右侧少量胸水, 附见腹水。胃镜: 慢性浅表性胃炎, 食管静脉重度曲张伴红色征。上腹部CT增强: 右肝血管瘤考虑, 肝硬化、脾肿大, 门脉高压, 腹水, 食道-胃底静脉曲张(图3)。床边B超: 肝硬化图像, 胆囊水肿, 门静脉增宽, 脾肿大。心电图: 窦性心律。治疗予以输A型RH阳性红细胞4单位; 抑酸止血: 埃索美拉唑针40 mg, 每8 h 1次, 静推; 保护胃黏膜: 硫糖铝混悬液10 mL, 4次/d, 口服; 减少内脏血流止血: 奥曲肽针50 $\mu g/h$ 微泵静推维持; 预防感染保护胃黏膜防止出血: 头孢噻肟针2.0, 2次/d, 静滴; 补充白蛋白: 白蛋白针10 g, 每日1次, 静滴; 升白细胞: 小檗胺片112 mg, 3次/d, 口服; 补充维生素: 脂溶性维生素/水溶性维生素针14 mL, 1次/d, 静滴; 调节肠道菌群: 复方嗜酸乳杆菌片1.0片, 3次/d, 口服; 利尿: 呋塞米片20 mg, 1次/d, 口服及螺内酯片40 mg, 2次/d, 口服; 护肝: 复方甘草酸苷针160 mg, 1次/d, 静滴及多烯磷脂酰胆碱注射液10 mL, 1次/d, 静滴; 补液支持治疗。经上述治疗后, 患者3 d后粪便颜色转黄, 提示消化道出血停止, 复查腹部B超: 肝硬化图像、门静脉稍宽、脾肿大, 胆囊壁稍毛糙, 腹腔内未见明显积液; 复查肝功能: ALB 31.23 g/L, TBIL 20.4 $\mu mol/L$, DBIL 9.7 $\mu mol/L$, ALT 19.8 U/L, AST 38.7 U/L, ALP 223.9 U/L; 血常规: WBC $2.3 \times 10^9/L$, Hb

■ 研发前沿

通过对Felty综合征合并肝硬化这一病例及文献复习, 希望能提高临床医师对此疾病的认识。

■ 相关报道

Felty综合征(Felty's syndrome)于1924年由美国医生Augustus Roy Felty首次报道, 1932年Hanrahan把具有类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)、粒细胞减少和脾大的三联征称为Felty综合征, 又称作晚发型类风湿性关节炎、类风湿性关节炎脾肿大综合征、关节肝脾综合征或关节炎-粒细胞减少-脾大综合征。Felty综合征发病多为40-70岁的慢性类风湿性关节炎患者, 亦有个别幼年发病者。

■创新盘点

Felty综合征合并肝硬化文献见散见个例报道。

81 g/L, PLT 52×10^9 /L, C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)2.78 mg/L. 予以出院, 出院诊断为: 类风湿性关节炎、Felty综合征、肝硬化失代偿期、食管胃底静脉曲张破裂出血。

2 讨论

Felty综合征(Felty's syndrome)于1924年由美国医生Augustus Roy Felty首次报道, 1932年Hanrahan把具有类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)、粒细胞减少和脾大的三联征称为Felty综合征, 又称作晚发型类风湿性关节炎、类风湿性关节炎脾肿大综合征、关节肝脾综合征或关节炎-粒细胞减少-脾大综合征^[2]。

本病临床表现: (1)关节病变: 本病除包括类风湿性关节炎的常见表现如关节肿痛、畸形外, 一般在其关节炎出现数年到数十年以上出现关节外症状。典型病例其手部小关节(特别是近端指间关节和掌指关节), 足、腕、肘及踝关节呈对称性受累, 但最初表现可发生在任何关节。晨起后或长时间休息后关节僵硬超过30 min者常见, 关节畸形可发展迅速, 尤其是屈曲挛缩、手指尺侧偏移; (2)肝脾肿大及肝功能损害: 患者可有轻中度肝脏肿大, 发生肝功能损害, 并有门脉高压症、胆汁淤积以及肝硬化等表现, 与肝脏结节性再生有关, 肝内微血管闭塞导致局部缺血, 为了维持肝脏功能, 肝脏再生形成结节^[3], 从而引起门脉高压。此外也可能与类风湿血管炎累及肝脾血管引起肝硬化相关^[4]。大部分脾脏肿大患者在关节症状出现数十年之后才出现脾大, 也有少数患者脾大和粒细胞减少发生在关节炎之前; (3)小血管炎: 如肢端溃疡、紫癜等, 皮肤感染后可并发溃疡, 通常位于小腿胫前及踝部, 且溃疡较深; (4)感染: 由于长期粒细胞缺乏、激素和免疫抑制剂的使用, 患者在病程发展过程中可合并感染如胸膜炎、周围神经炎等, 少数有葡萄球菌或链球菌引起的皮肤炎、呼吸道和口腔反复感染, 还可继发真菌感染。Sienknecht等提出其诊断标准^[5]: (1)符合类风湿性关节炎诊断标准; (2)查体或同位素扫描发现脾肿大; (3)白细胞总数<4000或血小板<10万; (4)无其他原因解释脾肿大或粒细胞减少。

本例患者存在肝硬化, 但肝硬化原因无法解释。根据乙型肝炎三系及肝炎系列结果, 排除肝炎肝硬化; 患者无嗜酒史, 排除酒精性肝硬化;

抗核抗体阴性, 排除自身免疫性肝病; 患者无肥胖、糖尿病、高甘油三酯血症、体重极度下降等病因, 结合CT及B超检查结果, 排除非酒精性脂肪性肝炎引起的肝硬化; 既往无中毒性肝炎表现, 排除药物引起的肝硬化; 患者无遗传及代谢疾病, 故排除此病因引起的肝硬化。故结合该患者具有长期类风湿性关节炎病史, 存在门脉高压、脾大、白细胞减少等症状及无法解释的肝硬化原因, 从疾病一元化因素诊断为Felty综合征。

本症少数患者可自然缓解, 在几年内可无症状, 但自愈的可能性极小。Felty综合征的主要治疗手段为肾上腺糖皮质激素及甲氨蝶呤、环磷酰胺、来氟米特、柳氮磺胺吡啶、金制剂等免疫抑制剂的联合使用, 还包括肿瘤坏死因子 α 、静脉用人血丙种球蛋白。Felty综合征合并肝硬化引起上消化道出血临床较为罕见。对于已经存在肝硬化引起食管胃底静脉曲张破裂出血的病例, 以降低门脉压力、抑酸、补液等为主要治疗手段, 虽然Felty综合征患者接受腹腔镜下行脾切除术已有成功报道^[6], 但只能收到暂时的效果。

对于不明原因的肝硬化患者, 如果有类风湿性关节炎、粒细胞减少症和脾脏肿大, 需要考虑Felty综合征, 通过这一病例及文献复习, 希望能提高临床医师对此疾病的认识。本例患者仍在密切随访中。

3 参考文献

- 1 Bloom BJ, Smith P, Alario AJ. Felty syndrome complicating juvenile rheumatoid arthritis. *J Pediatr Hematol Oncol* 1998; 20: 511-513 [PMID: 9787332 DOI: 10.1097/00043426-199809000-00022]
- 2 王婧, 段婷, 阴祯宏. Felty综合征. *国际外科学杂志* 2009; 36: 418-420
- 3 Perez Ruiz F, Orte Martinez FJ, Zea Mendoza AC, Ruiz del Arbol L, Moreno Caparros A. Nodular regenerative hyperplasia of the liver in rheumatic diseases: report of seven cases and review of the literature. *Semin Arthritis Rheum* 1991; 21: 47-54 [PMID: 1948101 DOI: 10.1016/0049-0172(91)90056-6]
- 4 陈灏珠. 实用内科学. 第13版. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 2712
- 5 Sienknecht CW, Urowitz MB, Pruzanski W, Stein HB. Felty's syndrome. Clinical and serological analysis of 34 cases. *Ann Rheum Dis* 1977; 36: 500-507 [PMID: 596944 DOI: 10.1136/ard.36.6.500]
- 6 Rosen M, Brody F, Walsh RM, Tarnoff M, Malm J, Ponsky J. Outcome of laparoscopic splenectomy based on hematologic indication. *Surg Endosc* 2002; 16: 272-279 [PMID: 11967677 DOI: 10.1007/s00464-001-8150-6]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

■同行评价

属于少见病例, 可以发表, 以提高临床医生对本病的认识, 提高诊断率。



《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)》, 《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, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(*International Committee of Medical Journal Editors*)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(*Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals*)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 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)》, 《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6347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; $101 \leq$ 分母 $\leq 1\,000$, 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 and 设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上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, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

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, 所有作者均同意该代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、职称、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版出版权转让给本刊编辑部。

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任。

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有。

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进。

2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26

美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会

会议地点: 美国旧金山

联系方式: www.gicasym.org

2013-02-10/15

2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia 会议

会议地点: 美国

联系方式: info@keystonesymposia.org

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)

会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城

联系方式: <http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508>

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会

会议地点: 美国休斯顿

联系方式: [http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11\[1\]](http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1])

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议

会议地点: 美国

联系方式: cme.med.miami.edu/x88.xml

2013-03-01/31

2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2013-03-01/04

2013加拿大消化疾病周(CDDW)

会议地点: 加拿大

联系方式: www.cag-acg.org/cddw

2013-03-07/10

亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议

会议地点: 新加坡

联系方式: www.apaslconference.org

2013-03-15/17

2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛

会议地点: 深圳市

联系方式: ewancool@hotmail.com

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会

会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛

联系方式: <http://www.centraalsurg.org/meeting/futuremtgs.html>

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)

会议地点: 北京市

联系方式: www.crdinnovation.com

2013-04-19/23

2013第2届国际肿瘤学论坛

会议地点: 瑞士

联系方式: cihexpo@163.com

2013-05-23/25

2013第六届世界癌症大会

会议地点: 西安市

联系方式: bithuiyi@163.com

2013-05-20/22

2013年第三届内分泌与代谢大会

会议地点: 西安市

联系方式: nancy@bitconferences.cn

2013-05-31/06-04

2013美国临床肿瘤协会年会

会议地点: 美国芝加哥

联系方式: yangxinxue999@163.com

2013-06-07/09

中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议

会议地点: 武汉市

联系方式: csonsc@VIP.163.com

2013-06-21/23

中国消化科学论坛

会议地点: 张家界市

联系方式: casgmail@126.com

2013-07-13/14

中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 银川市

联系方式: lilyjia@163.com

2014-09-26/30

第39届欧洲临床肿瘤学会年会

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html>

2013-10-18/20

第二十二届亚太抗癌大会

会议地点: 天津市

联系方式: secretariat@apcc2013.com

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!

陈光 教授
吉林大学第一医院消化器官外科

迟宝荣 教授
吉林大学第一医院消化内科

崔莲花 副教授
青岛大学医学院公共卫生系

丁惠国 教授
首都医科大学附属北京佑安医院肝病消化科

杜雅菊 教授
哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科

高英堂 研究员
天津市第三中心医院

韩天权 教授
上海交通大学医学院附属瑞金医院外科, 上海消化外科研究所

何继满 教授
南方医科大学南方医院消化研究所

何松 教授
重庆医科大学附属第二医院消化内科

何晓顺 教授
中山大学附属第一医院

黄晓东 主任医师
武汉市中心医院消化内科

金瑞 教授
首都医科大学附属北京佑安医院消化科

李永翔 教授
安徽医科大学第一附属医院普外科

刘颖斌 主任医师
上海交通大学医学院附属新华医院

麻勇 副研究员
哈尔滨医科大学附属第一医院肝脏外科

马欣 主任医师
甘肃省人民医院消化科

齐清会 教授
大连医科大学附属第一医院

秦建民 主任医师
上海中医药大学附属普陀医院普外科

孙诚谊 教授
贵阳医学院附属医院院长办

万军 教授
中国人民解放军总医院南楼老年消化科

王江滨 教授
吉林大学中日联谊医院

王蔚虹 教授
北京大学第一医院消化内科

肖秀英 副主任医师
上海市徐汇区中心医院肿瘤科

宣世英 教授
山东省青岛市市立医院肝病内科

颜宏利 教授
中国人民解放军第二军医大学医学遗传学教研室

张进祥 副教授
华中科技大学同济医学院附属协和医院

张庆瑜 教授
天津医科大学总医院科研处

张宗明 教授
清华大学第一附属医院消化医学中心

赵青川 主任医师
西京医院消化外科

郑鹏远 教授
郑州大学第二附属医院消化科

邹小明 教授
哈尔滨医科大学附属第二医院普外二科

《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 Co., Limited**
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,
315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

