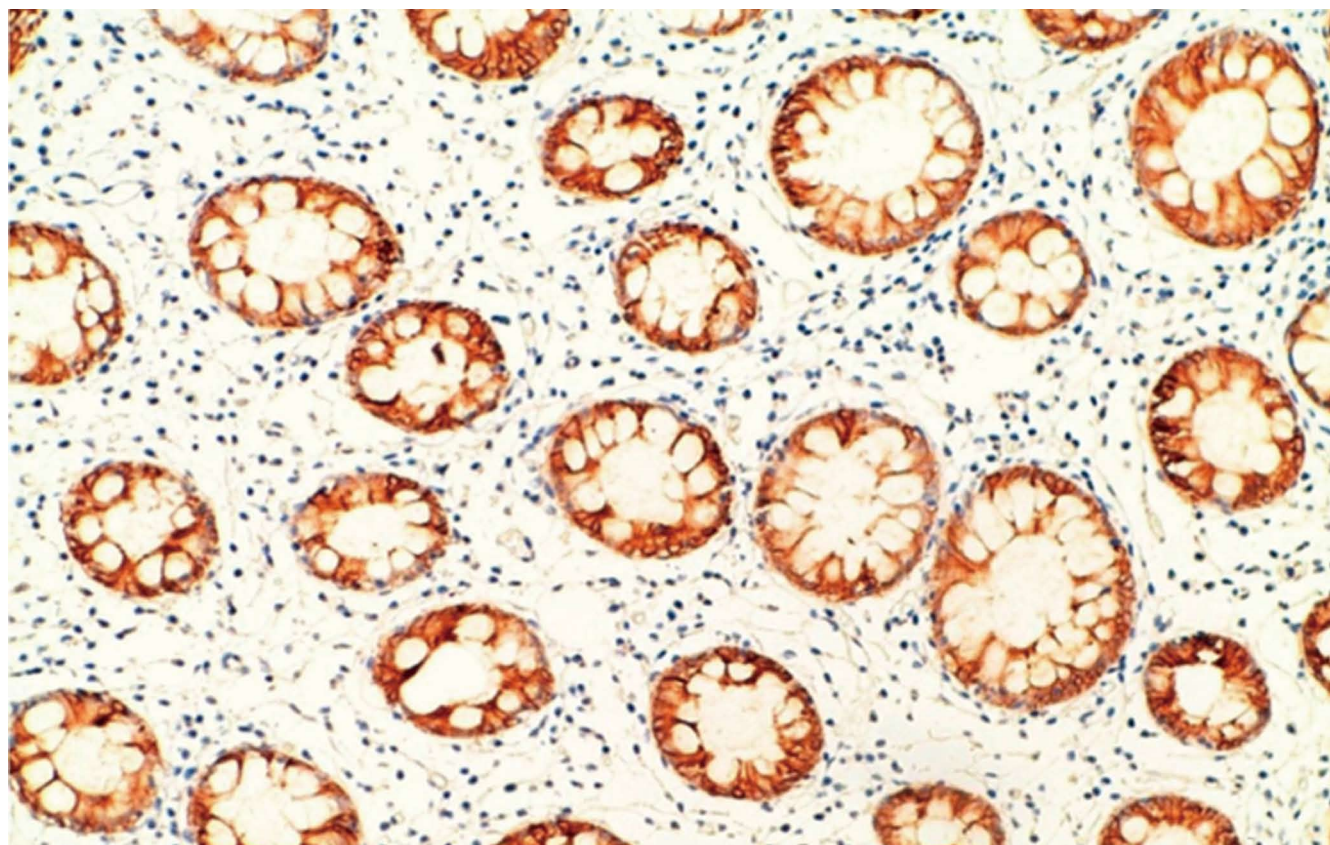


世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 10 月 18 日 第 21 卷 第 29 期 (Volume 21 Number 29)



29 / 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10月18日 第21卷 第29期 (总第433期)

述 评	3041 离子通道在肝细胞癌发生发展中的作用 刘雪梅, 虞必光
基础研究	3047 医用胶栓塞肝门静脉的效果 蒋天鹏, 王黎洲, 李兴, 宋杰, 吴晓萍, 周石 3053 shRNA沉默MRE11表达对肝癌耐药细胞BEL7402/5-FU DNA损伤修复的影响 范芳, 耿磊, 李大玉, 李长福
临床研究	3059 ST13和HSP70在胃息肉及胃癌中的表达及相关性研究 陈吉, 牛昊书
文献综述	3067 肝X受体与肝脏疾病 贺晓敏, 柳长柏 3072 ¹²⁵ I粒子组织间插植治疗肝癌的进展 全宇梭, 曹秀峰 3078 中药熏洗疗法治疗肛周湿疹研究进展 李华山, 张欣宇, 王晓锋 3083 质子泵抑制剂的应用与发展 周洁浩, 刘冰熔
研究快报	3089 活血化瘀通络中药复方及拆方对糖尿病脂肪肝大鼠SOCS-3和SREBP-1c的影响 朱雅娜, 孙玉凤, 何莉莉, 任荣, 张玉, 王飞, 李风华, 张艺凡, 郭沛然 3097 TGF- β 1与MMP-1在兔胆管电灼伤中的表达及意义 李锦锦, 李潼, 孟元普, 吴军卫, 柴新群 3102 二肽基肽酶-4抑制剂治疗小鼠溃疡性结肠炎的机制研究 李海素, 杨崇美 3107 大网膜瓣包绕胃肠道吻合口防治糖尿病大鼠消化系吻合口漏的疗效观察 潘瑞艳, 严庆涛, 曲俊生, 韩海林, 徐继马, 薛玲喜, 张义军, 曲梅花
临床经验	3112 不同类型胃黏膜中MUC1黏蛋白和MUC2黏蛋白的表达 崔小强, 姜曼, 董全江, 高玉强, 解祥军, 战淑慧 3119 老年早期胃癌内镜综合治疗的效果及长期随访 陈孝, 张子其, 王志强, 刘婧, 付永和, 张钰, 周庆 3124 外周血CD4 ⁺ CD25 ⁺ Treg细胞与HBV携带者的相关性分析: Meta分析 潘宗琴, 吕红, 胡世芸, 陈宇, 庄勤建, 徐林, 姚新生, 肖政, 邱隆敏 3132 内毒素和前列腺素I ₂ /血栓素A ₂ 与I型肝肾综合征的关系 黄华兰, 聂鑫, 贺勇, 吴斌, 宋昊岚, 罗通行, 杨正兵, 高宝秀, 李贵星 3139 取石球囊负压吸引造影法辅助导丝插入在胆管结石嵌顿中的应用 陈莉丽, 卜平, 陈超伍, 刘军, 陈娟, 邓登豪 3142 阑尾黏液腺癌10例 钟邦华, 李昱骥, 董明, 孔凡民 3146 10q21基因rs10761659多态性与广西壮族人群炎症性肠病的相关性 龙伟艳, 詹灵凌, 陈兰, 吕小平 3153 溃疡性结肠炎患者血浆及肠黏膜组织中IL-23、IL-17的表达及相互关系 姚宏凤, 沈洪, 郑凯, 朱磊 3158 结直肠癌中microRNA-625表达的临床意义 刘楠启, 孟胜男, 刘莹 3163 术前同步放化疗联合TME治疗II/III期直肠癌的临床疗效分析 董新华, 张谢夫, 杨振, 刘光辉 3168 可变硬度结肠镜在老年患者结肠镜检查中的应用价值 钱晶瑶, 高建新, 齐艳荣, 王文静, 贾卫江 3173 TSLC1、DAL-1/4.1B和MPP3在大肠癌中的表达及其临床意义 高文颂, 熊晶, 王渝

病例报告	3179 肝血色病并肝癌1例 左丽丽, 胥莹, 杨婧, 吴华美, 杨晋辉
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	3058 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 3096 《世界华人消化杂志》参考文献要求 3118 《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) 3131 《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 3138 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 3145 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 3152 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 3162 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 3182 《世界华人消化杂志》外文字符标注
封面故事	高文颂, 熊晶, 王渝. TSLC1、DAL-1/4.1B和MPP3在大肠癌中的表达及其临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3173-3178 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3173.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3173
本期责任人	编务 车新鑫; 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 2013-10-18

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

程英升, 教授, 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: wjcd@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/wjcd/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

October 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 29

EDITORIAL	3041 Role of ion channels in the development and progression of hepatocellular carcinoma <i>Liu XM, Tuo BG</i>
BASIC RESEARCH	3047 Portal vein embolization with medical adhesive in rabbits <i>Jiang TP, Wang LZ, Li X, Song J, Wu XP, Zhou S</i> 3053 ShRNA-mediated <i>MRE11</i> gene silencing inhibits DNA repair in multidrug-resistant hepatocellular carcinoma cell line BEL7402/5-FU <i>Fan F, Geng L, Li DY, Li CF</i>
CLINICAL RESEARCH	3059 Expression of ST13 and HSP70 in gastric polyps and gastric cancer <i>Chen J, Niu HS</i>
REVIEW	3067 Liver X receptors and liver diseases <i>He XM, Liu CB</i> 3072 Brachytherapy with iodine-125 seeds for hepatocellular carcinoma <i>Tong YS, Cao XF</i> 3078 Herbal fumigation for treatment of perianal eczema <i>Li HS, Zhang XY, Wang XF</i> 3083 Proton pump inhibitors <i>Zhou JH, Liu BR</i>
RAPID COMMUNICATION	3089 Effect of combined prescription and separate prescription of promoting blood circulation and removing blood stasis traditional Chinese medicine on expression of SOCS-3 and SREBP-1c in diabetic fatty liver in rats <i>Zhu YN, Sun YF, He LL, Ren R, Zhang Y, Wang F, Li FH, Zhang YF, Guo PR</i> 3097 Significance of expression of TGF- β 1 and MMP1 in bile duct injury caused by electrocautery in rabbits <i>Li JJ, Li T, Meng YP, Wu JW, Chai XQ</i> 3102 Mechanisms underlying therapeutic effects of DPP-4 inhibitor against ulcerative colitis in mice <i>Li HS, Yang CM</i> 3107 Wrapping digestive tract anastomotic fistula with a pedicled gastrocolic omentum flap to prevent anastomotic leakage in diabetic rats <i>Pan RY, Yan QT, Qu JS, Han HL, Xu JM, Xue LX, Zhang YJ, Qu MH</i>
CLINICAL PRACTICE	3112 Expression of Mucin-1 and Mucin-2 in different types of gastric lesions <i>Cui XQ, Jiang M, Dong QJ, Gao YQ, Xie XJ, Zhan SH</i> 3119 Pe <i>Chen X, Zhang ZQ, Wang ZQ, Liu J, Fu YH, Zhang Y, Zhou Q</i> 3124 Correlation between peripheral blood CD4 ⁺ CD25 ⁺ Treg cells and disease progression and prognosis in HBV carriers: A Meta-analysis <i>Pan ZQ, Lv H, Hu SY, Chen Y, Zhuang QJ, Xu L, Yao XS, Xiao Z, Qiu LM</i> 3132 Relationship between serum levels of endotoxin and PGI ₂ /TXA ₂ levels and hepatorenal syndrome <i>Huang HL, Nie X, He Y, Wu B, Song HL, Luo TX, Yang ZB, Gao BX, Li GX</i> 3139 Application of balloon suction radiography-assisted guidewire insertion in management of incarcerated stones in the common bile duct <i>Chen LL, Bu P, Chen CW, Liu J, Chen J, Deng DH</i> 3142 Diagnosis and treatment of mucous adenocarcinoma of the appendix: Our experience with 10 cases <i>Zhong BH, Li YJ, Dong M, Kong FM</i> 3146 Cly <i>Long WY, Zhan LL, Chen L, Lv XP</i> 3153 Rn <i>Yao HF, Shen H, Zheng K, Zhu L</i> 3158 As <i>Liu NQ, Meng SN, Liu Y</i> 3163 Efficacy and safety of preoperative radiochemotherapy combined with total mesorectal excision in treatment of stage II/III rectal cancer <i>Dong XH, Zhang XF, Yang Z, Liu GH</i> 3168 Application value of variable stiffness colonoscope in colonoscopy in elderly patients <i>Qian JY, Gao JX, Qi YR, Wang WJ, Jia WJ</i> 3173 Clinical significance of expression of TSLC1, DAL-1/4.1B and MPP3 in colorectal carcinoma <i>Gao WS, Xiong J, Wang Y</i>

CSAE REPORT	3179 Hemochromatosis complicated by hepatic carcinoma: A case report <i>Zuo LL, Xu Y, Yang J, Wu HM, Yang JH</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>Gao WS, Xiong J, Wang Y.</i> Clinical significance of expression of TSLC1, DAL-1/4.1B and MPP3 in colorectal carcinoma. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2013; 21(29): 3173-3178 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3173.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3173
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 October 18, 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.

离子通道在肝细胞癌发生发展中的作用

刘雪梅, 虞必光

刘雪梅, 虞必光, 遵义医学院附属医院消化内科 贵州省消化
疾病研究所 贵州省遵义市 563003

虞必光, 主任医师, 教授, 主要从事离子通道在胃肠道肿瘤中作
用的研究.

作者贡献分布: 刘雪梅论文写作; 虞必光修改审阅.

通讯作者: 虞必光, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 贵州省遵义市
大连路149号, 遵义医学院附属医院消化内科, 贵州省消化疾病
研究所. tuobiguang@aliyun.com

电话: 0852-8609205

收稿日期: 2013-06-23 修回日期: 2013-07-17

接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-10-18

Role of ion channels in the development and progression of hepatocellular carcinoma

Xue-Mei Liu, Bi-Guang Tuo

Xue-Mei Liu, Bi-Guang Tuo, Department of Gastroenterol-
ogy, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Digestive
Disease Institute of Guizhou Province, Zunyi 563003,
Guizhou Province, China

Correspondence to: Bi-Guang Tuo, Professor, Chief Physi-
cian, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of
Zunyi Medical College, Digestive Disease Institute of
Guizhou Province, 149 Dalian Road, Zunyi 563003, Gui-
zhou Province, China. tuobiguang@aliyun.com

Received: 2013-06-23 Revised: 2013-07-17

Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-10-18

Abstract

Ion channels are pore-forming membrane proteins which play regulatory roles in a variety of biological processes. Their abnormality in expression or activity has a close relationship with the proliferation and apoptosis of cancer cells. This article will describe the role of four ion channels in the development and progression of hepatocellular carcinoma. Our review suggests that ion channels might be a new therapeutic target for hepatocellular carcinoma.

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

Key Words: Ion channels; Hepatocellular carcinoma; Development; Progression

Liu XM, Tuo BG. Role of ion channels in the development and progression of hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3041-3046 URL:

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3041.asp> DOI:

<http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3041>

摘要

离子通道是一类微孔细胞膜蛋白质, 是维持机体生命活动的重要组分. 其本身表达和活性的异常改变与肿瘤细胞的增殖和凋亡密切相关. 本文系统阐述4种离子通道与肝细胞癌的关系及其在发生发展中的作用, 提示离子通道有可能成为肝细胞癌的新的药物治疗靶点.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 离子通道; 肝细胞癌; 发生; 发展

核心提示: 本文系统阐述4种离子通道分别通过改变细胞膜电位、参与细胞周期、改变胞内Ca²⁺浓度、胞质pH值和细胞体积等途径来影响肝癌细胞的增殖和凋亡, 揭示不同离子通道与肝细胞癌的关系及其在发生发展中的作用, 对于更加全面地阐明肝细胞癌的发病机制及提供新的药物治疗靶点, 具有十分重要的临床价值和科学意义.

刘雪梅, 虞必光. 离子通道在肝细胞癌发生发展中的作用. *世界华人消化杂志* 2013; 21(29): 3041-3046 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3041.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3041>

0 引言

细胞离子通道的结构和功能正常是维持生命过程的基础, 对于保持正常的新陈代谢和生理功能起着十分重要的作用. 近年来, 不断有文献报道了离子通道功能异常与癌症发生的关系, 特别是在肝细胞癌的研究中发现, 离子通道通过改变细胞膜电位、参与细胞周期、改变胞内Ca²⁺浓度、胞质pH值和细胞体积等途径来影响肿瘤细胞增殖和凋亡. 本文就离子通道在肝细胞癌发生发展中的研究进展做一介绍.

1 离子通道

离子通道是细胞膜上一类贯穿细胞膜的亲水性

■背景资料

细胞离子通道结构和功能的正常是维持生命活动的基础, 其表达和功能的异常与肿瘤的发生发展密切相关. 其中离子通道与肝细胞癌的关系逐步成为研究热点, 在此基础上, 我们系统介绍4种离子通道在肝细胞癌发生发展中的作用.

■同行评议者

禄韶英, 博士, 副教授, 西安交通大学医学院第一附属医院普外科

■ 研发前沿

本文主要概述了当前通过应用细胞分子生物学等技术方法系统探寻离子通道参与及调节肝细胞癌发生机制的研究,阐明肝细胞癌发生发展的分子生物学机制及作为靶点治疗的方向。

蛋白质微孔道。离子通道对离子的透过有较高的选择性,通常以通透性最高的离子命名,如氢离子通道、钾离子通道、钙离子通道和氯离子通道等。这些离子通道几乎分布于机体每一个细胞膜上,是维持机体生命活动的重要组份,其生物学功能主要表现在以下几个方面:(1)维持细胞内外pH值相对恒定;(2)决定细胞兴奋性、不应性和传导性。在神经、肌肉等兴奋性细胞, Na^+ 和 Ca^{2+} 通道主要调控去极化, K^+ 通道主要调控复极化和维持静息电位;(3)调节血管平滑肌舒缩活动;(4)参与突触传递;(5)维持细胞正常体积;(6)调节细胞内cAMP、cGMP、 Ca^{2+} 等第二信使浓度,从而触发肌肉收缩、腺体分泌、蛋白激酶激活和基因表达调节等一系列生理效应。离子通道结构和功能正常是细胞进行生命活动的基础,其特定位点突变将导致其激活、失活功能的异常,引起细胞功能紊乱,形成各种疾病^[1]。近年来,离子通道与肿瘤的关系逐渐引起人们关注,不断有研究发现,在肿瘤发生发展过程中,离子通道表达和活性发生改变对于肿瘤细胞的生长、增殖、侵袭和转移等有着十分重要的影响^[2-8]。深入了解离子通道在肿瘤发生发展中的作用,不仅有利于更加全面地阐明肿瘤发病机制,也将可能为肿瘤预防和治疗提供新靶标和新的生物学干预手段。其中,原发性肝细胞癌是消化系常见的恶性肿瘤之一,且世界各地的发病率有上升趋势,但其病因和发病机制尚未完全肯定,且抗癌药物治疗效果不佳。目前,国内外不断有文献分别报道了以下4种离子通道在肝细胞癌中扮演的不同角色和作用。据此,系统深入的认识离子通道在肝细胞癌发生发展中的作用有着十分重要的科学和临床意义。

2 氢离子相关通道

众所周知,保持细胞内的pH值相对恒定对于稳定细胞的功能来说是至关重要的,因为大多数细胞都有一个狭窄的pH值最适范围^[9]。正常情况下,保持偏碱性的细胞内环境有利于细胞生长,而偏酸性的细胞外环境有利于细胞侵袭。肿瘤细胞具有高糖酵解活性同时产生大量酸性代谢产物^[10],因此,通常生长于低氧微环境,且细胞外pH值低于其周围的正常细胞pH值^[11-13]。细胞外pH值偏酸和低氧微环境是不允许正常细胞生长且伴随着细胞凋亡^[14,15]。为了最大程度的减少这种由于细胞内pH值下降且伴随长期大量酸性物质堆积的潜在危险性,肿瘤细胞就必须启动

质子转运机制,通过上调通道蛋白泵出细胞内 H^+ 来保持细胞内外pH值相对稳定^[16],使其细胞内环境偏碱,而细胞外环境偏酸,才有利于其生长和侵袭,这种上调质子转运通道的能力对于肿瘤细胞存活是必不可少的。研究表明在肿瘤细胞有4种主要的细胞pH调节机制:(1)钠氢交换体;(2)碳酸氢盐转运剂;(3)质子-乳酸根共输体;(4)质子泵。而氢离子相关通道如:钠氢交换体(sodium hydrogen exchanger, NHE)和质子泵(H^+ - K^+ ATPase, V-ATPase)被认为是在肿瘤细胞中重要的pH调节机制。在肿瘤细胞的生长^[17]、分化^[18]、细胞运动性^[14]、转移^[19]以及对肿瘤药物的耐药性^[20,21]上起着重要的作用。此外,国外有文献报道质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)与抗癌药物联合用药,能显著降低肿瘤细胞对抗癌药物的耐药性^[22]。囊泡内氢离子三磷酸腺苷酶亚型c(V-ATPase c)的mRNA和蛋白质表达在原发性肝癌细胞中明显上调增加,促进了肝癌细胞的生长^[23]。在动物实验方面,在成功建立裸鼠-人肝癌皮下-肝内原位移植模型后,应用PPI和V-ATPase c特异性抑制剂(bafilomycinA1)能导致活体肿瘤细胞坏死^[16,23]。这表明氢离子相关通道抑制剂能够有效的抑制肝癌肿瘤细胞生长,有可能作为有选择能力的抗癌药物。同时,运用RNA干扰技术,特异性的沉默掉V-ATPase c能够有效的抑制原位肝癌移植模型肿瘤的生长和转移^[24]。而对于钠氢交换体亚型1(sodium hydrogen exchanger-1, NHE1)而言,其是钠氢交换体家族中表达最广泛的一员,主要催化胞内氢离子与胞外钠离子的交换,因此对于调节细胞内pH值起着非常重要的作用,同时在酸化肿瘤微环境的过程中起着显著性的作用。在原发性肝癌的研究中,NHE1被发现在肝癌细胞中高表达^[25],并参与了肿瘤转移,通过RNA干扰技术及其抑制剂阿米洛利对NHE1的作用能够明显抑制人肝癌细胞系SMC-7721的细胞侵袭^[26]。这都表明氢离子通道中V-ATPase c和NHE1^[27]可能成为新的肝癌药物治疗靶点。

3 钙离子通道

钙离子做为第二信使,参与许多信号转导通路,在细胞周期进程,细胞凋亡,分化和增殖中发挥重大的作用^[28],胞内 Ca^{2+} 释放和胞外 Ca^{2+} 入胞是细胞周期和细胞增殖最基本信号转导途径。近年来,不断有文献报道了钙离子在肿瘤细胞中发挥的作用。其中发现了在不同种的肝癌细胞

系中均有T-型钙离子通道(T-type Ca^{2+} channel)的异常高表达, 封闭了有功能的T型钙离子通道能够显著的降低肝癌细胞株SNU449的增殖, 提示了T型钙离子通道参与调节了肝癌细胞的增殖^[29]. 另外, 我们知道细胞内钙离子浓度是由钙离子通道、钙泵和钙离子交换器调节和控制. 其中钠钙交换器是一种离子转运蛋白, 介导细胞内外钠离子和钙离子的交换, 我们的前期研究显示其可以通过控制细胞内钙离子浓度能够调控肝癌细胞的增殖. 同时已有文献报道钠钙交换器的抑制剂能够阻止氧化引起的细胞内钙的增加和引起肝癌细胞株HePG2的凋亡^[30], 这就提示了钠钙交换器调节和控制细胞内钙离子浓度, 并参与了对肝癌细胞增殖的调控. 故钙离子相关通道在肝细胞癌的研究中扮演着十分重要的角色, 有可能成为新的治疗目标.

4 钾离子通道

钾离子(K^+)通道是膜蛋白的一种, 广泛存在于细胞之中. 具有多种功能: 诸如参与神经递质的分泌、心率的调节、平滑肌的收缩等的调控. K^+ 通道亚型众多, 作用机制复杂, 具有重要的病理、生理和药理学意义. 1984年DeCoursey等^[31]在《Nature》上首先报道了钾离子通道在淋巴细胞增殖和分化中的作用, 随后在乳腺癌^[32]、黑色素瘤^[33]、前列腺癌^[34]等肿瘤细胞中也发现钾离子通道高表达, 阻断钾离子通道表达或阻滞钾离子通道均可使细胞增殖减慢^[35], 钾离子通道与肿瘤细胞增殖的关系就成为了肿瘤基础研究的新热点. 1996年Wonderlin等^[36]阐述了钾离子通道与肿瘤细胞增殖的关系: 激活的钾离子通道对于肿瘤细胞进入 G_1 期是必不可少的, 被阻断钾离子通道的肿瘤细胞将停滞在 G_0 - G_1 期. 因为, 钾离子通道的增加和开放, 可使细胞处于超极化状态, 能导致非电压敏感性钙释放激活的钙通道开放, 使钙离子进入细胞内, 有利于钙离子相关的细胞信号转导, 从而引起肿瘤细胞的增殖加快. 如果通过钾离子通道阻断剂抑制该过程, 就能抑制肿瘤细胞的增殖. 这表明, 钾离子通道在肿瘤细胞中通过调节细胞膜电位, 影响细胞周期, 从而引起肿瘤细胞的增殖、凋亡与分化. 故在钾离子通道阻断剂应用于肿瘤的治疗中发现, 4-氨基吡啶(人工合成的钾离子通道阻断剂), 能诱导HepG2人肝癌细胞凋亡, 能剂量依赖性地减少HepG2细胞的生长, 并证实了在HepG2细胞中, 4-氨基吡啶诱导的凋亡是由于

钙离子内流引起的, 而且在诱导肝细胞凋亡的机制中有钾离子通道的参与^[37]. 目前发现与肿瘤相关的钾离子通道有: 钙激活型、电压依赖型、内向整流型、ATP型、膨胀激活型钾离子通道等^[38]. 在肝细胞癌的研究中, 发现了中电导钙激活钾通道1(intermediate conductance Ca^{2+} -activated K^+ channel-1, IKCa1)在人肝癌组织中过量表达, 运用其特异性阻断剂TRAM-34能够有效抑制人肝癌细胞株HePG2的增殖^[39]. 并有文献报道TRAM-34能够抑制肝癌细胞增殖不是通过细胞凋亡途径而是雌激素受体(estrogen receptor, ESR)mRNA的下调表达和核内转录因子(NF-KappaB)的活化减少引起的^[40], 故TRAM-34或许是一个新的肝癌治疗的药物. 另外, ATP型钾离子通道亚型1(Na^+/K^+ -ATPase-1)近年来被发现是一个新的抗癌靶点, 他在恶性肿瘤细胞的离子转运、新陈代谢、迁移和信号传导方面起着关键性作用^[41]. 在肝细胞癌中研究中就发现了其表达明显高于正常肝脏组织, 靶向性沉默掉 Na^+/K^+ -ATPase引起了肝癌细胞系HepG2细胞的凋亡和细胞周期停滞^[41], 这对肝细胞癌的治疗又提供了一个新的药物治疗点. 在肿瘤细胞的细胞内、外环境研究中发现, 为了使肿瘤细胞的高代谢顺利进行, 细胞需要自身调节胞内pH值, 形成偏碱的胞质环境, 这个过程通过离子通道完成: 胞内酸性代谢产物增多首先激活 Na^+/H^+ 交换体, 泵出胞内多余的 H^+ , Na^+ 同时入胞, 过量的 Na^+ 激活了 Na^+/K^+ ATP酶, 从而泵出多余的 Na^+ , K^+ 同时入胞, 这样胞内过量的 K^+ 又激活了钾离子通道, 促使 K^+ 外流. Pappas等^[42]发现钾离子通道阻滞剂可以导致细胞内酸化, 抑制细胞增殖, 从而证实了这个“级联过程”. 而在肝细胞癌的研究中, 有文献报道了电压门控型钾通道(voltage-gate K^+ channel)在肝癌细胞系H35的增殖和转移中起到了关键性的作用, 运用不同钾离子阻断剂均可抑制H35细胞的浸润和增殖, 这有可能是抑制了钾离子通道的同时减少了钙离子内流从而影响了电压门控型钾通道在肿瘤的细胞粘附和增殖中的作用, 整个机制可能是钙依赖性的^[43].

5 氯离子通道

1990年Jentsch等^[44]克隆了氯离子通道家族的第一个成员, 对氯离子通道的研究开始快速发展, 目前发现氯离子通道开放可调节膜静息电位稳定和电兴奋性、胞内ATP水解、容积调节、电

■ 相关报道

通过囊泡内氢离子三磷酸腺苷酶亚型c(V-ATPase c)在肝细胞癌中的表达和功能的研究, 揭示了氢离子相关通道调节肝癌细胞内pH值的重要作用, 并为肝癌微酸环境治疗提供了靶向性, 对完善肝癌发病机制及药物治疗的研究有着十分重要的导向作用.

■创新盘点

本文以探寻肝细胞癌发生发展的机制为基础,系统概括了4种离子通道在肝细胞癌发生发展中扮演的不同角色和调节作用,揭示离子通道可作为靶点治疗的可行性。

介质转运、保持细胞内pH稳定^[45]。同时对细胞免疫应答、细胞增殖分化和转移、细胞凋亡等也具调节作用。在氯离子通道与肝癌的关系研究中发现:细胞内氯离子通道亚型1(chloride intracellular channel-1, CLIC1)广泛表达在众多人体组织中,并涉及调节细胞周期、增殖和分化。他在人肝细胞癌中异常高表达,并与肿瘤的大小、远处转移、病理分期、低生存率密切相关^[46],特别是在肝癌的淋巴转移过程中扮演了十分重要的角色^[47],这提示CLIC1在肝癌的诊断中可能是一个有价值的预后指标。钙激活性氯离子通道(calcium-regulated chloride conductances, CaCCs)的特点是细胞内钙离子增加激活的氯离子通道广泛存在于各种细胞中,在环孢菌素A(cyclosporine A, CsA)用于肝细胞癌治疗的机制研究中发现,应用环孢菌素A可以引起的肝癌细胞系HePG2的凋亡,这有可能是由钙激活性氯离子通道所介导的,同时根据实验数据显示提出了一个新的观点即:钙激活性氯离子通道所调节的肿瘤细胞凋亡与细胞内钙信号紊乱相关^[48]。我们知道,在肝细胞上,氯离子通道参与了细胞容量调节和胞内细胞器酸化。其中氯离子通道CIC-3(volume-activated chloride channel-3)表达广泛,虽然在功能、定位和特性还有某些程度上的争议,但在人肝癌细胞系Huh-7的研究中发现,CIC-3作为细胞内氯离子通道,大量定位在囊泡膜上与囊泡内氢离子三磷酸腺苷酶(V-ATPase)共同完成氢离子和氯离子的流出,从而完成细胞器的酸化^[49],这对肝癌细胞的生存是至关重要的。而在他莫西芬(Tamoxifen)用于治疗肝癌机制的研究过程中发现^[50],在雌激素受体不依赖型的高转移肝癌细胞株MHCC97H中,他莫西芬通过调节容量激活性氯电流和细胞容积抑制了肿瘤细胞迁移。而CIC-3的特异性敲除也阻止了MHCC97H细胞的迁移,降低了容量激活性氯电流和细胞容积。因此,抑制氯离子通道或许是他莫西芬抗癌抑制转移的一个重要机制,同时也为肝癌的药物治疗提供另一个新的理论观点。

6 结论

就目前的研究进展而言,离子通道与肝细胞癌的关系可以简单概括为:不同的离子通道分别对膜电位、细胞周期、胞内钙离子浓度、胞质pH值及细胞体积等进行调节,从而影响肝癌细胞的增殖、凋亡和分化。同时,离子通道与肝癌细胞的转移、侵袭、肿瘤血管的形成也有一定

的关系。从上述的研究中,我们可以不断探寻离子通道在调节肝癌细胞生长发育中的作用、机制以及为治疗提供新的靶点,具有十分重要的科学意义和临床意义。

7 参考文献

- 1 Dworakowska B, Dołowy K. Ion channels-related diseases. *Acta Biochim Pol* 2000; 47: 685-703 [PMID: 11310970]
- 2 Le Guennec JY, Ouadid-Ahidouch H, Soriani O, Besson P, Ahidouch A, Vandier C. Voltage-gated ion channels, new targets in anti-cancer research. *Recent Pat Anticancer Drug Discov* 2007; 2: 189-202 [PMID: 18221062 DOI: 10.2174/157489207782497244]
- 3 Fiske JL, Fomin VP, Brown ML, Duncan RL, Sikes RA. Voltage-sensitive ion channels and cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2006; 25: 493-500 [PMID: 17111226 DOI: 10.1007/s10555-006-9017-z]
- 4 Roger S, Potier M, Vandier C, Besson P, Le Guennec JY. Voltage-gated sodium channels: new targets in cancer therapy? *Curr Pharm Des* 2006; 12: 3681-3695 [PMID: 17073667 DOI: 10.2174/138161206778522047]
- 5 Pardo LA, Stühmer W. Eag1: an emerging oncological target. *Cancer Res* 2008; 68: 1611-1613 [PMID: 18339837 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-5710]
- 6 Pardo LA, Contreras-Jurado C, Zientkowska M, Alves F, Stühmer W. Role of voltage-gated potassium channels in cancer. *J Membr Biol* 2005; 205: 115-124 [PMID: 16362499 DOI: 10.1007/s00232-005-0776-1]
- 7 Kunzelmann K. Ion channels and cancer. *J Membr Biol* 2005; 205: 159-173 [PMID: 16362504 DOI: 10.1007/s00232-005-0781-4]
- 8 Bödding M. TRP proteins and cancer. *Cell Signal* 2007; 19: 617-624 [PMID: 17029734 DOI: 10.1016/j.cellsig.2006.08.012]
- 9 Putnam RW. Intracellular pH regulation. In: *Cell Physiology Sourcebook: A Molecular Approach*. 3rd ed. Sperelakis N, editor. San Diego, CA: Academic, 2001: 357-376 [DOI: 10.1016/B978-012656976-6/50114-1]
- 10 Racker E. Bioenergetics and the problem of tumor growth. *Am Sci* 1972; 60: 56-63 [PMID: 4332766]
- 11 Gillies RJ, Liu Z, Bhujwala Z. 31P-MRS measurements of extracellular pH of tumors using 3-aminopropylphosphonate. *Am J Physiol* 1994; 267: C195-C203 [PMID: 8048479]
- 12 Griffiths JR. Are cancer cells acidic? *Br J Cancer* 1991; 64: 425-427 [PMID: 1911181 DOI: 10.1038/bjc.1991.326]
- 13 Raghunand N, Martínez-Zaguián R, Wright SH, Gillies RJ. pH and drug resistance. II. Turnover of acidic vesicles and resistance to weakly basic chemotherapeutic drugs. *Biochem Pharmacol* 1999; 57: 1047-1058 [PMID: 10796075 DOI: 10.1016/S0006-2952(99)00021-0]
- 14 Gottlieb RA, Giesing HA, Zhu JY, Engler RL, Babior BM. Cell acidification in apoptosis: granulocyte colony-stimulating factor delays programmed cell death in neutrophils by up-regulating the vacuolar H(+)-ATPase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92: 5965-5968 [PMID: 7541139 DOI: 10.1073/pnas.92.13.5965]

- 15 Gillies RJ, Martinez-Zaguilan R. Regulation of intracellular pH in BALB/c 3T3 cells. Bicarbonate raises pH via $\text{NaHCO}_3/\text{HCl}$ exchange and attenuates the activation of Na^+/H^+ exchange by serum. *J Biol Chem* 1991; 266: 1551-1556 [PMID: 1846359]
- 16 Luciani F, Spada M, De Milito A, Molinari A, Rivoltini L, Montinaro A, Marra M, Lugini L, Logozzi M, Lozupone F, Federici C, Iessi E, Parmiani G, Arancia G, Belardelli F, Fais S. Effect of proton pump inhibitor pretreatment on resistance of solid tumors to cytotoxic drugs. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 1702-1713 [PMID: 15547183 DOI: 10.1093/jnci/djh305]
- 17 Helmlinger G, Yuan F, Dellian M, Jain RK. Interstitial pH and pO_2 gradients in solid tumors in vivo: high-resolution measurements reveal a lack of correlation. *Nat Med* 1997; 3: 177-182 [PMID: 9018236 DOI: 10.1038/nm0297-177]
- 18 Martínez-Zaguilán R, Martínez GM, Gomez A, Hendrix MJ, Gillies RJ. Distinct regulation of pHin and $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$ in human melanoma cells with different metastatic potential. *J Cell Physiol* 1998; 176: 196-205 [PMID: 9618159 DOI: 10.1002/(SICI)1097-4652(199807)176:1<196::AID-JCP21>3.0.CO;2-4]
- 19 Schlappack OK, Zimmermann A, Hill RP. Glucose starvation and acidosis: effect on experimental metastatic potential, DNA content and MTX resistance of murine tumour cells. *Br J Cancer* 1991; 64: 663-670 [PMID: 1911214 DOI: 10.1038/bjc.1991.378]
- 20 Martínez-Zaguilán R, Raghunand N, Lynch RM, Bellamy W, Martinez GM, Rojas B, Smith D, Dalton WS, Gillies RJ. pH and drug resistance. I. Functional expression of plasmalemmal V-type H^+ -ATPase in drug-resistant human breast carcinoma cell lines. *Biochem Pharmacol* 1999; 57: 1037-1046 [PMID: 10796074 DOI: 10.1016/S0006-2952(99)00022-2]
- 21 Thiebaut F, Currier SJ, Whitaker J, Haugland RP, Gottesman MM, Pastan I, Willingham MC. Activity of the multidrug transporter results in alkalinization of the cytosol: measurement of cytosolic pH by microinjection of a pH-sensitive dye. *J Histochem Cytochem* 1990; 38: 685-690 [PMID: 1692055 DOI: 10.1177/38.5.1692055]
- 22 Yeo M, Kim DK, Park HJ, Cho SW, Cheong JY, Lee KJ. Retraction: Blockage of intracellular proton extrusion with proton pump inhibitor induces apoptosis in gastric cancer. *Cancer Sci* 2008; 99: 185 [PMID: 17956591]
- 23 Xu J, Xie R, Liu X, Wen G, Jin H, Yu Z, Jiang Y, Zhao Z, Yang Y, Ji B, Dong H, Tuo B. Expression and functional role of vacuolar H^+ -ATPase in human hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis* 2012; 33: 2432-2440 [PMID: 22962303 DOI: 10.1093/carcin/bgs277]
- 24 Lu X, Qin W, Li J, Tan N, Pan D, Zhang H, Xie L, Yao G, Shu H, Yao M, Wan D, Gu J, Yang S. The growth and metastasis of human hepatocellular carcinoma xenografts are inhibited by small interfering RNA targeting to the subunit ATP6L of proton pump. *Cancer Res* 2005; 65: 6843-6849 [PMID: 16061667 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-3822]
- 25 Morgenlander JC, Goldstein LB. Recurrent transient ischemic attacks and stroke in association with an internal carotid artery web. *Stroke* 1991; 22: 94-98 [PMID: 1987677 DOI: 10.1007/s12032-009-9343-4]
- 26 Yang X, Wang D, Dong W, Song Z, Dou K. Suppression of Na^+/H^+ exchanger 1 by RNA interference or amiloride inhibits human hepatoma cell line SMMC-7721 cell invasion. *Med Oncol* 2011; 28: 385-390 [PMID: 20151228 DOI: 10.1007/s12032-010-9447-x]
- 27 Yang X, Wang D, Dong W, Song Z, Dou K. Expression and modulation of Na^+/H^+ exchanger 1 gene in hepatocellular carcinoma: A potential therapeutic target. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 364-370 [PMID: 21261728 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06382.x]
- 28 Berridge MJ, Lipp P, Bootman MD. The versatility and universality of calcium signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2000; 1: 11-21 [PMID: 11413485 DOI: 10.1038/35036035]
- 29 Li Y, Liu S, Lu F, Zhang T, Chen H, Wu S, Zhuang H. A role of functional T-type Ca^{2+} channel in hepatocellular carcinoma cell proliferation. *Oncol Rep* 2009; 22: 1229-1235 [PMID: 19787244]
- 30 Kim JA, Kang YS, Lee SH, Lee YS. Inhibitors of $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger prevent oxidant-induced intracellular Ca^{2+} increase and apoptosis in a human hepatoma cell line. *Free Radic Res* 2000; 33: 267-277 [PMID: 10993480 DOI: 10.1080/1071576000301431]
- 31 DeCoursey TE, Chandy KG, Gupta S, Cahalan MD. Voltage-gated K^+ channels in human T lymphocytes: a role in mitogenesis? *Nature* 1984; 307: 465-468 [PMID: 6320007 DOI: 10.1038/307465a0]
- 32 Ouadid-Ahidouch H, Ahidouch A. K^+ channel expression in human breast cancer cells: involvement in cell cycle regulation and carcinogenesis. *J Membr Biol* 2008; 221: 1-6 [PMID: 18060344 DOI: 10.1007/s00232-007-9080-6]
- 33 Nilius B, Wohlrab W. Potassium channels and regulation of proliferation of human melanoma cells. *J Physiol* 1992; 445: 537-548 [PMID: 1323670]
- 34 Parihar AS, Coghlan MJ, Gopalakrishnan M, Shieh CC. Effects of intermediate-conductance Ca^{2+} -activated K^+ channel modulators on human prostate cancer cell proliferation. *Eur J Pharmacol* 2003; 471: 157-164 [PMID: 12826234 DOI: 10.1016/S0014-2999(03)01825-9]
- 35 Pardo LA. Voltage-gated potassium channels in cell proliferation. *Physiology (Bethesda)* 2004; 19: 285-292 [PMID: 15381757 DOI: 10.1152/physiol.00011.2004]
- 36 Wonderlin WF, Strobl JS. Potassium channels, proliferation and G1 progression. *J Membr Biol* 1996; 154: 91-107 [PMID: 8929284 DOI: 10.1007/s002329900135]
- 37 Kim JA, Kang YS, Jung MW, Kang GH, Lee SH, Lee YS. Ca^{2+} influx mediates apoptosis induced by 4-aminopyridine, a K^+ channel blocker, in HepG2 human hepatoblastoma cells. *Pharmacology* 2000; 60: 74-81 [PMID: 10657756]
- 38 Wang Z. Role of K channels in regulating tumour cell proliferation and apoptosis. *Pflugers Arch* 2004; 448: 274-286 [DOI: 10.1007/s00424-004-1258-5]
- 39 Yang XW, Liu JW, Zhang RC, Yin Q, Shen WZ, Yi JL. Inhibitory effects of blockage of intermediate conductance Ca^{2+} -activated K^+ channels on proliferation of hepatocellular carcinoma cells. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2013; 33: 86-89 [PMID: 23392713 DOI: 10.1007/s11596-013-1076-0]
- 40 Freise C, Ruehl M, Seehofer D, Hoyer J, Somasundaram R. The inhibitor of Ca^{2+} -dependent K^+ channels TRAM-34 blocks growth of hepatocellular carcinoma cells via downregulation of estrogen receptor alpha mRNA and nuclear factor-kappaB.

■应用要点

通过对肝细胞癌的细胞分子机制的研究,揭示了离子通道与肝细胞癌发生发展的密切关联,为肝细胞癌的临床药物治疗提供靶点,有着十分重要的科学意义和临床意义。

■同行评价

本文具有一定指导意义。

- Invest New Drugs* 2013; 31: 452-457 [PMID: 23054207 DOI: 10.1007/s10637-012-9879-6]
- 41 Xu ZW, Wang FM, Gao MJ, Chen XY, Hu WL, Xu RC. Targeting the Na(+)/K(+)-ATPase alpha1 subunit of hepatoma HepG2 cell line to induce apoptosis and cell cycle arresting. *Biol Pharm Bull* 2010; 33: 743-751 [PMID: 20460749]
- 42 Pappas CA, Ullrich N, Sontheimer H. Reduction of glial proliferation by K⁺ channel blockers is mediated by changes in pH_i. *Neuroreport* 1994; 6: 193-196 [PMID: 7703413]
- 43 Zhou Q, Kwan HY, Chan HC, Jiang JL, Tam SC, Yao X. Blockage of voltage-gated K⁺ channels inhibits adhesion and proliferation of hepatocarcinoma cells. *Int J Mol Med* 2003; 11: 261-266 [PMID: 12525889]
- 44 Jentsch TJ, Friedrich T, Schriever A, Yamada H. The CLC chloride channel family. *Pflugers Arch* 1999; 437: 783-795 [PMID: 10370055]
- 45 Jentsch TJ, Stein V, Weinreich F, Zdebik AA. Molecular structure and physiological function of chloride channels. *Physiol Rev* 2002; 82: 503-568 [PMID: 11917096]
- 46 Zhang S, Wang XM, Yin ZY, Zhao WX, Zhou JY, Zhao BX, Liu PG. Chloride intracellular channel 1 is overexpression in hepatic tumor and correlates with a poor prognosis. *APMIS* 2013 Apr 18. [Epub ahead of print] [PMID: 23593969 DOI: 10.1111/apm.12093]
- 47 Li RK, Zhang J, Zhang YH, Li ML, Wang M, Tang JW. Chloride intracellular channel 1 is an important factor in the lymphatic metastasis of hepatocarcinoma. *Biomed Pharmacother* 2012; 66: 167-172 [PMID: 22440897 DOI: 10.1016/j.biopha.2011.10.002]
- 48 Kim JA, Kang YS, Lee YS. Role of Ca²⁺-activated Cl⁻ channels in the mechanism of apoptosis induced by cyclosporin A in a human hepatoma cell line. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 309: 291-297 [PMID: 12951048]
- 49 Li X, Wang T, Zhao Z, Weinman SA. The CIC-3 chloride channel promotes acidification of lysosomes in CHO-K1 and Huh-7 cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002; 282: C1483-C1491 [PMID: 11997263]
- 50 Mao J, Yuan J, Wang L, Zhang H, Jin X, Zhu J, Li H, Xu B, Chen L. Tamoxifen inhibits migration of estrogen receptor-negative hepatocellular carcinoma cells by blocking the swelling-activated chloride current. *J Cell Physiol* 2013; 228: 991-1001 [PMID: 23042559 DOI: 10.1002/jcp.24245]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



医用胶栓塞兔肝门静脉的效果

蒋天鹏, 王黎洲, 李兴, 宋杰, 吴晓萍, 周石

蒋天鹏, 王黎洲, 李兴, 宋杰, 吴晓萍, 周石, 贵阳医学院附属医院放射科 贵州省贵阳市 550004

蒋天鹏, 副主任医师, 硕士, 主要从事外周介入的治疗与临床的研究。

作者贡献分布: 蒋天鹏与王黎洲对此文所作贡献均等; 此课题由蒋天鹏, 王黎洲及周石设计; 研究过程由蒋天鹏, 王黎洲, 李兴, 宋杰及吴晓萍操作完成; 数据分析由蒋天鹏完成; 本论文写作由蒋天鹏与王黎洲完成。

通讯作者: 周石, 教授, 主任医师, 550004, 贵州省贵阳市云岩区北京路, 贵阳医学院附属医院放射科. jttpp@sina.com

收稿日期: 2013-07-24 修回日期: 2013-08-30

接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-10-18

Portal vein embolization with medical adhesive in rabbits

Tian-Peng Jiang, Li-Zhou Wang, Xin Li, Jie Song, Xiao-Ping Wu, Shi Zhou

Tian-Peng Jiang, Li-Zhou Wang, Xin Li, Jie Song, Xiao-Ping Wu, Shi Zhou, Department of Radiology, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou Province, China

Correspondence to: Shi Zhou, Professor, Department of Radiology, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Beijing Road, Yunyan District, Guiyang 550004, Guizhou Province, China. jttpp@sina.com

Received: 2013-07-24 Revised: 2013-08-30

Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To evaluate the feasibility and efficacy of medical adhesive used as an embolic agent for portal vein embolization in rabbits.

METHODS: Twenty-six white rabbits were used in this study. In a preliminary experiment, 14 rabbits were randomly divided into 7 groups to perform embolization of portal branches by injecting 0.01 mL mixture of medical adhesive and lipiodol (ratio: 1:1 to 1:5, 1:0, and 0:1) via the portal trunk in a stable velocity. Subsequently, the remaining 12 rabbits were randomly divided into two groups to perform embolization of the first or second branch of the portal vein. Before and after the operation (from d1 to d14), hepatic and renal function was examined, CT and portal angiography were performed, and specimens were pathologically examined after the rabbits were sacrificed.

RESULTS: In the preliminary experiment, 1:1 and 1:2 ratios were associated with obvious wall adhesion, embolization from the trunk to the first branch of the portal vein, and severe reactions in rabbits; 1:3 ratio was associated with obvious wall adhesion, embolization from the first to second branches of the portal vein, and moderate reactions in rabbits; 1:4 and 1:5 ratios were associated with embolization no more than the second branch of the portal vein and mild reactions in rabbits, without obvious wall adhesion. For the 1:4 ratio, the volume of injected mixture was 0.15 mL *via* the trunk of the portal vein, 0.02 mL *via* the first branch, and 0.01 mL *via* the second branch. Portal angiography revealed that acute, complete embolism occurred in all ratios except the 0:1 ratio. Gaseous necrosis occurred 1 week after embolism, and embolic vessels remained occluded after 2 wk. Computer tomography (CT) revealed persistent presence of high-density shadow in occluded veins, and the density of the corresponding liver area gradually became low in 1-2 wk. Macroscopically, the changes were not obvious in the early stage, but the embolic regions swelled and became dark later. Microscopically, many levels of the portal vein were filled with the mixture and secondary thrombi. Hepatocyte necrosis and inflammatory cell infiltration were noted in the occluded area in the early stage, and inflammatory fibrotic hyperplasia occurred later. After the procedure, transient elevation of alanine aminotransferase (ALT), aspartate amino-transferase (AST), blood urea nitrogen (BUN) and CER was found in all rabbits. ALT and AST rose on d1, reached the peak on d7, and returned to the initial level on d14. BUN and CER rose on d1 and returned to the initial level on d7.

CONCLUSION: Medical adhesive can be used as an effective and safe liquid embolic agent for portal vein embolization in rabbits.

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

Key Words: Portal vein; Embolization; Medical adhesive; Animal; Experimental

■背景资料

门静脉栓塞术(port vein embolization, PVE)主要用于原发性或转移性肝癌的术前栓塞或非手术患者行姑息性肝动脉门静脉联合化疗。对栓塞材料的研究,是获得良好的门静脉栓塞效果的关键。

■同行评议者

杨家和, 教授, 中国人民解放军第二军医大学附属东方肝胆外科医院综合治疗三科

■ 研发前沿

本实验将医用胶与超液态碘油与按不同比例配制的混合剂作为液体栓塞剂, 选择性栓塞兔门静脉主干或分支, 探讨医用胶在兔门静脉栓塞中的可行性及有效性, 为其在临床应用提供实验依据。

Jiang TP, Wang LZ, Li X, Song J, Wu XP, Zhou S. Portal vein embolization with medical adhesive in rabbits. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3047-3052 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3047.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3047>

摘要

目的: 探讨医用胶在兔肝门静脉栓塞中的可行性及有效性。

方法: 26只大白兔, 先取14只随机分7组, 每组2只, 将医用胶与超液化碘油分别按1:0、1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、0:1比例配置, 于门静脉主干内, 按固定总量, 匀速、缓慢推注, 观测黏管程度、栓塞范围及兔反应等。再取12只, 随机分为2组, 每组6只, 按最佳预实验数据结果栓塞兔门静脉一级、二级分支, 栓前及栓后第1、7、14天分别查肝、肾功能, 栓后行血管造影、CT扫描及病理学检查。

结果: 预实验中, 总量0.01 mL栓塞剂注入兔肝门静脉主干后, 纯胶组门静脉主干即刻闭塞, 导管黏附于血管, 兔很快死亡; 1:1组及1:2组易黏管, 栓塞区域主要为门静脉主干-一级分支, 兔反应较重; 1:3组不易黏管, 栓塞区域为门静脉一级-二级分支, 兔反应一般-明显; 1:4组及1:5组不易黏管, 栓塞区域主要为门静脉二级分支及以下, 兔反应较轻; 纯碘油组不黏管, 栓塞区域主要为门静脉二级分支以下, 兔基本无栓塞反应。栓塞剂总量: 兔门静脉主干约0.15 mL左右, 一级分支约0.02 mL左右, 二级分支约0.01 mL左右。门静脉造影: 所有组均可见相应血管的急性、完全性闭塞, 闭塞率为100%, 2 wk内复查除纯碘油组外未见明显再通。CT扫描: 栓塞胶后相应门静脉血管内铸型高密度影持续存在, 栓塞区肝脏密度逐渐降低, 并可见点状积影。组织学检查, 肉眼观察: 栓塞后局部肿胀变暗。光镜示: 门静脉血管内栓塞剂并继发血栓形成持续存在, 栓塞区肝脏组织坏死; 早期不同程度的炎症细胞浸润, 后期炎性纤维组织增生。丙氨酸转氨酶、谷草转氨酶于栓后1 d开始升高, 7 d达高峰, 14 d降至正常; 血尿素氮、CER于栓后1 d开始上升, 至7 d已降至正常。

结论: 医用胶是一种有效、安全、良好的兔肝门静脉液体栓塞剂, 可以选择性栓塞兔门静脉主干及一、二级分支, 栓塞效果较好, 价格低廉且制备容易, 值得临床进一步研究。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 门静脉; 栓塞; 医用胶; 动物; 实验性

核心提示: 医用胶与超液化碘油混合时, 超液化碘油既可稀释医用胶, 又可使其在透视下显影, 在栓塞过程中可密切监视栓塞情况。通过栓塞前后门静脉造影图像对比, 我们可发现医用胶的浓度越大, 栓塞的门静脉分支越大, 但浓度越大发生黏管及返流的风险亦相应增加, 实验结果证实血管内栓塞效果良好, 未见明显再通。一般门静脉栓塞浓度最好<1:3, 推荐选择浓度为1:4-1:5更易控制。

蒋天鹏, 王黎洲, 李兴, 宋杰, 吴晓萍, 周石. 医用胶栓塞兔肝门静脉的效果. *世界华人消化杂志* 2013; 21(29): 3047-3052 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3047.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3047>

0 引言

门静脉栓塞术(port vein embolization, PVE)主要用于原发性或转移性肝癌的术前栓塞或非手术患者行姑息性肝动脉门静脉联合化疗。对栓塞材料的研究, 是获得良好的门静脉栓塞效果的关键。目前国内外常用的门静脉栓塞剂有: 无水乙醇、明胶海绵颗粒、弹簧圈、白芨胶等。无水乙醇作用部位主要为末梢血管, 大血管继发性闭塞^[1,2], 是一种良好的血管栓塞剂和组织坏死剂, 但易返流且剂量不易控制, 极易误栓。而其他一些常见黏性液体栓塞剂容易黏管, 常引起血管损伤, 并发症多、风险大; 且常有血管毒性, 部分甚至可致癌; ONIX胶需专用导管, 价格昂贵; 以上种种情况制约了其在临床的广泛应用。医用胶具有黏接强度大、扩散性能好、聚合热低、白化现象轻、聚合体韧性好等特点, 并且性能稳定, 无毒, 无致畸、致癌等毒性^[3], 价格相对低廉, 可配合适当比例的超液态碘油, 具备了作为血管内栓塞剂的初步条件。国内目前已有使用医用胶栓塞犬的肠系膜及胃网膜静脉支血管的实验研究, 尚未见用于门静脉栓塞的研究报导。本实验将医用胶与超液态碘油与按不同比例配制的混合剂作为液体栓塞剂, 选择性栓塞兔门静脉主干或分支, 探讨医用胶在兔肝门静脉栓塞中的可行性及有效性, 为其在临床应用提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料 健康大白兔22只, 体质量、兔龄均相仿、雌雄不限(贵阳医学院动物实验中心提供)。改制的18G血管穿刺针, 改制的2.7F同轴微导管系统(微导管及微导丝), 颈静脉切开包, 1、5、

表 1 按不同比例分组配置的医用胶于门静脉主干推注的情况

分组	黏管程度	分布区域	血管再通情况	兔机体反应
纯胶组	黏管, 且紧密	主干	无	死亡
1:1组	极易黏管, 且紧密	主干	无	较重, 易死亡
1:2组	黏管, 但不紧	主干、一级分支	无	较重
1:3组	稍黏管	一级-二级分支	无	一般-明显
1:4组	不易黏	一级-二级分支	无	较轻-一般
1:5组	不易黏	二级分支及以下	无	较轻
纯碘油组	不黏	二级分支以下	有	极轻微

■ 相关报道

医用胶价格相对低廉, 可配合适当比例的超液态碘油, 具备作为血管内栓塞剂的初步条件。国内目前已有使用医用胶栓塞犬的肠细膜及胃网膜静脉支血管的实验研究, 尚未见用于门静脉栓塞的研究报导。

10 mL注射器。德国SIEMENS AXIOM Artis型数字减影血管造影机, 美国GE Hispeed/ I 型CT机, 石蜡切片机, 光学显微镜, 多媒体彩色病理图文分析系统。涂抹型医用胶, 规格: 0.5 mL/套, 批号: 20070829; 超液化碘油注射液, 规格: 10 mL, 批号: 06LU006A; 碘普罗胺注射液370, 规格: 100 mL: 37 g/L, 批号: 1000367; 盐酸氯胺酮注射液, 规格2 mL: 0.1 g, 批号: KH070401; 肝素钠注射液, 规格2 mL: 1.25万单位。

1.2 方法

1.2.1 预实验: 取14只大白兔随机分为7组, 每组2只, 将医用胶与超液化碘油分别按1:0、1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、0:1比例配置后(以下简称纯胶组、1:1组、1:2组、1:3组、1:4组、1:5组、纯碘油组), 将微导管头端置于门静脉主干处, 按固定总量、匀速、缓慢推注, 观测栓塞剂大致聚合时间、黏管程度、分布范围等。

1.2.2 正式实验: 取12只大白兔, 按门静脉一级、二级分支血管为靶血管, 随机分为2组, 每组6只, 按预实验获得的数据, 将医用胶与超液化碘油按固定的比例(1:4)及速度, 分别行血管栓塞。

1.2.3 手术: (1)术前准备: 所有兔术前禁食, 仰卧固定于手术台上, 用氯胺酮1 mL+NS 5 mL经耳缘静脉注入麻醉, 然后再予氯胺酮2 mL+5%GS 150 mL持续静脉滴注维持^[4,5], 于腹部剑突下备皮, 常规消毒铺巾; (2)动脉插管: 再次消毒皮肤后逐层切开腹壁, 暴露门静脉主干, 以穿刺针直接穿刺门静脉主干后, 引入微导管于门静脉主干行门静脉造影; 再在微导丝的配合下, 超选择性插管至门静脉分支内; (3)栓塞: 插管到位后用固定比例配置的医用胶与超液化碘油乳剂以恒定速度注入, 在透视下严密监视, 严防栓塞剂返流。栓塞结束后用5%葡萄糖水冲管, 将微导管退至门静脉主干, 再次行门静脉血管造影证实

栓塞效果; (4)术后即刻、1、2 wk每组各取2只行血管造影及CT扫描后, 分批处死兔, 取出肝脏观察大体标本, 然后以40 g/L甲醛固定, 送组织切片(HE染色)行病理学检查观察肝脏细胞坏死情况及门静脉血管栓塞情况。栓塞前麻醉后抽兔耳缘静脉血查兔血基础肝、肾功能, 术后1、7、14 d复查血肝、肾功能。

统计学处理 使用SPSS11.5统计软件, 配对t检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 预实验结果 总量0.01 mL栓塞剂于门静脉主干按不同比例分组推注情况见(表1)。根据兔体型及兔门静脉血流速度较慢的特点, 发现兔门静脉栓塞所需栓塞剂量如下: 主干约0.15 mL左右, 一级分支约0.02 mL左右, 二级分支约0.01 mL左右。栓塞总体速度要很慢, 要在透视监护下缓慢进行, 不可过快。浓度越高者(1:1组-1:2组), 由于栓塞黏滞程度大, 栓塞时阻力大, 越易因用力过大而出现返流误栓非靶血管, 更需注意; 而浓度较稀者(1:4组-1:5组), 一般不易返流, 较容易控制。

2.2 正式实验结果 根据预实验结果: 本实验选择浓度适宜、不易黏管的1:4比例行栓塞, 同时由于栓塞门静脉主干后兔反应重, 易死亡, 后超选择性插管后栓塞门静脉一级、二级分支。门静脉一级分支栓塞剂用量约为0.02 mL, 二级分支栓塞剂用量约为0.01 mL。共用兔12只, 栓塞门静脉一级组6只, 栓塞门静脉二级组6只, 所有兔均成功栓塞, 成功率100%。

2.2.1 门静脉造影: 所有靶血管均急性、完全性闭塞, 闭塞率为100%。栓塞后即刻、1、2 wk复查除纯碘油组未见明显再通(图1)。

2.2.2 CT扫描: 栓塞后急行CT常规扫描可见相应靶血管内铸型高密度影, 相应供血部位肝组织

■创新盘点

该项研究整体来看有新意,实验设计合理,医用胶作为血管栓塞剂已经用于临床,但其弊端,如黏管性令人担忧,本作者将医用胶用于门静脉栓塞,并与超液化碘油以适当比例混合,既减少黏管性,又可达到栓塞结果,并可在透视下监测。

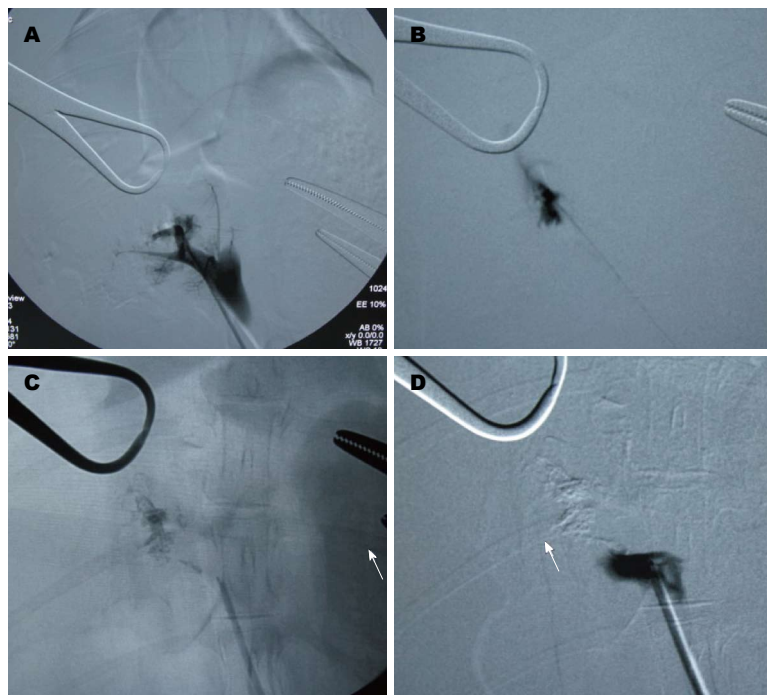


图1 肝门静脉造影图. A: 门静脉血管,微导管头端位于二级门静脉分支内; B: 门静脉二级分支血管; C: 门静脉二级分支栓塞后,其内透视可见铸型高密度栓塞剂影; D: 门静脉二级分支栓塞后,可见靶血管及其分支完全闭塞,造影剂返流。

表2 医用胶栓塞兔子肝门静脉前后肾功能的情况

肾功能项目	栓塞前	栓塞后1 d	栓塞后7 d	栓塞后14 d
ALT(U/L)	35.10 ± 1.10	64.30 ± 7.60	295.50 ± 19.40	37.29 ± 1.56
AST(U/L)	46.30 ± 2.40	67.60 ± 6.30	182.70 ± 10.60 ^a	47.45 ± 1.98
BUN(mmol/L)	8.00 ± 1.46	10.25 ± 1.97	8.52 ± 1.85	8.37 ± 1.65
Cr(μmol/L)	94.50 ± 2.14	101.36 ± 2.86	97.28 ± 2.36	95.32 ± 2.25

^a $P < 0.05$ vs 栓塞前。

密度降低不明显。栓塞后一段时间后复查示: 门静脉内铸型高密度影持续存在, 相应供血部位肝组织密度明显降低, 并可见气体密度影。

2.2.3 组织学检查: 肉眼观察: 栓塞后早期改变不明显, 其后局部组织逐渐肿胀, 色泽变暗。光镜下观察: 早期可见多级门静脉及部分中央静脉内碘化油及福爱乐医用胶混合栓塞物并继发血栓形成, 栓塞区肝脏组织坏死, 肝细胞水肿, 胞浆疏松; 早期栓塞区周围炎症反应不明显, 其后可见不同程度的炎症细胞浸润, 2 wk后可见炎性纤维组织增生; 血管内持续可见大量碘化油及医用胶混合物并继发血栓形成, 未见明显血管再通。

2.2.4 医用胶栓塞兔子肝门静脉前后肾功能的变化: 本组肾功能检查提示栓塞后1 d开始出现肝功能损害, 7 d时达到高峰, 而14 d时接近基础肝功能, 本组肾功能损伤较轻且很快恢复正常(表2)。

3 讨论

门静脉插管栓塞主要用于原发性或转移性肝癌的外科术前栓塞或非手术病例行姑息性肝动脉和门静脉联合化疗栓塞术^[6-10]。对于术前栓塞的患者, 栓塞部分门静脉分支后, 可使病变区肝脏组织萎缩, 瘤体缩小, 且非栓塞区肝脏组织性增生, 从而扩大了手术切除的范围与适应症; 还可避免术中门静脉压力下降致肝组织灌注不足发生急性肝细胞损害或术后过度增生导致的代谢异常, 提高手术耐受程度, 减少术后并发症的发生率^[11,12]; 对于非外科手术治疗患者, 一方面较大原发性肝癌病灶周围常为门静脉供血; 而转移行肝癌则多由门静脉供血; 单纯行肝动脉化疗栓塞的效果较差, 且术后更容易转移和复发。因此, 对肝脏肿瘤行肝动脉与门静脉联合化疗栓塞术不仅能够更彻底的治疗肝内肿瘤病灶, 还可防止和减少肿瘤的复发及转移机会, 同时还可兼顾门静脉内癌栓的治疗。

医用胶最早是1978年由田霞和卢永顺等利用高碳酯可以改变低碳酯的性能的特点,用 α -氰基丙烯酸正辛酯(N-octyl- α -Cyanoacrylate, NOCA)改变 α -氰基丙烯酸正丁酯(n-butyl- α -cyanoacrylate, NBCA)的性能发明而成. 其成分99%以上的为 α -氰基丙烯酸甲氧基乙酯、 α -氰基丙烯酸正辛酯、 α -氰基丙烯酸正丁酯. 广泛用于术中止血、黏合、封闭、栓塞堵漏. 西安交通大学附属第二医院对用医用胶栓塞16条犬的肠系膜及胃网膜的静脉支进行病理观察,发现1-4 d出现无菌性炎性反应,1 wk减轻,2 wk明显减轻,静脉内膜增生组织向管腔内伸展,将胶分割包围;3 wk后管壁纤维化,小静脉管腔呈纤维性闭塞,较大的静脉腔内仍残存被纤维组织包围的医用胶碎片,最长观察1年,属于永久性闭塞.

医用胶主要成分为NOCA、NBCA,目前上述两种医用胶作为血管内栓塞剂已在临床应用,但均有明显的黏附性,微导管有黏附于血管的危险,而且聚合时会放出热量. 我们通过预实验表明只要其与超液化碘油配比的浓度和注射速度适当,即可避免黏管,达到重复注射栓塞血管的目的. 与ONYX胶等非黏性液体栓塞剂相比,医用胶有可通过普通导管注射的优点;与无水乙醇相比医用胶可根据不同浓度配置栓塞不同级别的靶血管,而无水乙醇等只能栓塞末梢血管. 因而,医用胶作为液体栓塞剂,是完全可行的.

本组肝肾功能检查提示:栓塞后1 d开始出现肝功能损害,7 d时达到高峰,而14 d时接近基础肝功能,与国内报道门静脉栓塞后肝功能改变情况基本一致. 董宝玮等^[13]行大鼠门静脉栓塞后亦发现:栓塞后1 d肝转氨酶开始升高,1 wk后开始下降,2 wk时基本接近正常. 国内万智勇等^[14]用白芨微球及无水乙醇栓塞兔门静脉后行肝功能检查示一般栓塞后1 d开始出现肝功能损害,5 d左右达到高峰,而2 wk后一般均可回复正常. 吴晓风等^[15]用DTH胶对大鼠行选择性门静脉栓塞后认为:栓塞后肝功能呈一过性改变,表现为术后1 d转氨酶(ALT、AST)升高,第3天开始下降,第14天回复正常;董宝玮等^[13]用NBCA栓塞大鼠门静脉后认为:栓塞后1 d肝转氨酶开始升高,1 wk后开始下行大鼠门静脉栓塞后亦发现:栓塞后1 d肝转氨酶开始升高,1 wk后开始下降,2 wk时基本接近正常. 本组肾功能损伤较轻且很快恢复正常,不排除系造影剂的肾毒性作用所

致.

万智勇等^[14]认为:只要注意控制栓塞的范围,一般不超过3个肝段,门静脉栓塞一般均安全. 本组观察兔饮食、体力、活动等一般情况,仅栓塞后1 d稍差,其后均较正常. 在实验早期曾发生兔死亡,其原因如下:(1)麻醉过深导致死亡;(2)栓后止血不完全致持续腹腔内出血死亡;(3)早期栓塞时剂量过大导致门静脉主干急性完全闭塞而死亡,后期行相应调整后未再出现类似情况. 故只要解决好麻醉、止血及控制栓塞范围等细节,兔门静脉栓塞是安全的.

由于医用胶在37℃的水中,由亲水状态转变为疏水状态的时间很短,所以在注射栓塞剂时需要掌握一定的技巧,以防栓塞剂在输送微导管内过早沉淀而堵塞微导管,影响手术的进行. 我们总结体外模拟栓塞实验及早期预实验的经验,采用以下操作方法:(1)在注射前用适量生理盐水冲洗微导管腔,尽量降低微导管壁及腔内的温度,尽可能地延长共聚物在微导管腔内的相转变时间;(2)在注射前后及时予适量5%GS冲洗微导管腔,以防止栓塞剂在微导管内或导管口周围沉淀,引起导管堵塞或导管黏附于血管壁上;(3)栓塞时要注意控制栓塞剂总量,一般栓塞剂总量:兔门静脉主干约0.15 mL左右,一级分支约0.02 mL左右,二级分支约0.01 mL左右. 栓塞剂量由少逐渐增多,宁少勿多,可逐步增加,多次栓塞,避免一次用量过大,误栓塞其他血管或黏管;(4)栓塞时要注意控制不同配置比例栓塞剂的推注速度,一般均采用1 mL的注射器,总体速度要很慢,在透视监护下缓慢进行,宁愿一次不足,再重复补充,不可过快;防止返流,误栓非靶血管. 尤其高浓度组栓塞剂黏滞度大,栓塞时阻力大,越易用力过大而出现返流误栓非靶血管;(5)栓塞全程在透视下进行;(6)栓塞完后及时造影,防止栓塞不充分;(7)注意尽量减少动物实验损伤,掌握兔门静脉解剖位置,一般腹壁切口长约3-4 cm即可,必要时延长切口;术前禁食,减小胃腔容积,一方面减少麻醉风险,另一方面更易翻转胃及相应肠道,暴露门静脉;(8)术中减少门静脉穿刺次数. 尽量一次前壁穿刺成功,实验过程中注意保持导管及针位置,避免损伤门静脉血管壁或滑脱而需再次穿刺,加重创伤并不易止血. 拔管后压迫数分钟,一般能止血,必要时予适量医用胶涂抹穿刺点并周围留置明胶海绵;(9)术中注意无菌操作,严

■应用要点

医用胶通过与超液化碘油按不同比例配比后(推荐1:3-1:5),控制栓塞剂总量(门静脉主干约0.15 mL左右,一级分支约0.02 mL左右,二级分支约0.01 mL左右),利用超选择性插管技术,可以选择性栓塞门静脉主干及一、二级分支,其栓塞效果较好.

同行评价

本文出发点很好, 具有一定的新颖性, 具有一定指导意义。

格消毒, 腹壁切口逐层缝合, 并予绷带包扎, 减少感染机会, 必要时饮食中加抗生素。

我们的经验是: 医用胶与超液化碘油混合时, 超液化碘油既可稀释医用胶, 又可在透视镜下显影, 在栓塞过程中可密切监视栓塞情况。通过栓塞前后门静脉造影图像对比, 我们发现医用胶的浓度越大, 栓塞的门静脉分支越大, 但浓度越大发生黏管及返流的风险亦相应增加, 实验结果证实血管内栓塞效果良好, 未见明显再通。故一般门静脉栓塞浓度最好 $<1:3$, 推荐选择浓度为 $1:4-1:5$ 更易控制。而浓度再稀时, 虽可使聚合时间延长, 操作时间更加充裕; 但浓度过稀, 可能影响持久栓塞效果。

总之, 医用胶是一种有效、安全、良好的兔门静脉液体栓塞剂, 通过与超液化碘油按不同比例配比后(推荐 $1:3-1:5$), 控制栓塞剂总量(门静脉主干约 0.15 mL 左右, 一级分支约 0.02 mL 左右, 二级分支约 0.01 mL 左右), 利用超选择性插管技术, 可以选择性栓塞门静脉主干及一、二级分支, 其栓塞效果较好, 且价格低廉, 制备容易, 值得临床进一步研究。

参考文献

- Jungreis CA. Skull-base tumors: ethanol embolization of the cavernous carotid artery. *Radiology* 1991; 181: 741-743 [PMID: 1947090]
- Sadato A, Numaguchi Y, Taki W, Iwata H, Yamashita K. Nonadhesive liquid embolic agent: role of its components in histologic changes in embolized arteries. *Acad Radiol* 1998; 5: 198-206 [PMID: 9522886 DOI: 10.1016/S1076-6332(98)80284-5]
- 夏穗生, 田霞, 卢永顺. 新一代喷涂型福爱乐医用胶. 临床外科杂志 2003; 11: 120-121
- 郑占乐, 潘进社, 马利杰, 郝立净. 实验兔血管外科手术不同麻醉药物的比较. 河北医科大学学报 2008; 29: 384-387
- 李尧清, 杨小玲, 秦建琼, 田英. 氯胺酮在实验动物麻醉中的应用分析. 上海实验动物科学 2001; 21: 169-170
- Mao G, Yu Z, Zhang Y, Cheng J. Combined transcatheter arterial chemoembolization and beta-ultrasound guided portal vein embolization in the treatment of hepatocellular carcinoma. *Zhonghua Zhongliu Zazhi* 2002; 24: 391-393 [PMID: 12408773]
- Bartolozzi C, Lencioni R, Caramella D, Vignali C, Cioni R, Mazzeo S, Carrai M, Maltinti G, Capria A, Conte PF. Treatment of large HCC: transcatheter arterial chemoembolization combined with percutaneous ethanol injection versus repeated transcatheter arterial chemoembolization. *Radiology* 1995; 197: 812-818 [PMID: 7480761]
- Kamada K, Kitamoto M, Aikata H, Kawakami Y, Kono H, Imamura M, Nakanishi T, Chayama K. Combination of transcatheter arterial chemoembolization using cisplatin-lipiodol suspension and percutaneous ethanol injection for treatment of advanced small hepatocellular carcinoma. *Am J Surg* 2002; 184: 284-290 [PMID: 12354601 DOI: 10.1016/S0002-9610(02)00933-9]
- Tanaka H, Hirohashi K, Kubo S, Shuto T, Higaki I, Kinoshita H. Preoperative portal vein embolization improves prognosis after right hepatectomy for hepatocellular carcinoma in patients with impaired hepatic function. *Br J Surg* 2000; 87: 879-882 [PMID: 10931022 DOI: 10.1046/j.1365-2168.2000.01438.x]
- Inaba S, Takada T, Amano H, Yoshida M, Yamakawa Y, Yasuda H, Takada Y, Takeshita K, Koutake H, Takada K, Furui S, Hijikata H, Takada K. Combination of preoperative embolization of the right portal vein and hepatic artery prior to major hepatectomy in high-risk patients: a preliminary report. *Hepatogastroenterology* 2000; 47: 1077-1081 [PMID: 11020883]
- 刘海, 彭永红, 杨作衡, 王国雄, 汤鹏. 术前门静脉栓塞提高肝癌手术切除率. 中华普通外科杂志 2004; 9: 583
- 嵇武, 马宽生, 董家鸿, 黄晓兰, 何振平. 术前选择性门静脉栓塞在肝癌二期切除中的应用. 中华肝胆外科杂志 2003; 348-350
- 董宝玮, 梁萍, 罗渝昆, 于晓玲, 苏莉, 于德江. 大鼠门静脉穿刺 α -氰基丙烯酸正丁酯栓塞的实验研究. 中华超声影像学杂志 2001; 10: 494-497
- 万智勇, 冯敢生, 梁惠民, 郑传胜, 张贵祥, 缪竟陶. 白芨微球与无水乙醇行兔门静脉栓塞的实验研究. 临床放射学杂志 2004; 23: 908-912
- 吴晓风, 樊嘉, 林芷英, 纪元. 大鼠选择性门静脉栓塞的实验研究. 中国微循环 2000; 4: 218-220

编辑 田滢 电编 鲁亚静



shRNA沉默MRE11表达对肝癌耐药细胞BEL7402/5-FU DNA损伤修复的影响

范芳, 耿磊, 李大玉, 李长福

范芳, 耿磊, 李大玉, 李长福, 遵义医学院生化教研室 贵州省遵义市 563099

范芳, 副教授, 主要从事肿瘤分子生物学的研究.

贵州省科技基金资助项目, No. [2009]3066

遵义市红花岗区科技基金资助项目, No. (2009)18

作者贡献分布: 课题由范芳与耿磊设计; 研究过程由范芳、耿磊及李大玉完成; 研究试剂由李大玉提供; 数据分析由范芳、耿磊及李长福完成; 论文写作由范芳与耿磊完成.

通讯作者: 范芳, 副教授, 563099, 贵州省遵义市大连路201号, 遵义医学院生化教研室. fanf1970@126.com

电话: 0852-8609445

收稿日期: 2013-07-24 修回日期: 2013-08-09

接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-10-18

ShRNA-mediated MRE11 gene silencing inhibits DNA repair in multidrug-resistant hepatocellular carcinoma cell line BEL7402/5-FU

Fang Fan, Lei Geng, Da-Yu Li, Chang-Fu Li

Fang Fan, Lei Geng, Da-Yu Li, Chang-Fu Li, Department of Biochemistry, Zunyi Medical College, Zunyi 563099, Guizhou Province, China

Supported by: the Scientific Research Foundation of Guizhou Province, No. [2009]3066; and the Foundation of Science and Technology Bureau of Zunyi, No. (2009)18

Correspondence to: Fang Fan, Associate Professor, Department of Biochemistry, Zunyi Medical College, 201 Dalian Road, Zunyi 563099, Guizhou Province, China. fanf1970@126.com

Received: 2013-07-24 Revised: 2013-08-09

Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To investigate the effect of shRNA-mediated MRE11 gene silencing on cell proliferation and apoptosis in multidrug-resistant hepatocellular carcinoma cell line BEL7402/5-FU.

METHODS: A shRNA targeting the MRE11 gene was transiently transfected into BEL7402/5-FU cells using cathodolyte liposomes. Silencing efficiency was assessed using Real-time PCR and Western blot. The protein expression of γ -H2AX was detected by Western blot. Cellular DNA synthesis was detected by EdU. Cell proliferation was assessed by MTT assay.

RESULTS: Real-time PCR and Western blot results showed that the efficiency of RNA interference for MRE11 was 78.0% at the mRNA level and 56.1% at the protein level. Western blot analysis demonstrated that γ -H2AX expression was significantly higher in the shMRE11 group than in the control group (1.04 ± 0.056 vs 0.847 ± 0.025 , $P < 0.05$, $t = 10.78$). DNA synthesis was significantly decreased in the shMRE11 group compared with the control group (38.819 ± 2.607 vs 49.814 ± 1.227 , $P < 0.05$, $t = -8.87$). The proliferation rate was significantly lower in the shMRE11 group than in the control group (0.58 ± 0.08 vs 0.87 ± 0.09 , $P < 0.05$, $t = -50.2$).

CONCLUSION: ShRNA-mediated MRE11 gene silencing effectively inhibit DNA repair and proliferation of BEL7402/5-FU cells.

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

Key Words: MRE11; RNA interference; BEL7402/5-FU; Cell proliferation; Apoptosis

Fan F, Geng L, Li DY, Li CF. ShRNA-mediated MRE11 gene silencing inhibits DNA repair in multidrug-resistant hepatocellular carcinoma cell line BEL7402/5-FU. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3053-3058 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3053.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3053>

摘要

目的: 观察shMRE11沉默MRE11基因对肝癌耐药细胞Bel7402/5-FU DNA损伤修复功能的影响.

方法: 采用阳离子脂质体法将shMRE11干扰质粒转染BEL7402/5-FU细胞, Real-time PCR及Western blot检测沉默效率; Western blot检测细胞 γ -H2AX蛋白表达; EdU法检测细胞DNA合成; MTT法检测细胞增殖情况.

结果: Real-time PCR及Western blot检测结果显示MRE11 mRNA及蛋白水平的沉默效

■背景资料

原发性肝癌是我国最常见也是公认危害最大的恶性肿瘤之一, 其发病率及死亡率非常高. 肝癌的高复发率、低切除率决定了化疗在综合治疗中的重要地位, 但易产生多药耐药. 肿瘤的耐药性已成为肿瘤有效治疗的一大难题, 不仅大大降低了化疗效果, 而且有可能导致肿瘤的转移, 使肿瘤进一步恶化.

■同行评议者

秦建民, 主任医师, 上海中医药大学附属普陀医院普外科

■ 研究前沿

肿瘤产生多药耐药的机制复杂,是患者机体本身和肿瘤细胞恶性程度及肿瘤生长微环境等在不同的生理及病理状态下多种因素共同存在、共同作用的结果。DNA一直是肿瘤治疗的重要靶点,DNA损伤的自我修复机制增强可导致肿瘤细胞产生耐药性。如何诱导肿瘤细胞DNA损伤,阻止DNA损伤的修复,进而使肿瘤细胞凋亡与坏死,是肿瘤治疗研究中的重点。

率分别为78.0%、56.1%; Western blot检测 γ -H2AX表达结果显示shMRE11实验组(1.04 ± 0.056)较对照组(0.847 ± 0.025)增加($P < 0.05$, $t = 10.78$); EdU检测结果显示shMRE11实验组DNA合成率(38.819 ± 2.607)较对照组(49.814 ± 1.227)降低($P < 0.05$, $t = -8.87$); MTT细胞增殖检测结果显示转染72 h后shMRE11实验组(0.58 ± 0.08)与对照组(0.87 ± 0.09)相比细胞增殖速度减慢($P < 0.05$, $t = -50.2$)。

结论: shMRE11干扰质粒能够有效抑制BEL7402/5-FU细胞中MRE11表达,使细胞DNA损伤修复能力减弱、抑制细胞增殖。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 减数分裂重组蛋白11; RNA干扰; BEL7402/5-FU; DNA损伤修复;

核心提示: 转染靶向MRE11的shRNA干扰质粒能增加化疗药物对耐药细胞造成的损伤,使DNA损伤修复功能减弱,增加药物对细胞的损伤程度;对细胞的生物学行为产生影响,使细胞增殖速度减慢,MRE11的沉默能够降低BEL7402/5-FU细胞的耐药性。

范芳, 耿磊, 李大玉, 李长福. shRNA沉默MRE11表达对肝癌耐药细胞BEL7402/5-FU DNA损伤修复的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3053-3058 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3053.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3053>

0 引言

原发性肝癌是临床常见的恶性肿瘤之一,其发病机制和病因尚不明确。DNA双链断裂(double-stranded breaks, DSBs)是细胞最严重的一种损伤,可导致细胞失去分裂增殖能力而死亡,是抗癌药物致肿瘤细胞死亡主要机制。Meiotic recombination 11(MRE11)是参与DNA损伤修复的MRN复合物的重要组分,在DSBs修复中发挥重要作用^[1],不仅是DNA损伤的感受器,更是修复DNA的启动因子,还能修饰受损的DNA分子^[2,3]。本文将shMRE11转染肝癌耐药细胞株BEL7402/5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU),通过检测MRE11沉默对细胞DNA损伤修复的影响,初步探索MRE11与肝癌发生的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 BEL7402/5-FU细胞株购自南京凯基生物科技发展有限公司, piGENE-PUR-hu6-

MRE11shRNAi质粒由北京大学医学部贾弘褪教授馈赠; Lipofectamine™2000购自Invitrogen公司; MRE11、 γ -H2AX抗体购自ABGENT公司; EdU检测试剂盒购自广州市锐博生物科技有限公司; MTT购自Solarbio公司; 其余试剂均为国产分析纯试剂。

1.2 方法

1.2.1 BEL7402/5-FU细胞的培养: 将BEL7402/5-FU细胞于含10%胎牛血清、20 μ g/mL 5-FU的DMEM培养液, 37 $^{\circ}$ C、5%CO₂饱和湿度条件下培养。细胞贴壁生长, 每天换液1次, 2-3 d传代一次, 取对数生长期细胞用于实验。

1.2.2 实验分组与质粒转染: 实验分为4组: 空白对照组、脂质体组、空质粒组、shMRE11实验组。将BEL7402/5-FU细胞接种于24孔培养板, 每孔接种细胞 2×10^4 个左右, 当细胞融合度达到80%左右时吸去各孔中的培养液, 将质粒-脂质体复合物加至相应培养孔中, 每孔100 μ L, 6 h后换液。

1.2.3 Real-time PCR检测MRE11 mRNA水平的表达: 细胞总RNA的提取按RNAiso Plus试剂盒说明书进行, Real-time PCR引物: MRE11上游5'-GTGGACAAGGAGGAGAAAGATG-3'; 下游3'-TACTTCAGGCACTCCGATACTG-5', 扩增片段长度为188 bp。 β -actin上游5'-TGGCACCCAGCACAATGAA-3'; 下游3'-CTAAGTCATAGTCCGCCTAGAAGCA-5', 扩增片段长度为232 bp。

各组样品MRE11 mRNA表达量经Real-time PCR仪器检测, PCR^①作熔解曲线分析, 根据Ct值通过公式 $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ 进行相对定量分析计算可得MRE11 mRNA相对表达量。

1.2.4 Western blot检测MRE11、 γ -H2AX蛋白表达: 用预冷PBS将各组细胞漂洗2次, 加入1 mL蛋白裂解液充分裂解, 4 $^{\circ}$ C, 12000 r/min离心5 min, 提取细胞总蛋白。按BCA蛋白含量检测试剂盒步骤制作标准曲线, 计算样品蛋白浓度。取30 μ g蛋白样品与上样缓冲液混匀, 以SDS-PAGE电泳(MRE11测定用12%分离胶、5%积层胶, MRP1测定用8%分离胶、4%积层胶), 80 V约4 h。电泳完后取下凝胶, 电转至PVDF膜, 用5%的脱脂奶粉室温摇床封闭1 h。加入MRE11(稀释比例1:200)、 γ -H2AX(稀释比例1:2000)一抗, 37 $^{\circ}$ C孵育2 h, TBST洗膜3次。二抗37 $^{\circ}$ C孵育1 h, TBST洗膜3次, ECL发光显色。用Quantity One定量分析软件分析灰度比。

1.2.5 MTT法检测细胞增殖情况: 取BEL7402/5-

表 1 各组细胞MRE11 mRNA相对表达量 (mean \pm SD, $n = 3$)

分组	MRE11 mRNA水平(Ct值)	β -actin mRNA水平(Ct值)	相对倍数变化($2^{-\Delta\Delta Ct}$)
空白对照组	23.027 \pm 0.051	15.063 \pm 0.101	1.000 \pm 0.000
脂质体组	22.837 \pm 0.193	15.010 \pm 0.262	1.100 \pm 0.043
质粒对照组	22.983 \pm 0.180	14.930 \pm 0.275	1.275 \pm 0.261
实验组	25.443 \pm 0.541 ^b	15.263 \pm 0.146	0.220 \pm 0.059 ^b

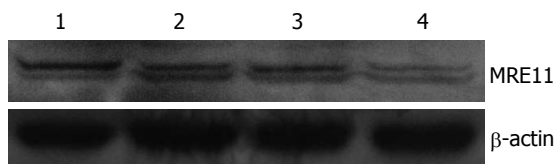
^b $P < 0.01$ vs 空白对照组.

图 1 各组细胞MRE11蛋白的表达. 1: 空白对照组; 2: 脂质体组; 3: 质粒对照组; 4: shMRE11实验组.

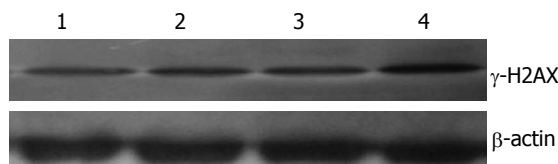


图 2 各组细胞γ-H2AX蛋白的表达. 1: 空白对照组; 2: 脂质体组; 3: 质粒对照组; 4: shMRE11实验组.

FU细胞制成细胞悬液, 接种于96孔培养板中, 共分4组, 各组设3个复孔, 每孔加量为200 μ L, 同时种3块96孔板. 各组分别于培养24、48、72 h后取出一块培养板, 各孔加入180 μ L无血清培养液、20 μ L MTT(0.5%), 继续培养4 h后弃上清, 每孔加150 μ L二甲基亚砷(DMSO), 摇床低速震荡10 min, 全自动酶标仪(490 nm)测定各孔吸光度值. 以培养时间为横坐标, 吸光度值为纵坐标, 绘制细胞生长曲线.

1.2.6 EdU法检测细胞DNA合成情况: 转染48h后将细胞按照广州锐博EdU检测试剂盒说明书进行操作, 荧光倒置显微镜下观察细胞并拍照, 蓝色荧光由绿光激发, 红色荧光由紫光激发. 每组取5个视野, 计数相同视野下EdU标记细胞及总细胞数, 计算DNA合成率.

统计学处理 以上实验均重复3次, 采用SPSS18.0软件包进行统计学分析, 实验数据以mean \pm SD表示. 对样本进行正态和方差齐性检验, 满足条件者, 多组间的均数比较采用单因素方差分析, 均数的两两比较采用LSD法, 两组间比较采用 t 检验. $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义, $P < 0.01$ 为差异有显著统计学意义.

2 结果

2.1 MRE11 mRNA水平表达检测 实验结果使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行分析, 结果显示(表1): 空白对照组、脂质体组、质粒对照组MRE11 mRNA表达无明显差异($P > 0.05$), shMRE11实验组MRE11 mRNA的表达较对照组明显下调($P < 0.01$). 通过计算得

到MRE11 mRNA水平的沉默效率为78.0%.

2.2 Western blot检测MRE11、 γ -H2AX蛋白水平表达 转染48 h后收集各组细胞, 提取总蛋白, Western blot检测转染后各组细胞MRE11、 γ -H2AX蛋白表达变化. 结果显示: 空白对照组、脂质体组、质粒对照组表达无明显差异($P > 0.05$), shMRE11实验组MRE11蛋白表达下降, 与对照组比较差异具有统计学意义($P < 0.01$), 计算得到MRE11蛋白水平的沉默效率为56.1%(表2, 图1); 与对照组相比shMRE11实验组 γ -H2AX蛋白表达增加($P < 0.05$). 提示MRE11的沉默能够增加化疗药物对肝癌耐药细胞BEL7402/5-FU DNA造成的损伤(表3, 图2).

2.3 MTT法检测细胞增值 MTT检测结果显示(表4): 空白对照组、脂质体组、质粒对照组细胞生长曲线差异不明显($P > 0.05$), 而shMRE11实验组细胞增殖能力降低, 与对照组相比, 差异具有统计学意义($P < 0.05$). 可见MRE11的沉默可抑制肝癌耐药细胞BEL7402/5-FU的增值.

2.4 EdU法检测各组细胞DNA合成情况 各组细胞转染48 h后按EdU试剂盒说明书操作步骤进行检测, 荧光显微镜下观察, 计算每组DNA合成细胞即EdU标记细胞占总细胞的百分比(%). 由实验结果(表5)可知, shMRE11实验组DNA合成率明显低于对照组($P < 0.05$). 空白对照组、脂质体组、质粒对照组DNA合成率无明显差异($P > 0.05$), 提示MRE11的沉默能够抑制BEL7402/5-FU细胞的DNA合成.

■创新盘点

有实验证明MRN复合物在DNA双链断裂的早期就能感知这种损伤, 发挥一系列的效应, 但是对MRN复合物的组分之一Mre11在DNA修复过程中作用的研究报道则不是很明确, 两者的关系有待进一步研究.

■应用要点

肝癌化疗耐药是临床治疗的难点,抑制DNA损伤修复基因的表达有望逆转化疗耐药,本课题采用RNA干扰抑制MRE11基因的表达,进一步揭示肝癌细胞DNA损伤修复与化疗耐药的关系,为肝癌患者临床治疗提供实验依据。

表 2 各组细胞MRE11蛋白相对表达量 (mean ± SD, *n* = 3)

分组	MRE11/β-actin
空白对照组	0.804 ± 0.065
脂质体组	0.771 ± 0.030
质粒对照组	0.721 ± 0.010
实验组	0.353 ± 0.041 ^b

^b*P* < 0.01 vs 空白对照组。

表 4 各组细胞转染24、48、72 h MTT检测结果(mean ± SD, *n* = 3)

分组	24 h	48 h	72 h
空白对照组	0.37 ± 0.06	0.60 ± 0.07	0.87 ± 0.09
脂质体组	0.38 ± 0.03	0.59 ± 0.03	0.85 ± 0.10
质粒对照组	0.43 ± 0.05	0.66 ± 0.10	0.86 ± 0.05
实验组	0.33 ± 0.07 ^a	0.48 ± 0.09 ^a	0.58 ± 0.08 ^a

^a*P* < 0.05 vs 空白对照组。

3 讨论

肝癌是严重地威胁人类健康的临床常见肿瘤,治疗效果差。各种原因引起的DNA损伤是发生肝癌的重要分子基础, DNA损伤后可引起细胞的一系列反应,包括损伤信号的传导、损伤修复、诱导细胞死亡等。这些诱因也能作用于损伤修复系统中的某个环节,使DNA损伤不能修复或不能正确修复,细胞发生恶性转化^[4,5]。临床上很多化疗药物是以DNA为靶点,造成DSBs, DSBs发生后,细胞周期发生相应改变,信号传导途径检查点首先感知并放大损伤信号,启动一系列的生物学效应^[6-8]。MRE11是细胞应对DSBs过程中的一种重要的多功能蛋白质,参与最初蛋白复合物形成,其N端具有4个保守区,为磷酸酯酶结构域, C端有2个DNA结合区,并具有核酸酶活性^[9]。MRE11、RAD50和NBS1组成MRN复合物,在快速识别DSBs后可通过调控细胞周期,为DNA修复争取时间^[10],在DNA损伤的感知和修复以及信号的传导过程中起关键作用^[11-18]。因此可通过干扰DSBs修复功能,使肿瘤细胞不能及时修复DSBs,从而增加肿瘤细胞的化疗敏感性^[19-21]。MRE11还可受一种新的细胞周期调节因子的调控,从而参与肿瘤的发生发展^[22]。肝癌组织中也存在MRE11表达异常的现象^[23]。目前关于MRE11的研究较少,他与肝癌的产生发展、肝癌细胞DNA损伤修复、耐药等是否有关

表 3 各组细胞γ-H2AX蛋白相对表达量 (mean ± SD, *n* = 3)

分组	γ-H2AX/β-actin
空白对照组	0.847 ± 0.025
脂质体组	0.873 ± 0.031
质粒对照组	0.863 ± 0.059
实验组	1.04 ± 0.056 ^a

^a*P* < 0.05 vs 空白对照组。

表 5 各组细胞DNA合成率 (mean ± SD, *n* = 3, %)

分组	DNA 合成率
空白对照组	49.814 ± 1.227
脂质体组	47.469 ± 3.246
质粒对照组	48.397 ± 1.232
实验组	38.819 ± 2.607 ^a

^a*P* < 0.05 vs 空白对照组。

是本课题感兴趣的内容。

如前所述MRE11是DNA损伤修复相关因子,因此推测它的沉默对细胞的生物学行为有可能会有一定的影响。肿瘤的形成是基因调控的细胞增殖、分化异常和/或细胞凋亡过程受到抑制等方面作用所致。我们通过MTT法检测了各组细胞增殖情况,实验结果显示: shMRE11对BEL7402/5-FU细胞具有抑制作用,使细胞增殖速度减慢,与Ynan等^[24]的研究结果相似。

肿瘤的发生与演进是肿瘤细胞过度增殖造成的,而肿瘤细胞的过度增殖必然涉及到DNA复制增加和DNA损伤修复功能增强。对于正常细胞,完整DNA损伤修复功能能保证细胞基因组染色体的完整性和稳定性,然而对于肿瘤细胞,临床常用的化疗很多都是以DNA为靶点,研究DNA的损伤修复对肿瘤的治疗有非常重要的意义。如何诱导肿瘤细胞DNA损伤,防止DNA损伤的修复,从而诱导肿瘤细胞的坏死与凋亡,是肿瘤治疗的一个重要途径。

γ-H2AX是一类进化上保守的组蛋白H2A的变体^[25],在DSBs发生后可被磷酸化而富集到DNA断裂处,招募BRCA1、RAD51等DNA损伤修复蛋白对损伤处进行修复^[26-28],是重要的DNA损伤感应分子,是检测DSBs的金标准^[29,30]。为研究shMRE11对DNA损伤造成的影响,本研究用Western blot方法检测γ-H2AX表达来判断各组细胞的损伤程度。实验结果发现干扰BEL7402/5-

FU细胞中MRE11的表达后, γ -H2AX的表达增加,提示MRE11的抑制能够一定程度上增加化疗药物对耐药细胞造成的损伤。

DNA损伤修复必然与DNA的合成有关,为了直观地了解各组细胞DNA合成情况的差异,我们用EdU法进行了检测。EdU是一种胸腺嘧啶核苷类似物,其乙炔基团在天然化合物中很少见,在细胞增殖时能够插入正在复制的DNA分子中,基于EdU与染料的共轭反应可以高效快速地检测细胞增殖,可以有效地检测DNA合成。结果显示MRE11干扰后DNA的合成减少,提示MRE11的沉默能够抑制DNA的合成,使BEL7402/5-FU细胞DNA损伤后的修复途径受阻。

总之,本课题研究结果表明,转染靶向MRE11的shRNA干扰质粒能在一定程度上增加化疗药物对耐药细胞造成的损伤,使DNA损伤修复功能减弱,增加了药物对细胞的损伤程度;并对细胞的生物学行为产生了一定的影响,使细胞增殖速度减慢,可见MRE11的沉默在一定程度上能够降低BEL7402/5-FU细胞的耐药性。本课题组的其他研究结果显示,转染靶向MRE11的shRNA干扰质粒后,BEL7402/5-FU细胞中的多药耐药相关蛋白1(MRP1)的表达下调,并能促进细胞的凋亡(另文发表)。因此推测MRE11沉默降低细胞耐药性的机制除了与抑制DNA损伤修复途径有关,还可能与下调MRP1表达、促进细胞凋亡存在一定的联系,具体机制还需作进一步的实验研究。

4 参考文献

- 1 Yamaguchi-Iwai Y, Sonoda E, Sasaki MS, Morrison C, Haraguchi T, Hiraoka Y, Yamashita YM, Yagi T, Takata M, Price C, Kakazu N, Takeda S. Mre11 is essential for the maintenance of chromosomal DNA in vertebrate cells. *EMBO J* 1999; 18: 6619-6629 [PMID: 10581236 DOI: 10.1093/emboj/18.23.6619]
- 2 Liao S, Guay C, Toczylowski T, Yan H. Analysis of MRE11's function in the 5'--& gt; 3' processing of DNA double-strand breaks. *Nucleic Acids Res* 2012; 40: 4496-4506 [PMID: 22319209 DOI: 10.1093/nar/gks044]
- 3 Foster SS, Balestrini A, Petrini JH. Functional interplay of the Mre11 nuclease and Ku in the response to replication-associated DNA damage. *Mol Cell Biol* 2011; 31: 4379-4389 [PMID: 21876003 DOI: 10.1128/MCB.05854-11]
- 4 朱德强, 黄志勇. DNA损伤与肝癌发生. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 1775-1780
- 5 张阳德, 王宁, 廖明媚, 赵劲风, 杨满意, 郭春芳, 彭健. DNA损伤和修复在肝癌中的研究进展. *中国现代医学杂志* 2012; 13: 57-61
- 6 Zhou BB, Elledge SJ. The DNA damage response: putting checkpoints in perspective. *Nature* 2000; 408: 433-439 [PMID: 11100718]
- 7 Cummings WJ, Zolan ME. Functions of DNA repair genes during meiosis. *Curr Top Dev Biol* 1998; 37: 117-140 [PMID: 9352185 DOI: 10.1016/S0070-2153]
- 8 Rothkamm K, Krüger I, Thompson LH, Löbrich M. Pathways of DNA double-strand break repair during the mammalian cell cycle. *Mol Cell Biol* 2003; 23: 5706-5715 [PMID: 12897142 DOI: 10.1128/MCB.23.16.5706-5715.2003]
- 9 Costanzo V, Robertson K, Bibikova M, Kim E, Grieco D, Gottesman M, Carroll D, Gautier J. Mre11 protein complex prevents double-strand break accumulation during chromosomal DNA replication. *Mol Cell* 2001; 8: 137-147 [PMID: 11511367]
- 10 Williams RS, Williams JS, Tainer JA. Mre11-Rad50-Nbs1 is a keystone complex connecting DNA repair machinery, double-strand break signaling, and the chromatin template. *Biochem Cell Biol* 2007; 85: 509-520 [PMID: 17713585]
- 11 Petrini JH. The Mre11 complex and ATM: collaborating to navigate S phase. *Curr Opin Cell Biol* 2000; 12: 293-296 [PMID: 10801460]
- 12 何湘, 钟辉. MRN复合物的结构及功能研究进展. *生物技术通讯* 2007; 18: 978-980
- 13 Maehara Y, Saeki H, Morita M. Molecular mechanisms of esophageal squamous cell carcinogenesis: clues to improve treatment outcomes. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2010; 16: 387-388 [PMID: 21263417]
- 14 Deng Y, Guo X, Ferguson DO, Chang S. Multiple roles for MRE11 at uncapped telomeres. *Nature* 2009; 460: 914-918 [PMID: 19633651]
- 15 郭桂英, 石静滨, 陈凤霞, 徐晓颖, 张卓, 陈英海. 吉非替尼对肝癌Bel7402细胞株放射增敏作用机制的探讨. *中华临床医师杂志* 2012; 6: 5843-5847
- 16 van den Bosch M, Bree RT, Lowndes NF. The MRN complex: coordinating and mediating the response to broken chromosomes. *EMBO Rep* 2003; 4: 844-849 [PMID: 12949583 DOI: 10.1038/sj.embor.embor925]
- 17 Abraham RT, Tibbetts RS. Cell biology. Guiding ATM to broken DNA. *Science* 2005; 308: 510-511 [PMID: 15845843 DOI: 10.1126/science.1112069]
- 18 Lavin MF. ATM and the Mre11 complex combine to recognize and signal DNA double-strand breaks. *Oncogene* 2007; 26: 7749-7758 [PMID: 18066087 DOI: 10.1038/sj.onc.1210880]
- 19 王代友, 周诺. MRN复合体基因在头颈肿瘤治疗中的应用概况. *右江医学* 2008; 36: 731-732
- 20 王代友, 巫家晓, 张斌, 陆新萍. 突变型Nbs1基因转染对头颈癌化疗敏感性的影响. *口腔颌面外科杂志* 2009; 19: 239-242
- 21 沈洁, 王代友, 曹阳, 林丹, 陈超梅. ^{60}Co 射线照射大鼠涎腺组织后Mrell蛋白表达的初步研究. *临床口腔医学杂志* 2012; 28: 144-149
- 22 Guan R, Hou DF, Rao X, Guan YJ, Ouyang YM, Yu YH, Jim HU, Chen ZC. ZNF403, a Novel Cell Cycle Regulator. *Progress in Biochemistry and Biophysics* 2013; 40: 147-158
- 23 刘煜, 杨小丽, 侯宁波, 赵帆, 张艳红, 袁静, 何湘, 钟辉. 乙型肝炎病毒感染导致Mrell下调及基因组断裂. *微生物学报* 2008; 48: 1031-1034
- 24 Yuan SS, Hou MF, Hsieh YC, Huang CY, Lee YC, Chen YJ, Lo S. Role of MRE11 in cell proliferation, tumor invasion, and DNA repair in breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2012; 104: 1485-1502 [PMID: 22914783 DOI: 10.1093/jnci/djs355]
- 25 Redon C, Pilch D, Rogakou E, Sedelnikova O, Newrock K, Bonner W. Histone H2A variants H2AX and H2AZ. *Curr Opin Genet Dev* 2002; 12:

■同行评价
本文具有一定的理论研究价值。

- 162-169 [PMID: 11893489 DOI: 10.1016/S0959-437X(02)00282-4]
- 26 Kinner A, Wu W, Staudt C, Iliakis G. Gamma-H2AX in recognition and signaling of DNA double-strand breaks in the context of chromatin. *Nucleic Acids Res* 2008; 36: 5678-5694 [PMID: 18772227 DOI: 10.1093/nar/gkn550]
- 27 Paull TT, Rogakou EP, Yamazaki V, Kirchgessner CU, Gellert M, Bonner WM. A critical role for histone H2AX in recruitment of repair factors to nuclear foci after DNA damage. *Curr Biol* 2000; 10: 886-895 [PMID: 10959836 DOI: 10.1016/S0960-9822(00)00610-2]
- 28 陈丽萍, 朱小年, 陈雯. DNA损伤修复过程中H2AX磷酸化的调控及其意义. *癌变·畸变·突变* 2011; 23: 148-151
- 29 邹鹏, 杨晓丽, 陈先. 博来霉素对肝癌细胞DNA损伤以及H2AX相互作用蛋白的影响. *复旦学报(自然科学版)* 2011; 1: 172-177
- 30 Downey M, Durocher D. gammaH2AX as a checkpoint maintenance signal. *Cell Cycle* 2006; 5: 1376-1381 [PMID: 16855385]

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)。

ST13和HSP70在胃息肉及胃癌中的表达及相关性研究

陈吉, 牛昊书

陈吉, 牛昊书, 内蒙古包头医院消化内科 内蒙古自治区包头市 014010

陈吉, 主任医师, 教授, 主要从事消化系统疾病的诊治研究。

内蒙古自然科学基金面上资助项目, No. 2013MS1104

作者贡献分布: 课题设计由牛昊书与陈吉共同设计; 样本采集由陈吉完成; 研究过程由陈吉与牛昊书共同操作完成; 试剂与分析工具由牛昊书提供; 数据分析由牛昊书完成; 论文写作由陈吉与牛昊书共同完成。

通讯作者: 牛昊书, 主治医师, 014010, 内蒙古自治区包头市昆区少先路20号, 内蒙古包头医院消化内科。

niuhaoshu@sina.com

电话: 0472-5992847 传真: 0472-5992847

收稿日期: 2013-07-28 修回日期: 2013-08-30

接受日期: 2013-09-06 在线出版日期: 2013-10-18

Expression of ST13 and HSP70 in gastric polyps and gastric cancer

Ji Chen, Hao-Shu Niu

Ji Chen, Hao-Shu Niu, Department of Gastroenterology, Inner Mongolia Baogang Hospital, Baotou 014010, Inner Mongolia Autonomous Region, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of Inner Mongolia, No. 2013MS1104

Correspondence to: Hao-Shu Niu, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Inner Mongolia Baogang Hospital, 20 Shaoxian Road, Baotou 014010, Inner Mongolia Autonomous Region, China. niuhaoshu@sina.com

Received: 2013-07-28 Revised: 2013-08-30

Accepted: 2013-09-06 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To detect the expression of suppression of tumorigenicity13 (ST13) and heat shock protein70 (HSP70) in gastric polyps and gastric cancer and to analyze their correlation.

METHODS: Immunohistochemistry was used to detect the expression of ST13 and HSP70 in 30 cases of normal gastric mucosa, 30 cases of gastric polyps, 16 cases of gastric adenomatous polyps, and 30 cases of gastric carcinoma. The correlation between expression of ST13 and HSP70 in gastric polyps and gastric carcinoma was analyzed.

RESULTS: The rank mean for HSP70 expression in normal gastric mucosa, hyperplastic polyps, adenomatous polyps, gastric carcinoma was

32.35, 40.47, 63.25, and 82.48, respectively, showing a gradually decreasing trend ($P < 0.01$). The rank mean for expression of ST13 in normal gastric mucosa, hyperplastic polyps, adenomatous polyps, and gastric carcinoma group was 68.25, 59.77, 44.91 and 37.07, respectively, showing a gradually increasing trend. HSP70 and ST13 expression was negatively correlated in both adenomatous polyps and gastric cancer.

CONCLUSION: HSP70 protein expression shows an increasing trend and ST13 protein expression shows a decreasing trend in gastric carcinogenesis, suggesting that HSP70 and ST13 are closely related to the formation of gastric cancer. There is a negative correlation between HSP70 protein and ST13 protein expression in gastric adenomatous polyps and gastric carcinoma, suggesting that they may interact with each other.

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

Key Words: ST13; HSP70; Gastric polyps; Gastric cancer

Chen J, Niu HS. Expression of ST13 and HSP70 in gastric polyps and gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3059-3066 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3059.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3059>

摘要

目的: 测定肿瘤发生抑制基因13号(suppression of tumorigenicity13, ST13)蛋白和热休克蛋白70 (heat shock protein70, HSP70)在胃息肉癌变过程中的表达水平, 揭示ST13和HSP70在胃息肉及胃癌形成过程中的相互关系及临床意义。

方法: 采用免疫组织化学SABC法检测ST13和HSP70在106例胃黏膜组织中的表达水平, 按组织病理类型分为: 正常胃黏膜组30例、增生性息肉组30例、腺瘤样息肉组16例、胃癌组30例, 研究二者在胃息肉癌变过程中表达的相互作用及临床意义。

■背景资料

胃癌为消化系统常见肿瘤之一, 胃息肉是WHO确定的胃癌的癌前疾病之一, 探究胃息肉癌变的分子生物学机制是目前胃癌的研究热点之一, 热休克蛋白70(heat shock protein70, HSP70)又称应激蛋白, 具有提高细胞应激耐受性及细胞自身稳定功能, 与细胞的增生、分化、凋亡、癌变及免疫等过程有关, 被认为是肿瘤形成发展的先决条件之一。ST13基因(suppression of tumorigenicity 13)是一种大肠癌负相关基因, 目前研究表明其主要作为HSP70的分子伴侣发挥生物学功能, 现有研究证实其可能与肿瘤细胞转移和细胞生长有关。

■同行评议者

沈克平, 主任医师, 上海中医药大学附属龙华医院

■ 研发前沿

胃癌组织中HSP70蛋白呈过度表达,使用反义RNA特异性抑制胃癌细胞中的HSP70蛋白表达,可以使胃癌进展缓慢甚至好转,但其具体机制不明,ST13作为HSP70的分子伴侣,可能通过HSP70发挥其部分生物学作用,了解ST13与HSP70在胃癌中的关系及作用机制,将对HSP70在胃癌中作用的研究提供帮助。

结果:采用Kruskal-wallis H方法检验HSP70在正常胃黏膜组、增生性息肉组、腺瘤样息肉组、胃癌组中的表达秩均值分别为32.35、40.47、63.25、82.48,有非常显著的差异性($P<0.01$),表达呈逐渐递增趋势。ST13在正常胃黏膜、增生性息肉、腺瘤样息肉、胃癌组织中的表达秩均值分别为68.25、59.77、44.91、37.07,有非常显著差异性($P<0.01$),表达呈逐渐递减趋势。HSP70和ST13在腺瘤样息肉组和胃癌组中表达呈非常显著负相关($P<0.01$)。

结论:(1)HSP70蛋白在正常胃黏膜、胃增生性息肉、胃腺瘤样息肉、胃癌组织中的表达水平呈显著增高趋势;(2)ST13蛋白在正常胃黏膜、胃增生性息肉、胃腺瘤样息肉、胃癌组织中的表达水平呈显著降低趋势;(3)在胃腺瘤样息肉及胃癌组织中HSP70蛋白与ST13蛋白可能相互作用,其相互关系为负相关,HSP70蛋白可能对其分子伴侣ST13蛋白产生直接或间接下调作用。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: ST13; HSP70; 胃息肉; 胃癌

核心提示: HSP70蛋白的高表达和ST13蛋白的低表达在胃息肉癌变的过程中具有密切的负相关性,二者的表达在胃癌的发生、发展过程中发挥着重要作用。早期检测HSP70蛋白及ST13蛋白在胃癌癌前病变中的表达程度,将有助于提高胃癌早期发现的几率,同时,为胃癌的肿瘤免疫治疗及分子靶向治疗提供研究线索。

陈吉, 牛昊书. ST13和HSP70在胃息肉及胃癌中的表达及相关性研究. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3059-3066 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3059.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3059>

0 引言

胃癌为消化系统常见肿瘤之一,全球每年有900万新发胃癌病例,每年700万人因胃癌而死亡。其致死率为全球所有肿瘤致死率第2位^[1],居我国消化系统恶性肿瘤发病率和死亡率第1位,病死率在我国排首位^[2],胃息肉是胃癌的癌前疾病之一,分为增生性息肉和腺瘤样息肉,部分有恶变倾向^[3],细胞增殖与凋亡平衡的失调是肿瘤形成、进展的重要原因,也是目前肿瘤研究最广泛、最深入的领域,其影响因素众多,而热休克蛋白70(heat-shock protein70, HSP70)在维持其平

衡稳定的过程中占有重要地位,HSP70又称应激蛋白,具有提高细胞应激耐受性及细胞自身稳定功能,与细胞的增生、分化、凋亡、瘤变及免疫等过程有关,其在多种肿瘤细胞中表达增强,被认为是肿瘤形成发展的先决条件之一。目前研究已经证实,胃癌组织中HSP70蛋白呈过度表达,使用反义RNA特异性抑制胃癌细胞中的HSP70蛋白表达,可以使胃癌进展缓慢甚至好转,提示HSP70是胃癌形成、发展的重要影响因素之一,但其在胃癌癌变过程中的具体机制尚不完全清楚。肿瘤发生抑制基因13号(suppression of tumorigenicity 13, *ST13*)基因是一种大肠癌负相关基因,目前研究表明其主要作为HSP70的分子伴侣在不同的正常组织及肿瘤组织中发挥不同的生物学功能,现有研究证实其可能与肿瘤细胞转移和细胞生长有关。ST13可能通过HSP70发挥其部分生物学作用,了解ST13与HSP70在胃癌中的关系及作用机制,将对HSP70在胃癌中作用的研究提供帮助。本研究旨在通过测定HSP70蛋白和ST13蛋白在胃息肉及胃癌中的表达水平,研究ST13蛋白和HSP70蛋白在胃息肉及胃癌形成过程中的相互关系及临床意义。探索胃息肉癌变过程中的影响因素,从而为胃癌的早期临床诊断及治疗研究提供帮助。

1 材料和方法

1.1 材料 胃增生性息肉、腺瘤样息肉及正常胃黏膜组:选取2010-09/2012-07在内蒙古包头医院消化内科内窥镜中心行胃镜活检的石蜡标本共76例,分为正常胃黏膜组30例,其中男性10例,女性20例,年龄30-46岁(均以腹胀、中上腹不适为主要症状就诊,均行¹⁴C呼气试验排除幽门螺杆菌感染,就诊4 wk内均未服用质子泵抑制剂、NSAID类药物、无饮酒史);增生性息肉组30例,其中男性9例,女性21例,年龄37-56岁;腺瘤样息肉组16例,其中男性3例,女性13例,年龄41-52岁;以上各组均由2位胃镜专家及2位病理学专家按内镜形态学及病理组织学证实。

胃癌组:选取2010-09/2012-07在内蒙古包头医院普外科手术切除及消化内科内窥镜中心行胃镜活检的胃腺癌石蜡标本共30例,其中男性14例,女性16例,年龄35-66岁,按临床TNM分期均为II期,均由2位消化内科专家及2位病理学专家按内镜形态学及病理组织学证实。兔抗人HSP70多克隆抗体(美国bioass公司);SABC(Strept Avidin-Biotin Complex)免疫组织化学试剂盒(福

表 1 胃增生性息肉中ST13和HSP70表达强度的相关性分析

		HSP70				合计	r值	P值
		-	+	++	+++			
ST13	-	0	0	1	1	2	-0.105	0.577
	+	6	2	2	0	10		
	++	2	5	1	0	8		
	+++	4	5	1	0	10		
合计		12	12	5	1	30		

ST13: 肿瘤发生抑制基因13号; HSP70: 热休克蛋白70.

州迈新生物技术公司); DAB显色试剂盒(福州迈新生物技术公司).

1.2 方法

1.2.1 常规HE染色确定标本的组织病理类型: 所有标本用组织石蜡包埋机制成蜡块, 将蜡块以5 μm厚度连续切取3张切片, 其中1张切片经病理专家采用HE染色经病理诊断再次证实, 余2张切片采用SABC免疫组织化学染色.

1.2.2 SABC免疫组织化学染色: 标本石蜡切片, 二甲苯脱蜡, 梯度乙醇水化, 高温高压抗原热修复, 常温下冷却45 min, PBS冲洗, 滴加过氧化酶阻断溶液, 室温下孵育10 min, PBS冲洗, 滴加正常非免疫动物血清(试剂B), 室温下孵育12 min. 除去血清, 滴加第一抗体(ST13、HSP70)4℃过夜, PBS冲洗, 滴加生物素标记的第二抗体, 室温下孵育10 min. PBS冲洗, 滴加链霉素抗生物素-过氧化物酶溶液, 室温下孵育10 min. PBS冲洗3次滴加DAB显微镜下观察观察5 min, 苏木素复染、反蓝、梯度酒精脱水、二甲苯透明, 中性树胶封固.

1.2.3 判定标准: HSP70及ST13免疫组织化学阳性产物呈棕黄色颗粒, 定位于细胞浆内. 采用Bresalier半定量公式判断染色结果. 在每张切片中随机选取10个高倍视野, 每个高倍视野根据细胞染色情况分为细胞无着色为0分、淡黄色为1分、棕黄色为2分、棕褐色为3分; 计数每一着色视野数, 根据下列计算公式确定每张切片的平均染色强度: 强度分值(intensity store, IS) = $\sum \{(0 \times F_0) + (1 \times F_1) + (2 \times F_2) + (3 \times F_3)\}$, F为每类型视野的百分比. 例如: 一张切片随机选取10个视野, 无着色2个视野, 占20%, 淡黄色3个视野, 占30%, 棕黄色占3个视野, 占30%, 棕褐色占2个视野, 占20%. 此切片染色强度IS = $(0 \times 20\%) + (1 \times 30\%) + (2 \times 30\%) + (3 \times 20\%) = 1.5$. 每张切片按染色强度分为4级, 0分: 阴性(-); 0-1分: 弱阳性

(+); 1-2分: 中强阳性(++); 2-3分: 强阳性(+++).

统计学处理 数据分析采用SPSS19.0软件系统, 对实验数据进行Kruskal-wallis H非参数检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义. 对正常胃黏膜、增生性息肉、腺瘤样息肉、胃癌组间进行bonferroni法多重比较(组间采用Mann-Whitney U检验), 以校验 $P < 0.008$ ($P < 0.05$)为差异有统计学意义. ST13和HSP70表达的相关性采用Kendall's tau-b等级相关分析法. 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 HSP70在正常胃黏膜、增生性息肉、腺瘤样息肉、胃癌组织中表达水平的比较 HSP70表达定位于正常胃黏膜、增生性息肉、腺瘤样息肉、胃癌组织的细胞胞浆中, 免疫阳性产物为棕黄色. HSP70于各组中的表达情况如表1-3所示, 染色采用Kruskal-wallis H方法检验HSP70在正常胃黏膜、增生性息肉、腺瘤样息肉、胃癌组织中的表达秩均值分别为32.35、40.47、63.25、82.48, 有非常显著的差异性($P < 0.01$, 表4, 图1), 表达呈逐渐递增趋势. 对正常胃黏膜、增生性息肉、腺瘤样息肉、胃癌组间进行Bonferroni法多重比较, 校验后当 $P = 0.008$ 时 $P = 0.05$, 以校验 $P < 0.008$, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义. 增生性息肉组与正常胃黏膜组表达无显著差异性($U = 361.5$, $P > 0.05$), 腺瘤样息肉组与正常胃黏膜组表达有显著差异性($U = 96$, $P < 0.01$), 胃癌组与正常胃黏膜组表达有显著差异性($U = 48$, $P < 0.01$), 腺瘤样息肉组与增生性息肉组表达有显著差异性($U = 128$, $P < 0.05$), 胃癌组与腺瘤样息肉组表达无显著差异性($U = 140$, $P > 0.05$), 胃癌组与增生性息肉组表达有显著差异性($U = 82$, $P < 0.01$).

2.2 ST13在正常胃黏膜、增生性息肉、腺瘤样

■ 相关报道

张建军等发现HSP70 mRNA在胃癌组织中的表达程度明显高于正常胃黏膜组织. 未分化型癌的HSP70 mRNA表达程度明显高于分化型癌. 在TNM分期Ⅲ、Ⅳ期中, HSP70 mRNA的表达程度明显高于其他分期, 提示HSP70可用于判断胃癌分化程度及临床分期的辅助指标. Zhao等在研究中利用HSP70反义寡核苷酸转染到胃癌SGC-7901细胞系内发现, HSP70反义寡核苷酸定向在人HSP70的mRNA中, 使得人胃癌SGC-7901的细胞增殖和存活受到抑制. 提示HSP70的反义RNA基因治疗可以作为胃癌的有效治疗方法之一.

■ 创新盘点

近年大量研究发现,在胃癌的发生、发展中,HSP70成高表达,并与胃癌的组织类型及临床分期有关。而作为HSP70分子伴侣的ST13在胃癌中表达的相关研究较少,本研究发现,HSP70与ST13在胃癌变过程中的表达呈负相关关系,在胃癌变的发生发展过程中,ST13可能存在其他的调节机制或参与抑制其他的细胞凋亡途径,而非单纯通过HSP70起调控作用。

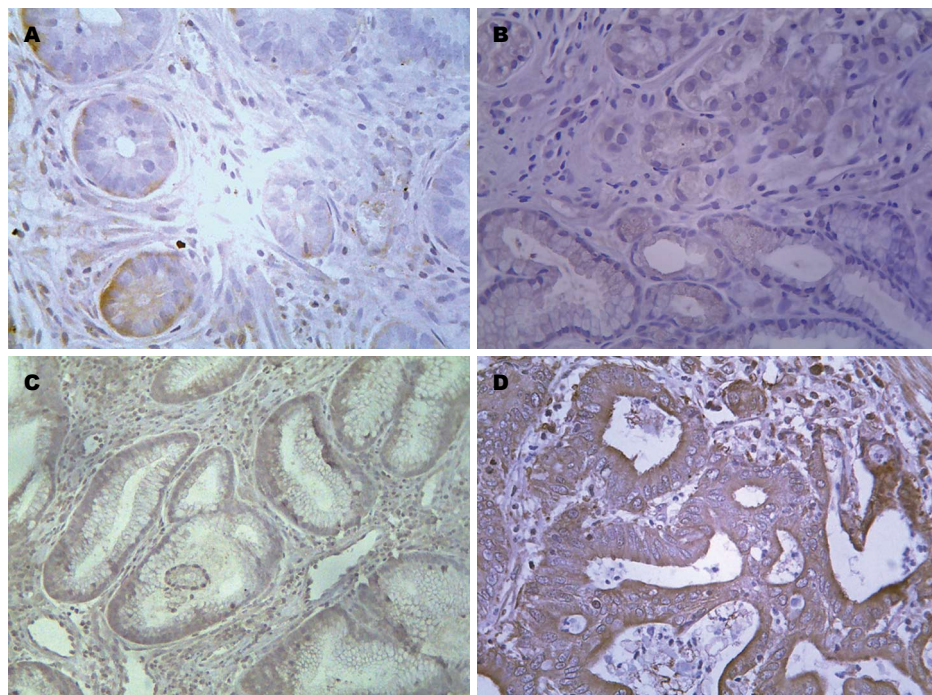


图1 HSP70在不同胃黏膜病变中的表达。A: HSP70在正常胃黏膜中的表达($\times 400$); B: HSP70在增生型息肉中的表达($\times 200$); C: HSP70在腺瘤型息肉中的表达($\times 200$); D: HSP70在胃癌中的表达($\times 100$)。HSP70: 热休克蛋白70。

表2 胃腺瘤样息肉中ST13和HSP70表达强度的相关性分析

		HSP70				合计	r值	P值
		-	+	++	+++			
ST13	-	0	0	1	1	2	-0.532	0.002
	+	0	1	3	3	7		
	++	2	2	1	1	6		
	+++	1	0	0	0	1		
合计		3	3	5	5	16		

ST13: 肿瘤发生抑制基因13号; HSP70: 热休克蛋白70。

息肉、胃癌组织中表达水平的比较 ST13表达定位于正常胃黏膜、增生性息肉、腺瘤样息肉、胃癌组织的细胞胞浆中,免疫阳性产物为棕黄色。ST13于各组中的表达情况如表1-3所示,采用Kruskal-wallis H方法检验ST13在正常胃黏膜、增生性息肉、腺瘤样息肉、胃癌组织中的表达秩均值分别为68.25、59.77、44.91、37.07,有非常显著差异性($P < 0.01$, 表5, 图2),表达呈逐渐递减趋势。对正常胃黏膜、增生性息肉、腺瘤样息肉、胃癌组间进行bonferroni法多重比较,校验后当 $P = 0.008$ 时 $P = 0.05$,以校验 $P < 0.008$, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。增生性息肉组与正常胃黏膜组表达无显著差异性($U = 381$, $P > 0.05$),腺瘤样息肉组与正常胃黏膜

组表达有显著差异性($U = 128$, $P < 0.05$),胃癌组与正常胃黏膜组表达有显著差异性($U = 188.5$, $P < 0.01$),腺瘤样息肉组与增生性息肉组表达无显著差异性($U = 172$, $P > 0.05$),胃癌组与腺瘤样息肉组表达无显著差异性($U = 197.5$, $P > 0.05$),胃癌组与增生性息肉组表达有显著差异性($U = 261$, $P < 0.05$)。

2.3 HSP70与ST13之间的相关性 采用Kendall's tau-b方法检验增生性息肉组、腺瘤样息肉组、胃癌组中ST13与HSP70的相关性,在增生性息肉组中,ST13与HSP70的表达呈负相关,但无显著性差异($r = -0.105$, $P > 0.05$, 表1);在腺瘤样息肉组中,ST13与HSP70的表达成非常显著地负相关($r = -0.532$, $P < 0.01$, 表2);在胃癌组中,ST13与HSP70的表达成非常显著地负相关($r = -0.364$,

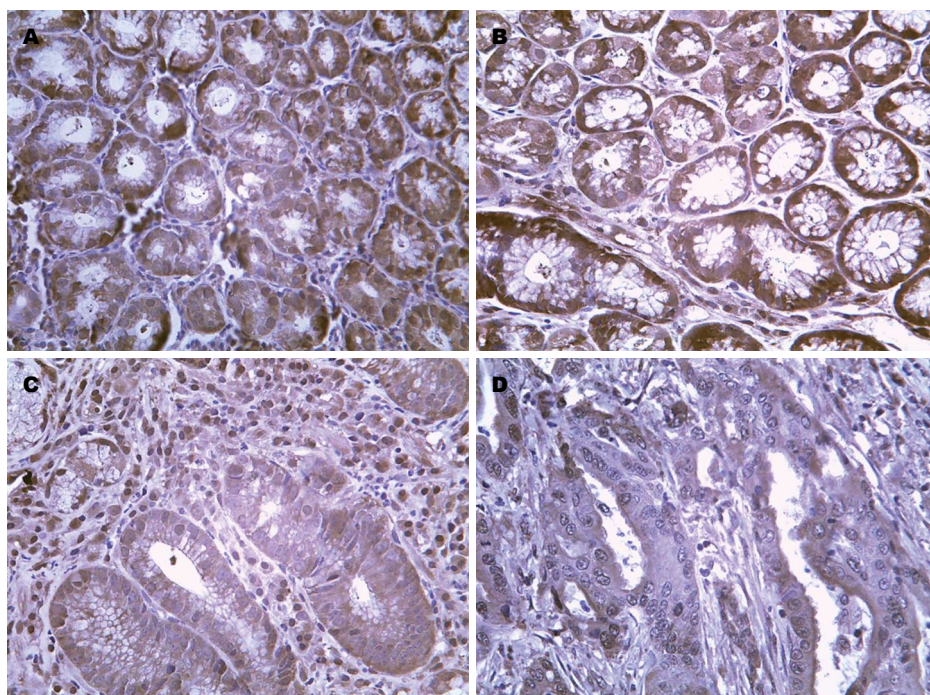


图 2 ST13在不同胃黏膜病变中的表达. A: ST13在正常胃黏膜中的表达($\times 100$); B: ST13在增生型息肉中的表达($\times 100$); C: ST13在腺瘤型息肉中的表达($\times 200$); D: ST13在胃癌中的表达($\times 400$). ST13: 肿瘤发生抑制基因13号.

应用要点

完善HSP70在胃癌发生、发展中的分子作用机制, 了解HSP70及其分子伴侣ST13在胃癌变的相互关系, 探寻HSP70及ST13对胃癌细胞的免疫、凋亡的影响, 可以对HSP70的反义RNA基因治疗胃癌提供线索, 具有一定临床前景.

表 3 胃癌中ST13和HSP70表达强度的相关性分析

		HSP70				合计	r值	P值
		-	+	++	+++			
ST13	-	0	0	1	7	8	-0.364	0.009
	+	1	0	2	9	12		
	++	0	2	3	4	9		
	+++	0	0	1	0	1		
合计		1	2	7	20	30		

ST13: 肿瘤发生抑制基因13号; HSP70: 热休克蛋白70.

$P < 0.01$, 表3).

3 讨论

热休克蛋白HSP70是热休克蛋白家族中的极重要成员, 其作为分子伴侣在蛋白质折叠、组装、运输、降解及控制的调节蛋白的活性的过程中发挥重要作用^[4], 与肿瘤的发生、发展、肿瘤免疫以及机体对肿瘤治疗药物耐药性的发生、发展和肿瘤预后都有关^[5]. HSP70蛋白的主要生物学功能是在应激状态下保护细胞生命活动所必需的蛋白质以维持细胞的生存, 并参与细胞的增殖调控^[6], 参与肿瘤增殖、分化和抗肿瘤免疫^[7].

HSP70通过“分子伴侣”功能在肿瘤细胞的形成与发展中起着凋亡抑制作用: (1)他作为

分子伴侣优先表达于人类肿瘤细胞和培养的肿瘤细胞系中, 大量研究表明, HSP70可通过与其客户端的蛋白质相互作用, 在细胞信号转导、细胞周期调控、细胞分化和程序性细胞死亡的过程中发挥重要功能, 以保护肿瘤细胞避免大范围的细胞凋亡和坏死^[8]; (2)作为分子伴侣, HSP70通过与原癌基因和抑癌基因及其蛋白产物的相互作用调节肿瘤细胞的增殖, 其过度表达HSP70的恶性肿瘤呈持续增殖状态, 而选择性去除HSP70蛋白的恶性肿瘤组织的增殖则明显变得缓慢^[7,9,10]; (3)有研究表明, HSP70的过度表达会干扰磷脂酶A2的信号转运系统, 降低其在细胞毒性中的作用, 减少肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)介导的对特定肿瘤细胞的细胞杀伤, 从而协助肿瘤细胞免受免疫杀伤作

■同行评价

本文观察了ST13和HSP70在胃息肉及胃癌中的表达,对研究胃癌癌变过程中的基因表达异常具有重要意义,可以为胃癌诊治提供新的线索。

表 4 热休克蛋白70在正常胃黏膜、增生性息肉、腺瘤样息肉、胃癌组织中的表达

	分组	n	平均秩	χ^2 值	P值
热休克蛋白70染色强度	正常胃黏膜组	30	32.35 ^c	51.359	0.006
	增生性息肉组	30	40.47 ^c		
	腺瘤样息肉组	16	63.25 ^a		
	胃癌组	30	82.48 ^a		
	合计	106			

^a $P<0.05$ vs 增生性息肉组、正常胃黏膜组; ^c $P<0.05$ vs 腺瘤样息肉组、胃癌组。

表 5 ST13在正常胃黏膜、增生性息肉、腺瘤样息肉、胃癌组织中的表达

	组别	n	平均秩	χ^2 值	P值
ST13染色强度	正常胃黏膜组	30	68.25 ^a	19.587	0.003
	增生性息肉组	30	59.77 ^{ac}		
	腺瘤样息肉组	16	44.91 ^{ce}		
	胃癌组	30	37.07 ^e		
	合计	106			

^a $P<0.05$ vs 腺瘤样息肉组、胃癌组; ^c $P<0.05$ vs 正常胃黏膜组、胃癌组; ^e $P<0.05$ vs 增生性息肉组、正常胃黏膜组。ST13: 肿瘤发生抑制基因13号。

用; (4)HSP70作为“分子伴侣”,具有在抗原呈递中将抗原分解成特异性肽段从而直接控制细胞呈递抗原的能力,并提供结合蛋白,协同参与抗原加工、转运、免疫球蛋白装配及T细胞免疫^[11],HSP70在人体多种不同肿瘤组织和细胞中的表达均明显增高,其过度表达程度是在抗肿瘤治疗效果不佳的癌症(如乳腺癌,子宫内膜癌,宫颈癌,和膀胱癌)中尤其明显^[12,13],HSP70在机体的自身免疫、抗感染免疫,特别是肿瘤免疫中起重要作用; (5)研究还发现HSP70反义RNA可以特异性抑制HSP70的表达。选择性的下调HSP70可以导致肿瘤细胞表现为增生抑制,甚至是诱导凋亡^[14]。提示HSP70可能作为一种重要的基因控制着肿瘤细胞的增生及凋亡。多项研究表明,胃癌组织中的HSP70蛋白呈过度表达^[15-18],提示HSP70蛋白过度表达与胃癌的形成发展有密切关系。本研究发现HSP70蛋白在正常胃黏膜、增生性息肉、腺瘤样息肉、胃癌组织中的表达呈显著逐渐递增趋势($P<0.01$),其中正常胃黏膜与增生性息肉组的表达无显著差异性($P>0.05$),腺瘤样息肉、胃癌组与正常胃黏膜、增生性息肉组有显著差异,腺瘤样息肉是增殖较活跃的异形细胞,其细胞内蛋白质的合成明显增强,需要大量的HSP70作为分子伴侣参与合

成蛋白质生物活性功能,早期检测HSP70蛋白的表达水平将对胃癌的早期诊断及发现具有极其重要的参考价值。本实验发现HSP70在腺瘤样息肉中的表达明显增加,虽多重比较腺瘤样息肉组织与胃癌组织中的表达无显著性差异(较验前 $P>0.008$,校验后 $P>0.05$),但单独比较HSP70在二者中的表达水平仍有较显著的差异(较验前 $P<0.05$),提示HSP70蛋白的增多与胃癌的形成和发展有重要的关系,与目前国内外相关研究结果相符。

ST13分子有数个不同的功能区^[19]: N-端功能区可使其分子同源聚合(homo-oligomerization); TPR(tetratricopeptide repeats)功能区可使其与HSP70的ATPase区结合; GGMP重复序列被认为与HSP70的多肽结合区相互作用有关; C端的p60/Stil区被认为可调节GGMP功能区与HSP70多肽结合区的相互作用^[20]。ST13蛋白具有与多种细胞凋亡子相互作用的分子特性,有可能与其他细胞凋亡子如凋亡蛋白酶激活因子(apoptotic protease activating factor-1, APAF-1)、凋亡诱导因子(apoptosis inducing factor, AIF)、B淋巴细胞瘤-2基因(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)等相互作用,其中APAF-1、AIF与HSP70的ATP结合区序列有局部同源性,由于ST13可与HSP70分

子上的ATP结合区直接作用^[20], ST13有可能与APAF-1和AIF的ATP结合区直接作用从而抑制凋亡小体的形成或抑制AIF所参与的凋亡通路^[21]. Bcl-2家族为细胞凋亡的重要调控因子, 该家族成员 B 淋巴细胞瘤-2基因相关抗凋亡蛋白(Bcl-2 associated athanogene 1, BAG-1)可与Bcl-2相互作用抑制细胞凋亡, 也可以其保守的C端结构域与HSP70结合, 稳定HSP70的ATP构象, 使HSP70与其作用底物蛋白解离, 起负调控HSP70的作用^[20-23]. ST13可与BAG-1竞争性结合HSP70的ATPase结合位点, 抑制ADP的解离, 防止底物蛋白的过早释放或解离, 从而稳定HSP70的分子伴侣活性而发挥正调控分子伴侣作用^[24]. 国内李岗等^[25]发现, ST13蛋白在人体不同组织的恶性肿瘤中有不同程度的表达, 据此推测, ST13蛋白在不同组织来源的恶性肿瘤的发生发展中扮演不同的作用. 国内郑树等研究显示, ST13在大肠癌及胃癌组织中呈低表达趋势, 本研究结果发现ST13蛋白在正常胃黏膜、增生性息肉、腺瘤样息肉、胃癌组织中的表达呈显著逐渐递减趋势($P<0.01$), 与目前研究结果相符, 表明ST13蛋白可能通过与HSP70相互作用参与了胃细胞内的重要事件, ST13通常被描述为抑癌基因, 但为什么在胃癌、大肠癌中出现表达下调, 而在其他肿瘤中表达上调, 考虑可能与基因突变或功能改变有关, 但目前尚无相关研究证据证明. 其具体分子生物学功能尚待进一步研究.

本研究结果表明HSP70和ST13在腺瘤样息肉组和胃癌组中表达呈非常显著的负相关性($P<0.01$), 而在胃增生性息肉组中的相关性无显著差异性($P>0.05$), 因胃增生性息肉主要为炎性刺激所致, 而腺瘤样息肉及胃癌主要为基因变异所致, 提示HSP70与ST13在潜在恶性及恶性肿瘤形成的过程中存在相互影响的关系. 部分研究结果表明, HSP70的过度表达是人体各组织恶性肿瘤形成的前提条件^[26], HSP70是胃癌形成过程中的重要影响因素之一, 而长期被作为HSP70的分子伴侣所研究的ST13, 目前研究仅发现ST13正调控HSP70的分子伴侣作用^[27-29], 与本研究结果相反, 但为什么会出现起正调控功能的作为HSP70分子伴侣的ST13下调, 而HSP70本身被过度表达的机制尚不清楚. 最近相关免疫组织化学研究表明, ST13下调可能仅存于胃癌、大肠癌等特殊类型癌症中, 而在其他类型的癌症如乳腺癌、肺癌、肝癌、子宫内膜癌中

进行同样的研究, 未能遵循这个模式. 因目前对ST13基因功能的研究尚较少, 其基因功能尚未完全阐明^[30], 结合ST13具有多个功能区, 可与多种细胞因子相互作用的潜在分子特性^[31], 故据此推测, 在胃癌变的发生发展过程中, ST13可能存在其他的调节机制或参与抑制其他的细胞凋亡途径, 而非单纯通过HSP70起调控作用, 其具体分子生物学机制尚须进一步研究.

总之, HSP70蛋白的高表达和ST13蛋白的低表达在胃息肉癌变的过程中具有密切的负相关性, 二者的表达在胃癌的发生、发展过程中发挥着重要作用. 早期检测HSP70蛋白及ST13蛋白在胃癌癌前病变中的表达程度, 将有助于提高胃癌早期发现的几率, 同时, 肿瘤免疫治疗及分子靶向治疗是目前胃癌研究领域的重点方向, 随着研究的深入开展, 其对预防胃癌的复发、转移、降低对抗肿瘤药物的耐药性的优势亦逐渐显现出来^[32], 是最有前景的肿瘤治疗方法. 通过今后更加深入的研究, HSP70及ST13有可能会成为胃癌免疫治疗及分子靶向治疗的潜在靶分子.

4 参考文献

- 1 Hotta K, Oyama T, Akamatsu T, Tomori A, Hasebe O, Nakamura N, Kojima E, Suga T, Miyabayashi H, Ohta H. A comparison of outcomes of endoscopic submucosal dissection (ESD) For early gastric neoplasms between high-volume and low-volume centers: multi-center retrospective questionnaire study conducted by the Nagano ESD Study Group. *Intern Med* 2010; 49: 253-259 [PMID: 20154428]
- 2 Wang G, Yu D, Tan W, Zhao D, Wu C, Lin D. Genetic polymorphism in chemokine CCL22 and susceptibility to Helicobacter pylori infection-related gastric carcinoma. *Cancer* 2009; 115: 2430-2437 [PMID: 19298002 DOI: 10.1002/cncr.24255]
- 3 Goddard AF, Badreldin R, Pritchard DM, Walker MM, Warren B. The management of gastric polyps. *Gut* 2010; 59: 1270-1276 [PMID: 20675692 DOI: 10.1136/gut.2009.182089]
- 4 Hartl FU. Molecular chaperones in cellular protein folding. *Nature* 1996; 381: 571-579 [PMID: 8637592 DOI: 10.1038/381571a0]
- 5 Conroy SE, Latchman DS. Do heat shock proteins have a role in breast cancer? *Br J Cancer* 1996; 74: 717-721 [PMID: 8795573 DOI: 10.1038/bjc.1996.427]
- 6 Chen YC, Lin-Shiau SY, Lin JK. Involvement of heat-shock protein 70 and P53 proteins in attenuation of UVC-induced apoptosis by thermal stress in hepatocellular carcinoma cells. *Photochem Photobiol* 1999; 70: 78-86 [PMID: 10420846 DOI: 10.2169/internalmedicine.49.2816]
- 7 Jäättelä M. Escaping cell death: survival proteins in cancer. *Exp Cell Res* 1999; 248: 30-43 [PMID: 10094811 DOI: 10.1006/excr.1999.4455]

- 8 Nylandsted J, Brand K, Jäättelä M. Heat shock protein 70 is required for the survival of cancer cells. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 926: 122-125 [PMID: 11193027]
- 9 Jäättelä M, Wissing D, Kokholm K, Kallunki T, Egeblad M. Hsp70 exerts its anti-apoptotic function downstream of caspase-3-like proteases. *EMBO J* 1998; 17: 6124-6134 [PMID: 9799222 DOI: 10.1093/emboj/17.21.6124]
- 10 Aghdassi A, Phillips P, Dudeja V, Dhaulakhandi D, Sharif R, Dawra R, Lerch MM, Saluja A. Heat shock protein 70 increases tumorigenicity and inhibits apoptosis in pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Res* 2007; 67: 616-625 [PMID: 17234771 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-1567]
- 11 Haug M, Dannecker L, Schepp CP, Kwok WW, Wernet D, Buckner JH, Kalbacher H, Dannecker GE, Holzer U. The heat shock protein Hsp70 enhances antigen-specific proliferation of human CD4+ memory T cells. *Eur J Immunol* 2005; 35: 3163-3172 [PMID: 16245362 DOI: 10.1002/eji.200535050]
- 12 Ciocca DR, Calderwood SK. Heat shock proteins in cancer: diagnostic, prognostic, predictive, and treatment implications. *Cell Stress Chaperones* 2005; 10: 86-103 [PMID: 16038406 DOI: 10.1379/CSC-99r.1]
- 13 Ciocca DR, Clark GM, Tandon AK, Fuqua SA, Welch WJ, McGuire WL. Heat shock protein hsp70 in patients with axillary lymph node-negative breast cancer: prognostic implications. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 570-574 [PMID: 8455204 DOI: 10.1093/jnci/85.7.570]
- 14 Zhao ZG, Shen WL. Heat shock protein 70 antisense oligonucleotide inhibits cell growth and induces apoptosis in human gastric cancer cell line SGC-7901. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 73-78 [PMID: 15609400]
- 15 刘重元, 欧阳美黎, 谢海龙. HSP70蛋白在胃癌中的表达. 南华大学学报(医学版) 2007; 3: 336-337, 340
- 16 吴永梅, 居来提, 谢会忠. 慢性萎缩性胃炎热休克蛋白70(HSP70)表达的相关研究. 中国现代医学杂志 2010; 2: 179-182, 195
- 17 薄爱华, 戴洁, 王金科, 张志生, 左东升, 张江兰, 白丽娜, 陈秀玲, 杨燕君. 热休克蛋白70 mRNA在老年人胃癌中表达的意义. 中国老年学杂志 2005; 6: 655-656
- 18 张剑军, 徐惠绵, 赵宜良, 戴小淳, 张涛, 赵岩. 热休克蛋白70在胃癌组织中表达及与胃癌生物学行为的关系. 实用肿瘤学杂志 2003; 17: 291-293
- 19 Velten M, Villoutreix BO, Ladjimi MM. Quaternary structure of the HSC70 cochaperone HIP. *Biochemistry* 2000; 39: 307-315 [PMID: 10630990 DOI: 10.1021/bi9917535]
- 20 董庆华. 大肠癌相关基因ST13功能研究. 杭州: 浙江大学, 2004
- 21 Ravagnan L, Gurbuxani S, Susin SA, Maisse C, Daugas E, Zamzami N, Mak T, Jäättelä M, Penninger JM, Garrido C, Kroemer G. Heat-shock protein 70 antagonizes apoptosis-inducing factor. *Nat Cell Biol* 2001; 3: 839-843 [PMID: 11533664]
- 22 Wang HG, Takayama S, Rapp UR, Reed JC. Bcl-2 interacting protein, BAG-1, binds to and activates the kinase Raf-1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 7063-7068 [PMID: 8692945]
- 23 Takayama S, Sato T, Krajewski S, Kochel K, Irie S, Millan JA, Reed JC. Cloning and functional analysis of BAG-1: a novel Bcl-2-binding protein with anti-cell death activity. *Cell* 1995; 80: 279-284 [PMID: 7834747]
- 24 薛晶文. ST13/HIP和HSP70在子宫内膜癌组织中的表达及临床意义. 沈阳: 中国医科大学, 2008
- 25 李岗, 张苏展. 大肠癌生长抑制基因ST13在恶性肿瘤及其相邻正常组织中的表达. 实用肿瘤杂志 2000; 15: 262-263
- 26 Saibil H. Molecular chaperones: containers and surfaces for folding, stabilising or unfolding proteins. *Curr Opin Struct Biol* 2000; 10: 251-258 [PMID: 10753820 DOI: 10.1016/S0959-440X(00)00074-9]
- 27 Ballinger CA, Connell P, Wu Y, Hu Z, Thompson LJ, Yin LY, Patterson C. Identification of CHIP, a novel tetratricopeptide repeat-containing protein that interacts with heat shock proteins and negatively regulates chaperone functions. *Mol Cell Biol* 1999; 19: 4535-4545 [PMID: 10330192]
- 28 Takayama S, Bimston DN, Matsuzawa S, Freeman BC, Aime-Sempe C, Xie Z, Morimoto RI, Reed JC. BAG-1 modulates the chaperone activity of Hsp70/Hsc70. *EMBO J* 1997; 16: 4887-4896 [PMID: 9305631 DOI: 10.1093/emboj/16.16.4887]
- 29 Nollen EA, Brunsting JF, Song J, Kampinga HH, Morimoto RI. Bag1 functions in vivo as a negative regulator of Hsp70 chaperone activity. *Mol Cell Biol* 2000; 20: 1083-1088 [PMID: 10629065 DOI: 10.1128/MCB.20.3.1083-1088.2000]
- 30 Shu ZHENG, Jimin SHAO, Qi DONG, Jiaping PENG, Suzhan ZHANG. Characterization of ST13 protein expression in human colorectal cancer tissues. *Chinese-German J Clin Oncol* 2005; 4: 2-7 [DOI: 10.1007/s10330-004-0347-4]
- 31 Castells A, Gusella JF, Ramesh V, Rustgi AK. A region of deletion on chromosome 22q13 is common to human breast and colorectal cancers. *Cancer Res* 2000; 60: 2836-2839 [PMID: 10850424]
- 32 Longo L, Platini F, Scardino A, Alabiso O, Vasapollo G, Tessitore L. Autophagy inhibition enhances anthocyanin-induced apoptosis in hepatocellular carcinoma. *Mol Cancer Ther* 2008; 7: 2476-2485 [PMID: 18723493 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-08-0361]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



肝X受体与肝脏疾病

贺晓敏, 柳长柏

贺晓敏, 柳长柏, 三峡大学分子生物学研究所 湖北省宜昌市 443002

贺晓敏, 硕士, 主要从事基因治疗方向的研究.

国家自然科学基金资助项目, No. 81070348

作者贡献分布: 本文综述由贺晓敏完成; 柳长柏审校

通讯作者: 柳长柏, 教授, 硕士生导师, 443002, 湖北省宜昌市西

陵区大学路8号, 三峡大学分子生物学研究所. cblu@ctgu.edu.cn

电话: 0717-6397179

收稿日期: 2013-06-28 修回日期: 2013-08-07

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-10-18

Liver X receptors and liver diseases

Xiao-Min He, Chang-Bai Liu

Xiao-Min He, Chang-Bai Liu, Institute of Molecular Biology, China Three Gorges University, Yichang 443002, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81070348

Correspondence to: Chang-Bai Liu, Professor, Institute of Molecular Biology, China Three Gorges University, 8 Daxue Road, Xiling District, Yichang 443002, Hubei Province, China. cblu@ctgu.edu.cn

Received: 2013-06-28 Revised: 2013-08-07

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-10-18

Abstract

Liver X receptors (LXRs) are members of the nuclear receptor superfamily, which have important roles in cholesterol metabolism, glucose metabolism, lipid metabolism and inflammatory reactions. Although liver X receptors are expected to become targets for the treatment of liver fibrosis, nonalcoholic hepatitis, viral hepatitis and other liver diseases, they may lead to liver steatosis. Therefore, it is of great importance for facilitating the clinical application of LXRs in liver diseases to understand the direct target genes of LXRs for regulation of cholesterol metabolism and inflammatory reactions and find specific LXRs agonists or antagonists.

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

Key Words: Liver X receptors; Hepatic lipogenesis; Liver fibrosis; Hepatitis

He XM, Liu CB. Liver X receptors and liver diseases.

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(29): 3067-3071

URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3067.asp>

DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3067>

摘要

肝X受体(liver X receptors, LXRs)是核受体超家族的成员,在胆固醇代谢、糖代谢、脂代谢和炎症反应的过程中发挥着重要作用,有望成为非酒精性脂肪性肝炎、病毒性肝炎和肝纤维化等肝脏疾病的治疗靶点,其不良反应则是可能导致肝脂肪病变.因此,了解LXRs调节胆固醇代谢及炎症反应的直接靶基因及其机制,研发特异性的LXRs激动剂或拮抗剂,对研究肝脏疾病及LXRs的临床应用将是很好的途径.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝X受体; 肝脏的脂肪生成; 肝纤维化; 肝炎

核心提示: 本文阐述了肝X受体(liver X receptors, LXRs)有望成为非酒精性脂肪性肝炎、病毒性肝炎和肝纤维化等肝脏疾病的治疗靶点的优势及可能导致肝脂肪病变的劣势,为研发特异性的LXRs激动剂或拮抗剂及肝脏疾病的探讨提供了新思路.

贺晓敏, 柳长柏. 肝X受体与肝脏疾病. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3067-3071 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3067.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3067>

0 引言

核受体是一组依赖配体激活的转录因子,可对其靶基因的表达进行调节,从而调控机体新陈代谢、发育、增殖和炎症反应^[1].肝X受体(liver X receptors, LXRs)是核受体超家族成员之一,需被氧化型的胆固醇或胆固醇生物合成途径中的一些中间代谢产物激活^[2].随着细胞学、分子生物学等基础医学科学的发展和应用,人们对LXR的研究和认识不断深入,发现其在肝脏疾病中发挥着极其复杂的作用.本文将就LXR与肝脏疾病关系的最新进展进行简要阐述.

■背景资料

本文简要阐述了肝X受体(liver X receptors, LXRs)与肝脏疾病关系的最新进展,意在解读LXR对肝脏疾病的利弊,探讨其存在的问题,为肝病的治疗提供可能的发展方向.

■同行评议者

胡国信, 副教授, 主任医师, 南昌大学第一附属医院传染科; 李永翔, 教授, 主任医师, 博士生导师, 普外科, 腹腔镜外科主任, 安徽医科大学第一附属医院普外科

■研发前沿

本文介绍的LXR对肝病有利有弊,目前着重于研究LXRs调节脂质代谢及炎症反应的直接靶基因及其机制,旨在研发特异性的LXRs激动剂或拮抗剂,使其应用于临床。

1 LXR的概况

LXR可分为两个亚型,即:LXR α 和LXR β ,二者的DNA结合域和配体结合域有大约80%的氨基酸同源性。LXR α 仅在脾脏、肝脏、脂肪组织、肠、肺、肾及巨噬细胞中有高表达,而LXR β 则几乎在所有组织中都有表达^[3]。作为核受体家族的成员,LXRs由4个独立的区域组成:(1)氨基端配体非依赖的转录活化域;(2)具有两个锌指结构的DNA结合域;(3)缺乏配体时可招募共抑制物的铰链区;(4)羧基端疏水的配体结合域及转录活化域^[4]。

大量研究表明,一些氧化的胆固醇衍生物是LXRs的天然激动剂,包括22(R)-羟基胆固醇、20(S)-羟基胆固醇、24(S)-羟基胆固醇、24(S),25-环氧胆固醇、27-羟基胆固醇及胆固醇生物合成中的一些中间产物^[5]。此外,一些来源于植物的复合物如植物固醇 β 谷甾醇以及D-葡萄糖和D-葡萄糖六磷酸^[6]也可以活化LXRs。除天然的激动剂之外,一些合成和半合成的复合物也能激活LXRs,例如T0901317和GW3965,他们已广泛应用到对LXRs信号研究上,但他们对LXR的亚型并没有选择性^[7]。最近有研究证实,一些复合物可以特异性的结合到LXR的其中一个亚型上。例如一些喹啉酮类化合物^[8]、N,N-二甲基-3 β -羟基-胆酰胺^[9]和WAY-252623^[10]已经被证实对LXR β 有更高的亲和力。

LXRs被天然或合成配体激活后,可与视黄醇类X受体(retinoid X receptor, RXRs)形成异二聚体复合物,进而结合到靶基因启动子区LXR反应元件(liver X receptor response element, LXRE)上,从而诱导一系列与脂代谢和糖代谢相关的靶基因的表达。LXRE是一组被4个随机核苷酸分隔的核心序列为AGGTCA的正向重复序列^[11]。

LXRs是机体的胆固醇感应器^[12],也是肝脏脂肪更新的关键调节因子^[13];并反向调节巨噬细胞中炎症因子基因的表达,例如抑制包括IL-6和单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemotactic protein 1, MCP-1)等一些炎症因子的产生^[14]。最近的研究还发现,LXRs具有调节免疫应答的能力,应用其配体可减轻小鼠动脉粥样硬化和接触性皮炎,抑制抗原刺激的T细胞增殖^[15]。

2 LXR与肝脏疾病

2.1 LXR与肝脏的脂肪生成 LXRs与肝脏的脂代谢密切相关,可通过上调固醇调节元件结

合蛋白(sterol regulatory element binding protein 1c, SREBP-1c)表达参与肝脏中脂肪酸的生物合成^[16,17]。SREBP-1c的下游靶基因包括乙酰辅酶A羧化酶(acetyl CoA carboxylase, ACC)^[18],脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, FAS)^[19]和硬脂酰基-辅酶A脱氢酶(stearoyl-CoA desaturase 1, SCD1)^[20],这3个基因的启动子都含有功能性的LXREs,而其表达直接被LXRs调节。研究表明LXR α ^{-/-}和LXR $\alpha\beta$ ^{-/-}(双基因敲除)小鼠的SREBP-1c及其靶基因,包括FAS和SCD-1的表达都被下调,使肝脏及血浆中的甘油三酯水平(triglyceride, TG)下降^[21];而LXR β ^{-/-}小鼠体内SREBP-1c和脂肪生成相关基因的表达仍然正常,说明LXR的两个亚型中,LXR α 在肝脏脂肪生成的调节中发挥重要作用。人工合成的LXRs激动剂T0901317可增加野生型小鼠和LXR β ^{-/-}小鼠肝脏ACC、FAS和SCD-1的表达,但对LXR α ^{-/-}或LXR $\alpha\beta$ ^{-/-}小鼠则无此作用。类似的现象在特异性高表达肝脏LXR α 和LXR α 特异性配体的小鼠中也能观察到,进一步证实了LXR α 通过上调SREBP-1c的表达促进肝脂肪生成^[22-24]。

最新研究表明,糖类调节元件结合蛋白(carbohydrate response element-binding protein, ChREBP)也是LXRs的直接靶基因,他是葡萄糖敏感转录因子,可将肝脏中过剩的糖类转化为脂质。ChREBP基因的启动子包含两个LXREs,用T0901317处理野生型小鼠后可增加ChREBP的mRNA水平和蛋白活性,脂肪生成相关基因ACC、FAS和SCD-1的表达也都被上调^[25]。

血管生成素类似蛋白3(angiopoietin like protein3, Angptl3)是肝脏中的一个蛋白,可增加血浆中TG和高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)、胆固醇水平。最近的研究发现,Angptl3可增加肥胖/糖尿病小鼠模型和野生型小鼠血浆中的TG水平,且Angptl3是LXR的一个直接的靶基因,其激动剂T0901317处理Angptl3^{-/-}小鼠并不能增加血浆中的TG水平^[26]。

Zhou等^[23]发现在脂肪酸转移酶(fatty acid transferase, FAT)/CD36的启动子区域有功能性的LXREs,并证实LXR配体可诱导其表达。T0901317处理FAT/CD36^{-/-}小鼠时,肝脂肪性变减轻,脂肪生成减少。

又有研究指出LXR可能通过促进肝脏中低密度脂蛋白-甘油三酯积累,也可能通过磷脂转运蛋白(phospholipid transfer protein, PLTP)促进中低密度脂蛋白的分泌引起高甘油三酯血症^[27]。

T0901317处理野生型小鼠可上调PLTP的蛋白表达及活性^[28].

以上研究都表明, LXR_s可通过结合LXRE_s上调SREBP-1c、ChREBP、Angptl3及其下游相关功能蛋白的表达, 导致高甘油三酯血症和肝脂肪病变, 甚至脂肪肝的形成.

2.2 LXR与肝炎 LXR_s参与调节胆固醇代谢^[29]和炎症反应^[30], 与非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)的发病密切相关^[31]. 研究表明LXR_s的活化可促进胆固醇的逆向转运, 增加肝脏内胆酸合成过程中的限速酶的转录, 促进胆固醇转变为胆汁酸^[32], 加速低密度脂蛋白受体(low density lipoprotein receptor, LDLR)的降解, 从而减少肝细胞内胆固醇的摄取^[33], 调节胆固醇代谢. 此外, 研究还显示体外培养的巨噬细胞经细菌感染或脂多糖刺激后, LXR_s的活化可抑制一些炎症因子的表达^[34]. 用LXR_s激动剂GW3965刺激大鼠原代肝巨噬细胞可通过抑制肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)的表达, 从而减轻肝脏炎症^[35]. 胆固醇代谢失衡及肝脏内大量游离脂肪酸的堆积将加速NASH的病理进程^[36], 研究表明过量饮食胆固醇会加重高脂模型小鼠的肝脏炎症, 而LXR_s的活化可减轻肝脏炎症, 也会减少肝脏中胆固醇的积累^[37,38]. 因此, LXR_s的活化可能有抑制NASH的作用.

除NASH外, LXR_s也参与了病毒性肝炎的病理进程. HBx是乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)基因组编码的一种蛋白, 能增强HBV前基因组的转录及HBV的复制^[39]. 研究证明HBx可通过活化LXR α 诱导脂肪生成因子SREBP1和FAS的表达^[40]. 进一步研究还证实LXR α 可以介导伴随HBV感染的肝脂肪性变等疾病, 其机制正是由于HBx与LXR α 相互作用, 增强LXR α 的表达与活性, 细胞内脂质积累, 造成肝脏代谢的紊乱, 引起肝炎等疾病^[41]. 由此可见, LXR α 促进了HBV感染所致的肝脏疾病.

研究发现, LXR_s也可能抑制丙型肝炎病毒(hepatitis C Virus, HCV)的感染. Agnello等^[42], Monazahian等^[43]证实LDLR对HCV进入细胞是必需的. HCV会与极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein, VLDL)形成复合物, VLDL在脂蛋白脂肪酶的作用下变成中等密度脂蛋白(intermediate density lipoprotein, IDL)、低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL), 而IDL或LDL与HCV形成的复合物可以被肝细胞膜上的LDLR识别, 并进而摄取进入细胞. Zelcer等^[33]研

究表明E3泛素连接酶(Inducible degrader of the low-density lipoprotein receptor, IDOL)是LXR_s的靶基因, 他可在转录后水平调节LDLR的表达, 促进LDLR的降解. 最近Zeng等^[44]研究也证实LXR_s内源性和外源性激动剂都可上调IDOL的表达, 进一步促使LDLR的降解, 显著的抑制了HCV的感染.

2.3 LXR与肝纤维化 肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)位于肝窦内皮细胞与肝细胞之间的狄氏间隙内, 在肝纤维化进程中起着关键作用^[45]. 静止的HSC富含视黄酯、甘油三酯类和胆固醇酯, 并表达许多脂肪生成相关转录因子和脂肪生物合成因子^[46]. 肝损伤后, HSC被活化转分化成肌成纤维细胞(myofibroblastic, MFB), 并表达I型胶原和 α -平滑肌肌动蛋白(α -Smooth muscle actin, α -SMA)等标志蛋白, 丧失视黄酯和脂滴储存能力; 同时一些脂肪合成相关转录因子表达降低, 与肝纤维化密切相关^[47,48].

Beaven等^[49]用LXR_s激动剂处理野生型及LXR $\alpha\beta^{-/-}$ 小鼠HSC时发现, LXR_s活化可抑制野生型小鼠HSC中I型胶原、 α -SMA和一些促炎症因子的表达, 以及MFB形成和肝纤维化的发生, 而在LXR $\alpha\beta^{-/-}$ 小鼠HSC中则无此现象. 研究还发现, LXR_s的活化可诱导活化的HSC逆转为静止细胞; 且LXR $\alpha\beta^{-/-}$ 小鼠更易导致肝纤维化. 表明LXR_s有可通过抑制HSC的活化达到抗肝纤维化效应.

3 结论

由于具有促进肝脏内胆固醇的清除, 缓解炎症反应, 减轻NASH; 抑制HSC的活化; 促进LDLR降解, 抑制HCV进入细胞等特征, LXR_s有望作为一些肝病的治疗靶点. 然而LXR_s的活化可上调脂肪生成基因的表达, 导致肝脂肪病变. 因此, 未来研究应该着重于揭示LXR_s调节胆固醇代谢及炎症反应的直接靶基因及其机制, 研发特异性的LXR_s激动剂或拮抗剂, 避免LXR_s诱导的肝脂肪病变. SR9238是一种新的人工合成LXR反式激动剂, 可有效抑制肝脏的脂肪生成、炎症反应及肝脏脂质积累, 但会抑制血浆内胆固醇的水平^[50]. 因此还有待进一步开发LXR_s选择性激动剂或拮抗剂并探讨其在治疗肝病中的应用.

4 参考文献

- 1 Müllenbach R, Weber SN, Lammert F. Nuclear receptor variants in liver disease. *J Lipids* 2012;

■ 相关报道

LXR_s激动剂或拮抗剂的研发很值得期待, Griffett人工合成的LXR_s激动剂SR9238可有效抑制肝脏的脂肪生成及炎症反应, 这令人很惊喜, 但其可能抑制血浆内胆固醇的水平, 因此还有待进一步开发LXR_s选择性激动剂或拮抗剂.

■创新盘点

本文全面总结了LXR对肝脏疾病的利弊,旨在为其激动剂或拮抗剂的研发及临床应用提供新的思路。

- 2012: 934707 [PMID: 22523693 DOI: 10.1016/j.cell.2010.09.032.]
- 2 Geyeregger R, Zeyda M, Stulnig TM. Liver X receptors in cardiovascular and metabolic disease. *Cell Mol Life Sci* 2006; 63: 524-539 [PMID: 16389454]
- 3 Wójcicka G, Jamroz-Wiśniewska A, Horoszewicz K, Beltowski J. Liver X receptors (LXRs). Part I: structure, function, regulation of activity, and role in lipid metabolism. *Postepy Hig Med Dosw* (Online) 2007; 61: 736-759 [PMID: 18063918]
- 4 Lee JH, Zhou J, Xie W. PXR and LXR in hepatic steatosis: a new dog and an old dog with new tricks. *Mol Pharm* 2008; 5: 60-66 [PMID: 18072748]
- 5 Janowski BA, Grogan MJ, Jones SA, Wisely GB, Kliewer SA, Corey EJ, Mangelsdorf DJ. Structural requirements of ligands for the oxysterol liver X receptors LXRalpha and LXRbeta. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 266-271 [PMID: 9874807]
- 6 Mitro N, Mak PA, Vargas L, Godio C, Hampton E, Molteni V, Kreusch A, Saez E. The nuclear receptor LXR is a glucose sensor. *Nature* 2007; 445: 219-223 [PMID: 17187055]
- 7 Ohkoshi N, Shoji S. Reversible ageusia induced by losartan: a case report. *Eur J Neurol* 2002; 9: 315 [PMID: 11985643]
- 8 Bernotas RC, Singhaus RR, Kaufman DH, Travins JM, Ullrich JW, Unwalla R, Quinet E, Evans M, Nambi P, Olland A, Kauppi B, Wilhelmsson A, Goos-Nilsson A, Wrobel J. 4-(3-Aryloxyaryl)quinoline sulfones are potent liver X receptor agonists. *Bioorg Med Chem Lett* 2010; 20: 209-212 [PMID: 19932617 DOI: 10.1016/j.bmcl.2009.10.132]
- 9 Kratzer A, Buchebner M, Pfeifer T, Becker TM, Uray G, Miyazaki M, Miyazaki-Anzai S, Ebner B, Chandak PG, Kadam RS, Calayir E, Rathke N, Ahammer H, Radovic B, Trauner M, Hoefler G, Kompella UB, Fauler G, Levi M, Levak-Frank S, Kostner GM, Kratky D. Synthetic LXR agonist attenuates plaque formation in apoE^{-/-} mice without inducing liver steatosis and hypertriglyceridemia. *J Lipid Res* 2009; 50: 312-326 [PMID: 18812595 DOI: 10.1194/jlr.M800376-JLR200]
- 10 Hu B, Unwalla RJ, Goljer I, Jetter JW, Quinet EM, Berrodin TJ, Basso MD, Feingold IB, Nilsson AG, Wilhelmsson A, Evans MJ, Wrobel JE. Identification of phenylsulfone-substituted quinoxaline (WYE-672) as a tissue selective liver X-receptor (LXR) agonist. *J Med Chem* 2010; 53: 3296-3304 [PMID: 20350005 DOI: 10.1021/jm100034x]
- 11 艾正琳, 陈东风, 王晓敏. 肝X受体的研究进展. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 2013-2015
- 12 Zhao C, Dahlman-Wright K. Liver X receptor in cholesterol metabolism. *J Endocrinol* 2010; 204: 233-240 [PMID: 19837721 DOI: 10.1677/JOE-09-0271]
- 13 Schultz JR, Tu H, Luk A, Repa JJ, Medina JC, Li L, Schwendner S, Wang S, Thoolen M, Mangelsdorf DJ, Lustig KD, Shan B. Role of LXRs in control of lipogenesis. *Genes Dev* 2000; 14: 2831-2838 [PMID: 11090131]
- 14 Myhre AE, Agren J, Dahle MK, Tamburstuen MV, Lyngstadaas SP, Collins AJ, Foster SJ, Thiemermann C, Aasen AO, Wang JE. Liver X receptor is a key regulator of cytokine release in human monocytes. *Shock* 2008; 29: 468-474 [PMID: 17724434]
- 15 Pascual-García M, Villedor AF. Biological roles of liver X receptors in immune cells. *Arch Immunol Ther Exp* (Warsz) 2012; 60: 235-249 [PMID: 22696047 DOI: 10.1152/physrev.00004.2011]
- 16 Higuchi N, Kato M, Shundo Y, Tajiri H, Tanaka M, Yamashita N, Kohjima M, Kotoh K, Nakamura M, Takayanagi R, Enjoji M. Liver X receptor in cooperation with SREBP-1c is a major lipid synthesis regulator in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology Res* 2008; 38: 1122-1129 [PMID: 18684130 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2008.00382.x]
- 17 Fang DL, Wan Y, Shen W, Cao J, Sun ZX, Yu HH, Zhang Q, Cheng WH, Chen J, Ning B. Endoplasmic reticulum stress leads to lipid accumulation through upregulation of SREBP-1c in normal hepatic and hepatoma cells. *Mol Cell Biochem* 2013; 381: 127-137 [PMID: 23703028 DOI: 10.1007/s11010-013-1694-7]
- 18 Talukdar S, Hillgartner FB. The mechanism mediating the activation of acetyl-coenzyme A carboxylase-alpha gene transcription by the liver X receptor agonist T0-901317. *J Lipid Res* 2006; 47: 2451-2461 [PMID: 16931873]
- 19 Joseph SB, Laffitte BA, Patel PH, Watson MA, Matsukuma KE, Walczak R, Collins JL, Osborne TF, Tontonoz P. Direct and indirect mechanisms for regulation of fatty acid synthase gene expression by liver X receptors. *J Biol Chem* 2002; 277: 11019-11025 [PMID: 11790787]
- 20 Chu K, Miyazaki M, Man WC, Ntambi JM. Stearoyl-coenzyme A desaturase 1 deficiency protects against hypertriglyceridemia and increases plasma high-density lipoprotein cholesterol induced by liver X receptor activation. *Mol Cell Biol* 2006; 26: 6786-6798 [PMID: 16943421]
- 21 Repa JJ, Liang G, Ou J, Bashmakov Y, Lobaccaro JM, Shimomura I, Shan B, Brown MS, Goldstein JL, Mangelsdorf DJ. Regulation of mouse sterol regulatory element-binding protein-1c gene (SREBP-1c) by oxysterol receptors, LXRalpha and LXRbeta. *Genes Dev* 2000; 14: 2819-2830 [PMID: 11090130]
- 22 Lund EG, Peterson LB, Adams AD, Lam MH, Burton CA, Chin J, Guo Q, Huang S, Latham M, Lopez JC, Menke JG, Milot DP, Mitnaul LJ, Rex-Rabe SE, Rosa RL, Tian JY, Wright SD, Sparrow CP. Different roles of liver X receptor alpha and beta in lipid metabolism: effects of an alpha-selective and a dual agonist in mice deficient in each subtype. *Biochem Pharmacol* 2006; 71: 453-463 [PMID: 16325781]
- 23 Zhou J, Febbraio M, Wada T, Zhai Y, Kuruba R, He J, Lee JH, Khadem S, Ren S, Li S, Silverstein RL, Xie W. Hepatic fatty acid transporter Cd36 is a common target of LXR, PXR, and PPARgamma in promoting steatosis. *Gastroenterology* 2008; 134: 556-567 [PMID: 18242221 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.11.037]
- 24 Ferré P, Foufelle F. SREBP-1c transcription factor and lipid homeostasis: clinical perspective. *Horm Res* 2007; 68: 72-82 [PMID: 17344645]
- 25 Cha JY, Repa JJ. The liver X receptor (LXR) and hepatic lipogenesis. The carbohydrate-response element-binding protein is a target gene of LXR. *J Biol Chem* 2007; 282: 743-751 [PMID: 17107947]
- 26 Shimizugawa T, Ono M, Shimamura M, Yoshida K, Ando Y, Koishi R, Ueda K, Inaba T, Minekura H, Kohama T, Furukawa H. ANGPTL3 decreases very low density lipoprotein triglyceride clearance by inhibition of lipoprotein lipase. *J Biol Chem* 2002; 277: 33742-33748 [PMID: 12097324]
- 27 Grefhorst A, Elzinga BM, Voshol PJ, Plösch T, Kok T, Bloks VW, van der Sluijs FH, Havekes LM, Romijn

- JA, Verkade HJ, Kuipers F. Stimulation of lipogenesis by pharmacological activation of the liver X receptor leads to production of large, triglyceride-rich very low density lipoprotein particles. *J Biol Chem* 2002; 277: 34182-34190 [PMID: 12097330]
- 28 Cao G, Beyer TP, Yang XP, Schmidt RJ, Zhang Y, Bensch WR, Kauffman RF, Gao H, Ryan TP, Liang Y, Eacho PJ, Jiang XC. Phospholipid transfer protein is regulated by liver X receptors in vivo. *J Biol Chem* 2002; 277: 39561-39565 [PMID: 12177004]
- 29 de Boussac H, Pommier AJ, Dufour J, Trousson A, Caira F, Volle DH, Baron S, Lobaccaro JM. LXR, prostate cancer and cholesterol: the Good, the Bad and the Ugly. *Am J Cancer Res* 2013; 3: 58-69 [PMID: 23359865]
- 30 Steffensen KR, Jakobsson T, Gustafsson JÅ. Targeting liver X receptors in inflammation. *Expert Opin Ther Targets* 2013; 17: 977-990 [PMID: 23738533 DOI: 10.1517/14728222.2013.806490]
- 31 Musso G, Gambino R, Cassader M. Cholesterol metabolism and the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *Prog Lipid Res* 2013; 52: 175-191 [PMID: 23206728 DOI: 10.1016/j.plipres.2012.11.002]
- 32 Naik SU, Wang X, Da Silva JS, Jaye M, Macphee CH, Reilly MP, Billheimer JT, Rothblat GH, Rader DJ. Pharmacological activation of liver X receptors promotes reverse cholesterol transport in vivo. *Circulation* 2006; 113: 90-97 [PMID: 16365197]
- 33 Zelcer N, Hong C, Boyadjian R, Tontonoz P. LXR regulates cholesterol uptake through Idol-dependent ubiquitination of the LDL receptor. *Science* 2009; 325: 100-104 [PMID: 19520913 DOI: 10.1126/science.1168974]
- 34 Hong C, Tontonoz P. Coordination of inflammation and metabolism by PPAR and LXR nuclear receptors. *Curr Opin Genet Dev* 2008; 18: 461-467 [PMID: 18782619 DOI: 10.1016/j.gde.2008.07]
- 35 Wang YY, Dahle MK, Steffensen KR, Reinholt FP, Collins JL, Thiemermann C, Aasen AO, Gustafsson JA, Wang JE. Liver X receptor agonist GW3965 dose-dependently regulates lps-mediated liver injury and modulates posttranscriptional TNF- α production and p38 mitogen-activated protein kinase activation in liver macrophages. *Shock* 2009; 32: 548-553 [PMID: 19295476 DOI: 10.1097/SHK.0b013e3181a47f85]
- 36 吴涛, 季光. 非酒精性脂肪性肝病的代谢发病机制. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 2908-2914
- 37 Wouters K, van Bilsen M, van Gorp PJ, Bieghs V, Lütjohann D, Kerksiek A, Staels B, Hofker MH, Shiri-Sverdlov R. Intrahepatic cholesterol influences progression, inhibition and reversal of non-alcoholic steatohepatitis in hyperlipidemic mice. *FEBS Lett* 2010; 584: 1001-1005 [PMID: 20114046 DOI: 10.1016/j.febslet.2010.01.046.]
- 38 陈洁, 郑瑞丹, 徐成润, 伍伟平. LXR α 在大鼠非酒精性脂肪肝组织中的表达及其意义. *中华实验和临床病毒学杂志* 2009; 4: 265-268
- 39 Murakami S. Hepatitis B virus X protein: a multifunctional viral regulator. *J Gastroenterol* 2001; 36: 651-660 [PMID: 11686474]
- 40 Kim K, Kim KH, Kim HH, Cheong J. Hepatitis B virus X protein induces lipogenic transcription factor SREBP1 and fatty acid synthase through the activation of nuclear receptor LXR α . *Biochem J* 2008; 416: 219-230 [PMID: 18782084 DOI: 10.1042/BJ20081336]
- 41 Na TY, Shin YK, Roh KJ, Kang SA, Hong I, Oh SJ, Seong JK, Park CK, Choi YL, Lee MO. Liver X receptor mediates hepatitis B virus X protein-induced lipogenesis in hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2009; 49: 1122-1131 [PMID: 19105208 DOI: 10.1002/hep.22740]
- 42 Agnello V, Abel G, Elfahal M, Knight GB, Zhang QX. Hepatitis C virus and other flaviviridae viruses enter cells via low density lipoprotein receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 12766-12771 [PMID: 10535997]
- 43 Monazahian M, Böhme I, Bonk S, Koch A, Scholz C, Grethe S, Thomssen R. Low density lipoprotein receptor as a candidate receptor for hepatitis C virus. *J Med Virol* 1999; 57: 223-229 [PMID: 10022791]
- 44 Zeng J, Wu Y, Liao Q, Li L, Chen X, Chen X. Liver X receptors agonists impede hepatitis C virus infection in an Idol-dependent manner. *Antiviral Res* 2012; 95: 245-256 [PMID: 22713431 DOI: 10.1016/j.antiviral.2012.06.004]
- 45 高润平, 齐晓艳. 肝纤维化的发生机制与治疗进展. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 2263-2269
- 46 Tacke F, Weiskirchen R. Update on hepatic stellate cells: pathogenic role in liver fibrosis and novel isolation techniques. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 6: 67-80 [PMID: 22149583 DOI: 10.1586/egh.11.92]
- 47 Blaner WS, O'Byrne SM, Wongsiriroj N, Kluwe J, D'Ambrosio DM, Jiang H, Schwabe RF, Hillman EM, Piantadosi R, Libien J. Hepatic stellate cell lipid droplets: a specialized lipid droplet for retinoid storage. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1791: 467-473 [PMID: 19071229 DOI: 10.1016/j.bbalip.2008.11.001]
- 48 Tsukamoto H, Zhu NL, Asahina K, Mann DA, Mann J. Epigenetic cell fate regulation of hepatic stellate cells. *Hepatol Res* 2011; 41: 675-682 [PMID: 21504520 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2011.00804.x]
- 49 Beaven SW, Wroblewski K, Wang J, Hong C, Bensing S, Tsukamoto H, Tontonoz P. Liver X receptor signaling is a determinant of stellate cell activation and susceptibility to fibrotic liver disease. *Gastroenterology* 2011; 140: 1052-1062 [PMID: 21134374 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.11.053]
- 50 Griffett K, Solt LA, El-Gendy Bel-D, Kamenecka TM, Burris TP. A liver-selective LXR inverse agonist that suppresses hepatic steatosis. *ACS Chem Biol* 2013; 8: 559-567 [PMID: 23237488 DOI: 10.1021/cb300541g]

■同行评价

本文内容较新颖, 条理较清晰, 有一定指导意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



¹²⁵I粒子组织间插植治疗肝癌的进展

全宇梭, 曹秀峰

■背景资料

放射性粒子组织间植入近距离治疗恶性肿瘤,是指将放射性粒子直接永久植入肿瘤组织内或是插植于手术切除的肿瘤床、残存癌及淋巴转移的途径,利用其释放低能量光子产生的 γ 射线持续照射肿瘤细胞并将其杀伤的一种新的技术方法。可以减轻手术创伤、缩短手术时间、减少术后并发症;粒子植入与手术和化疗配合,有望提高肿瘤治疗的彻底性,解决在恶性肿瘤治疗中起关键作用的肿瘤局部复发与再生问题;能够有效延长患者生存期和提高患者的生存质量。

全宇梭, 曹秀峰, 南京医科大学附属南京医院肿瘤中心外科
江苏省南京市 210006

全宇梭, 在读研究生, 主要从事¹²⁵I粒子植入治疗恶性肿瘤的研究。

作者贡献分布: 本文综述由全宇梭完成; 曹秀峰负责审核。

通讯作者: 曹秀峰, 教授, 210006, 江苏省南京市雨花台区共青团路32号, 南京医科大学附属南京医院肿瘤中心外科。

cx551101@sina.com

收稿日期: 2013-06-27 修回日期: 2013-08-07

接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-10-18

Brachytherapy with iodine-125 seeds for hepatocellular carcinoma

Yu-Suo Tong, Xiu-Feng Cao

Yu-Suo Tong, Xiu-Feng Cao, Department of Surgery, Oncology Center, Affiliated Nanjing Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210006, Jiang su Province, China

Correspondence to: Xiu-Feng Cao, Professor, Department of Surgery, Oncology Center, Affiliated Nanjing Hospital of Nanjing Medical University, 32 Gongqingtan Road, Yuhuai District, Nanjing 210006, Jiangsu Province, China. cx551101@sina.com

Received: 2013-06-27 Revised: 2013-08-07

Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-10-18

Abstract

¹²⁵I seeds have good physical and radiobiological characteristics. Interstitial brachytherapy has advantages of minimal invasive, precise stereotactic treatment and high local control rate and plays an important role in the treatment of hepatocellular carcinoma (HCC). Brachytherapy with ¹²⁵I seeds has been used in unresectable HCC, HCC with portal vein tumor thrombus, intrahepatic cholangiocarcinoma, hepatic metastases, and some other tumors, providing encouraging survival rates. Radiation-related complications are rare in highly selected patients. In a word, ¹²⁵I brachytherapy is a safe and effective treatment for newly diagnosed or recurrent unresectable intrahepatic malignancies and can provide better survival rates and decent quality of life.

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

Key Words: ¹²⁵I seeds; Brachytherapy; Hepatocellular carcinoma

Tong YS, Cao XF. Brachytherapy with iodine-125 seeds for hepatocellular carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(29): 3072-3077 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3072.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3072>

摘要

¹²⁵I粒子由于其良好的物理学及放射生物学特性,并且组织间插植治疗具有损伤小,精确适形、肿瘤局部控制率高等优点,在肝癌的非手术治疗中起到了越来越重要的作用。目前¹²⁵I粒子植入主要治疗不能手术切除的原发性肝癌、肝癌合并门静脉癌栓、胆管细胞癌、肝转移癌等,并且对于严格选择的患者鲜有并发症发生。总的来说,对于新发或者复发不能手术切除或完全切除的原发性肝癌或肝转移癌,粒子植入治疗能够显著改善患者的生存率和生活质量。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: ¹²⁵I粒子; 组织间插植治疗; 原发性肝癌

核心提示: 植入治疗由于持续低剂量率照射作用于各个细胞周期,阻断细胞周期活动,同时由于其持续的低剂量照射增加了再氧合均提高了肿瘤组织的放射敏感性。

全宇梭, 曹秀峰. ¹²⁵I粒子组织间插植治疗肝癌的进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3072-3077 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3072.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3072>

0 引言

原发性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是严重危害人类健康的常见恶性肿瘤,在全球范围内HCC的发病率在所有恶性肿瘤中居第6位,在恶性肿瘤致死率中居第3位,据统计仅2008年新诊断HCC患者人数就接近70万,由于其较高的致死率,使得其发病率和死亡率近乎相等^[1,2]。目前HCC治疗首选手术切除或原位肝移植,但是由于缺乏早期临床症状,大部分患者就诊时已发生肝外转移或血管侵犯以及供体缺乏等原因,

■同行评议者

肖文华, 主任医师, 中国人民解放军总医院第一附属医院肿瘤科

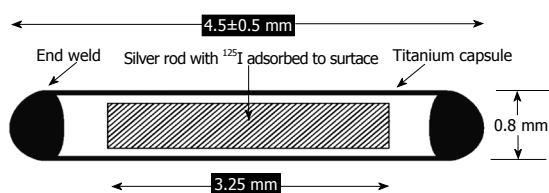


图1 ^{125}I 粒子模型示意图。

能够从手术治疗中获益的患者不足15%^[3]。对于不能手术切除的患者, 目前肝动脉化学栓塞(transhepatic arterial chemoembolization, TACE)治疗成为首选^[4], 但由于肿瘤较大, 肿瘤的双重血供等原因, 使得部分肿瘤不能达到完全坏死, 造成肿瘤在局部或邻近组织复发的可能性增加^[5]。近年来由于放射性生物学观念的转变以及三维适形等放疗技术不断进步, 使得外放疗治疗HCC取得一定进步, 但因治疗剂量(>60 Gy, 而正常肝脏耐受剂量为30 Gy)可能造成严重放射性肝脏损伤以及周围脏器如小肠、肾脏等放射剂量限制等, 在一定程度上限制其应用及疗效^[6-8]。 ^{125}I 粒子植入治疗肿瘤已有近60年历史, 通过组织间插植治疗的方式用于多种肿瘤的治疗, 如前列腺癌、脑胶质瘤、头颈部肿瘤、胰腺癌等^[9-13], 特别在前列腺癌和脑胶质瘤的治疗中, 已取得了较好的临床效果^[13]。 ^{125}I 粒子植入治疗肝癌已有近20年历史, 由于其良好的物理及放射生物学特性, 在肝癌的局部治疗中发挥越来越重要的作用。长期随访表明患者的生存率和生活质量均得到显著改善。本文总结国内外近10年来 ^{125}I 粒子植入治疗肝癌的相关文献, 就 ^{125}I 粒子的物理学及放射生物学特性、技术方法、适应症、生存率、存在问题等做一综述。

1 ^{125}I 粒子组织间插植治疗

1.1 ^{125}I 粒子的物理特性 ^{125}I 粒子呈圆柱形, 外层由钛金属包被, 长4.5 mm, 直径0.8 mm^[14](图1), 单个粒子的放射性活度约为0.5-0.8 mCi, 半衰期为59.4-60.2 d, 初始剂量率为7 cGy/h, 240 d释放总治疗剂量的94%^[15,16], ^{125}I 粒子主要通过电子俘获衰变, 共释放3种类型的射线, 分别为27.4 keV X线, 31.4 keV γ 线, 35.8 keV γ 线, 平均射线能量为28.5 keV。 ^{125}I 粒子为低能放射性核素, 在组织中的半价层为17 mm, 而在铅则为0.025 mm^[15], 从而使对医务人员的防护简单易行。常用于植入治疗肝内肿瘤的放射性粒子 ^{192}Ir 、 ^{90}Y 、 ^{103}Pd 的物理性质比较见^[17-19](表1)。

1.2 组织间插植治疗 组织间插植治疗是将具有

放射性功能的核素所制成的籽源经术中或在CT或B超等的引导下植入肿瘤部位。通过放射性核素衰变所产生的射线持续不断的照射达到杀伤肿瘤的目的^[20]。组织间插植治疗属于内照射范畴, ^{125}I 粒子释放的 γ 射线在组织间可通过直接和间接两种方式发挥作用, 如 γ 射线直接作用于有生物活性的大分子, 如核酸和一些酶类等, 通过电离激发引起化学键的断裂, 导致肿瘤细胞代谢和功能障碍, 或通过光电效应、康普顿效应等产生次级电离, 产生大量氧化自由基, 间接造成生物大分子的损伤, 达到杀伤肿瘤细胞的作用^[21]。这种治疗具有高度的适形性, 使得肿瘤靶区具有较高的照射剂量, 而周围正常组织受照射剂量较少。当然组织间插植治疗不等同与常规放疗, 传统的放射治疗的剂量率一般为200 cGy/min, 而组织间插植治疗则要低的多, 一般低于100 cGy/h, 这种低剂量率的持续照射由于损伤修复在受到亚致死剂量照射的周围正常组织明显高于肿瘤治疗区, 减少周围正常组织的放射性损伤, 提高了治疗效果^[15]。使得组织间插植治疗对于不能手术切除的HCC、肝转移癌具有良好的应用前景。

1.3 ^{125}I 粒子生物学特性 不同的细胞分裂周期对射线的敏感性是不同的, 其中放射敏感最高的时相是在有丝分裂期(M)和DNA合成后期(G_2)^[22]。 ^{125}I 粒子植入治疗由于持续低剂量率照射作用于各个细胞周期, 阻断细胞周期活动, 同时由于其持续的低剂量照射增加了再氧合均提高了肿瘤组织的放射敏感性。克服传统外放疗作用于单个细胞周期、乏氧细胞对射线抗拒等缺点^[23]。在Cron等^[24]利用大鼠研究 ^{125}I 粒子持续的低剂量照射对肿瘤微环境的改变(如灌注、氧分压)的研究中, 结果显示: 在粒子植入的3 d后, 距离粒子2-4 mm处血流灌注明显增加, 而 PO_2 (氧分压)增加, 则是在植入后的1-3 d。因此此时如果同时合并常规放疗, 应该在粒子植入后的1-3 d进行, 因为此时 PO_2 较高, 增加了肿瘤对射线的放射敏感性。同样如果合并同步化学治疗, 应该在粒子植入后的3-4 d进行, 因为此时血流灌注较高。

2 技术方法

所有需要粒子植入的患者均必须有明确的影像学或病理学诊断。粒子植入具体方法在很多文献中都有详细的报道, 常见单纯粒子植入、手术、放疗或TACE联合粒子植入等^[25-27]。在单纯

■ 研发前沿

如何提高肝癌患者远期生存率是当前临床医生面临的比较棘手的问题, 也是今后我们研究的热点。粒子植入联合手术以及放化疗的综合治疗将在一定程度上使部分肝癌患者受益。

■相关报道

在曹秀峰等^[25]粒子组织间植入治疗恶性肿瘤的现状和未来的研究中,详细阐述了¹²⁵I粒子的治疗恶性肿瘤的中应用,以及目前存在的一些不足。

表 1 常用于治疗肝内肿瘤的放射性核素物理性质比较

	¹²⁵ I	¹⁹² Ir	⁹⁰ Y	¹⁰³ Pd
半衰期($T_{1/2}$)	59.4–60.2 d	74.5 d	64.2 h	17 d
平均能量(keV)	28	360	937	21
射线类型	α 、 γ	γ	β	γ
组织半价层(mm)	17	63	2.5	16
初始计量率(cGy/h)	7	40	?	18

粒子植入过程中: (1)首先在粒子植入前根据患者的CT或MRI信息确定肿瘤的大小、位置、形状、边界以及和周围重要组织的关系,然后将患者的信息输入治疗计划系统(treatment planning system, TPS)模拟布源,计算出所需匹配周边剂量(matched peripheral dose, MPD),根据单个粒子活度计算所需的植入的粒子总数以及每个粒子植入的位置; (2)在粒子植入时通过CT或B超确定体表穿刺点,局麻后经皮肤快速穿刺至患者肝脏,按照CT或超声引导将18 G穿刺针定位于肿瘤部位,然后按照术前计划后退式植入¹²⁵I粒子,每个粒子间距0.5–1 cm(单个粒子在1.7 cm内具有杀伤肿瘤细胞的作用),然后退出穿刺针,局部压迫止血。在我国因为HCC患者多合并肝硬化以及凝血功能障碍,因此穿刺点应选择在肝组织及大血管较少的部位,并且当穿刺针到达肝包膜时,应嘱患者屏气,减少呼吸运动造成的肝脏损伤出血;对于严重黄疸的患者应首先改善黄疸后减轻肿瘤水肿再行粒子植入; (3)在植入完成后再次复查CT,并和之前的定位CT进行比较,进行质量验证,以确保粒子植入位置准确,对可能出现的“冷区”进行及时补种; (4)术后进行常规的止血及预防感染治疗,并留院观察3–7 d^[23]。

3 ¹²⁵I粒子临床应用及生存率

¹²⁵I粒子组织间插植主要治疗不能手术切除的HCC、HCC合并门静脉癌栓(portal vein tumor thrombosis, PVTT)、胆管细胞癌、肝转移癌等,同时也可以联合手术、放疗或TACE等治疗。所有患者在治疗开始前应检查血常规、肝肾功能、凝血功能等,对于WBC $<3.0 \times 10^9/L$; PLT $<70 \times 10^9/L$; 严重地凝血功能障碍、KPS评分 <60 分; 肝功能child-push分级C级; 预计生存时间 <3 mo的患者则不能纳入本治疗。 (1)¹²⁵I粒子植入治疗HCC: 根治性手术切除术或肝移植一直是HCC治疗的首选,对于严格选择的患者,患者的5年

生存率可达60%–70%^[28],然而大部分患者在确诊时已属中晚期以及合并肝硬化和肝脏储备功能的差异等因素,能够根治性切除的患者通常不足30%,并且术后每年约有25%的肿瘤复发,不能根治性切除的患者平均生存时间不超过1年^[29,30],而¹²⁵I粒子单纯植入治疗或联合手术或TACE的综合治疗对此类患者提高整体生存率,预防局部复发中起到了非常重要的作用。在Lin等^[31]1.5 T磁共振引导下¹²⁵I粒子植入治疗肝癌的报道中,23例患者中位随访期23.5 mo,1年、2年生存率分别为95.7%、82.7%,平均生存时间为18 mo,近期疗效显著。在Chen等^[32]报道了手术联合¹²⁵I粒子植入治疗肝癌的研究中,68例患者分为单纯手术组(34例)和术后联合¹²⁵I粒子植入治疗组(34例),中位随访期47.6 mo,术后肿瘤复发时间联合治疗组显著长于单纯手术组(60 mo vs 36.7 mo),并且治疗后1、3、5年生存率联合治疗组也显著优于单纯治疗组(94.12%, 73.53%, 55.88% vs 88.24%, 52.94%, 29.41%)。在宋进华等^[33]¹²⁵I粒子植入联合TACE治疗肝癌的研究中,观察组(28例, TACE联合¹²⁵I粒子植入治疗)治疗后4 mo控制率以及1年生存率分别为75%和72%,较之对照组(32例,单纯TACE治疗)37.5%和43.3%均有明显提高; (2)HCC合并PVTT: 原发性肝癌较易侵犯门静脉,约有30%–62.2% HCC患者合并PVTT,癌栓阻断门静脉血流,加重肝硬化患者门静脉高压,并且PVTT是肝内转移以及治疗后复发的主要原因,是影响患者预后的重要因素之一,此类患者如未加治疗,平均生存时间仅为2.4–4 mo^[14,34,35]。传统外科手术、外放疗以及全身化疗等疗效均欠佳,在Chuan-Xing等^[36]TACE联合¹²⁵I粒子植入治疗HCC合并PVTT的研究中,b组(TACE联合门静脉扩张以及粒子植入)中位生存期显著优于a组(TACE联合门静脉扩张),8.9 mo vs 5.7 mo,以及罗剑钧等^[37]报道的¹²⁵I粒子联合支架及TACE治疗PVTT的研究中,50例患者平均生存370.1 d,较之Le Treut等^[38]报道的对26例原发性肝癌伴门静脉癌栓患者行手术切除,平均生存时间9 mo,以及Yamada等^[39]报道的对19例原发性肝癌合并门静脉癌栓患者行三维适形放疗联合肝动脉化疗,总的有效率为57.6%,1年和2年生存率分别为40.6%和10.2%均有提高; (3)胆管细胞癌: 胆管细胞癌是仅次于HCC的肝内原发性恶性肿瘤,由于其高度恶性的病理学特性,使得能够手术治疗患者不足40%,并且术后50%–80%患者存在复发可能^[40,41]。

在曹贵文等^[42] ^{125}I 粒子植入治疗胆管细胞癌的研究中, 植入术后6 mo、1、3年的生存率分别为90.6%(29/32)、74.3%(26/32)、40%(14/32). Nag等^[43]报道中4例胆管细胞癌患者, 2例分别无病生存20及40 mo, 以及吕进等^[25]的报道中2例胆管细胞癌患者在随访结束时(40 mo)仍然存活, 表现出 ^{125}I 粒子在胆管细胞癌治疗方面的优势; (4) 其他肝内恶性肿瘤: 结直肠癌患者易发肝转移, 15%-25%结直肠癌患者在最初确诊时就已经发生肝脏转移, 而最终约有50%的结直肠癌患者发生肝脏转移, 这类患者手术切除仍是首选, 可使5年生存率达到50%-60%, 然而由于肝内转移瘤常为多发性, 肿瘤临近大血管, 肝外其他疾病等, 使得能够手术切除的患者不足20%, 不能手术的患者5年生存率近乎为0^[44,45]. 而 ^{125}I 粒子植入治疗肝内转移癌在大量文献报道中表现出较好的临床价值. 在Nag等^[43]报道的 ^{125}I 粒子治疗肝内恶性肿瘤的长期随访中, 60例结直肠癌合并肝转移患者1年、3年、5年的生存率分别为73%、23%、5%, 中位生存时间20 mo, 在这次长期随访研究中, Nag等^[43]发现粒子植入后患者的生存率与肝内转移癌的数目、之前肝脏是否进行手术切除以及粒子植入靶区的大小具有明显的相关性. 植入前肝脏未行手术切除, 肝内转移瘤单发, 粒子植入靶区 $<20\text{ cm}^3$ 是提示预后良好的重要标志.

4 ^{125}I 粒子植入治疗存在的问题

(1) 目前大量文献报道了肝内肿瘤粒子植入术后的并发症, 特别是穿刺引起的大出血在一定程度上限制了粒子植入的治疗, 但在CT或B超穿刺前的精确定位下, 这种情况鲜有发生. 其他如放射性肺炎、放射性肠炎、粒子迁移、放射性肝炎、胆汁瘘、胰瘘、肝衰竭等^[46-48]发生率均远低于TACE以及外放疗相关并发症发生率; (2) 目前 ^{125}I 粒子治疗肝癌方面尚无统一的剂量标准, 相关数据及方法多来自粒子植入治疗前列腺癌的研究以及来自医生的临床经验. 最佳处方剂量以及最佳粒子活度的确定仍需我们进一步的研究; (3) ^{125}I 虽属于低能放射性核素, 但在治疗过程中仍有可能存在放射性污染问题, 以及对患者及其周围人群的剂量监测和防护一直被忽视, 这些仍需引起我们足够的重视; (4) ^{125}I 初始剂量率相对较低(7.7 cGy/h), 适合分化程度较好、恶性程度低的肝癌, 而对于生长迅速、分化较差的肝癌则不太适合. 目前肝癌粒子植入治疗多

为单一粒子植入, 复合粒子植入治疗仍相对较少. 新型复合粒子的出现或将有助于解决不同分期、不同分化程度肝癌治疗问题.

5 结论

^{125}I 粒子组织间插植治疗是HCC重要的辅助治疗手段, 其优良的物理及放射生物学特性, 以及组织间插植具有损伤小、高度适形, 局部控制率高等优点使得其在HCC的局部治疗中发挥越来越重要的作用, 提高了患者的生存率和生活质量. 然而组织间插植治疗仅为局部治疗, 而肿瘤为全身性疾病, 如何在综合治疗中发挥作用, 提高患者的远期预后, 仍需要我们进一步的实验和研究.

6 参考文献

- Forner A, Llovet JM, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2012; 379: 1245-1255 [PMID: 22353262 DOI: 10.1016/S0140-6736(11)61347-0]
- 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]
- Abou-Alfa GK, Schwartz L, Ricci S, Amadori D, Santoro A, Figuer A, De Greve J, Douillard JY, Lathia C, Schwartz B, Taylor I, Moscovici M, Saltz LB. Phase II study of sorafenib in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol* 2006; 24: 4293-4300 [PMID: 16908937 DOI: 10.1200/JCO.2005.01.3441]
- Liao M, Huang J, Zhang T, Wu H. Transarterial chemoembolization in combination with local therapies for hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *PLoS One* 2013; 8: e68453 [PMID: 23844203 DOI: 10.1371/journal.pone.0068453]
- Muhammad A, Dhamija M, Vidyarthi G, Amodeo D, Boyd W, Miladinovic B, Kumar A. Comparative effectiveness of traditional chemoembolization with or without sorafenib for hepatocellular carcinoma. *World J Hepatol* 2013; 5: 364-371 [PMID: 23898369 DOI: 10.4254/wjh.v5.i7.364]
- Ibrahim SM, Lewandowski RJ, Sato KT, Gates VL, Kulik L, Mulcahy MF, Ryu RK, Omary RA, Salem R. Radioembolization for the treatment of unresectable hepatocellular carcinoma: a clinical review. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 1664-1669 [PMID: 18350597]
- 曾昭冲. 肝细胞肝癌放射治疗现状与展望. *中华放射肿瘤学杂志* 2009; 16: 961-965
- 王中堂, 李宝生, 闫婧, 张自成, 尹勇, 刘娟. 原发性肝癌三维适形放疗后放射性肝病的相关因素分析. *中华放射肿瘤学杂志* 2007; 16: 281-285
- Heysek RV. Modern brachytherapy for treatment of prostate cancer. *Cancer Control* 2007; 14: 238-243 [PMID: 17615529]
- Ruge MI, Simon T, Suchorska B, Lehrke R, Hamisch C, Koerber F, Maarouf M, Treuer H, Berthold F, Sturm V, Voges J. Stereotactic brachytherapy with iodine-125 seeds for the treatment of inoperable low-grade gliomas in children: long-term outcome. *J Clin Oncol* 2011; 29: 4151-4159 [PMID: 21969508]

■创新盘点

本文侧重点在于介绍 ^{125}I 粒子在治疗肝内恶性肿瘤中的应用, 从粒子的生理特性, 放射生物学特征以及技术方法到临床疗效等方面叙述以及目前存在相关不足, 使读者能够详细全面了解.

■应用要点

手术切除原发性肝癌以及肝脏转移癌仍然是治疗肝内恶性肿瘤最佳方法。临床实践证明¹²⁵I粒子联合手术或化疗治疗中晚期肝内恶性肿瘤能够延长患者的生存时间。随着这一技术的不断完善, 对治疗恶性肿瘤具有良好的应用前景。

- DOI: 10.1200/JCO.2011.37.3381]
- 21 Jiang YL, Meng N, Wang JJ, Ran WQ, Yuan HS, Qu A, Yang RJ. Percutaneous computed tomography/ultrasonography-guided permanent iodine-125 implantation as salvage therapy for recurrent squamous cell cancers of head and neck. *Cancer Biol Ther* 2010; 9: 959-966 [PMID: 20873398 DOI: 10.4161/cbt.9.12.11700]
- 22 Wang KX, Jin ZD, Du YQ, Zhan XB, Zou DW, Liu Y, Wang D, Chen J, Xu C, Li ZS. EUS-guided celiac ganglion irradiation with iodine-125 seeds for pain control in pancreatic carcinoma: a prospective pilot study. *Gastrointest Endosc* 2012; 76: 945-952 [PMID: 22841501 DOI: 10.1016/j.gie.2012.05.032]
- 23 曹秀峰, 吕进. 125I粒子组织间植入治疗恶性肿瘤的现状和未来. *中华肿瘤杂志* 2012; 34: 81-83
- 24 Luo J, Yan Z, Liu Q, Qu X, Wang J. Endovascular placement of iodine-125 seed strand and stent combined with chemoembolization for treatment of hepatocellular carcinoma with tumor thrombus in main portal vein. *J Vasc Interv Radiol* 2011; 22: 479-489 [PMID: 21463757 DOI: 10.1016/j.jvir.2010.11.029]
- 25 Schwarz SB, Thon N, Nikolajek K, Niyazi M, Tonn JC, Belka C, Kreth FW. Iodine-125 brachytherapy for brain tumours--a review. *Radiat Oncol* 2012; 7: 30 [PMID: 22394548 DOI: 10.1186/1748-717X-7-30]
- 26 王东东, 曹秀峰, 王学浩. 放射性粒子125I和103Pd植入治疗肝癌的计量学研究进展. *中华肿瘤防治杂志* 2011; 18: 229-232
- 27 Morgan B, Kennedy AS, Lewington V, Jones B, Sharma RA. Intra-arterial brachytherapy of hepatic malignancies: watch the flow. *Nat Rev Clin Oncol* 2011; 8: 115-120 [PMID: 20924355 DOI: 10.1038/nrclinonc.2010.153]
- 28 Raben A, Mychalczak B, Brennan MF, Minsky B, Anderson L, Casper ES, Harrison LB. Feasibility study of the treatment of primary unresectable carcinoma of the pancreas with 103Pd brachytherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1996; 35: 351-356 [PMID: 8635943]
- 29 Kulik LM, Carr BI, Mulcahy MF, Lewandowski RJ, Atassi B, Ryu RK, Sato KT, Benson A, Nemcek AA, Gates VL, Abecassis M, Omary RA, Salem R. Safety and efficacy of 90Y radiotherapy for hepatocellular carcinoma with and without portal vein thrombosis. *Hepatology* 2008; 47: 71-81 [PMID: 18027884 DOI: 10.1002/hep.21980]
- 30 王俊杰, 修典荣, 冉维强, 白静, 朱丽红, 刘江平. 术中超声引导放射性125I粒子植入治疗胰腺癌. *中华放射医学与防护杂志* 2005; 25: 431-443
- 31 陈亿, 罗开元, 李湛旭. 125I粒子近距离植入治疗结直肠癌肝转移的研究进展. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 3324-3327
- 32 Wang Y, Ji P, Liu J, Broadus RR, Xue F, Zhang W. Centrosome-associated regulators of the G(2)/M checkpoint as targets for cancer therapy. *Mol Cancer* 2009; 8: 8 [PMID: 19216791 DOI: 10.1186/1476-4598-8-8]
- 33 Zhang FJ, Li CX, Jiao DC, Zhang NH, Wu PH, Duan GF, Wu YX. CT guided 125Iodine seed implantation for portal vein tumor thrombus in primary hepatocellular carcinoma. *Chin Med J (Engl)* 2008; 121: 2410-2414 [PMID: 19102958]
- 34 Cron GO, Beghein N, Crockart N, Chavée E, Bernard S, Vynckier S, Scalliet P, Gallez B. Changes in the tumor microenvironment during low-dose-rate permanent seed implantation iodine-125 brachytherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005; 63: 1245-1251 [PMID: 16253779 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2005.07.971]
- 35 吕进, 曹秀峰. 手术联合125I粒子永久性植入治疗肝癌的临床研究. *现代肿瘤医学* 2010; 18: 107-110
- 36 戴圣斌, 王忠阳, 仇春勤, 许万松. 三维适形放疗联合125I粒子植入治疗晚期巨块型肝癌的临床观察. *临床肿瘤学杂志* 2010; 15: 1127-1130
- 37 张云峰, 曹贵文, 崔新江, 宁厚法, 杨莉莉. TACE与125I放射性粒子植入序贯治疗HCC的临床研究. *医学影像学杂志* 2010; 9: 1377-1380
- 38 Llovet JM, Bruix J. Novel advancements in the management of hepatocellular carcinoma in 2008. *J Hepatol* 2008; 48 Suppl 1: S20-S37 [PMID: 18304676 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.01.022]
- 39 Ye SL, Takayama T, Geschwind J, Marrero JA, Bronowicki JP. Current approaches to the treatment of early hepatocellular carcinoma. *Oncologist* 2010; 15 Suppl 4: 34-41 [PMID: 21115579 DOI: 10.1634/theoncologist.2010-S4-34]
- 40 Mohnike K, Wiensers G, Pech M, Seidensticker M, Rühl R, Lopez-Haenninen E, Ricke J. Image-guided interstitial high-dose-rate brachytherapy in hepatocellular carcinoma. *Dig Dis* 2009; 27: 170-174 [PMID: 19546556 DOI: 10.1159/000218350]
- 41 Lin ZY, Lin J, Lin C, Li YG, Chen SM, Hu JP, Hu R, Chen J. 1.5T conventional MR-guided iodine-125 interstitial implants for hepatocellular carcinoma: feasibility and preliminary clinical experience. *Eur J Radiol* 2012; 81: 1420-1425 [PMID: 21459532 DOI: 10.1016/j.ejrad.2011.03.043]
- 42 Chen K, Xia Y, Wang H, Xiao F, Xiang G, Shen F. Adjuvant iodine-125 brachytherapy for hepatocellular carcinoma after complete hepatectomy: a randomized controlled trial. *PLoS One* 2013; 8: e57397 [PMID: 23468980 DOI: 10.1371/journal.pone.0057397]
- 43 宋进华, 顾建平, 楼文胜, 何旭, 陈亮, 陈国平, 苏洁波, 汪涛, 曹秀峰. 125I粒子植入联合肝动脉栓塞化疗治疗肝癌. *中华放射学杂志* 2008; 8: 802-806
- 44 Kousidou OC, Mitropoulou TN, Roussidis AE, Kletsas D, Theocharis AD, Karamanos NK. Genistein suppresses the invasive potential of human breast cancer cells through transcriptional regulation of metalloproteinases and their tissue inhibitors. *Int J Oncol* 2005; 26: 1101-1109 [PMID: 15754008]
- 45 Zhang L, Mu W, Hu CF, Huang XQ. Treatment of portal vein tumor thrombus using 125Iodine seed implantation brachytherapy. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 4876-4879 [PMID: 20939119 DOI: 10.3748/wjg.v16.i38.4876]
- 46 Chuan-Xing L, Xu H, Bao-Shan H, Yong L, Pei-Jian S, Xian-Yi Y, Xiao-Ning L, Li-Gong L. Efficacy of therapy for hepatocellular carcinoma with portal vein tumor thrombus: chemoembolization and stent combined with iodine-125 seed. *Cancer Biol Ther* 2011; 12: 865-871 [PMID: 22037354 DOI: 10.4161/cbt.12.10.17676]
- 47 罗剑钧, 颜志平, 王建华, 刘清欣, 瞿旭东, 张雯. 腔内植入125I粒子条及支架联合经动脉化栓治疗原发性肝癌合并门脉主干癌栓的疗效. *中华肿瘤杂志* 2011; 7: 535-539
- 48 Le Treut YP, Hardwigsen J, Ananian P, Saïsse J, Grégoire E, Richa H, Campan P. Resection of hepatocellular carcinoma with tumor thrombus in the major vasculature. A European case-control series. *J Gastrointest Surg* 2006; 10: 855-862 [PMID: 16769542 DOI: 10.1016/j.gassur.2005.12.011]

- 39 Yamada K, Izaki K, Sugimoto K, Mayahara H, Morita Y, Yoden E, Matsumoto S, Soejima T, Sugimura K. Prospective trial of combined transcatheter arterial chemoembolization and three-dimensional conformal radiotherapy for portal vein tumor thrombus in patients with unresectable hepatocellular carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003; 57: 113-119 [PMID: 12909223 DOI: 10.1016/S0360-3016(03)00434-6]
- 40 Fu Y, Yang W, Wu W, Yan K, Xing BC, Chen MH. Radiofrequency ablation for postoperative recurrences of intrahepatic cholangiocarcinoma. *Chin J Cancer Res* 2011; 23: 295-300 [PMID: 23359754 DOI: 10.1007/s11670-011-0295-9]
- 41 Poultsides GA, Zhu AX, Choti MA, Pawlik TM. Intrahepatic cholangiocarcinoma. *Surg Clin North Am* 2010; 90: 817-837 [PMID: 20637950 DOI: 10.1016/j.suc.2010.04.011]
- 42 曹贵文, 崔新江, 宁厚法, 杨莉莉, 张云峰. ¹²⁵I放射性粒子永久性植入术用于32例高位胆管癌效果观察. *山东医药* 2010; 50: 92-93
- 43 Nag S, DeHaan M, Scruggs G, Mayr N, Martin EW. Long-term follow-up of patients of intrahepatic malignancies treated with iodine-125 brachytherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006; 64: 736-744 [PMID: 16274935 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2005.08.029]
- 44 Tzeng CW, Aloia TA. Colorectal liver metastases. *J Gastrointest Surg* 2013; 17: 195-201; quiz 201-202 [PMID: 23054896 DOI: 10.1007/s11605-012-2]
- 45 中华医学会外科学分会胃肠外科学. 结直肠癌肝转移诊断和综合治疗指南(V 2010). *中华胃肠外科杂志* 2010; 13: 457-470
- 46 Gasent Blesa JM, Dawson LA. Options for radiotherapy in the treatment of liver metastases. *Clin Transl Oncol* 2008; 10: 638-645 [PMID: 18940744]
- 47 Zhu AX, Wallner KE, Frivold GP, Ferry D, Jutzy KR, Foster GP. Prostate brachytherapy seed migration to the right coronary artery associated with an acute myocardial infarction. *Brachytherapy* 2006; 5: 262-265 [PMID: 17118321 DOI: 10.1016/j.brachy.2006.08.004]
- 48 Sugawara A, Nakashima J, Shigematsu N, Kunieda E, Kubo A. Prediction of seed migration after transperineal interstitial prostate brachytherapy with I-125 free seeds. *Brachytherapy* 2009; 8: 52-56 [PMID: 19154979 DOI: 10.1016/j.brachy.2008.10.003]

■同行评价

粒子植入治疗在我国只作为第3类医疗技术, 值得去探索. 但我国现在广泛开展此类技术, 而大多数大夫又不知道如何去选择适当患者去开展研究. 因此, 本文具有一定指导意义.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



中药熏洗疗法治疗肛周湿疹研究进展

李华山, 张欣宇, 王晓锋

■背景资料

肛周湿疹是临床常见病,发病相关因素十分复杂,西医在治疗上主要以外用糖皮质激素为主,但不良反应多,疗效不十分满意,严重影响着患者的生活质量。中药熏洗疗法以其独特的优势,越来越广泛的应用于肛周湿疹的治疗,逐渐成为肛周湿疹的常用治法。

李华山, 张欣宇, 王晓锋, 中国中医科学院广安门医院肛肠科 北京市 100053

李华山, 主任医师, 主要从事肛肠疾病的防治与研究。

作者贡献分布: 本文选题与审校由李华山完成; 文献资料搜集由张欣宇与王晓锋完成; 写作由张欣宇完成。

通讯作者: 李华山, 主任医师, 100053, 北京市西城区北线阁街5号, 中国中医科学院广安门医院肛肠科. lihuashan@263.net.

电话: 010-88001025

收稿日期: 2013-07-02 修回日期: 2013-08-04

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-10-18

Herbal fumigation for treatment of perianal eczema

Hua-Shan Li, Xin-Yu Zhang, Xiao-Feng Wang

Hua-Shan Li, Xin-Yu Zhang, Xiao-feng Wang, Department of Proctology, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China
Correspondence to: Hua-Shan Li, Chief Physician, Department of Proctology, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, 5 Beixiangne, Xicheng District, Beijing 100053, China. lihuashan@263.net

Received: 2013-07-02 Revised: 2013-08-04

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-10-18

Abstract

Perianal eczema is the most common skin condition of the perianal area, which is characterized by itching, various lesions, exudation and recurrence. The key points for the treatment of perianal eczema are to reduce skin lesions, alleviate the discomfort of itching and exudation, and solve the problem of easy relapse. Glucocorticoid therapy is still the main treatment, but it is associated with many adverse reactions and recurrence. Since herbal fumigation is based on syndrome differentiation, follows the principle of individualization, combines local and systemic therapies, and has the advantages of direct contact to perianal skin, exact efficacy, and less adverse reactions, it has gradually become a common treatment for perianal eczema and provide a new alternative to the treatment of this condition. In this paper, we will review the progress in research of herbal fumigation for perianal eczema with regard to mechanism of action, clinical application and adverse reactions.

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

Key Words: Herbal fumigation; Perianal eczema; Research progress

Li HS, Zhang XY, Wang XF. Herbal fumigation for treatment of perianal eczema. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(29): 3078-3082 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3078.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3078>

摘要

肛周湿疹是肛肠科最常见的皮肤疾患,以瘙痒、皮损多形性、渗出及易复发为特点。治疗重点在于缩小皮损范围,缓解患者肛周瘙痒、渗出等不适症状和解决肛周湿疹易复发等问题,治疗较为棘手。目前最主要的治疗方法仍然是外用糖皮质激素,但不良反应多且停药后易于复发。中药熏洗疗法以中医辨证论治为理论基础,突出个体化原则,注重局部与整体相结合,具有作用直接,疗效显著,不良反应少,患者易于接受等优势,逐渐成为治疗肛周湿疹的常用方法,为治疗提供了新的思路。近年来,对中药熏洗疗法的作用机制、临床应用及不良反应发生情况等方面的研究取得了一定的进展。本文将从以上角度进行全面综述。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 中药熏洗疗法; 肛周湿疹; 研究进展

核心提示: 肛周湿疹最主要的治法是外用激素,疗效不十分满意。熏洗疗法具有独特优势,逐渐成为治疗肛周湿疹常用方法。本文对熏洗疗法中药物作用的发挥、熏洗的物理作用、皮肤的吸收作用以及临床应用和不良反应等方面的研究进行综述。

李华山, 张欣宇, 王晓锋. 中药熏洗疗法治疗肛周湿疹研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3078-3082 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3078.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3078>

0 引言

肛周湿疹是肛肠科最常见的皮肤疾患^[1], 约占肛门疾病的1/10左右^[2]。目前最主要的治疗方法仍

■同行评议者

王来友, 副教授, 广东药学院中医药研究院

然是外用糖皮质激素^[3], 但不良反应多且停药后易于复发. 中药熏洗疗法是指将药物水煎或开水冲泡后, 趁热熏蒸, 熏后用药液洗涤患部的一种治疗方法. 中药熏洗疗法以其作用直接, 疗效显著, 不良反应少等优势, 越来越多的应用于肛周湿疹的治疗. 现将近年对中药熏洗疗法的作用机制、临床应用及不良反应发生情况等方面的研究情况总结如下.

1 中药熏洗疗法的作用机制

1.1 祖国医学对熏洗疗法的认识 中药熏洗疗法源远流长, 实践证明是行之有效的治疗方法. 古代文献称熏洗为“气熨”“淋洗”“溺渍”等^[4]. 熏洗疗法于《五十二病方》中就有相关记载: “……取弱(溺)五斗, 以煮青蒿大把二, 鲋鱼如手者七, 治桂六寸, 干姜(薑)二果(颗), 十沸抒置雍中, (埋)席下, 为穹, 以熏痔, 药寒而休, 日三熏”, 是最早记载熏洗疗法的医学著作.

熏洗疗法作为外治法的重要组成部分, 于《内经》中有“其有邪者, 渍形以为汗”, “寒者热之, 热者寒之……摩之浴之”, 等论述, 其中“渍形”“浴之”即指熏洗, 为熏洗疗法初步奠定了理论基础. 清代吴师机的《理渝骈文》对外治法有较为全面的阐述, 认为“外治之理即内治之理, 外治之药亦内治之药, 所异者, 法耳.”意思是外治与内治之法, 在治则治法、辨证用药上是相同的, 只是给药方法、吸收途径不同而已. 古代文献中记载了较多熏洗疗法的相关论述, 使其发展更为完善, 如《外科精义》: “塌渍疮肿之法, 宜通行表, 发散邪气, 使疮内消也.”《外科大成》: “使气血疏通以舒服其毒, 则易于溃散而无瘀滞也.”《儒门事亲》认为熏洗疗法可归属于“汗法”, 凡宜解表或发汗者皆宜用之, 正如《理渝骈文》: “熏蒸澡洗之能汗, 凡病之宜发表者, 皆可以此法.”

《外科正宗》中记载坐浴可疏通气血、散瘀化滞、解毒脱腐、消肿止血^[5]. 作为常用外治法之一, 中药熏洗疗法以中医基础理论为指导, 辨证论治为基础, 将药物通过熏洗途径给药, 作用直接, 药效直达病所, 加之温热蒸汽刺激人体经络孔窍, 作用于经络、传入脏腑, 整体与局部相结合, 疏通经络、调理气血阴阳、扶正祛邪, 从而治愈疾病. 此外, 熏洗疗法与皮肤的吸收作用密不可分. 清代徐灵胎认为“……使药性从毛孔而入其腠理, 通经贯络, 或提而出之, 或攻而散之, 较之服药尤有力, 此至妙之法也.”

1.2 现代医学研究

1.2.1 熏洗疗法中药物作用的发挥: (1) 中药成分的治疗作用: 肛周湿疹是由多种内、外因素引起的肛门周围皮肤的炎症性皮肤病, 现代医学普遍认为其发病机制为变态反应^[6]. 中药煎煮后产生的蒸汽及药液中含有大量生物碱、氨基酸、甙类、鞣酸和各种微量元素等, 作用于肛周皮肤可抑制5-羟色胺等炎症介质的释放, 降低毛细血管通透性, 改善微循环, 减轻湿疹炎症反应^[7]. 总结近年来常用于治疗肛周湿疹的熏洗方剂, 使用频率较高的中药包括苦参、白鲜皮、蛇床子、地肤子、黄柏、薄荷、当归等. 根据现代药理学研究, 苦参具有免疫抑制作用, 可用于治疗变态反应性疾病等^[8]. 苦参中的苦参碱作为一种公认的低毒不良反应的免疫抑制剂, 实验研究表明可持续的升高淋巴细胞胞浆内游离钙水平, 当细胞内游离钙浓度过高时, T淋巴细胞膜通道可被关闭, 致使淋巴细胞不能被激活或被抑制, 抑制变态反应的发生^[9]. 苦参碱还能通过提高细胞内环磷腺苷(cAMP)水平, 阻止肥大细胞脱颗粒释放组胺^[10], 缓解瘙痒症状. 白鲜皮单体提取物(白鲜碱、黄柏酮、岑酮等)可以对抗IV型变态反应和提高致痒阈值, 研究表明, 其可能对效应期T细胞有抑制作用, 阻止5-羟色胺等的释放, 抑制机体对过敏原的过度应激反应, 恢复机体正常免疫功能^[11,12]. 地肤子的主要成分地肤子皂苷是其止痒、抗炎及抑制变态反应的有效成分, 通过稳定肥大细胞膜、减少组胺、5-羟色胺及白三烯等过敏介质的释放发挥作用, 被广泛应用于皮肤瘙痒性疾病的治疗^[13,14]. 此外, 中药外用还具有抗菌、抗病毒、抗寄生虫等的作用, 如黄芩、黄连、黄柏对革兰氏阳性菌、阴性菌具有较强的杀灭作用, 苦参、蛇床子、百部、川椒等可抗霉菌、抗寄生虫等^[15]. 总的来说, 应用于熏洗的中药多具有调节机体免疫功能、抑制变态反应、止痒、抗菌等作用. 如黄开冬等^[16]以苦参汤坐浴治疗100例肛周湿疹患者, 药物组成包括苦参、蛇床子、地肤子、黄柏、白芷、石菖蒲、金银花等, 临床总有效率达89%; (2) 中药的促透皮吸收作用: 皮肤角质层中角质形成细胞与细胞间脂质排列独特, 构成的“砖墙结构”是药物经皮吸收的最大屏障^[17-19]. 药物中的促透成分能可逆的改变角质层的屏障作用, 使皮肤的生理性屏障开放, 达到使药物透皮吸收率增加的目的^[20]. 动物实验表明冰片能可逆的影响细胞间的紧密连接和细

■研究前沿

中药熏洗疗法治疗肛周湿疹应用广泛, 疗效较好, 不良反应少, 在透皮吸收理论发展的基础上, 临床应用逐渐规范化、合理化, 为肛周湿疹的治疗难题提供了新的思路, 因此, 中药熏洗疗法作用机制及其规范化治疗, 将是今后肛周湿疹研究的一个重要方向.

■相关报道

杨伟等以经验方杨布洗剂治疗肛周湿疹60例,以1 wk为一个疗程,疗程结束后1 wk观察疗效。临床总有效率为93.33%,认为该洗剂临床使用简单有效,无不良反应,值得推广。

胞内囊泡的状态,使皮肤的生理性屏障开放^[21,22]。中药促透作用的发挥主要依靠挥发油及芳香成分,而其中所含的萜(烯)类、生物碱类、内酯类等成分,具有与化学合成促渗剂类似的促透作用^[23]。如Kitahara等^[24]研究认为,中药挥发油中的萜(烯)类化合物,作用于皮肤后可不同程度地改变皮肤的理化性质及皮肤的正常生理结构,增加其通透性,并且毒性弱于人工合成品。现代研究进一步证实,烯类可通过破坏角质层磷脂的氢键,扩大水性区域,建立药物通过的极性通道,促进药物的透皮吸收^[25]。具有促透作用的中药较多,大部分促透作用强于合成药氮酮^[26],并且不良反应小,有时可发挥促透和治疗的双重作用,较为常用的有薄荷、冰片、丁香、甘草等。如薄荷所含的薄荷醇属于单萜类化合物,作用于表皮角质层,破坏角化细胞间质,使角质层裂解剥脱,促使表皮细胞间隙扩大,导致皮肤对外来药物的阻滞作用降低,促进药物经表皮细胞间隙透皮扩散^[25]。

1.2.2 熏洗疗法的物理作用: (1)温热作用: 临床上大多采用热熏热洗,药物的经皮吸收是一个需要能量的过程^[27],温度的升高可以一定程度上促进药物的吸收和增加血药浓度^[28]。皮肤局部温度的升高: 使局部毛细血管扩张,增加皮肤血流量;使角质层细胞间类脂发生相互转换,类脂排列紊乱后形成人工支路,成为药物经皮转运的新通道^[29]。此外,热力作用可使网状内皮系统的吞噬功能活跃^[30],从而减轻或消除肛周湿疹的炎症反应。热力还可刺激神经末梢感受器,通过神经反射作用,激发机体自身的调节功能,提高机体免疫力,阻断原有病理反射^[31]; (2)熏洗液的清洁作用: 肛周分泌物等的刺激可在一定程度上诱发或加重湿疹。通过熏洗液的冲洗,可起到清洁肛门分泌物、抑制渗出,清除残留污粪等毒邪的作用,减轻对皮肤的刺激,缓解炎症反应。熏洗液的清洗浸泡,还可加速痂皮等坏死组织的脱落,促进肉芽组织及上皮组织的增生,加速皮损愈合^[32]。

1.2.3 熏洗疗法中皮肤的吸收作用: 熏洗疗法属于经皮给药方式的一种,药物可经皮肤吸收,对局部及全身发挥治疗作用。药物的经皮吸收要经历释放、穿透和吸收入血循环3个阶段^[33]。皮肤作为给药入口,局部给药后: (1)通过皮肤间层贮存作用,使药物浓度平缓,于给药部位发生药效^[34]; (2)药物在皮肤的转运由外向内依次为角质层、表皮层(又称活性表皮)和真皮层^[35]。药物

在角质层中的渗透包括细胞间转运和跨细胞转运,而细胞间转运是其最主要的途径^[36]。前者药物通过角质层细胞间类脂分子层到达活性表皮,后者药物穿过角质层到达活性表皮,此后药物通过活性表皮到达真皮,最终被毛细血管吸收进入血液循环^[33]。角质层中还存在着水性微孔及微小渠道组成的亲水性途径,药物也可由此透过角质层^[37]; (3)药物还可通过皮肤附属器,如毛囊、皮脂腺及汗腺等直接渗透吸收,主要是一些离子型药物成分及水溶性大分子^[33]。药物经皮吸收的最大优点是,避免了药物对胃肠道与肝脏等的损害,同时也避免了胃肠道降解和肝脏的首过效应,给药方便,从而提高药物利用度和患者用药的依从性^[38]。有报道称,皮肤含水量是影响皮肤吸收作用的因素之一,熏洗可以使局部皮肤的角质层含水量增加,角质层经水合作用后,可膨胀成多孔状态,细胞通透性增加,易于药物穿透吸收^[39]。

2 中药熏洗治疗肛周湿疹的临床应用

熏洗疗法广泛应用于肛周湿疹的治疗,疗效显著,如韩凯等^[40]以经验方灭虫止痒剂熏洗治疗肛周湿疹患者30例,在减轻瘙痒、皮损、渗液方面的有效率为96.67%,疗效显著。刘彦涛^[41]以五子参矾洗剂对比激素乳膏外用治疗肛周湿疹的临床疗效,熏洗组总有效率为90.1%,明显高于对照组的68.6%,认为中药熏洗不仅疗效好,而且更适合长期用药,值得临床推广。

李胜桥^[42]对国内近5年报道的19个代表性熏洗方剂进行统计,认为泻湿解毒法应用最多,主要药物为芒硝及大黄。其次为敛湿消肿法,主要药物为五倍子和明矾。清热燥湿法、活血化瘀法、辛香止痛法的应用也过半数。并且清热燥湿药以苦参应用最多,辛香止痛药多选川椒,活血化瘀药则较多应用乳香、没药、桃仁、红花、赤芍、当归等。吴撼平^[43]将肛门湿疹分为湿热证和血虚风燥证。常用的有效中药包括: 苦参、黄柏、苍术、百部、枯矾、地肤子、蛇床子、土茯苓、金银花、花椒、当归等。王中良^[44]根据肛周湿疹的临床表现分为湿热下注及血虚风燥型。前者以急性、亚急性期多见。后者以慢性期多见。其中湿热下注型又分为热重于湿和湿重于热型。邓莉等^[45]将慢性肛门湿疹辨证为血虚风燥挟湿,治以养血活血、祛风止痒的加味桃红四物汤熏洗。治疗慢性肛周湿疹106例,总有效率为95.28%。

肛周湿疹的熏洗治疗常以清热燥湿、活血凉血、祛风止痒为法, 不同学者亦有不同的侧重。文家勇等^[46]认为治疗亚急性和慢性肛周湿疹, 先从控制瘙痒症状入手, 迅速减轻患者不适, 使患者建立信心, 规律用药, 后再以除湿收敛之剂固其疗效。于晓琳^[47]认为在肛周湿疹的治疗方面, 应辨其虚实寒热。实证多以湿热为主, 夹有风邪, 表现为舌红苔腻, 脉弦滑; 虚证则多因血虚风燥, 表现为舌淡苔少, 脉细数; 寒证病程缠绵, 渗液色清无味, 舌淡苔滑; 热证起病急骤, 渗液色黄味臭, 舌苔黄厚。此外, 湿热证瘙痒剧烈, 皮肤潮红灼热; 血虚证瘙痒日轻夜重, 皮损多为鳞屑苔藓化。并以消风散外洗治疗慢性肛周湿疹患者30例, 总有效率为90.0%。房名东^[48]认为中药熏洗疗法有内、外两大功效, 内则疏通腠理、通经活络、流畅气血, 外则清热解毒消肿、疏风除湿止痒。

临床中多根据肛周湿疹的皮损情况或急性慢性分期进行辨证加减论治。吴光汉^[49]总结其在肛肠科38年临床工作中的经验, 将肛周湿疹按其病程和皮损情况进行分期: 急性期采用自拟马齿苋四子汤, 亚急性期采用木槿斑坐浴方, 慢性期采用自拟四物防风坐浴方, 取得满意疗效。陈海生^[50]利用燥湿止痒洗剂治疗急性慢性肛周湿疹, 对于渗出、红斑、丘疹明显者加黄柏、茵陈, 皮肤皲裂或苔藓样变者加当归、红花、桃仁。魏洪亮等^[51]以中药熏洗治疗肛周湿疹时, 对于瘙痒重者在原方的基础上加用白鲜皮, 取得满意疗效。

3 熏洗疗法的不良反应及注意事项

熏洗疗法最常见的不良反应是熏洗后皮肤红肿加重, 多由熏洗坐浴时间过长导致。随着熏洗时间的延长, 皮肤吸收水分增加, 药液中的水分子渗入组织间隙增多, 可致组织渗透性水肿; 熏洗过程中, 患者肛门口压力增加, 局部静脉压及毛细血管压力增高, 加之熏洗液浸泡可致角质层膨胀及温热作用可致局部血管扩张, 诱发加重局部充血水肿^[7]。笔者总结临床报道, 较多推荐熏洗5-10 min, 可适当延长, 最多不超过15 min。不推荐熏洗时间超过30 min。随着熏洗时间的适当控制, 红肿等不良反应逐渐减轻或消失。有部分患者对中药产生过敏反应, 熏洗后症状不缓解, 反而加重, 予停止熏洗并必要时行抗过敏治疗。其他不良事件如烫伤、年老体虚者易发生久蹲后眩晕甚至跌倒等。查阅的文献中, 中药熏

洗治疗肛周湿疹不良反应少, 至今未见发生严重不良反应的报道, 并且以上不良事件, 均可积极控制后加以避免或减轻。因此, 中药熏洗疗法治疗肛周湿疹的安全性和有效性高, 值得临床推广应用。

进行中药熏洗时注意, 熏洗前应排净大便, 尽量避免坐浴后马上排便的不良刺激。避免月经期间坐浴或采取保护措施, 患有如急性传染病、重症心血管病、妊娠、内痔出血量大者慎用。

4 结论

肛周湿疹是肛肠科常见病、多发病, 治疗较为棘手。肛周湿疹易复发, 需长期反复治疗, 因此药物的安全性、经济性等十分重要。中药熏洗疗法以中医辨证论治为理论基础, 突出个体化原则, 注重局部与整体相结合, 并且具有作用直接, 疗效显著, 不良反应少, 患者易接受、无需住院等优势。

中药熏洗疗法源远流长, 实践证明是行之有效的治疗方法。祖国医学多在于经验层面, 而近年来, 现代医学对中药熏洗疗法进行了较为深入的研究, 通过临床及实验研究初步证实了中药熏洗疗法的安全性及有效性等, 但仍存在一些问题, 如部分临床研究缺乏合理的实验设计和科学的实验对照, 样本量偏小, 无随访或随访时间偏短等。并且未对患者生活质量的情况进行评估。中药熏洗的时间、温度及熏洗液的浓度控制方法等未形成统一的标准, 建议开展筛选最佳中药熏洗时间、熏洗温度及熏洗液浓度等的临床及实验研究, 以明确中药熏洗的时间、温度及浓度的药效关系, 并加强从分子水平阐明其作用机制, 推进中药熏洗疗法的科学性、规范性和可操作性。建议制定熏洗疗法治疗肛周湿疹的诊疗流程, 作为日常临床工作的指导, 并要继续关注患者熏洗的不良反应, 保证熏洗疗法的安全可靠。此外, 经皮给药体系的完善, 透皮吸收理论的发展对中药熏洗疗法的临床及实验研究有很大的指导意义。

总之, 中药熏洗疗法有很好的发展前景, 值得临床推广, 需正确使用才能取得好的疗效。因此, 对中药熏洗疗法的规范化研究, 将是今后肛周湿疹研究的一个重要方向。

5 参考文献

- 1 Kränke B, Trummer M, Brabek E, Komericki P, Turek TD, Aberer W. Etiologic and causative factors in perianal dermatitis: results of a prospective study in

■创新盘点

本文所涉及的内容基本涵盖了中药熏洗疗法治疗肛周湿疹的现状, 并从熏洗疗法的作用机制、临床应用及不良反应等方面做了较为全面的综述, 对临床有一定的指导意义。

■同行评价

本文对对中药熏洗疗法的作用机制、临床应用及不良反应发生情况等方面的研究进行了较好的综述,具有一定的科学性和可读性。

- 2 126 patients. *Wien Klin Wochenschr* 2006; 118: 90-94 [PMID: 16703252 DOI: 10.1007/s00508-006-0529-x]
- 3 王春霞. 肛周湿疹中医治疗近况. *时珍国药研究* 1998; 9: 277-278
- 4 邓列华, 万建勳, 胡云峰, 赵刚, 陈军生, 罗育武, 孙乐栋. 0.1%他克莫司软膏治疗肛周湿疹的临床疗效观察. *中国医院药学杂志* 2011; 31: 132-134
- 5 周荣珍, 梁鹏, 张磊昌. 中药熏洗坐浴法在肛肠科的运用. *中医学报* 2011; 26: 398-400
- 6 王莉. 中药煎剂熏洗坐浴治疗肛门疾患300例. *中医外治杂志* 2000; 9: 23
- 7 秦佳维, 余苏萍. 肛周湿疹中西医结合治疗近况. *辽宁中医药大学学报* 2012; 14: 205-207
- 8 秦娟, 郭秀君, 杜媛, 赵小寅. 不同干预时机与持续时间的中药熏洗对肛肠疾病术后患者的影响. *解放军护理杂志* 2010; 27: 1845-1851
- 9 刘梅, 刘雪英, 程建峰. 苦参碱的药理研究进展. *中国中药杂志* 2003; 28: 801-804
- 10 王会贤, 喻学忠, 钱玉昆. 氧化苦参碱对淋巴细胞第二信使的影响. *中国免疫学杂志* 1993; 9: 315-317
- 11 秦万章. *现代中医药应用与研究大全(皮肤科)*. 第1版. 上海: 上海中医药大学出版社, 1994: 117-129
- 12 从欢, 李磊. 白鲜皮提取物抗湿疹实验研究. *中国医学创新* 2012; 9: 18-19
- 13 张明发, 沈雅琴. 白鲜皮药理作用的研究进展. *抗感染药学* 2012; 9: 95-99
- 14 卢向红, 徐向东, 付红伟, 陈波, 田景奎, 张琳. 地肤子化学成分的研究. *中国药学杂志* 2012; 47: 338-342
- 15 蒋剑平, 沈小青, 范海珠. 地肤子化学成分及药理活性研究进展. *中华中医药学刊* 2011; 29: 2704-2706
- 16 刘华钢, 申庆荣, 刘丽敏. 中药抗菌研究进展. *时珍国医国药* 2010; 21: 463-464
- 17 黄开冬, 秦琳. 苦参汤坐浴治疗肛周湿疹的临床观察. *四川中医* 2012; 30: 106-107
- 18 蔺茂强, 朱英华, 刘之力, Peter M. Elias. 表皮通透的屏障功能及其调节. *中国皮肤性病学杂志* 2008; 22: 250-252
- 19 Erdal MS, Peköz AY, Aksu B, Araman A. Impacts of chemical enhancers on skin permeation and deposition of terbinafine. *Pharm Dev Technol* 2013 Jul 10. [Epub ahead of print] [PMID: 23841559 DOI: 10.3109/10837450.2013.813538.]
- 20 俞文英, 张亮, 陈国神, 叶金翠. 混合促进剂在经皮给药中的应用研究进展. *中国临床药理学与治疗学* 2013; 18: 103-109
- 21 赵华, 林婕, 何聪芬, 刘光荣, 董银卯. 4种中药促透剂对不同结构类型物质的促透功效评价. *中国实验方剂学杂志* 2011; 17: 34-38
- 22 李东晓, 邓文龙. 冰片促透作用研究进展. *中药药理与临床* 2007; 23: 87-89
- 23 陈艳明, 王宁生. 冰片对血脑屏障体外模型细胞间紧密连接和细胞吞饮囊泡的影响. *中国中西医结合杂志* 2004; 24: 632-634
- 24 杨华生, 朱庆文, 梁秉文. 药用辅料在中药经皮给药制剂中的应用. *中医外治杂志* 2007; 16: 3-5
- 25 Kitahara M, Ishiguro F, Takayama K, Isowa K, Nagai T. Evaluation of skin damage of cyclic monoterpenes, percutaneous absorption enhancers, by using culture human skin cells. *Biol Pharm Bull* 1993; 16: 912-916 [PMID: 8268859]
- 26 祁荣, 贺锐锐, 李博, 梁秉文. 经皮给药系统研究新进展. *中医外治杂志* 2007; 16: 3-6
- 27 张仲源, 张惠生, 张丽敏. 促进透皮吸收的中药材(三). *中医外治杂志* 2010; 19: 63-64
- 28 董洪涛, 李静. 经络穴位经皮给药系统的机制探讨. *中医研究* 1998; 11: 42-54
- 29 王晖. 经皮给药的药代动力学研究进展. *中国临床药理学与治疗学* 2007; 12: 1216-1220
- 30 张仲源, 张惠生, 张丽敏. 促进透皮吸收的中药作用机制. *中医外治杂志* 2007; 16: 3-4
- 31 赵富元. 中药外用以法辨治肛肠病经验浅析. *光明中医* 2012; 27: 163-164
- 32 张永刚, 谷云飞. 中药熏洗疗法在肛肠疾病中的应用. *现代中西医结合杂志* 2007; 16: 1676-1677
- 33 李玉平. 中药熏洗疗法在肛肠疾病中的运用. *中医外治杂志* 2009; 18: 62-63
- 34 刘因华, 赵远, 郭世民. 浅谈经皮给药的机制方法和发展前景. *云南中医杂志* 2008; 29: 59-61
- 35 李斌, 汤红. 外用药物透皮吸收研究概况. *中医外治杂志* 1999; 8: 42-43
- 36 Prausnitz MR, Langer R. Transdermal drug delivery. *Nat Biotechnol* 2008; 26: 1261-1268 [PMID: 18997767 DOI: 10.1038/nbt.1504.]
- 37 俞文英, 张亮, 陈国神, 叶金翠. 混合促进剂在经皮给药中的应用研究进展. *中国临床药理学与治疗学* 2013; 18: 103-109
- 38 Sznitowska M, Janicki S, Williams AC. Intracellular or intercellular localization of the polar pathway of penetration across stratum corneum. *J Pharm Sci* 1998; 87: 1109-1114 [PMID: 9724563 DOI: 10.1021/js980018w]
- 39 鲁应军, 朱涛. 经皮给药系统应用的研究进展. *医学综述* 2012; 18: 1219-1221
- 40 孙美春, 李佩芳, 张群, 朱萍. 痔疮患者术后用中药熏洗伤口的疗效观察与护理. *上海护理* 2006; 6: 48-49
- 41 韩凯, 令狐庆, 于靖亮. 中药灭虫止痒剂改善肛周湿疹瘙痒症状的临床研究. *中医学报* 2012; 27: 1506-1508
- 42 刘彦涛. 五子参矾洗剂熏洗治疗肛周湿疹疗效观察. *中国实用医药* 2012; 7: 144-145
- 43 李胜桥. 熏洗治疗肛门疾病发展近况. *湖北中医杂志* 1999; 21: 240
- 44 吴撼平. 中药熏洗联合手术治疗肛门湿疹的临床效果观察. *中医临床研究* 2011; 3: 55
- 45 王中良. 祛湿止痒汤熏洗治疗肛门湿疹66例. *陕西中医* 2007; 28: 454-455
- 46 邓莉, 陈步强, 马丹, 李林, 赵自星. 加味桃红四物汤熏洗治疗慢性肛门湿疹106例. *四川中医* 2011; 29: 104
- 47 文家勇, 万萍. 金玄痔科熏洗散治疗肛周湿疹37例. *医药导报* 2010; 29: 59
- 48 于晓琳. 中药消风散外洗治疗慢性肛周湿疹的临床疗效观察. *山东中医药大学*, 2004
- 49 房名东. 熏洗疗法的作用机制及功效. *第七届全国外治学学术年会论文集*, 2011: 156-158
- 50 吴光汉. 传统中药熏洗法在肛肠科的运用. *中医外治杂志* 1996; 6: 46
- 51 陈海生. 熏洗疗法在肛肠科的临床应用. *现代中医药* 2010; 30: 24-25
- 魏洪亮, 郭纯艳. 中药熏洗治疗肛周湿疹临床观察. *实用中医药杂志* 2009; 25: 34-35

编辑 田滢 电编 鲁亚静



质子泵抑制剂的应用与发展

周洁浩, 刘冰熔

周洁浩, 刘冰熔, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科 黑龙江省哈尔滨市 150086

周洁浩, 主要从事消化系统疾病的内科治疗及内镜下诊疗.

作者贡献分布: 本文综述由周洁浩完成; 刘冰熔负责审校.

通讯作者: 刘冰熔, 教授, 主任医师, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区学府路248号, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科. snowyecho@sina.com

电话: 024-86408688

收稿日期: 2013-06-27 修回日期: 2013-08-25

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-10-18

Proton pump inhibitors

Jie-Hao Zhou, Bing-Rong Liu

Jie-Hao Zhou, Bing-Rong Liu, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150000, Heilongjiang Province, China
Correspondence to: Bing-Rong Liu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 248 Xuefu Road, Nangang District, Harbin 150000, Heilongjiang Province, China. snowyecho@sina.com

Received: 2013-06-27 Revised: 2013-08-25

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-10-18

Abstract

Proton pump inhibitors (PPIs) can bind to the proton pump and inhibit it to secrete hydrogen ions. Since currently used PPIs have a short plasma half-life and can interact with other drugs, there is still an urgent need to develop new and interesting PPIs that can overcome these problems. This review summarizes the latest progress in research of PPIs with regard to the mechanism of action, side effects, and interactions with other drugs and provides an update of the status of acid-suppression therapy.

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

Key Words: Proton pump inhibitors; Intragastric pH; Mechanism of action

Zhou JH, Liu BR. Proton pump inhibitors. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(29): 3083-3088 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3083.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3083>

摘要

质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPIs)可与质子泵相互作用, 从而发挥抑酸作用. 但其药物半衰期较短, 并影响其他药物的作用. 目前该类药物的研究还在继续中, 未来将会不断开发新型的. 本综述参考当前有关PPIs药物的最新研究结果的相关文献. 系统分析PPIs药物的作用机制、可能存在的不良反应及对其他药物的影响, 为今后新型药物开发指明方向.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 质子泵抑制剂; 胃内pH值; 作用机制

核心提示: 本文注重从优点及缺点方面全面介绍此类药物, 又分析了几年来关于此药的全面研发及进展, 展望未来发展方向及趋势. 目的是全面优化PPI类药物与临床上的应用, 减少并发症的发生, 提高患者生活质量.

周洁浩, 刘冰熔. 质子泵抑制剂的应用与发展. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3083-3088 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3083.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3083>

0 引言

质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPIs), 是目前临床中应用较为广泛的一种药物. 现已有大量临床数据证明, 对于胃食管反流疾病^[1]、胃肠道溃疡性疾病、上消化道出血^[2]等疾病控制与治疗均有不可替代的作用. 虽然同样作为临床常用药物的H₂受体阻滞剂(histamine 2 receptor antagonists)的发现与应用虽均早于PPI类药物, 但是PPIs直接作用于质子泵, 抑酸作用更为明确与直接, 临床应用更为广泛. 但是大量实验及临床数据表明PPI类药物在疗效上更胜一筹^[3].

1 PPIs的作用机制

胃酸的分泌由质子泵(胃壁上的质子泵, 指的是H⁺-K⁺ ATPase)来完成, 质子泵有活化的与未活

■背景资料

质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPIs)于临床上的应用, 已有多年的历史. 目前关于胃食管反流疾病、消化系溃疡及消化系出血等疾病, 在治疗过程中, 此种药物仍是首选. 但是临床上关于此类药物的不足及不良反应也逐渐显现出来. 比如因该类药物半衰期较短, 长期应用此药可能造成营养不良, 而发生贫血及骨质疏松等情况.

■同行评议者

唐世刚, 教授, 湖南省人民医院; 刘占举, 教授, 同济大学附属上海市第十人民医院

■研发前沿

如何减少并发症的发生, 解决服药困难, 缩短服药周期就成了国内外学者全心解决的问题及困难. 目前已有多种新型药物被研发出来, 逐渐解决了上述问题.

化的两种, 可以称之为: 活性泵与静息泵: 活性泵位于胃壁细胞的表面, 静息泵则位于胃壁细胞内, 二者可互相转化. 在进食之前, 仅有少量的活性泵可进行胃酸分泌; 进食后, 迷走神经释放的乙酰胆碱, 胃黏膜G细胞释放的胃泌素以及肥大细胞释放的组胺均可作用于胃壁细胞的相应受体上, 引起质子泵的由静息泵转为活性泵的转化, 并开始释放胃酸^[4].

大量研究发现, H^+-K^+ ATPase的抑制剂需要必须具有以下几个结构式: 吡啶环、SO基以及苯并咪唑环^[5]. 目前市面上PPIs正是苯并咪唑的衍生物. 他们可以不可逆地与质子泵结合(雷贝拉唑除外), 从而抑制胃酸分泌. PPIs为弱碱性的, 在较低pH时可以被质子化, 故可以聚集在胃壁细胞小管腔中的强酸环境中, 并转换为次磺酰胺, 此时的PPIs才是有活性的^[6]. 活化了的PPIs可以与 H^+-K^+ ATPase上的半胱氨酸的残端结合, 形成一个二硫键, 以达到抑制质子泵的效果. 从以上介绍可以看出, PPIs只可以与活化了的质子泵相结合. 由于PPIs药物的半衰期较短(奥美拉唑半衰期为1 h, 其余均在1-2 h), 为了在达到最大血药浓度的同时, 也正处于质子泵活化数量最大, 故建议患者在进食前30-60 min应用此类药物^[7].

2 PPIs的代谢途径

细胞色素P450(Cytochrome P450 proteins, CYP)是一类存在于人体肝脏及肠道的单加氧酶, 多用于代谢药物等其他外源性物质, 使其变为亲水性, 故更易排出体外. CYP450分为多个基因家族和亚家族, 包括CYP3A4、CYP3A5、CYP2D6、CYP2C9、CYP2C19等. 其中与PPIs代谢有关的是CYP3A4与CYP2C19, 其中以后者为主^[8]. 而CYP2C19基因的多态性又较为明显, 可以分为弱代谢型及强代谢型, 这种基因上的微小突变即可改变PPIs的药代动力学特点, 故而影响药效. 在一次有关CYP2C19的基因多态性的研究中, 发现口服PPIs后, 与弱代谢型相比, 强代谢型的胃内pH值要明显降低. 同时不同药物对CYP2C19基因的多样性的敏感度也不同: 奥美拉唑的抑酸效应影响, 雷贝拉唑和埃索美拉唑的抑酸效应则受基因多态性影响极小^[9]. 总之, 了解PPIs的代谢特点, 不仅对用药个性化提供了指导, 更有意义的是可以避免对与PPIs具有相同代谢途径的各类药物药效的影响.

3 目前PPIs应用中可能存在的问题

关于临床应用此类药物的安全性及潜在的不良反应逐渐被重视. 经过大量实验及基础研究, 我们发现PPIs存在着如下待解决的问题.

3.1 增加感染的可能 胃酸一项主要的功能就是可以杀死细菌中的潜在病原体, 特别是对沙门氏菌属等, 更是一道重要的抗感染防线. 当胃酸减少时, 当然就会削弱这种杀菌功能, 增加患有肠道感染的可能, 患者可能出现腹泻腹胀等相关症状. 有大量临床数据表明, 艰难梭菌的感染可能与PPIs等应用有关. 艰难梭菌是一种存在于胃肠道中的共生体, 正常时不会引起疾病, 但在宿主肠道内的微生物环境因疾病或者抗生素等发生改变时, 就可能发生艰难梭菌相关性腹泻(clostridium difficile-associated diarrhea, CDAD)^[10]. Kwok等^[11]曾对313000例患者进行流行病学调查, 发现应用PPI可使患有CDAD的概率增加1.74($P<0.001$). 对于胃食管反流疾病的患者而言, 往往需要长期的口服PPI类药物, 特别是儿童、老年人, 现发现这类患者患有下呼吸道感染风险更大^[12]. 在近年的研究及调查中发现应用PPIs类药物, 即便是常规计量短期应用也会增加肺炎发生的危险^[13]. 但其发生的机制尚未明确, 还有待研究.

3.2 营养不良 食物进入胃内后, 先与胃酸发生反应, 发生质子化或发生解离, 进入小肠后, 营养物质被吸收入血. 应用了PPIs后, 胃内pH值升高, 影响了营养物质的吸收, 其中包括: 维生素B12、铁^[14]、镁^[15]等. 大量临床数据表明, 长期应用质子泵抑制剂后, 会增加患者患有缺铁性贫血、巨幼细胞性贫血、低镁血症等疾病的可能.

3.3 胃壁黏膜的改变 目前临床应用PPIs的持续时间为4-8 wk. 其中一个原因就是为了避免长期应用此类药物后可能导致的胃壁黏膜的肥厚性增生甚至恶变^[16]. 日本学者Hagiwara等^[17]做过这样的实验, 他们给蒙古沙鼠口服奥美拉唑(100 mg/kg)长达6 mo. 6 mo之后进行胃壁的组织学检查, 后发现口服奥美拉唑同时感染幽门螺杆菌的实验鼠胃壁腺体的萎缩程度最为严重, 且这些鼠中有60%发现腺癌, 而只是感染了幽门螺旋杆菌未口服奥美拉唑的实验对象里只有7%发现有腺癌. 另一项研究中发现长期应用抑酸药物导致的高胃泌素血症可刺激肠嗜铬细胞增殖, 甚至发生神经内分泌肿瘤. 此类肿瘤5年生存率较高, 且个别患者出现了停药后肿瘤减小及消

失的情况^[18]。

3.4 与其他疾病的关系

3.4.1 泮托拉唑钠与急性肾间质性肾炎: 2004年由泮托拉唑引起的急性肾间质性肾炎第一次被报道出来^[19]。从那时开始至2012年经WHO(World Health Organization)统计共发生了87例由泮托拉唑引起的急性肾衰^[20]。Jacobs-Kosmin等^[21]做了与此相关的回顾性研究, 发现在过去的14年里在一家机构中共发生过90例, 说明这种由泮托拉唑引起的并发症只是未能引起注意, 但并非少见。

3.4.2 骨代谢与骨折: 实验证明即使是短期应用PPI类药物即可影响骨代谢, 造成低钙血症, 间接致使甲状旁腺激素分泌增加, 进而发生溶骨^[22]。长期应用的结果就是可能造成骨折发病率的增加, 且多发生于髌骨及髌骨^[23]。当然发生骨折的可能与年龄, 用药剂量等都具相关性, 多数实验的结果也不尽相同。但经多中心综合分析, 可以断定相关性已明确^[24]。但不得不提及的是, 同为酸抑制药物, 但是应用H2RB并未增加骨折的危险性^[25]。

3.5 与其他药物的相互作用 关于PPIs与药物的相互作用其机制主要有如下几种可能: (1)有些药物的溶解度受到胃内PH值得影响; (2)有机分子与多价金属离子的螯合作用; (3)PPIs可能会影响胃肠道的动力; (4)抑酸药物的应用可能会是尿液碱化, 故而影响药物经尿排出^[26]。综合以上几点我们可以看出, PPIs可与多种药物能否正常发挥功能及正常代谢有关。其中包括多种抗生素、抗真菌药物、 β 受体阻断剂等。在服用PPIs药物时可降低胃内的酸性, 使地高辛快速穿过胃壁细胞, 而未进行活化, 影响其疗效, 故会发生血药浓度过高^[27]。值得一提的是氯吡格雷(clopidogrel), 该药系一种血小板聚集抑制剂, 近年来常与阿司匹林合用, 用于治疗冠心病及急性冠脉综合征(acute coronary syndrome, ACS)^[28]。但大量临床试验证明, 应用以上两种药物作为抗血小板治疗时, 可能造成消化道溃疡甚至消化系出血等症状, 为了改善症状, 临床上常与PPIs合用^[29,30]。但近年研究发现PPIs会影响氯吡格雷发挥疗效。正如上文所提到的, 参与PPIs代谢的是CYP3A4与CYP2C19两种酶, 但CYP2C19又正是将氯吡格雷转化为生物活性的主要代谢酶, 这就解释了为什么PPIs会影响氯吡格雷的疗效^[31-33]。临床工作中也应注意避免上述药物相互作用的问题。

4 药物改进与研发

为了解决药物仍存在的半衰期短等不足之处, 有关PPIs药物设计的改进方案一直都没停止过。共有以下几种解决方案: (1)同分异构体: 以奥美拉唑为例, 目前市面上销售的奥美拉唑多为S-奥美拉唑及L-奥美拉唑的一种外消旋混合物, 换言之即两种异构体为等摩尔数混合物。而埃索美拉唑也就是S-奥美拉唑的药物^[34]。虽然两种同分异构体在抑酸机制及效用并无明显异常, 但是已有大量临床数据表明对比应用以上两种药物发现, 埃索美拉唑的抑酸效果要强于奥美拉唑^[35]。其可能的原因是: S-奥美拉唑于人体内更为稳定, 这样就延长了有效血药浓度的持续时间, 延长了胃酸抑制的时间。从奥美拉唑到埃索美拉唑的改变, 正是说明了应用同分异构体可以解决抑酸药物作用时间较短的不足^[36]; (2)新型质子泵抑制剂: 近几年已研究出几种新型PPIs药物, 其中部分已经进入市场或临床试验阶段。艾普拉唑(Elaprazole)是目前已在韩国上市, 也很快将进入美国的临床应用试验。这种药物同样也是苯并咪唑的化合物, 与 H^+-K^+ ATPase可以不可逆的结合。在一些临床实验中发现较少计量的艾普拉唑(5-10 mg)与奥美拉唑相比(20 mg)可是溃疡面积变小且加快溃疡愈合, 相关症状也缓解明显且迅速^[37]。且这种药物的代谢与CYP2C19基因的多样性关系不密切^[38]。但是该药的半衰期可达3.6 h, 正是这种药代动力学的改变, 致使其药效学的改进, 在活体实验中证明其抑酸的能力是奥美拉唑的2-3倍^[39]。另一种新型的PPIs-泰普拉唑(Tenatoprazole), 与其他药物不同, 他通过一个亚磺酰基-甲基连与吡啶环相连形成一个咪唑并吡啶环。其在血浆内半衰期可达8-10 h, 是目前市面上PPIs药物的5-7倍。在一项Hunt等^[40]进行的比较泰普拉唑及埃索美拉唑的抑酸作用的实验中, 得出以下结论: 在应用药物5 d后, 监测实验对象24 h胃酸浓度, 发现平均pH值泰普拉唑明显高于埃索美拉唑, 且在夜间发生酸突破方面也明显优于埃索美拉唑。更值得一提的是, 胃酸pH>4的时间可接近16 h。目前该药已在日本上市, 这种药物的出现预示着一一种新型的藥物結構也可以抑制胃酸分泌^[41]。由Hunt等^[42]联合研发的AGN201904-Z是一种具有酸稳定性的奥美拉唑钠盐, 在血液中水解成奥美拉唑, 为了延长血浆存留时间, 这种药物被设计成持续计量吸收, 也就延长了质子泵在药物中暴露的时间。健康人应用该药物5 d后, 进行流

■相关报道

此类药物于临床上已应用多年, 近年来的研究及报道大多与其不良反应及新药的研发有关。本文总结了50余篇相关报道, 全面分析了上述问题。

■创新盘点

本文主要总结的是近年来关于其不良反应及新药研究的报道,分析如何能达到最佳的治疗效果,并减少不良反应的发生,对于PPI类药物在临床上的应用起到指导作用。

式胃内pH值检测,我们发现夜间pH>2的时长超过5h,这种药物对于那些需要夜间酸抑制的患者来说尤为适合;(3)钾离子竞争性酸抑制剂(potassium competitive acid B blocker P-CAB):最初的P-ACB药物按化学结构分为咪唑并吡啶类、咪唑并萘啶类、嘧啶类和喹啉类,以及近期出现的吡啶类。P-ACB与 H^+-K^+ ATPase的结合方式与PPIs不同:此类药物与 K^+ 竞争 H^+-K^+ ATPase上的 K^+ 结合位点,以阻止 K^+ 与 H^+ 进行交换,从而达到抑酸的效果。不仅如此,此类药物在血清内不必进行活化,且首次给药即可达到最大药效。关于此类药物的研究已经经历了三十余年,瑞伐拉赞等药物已经经历了三期试验,即将应用于临床中以治疗胃十二指肠溃疡、胃炎及反流性疾病。但是P-CAB的长期临床效果及不良反应尚未有定论^[43-46];(4)PPIs药物的新设计:为了延长PPIs的抑酸作用时间,一种方法就是可以应用改进了的药物溶衣,可以使药物缓慢释放,其中包括在药物外层包裹胶体壳,肠溶衣或者应用多层的包裹,使得药物间断地释放出来^[47]。AGI-010就是一种应用了延迟释放设计的奥美拉唑的。这种药物可以于晚饭时应用,并保留在胃里长达4-6 h,之后即可释放药物,使其于凌晨2-3时开始起效^[48]。另一种以兰索拉唑二次释放的新药来说,将一定比例的药物颗粒包裹在一种在较高的pH值才能被溶解掉的胶囊内,而且胶囊外部仍有一部分的药物。这样就可使药物释放可以达到两次峰值,延长了质子泵暴露于PPIs的时间,也就加强了其抑酸效果^[49]。甚至有人想出在药物核心外面包裹上一层碳酸氢钠的缓冲剂,既可以快速高效地降低胃内pH值,又可以利用其内PPIs继续发挥抑酸的作用^[50]。对于上消化道出血等疾病而言,快速地升高胃内pH值,即有助于止血,又可保证血液凝块的稳定性,故而缓冲剂的应用也是有重要意义的^[51]。

5 结论

目前的抑酸治疗仍然存在着很多不足之处,然而研究还在继续,不久的将来肯定还会有更多的新型药物出现,以继续应用于治疗胃酸相关疾病以及胃食管反流病、消化系出血^[52]等疾病中。但是,如何才能更好地克服现有问题,研制出更为有效安全的PPIs制剂,我们还有很长的一段路要走。

6 参考文献

- Sifrim D, Zerbib F. Diagnosis and management of

- patients with reflux symptoms refractory to proton pump inhibitors. *Gut* 2012; 61: 1340-1354 [PMID: 22684483 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-301897]
- Lau JY, Barkun A, Fan DM, Kuipers EJ, Yang YS, Chan FK. Challenges in the management of acute peptic ulcer bleeding. *Lancet* 2013; 381: 2033-2043 [PMID: 23746903 DOI: 10.1016/S0140-6736(13)60596-6]
- Alhazzani W, Alenezi F, Jaeschke RZ, Moayyedi P, Cook DJ. Proton pump inhibitors versus histamine 2 receptor antagonists for stress ulcer prophylaxis in critically ill patients: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care Med* 2013; 41: 693-705 [PMID: 23318494 DOI: 10.1097/ccm.0b013e3182758734]
- Hershcovici T, Fass R. Pharmacological management of GERD: where does it stand now? *Trends Pharmacol Sci* 2011; 32: 258-264 [PMID: 21429600 DOI: 10.1016/j.tips.2011.02.007]
- Sachs G, Shin JM, Briving C, Wallmark B, Hersey S. The pharmacology of the gastric acid pump: the H^+,K^+ ATPase. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1995; 35: 277-305 [PMID: 7598495]
- Shin JM, Kim N. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the proton pump inhibitors. *J Neurogastroenterol Motil* 2013; 19: 25-35 [PMID: 23350044 DOI: 10.5056/jnm.2013.19.1.25]
- Hatlebakk JG, Katz PO, Camacho-Lobato L, Castell DO. Proton pump inhibitors: better acid suppression when taken before a meal than without a meal. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14: 1267-1272 [PMID: 11012470]
- Taubert D, Bouman HJ, van Werkum JW. Cytochrome P-450 polymorphisms and response to clopidogrel. *N Engl J Med* 2009; 360: 2249-2250; author reply 2251 [PMID: 19458375 DOI: 10.1056/nejmc090391]
- Chunyan N, Jinyan L, Nila M, Xueqin W. Relationship between the acid-suppression efficacy of proton pump inhibitors and the CYP2C19 genetic polymorphism in patients with peptic ulcer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15: 2151-2155 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-3079.2007.19.015]
- Janarthanan S, Ditah I, Adler DG, Ehrinpreis MN. Clostridium difficile-associated diarrhea and proton pump inhibitor therapy: a meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1001-1010 [PMID: 22710578 DOI: 10.1038/ajg.2012.179]
- Kwok CS, Arthur AK, Anibueze CI, Singh S, Cavallazzi R, Loke YK. Risk of Clostridium difficile infection with acid suppressing drugs and antibiotics: meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1011-1019 [PMID: 222525304 DOI: 10.1038/ajg.2012.108]
- Lightdale JR, Gremse DA. Gastroesophageal reflux: management guidance for the pediatrician. *Pediatrics* 2013; 131: e1684-e1695 [PMID: 23629618 DOI: 10.1542/peds.2013-0421]
- Hermos JA, Young MM, Fonda JR, Gagnon DR, Fiore LD, Lawler EV. Risk of community-acquired pneumonia in veteran patients to whom proton pump inhibitors were dispensed. *Clin Infect Dis* 2012; 54: 33-42 [PMID: 22100573 DOI: 10.1093/cid/cir767]
- Reimer C, Søndergaard B, Hilsted L, Bytzer P. Proton-pump inhibitor therapy induces acid-related symptoms in healthy volunteers after withdrawal of therapy. *Gastroenterology* 2009; 137: 80-87, 87.e1

- [PMID: 19362552 DOI: 10.105/jgastro.2009.03.098]
- 15 Broeren MA, Geerdink EA, Vader HL, van den Wall Bake AW. Hypomagnesemia induced by several proton-pump inhibitors. *Ann Intern Med* 2009; 151: 755-756 [PMID: 19920278 DOI: 10.1059/1003-4819-151-10-200911170-00016]
 - 16 Jianu CS, Fossmark R, Viset T, Qvigstad G, Sørdal O, Mårvik R, Waldum HL. Gastric carcinoids after long-term use of a proton pump inhibitor. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 36: 644-649 [PMID: 22861200 DOI: 10.1111/apt.12012]
 - 17 Hagiwara T, Mukaisho K, Nakayama T, Sugihara H, Hattori T. Long-term proton pump inhibitor administration worsens atrophic corpus gastritis and promotes adenocarcinoma development in Mongolian gerbils infected with *Helicobacter pylori*. *Gut* 2011; 60: 624-630 [PMID: 21097844 DOI: 10.1136/gut.2010.207662]
 - 18 Hassall E, Owen D, Kerr W, Sturby T, Richardson P, El-Serag H. Gastric histology in children treated with proton pump inhibitors long term, with emphasis on enterochromaffin cell-like hyperplasia. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 33: 829-836 [PMID: 21320136 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04592.x]
 - 19 Ra A, Tobe SW. Acute interstitial nephritis due to pantoprazole. *Ann Pharmacother* 2004; 38: 41-45 [PMID: 14742791]
 - 20 Klassen S, Krepinsky JC, Prebtani AP. Pantoprazole-induced acute interstitial nephritis. *CMAJ* 2013; 185: 56-59 [PMID: 23109611 DOI: 10.1503/cmaj.120954]
 - 21 Jacobs-Kosmin D, Derk CT, Sandorfi N. Pantoprazole and perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *J Rheumatol* 2006; 33: 629-632 [PMID: 16482642]
 - 22 Zhou J, Zhang M. Association of proton pump inhibitor use with altered calcium metabolism and bone fractures. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17: 2922-2926
 - 23 Roblin X, Phelip JM. Biological plausibility between proton pump inhibitory therapy and hip fracture: hyperhomocysteinemia can be the link. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 1052 [PMID: 19240711 DOI: 10.1038/ajg.2008.175]
 - 24 Ngamruengphong S, Leontiadis GI, Radhi S, Dentino A, Nugent K. Proton pump inhibitors and risk of fracture: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 1209-1218; quiz 1219 [PMID: 21483462 DOI: 10.1038/ajg.2011.113]
 - 25 Eom CS, Park SM, Myung SK, Yun JM, Ahn JS. Use of acid-suppressive drugs and risk of fracture: a meta-analysis of observational studies. *Ann Fam Med* 2011; 9: 257-267 [PMID: 21555754 DOI: 10.1370/afm.1243]
 - 26 Budha NR, Frymoyer A, Smelick GS, Jin JY, Yago MR, Dresser MJ, Holden SN, Benet LZ, Ware JA. Drug absorption interactions between oral targeted anticancer agents and PPIs: is pH-dependent solubility the Achilles heel of targeted therapy? *Clin Pharmacol Ther* 2012; 92: 203-213 [PMID: 22739140 DOI: 10.1038/clpt.2012.13]
 - 27 Gustafsson E, Jacobsson G, Nilsson P, Enroth H, Beronius MK, Andersson R, Arvidson S. Invasive *Staphylococcus aureus* strains are highly variable in PFGE patterns, agr group and exoprotein production. *Scand J Infect Dis* 2009; 41: 577-583 [PMID: 19513937 DOI: 10.1007/s10620-009-0818]
 - 28 Pinault D. Antidromic firing occurs spontaneously on thalamic relay neurons: triggering of ectopic action potentials by somatic intrinsic burst discharges. *Neuroscience* 1990; 34: 281-292 [PMID: 2333143 DOI: 10.1016/j.jacc.2012.11.040]
 - 29 Arbel Y, Birati EY, Finkelstein A, Halkin A, Kletzel H, Abramowitz Y, Berliner S, Deutsch V, Herz I, Keren G, Banai S. Platelet inhibitory effect of clopidogrel in patients treated with omeprazole, pantoprazole, and famotidine: a prospective, randomized, crossover study. *Clin Cardiol* 2013; 36: 342-346 [PMID: 23630016 DOI: 10.1002/clc.22117]
 - 30 Goodman SG, Clare R, Pieper KS, Nicolau JC, Storey RF, Cantor WJ, Mahaffey KW, Angiolillo DJ, Husted S, Cannon CP, James SK, Kilhamn J, Steg PG, Harrington RA, Wallentin L. Association of proton pump inhibitor use on cardiovascular outcomes with clopidogrel and ticagrelor: insights from the platelet inhibition and patient outcomes trial. *Circulation* 2012; 125: 978-986 [PMID: 22261200 DOI: 10.1161/circulationAHA.111.03292]
 - 31 Sibbing D, Morath T, Stegherr J, Braun S, Vogt W, Hadamitzky M, Schömig A, Kastrati A, von Beckerath N. Impact of proton pump inhibitors on the antiplatelet effects of clopidogrel. *Thromb Haemost* 2009; 101: 714-719 [PMID: 19350116]
 - 32 US Food and Drug Administration. FDA Drug Safety Communication: Reduced effectiveness of Plavix (clopidogrel) in patients who are poor metabolizers of the drug. Postmarket Drug Safety Information for Patients and Accessed February 10, 2012
 - 33 Chen J, Yuan YC, Leontiadis GI, Howden CW. Recent safety concerns with proton pump inhibitors. *J Clin Gastroenterol* 2012; 46: 93-114 [PMID: 22227731 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3182333820]
 - 34 Scarpignato C, Pelosini I, Di Mario F. Acid suppression therapy: where do we go from here? *Dig Dis* 2006; 24: 11-46 [PMID: 16699262 DOI: 10.1159/000091298]
 - 35 Zhang HM, Miao YL. Advances in the clinical applications of esomeprazole. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17: 2064-2069
 - 36 Scott LJ, Dunn CJ, Mallarkey G, Sharpe M. Esomeprazole: a review of its use in the management of acid-related disorders in the US. *Drugs* 2002; 62: 1091-1118 [PMID: 11985491]
 - 37 Zhou G, Tan ZR, Zhang W, Ou-Yang DS, Chen Y, Guo D, Liu YZ, Fan L, Deng HW. An improved LC-MS/MS method for quantitative determination of ilaprazole and its metabolites in human plasma and its application to a pharmacokinetic study. *Acta Pharmacol Sin* 2009; 30: 1330-1336 [PMID: 19701234 DOI: 10.1038/aps.2009.120]
 - 38 Cho H, Choi MK, Cho DY, Yeo CW, Jeong HE, Shon JH, Lee JY, Shin JS, Cho M, Kim DY, Shin JG. Effect of CYP2C19 genetic polymorphism on pharmacokinetics and pharmacodynamics of a new proton pump inhibitor, ilaprazole. *J Clin Pharmacol* 2012; 52: 976-984 [PMID: 21593280 DOI: 10.1177/0091270011408611]
 - 39 Periclou AP, Goldwater R, Lee SM, Park DW, Kim DY, Cho KD, Boileau F, Jung WT. A comparative pharmacodynamic study of IY-81149 versus omeprazole in patients with gastroesophageal reflux disease. *Clin Pharmacol Ther* 2000; 68: 304-311 [PMID: 11014412]
 - 40 Hunt RH, Armstrong D, Yaghoobi M, James C. The pharmacodynamics and pharmacokinetics of S-te-

■应用要点

本文旨在介绍此类药物在临床应用中可能出现的问题, 分析各种不良反应发生的原因, 总结近年来新药的开发及应用, 指导临床上此类药物的应用方法。对于不同疾病的临床治疗方案有指导作用。

■同行评价

本文较为全面总结综述了PPIs的作用机制和可能的相关影响所导致的不良反应。不失为在目前PPIs广泛应用的反思,且提出自己的看法和展望。文章参考文献较为全面,观点准确,引论合理适当。对临床用药具有一定指导意义。

- 41 natoprazole-Na 30 mg, 60 mg and 90 mg vs. esomeprazole 40 mg in healthy male subjects. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 31: 648-657 [PMID: 20015104 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2009.04219.x]
- 42 Hunt RH, Armstrong D, James C, Chowdhury SK, Yuan Y, Fiorentini P, Taccon A, Cohen P. Effect on intragastric pH of a PPI with a prolonged plasma half-life: comparison between tenatoprazole and esomeprazole on the duration of acid suppression in healthy male volunteers. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 1949-1956 [PMID: 16128938]
- 43 Andersson K, Carlsson E. Potassium-competitive acid blockade: a new therapeutic strategy in acid-related diseases. *Pharmacol Ther* 2005; 108: 294-307 [PMID: 16000224]
- 44 Sachs G, Shin JM, Hunt R. Novel approaches to inhibition of gastric acid secretion. *Curr Gastroenterol Rep* 2010; 12: 437-447 [PMID: 20924727 DOI: 10.1007/s11894-010-0149-5]
- 45 Kennedy BF, Loitsch S, McLaughlin RA, Scolaro L, Rigby P, Sampson DD. Fibrin phantom for use in optical coherence tomography. *J Biomed Opt* 2010; 15: 030507 [PMID: 20614992 DOI: 10.1124/jpet.110.170274]
- 46 Matsukawa J, Hori Y, Nishida H, Kajino M, Inatomi N. A comparative study on the modes of action of TAK-438, a novel potassium-competitive acid blocker, and lansoprazole in primary cultured rabbit gastric glands. *Biochem Pharmacol* 2011; 81: 1145-1151 [PMID: 21371447 DOI: 10.1016/j.bcp.2011.02.009]
- 47 Peura DA, Metz DC, Dabholkar AH, Paris MM, Yu P, Atkinson SN. Safety profile of dexlansoprazole MR, a proton pump inhibitor with a novel dual delayed release formulation: global clinical trial experience. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 30: 1010-1021 [PMID: 19735233 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2009.04137.x]
- 48 AGI Therapeutics: Product AG-010. Available from: URL: <http://www.agitherapeutics.com/agi010.html>
- 49 Vakily M, Lee RD, Wu J, Gunawardhana L, Mulford D. Drug interaction studies with dexlansoprazole modified release (TAK-390MR), a proton pump inhibitor with a dual delayed-release formulation: results of four randomized, double-blind, crossover, placebo-controlled, single-centre studies. *Clin Drug Investig* 2009; 29: 35-50 [PMID: 19067473 DOI: 10.2165/0044011-200929010-00004.]
- 50 Banerjee R, Reddy DN, Guda NM, Kalpala R, Mahurkar S, Darisetty S, Rao GV. Oral buffered esomeprazole is superior to i.v. pantoprazole for rapid rise of intragastric pH: a wireless pH metry analysis. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 43-47 [PMID: 19874444 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.05994.x]
- 51 Ozkan S, Durukan P, Senol V, Vardar A, Torun E, Ikizceli I. Upper gastrointestinal system hemorrhage in the emergency department. *Bratisl Lek Listy* 2011; 112: 706-710 [PMID: 22372337]
- 52 Lin KJ, Hernández-Díaz S, García Rodríguez LA. Acid suppressants reduce risk of gastrointestinal bleeding in patients on antithrombotic or anti-inflammatory therapy. *Gastroenterology* 2011; 141: 71-79 [PMID: 21458456]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



活血化瘀通络中药合方及拆方对糖尿病脂肪肝大鼠SOCS-3和SREBP-1c的影响

朱雅娜, 孙玉凤, 何莉莉, 任荣, 张玉, 王飞, 李风华, 张艺凡, 郭沛然

朱雅娜, 孙玉凤, 何莉莉, 任荣, 张玉, 王飞, 李风华, 郭沛然, 河北医科大学第二医院消化内科 河北省消化病重点实验室 河北省石家庄市 050000

张艺凡, 河北省石家庄市中心医院中西医结合内科 河北省石家庄市 050000

朱雅娜, 研究生, 主要从事消化系统疾病的研究.

作者贡献分布: 此课题由孙玉凤、朱雅娜、何莉莉、任荣及张玉设计; 研究过程、资料查找及数据统计由朱雅娜、何莉莉、任荣、张玉、王飞、李风华、张艺凡及郭沛然共同完成; 本文撰写由朱雅娜完成; 孙玉凤审核.

通讯作者: 孙玉凤, 教授, 主任医师, 050000, 河北省石家庄市和平西路215号, 河北医科大学第二医院消化内科.

sunyf789@yahoo.com.cn

电话: 0311-66002951

收稿日期: 2013-07-08 修回日期: 2013-08-20

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-10-18

Effect of combined prescription and separate prescription of promoting blood circulation and removing blood stasis traditional Chinese medicine on expression of SOCS-3 and SREBP-1c in diabetic fatty liver in rats

Ya-Na Zhu, Yu-Feng Sun, Li-Li He, Rong Ren, Yu Zhang, Fei Wang, Feng-Hua Li, Yi-Fan Zhang, Pei-Ran Guo

Ya-Na Zhu, Yu-Feng Sun, Li-Li He, Rong Ren, Yu Zhang, Fei Wang, Feng-Hua Li, Pei-Ran Guo, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Hebei Key Laboratory of Gastroenterology, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Yi-Fan Zhang, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, the Central Hospital of Shijiazhuang, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Correspondence to: Yu-Feng Sun, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Hebei Key Laboratory of Gastroenterology, 215 Heping West Road, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. Sunyf789@yahoo.com.cn

Received: 2013-07-08 Revised: 2013-08-20

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To investigate the effect of promoting blood circulation and removing blood stasis traditional Chinese medicine on the expression

of suppressors of cytokine signaling protein-3 (SOCS-3) and sterol regulatory element binding protein-1c (SREBP-1c) in diabetic fatty liver in rats and to explore potential mechanisms involved.

METHODS: Fifty healthy male Sprague-Dawley rats were randomly divided into five groups: a normal group, a model group, a promoting blood circulation group (*salvia miltiorrhiza*, *rhizoma ligustici*, *wallichii*), a removing blood stasis group (*leech*, *lumbricus*), and a combination group (*salvia miltiorrhiza*, *rhizoma ligustici*, *wallichii*, *leech*, *lumbricus*). Diabetes was induced with streptozocin (50 mg/kg *i.p.*) in all the groups except for the normal group. The three treatment groups were intragastrically treated with Chinese traditional medicine which can promote blood circulate and/or remove stasis once a day for 12 wk. Triglyceride (TG) and cholesterol (TC) were measured using biochemical methods. The expression of SOCS-3 and SREBP-1c mRNAs was determined by RT-PCR.

RESULTS: Compared to the normal group, the levels of TG and TC were significantly increased in the model group (6.80 mmol/L \pm 0.19 mmol/L, 5.36 mmol/L \pm 0.24 mmol/L, 5.37 mmol/L \pm 0.25 mmol/L, 5.01 mmol/L \pm 0.22 mmol/L *vs* 3.55 mmol/L \pm 0.28 mmol/L, all *P* < 0.05; 2.26 mmol/L \pm 0.27 mmol/L, 1.83 mmol/L \pm 0.25 mmol/L, 1.82 mmol/L \pm 0.23 mmol/L, 1.58 mmol/L \pm 0.19 mmol/L *vs* 1.35 mmol/L \pm 0.16 mmol/L, all *P* < 0.05); however, the levels of TG and TC were significantly lower in each drug intervention group than in the model group (5.36 mmol/L \pm 0.24 mmol/L, 5.37 mmol/L \pm 0.25 mmol/L, 5.01 mmol/L \pm 0.22 mmol/L *vs* 6.80 mmol/L \pm 0.19 mmol/L, all *P* < 0.05; 1.83 mmol/L \pm 0.25 mmol/L, 1.82 mmol/L \pm 0.23 mmol/L, 1.58 mmol/L \pm 0.19 mmol/L *vs* 2.21 mmol/L \pm 0.21 mmol/L, all *P* < 0.05). The levels of TG and TC were significantly higher in the promoting blood circulation group and removing blood stasis group than in the combination group (5.01 mmol/L \pm

■背景资料

糖尿病脂肪肝为糖尿病患者的常见并发症, 其缘于糖尿病脂代谢障碍, 造成脂肪在肝脏的过多沉积. 随着生活水平的提高和饮食结构的改变, 糖尿病脂肪肝患者逐年增加, 如果得不到及时治疗, 很可能进一步恶化, 发展为肝硬化, 甚至肝癌. 活血化瘀通络中药广泛应用于临床糖尿病脂肪肝患者, 并且取得一定疗效, 但有关其作用机制, 国内外未见相关报道.

■同行评议者

郝丽萍, 副教授, 华中科技大学同济医学院公共卫生学院营养与食品卫生学系

■研究前沿

近年来研究较多的肝细胞材料为猪肝细胞和肿瘤源性肝细胞株(C3A、HepG2等),但动物肝细胞存在发生免疫反应及传播动物源性病毒的危险,肿瘤源性肝细胞株分化程度低、生物学功能低下且在临床应用中存在细胞逃逸进入患者体内引起肿瘤的危险,限制了临床的广泛应用。

0.22 mmol/L vs 5.36 mmol/L \pm 0.24 mmol/L, 5.37 mmol/L \pm 0.25 mmol/L, both $P < 0.05$; 1.58 mmol/L \pm 0.19 mmol/L vs 1.83 mmol/L \pm 0.25 mmol/L, 1.82 mmol/L \pm 0.23 mmol/L, both $P < 0.05$). There was no significant change in the levels of TG and TC between the promoting blood circulation group and removing blood stasis group. Compared to the model group, liver steatosis was significantly reduced in each drug intervention group; however, liver steatosis was significantly more serious in the promoting blood circulation group and removing blood stasis group than in the combination group. Compared to the normal group, the expression of SOCS-3 and SREBP-1c mRNAs was significantly increased in the model group (0.885 ± 0.227 , 0.778 ± 0.005 , 0.633 ± 0.678 , 0.475 ± 0.012 vs 0.189 ± 0.002 , all $P < 0.05$; 0.861 ± 0.020 , 0.751 ± 0.003 , 0.600 ± 0.005 , 0.382 ± 0.014 vs 0.176 ± 0.001 , all $P < 0.05$). However, the expression of SOCS-3 and SREBP-1c mRNAs was significantly lower in each drug intervention group than in the model group (0.778 ± 0.005 , 0.633 ± 0.678 , 0.475 ± 0.012 vs 0.885 ± 0.227 , both $P < 0.05$; 0.751 ± 0.003 , 0.600 ± 0.005 , 0.382 ± 0.014 vs 0.861 ± 0.020 , both $P < 0.05$). The expression of SOCS-3 and SREBP-1c mRNAs was significantly higher in the promoting blood circulation group and removing blood stasis group than in the combination group (0.751 ± 0.003 , 0.600 ± 0.005 vs 0.382 ± 0.014 , both $P < 0.05$; 0.778 ± 0.005 , 0.633 ± 0.678 vs 0.475 ± 0.012 , both $P < 0.05$).

CONCLUSION: Both combined prescription and separate prescription of promoting blood circulation and removing blood stasis traditional Chinese medicine can alleviate fatty liver in rats possibly by decreasing the expression of SOCS-3 and SREBP-1c mRNAs. Combined prescription is better than separate prescription in alleviating fatty liver.

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

Key Words: Diabetic fatty liver; Promoting blood circulation and removing blood stasis Chinese medicine; SOCS-3; SREBP-1c

Zhu YN, Sun YF, He LL, Ren R, Zhang Y, Wang F, Li FH, Zhang YF, Guo PR. Effect of combined prescription and separate prescription of promoting blood circulation and removing blood stasis traditional Chinese medicine on expression of SOCS-3 and SREBP-1c in diabetic fatty liver in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3089-3096
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3089.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3089>

摘要

目的: 观察活血化瘀通络中药合方及拆方对糖尿病大鼠脂肪肝及细胞因子信号转导抑制物-3(suppressors of cytokine signaling protein-3, SOCS-3)mRNA和类固醇条件元件结合蛋白-1c(sterol regulatory element binding protein-1c, SREBP-1c)mRNA表达的影响, 探讨其抗糖尿病性脂肪肝的作用及可能机制。

方法: 将50只健康♂SD大鼠随机分为正常组、模型组、中药1组(活血组, 丹参、川芎)、中药2组(通络组, 水蛭、地龙)和中药3组(合方组, 水蛭、地龙、丹参、川芎), 除正常组外, 参照相关文献复制糖尿病性脂肪肝大鼠模型, 造模成功后, 正常组和模型组予生理盐水灌胃, 中药1、2、3组分别予活血中药(丹参、川芎), 通络中药(水蛭、地龙), 合方中药(水蛭、地龙、丹参、川芎)灌胃, 1次/d; 12 wk后处死大鼠, 生化法测量甘油三酯(triglyceride, TG)、胆固醇(cholesterol, TC), RT-PCR法检测肝组织SOCS-3 mRNA和SREBP-1c mRNA的表达。

结果: 与正常组相比, 模型组及各药物干预组大鼠血清TC、TG水平明显升高($6.80 \text{ mmol/L} \pm 0.19 \text{ mmol/L}$, $5.36 \text{ mmol/L} \pm 0.24 \text{ mmol/L}$, $5.37 \text{ mmol/L} \pm 0.25 \text{ mmol/L}$, $5.01 \text{ mmol/L} \pm 0.22 \text{ mmol/L}$ vs $3.55 \text{ mmol/L} \pm 0.28 \text{ mmol/L}$, $P < 0.05$); ($2.26 \text{ mmol/L} \pm 0.27 \text{ mmol/L}$, $1.83 \text{ mmol/L} \pm 0.25 \text{ mmol/L}$, $1.82 \text{ mmol/L} \pm 0.23 \text{ mmol/L}$, $1.58 \text{ mmol/L} \pm 0.19 \text{ mmol/L}$ vs $1.35 \text{ mmol/L} \pm 0.16 \text{ mmol/L}$, $P < 0.05$); 与模型组相比, 各药物干预组大鼠血清TC、TG水平有明显降低($5.36 \text{ mmol/L} \pm 0.24 \text{ mmol/L}$, $5.37 \text{ mmol/L} \pm 0.25 \text{ mmol/L}$, $5.01 \text{ mmol/L} \pm 0.22 \text{ mmol/L}$ vs $6.80 \text{ mmol/L} \pm 0.19 \text{ mmol/L}$, $P < 0.05$); ($1.83 \text{ mmol/L} \pm 0.25 \text{ mmol/L}$, $1.82 \text{ mmol/L} \pm 0.23 \text{ mmol/L}$, $1.58 \text{ mmol/L} \pm 0.19 \text{ mmol/L}$ vs $2.21 \text{ mmol/L} \pm 0.21 \text{ mmol/L}$, $P < 0.05$); 中药各组间比较: 中药3组TC、TG水平比中药1、2组低($5.01 \text{ mmol/L} \pm 0.22 \text{ mmol/L}$ vs $5.36 \text{ mmol/L} \pm 0.24 \text{ mmol/L}$, $5.37 \text{ mmol/L} \pm 0.25 \text{ mmol/L}$, $P < 0.05$); ($1.58 \text{ mmol/L} \pm 0.19 \text{ mmol/L}$ vs $1.83 \text{ mmol/L} \pm 0.25 \text{ mmol/L}$, $1.82 \text{ mmol/L} \pm 0.23 \text{ mmol/L}$, $P < 0.05$); 中药2组的TC、TG水平比中药1组低, 但没有统计学意义。各药物干预组大鼠肝细胞内脂肪滴减少, 脂肪囊肿消失, 转为轻中度脂肪变性, 脂肪变较模型组明显减轻; 合方组较拆方组脂肪变减轻; 与正常组相比, 模型组和各药物干预组SOCS-3和SREBP-1c表达均增强(0.885

$\pm 0.227, 0.778 \pm 0.005, 0.633 \pm 0.678, 0.475 \pm 0.012$ vs $0.189 \pm 0.002, P < 0.05$)、($0.861 \pm 0.020, 0.751 \pm 0.003, 0.600 \pm 0.005, 0.382 \pm 0.014$ vs $0.176 \pm 0.001, P < 0.05$); 与模型组相比, 各药物干预组SOCS-3和SREBP-1c表达均减弱($0.778 \pm 0.005, 0.633 \pm 0.678, 0.475 \pm 0.012$ vs $0.885 \pm 0.227, P < 0.05$)、($0.751 \pm 0.003, 0.600 \pm 0.005, 0.382 \pm 0.014$ vs $0.861 \pm 0.020, P < 0.05$); 与中药3组相比, 中药1、2组SOCS-3和SREBP-1c表达均升高($0.751 \pm 0.003, 0.600 \pm 0.005$ vs $0.382 \pm 0.014, P < 0.05$)、($0.778 \pm 0.005, 0.633 \pm 0.678$ vs $0.475 \pm 0.012, P < 0.05$); 相关分析显示, SOCS-3 mRNA和SREBP-1c mRNA呈正相关($r = 0.978, P < 0.05$)。

结论: 活血化瘀通络中药合方及拆方可以明显改善糖尿病脂肪肝, 其作用机制可能与降低SOCS-3和SREBP-1c的表达有关; 合方组明显优于拆方组。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 糖尿病性脂肪肝; 活血化瘀通络中药; 细胞因子信号转导抑制物-3; 类固醇条件元件结合蛋白-1c

核心提示: 活血化瘀通络中药能显著改善脂肪变性, 降低细胞因子信号转导抑制物-3(suppressors of cytokine signaling protein-3, SOCS-3) mRNA和类固醇条件元件结合蛋白-1c(sterol regulatory element binding protein-1c, SREBP-1c) mRNA的表达, 提示活血化瘀通络中药可明显改善改善糖尿病性脂肪肝大鼠的脂肪变性, 其机制可能与其下调SOCS-3和SREBP-1c mRNA表达有关, 且活血中药和通络中药具有协同作用。

朱雅娜, 孙玉凤, 何莉莉, 任荣, 张玉, 王飞, 李风华, 张艺凡, 郭沛然. 活血化瘀通络中药合方及拆方对糖尿病脂肪肝大鼠SOCS-3和SREBP-1c的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3089-3096 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3089.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3089>

0 引言

糖尿病性脂肪肝是指由于胰岛素分泌不足或相对缺乏引发的肝脏的脂代谢紊乱。正常成人在一般膳食条件下, 肝脏脂肪含量约占肝脏湿重的3%-5%, 糖尿病时由于脂肪代谢障碍, 使肝脏脂肪含量增加, 当肝脏脂肪含量超过肝脏重量10%时, 谓之糖尿病性脂肪肝^[1]。糖尿病脂肪肝包含于非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD), 其发病机制与NAFLD相

同。NAFLD是指由酒精和其他明确的肝损伤因素之外的原因所致, 以肝细胞脂肪变性和脂肪沉积为特征的临床病理综合征, 按病理学分类可分为单纯性非酒精性脂肪肝、非酒精性脂肪性肝炎和非酒精性脂肪性肝硬化^[2]。其常与肥胖、2型糖尿病、血脂紊乱同时存在, 被视为代谢综合征的肝脏表现^[3]。NAFLD发生与胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)密切相关, 改善IR对NAFLD有一定的治疗作用。近年来研究发现细胞因子信号转导抑制物-3(suppressors of cytokine signaling protein-3, SOCS-3)在IR和NAFLD的发生发展中起到非常重要的作用^[4]。SOCS-3一方面通过抑制胰岛素信号传导, 引起胰岛素抵抗, 导致NAFLD; 另一方面通过上调肝脏类固醇条件元件结合蛋白-1c(sterol regulatory element binding protein-1c, SREBP-1c)促进脂肪酸合成, 导致NAFLD。由于生活水平的提高和不合理饮食, 糖尿病性脂肪肝患者逐年增加, 活血化瘀通络中药临床广泛应用于糖尿病性脂肪肝患者, 并取得了一定疗效。本实验建立糖尿病脂肪肝大鼠模型, 应用活血化瘀通络中药进行干预, 观察活血化瘀通络中药合方及拆方对糖尿病性脂肪肝的作用及对SOCS-3和SREBP-1c的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 6-8周龄清洁级♂SD大鼠50只, 体质量为200-210 g, 由河北医科大学动物实验室提供, 许可证编号: 1112061, 分笼饲养, 每笼4只, 室温19℃-24℃, 湿度60%-70%, 自由饮水饮食, 明暗周期12 h/12 h。高热量饲料由基础饲料、炼猪油、胆固醇粉、胆酸钠粉按87.5%、10.0%、2.0%、0.5%的比例混合而成^[5]。适应性喂养1 wk后, 按体质量随机分为6组, 每组10只: 正常组、模型组、中药1组活血组、中药2组(通络组)、中药3组(合方组)。引物序列由NCBI-Nucleotide基因库检索, Primer5.0软件设计, 华瑞创新生物科技开发中心合成。SOCS-3 mRNA引物: 上游引物5'-GCT CCA AGA GCG AGT ACC AG-3'; 下游引物: 5'-AGT ACA CAG TCA AAG CGG GG-3', 扩增片段为286 bp。SREBP-1c mRNA引物: 上游引物: 5'-GCC ATG GAT TGC ACA TTT GAA GAC-3'; 下游引物: 5'-GAG GGA AGC TCG GAG GCA AC-3', 扩增片段为379 bp。内参甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH) mRNA引物: 上游引物: 5'-CCT TCA TTG ACC TCA ACT AC-3'; 下游引物: 5'-GGA AGG CCA TGC CAG TGA

■ 相关报道

Bloomgarden研究发现近年来研究发现细胞因子信号转导抑制物-3(suppressors of cytokine signaling protein-3, SOCS-3)在IR和非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的发生发展中起到非常重要的作用。SOCS-3一方面通过抑制胰岛素信号传导, 引起胰岛素抵抗, 导致NAFLD; 另一方面通过上调肝脏类固醇条件元件结合蛋白-1c(sterol regulatory element binding protein-1c, SREBP-1c)促进脂肪酸合成, 导致NAFLD。

■创新盘点

本文从活血化痰通络中药下调SOCS-3和SREBP-1c mRNA的表达,来探讨活血化痰通络中药治疗糖尿病脂肪肝可能作用机制。

GC-3', 扩增片段为594 bp。

1.2 方法

1.2.1 造模及给药: 除正常组外, 其余尾静脉注射链脲佐菌素(STZ)25 mg/kg, 临用前STZ按1%比例以柠檬酸缓冲液(pH 4, 0.1 mmol/L)稀释。于注射后72 h及1 wk时, 尾静脉采血, 若随机血糖 ≥ 16.7 mmol/L, 确定为糖尿病造模成功。用基础饲料喂养2 wk后, 除正常组外, 改为高脂饲料喂养。中药购于河北省中医院中药房, 剂型为袋装免煎剂, 根据大鼠体质量称取相应中药1.2 g/(kg·d), 用2 mL的沸水冲泡, 凉至35℃左右灌胃; 正常组和模型组灌服等量生理盐水; 所有动物均于每天上午灌胃1次, 连续给药12 wk。实验完全结束, 禁食12-14 h, 以戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔麻醉, 经腹主动脉取血10 mL, 30 min内分离血清, 置80℃冰箱保存备用1 wk内进行检测, 并留取大鼠肝组织备用。

1.2.2 血脂测定: 生化法检测血清学指标甘油三脂(triglyceride, TG)、胆固醇(cholesterol, TC)。

1.2.3 肝组织的病理观察: 苏木素伊红(HE)染色, 光镜下观察。

1.2.4 RT-PCR法检测SOCS-3 mRNA和SREBP-1c mRNA表达: (1)提取肝组织总RNA: 先将匀浆器插入冰中, 从-80℃冰箱中取组织100 mg左右, 放入匀浆器内, 然后加入1 mL TRIzol迅速研磨至无颗粒透明状然后转移至新的离心管中, 室温静置5 min, 4℃ 12000 r/min离心5 min, 然后小心吸取上清液于另一离心管中, 加入1/5体积的氯仿, 震荡混匀后室温静置5 min, 4℃ 12000 r/min离心15 min, 转移上层水相到另一新离心管中, 加入等体积的异丙醇, 充分混匀后室温静置10 min, 然后4℃ 12000 r/min离心10 min, RNA形成白色的小团沉淀在离心管的底部和侧面, 弃上清, 加入750 mL/L的乙醇1 mL, 4℃ 12000 r/min离心5 min, 尽量弃上清, 漂洗2-3次RNA沉淀, 最后在无茵工作台中干燥RNA沉淀5-10 min, 加入DEPC处理的50 μ L双蒸馏水, 55℃-60℃温育10 min使RNA充分溶解, 随即使用或置于-80℃保存备用。取少许溶解的RNA, 用TE Buffer稀释后于紫外分光光度计260和280 nm处读A值, $A_{260}/A_{280} = 1.8-2.0$ 间方可使用, 总RNA浓度 = $A_{260} \times \text{稀释倍数} \times 0.04(\mu\text{g}/\mu\text{L})$, 用前调整为1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$; (2)逆转录反应: 取总RNA 1 μg , 加入RT反应体系(含AMV Buffer, dNTPs, Oligo dT Primer, AMV, RNase Inhibitor等)于离心管中, 并

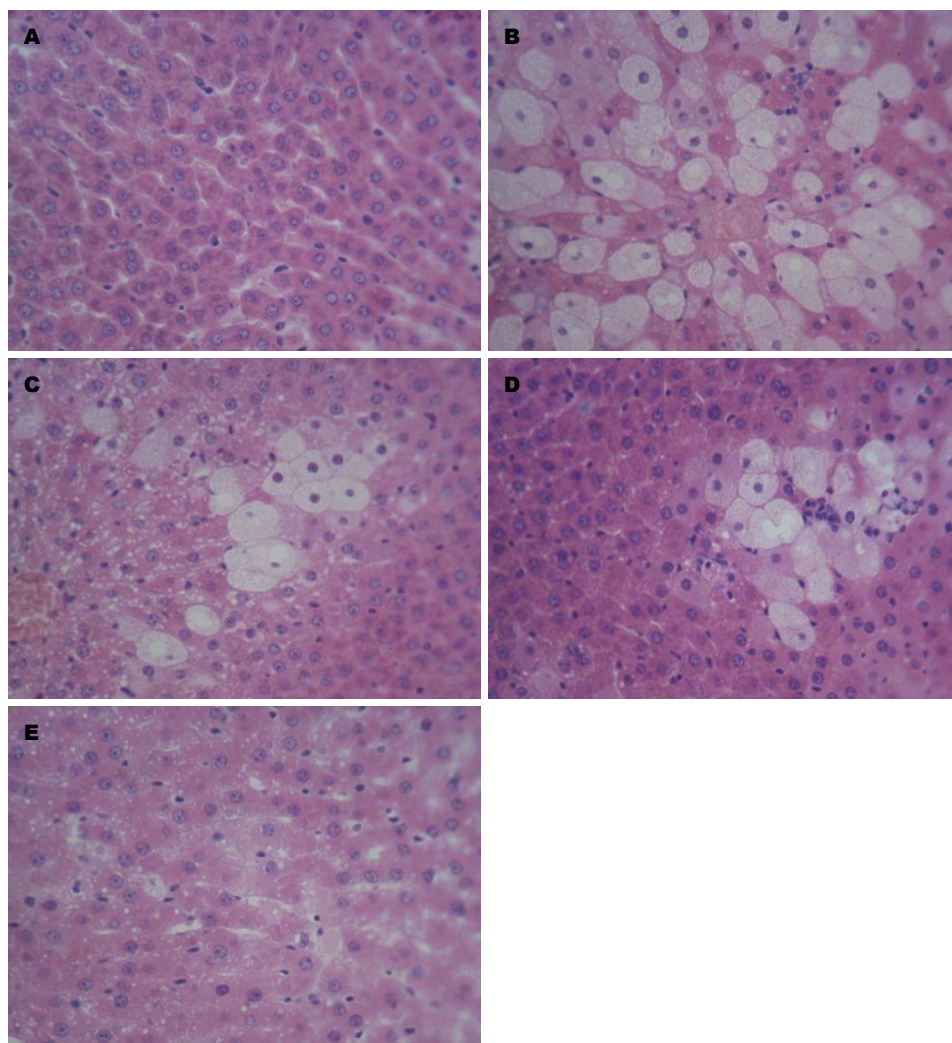
用DEPC处理水补足到20 μ L反应液体积, 震荡混匀后短暂离心, 加少许矿物油于PCR仪42℃ 30 min(cDNA合成), 99℃ 5 min(逆转录酶失活), 5℃ 5 min。-20℃保存备用; (3)PCR反应体系: 反应体系含Mix 10 μ L, cDNA 2 μ L, 上游引物 1 μ L, 下游引物 1 μ L, 补DEPC处理水至20 μ L, 震荡混匀后短暂离心, 加少许矿物油于PCR仪扩增。按各自反应条件进行扩增: SOCS-3反应条件: 94℃预变性3 min; 94℃变性40 s, 55℃退火50 s, 72℃延伸90 s, 循环30次, 72℃延伸10 min。SREBP-1c反应条件: 94℃预变性3 min; 94℃变性40 s, 56℃退火50 s, 72℃延伸90 s, 循环30次, 72℃延伸10 min。GAPDH反应条件: 94℃预变性3 min; 94℃变性40 s, 59℃退火50 s, 72℃延伸90 s, 循环30次, 72℃延伸10 min; (4)半定量分析: PCR产物在含5-溴-4-氯-3-吡啶- β -D-半乳糖苷(X-gal)的1%琼脂糖凝胶中电泳后, 置于凝胶分析系统(UVP公司, 美国)进行吸光度扫描, 用目的基因吸光度与内参(GAPDH)吸光度的比值来表示目的基因相对表达含量。

统计学处理 应用SPSS13.0统计分析软件进行统计分析, 数据以mean \pm SD表示。多组间比较采用单因素方差分析(One way ANOVA), 进一步两两比较采用SNK法。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝脏组织形态学改变 大体形态改变: 正常组大鼠肝脏外观大小形态正常, 轮廓光滑整齐, 色泽红润; 模型组大鼠肝脏外观呈弥漫性肿大, 边缘钝而厚, 表面光滑, 质如面团, 压迫时可出现凹陷, 表面色泽较苍白或带灰黄色, 切面可呈黄红或淡黄色, 有油腻感; 各药物干预组大鼠肝脏外观轻度肿大, 肉眼可见部分正常肝脏区域, 颜色为浅黄色, 油腻感减轻, 脂肪病变明显减轻。

2.2 HE染色观察肝组织病理学改变 脂肪肝的基本病理改变为肝细胞肿大, 充满大小不等的脂肪空泡(脂滴), 空泡大和多者可将肝细胞核推向一侧。数个含有脂肪滴的肝细胞可破裂, 形成脂肪囊肿, 囊肿破裂后可引起炎症反应。轻至中度脂肪变性在肝小叶中心区最为明显, 一般无明显的炎症反应和细胞坏死。重度脂肪变性整个肝小叶的肝细胞都有脂肪变性, 可伴有轻度局限性炎症和单纯性坏死, 另外还可伴有一定程度的肝纤维结缔组织增生。模型组2/3以上肝小叶的肝细胞



■应用要点
本文从活血化瘀通络中药改善糖尿病脂肪肝方面, 为临床治疗糖尿病脂肪肝提供新的思路。

图 1 各组大鼠HE染色. A: 正常组; B: 模型组; C: 中药1组; D: 中药2组; E: 中药3组.

表 1 各组大鼠体质量、血糖、甘油三酯、胆固醇结果 ($n = 10$, mean \pm SD)

分组	体质量(g)		血糖(mmol/L)	甘油三酯(mmol/L)	胆固醇(mmol/L)
	实验前	实验后			
正常组	205.48 \pm 0.47	310.25 \pm 0.68	6.15 \pm 0.65	3.55 \pm 0.28	1.35 \pm 0.16
模型组	205.84 \pm 0.32	253.03 \pm 0.54 ^a	20.95 \pm 0.41 ^a	6.80 \pm 0.19 ^a	2.26 \pm 0.27 ^a
中药1组	205.65 \pm 0.42	234.79 \pm 0.93 ^{ac}	16.66 \pm 0.32 ^{ac}	5.36 \pm 0.24 ^{ac}	1.83 \pm 0.25 ^{ac}
中药2组	204.99 \pm 0.38	234.79 \pm 0.92 ^{ac}	16.58 \pm 0.34 ^{ac}	5.37 \pm 0.25 ^{ac}	1.82 \pm 0.23 ^{ac}
中药3组	204.96 \pm 0.46	233.29 \pm 0.65 ^{ac}	15.23 \pm 0.25 ^{ac}	5.01 \pm 0.22 ^{ac}	1.58 \pm 0.19 ^{ac}

^a $P < 0.05$ vs 正常组; ^b $P < 0.05$ vs 模型组; ^c $P < 0.05$ vs 中药3组.

都有脂肪变性, 有脂肪囊肿, 属于中重度脂肪变性; 各药物干预组大鼠脂肪变较模型组明显减轻; 合方组脂肪变较拆方组减轻(图1).

2.3 各组大鼠TC、TG、体质量及血糖比较 与正常组相比, 模型组及各药物干预组大鼠血清TC、TG水平明显升高($P < 0.05$); 与模型组相比, 各药物干预组大鼠血清TC、TG水平有明显降

低($P < 0.05$); 中药各组间比较: 中药3组TG水平比中药1、2组低($P < 0.05$); 中药2组的TC、TG水平比中药1组低, 但没有统计学意义($P > 0.05$); 实验开始前, 正常组与实验组大鼠体质量没有明显差别($P > 0.05$); 与正常组比较, 模型组及各药物干预组体质量明显下降($P < 0.05$); 与模型组相比, 各药物干预组大鼠体质量明显下降($P < 0.05$); 中

■同行评价

本文为中药在临床上更好应用及药理研究提供基础和依据, 有一定的意义。

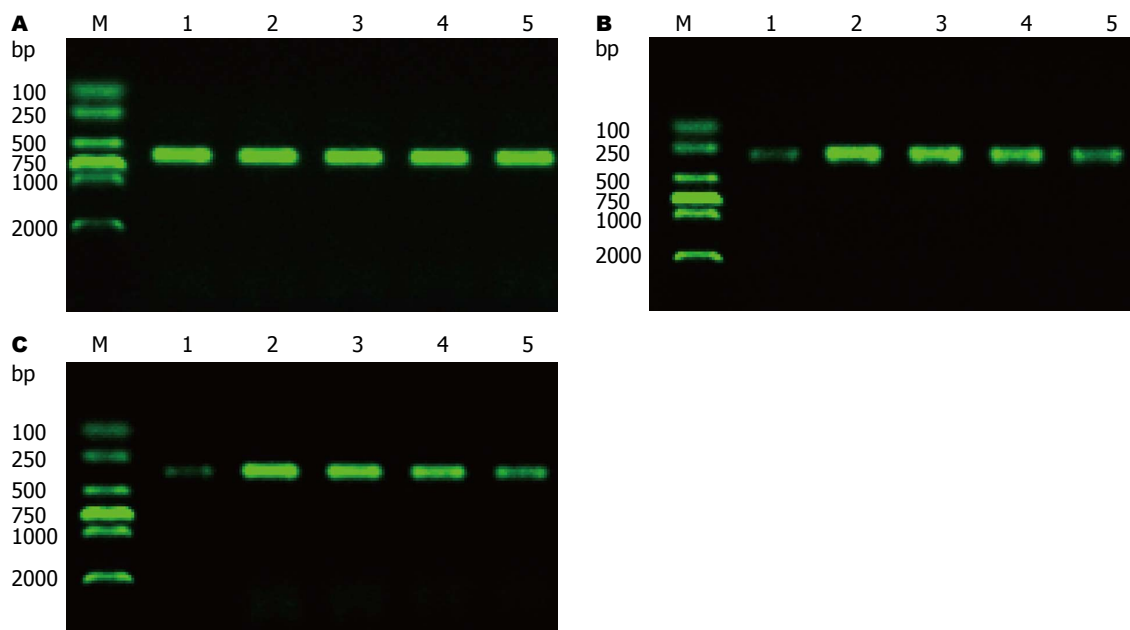


图2 RT-PCR法测定各组大鼠肝组织SOCS-3 mRNA和SREBP-1c mRNA的表达. A: GAPDH mRNA的表达(594 bp); B: SOCS-3 mRNA的表达(286 bp); C: SREBP-1c mRNA的表达(379 bp). M: DNA Marker; 1: 正常组; 2: 模型组; 3: 中药1组; 4: 中药2组; 5: 中药3组. SOCS-3: 细胞因子信号转导抑制物-3; SREBP-1c类固醇条件元件结合蛋白-1c.

表2 各组大鼠SOCS-3 mRNA和SREBP-1c mRNA RT-PCR结果 ($n = 10$, mean \pm SD)

分组	SOCS-3/GAPDH	SREBP-1c/GAPDH
正常组	0.189 \pm 0.002	0.176 \pm 0.00
模型组	0.885 \pm 0.227 ^a	0.861 \pm 0.020 ^a
中药1组	0.778 \pm 0.005 ^{ac}	0.751 \pm 0.003 ^{ac}
中药2组	0.633 \pm 0.678 ^{ac}	0.600 \pm 0.005 ^{ac}
中药3组	0.475 \pm 0.012 ^{ac}	0.382 \pm 0.014 ^{ac}

^a $P < 0.05$ vs 正常组; ^c $P < 0.05$ vs 模型组; ^{ac} $P < 0.05$ vs 中药3组;

^a $P < 0.05$ vs 中药2组. SOCS-3: 细胞因子信号转导抑制物-3; SREBP-1c类固醇条件元件结合蛋白-1c.

药各组间比较: 中药3组大鼠体质量较中药1、2组明显下降($P < 0.05$), 中药1、2组大鼠体质量没有明显差别($P > 0.05$); 与正常组比较, 模型组及各药物干预组大鼠血糖明显升高($P < 0.05$); 与模型组相比, 各药物干预组大鼠血糖明显降低($P < 0.05$); 中药各组间比较: 中药3组大鼠血糖较中药1、2组明显下降($P < 0.05$), 中药1、2组大鼠血糖没有明显差别($P > 0.05$)(表1).

2.4 RT-PCR法测定各组大鼠肝组织SOCS-3 mRNA和SREBP-1c mRNA的表达 与正常组相比, 模型组及各药物干预组SOCS-3和SREBP-1c表达均增强($P < 0.05$); 与模型组相比, 各药物干预组SOCS-3和SREBP-1c表达均减弱($P < 0.05$); 与中药3组相比, 中药1、2组SOCS-3和SREBP-

1c表达均减弱($P < 0.05$); 与中药1组比较, 中药2组SOCS-3和SREBP-1c表达减弱($P < 0.05$). 相关分析显示, SOCS-3 mRNA和SREBP-1c mRNA呈正相关($r = 0.978$, $P < 0.05$)(图2, 表2).

3 讨论

随着生活水平的提高和饮食结构的改变, NAFLD已经成为现代社会最常见的肝病之一^[6]. 糖尿病脂肪肝属于NAFLD的范畴. 目前, “二次打击”学说作为NAFLD的经典发病机制, 已经被广泛接受. 首次打击主要是指脂肪在肝脏实质细胞内的过度聚集, 这一过程已经被证实与胰岛素抵抗有关, 胰岛素抵抗会导致细胞内甘油三酯的合成与转运功能紊乱. 因此, 改善胰岛素抵抗对NAFLD有一定的治疗作用^[7].

SOCS家族是近年发现的受细胞因子诱导的蛋白质家族. 人的SOCS-3基因与大鼠、小鼠的同源性约90%. SOCS-3广泛分布于胸腺、脑、心脏、骨骼肌、肝脏、白色脂肪、胰腺、肾脏、肺、胎盘、前列腺、外周血白细胞、卵巢、睾丸、小肠、大肠等组织器官^[8]. SOCS-3可通过多个环节, 抑制胰岛素信号传导, 引起胰岛素抵抗, 最终导致NAFLD的发生, 其机制主要包括以下几个方面: (1)竞争性结合胰岛素受体抑制胰岛素信号传导: SOCS-3可以竞争性结合胰岛素受体^[9], 抑制了STAT5b的磷酸化及其

对胰岛素受体底物蛋白(IRS)的磷酸化作用, 从而抑制了胰岛素信号的传导; (2)抑制JAK活化: SOCS-3通过与磷酸化的JAK结合, 抑制JAK的激酶活性^[10], 进而抑制胰岛素诱导的JAK活化, 导致胰岛素抵抗的发生; (3)降解IRS, 进而抑制胰岛素信号传导, 导致胰岛素抵抗^[11].

SOCS-3还可通过上调肝脏类固醇条件元件结合蛋白-1c(sterol regulatory element binding proteins -1c, SREBP-1c)的表达使脂肪酸合成增加及肝脏脂肪沉积, 引起NAFLD. STAT是抑制SREBP-1c启动子活性的分子, SOCS-3是JAK/STAT通路的负反馈抑制因子, SOCS-3表达的增加可下调STAT, 进而导致SREBP-1c表达的增加, 造成了脂肪在肝脏的沉积. SREBP-1c是一种核转录因子, 又称脂肪细胞定向和分化因子1, 他直接参与调控有关脂肪酸、甘油三酯合成和葡萄糖代谢相关酶基因的表达, 包括乙酰辅酶A羧化酶(acetyl CoA carboxylase, ACC)、脂肪酸合酶(fatty acid synthase, FAS)和固醇酰辅酶A脱氢酶1(SCD-1), 能激活脂肪酸合成途径中多种基因转录子, 启动合成程序, 从而使肝脏脂质尤其是甘油三酯含量增加, 从而导致肝脏脂肪变性^[12]. 曾有研究^[13]表明利用反义寡核苷酸的方法可以明显的降低SREBP-1c的表达, 同样地, 由SREBP-1c直接转录的脂肪酸合成酶ACC、FAS和SCD-1也明显的降低. 还有一项研究利用基因重组技术产生缺乏SREBP-1c编码基因的小鼠, 并且发现这类突变小鼠肝脏中脂肪酸的合成明显下降^[14], 这些研究表明降低SREBP-1c的表达, 可以改善肝脏脂肪变性. SREBP-1c表达增加导致游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)的合成增多^[15]. FFA可抑制外周葡萄糖的利用及氧化, 抑制合成肌糖原, 使血糖升高; FFA又促进糖异生, 诱发高胰岛素血症^[16], 脂肪细胞接受升高的胰岛素信号后, 加强对脂肪的分解, 大量的FFA被转运到肝细胞中, 在高胰岛素血症刺激下大量合成脂肪酸, 导致肝脏脂质沉积, 而脂质的异位沉积可加重胰岛素抵抗, 形成恶性循环^[17].

脂肪肝相当于中医学中的“积聚”与“痰痞”, 其基本病机为嗜食肥甘厚味, 滋生痰浊, 痰湿阻滞, 导致气机郁滞, 血脉瘀阻, 气、血、痰、浊互相搏结, 聚滞为积, 阻于肝络, 发为本病, 故临床上多采用活血化癥通络的治疗方法, 并取得良好疗效.

本实验采用高脂高胆固醇饲料加小剂量STZ制备糖尿病性脂肪肝大鼠模型, 应用活血

化癥通络中药的拆方与合方治疗糖尿病脂肪肝大鼠, 观察活血化癥通络中药对脂肪肝的作用和对SOCS-3和SREBP-1c表达的影响, 并将活血中药、通络中药及合方中药进行比较, 以探讨其疗效及可能机制. 结果显示: 活血化癥通络中药能显著改善脂肪变性, 降低SOCS-3 mRNA和SREBP-1c mRNA的表达, 合方明显优于拆方组, 通络组疗效优于活血组, 提示活血化癥通络中药可明显改善改善糖尿病性脂肪肝大鼠的脂肪变性, 其机制可能与其下调SOCS-3和SREBP-1c mRNA表达有关, 且活血中药和通络中药具有协同作用.

4 参考文献

- 1 苗述楷, 蔡慧文. 糖尿病并发症防治学. 第2版. 北京: 中国医药科技出版社, 2005: 145-149
- 2 Brunt EM, Tiniakos DG. Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 5286-5296 [PMID: 21072891 DOI: 10.3748/wjg.v16.i42.5286]
- 3 唐启盛. 抑郁症-中西医基础与临床. 北京: 中国中医药出版社, 2006: 217-227
- 4 Bloomgarden ZT. Second World Congress on the Insulin Resistance Syndrome: insulin resistance syndrome and nonalcoholic fatty liver disease. *Diabetes Care* 2005; 28: 1518-1523 [PMID: 15920084 DOI: 10.2337/diacare.28.6.1518]
- 5 陆付耳, 董慧, 高志强. 中药肝脂复煎剂对酒精和高脂饲养诱导的大鼠脂肪肝的影响. *世界华人消化杂志* 2004; 12: 1596-1599
- 6 Erickson SK. Nonalcoholic fatty liver disease. *J Lipid Res* 2009; 50 Suppl: S412-S416 [PMID: 19074370 DOI: 10.1194/jlr.R800089-JLR200]
- 7 Krawczyk M, Bonfrate L, Portincasa P. Nonalcoholic fatty liver disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2010; 24: 695-708 [PMID: 20955971 DOI: 10.1016/j.bpg.2010.08.005]
- 8 Dey BR, Furlanetto RW, Nissley P. Suppressor of cytokine signaling (SOCS)-3 protein interacts with the insulin-like growth factor-I receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 278: 38-43 [PMID: 11071852 DOI: 10.1006/bbrc.2000.3762]
- 9 Emanuelli B, Peraldi P, Filloux C, Sawka-Verhelle D, Hilton D, Van Obberghen E. SOCS-3 is an insulin-induced negative regulator of insulin signaling. *J Biol Chem* 2000; 275: 15985-15991 [PMID: 10821852 DOI: 10.1074/jbc.275.21.15985]
- 10 Leonard WJ. Role of Jak kinases and STATs in cytokine signal transduction. *Int J Hematol* 2001; 73: 271-277 [PMID: 11345192]
- 11 Rui L, Yuan M, Frantz D, Shoelson S, White MF. SOCS-1 and SOCS-3 block insulin signaling by ubiquitin-mediated degradation of IRS1 and IRS2. *J Biol Chem* 2002; 277: 42394-42398 [PMID: 12228220]
- 12 Ueki K, Kadowaki T, Kahn CR. Role of suppressors of cytokine signaling SOCS-1 and SOCS-3 in hepatic steatosis and the metabolic syndrome. *Hepatol Res* 2005; 33: 185-192 [PMID: 16226915]
- 13 Frederico MJ, Vitto MF, Cesconetto PA, Engelmann J, De Souza DR, Luz G, Pinho RA, Ropelle ER, Cintra DE, De Souza CT. Short-term inhibition of SREBP-1c expression reverses diet-induced non-

- alcoholic fatty liver disease in mice. *Scand J Gastroenterol* 2011; 46: 1381-1388 [PMID: 21936721]
- 14 Shimano H, Horton JD, Shimomura I, Hammer RE, Brown MS, Goldstein JL. Isoform 1c of sterol regulatory element binding protein is less active than isoform 1a in livers of transgenic mice and in cultured cells. *J Clin Invest* 1997; 99: 846-854 [PMID: 9062341 DOI: 10.1172/JCI119248.]
- 15 Joseph SB, Laffitte BA, Patel PH, Watson MA, Matsukuma KE, Walczak R, Collins JL, Osborne TF, Tontonoz P. Direct and indirect mechanisms for regulation of fatty acid synthase gene expression by liver X receptors. *J Biol Chem* 2002; 277: 11019-11025 [PMID: 11790787]
- 16 Ueki K, Kondo T, Tseng YH, Kahn CR. Central role of suppressors of cytokine signaling proteins in hepatic steatosis, insulin resistance, and the metabolic syndrome in the mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 10422-10427 [PMID: 15240880 DOI: 10.1073/pnas.0402511101]
- 17 McGarry JD. Banting lecture 2001: dysregulation of fatty acid metabolism in the etiology of type 2 diabetes. *Diabetes* 2002; 51: 7-18 [PMID: 11756317 DOI: 10.2337/diabetes.51.1.7]

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》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]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献,包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和 *World Journal of Gastroenterology* (<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>)。期刊: 序号, 作者(列出全体作者)。文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

TGF- β 1与MMP-1在兔胆管电灼伤中的表达及意义

李锦锦, 李 潼, 孟元普, 吴军卫, 柴新群

李锦锦, 李潼, 孟元普, 吴军卫, 柴新群, 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

李锦锦, 在读硕士, 主要从事肝胆外科疾病的研究。

作者贡献分布: 此课题由柴新群与李锦锦设计; 研究过程由李锦锦、李潼、孟元普及吴军卫操作完成; 论文写作由李锦锦与柴新群完成

国家自然科学基金资助项目, No. 81070159

通讯作者: 柴新群, 教授, 主任医师, 430022, 湖北省武汉市解放大道1277号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院肝胆外科。xinqunc@hotmail.com

电话: 027-85351623

收稿日期: 2013-07-01 修回日期: 2013-07-31

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-10-18

Significance of expression of TGF- β 1 and MMP1 in bile duct injury caused by electrocautery in rabbits

Jin-Jin Li, Tong Li, Yuan-Pu Meng, Jun-Wei Wu, Xin-Qun Chai

Jin-Jin Li, Tong Li, Yuan-Pu Meng, Jun-Wei Wu, Xin-Qun Chai, 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. 81070159

Correspondence to: Xin-Qun Chai, Professor, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1277 Jiefang Road, Wuhan 430022, Hubei Province, China. xinqunc@hotmail.com

Received: 2013-07-01 Revised: 2013-07-31

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To investigate the significance of expression of transforming growth factor-beta 1 (TGF- β 1) and matrix metalloproteinase 1 (MMP1) in bile duct injury caused by electrocautery in rabbits.

METHODS: A model of bile duct injury caused by electrocautery was established in rabbits. Expression and location of TGF- β 1 and MMP1 in bile duct injury was detected by immunohistochemistry.

RESULTS: Expression of TGF- β 1 and MMP1

showed no significant differences between the normal control group and sham operation group. Sustained high expression of TGF- β 1 and low expression of MMP1 were observed in later stage in the operation group. With the prolongation of the time of inflammatory state, the expression of TGF- β 1 showed a negative correlation with MMP1 in the operation group.

CONCLUSION: High expression of TGF- β 1 and low expression of MMP1 are important factors leading to bile duct stricture, and they have a synergistic effect in leading to biliary fibrosis and cicatrization.

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

Key Words: Bile duct injury; Bile duct stricture; Transforming growth factor-beta 1; Matrix metalloproteinase 1

Li JJ, Li T, Meng YP, Wu JW, Chai XQ. Significance of expression of TGF- β 1 and MMP1 in bile duct injury caused by electrocautery in rabbits. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3097-3101 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3097.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3097>

摘要

目的: 观察转化生长因子- β 1(transforming growth factor-beta 1, TGF- β 1)与基质金属酶-1(matrix metalloproteinase-1, MMP-1)在兔胆管电灼烧伤中的表达, 并探讨两者在胆管狭窄形成中的关系、作用及意义。

方法: 建立兔胆管电损伤模型, 分别于术后4、8 wk取材, 分别行TGF- β 1与MMP-1免疫组织化学染色, 观察其阳性细胞数。

结果: 两者在正常胆管组织及假手术组中的表达无统计学意义。TGF- β 1在电灼伤各组中持续高表达, 而MMP-1在电损伤4 wk中高表达、8wk中呈低表达。两者在电灼伤狭窄胆管中的表达明显高于正常胆管组织, 假手术组($P<0.05$)。TGF- β 1在4 wk(75.35 ± 5.00)、

■背景资料

良性胆管狭窄是胆道外科的棘手问题, 病情病程长, 易反复引起胆道感染及多种严重的并发症, 常因医源性胆道损伤引起, 由于腔镜技术的普及, 医源性胆道损伤的发生率在提高, 而胆管电损伤有其自身特点, 引起的后果更加严重, 因此本文旨在探讨电损伤中的狭窄形成机制。

■同行评议者

薛东波, 教授, 哈尔滨医科大学附属第一医院

■ 研发前沿

随腔镜技术的应用的普及,由腹腔镜手术导致的医源性胆管损伤的发生率上升,术后表现为炎症、瘢痕挛缩和狭窄,形成显著的良性狭窄,但狭窄的发生机制却是未解之谜。

8 wk(74.4 ± 6.60)组中的表达无统计学差异, MMP-1在4 wk(42.4 ± 5.16)、8 wk(17.2 ± 3.88)中的表达差异有统计学意义($P < 0.05$)。TGF- β 1与MMP-1两者在狭窄胆管组织中的表达随炎症时间延长呈负相关($r = -0.218$)。

结论: TGF- β 1持续高表达与MMP-1后期低表达是造成胆管狭窄的重要因素,并且两者在胆管纤维化增厚、瘢痕形成过程中具有协同的作用。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胆管损伤; 胆管狭窄; 转化生长因子- β 1; 基质金属酶-1

核心提示: 本研究中发现电损伤胆管的早期和晚期均可见转化生长因子- β 1(transforming growth factor-beta 1, TGF- β 1)的持续高表达,这与对照组和假手术组有明显的统计学差异,但是手术组间无统计学意义,这表明TGF- β 1的持续分泌是狭窄形成的重要成因,这与国内外相关报道一致。此外,本研究中发现基质金属酶-1(matrix metalloproteinase-1, MMP-1)随炎症时间的延长分泌而减少,是造成炎症后细胞外基质合成和降解失衡的重要原因。持续高表达的TGF- β 1诱导细胞分泌胶原蛋白、弹性纤维等,造成细胞外基质大量沉积挛缩,并抑制MMP-1的释放导致基质合成和降解的失衡,最终在两者的共同作用下形成狭窄。

李锦锦, 李潼, 孟元普, 吴军卫, 柴新群. TGF- β 1与MMP-1在兔胆管电灼伤中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3097-3101 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3097.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3097>

0 引言

胆道良性狭窄是胆道外科非常棘手的问题,常由腹腔镜胆囊切除术所致的医源性胆管损伤引起^[1],随着腔镜技术的广泛应用,医源性胆管损伤的发生率由0.4%上升至0.5%^[2,3],国内大宗病例研究显示胆管电灼伤约占18.3%^[4]。胆管损伤后常以炎症疤痕挛缩和狭窄为突出表现,尤以肝门部或肝门部以上胆管狭窄显著^[5]。但是胆道良性狭窄的发病机制仍是未知^[6]。

有关研究表明^[7,8]纤维细胞的分化和激活是产生纤维性病变的重要事件,纤维细胞分化为肌纤维细胞并持续大量存在是造成瘢痕挛缩和纤维病变的主要原因。而转化生长因子- β 1(transforming growth factor-beta 1, TGF- β 1)是

纤维细胞转化和激活的强有力的诱导者^[7,9]。分化成的肌成纤维细胞可分泌胶原,造成大量细胞外基质沉积,导致瘢痕增厚,而基质金属酶-1(matrix metalloproteinase-1, MMP-1)作为主要的胶原酶参与细胞外基质的降解和重建。本研究旨在探讨两者在胆管损伤后所致狭窄中作用。

1 材料和方法

1.1 材料 选用健康家兔25只(购自华中科技大学同济医学院动物实验中心)雌雄不限,平均体质量 $2.1 \text{ kg} \pm 0.14 \text{ kg}$,随机分为对照组、假手术组、实验组、假手术组和实验组根据术后处理时间分为2个亚组(术后4、8 wk组),各组5只。术前各组的体质量、进食量、精神状态无明显差异。手术器械由武汉协和医院手术室提供。

1.2 方法

1.2.1 各分组的处理: 同等条件下饲养,术日晚禁饮食,假手术组与实验组用3%的戊巴比妥钠(1 mL/kg)经耳缘静脉麻醉,麻醉满意后备皮、消毒、铺巾,参照文献^[10]对实验组建立电灼伤模型,假手术组仅作开腹,对照组不做任何处理;术后3 d连续肌注单位青霉素80万单位。

1.2.2 取材: 术后4、8wk采用空气栓塞法处死后取材,实验组剪取损伤部位胆管1 cm,假手术组及对照组分别剪取相应部位胆管1 cm,生理盐水漂洗胆管,4%多聚甲醛固定,常规制作石蜡包块,沿胆总管横断面连续切片,厚度 $5 \mu\text{m}$,行HE染色及免疫组织化学染色。

1.2.3 免疫组织化学: 采用SP法,第一抗体:抗兔TGF- β 1抗体(武汉博士德公司),抗兔MMP-1抗体(北京博奥森公司),抗兔/鼠通用型免疫组织化学试剂盒REALTMEnVision+/HRP RABBIT/MOUSE(Dako Denmark A/S生产)。牛血清白蛋白(Roche,北京索莱宝科技有限公司分装)染色步骤:组织切片常规脱蜡止至水;切片置于EDTA中行微波修复;3% H_2O_2 中室温下孵育5-10 min,灭活内源性酶,蒸馏水冲洗3次;PBS冲洗,行电炉高温抗原修复;滴加5%BSA封闭液,37℃孵育30 min,滴加一抗,工作浓度1:50,4℃过夜;PBS液冲洗5 min \times 3次,滴加二抗,4℃孵育50 min, PBS液冲洗5 min \times 3次;滴加新鲜配制DAB显色液,显微镜下控制染色,显色完全后,蒸馏水或自来水冲洗,苏木素复染,1%盐酸乙醇分化(1 s),自来水冲洗,氨水返蓝,流水冲洗;脱水、透明、封片、观察。对照设计:用已知的TGF- β 1与MMP-1的阳性切片作为阳性对照;空白对照

表 1 各组中MMP-1 TGF- β 1的表达程度及阳性细胞数 (mean \pm SD)

	MMP-1	阳性细胞	TGF- β 1	阳性细胞
正常组	--+	7.4 \pm 3.15	--+	7.4 \pm 3.2
假手术4 wk	--+	9.1 \pm 4.72	--+	10.3 \pm 4.04
假手术8 wk	--+	11.0 \pm 2.79	--+	13.0 \pm 2.94
手术4 wk	++-+++	42.4 \pm 5.16	+++	75.35 \pm 5.00
手术8 wk	+ - ++	17.2 \pm 3.88	+++	74.4 \pm 6.60

TGF- β 1: 转化生长因子- β 1; MMP-1: 基质金属酶-1.

■ 相关报道

国内外报道一致认为TGF- β 1与狭窄形成紧密相关, 国内学者相关研究同样表明TGF- β 1在良性胆管狭窄中具有重要作用.

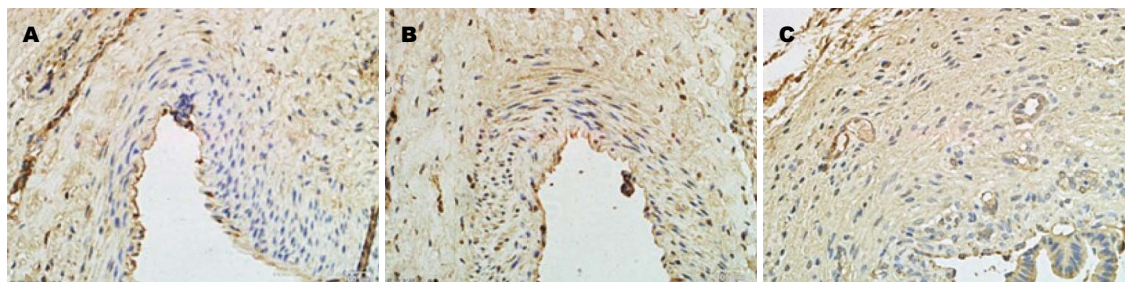
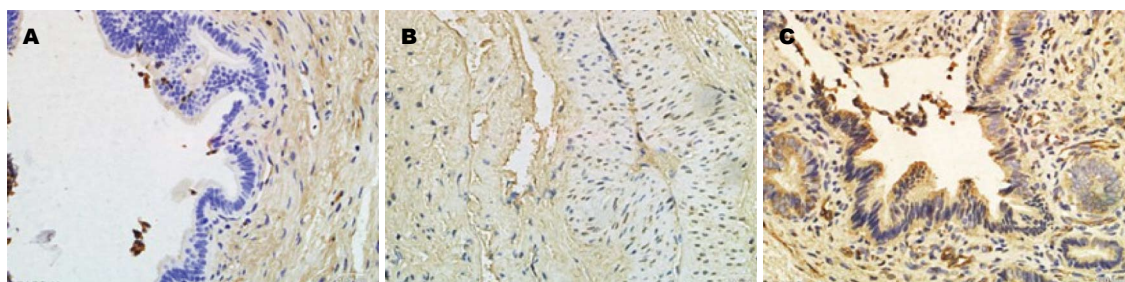


图 1 MMP-1在各组中的表达. A: 正常组; B: 假手术组; C: 手术组. MMP-1: 基质金属酶-1.

图 2 TGF- β 1在各组中的表达. A: 正常组; B: 假手术组; C: 手术组. TGF- β 1: 转化生长因子- β 1.

中选用PBS代替一抗, 其余步骤同前; 置换实验中用正常鼠的血清代替一抗, 其余步骤同前.

1.2.4 结果判定标准: 细胞质和/或核内见淡黄色颗粒明显高于背景色为阳性. 细胞着色强度分以下等级: “-”为阴性细胞; “+”为细胞核和/或细胞质染成淡棕黄色; “+++”为深棕黄色; “++”则介于两者之间. 每张切片高倍镜下(400 \times)随机选取5个视野, 计数每个视野中的阳性细胞数及百分比, 取其均数进行定量分析.

统计学处理 采用SPSS18.0统计软件进行分析, 差异性分析采用单因素方差分析(One-factor ANOVA), $\alpha = 0.05$, 相关性分析采用Pearson积差相关系数, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 一般情况 实验组有2只兔子分别于术后第3、5天因胆漏死亡. 其余全部成活, 共23只. 术

后早期观察各组在饮食、精神状态、活动反应无明显差异. 实验组术后1 mo可见食欲下降、反应迟钝、毛色黯淡、小便色染等梗阻性黄疸表现. 假手术组胆管周围黏连, 胆管无扩张, 实验组可见腹腔明显黏连, 电损伤以上胆管可见明显扩张, 肝脏呈淤胆表现.

2.2 免疫组织化学结果 正常胆管组织中可见极少量的TGF- β 1与MMP-1的表达(TGF- β 1: 7.4 \pm 3.2, MMP-1: 7.4 \pm 3.15), 表达部位主要是管周组织. 假手术组中4、8 wk均见TGF- β 1与MMP-1少量表达(4 wk: TGF- β 1: 10.3 \pm 4.04, MMP-1: 9.1 \pm 4.72; 8 wk: TGF- β 1: 13.0 \pm 2.94, MMP-1: 11.0 \pm 2.79), 主要表达在炎性细胞, 两者在假手术组与对照组中的表达均无明显统计学意义. 实验组中4、8 wk均可见TGF- β 1与MMP-1的高表达(4 wk: TGF- β 1: 75.35 \pm 5.00, MMP-1: 42.4 \pm 5.16; 4 wk: TGF- β 1: 74.4 \pm 6.60, MMP-1: 17.2 \pm 3.88),

■创新盘点

本研究密切联系临床, 并且从基质形成和降解两个不同角度分期、分别探讨狭窄形成的机制。

组内比较TGF- β 1(75.35 ± 5.00 vs 74.4 ± 6.60)无明显统计学差异, MMP-1实验组内有明显统计学差异(42.4 ± 5.16 vs 17.2 ± 3.88 , $P < 0.05$)。两者的表达在实验组与对照组、假手术组中均有明显的统计学差异($P < 0.05$)。随炎症反应时间的延长, 两者在实验8 wk组中表达呈负相关($r = -0.218$, 表1, 图1, 2)。

3 讨论

胆管的电灼伤虽然占胆管损伤的18.3%^[4], 但文献报道有确实的证据可表明胆管电灼伤不容忽视, 可引起急性胆管炎、急性胆源性胰腺炎、胆囊三角再出血、严重的瘢痕或挛缩^[11-13]。并且胆管电损伤具有不同于其他损伤的特点: (1)术中不易发现, 术中常规胆道造影似乎不能提高诊断率^[13]; (2)损伤范围广、位置高, 研究表明^[14]单极电烧工作产生的热量足以引起损伤处1 cm内的细胞膜的破坏; (3)发展缓慢, 可表现为电灼伤-坏死-穿孔-胆漏的过程^[15]; (4)常合并胆管周围血管丛的损伤, 出现迟发型的狭窄和挛缩。

胆管损伤修复属于高度的纤维性修复, 修复细胞的大量增殖与凋亡抑制、细胞外基质中胶原合成与降解、部分细胞因子的大量产生及三者密切关系是构成其炎症疤痕的生物学基础^[16]。TGF- β 1是一种参与细胞增殖、细胞分化、免疫应答、纤维修复的多功能细胞因子^[17,18], 是目前已知与纤维化、瘢痕发生发展最密切的细胞因子^[19,20]。损伤部位TGF- β 1前体是由血小板释放, 经酶激活后, 诱导纤维细胞的转化并刺激产生胶原及细胞外基质, 趋化、诱导炎症细胞, 通过自分泌、旁分泌形成TGF- β 的“正反馈”机制。早期的TGF- β 1的释放, 有利于损伤的修复, 但持续高表达的释放可能是造成瘢痕狭窄的重要原因。本研究结果显示正常胆管不表达或弱阳性表达TGF- β 1, 假手术组中的TGF- β 1的可见弱阳性表达, 但与对照组无明显统计学差异, 可能与分离胆管破坏胆管周围血管丛有关, 并且亚组之间无统计学意义。实验组中可见持续高表达, 主要表达在成纤维细胞、炎症细胞、血管内皮细胞, 与国内相关报道相符^[21,22]。此外, 我们在损伤处的胆管细胞内发现TGF- β 1的高表达, 之前文献未见相关报道, 可能与胆管缺氧、胆盐刺激有关。本研究中实验亚组术后均可见大量炎症细胞中持续强表达TGF- β 1, 并且亚组之间无统计学意义, 证实炎症细胞是产生TGF- β 1的主要细胞, 间接证实炎症反应时间长短与瘢痕形

成有密切关系。

细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的合成与降解之间的动态平衡受到破坏是导致ECM过度沉积形成瘢痕的重要原因。文献报道TGF- β 1在瘢痕形成过程中能够促进成纤维细胞大量合成I型、III型和VIII型胶原蛋白、弹性纤维和纤连蛋白, 并对于漂浮和固定的胶原基质, 都能使之发生挛缩^[23,24]。基质金属酶(matrix metalloproteinase, MMPs)是一组依赖于 Zn^{2+} 以细胞外基质作为底物的蛋白质水解酶类, 其中MMP-1是通过裂解胶原、改变胶原结构参与I型、III型胶原降解的胶原酶。本实验中正常对照组无或少量MMP-1的表达, 假手术组有少量表达, 与正常组无统计学意义, 实验4 wk组中MMP-1强阳性表达, 8 wk组呈阳性表达, 两者之间有明显的统计学差异($P < 0.05$)。理论上讲, 随损伤时间的延长, 细胞外基质内过度沉积的胶原可诱导MMP-1的高表达, 以加速胞外基质改建。但MMP-1的表达受激素、细胞因子等多种因素调控, 文献报道TGF- β 1可以直接抑制MMP的表达, 并能促进组织金属蛋白酶抑制剂(tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP)的释放^[25]。本研究中发现损伤胆管中TGF- β 1与MMP-1的随时间表达呈负相关, 从而可证实高表达的TGF- β 1抑制MMP-1的释放, 并随损伤时间的延长, 其抑制作用增强, 造成其降解作用减弱, 胶原合成和分解失衡, 细胞外基质大量沉积, 从而瘢痕形成。

本研究中损伤胆管周围可见大量炎症细胞、纤维组织排列紊乱、明显增生, 缺氧和胆汁刺激可能是持续炎症反应的诱因。持续的炎症反应诱导TGF- β 1的高表达, 高表达的产物刺激诱导纤维细胞的分化, 使之分泌过量的胶原沉积于胞外, TGF- β 1又通过抑制MMP-1的分泌, 破坏细胞外基质之间的动态平衡, 最终导致瘢痕狭窄。鉴于胆管电灼伤的严重后果及自身特点, 因此在手术中应尽量避免损伤, 但对于损伤患者如何在炎症后期减少TGF- β 1的过度分泌或增加MMP-1的分泌, 减轻狭窄瘢痕, 有待于进一步的研究。

4 参考文献

- 1 Larghi A, Tringali A, Lecca PG, Giordano M, Costamagna G. Management of hilar biliary strictures. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 458-473 [PMID: 18028506]
- 2 Waage A, Nilsson M. Iatrogenic bile duct injury: a population-based study of 152 776 cholecystectomies in the Swedish Inpatient Registry. *Arch*

- Surg* 2006; 141: 1207-1213 [PMID: 17178963 DOI: 10.1001/archsurg.141.12.1207]
- 3 Pottakkat B, Vijayahari R, Prakash A, Singh RK, Behari A, Kumar A, Kapoor VK, Saxena R. Incidence, pattern and management of bile duct injuries during cholecystectomy: experience from a single center. *Dig Surg* 2010; 27: 375-379 [PMID: 20948214 DOI: 10.1159/000314813]
- 4 吴青松, 刘吉佳, 谢文彪, 蔡泽平. 腹腔镜胆囊切除术胆管损伤的现状分析. *中华肝胆外科杂志* 2005; 11: 207-209
- 5 Xu J, Geng ZM, Ma QY. Microstructural and ultrastructural changes in the healing process of bile duct trauma. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2003; 2: 295-299 [PMID: 14599988]
- 6 Geng ZM, Zheng JB, Zhang XX, Tao J, Wang L. Role of transforming growth factor-beta signaling pathway in pathogenesis of benign biliary stricture. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 4949-4954 [PMID: 18756605 DOI: 10.3748/wjg.14.4949]
- 7 Thannickal VJ, Lee DY, White ES, Cui Z, Larios JM, Chacon R, Horowitz JC, Day RM, Thomas PE. Myofibroblast differentiation by transforming growth factor-beta1 is dependent on cell adhesion and integrin signaling via focal adhesion kinase. *J Biol Chem* 2003; 278: 12384-12389 [PMID: 12531888 DOI: 10.1074/jbc.M208544200]
- 8 Demetris AJ, Lunz JG, Specht S, Nozaki I. Biliary wound healing, ductular reactions, and IL-6/gp130 signaling in the development of liver disease. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 3512-3522 [PMID: 16773708]
- 9 Martin-Garrido A, Brown DI, Lyle AN, Dikalova A, Seidel-Rogol B, Lassègue B, San Martín A, Griendling KK. NADPH oxidase 4 mediates TGF- β -induced smooth muscle α -actin via p38MAPK and serum response factor. *Free Radic Biol Med* 2011; 50: 354-362 [PMID: 21074607 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.11.007]
- 10 纳钊, 邹浩, 魏东, 张小文, 沈需, 王滔. 日本大耳兔胆管电灼损伤致瘢痕狭窄模型的建立. *昆明医学院学报* 2011; 32: 7-10
- 11 Družijanić N, Pogorelić Z, Perko Z, Mrklić I, Tomić S. Comparison of lateral thermal damage of the human peritoneum using monopolar diathermy, Harmonic scalpel and LigaSure. *Can J Surg* 2012; 55: 317-321 [PMID: 22854112 DOI: 10.1503/cjs.000711]
- 12 Humes DJ, Ahmed I, Lobo DN. The pedicle effect and direct coupling: delayed thermal injuries to the bile duct after laparoscopic cholecystectomy. *Arch Surg* 2010; 145: 96-98 [PMID: 20083761 DOI: 10.1001/archsurg.2009.236]
- 13 Giger U, Ouassii M, Schmitz SF, Krähenbühl S, Krähenbühl L. Bile duct injury and use of cholangiography during laparoscopic cholecystectomy. *British Journal of Surgery* 2011; 98: 391-396 [PMID: 21254014 DOI: 10.1002/bjs.7335]
- 14 Sutton PA, Awad S, Perkins AC, Lobo DN. Comparison of lateral thermal spread using monopolar and bipolar diathermy, the Harmonic Scalpel and the Ligasure. *Br J Surg* 2010; 97: 428-433 [PMID: 20101674 DOI: 10.1002/bjs.6901]
- 15 全小刚, 徐大华, 孙家邦, 李铎, 刘家峰. 腹腔镜胆囊切除术中胆管损伤的特点、处理及预防. *中华肝胆外科杂志* 2005; 11: 593-595
- 16 陈卫明, 李彦旭, 柴新群, 冯贤松. 胆管炎性狭窄疤痕组织中PDGF和CTGF的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 891-895
- 17 Werner S, Krieg T, Smola H. Keratinocyte-fibroblast interactions in wound healing. *J Invest Dermatol* 2007; 127: 998-1008 [PMID: 17435785 DOI: 10.1038/sj.jid.5700786]
- 18 Blobe GC, Schiemann WP, Lodish HF. Role of transforming growth factor beta in human disease. *N Engl J Med* 2000; 342: 1350-1358 [PMID: 10793168 DOI: 10.1056/NEJM200005043421807]
- 19 Bissell DM, Roulot D, George J. Transforming growth factor beta and the liver. *Hepatology* 2001; 34: 859-867 [PMID: 11679955 DOI: 10.1053/jhep.2001.28457]
- 20 Nagashio Y, Ueno H, Imamura M, Asaumi H, Watanabe S, Yamaguchi T, Taguchi M, Tashiro M, Otsuki M. Inhibition of transforming growth factor beta decreases pancreatic fibrosis and protects the pancreas against chronic injury in mice. *Lab Invest* 2004; 84: 1610-1618 [PMID: 15502860 DOI: 10.1038/labinvest.3700191]
- 21 耿智敏, 刘青光, 潘承恩, 向国安, 韩庆, 刘效恭, 苏宝山. 良性胆管狭窄形成机制的实验研究. *中华肝胆外科杂志* 2001; 7: 618-620
- 22 王国辉, 蒋桂星, 崔云甫, 胡占良. TGF- β 1在大鼠胆管损伤修复过程中的表达. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 502-505
- 23 Pandit A, Ashar R, Feldman D. The effect of TGF-beta delivered through a collagen scaffold on wound healing. *J Invest Surg* 1999; 12: 89-100 [PMID: 10327078 DOI: 10.1080/089419399272647]
- 24 耿智敏, 向国安, 韩庆, 刘效恭, 苏宝山, 刘青光, 潘承恩. 转化生长因子 β 1在胆管愈合过程中的表达及意义. *中国普外基础与临床杂志* 2000; 7: 362-363
- 25 Philips N, Keller T, Gonzalez S. TGF beta-like regulation of matrix metalloproteinases by anti-transforming growth factor-beta, and anti-transforming growth factor-beta 1 antibodies in dermal fibroblasts: Implications for wound healing. *Wound Repair Regen* 2004; 12: 53-59 [PMID: 14974965 DOI: 10.1111/j.1067-1927.2004.012111.x-1]

■同行评价

本文内容新颖、通俗易懂,对良性胆管狭窄机制的研究有一定的学术价值,对指导治疗有一定帮助。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



二肽基肽酶-4抑制剂治疗小鼠溃疡性结肠炎的机制研究

李海素, 杨崇美

■背景资料

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种慢性非特异性炎症性肠病, 在我国发病率有逐年上升的趋势, 其发病机制尚不完全明确, 目前临床主要用药为5-氨基水杨酸类、糖皮质激素类及免疫抑制剂, 长期应用不良反应大, 患者依从性差, 易复发。

李海素, 杨崇美, 山东大学附属省立医院消化内科 山东省济南市 250021

李海素, 2011级山东大学医学院硕士研究生, 主要从事炎症性肠病的研究。

作者贡献分布: 本实验的设计、研究过程及论文书写由李海素完成; 杨崇美负责审校与监督。

通讯作者: 杨崇美, 主任医师, 250021, 山东省济南市经五纬七路324号, 山东大学附属省立医院消化内科。

yangchongmei@medmail.com.cn

电话: 0531-86886355

收稿日期: 2013-07-28 修回日期: 2013-08-28

接受日期: 2013-09-06 在线出版日期: 2013-10-18

Mechanisms underlying therapeutic effects of DPP-4 inhibitor against ulcerative colitis in mice

Hai-Su Li, Chong-Mei Yang

Hai-Su Li, Chong-Mei Yang, Department of Gastroenterology, Shandong Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan 250021, Shandong Province, China

Correspondence to: Chong-Mei Yang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Shandong Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, 324 Jingwu Weiqi Road, Jinan 250021, Shandong Province, China. yangchongmei@medmail.com.cn

Received: 2013-07-28 Revised: 2013-08-28

Accepted: 2013-09-06 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To investigate the mechanisms underlying therapeutic effects of dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) inhibitor against ulcerative colitis in mice.

METHODS: Thirty male Balb/c mice were randomly divided into five groups: a normal group, an experimental colitis group, a DPP-4 inhibitor treatment group, a sulfasalazine (SASP) treatment group, and a DPP-4 inhibitor plus SASP treatment group. Ulcerative colitis was induced in mice with 5% dextran sulfate sodium. The normal group and experimental colitis group were intragastrically given 0.5% carboxymethyl cellulose (CMC), and the DPP-4 inhibitor group, SASP group and DPP-4 inhibitor plus SASP group were given sitagliptin, SASP, and both the two drugs once a day, respectively. Disease

activity index (DAI) were assessed every day. After six days, all mice were sacrificed. Colonic pathological changes, myeloperoxidase (MPO) activity and serum levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-10 (IL-10) and glucagon-like peptid-2 (GLP-2) were detected.

RESULTS: MPO activity and serum TNF- α level in the DPP-4 inhibitor group, SASP group and the combination group were significantly lower than those in the experimental colitis group (MPO activity: $1.20 \text{ U/g} \pm 0.19 \text{ U/g}$, $0.96 \text{ U/g} \pm 0.07 \text{ U/g}$, $0.81 \text{ U/g} \pm 0.06 \text{ U/g}$ vs $1.81 \text{ U/g} \pm 0.23 \text{ U/g}$, all $P < 0.01$; $81.24 \text{ ng/L} \pm 9.12 \text{ ng/L}$, $67.86 \text{ ng/L} \pm 9.32 \text{ ng/L}$, $53.37 \text{ ng/L} \pm 9.08 \text{ ng/L}$ vs $106.86 \text{ ng/L} \pm 17.02 \text{ ng/L}$, all $P < 0.01$). Serum GLP-2 level was significantly higher in the DPP-4 inhibitor group and the combination group than in the experimental group ($55.07 \text{ pmol/L} \pm 4.43 \text{ pmol/L}$, $58.07 \text{ pmol/L} \pm 5.43 \text{ pmol/L}$ vs $33.10 \text{ pmol/L} \pm 3.22 \text{ pmol/L}$, both $P < 0.01$). Serum IL-10 level was significantly higher in the SASP group and the combination group than in the experimental group ($58.10 \text{ pg/mL} \pm 2.72 \text{ pg/mL}$, $60.68 \text{ pg/mL} \pm 2.35 \text{ pg/mL}$ vs $38.20 \text{ pg/mL} \pm 2.61 \text{ pg/mL}$, both $P < 0.01$).

CONCLUSION: DPP-4 inhibitor has a synergistic effect with SASP possibly by exerting an anti-inflammatory effect and up-regulating serum level of GLP-2.

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

Key Words: Ulcerative colitis; Dipeptidyl peptidase-4 inhibitor; Dextran sulfate sodium; Tumor necrosis factor- α ; Interleukin-10; Glucagon-like peptid-2

Li HS, Yang CM. Mechanisms underlying therapeutic effects of DPP-4 inhibitor against ulcerative colitis in mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3102-3106
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3102.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3102>

摘要

目的: 初步探讨二肽基肽酶-4(dipeptidyl

■同行评议者

任粉玉, 教授, 延边大学附属医院消化内科

peptidase-4, DPP-4)抑制剂治疗小鼠溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的作用机制。

方法: 将30只♂ Balb/c小鼠随机分为空白对照组、模型对照组、DPP-4抑制剂治疗组、柳氮磺吡啶(sulfasalazine, SASP)治疗组、DPP-4抑制剂和SASP联合治疗组。除空白对照组外, 其余各组用5%葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)诱导小鼠UC模型, 空白对照组和模型对照组给予0.5%羧甲基纤维素(carboxymethyl cellulose, CMC)灌胃, DPP-4抑制剂组、SASP组、联合治疗组分别给予西格列汀、SASP及两者联合灌胃治疗, 1次/d, 每天记录小鼠疾病活动指数(disease activity index, DAI)值, 6 d后处死小鼠, 分离结肠组织, 进行病理组织学观察, 检测结肠组织髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)活性, 采用ELISA法测定小鼠血清肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-10(interleukin-10, IL-10)、胰高血糖素样肽-2(glucagon-like peptid-2, GLP-2)水平。

结果: 与模型对照组MPO活性($1.81 \text{ U/g} \pm 0.23 \text{ U/g}$)相比, DPP-4抑制剂组($1.20 \text{ U/g} \pm 0.19 \text{ U/g}$)、SASP组($0.96 \text{ U/g} \pm 0.07 \text{ U/g}$)、联合治疗组($0.81 \text{ U/g} \pm 0.06 \text{ U/g}$)MPO活性均显著降低($P < 0.01$); 与模型对照组血清TNF- α 水平($106.86 \text{ ng/L} \pm 17.02 \text{ ng/L}$)相比, DPP-4抑制剂组($81.24 \text{ ng/L} \pm 9.12 \text{ ng/L}$)、SASP组($67.86 \text{ ng/L} \pm 9.32 \text{ ng/L}$)、联合治疗组($53.37 \text{ ng/L} \pm 9.08 \text{ ng/L}$)血清TNF- α 水平均显著降低($P < 0.01$); 与模型对照组血清GLP-2水平($33.10 \text{ pmol/L} \pm 3.22 \text{ pmol/L}$)相比, DPP-4抑制剂组($55.07 \text{ pmol/L} \pm 4.43 \text{ pmol/L}$)及联合治疗组($58.07 \text{ pmol/L} \pm 5.43 \text{ pmol/L}$)血清GLP-2水平显著升高($P < 0.01$); 与模型对照组血清IL-10水平($38.20 \text{ pg/mL} \pm 2.61 \text{ pg/mL}$)相比, SASP组($58.10 \text{ pg/mL} \pm 2.72 \text{ pg/mL}$)及联合治疗组($60.68 \text{ pg/mL} \pm 2.35 \text{ pg/mL}$)血清IL-10水平显著升高($P < 0.01$)。

结论: DPP-4抑制剂通过抗炎和升高血清GLP-2水平, 达到修复结肠炎黏膜损伤的作用, 其抗炎机制与SASP作用机制不同, DPP-4抑制剂与SASP联合用药在治疗小鼠UC方面存在协同作用。

© 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; DPP-4抑制剂; 葡聚糖硫酸钠; 肿瘤坏死因子- α ; 白介素-10; 胰高血糖素样肽-2

核心提示: 近年来国内外研究表明, 二肽基肽酶-4(dipeptidyl peptidase-4)抑制剂对溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)模型小鼠有明显的治疗作用, 其作用机制是通过提高小鼠血清胰高血糖素样肽-2(glucagon-like peptid-2)水平, 修复肠黏膜病理损伤, 同时显著缓解小鼠结肠局部及全身炎症程度, 其抗炎机制不依赖于白介素-10(interleukin-10), 与柳氮磺吡啶(sulfasalazine)联合应用具有协同作用。

李海素, 杨崇美. 二肽基肽酶-4抑制剂治疗小鼠溃疡性结肠炎的机制研究. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3102-3106
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3102.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3102>

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种慢性非特异性炎症性肠病, 临床以腹痛、腹泻、粘液脓血便为主要表现, 其发病机制尚不完全明确, 目前临床主要用药为5-氨基水杨酸类、糖皮质激素类及免疫抑制剂^[1], 长期应用不良反应大, 患者依从性差, 易复发, 因此开发治疗UC的新药物成为研究热点。二肽基肽酶-4(dipeptidyl peptidase-4, DPP-4)抑制剂是治疗2型糖尿病的新型药物^[2], 近年来国内外研究表明其对UC模型小鼠有明显治疗作用^[3-5], 但具体机制不明。本实验利用葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)建立小鼠UC模型, 分别给予DPP-4抑制剂(西格列汀)、柳氮磺胺吡啶(sulfasalazine, SASP)及两者联合用药, 观察小鼠结肠髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)活性, 血清胰高血糖素样肽-2(glucagon-like peptid 2, GLP-2)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-10(interleukin-10, IL-10)水平变化, 初步探讨DPP-4抑制剂治疗UC的相关机制。

1 材料和方法

1.1 材料 清洁级♂ Balb/c小鼠30只, 7-8周龄, 体重21.0-25.5 g, 由山东大学实验动物中心提供。DSS(分子量36000-50000)由美国MP公司生产, 用蒸馏水配成5%浓度溶液备用。捷诺维(磷酸西格列汀片, 100 mg/片)由德国默克公司生产, 用0.5%羧甲基纤维素(CMC)配成相应浓度的混悬液备用。SASP(250 mg/片)由上海三维制药有限公司生产, 用刀片刮去包衣壳, 切碎后用0.5%CMC配成相应浓度的混悬液备用。邻联甲

■ 研发前沿

二肽基肽酶-4(dipeptidyl peptidase-4, DPP-4)抑制剂是治疗2型糖尿病的新型药物, 近年来国内外研究表明其对UC模型小鼠有明显治疗作用, 其作用机制不仅是通过抑制DPP-4酶活性, 升高血清胰高血糖素样肽-2(glucagon-like peptid 2, GLP-2)水平, 起到结肠黏膜修复的作用, 还有一定的抗炎机制。

■相关报道

DPP-4抑制剂可显著缓解UC模型小鼠症状,降低疾病活动指数(disease activity index, DAI),增加结肠长度,修复肠黏膜病理损伤,对UC小鼠疗效显著。

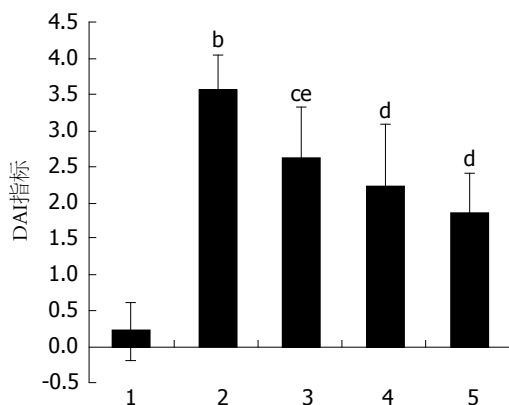


图1 各组小鼠DAI指标。1: 空白对照组; 2: 模型对照组; 3: DPP-4抑制剂组; 4: SASP治疗组; 5: 联合治疗组。^b $P<0.01$ vs 空白对照组; ^c $P<0.05$ vs 模型对照组; ^d $P<0.01$ vs 模型对照组; ^e $P<0.05$ vs 联合治疗组。

苯胺由上海亨新化工试剂厂生产,取1 g邻联甲苯胺溶于冰乙酸及无水乙醇各50 mL的混合液中,置于棕色瓶中,保存于4 °C冰箱备用。MPO试剂盒购自南京建成生物工程研究所; TNF- α 酶联免疫检测(ELISA)试剂盒、IL-10 ELISA试剂盒购自北京达科为生物技术有限公司; GLP-2 ELISA试剂盒购自BIO SWAMP公司。

1.2 方法

1.2.1 实验分组及干预: Balb/c小鼠适应性喂养1 wk,按照随机分组原则分为空白对照组、模型对照组、DPP-4抑制剂治疗组、SASP治疗组、DPP-4抑制剂和SASP联合治疗组,每组6只。空白对照组小鼠正常饮水、进食,给予0.5%CMC 0.1 mL灌胃1次/d,连续6 d;其余各组自由饮用5%DSS溶液,模型对照组给予0.5%CMC 0.1 mL灌胃, SASP治疗组每天给予500 mg/kg SASP 0.1 mL灌胃, DPP-4抑制剂治疗组每天给予20 mg/kg西格列汀0.1 mL灌胃,联合治疗组每天给予500 mg/kg SASP+20 mg/kg西格列汀共0.1 mL灌胃,均1次/d,连续6 d后处死小鼠。

1.2.2 标本采集及DAI评分: 每日观察并记录小鼠的体质量和大便情况,大便隐血检测采用邻联甲苯胺法,疾病活动指数(disease activity index, DAI) = (体质量减轻率分数+粪便性状分数+隐血程度分数)/3。小鼠药物治疗6 d后摘眼球取血,静置30 min后,3000 r/min离心20 min,分离血清,置于-80 °C冰箱待测。处死小鼠,取完整结肠,将结肠纵形剖开,用生理盐水冲洗干净,分为两部分,一部分经4%甲醛固定、石蜡包埋、连续切片,做HE染色观察结肠损伤情况;另一部分置于-80 °C冰箱中备用MPO值的检测。

1.2.3 结肠MPO值及血清TNF- α 、IL-10、GLP-2检测: 结肠MPO值严格按照MPO试剂盒说明书进行检测,血清TNF- α 、IL-10、GLP-2水平检测则利用ELISA法按照试剂盒说明书操作,用酶标仪测定结果,在450 nm处测定A值,转化为浓度。

统计学处理 应用SPSS16.0软件处理实验数据,计量资料以mean \pm SD表示;多组间样本均数比较采用单因素方差分析,符合方差齐性检验,组间两两比较用LSD法;不符合方差齐性检验,组间两两比较用Dunnett's T3法, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠DAI评分 比较各组小鼠实验最后1 d DAI评分,与空白对照组相比,模型对照组显著升高($P<0.01$);与模型对照组相比, DPP-4抑制剂组、SASP组及联合治疗组均显著降低(分别 $P<0.05$, $P<0.01$, $P<0.01$);与联合治疗组相比, DPP-4抑制剂组显著升高($P<0.05$), SASP组有升高趋势,但差异不显著($P>0.05$)(图1)。

2.2 各组小鼠组织病理学表现 空白对照组小鼠结肠黏膜上皮连续、完整,腺体排列规则,黏膜、固有层、肌层未见明显异常;模型对照组小鼠结肠黏膜充血、水肿,局部黏膜脱落,溃疡形成,偶见隐窝脓肿,大量炎性细胞浸润,严重者侵及肌层及浆膜层;与模型对照组相比,各用药组小鼠结肠炎症均有不同程度的减轻,尤其联合用药组,仅局部可见少量炎性细胞浸润。

2.3 各组小鼠结肠MPO值,血清TNF- α 、IL-10、GLP-2水平 与空白对照组相比,模型对照组小鼠结肠组织MPO值、血清TNF- α 、IL-10水平显著升高($P<0.01$),血清GLP-2水平有升高趋势,但差异不显著($P>0.05$,表1)。

与模型对照组相比, DPP-4抑制剂组小鼠结肠MPO值、血清TNF- α 水平显著降低($P<0.01$),血清GLP-2水平显著升高($P<0.01$); SASP组小鼠结肠组织MPO值、血清TNF- α 水平显著降低($P<0.01$),血清IL-10水平显著升高($P<0.01$);联合治疗组小鼠结肠组织MPO值、血清TNF- α 水平显著降低($P<0.01$),血清IL-10、GLP-2水平显著升高($P<0.01$)。

与DPP-4抑制剂组相比,联合治疗组小鼠结肠组织MPO值、血清TNF- α 水平显著降低(分别 $P<0.05$, $P<0.01$),血清IL-10水平显著升高($P<0.01$);与SASP组相比,联合治疗组小鼠结肠组织MPO值、血清TNF- α 水平显著降低

表 1 各组小鼠结肠MPO值, 血清TNF- α 、IL-10、GLP-2水平(mean \pm SD)

分组	MPO(U/g)	TNF- α (ng/L)	IL-10(pg/mL)	GLP-2(pmol/L)
空白对照组	0.60 \pm 0.05	35.06 \pm 9.40	21.67 \pm 2.63	29.95 \pm 3.55
模型对照组	1.81 \pm 0.23 ^b	106.86 \pm 17.02 ^b	38.20 \pm 2.61 ^b	33.10 \pm 3.22
DPP-4抑制剂组	1.20 \pm 0.19 ^{de}	81.24 \pm 9.12 ^{df}	39.29 \pm 2.83 ^f	55.07 \pm 4.43 ^d
SASP治疗组	0.96 \pm 0.07 ^{de}	67.86 \pm 9.32 ^{de}	58.10 \pm 2.72 ^d	31.90 \pm 5.09 ^f
联合治疗组	0.81 \pm 0.06 ^d	53.37 \pm 9.08 ^d	60.68 \pm 2.35 ^d	58.07 \pm 5.43 ^d

^b $P < 0.01$ vs 空白对照组; ^d $P < 0.01$ vs 模型对照组; ^e $P < 0.05$ vs 联合治疗组; ^f $P < 0.01$ vs 联合治疗组。

SASP: 柳氮磺吡啶; DPP-4: 二肽基肽酶-4; MPO: 髓过氧化物酶; TNF- α : 肿瘤坏死因子- α ; IL-10: 白介素10; GLP-2: 血清胰高血糖素样肽-2。

($P < 0.05$), 血清GLP-2水平显著升高($P < 0.01$)。

3 讨论

本实验用5%DSS诱导小鼠UC模型, 模型对照组小鼠DAI指标显著高于正常对照组, 结肠病理组织示黏膜充血水肿, 溃疡形成, 大量炎性细胞浸润, 预示着结肠炎建模成功。与模型对照组相比, 各治疗组DAI指标显著降低, 结肠病理示炎症明显缓解, 尤其联合治疗组小鼠结肠炎症缓解最为明显, 表明DPP-4抑制剂对UC小鼠有较好的治疗效果, 与SASP联合治疗存在协同作用。Ban等^[3]、Yazbeck等^[4,5]分别用不同的DPP-4抑制剂治疗DSS诱导的UC小鼠均得到了与本实验相同的结论, 我国的一项研究, 用阿格列汀治疗三硝基苯磺酸诱导的UC小鼠, 发现小鼠在症状及病理上均得到了显著缓解^[6]。

GLP-2是由33个氨基酸残基组成的单链多肽, 主要由末端回肠和结肠的肠内分泌细胞L细胞合成, 其生理作用主要是刺激隐窝细胞增殖, 抑制黏膜细胞凋亡, 还能抑制胃肠道的运动和分泌, 加快营养转运, 增强肠道对营养物质的吸收能力^[5]。国外研究者发现, 用GLP-2及GLP-2类似物治疗UC模型小鼠疗效显著^[7,8]。GLP-2在肠黏膜组织及血液循环中主要存在形式是有生物活性的GLP-2-(1-33), 还有部分为无生物活性的GLP-2-(3-33), 为DPP-4降解所产生。在UC患者的外周血液循环中检测到, 有活性的GLP-2-(1-33)浓度升高, GLP-2-(1-33)所占GLP-2的比例也较正常人高, 而DPP-4活性则下降^[9]。表明UC患者在肠道损伤后, 可能通过某些机制来维持GLP-2的水平, 以尽可能的修复损伤的肠道上皮。本实验中模型对照组小鼠血清GLP-2水平较空白对照组有升高趋势, 但差异不显著, DPP-4抑制剂组及联合用药组小鼠血清GLP-2水

平显著高于模型对照组, 而SASP组与模型对照组无显著差异, 考虑西格列汀是通过抑制DPP-4酶的活性, 减少对GLP-2的降解, 从而升高血清GLP-2水平, 刺激隐窝细胞增殖, 减少细胞凋亡, 达到黏膜修复的作用。

结肠组织MPO活性, 可反映组织中性粒细胞浸润程度, 是DSS诱导UC模型成功的一个重要指标^[10]。TNF- α 是一种促炎细胞因子, 参与结肠黏膜炎症反应, 诱导上皮细胞凋亡和脱落, 从而增加上皮细胞的通透性, 在UC发病机制中起重要的调节作用^[11]。IL-10是一种抑炎细胞因子, 在IBD患者体内普遍低表达^[12], 研究表明, IL-10可以阻止动物模型肠炎的进展, 对DSS诱导的动物UC具有治疗作用^[13], IL-10^{-/-}小鼠可自发形成以IL-1 β 、IL-6和TNF- α 升高为特点的慢性肠炎^[14,15], 以上均说明IL-10是UC的保护性因素。本试验中, 与模型对照组相比, 各治疗组MPO活性、TNF- α 水平显著降低, 而联合治疗组最为明显, 与单独用药组相比均有显著差异, 预示着DPP-4抑制剂有明显的抗炎作用, SASP与DPP-4抑制剂联合应用在缓解肠道炎症损伤方面存在协同作用。所测血清IL-10水平, 模型对照组较空白对照组显著升高($P < 0.01$), 考虑DSS诱导小鼠肠道急性炎症, 大量促炎因子释放的同时, 机体进行促炎与抑炎之间的自我平衡调节, 促进相应的抑炎因子释放, 导致模型组小鼠血清IL-10水平高于机体水平。DPP-4抑制剂组小鼠血清IL-10水平与模型对照组相当, SASP组与联合用药组则显著高于模型对照组, 说明SASP治疗UC的抗炎作用与IL-10有关, 而DPP-4抑制剂不能升高UC小鼠体内IL-10水平, 预示着DPP-4抑制剂对UC小鼠的抗炎作用不依赖于IL-10。Ivory等^[16]用GLP-2治疗IL-10^{-/-}所致的小鼠肠炎, 小鼠体内IFN- γ 、TNF- α 、IL-1 β 等促炎因子水平及隐窝

■创新盘点

柳氮磺胺吡啶(sulfasalazine, SASP)、DPP-4抑制剂均可缓解UC模型小鼠结肠炎症, 但其抗炎机制不同, SASP通过抑制结肠过氧化物酶活性, 抑制前列腺素、白三烯等炎症介质的合成和释放等多种机制达到抗炎作用, 与IL-10密切相关, 而DPP-4抑制剂的抗炎作用不依赖于IL-10。

■同行评价

本文研究结果具有一定的学术意义,具有可读性和科学性。

细胞增殖、凋亡指数均显著降低,间接支持了DPP-4抑制剂抗炎作用不依赖于IL-10的结论。

总之, DPP-4抑制剂可显著缓解UC小鼠症状,降低结肠MPO活性、血清TNF- α 水平,其抗炎机制不依赖于IL-10,同时通过抑制DPP-4酶活性,升高血清GLP-2水平,起到结肠黏膜修复的作用; SASP是治疗UC的传统性药物,通过抑制结肠过氧化物酶活性,抑制前列腺素、白三烯等炎症介质的合成和释放等多种机制达到抗炎、减少肠道黏膜损伤的作用,该研究中SASP显著降低了UC小鼠DAI评分,明显降低了结肠MPO活性、血清TNF- α 水平,升高了血清IL-10水平;联合用药组在缓解结肠炎症、黏膜损伤方面效果最为显著,较单独用药组有显著性差异,说明DPP-4抑制剂与SASP联合用药,可通过不同的机制缓解UC病情,两者存在协同作用。

4 参考文献

- Girardin M, Manz M, Manser C, Biedermann L, Wanner R, Frei P, Safroneeva E, Mottet C, Rogler G, Schoepfer AM. First-line therapies in inflammatory bowel disease. *Digestion* 2012; 86 Suppl 1: 6-10 [PMID: 23051720 DOI: 10.1159/000341951]
- 曹国颖, 李晓翠, 赵楠, 刘茜, 胡欣. 二肽基肽酶IV抑制剂在治疗2型糖尿病的临床研究进展. *中国新药杂志* 2011; 20: 497-502
- Ban H, Bamba S, Imaeda H, Inatomi O, Kobori A, Sasaki M, Tsujikawa T, Andoh A, Fujiyama Y. The DPP-IV inhibitor ER-319711 has a proliferative effect on the colonic epithelium and a minimal effect in the amelioration of colitis. *Oncol Rep* 2011; 25: 1699-1703 [PMID: 21431278 DOI: 10.3892/or.2011.1223]
- Yazbeck R, Howarth GS, Geier MS, Demuth HU, Abbott CA. Inhibiting dipeptidyl peptidase activity partially ameliorates colitis in mice. *Front Biosci* 2008; 13: 6850-6858 [PMID: 18508699 DOI: 10.2741/3193]
- Yazbeck R, Sulda ML, Howarth GS, Bleich A, Raber K, von Hörsten S, Holst JJ, Abbott CA. Dipeptidyl peptidase expression during experimental colitis in mice. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 1340-1351 [PMID: 20186930 DOI: 10.1002/ibd.21241]
- 靳迺诗, 董志, 傅洁民, 曾凡新, 姜伦美. 阿格列汀治疗三硝基苯磺酸诱导的溃疡性结肠炎小鼠的实验研究. *第三军医大学学报* 2011; 33: 1722-1725
- L'Heureux MC, Brubaker PL. Glucagon-like peptide-2 and common therapeutics in a murine model of ulcerative colitis. *J Pharmacol Exp Ther* 2003; 306: 347-354 [PMID: 12815012 DOI: 10.1124/jpet.103.051771]
- Drucker DJ, Yusta B, Boushey RP, DeForest L, Brubaker PL. Human [Gly2]GLP-2 reduces the severity of colonic injury in a murine model of experimental colitis. *Am J Physiol* 1999; 276: G79-G91 [PMID: 9886982]
- Xiao Q, Boushey RP, Cino M, Drucker DJ, Brubaker PL. Circulating levels of glucagon-like peptide-2 in human subjects with inflammatory bowel disease. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000; 278: R1057-R1063 [PMID: 10749795]
- Wan YM, Zhu YQ, Xia B, Luo J. Treating TNBS-induced colitis in rats with probiotics. *Turk J Gastroenterol* 2011; 22: 486-493 [PMID: 22234755]
- 郑海涵. TNF- α 在IBD发病机制中的调节. *胃肠病学和肝病学杂志* 2011; 20: 191-193
- Castro-Santos P, Suarez A, López-Rivas L, Mozo L, Gutierrez C. TNF α and IL-10 gene polymorphisms in inflammatory bowel disease. Association of -1082 AA low producer IL-10 genotype with steroid dependency. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 1039-1047 [PMID: 16573780 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2006.00501.x]
- Lindsay JO, Sandison A, Cohen P, Brennan FM, Hodgson HJ. IL-10 gene therapy is therapeutic for dextran sodium sulfate-induced murine colitis. *Dig Dis Sci* 2004; 49: 1327-1334 [PMID: 15387364]
- Kühn R, Löhler J, Rennick D, Rajewsky K, Müller W. Interleukin-10-deficient mice develop chronic enterocolitis. *Cell* 1993; 75: 263-274 [PMID: 8402911 DOI: 10.1016/0092-8674(93)80068-P]
- Scheinin T, Butler DM, Salway F, Scallan B, Feldmann M. Validation of the interleukin-10 knockout mouse model of colitis: antitumour necrosis factor-antibodies suppress the progression of colitis. *Clin Exp Immunol* 2003; 133: 38-43 [PMID: 12823276 DOI: 10.1046/j.1365-2249.2003.02193.x]
- Ivory CP, Wallace LE, McCafferty DM, Sigalet DL. Interleukin-10-independent anti-inflammatory actions of glucagon-like peptide 2. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 295: G1202-G1210 [PMID: 18845573 DOI: 10.1152/ajpgi.90494.2008]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



大网膜瓣包绕胃肠道吻合口防治糖尿病大鼠消化系吻合口漏的疗效观察

潘瑞艳, 严庆涛, 曲俊生, 韩海林, 徐继马, 薛玲喜, 张义军, 曲梅花

潘瑞艳, 韩海林, 薛玲喜, 张义军, 曲梅花, 潍坊医学院药理学与生物科学学院应用药理学重点实验室 山东省潍坊市 261053

严庆涛, 潍坊市人民医院小儿外科 山东省潍坊市 261041

曲俊生, 潍坊医学院附属医院内分泌科 山东省潍坊市 261041

徐继马, 潍坊医学院附属医院消化内科 山东省潍坊市 261041

潘瑞艳, 在读研究生, 主要从事神经内分泌药理学研究。

国家教育部留学回国人员科研启动基金资助项目, No. 2011年第43批

中科院核分析技术重点实验室基金资助项目, No. K1302

山东省自然科学基金资助项目, Nos. ZR2009DM024;

ZR2011HM043; ZR2009CL047

山东省高等学校科技计划基金资助项目, No. J11LF33

作者贡献分布: 潘瑞艳与严庆涛对此文贡献均等; 此课题由严庆涛与曲梅花设计; 研究过程由潘瑞艳、严庆涛、曲俊生、韩海林、徐继马、薛玲喜及张义军操作完成; 数据分析由曲俊生完成; 本论文写作由潘瑞艳、严庆涛及曲梅花完成; 研究经费由曲梅花与严庆涛提供。

通讯作者: 曲梅花, 教授, 261053, 山东省潍坊市宝通西街7166号, 潍坊医学院药理学与生物科学学院应用药理学重点实验室。qumeihua@hotmail.com

电话: 0536-8462466

收稿日期: 2013-07-17 修回日期: 2013-07-29

接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-10-18

Wrapping digestive tract anastomotic fistula with a pedicled gastrocolic omentum flap to prevent anastomotic leakage in diabetic rats

Rui-Yan Pan, Qing-Tao Yan, Jun-Sheng Qu, Hai-Lin Han, Ji-Ma Xu, Ling-Xi Xue, Yi-Jun Zhang, Mei-Hua Qu

Rui-Yan Pan, Hai-Lin Han, Ling-Xi Xue, Yi-Jun Zhang, Mei-Hua Qu, Department of Pharmacology, Weifang Medical University, Weifang 261053, Shandong Province, China

Qing-Tao Yan, Department of Pediatric Surgery, Weifang People's Hospital, Weifang 261041, Shandong Province, China

Jun-Sheng Qu, Department of Endocrinology, Affiliated Hospital of Weifang Medical University, Weifang 261041, Shandong Province, China

Ji-Ma Xu, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Weifang Medical University, Weifang 261041, Shandong Province, China

Supported by: the Scientific Research Foundation for Returned Scholars, Ministry of Education of China, No. 2011, 43th; the Fund of Key Laboratory of Nuclear Analysis Techniques of Chinese Academy of Sciences, No. K1302; the Natural Science Foundation of Shandong Province, Nos.

ZR2009DM024, ZR2011HM043, and ZR2009CL047; the Higher Educational Science and Technology Program of Shandong Province, No. J11LF33

Correspondence to: Mei-Hua Qu, Professor, Department of Pharmacology, Shandong Key Laboratory of Applied Pharmacology, Pharmaceutical and Biological Sciences College, Weifang Medical University, 7166 Baotong West Street, Weifang 261053, Shandong Province, China. qumeihua@hotmail.com

Received: 2013-07-17 Revised: 2013-07-29

Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To investigate the effect of wrapping digestive tract anastomotic fistula with a pedicled gastrocolic omentum flap in preventing anastomotic leakage in diabetic rats.

METHODS: Experiments were performed using 6-week-old male Wistar rats ($n = 30$). All animals were allowed to adapt to their environment for 1 wk (free access to food and water, 12:12-h light/dark cycle) prior to the beginning of study. Type 2 diabetes mellitus (T2DM) was induced by feeding a high-fat diet for two months and then giving a single intraperitoneal injection of low-dose 1% streptozocin (35 mg/kg) after 12 h of fasting. Seven days after model induction, the rats were divided into either a control group to receive a surgery without wrapping anastomotic fistula ($n = 11$) or an experimental group to receive wrapping anastomotic fistula using a pedicled gastrocolic omentum flap ($n = 13$), respectively.

RESULTS: The incidence of anastomotic leakage was significantly lower in the experimental group than in the control group (3.8% vs 31.8%, $P = 0.029$). The survival rate was also improved in the experimental group.

CONCLUSION: Wrapping digestive tract anastomotic fistula with a pedicled gastrocolic omentum flap is feasible in preventing anastomotic leakage and can significantly decrease the incidence of anastomotic leakage and improve survival in diabetic rats.

■背景资料

近年来随着胃肠手术治疗糖尿病患者的深入研究, 患者术后并发症的防治亦显得尤为重要。吻合口漏是糖尿病患者胃肠手术后严重并发症之一, 本研究通过动物实验的方法, 探讨大网膜包绕消化道吻合口预防胃肠手术后吻合口漏的方法可行有效。

■同行评议者

于珮, 主任医师, 天津医科大学代谢病医院

■ 研发前沿

有研究表明十二指肠空肠旁路术(duodenal-jejunal bypass, DJB)手术可显著降低糖尿病患者的血糖,使糖尿病症状缓解,但具体作用机制尚不明确。本研究大网膜瓣包绕消化道吻合口可显著降低糖尿病大鼠吻合口瘘的发生率,提高糖尿病大鼠存活率,为成功建立胃肠手术模型、探讨DJB术治疗糖尿病的机制奠定基础。

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

Key Words: Digestive tract anastomotic fistula; Diabetic rats; Anastomotic leakage; Pedicled gastrocolic omentum flap

Pan RY, Yan QT, Qu JS, Han HL, Xu JM, Xue LX, Zhang YJ, Qu MH. Wrapping digestive tract anastomotic fistula with a pedicled gastrocolic omentum flap to prevent anastomotic leakage in diabetic rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3107-3111 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3107.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3107>

摘要

目的: 探讨大网膜瓣包绕消化系吻合口在防治糖尿病大鼠消化系吻合口漏的疗效。

方法: δ Wistar大鼠30只,适应饲养环境1 wk,采用高糖高脂饮食喂养2 mo后联合腹腔注射小剂量链脲佐菌素(35 mg/kg)制备2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)大鼠模型,模型稳定7 d后分两组进行胃肠道手术,对照组(大网膜未包绕吻合口残端, $n = 11$ 只)和实验组(大网膜包绕吻合口, $n = 13$ 只)。

结果: 对照组吻合口漏发生率为27.3%,实验组吻合口漏发生率为3.8%,与对照组相比明显降低($P = 0.029$),大鼠存活率显著提高。

结论: 大网膜瓣包绕吻合口预防胃肠道手术后吻合口漏是可行的,采用大网膜瓣包绕吻合口可显著降低糖尿病大鼠胃肠道手术吻合口漏的发生,提高大鼠存活率。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃肠道吻合; 糖尿病大鼠; 吻合口漏; 大网膜瓣

核心提示: 本研究拟采用DJB手术干预2型糖尿病大鼠模型,探讨术中大网膜瓣包绕消化系吻合口在降低糖尿病大鼠消化系吻合口漏的疗效,结果表明糖尿病大鼠胃肠手术中采用大网膜瓣包绕吻合口,可大大降低胃肠道吻合口漏的发生率,提高患鼠的存活率,且该手术方法简单,安全,易于操作。

潘瑞艳, 严庆涛, 曲俊生, 韩海林, 徐继马, 薛玲喜, 张义军, 曲梅花. 大网膜瓣包绕胃肠道吻合口防治糖尿病大鼠消化系吻合口漏的疗效观察. *世界华人消化杂志* 2013; 21(29): 3107-3111 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3107.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3107>

0 引言

糖尿病、营养不良、肠道的慢性炎症、血运障碍、长期激素应用、老年患者、手术粗糙通常是诱发胃肠道手术后吻合口漏的主要原因,大网膜瓣包绕吻合口是预防胃肠道手术后吻合口漏的方法之一。在此我们通过动物实验的方法,对该手术方法在预防糖尿病大鼠胃肠道手术后吻合口漏的疗效进行了对比性研究,以确定该手术方法的有效性和安全性。本实验拟选择对2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)大鼠进行十二指肠空肠旁路手术(duodenal-jejunal bypass, DJB)手术,图1A)进行观察,探讨术中行大网膜包绕吻合口的方式在降低吻合口漏发生率的疗效,进而达到提高手术后糖尿病大鼠存活率的目的,亦为在糖尿病患者胃肠道手术中应用该方法提供动物实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料 健康 δ Wistar大鼠30只,体质量180-200g, SPF级,购自山东鲁抗医药股份有限公司实验动物室(许可证号: SCXK鲁20130001)。链脲佐菌素(Streptozotocin, STZ): Sigma公司;血糖试纸: 北京怡成生物电子有限公司;柠檬酸和柠檬酸钠: Solarbio公司;手术器械及场所由潍坊医学院药理学实验室提供。

1.2 方法

1.2.1 T2DM大鼠模型建立: 采用高糖高脂饮食喂养联合小剂量链脲佐菌素腹腔注射^[1-4]建立2型糖尿病大鼠模型。第一阶段高糖高脂饲料喂养: Wistar大鼠普食喂养1 d后,给予高糖高脂饲料(配方为基础饲料57%、猪油30%、蔗糖10%、蛋黄3%)喂养8 d;第二阶段小剂量STZ腹腔注射: 上述高糖高脂饲料喂养大鼠禁食12 h,给予腹腔注射35 mg/kg STZ(STZ溶解在pH 4.2的0.1 mol/L柠檬酸缓冲液内,配制成1%的溶液,避光冰浴即用),注射72 h后,尾尖采血并用北京怡成生物技术有限公司5D-1型血糖仪测空腹血糖,以空腹血糖 ≥ 13.9 mmol/L且稳定7 d以上为T2DM大鼠造模成功。T2DM模型大鼠随机分为DJB手术对照组和实验组,其中对照组11只,实验组13只。

1.2.2 手术操作: T2DM大鼠术前禁饮食12 h。给予氯胺酮3 mL/kg腹腔注射麻醉糖尿病大鼠。待角膜反射、翻正反射消失、夹尾无体动反应作为大鼠麻醉成功的标准。皮下注射盐水各10 mL,备皮,750 mL/L乙醇消毒,铺无菌洞巾,腹部正中

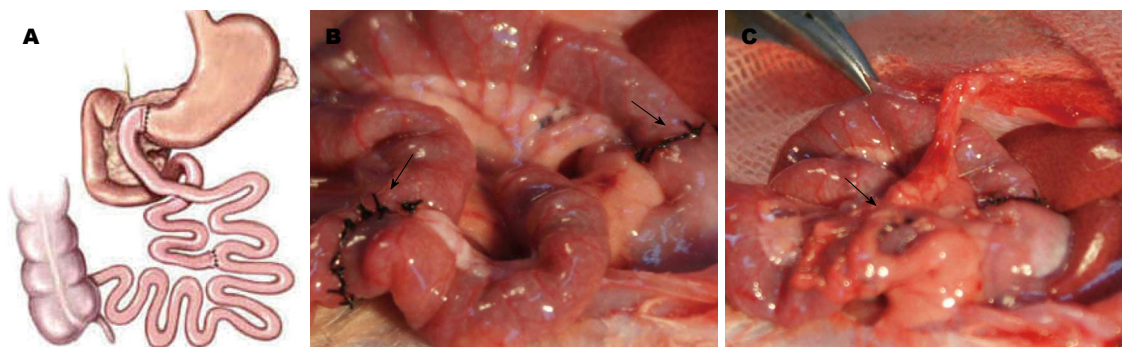


图1 DJB模式及手术吻合口缝合图。A: DJB手术模式图; B: 吻合口间断全层内翻缝合外加间断浆肌层缝合, 大网膜瓣未包绕吻合口, 左侧箭头示空肠端侧吻合口, 右侧箭头示胃空肠吻合口; C: 吻合口间断全层内翻缝合外加间断浆肌层缝合后, 大网膜瓣包绕吻合口, 箭头示大网膜瓣包绕吻合口。DJB: 十二指肠空肠旁路手术。

■相关报道

吻合口漏是胃肠手术后并发症之一, 许多文献报道大网膜瓣包绕消化系吻合口对于防治消化系吻合口漏具有良好的效果, 可显著降低患者围手术期的死亡率。

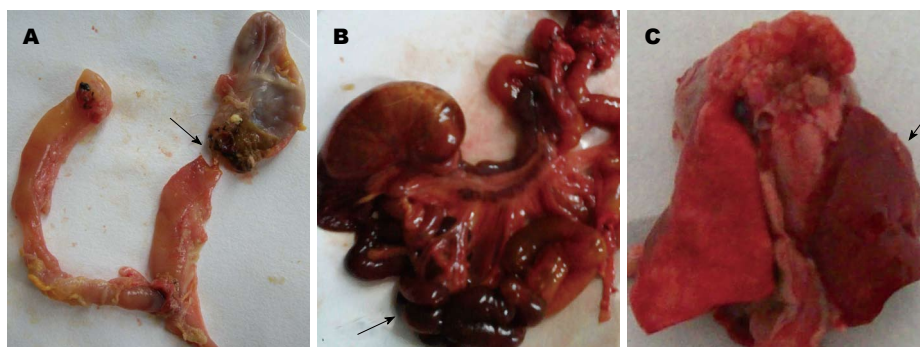


图2 大鼠吻合口漏、肠管坏死、肺部感染。A: 胃空肠吻合口漏, 箭头示发生吻合口漏的吻合口; B: 肠管坏死, 箭头示坏死肠段; C: 肺部感染, 箭头示病变肺叶。

切口, 长约3 cm, 逐层切开皮肤及腹壁肌层, 入腹腔。于幽门处切断十二指肠, 6-0丝线间断浆肌层内翻缝合封闭十二指肠残端。屈氏韧带下8 cm处切断空肠, 远端空肠与胃幽门部行端-端吻合(图1B), 6-0丝线间断全层内翻缝合, 外加间断浆肌层缝合; 近端空肠与胃空肠吻合口下约8 cm处空肠行端-侧吻合, 吻合方法同前(图1B); 制作大网膜瓣包绕上述2个吻合口, 6-0丝线将大网膜瓣与吻合口周围胃肠道浆肌层间断缝合妥善固定使大网膜瓣充分包绕吻合口(图1C), 温盐水冲洗腹腔后逐层关闭腹。对照组大鼠: 胃肠道吻合术后不做大网膜瓣包绕吻合口。实验组大鼠: 胃肠道吻合术后做大网膜瓣包绕吻合口。整个手术过程时间约90 min, 术后补液, 2-3 d后进食流质饮食, 并逐渐过渡到正常饮食; 肌注青霉素5万IU, 持续3 d; 腹部切口用碘伏消毒, 持续1 wk, 如有死亡需对死亡大鼠进行解剖处理, 查明死亡原因。

统计学处理 实验数据采用SPSS11.0软件进行统计分析, 数据用mean±SD表示。术前空腹血糖浓度比较采用两样本均数t检验, 吻合口漏发生率和实验鼠死亡率均采用Fisher确切概率法,

$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

本实验中实验组和对照组大鼠均为糖尿病鼠, 二者空腹血糖比较差异无统计学意义(表1), 其中对照组大鼠总例数为11只, DJB手术后, 成活3只, 6个吻合口漏, 发生率为27.3%, 发生时间为术后3-7 d。实验组大鼠总例数为11只, 成活8只, 吻合口均行大网膜包绕, 1个吻合口漏, 吻合口发生率为3.8%, 发生率大大降低, 与对照组相比差异有统计学意义($P<0.05$)。对照组大鼠死亡率为72.7%, 其中6只死于吻合口漏, 吻合口漏死亡率为100%, 解剖死亡大鼠可见患鼠腹腔积液, 肠管粘连, 吻合口裂开(图2A); 1只死于肠管坏死(图2B), 另1只术后死亡原因不明。实验组大鼠死亡率为30.8%, 1只仍死于吻合口漏, 吻合口死亡率100%, 2只死于肺部感染(图2C), 1只为大鼠肠管坏死所致(图2B), 实验组和对照组大鼠死亡率无显著性差异, 分析原因可能为糖尿病大鼠术后致死性并发症较多, 如术后肠吻合口漏, 肺部感染, 肠坏死, 腹腔感染, 水电解质紊乱, 酮症酸

■创新盘点

大网膜瓣包绕吻合口是预防胃肠道手术后吻合口漏的方法之一,但糖尿病患者由于存在高血糖,大大增加了吻合口漏的发生率,本研究结果表明采用,大网膜瓣包绕吻合口防止糖尿病鼠消化道吻合口漏的方法是安全有效的。

表 1 两组大鼠吻合口漏情况

分组	n	术前空腹血糖浓度(mmol/L)	吻合口数量	吻合口漏数量	实验鼠死亡例数	吻合口漏发生率(%)	实验鼠死亡率(%)
实验组	13	21.2 ± 2.9	26	1	4	3.8	30.8
对照组	11	19.9 ± 2.68	22	6	8	27.3	72.7
P值		>0.05				<0.05	>0.05

中毒等,肠吻合口漏只是其致死性并发症之一。另一方面可能与样本例数较少有关。

3 讨论

吻合口漏是胃肠手术严重的并发症之一^[5],临床上胃肠吻合口漏发生的原因较多,一般认为与年龄、性别、患者全身状况、胃肠局部血运、吻合术式、手术者操作技术、术后消化系有无梗阻、呕吐、腹腔感染,合并其它疾病如糖尿病等因素有关^[6]。健康非糖尿病患者胃肠手术后吻合口漏的发生率极低,一旦发生可通过再次手术,或通过局部充分引流,全身营养支持及抗感染等对症处理方法进行治疗,大部分吻合口漏可治愈^[7]。然而,对于存在糖尿病或其他胃肠道疾患的患者,一旦发生吻合口漏等并发症,其死亡率会显著提高^[8],本实验糖尿病大鼠发生吻合口漏后,死亡率为100%,因此预防这一部分患者胃肠道手术后的吻合口漏的发生具有重要的现实意义。大网膜瓣包绕吻合口是预防胃肠道手术后吻合口漏的方法之一^[9-13],但该手术方法在预防糖尿病患者胃肠道手术后吻合口漏疗效尚缺乏动物实验方面的系统研究,在此我们通过动物实验的方法,对该手术方法在预防糖尿病大鼠胃肠道手术后吻合口漏的疗效进行了对比性研究,以确定该手术方法的有效性。本实验通过对T2DM大鼠行DJB手术^[14,15]进行观察,探讨术中行大网膜包绕吻合口的方式在降低吻合口漏发生率,进而达到提高手术后糖尿病大鼠存活率的目的,亦为在人糖尿病患者和存在其它易发生吻合口漏因素的胃肠道手术中应用该方法提供动物实验依据。

大网膜有丰富的血管和淋巴管网络,具有很强的吸收、黏附、防御、修复、抗感染等功能,大网膜包绕吻合口不仅能在吻合口周围形成袖套式的保护层^[16],还能粘连吻合口和邻近的组织,防止消化液的外漏;大网膜在术后4 d便能与覆盖区发生血管沟通^[12],与吻合口周围组织形成广泛侧支循环,增加血液供应,增强吻合口的愈

合能力^[11,13];同时,大网膜还能预防周围组织纤维化所致梗阻等优点,因此大网膜覆盖吻合口,既增强了吻合口的牢固性,又可在第一时间封堵可能发生的吻合口漏。

糖尿病大鼠吻合口漏的原因归纳起来主要有以下几个方面:(1)糖尿病患者由于存在高血糖,组织细胞活性低,体内胶原蛋白合成减少,组织愈合能力差;(2)高血糖抑制巨噬细胞趋化吞噬和杀菌等功能,降低单核细胞活力,细胞免疫和体液免疫能力下降,抗感染能力差^[17],易发生吻合口、腹腔、胃肠道感染;(3)糖尿病致胃肠道血运障碍,影响吻合口局部愈合及抗感染能力;(4)糖尿病大鼠胃肠蠕动功能差,增加吻合口漏的风险。

本实验中对对照组大鼠行DJB术后吻合口漏发生率为27.3%,其中有6个吻合口发生漏,观察术后大鼠,可见精神萎靡,活动性差,腹部膨隆,触其腹壁,有躲避现象;实验组我们应用大网膜瓣环包胃肠吻合口13例,虽有1个吻合口漏,分析原因可能为术前禁食禁水不充分导致食物过多积聚在胃肠道,增加术中术后吻合口及腹腔感染的机会及术后过早饮食,加重胃肠蠕动负担,增加吻合口张力,但发生率大大降低,仅占3.8%,与对照组相比,差异有统计学意义($P<0.05$)。结果显示,糖尿病大鼠胃肠手术中采用大网膜瓣包绕吻合口,可大大降低胃肠道吻合口漏的发生率,提高患鼠的存活率,将大网膜瓣包绕胃肠吻合口区增加了吻合口的严密性和稳固性,提供了较为安全的防御屏障,我们认为将大网膜瓣包绕消化系吻合口防治糖尿病大鼠消化系吻合口漏的方法是有效的。

总之,大网膜瓣包绕胃肠吻合口可显著降低糖尿病大鼠胃肠手术吻合口漏的发生,可作为糖尿病大鼠胃肠手术的常规术式。同时我们的研究间接证明,对存在易发生胃肠吻合口漏因素的人类胃肠道吻合手术中,该手术方法可能有效且该手术方法简单,安全,易于操作,未见明显增加吻合口梗阻的情况。

4 参考文献

- 1 Strader AD, Clausen TR, Goodin SZ, Wendt D. Ileal interposition improves glucose tolerance in low dose streptozotocin-treated diabetic and euglycemic rats. *Obes Surg* 2009; 19: 96-104 [PMID: 18989728 DOI: 10.1007/s11695-008-9754-x]
- 2 Reed MJ, Meszaros K, Entes LJ, Claypool MD, Pinkett JG, Gadbois TM, Reaven GM. A new rat model of type 2 diabetes: the fat-fed, streptozotocin-treated rat. *Metabolism* 2000; 49: 1390-1394 [PMID: 11092499 DOI: 10.1053/meta.2000.17721]
- 3 Zhang M, Lv XY, Li J, Xu ZG, Chen L. The characterization of high-fat diet and multiple low-dose streptozotocin induced type 2 diabetes rat model. *Exp Diabetes Res* 2008; 2008: 704045 [PMID: 19132099 DOI: 10.1155/2008/704045]
- 4 张妍, 毕会民, 甘佩珍. 葛根素对胰岛素抵抗大鼠骨骼肌中蛋白激酶B表达的影响. *中国药理学通报* 2004; 20: 307-10
- 5 Caulfield H, Hyman NH. Anastomotic leak after low anterior resection: a spectrum of clinical entities. *JAMA Surg* 2013; 148: 177-182 [PMID: 23426596 DOI: 10.1001/jamasurgery.2013.413]
- 6 高云峰, 董明. 直肠癌前切除术吻合口漏的危险因素. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 803-807
- 7 Daams F, Luyer M, Lange JF. Colorectal anastomotic leakage: aspects of prevention, detection and treatment. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 2293-2297 [PMID: 23613621 DOI: 10.3748/wjg.v19.i15.2293]
- 8 Ziegler MA, Catto JA, Riggs TW, Gates ER, Grodsky MB, Wasvary HJ. Risk factors for anastomotic leak and mortality in diabetic patients undergoing colectomy: analysis from a statewide surgical quality collaborative. *Arch Surg* 2012; 147: 600-605 [PMID: 22430091 DOI: 10.1001/archsurg.2012.77]
- 9 Hao XY, Yang KH, Guo TK, Ma B, Tian JH, Li HL. Omentoplasty in the prevention of anastomotic leakage after colorectal resection: a meta-analysis. *Int J Colorectal Dis* 2008; 23: 1159-1165 [PMID: 18762955 DOI: 10.1007/s00384-008-0532-y]
- 10 Saber AA, Jackson O. Omental wrap: a simple technique for reinforcement of the gastrojejunostomy during Roux-en-Y gastric bypass. *Obes Surg* 2007; 17: 15-18 [PMID: 17355763 DOI: 10.1007/s11695-007-9000-y]
- 11 王江波, 梁浩, 程远方, 王相臣, 陈晶. 食管癌贲门癌切除术大网膜包埋吻合口预防吻合口漏的术式研究. *中国现代药物应用* 2012; 6: 33-34
- 12 邓权每. 大网膜治疗主动脉裂口感染的实验研究. *中华实验外科杂志* 1987; 4: 36
- 13 Adams W, Ctercteko G, Bilous M. Effect of an omental wrap on the healing and vascularity of compromised intestinal anastomoses. *Dis Colon Rectum* 1992; 35: 731-738 [PMID: 1379531]
- 14 JiMa Xu, ChunYan Fang, TingTun Zhao, XiuRong Zhang, Mei-Hua Qu. The Study of GLP-1R expression in enteric nerve system of type 2 diabetic rat after duodenal-jejunal bypass surgery. *Neurogastroenterology and Motility* 2012; 24 Suppl 2: 132-133
- 15 张秀荣, 徐继马, 严庆涛, 季万胜, 房春燕, 王琳, 赵廷坤, 高志芹, 曲梅花. DJB术对2型糖尿病大鼠肠神经GLP-1受体表达影响的研究. *山东大学学报(医学版)* 2012; 50: 1-5
- 16 Samson R, Pasternak BM. Current status of surgery of the omentum. *Surg Gynecol Obstet* 1979; 149: 437-442 [PMID: 382412]
- 17 胡绍文, 郭瑞林. 实用糖尿病学. 北京: 人民军医出版社, 1998: 329-334

■同行评价

本文的科学性、创新性和可读性均较好, 实验设计合理可靠, 实验证据充足, 结论较明确, 为大网膜瓣包绕消化系吻合口防治糖尿病患者消化系吻合口漏提供了实验依据, 具有较好的临床指导意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



不同类型胃黏膜中MUC1黏蛋白和MUC2黏蛋白的表达

崔小强, 姜曼, 董全江, 高玉强, 解祥军, 战淑慧

■背景资料

MUC1黏蛋白和MUC2黏蛋白作为黏蛋白家族的重要成员与胃癌的相关性日益受到关注, 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)作为胃癌的I类致病原与胃癌的发展关系密切, 本研究旨在揭示MUC1黏蛋白和MUC2黏蛋白在不同类型胃黏膜的表达以及与*H. pylori*的关系。

崔小强, 姜曼, 董全江, 高玉强, 解祥军, 战淑慧, 青岛大学医学院附属青岛市市立医院消化科 山东省青岛市 266071

崔小强, 在读硕士, 主要从事胃癌发生机制的相关研究。

作者贡献分布: 此课题由董全江、解祥军及战淑慧共同设计; 研究过程与数据分析由崔小强与姜曼操作完成; 本论文的初稿写作、修改及定稿由崔小强、姜曼、董全江、高玉强、解祥军及战淑慧共同完成。

通讯作者: 战淑慧, 教授, 266071, 山东省青岛市胶州路1号, 青岛大学医学院附属青岛市市立医院消化科, zhanductor@126.com
电话: 0532-82789579

收稿日期: 2013-07-08 修回日期: 2013-08-08

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-10-18

Expression of mucin-1 and mucin-2 in different types of gastric lesions

Xiao-Qiang Cui, Man Jiang, Quan-Jiang Dong, Yu-Qiang Gao, Xiang-Jun Xie, Shu-Hui Zhan

Xiao-Qiang Cui, Man Jiang, Quan-Jiang Dong, Yu-Qiang Gao, Xiang-Jun Xie, Shu-Hui Zhan, Department of Gastroenterology, Qingdao Municipal Hospital Affiliated to Qingdao University Medical College, Qingdao 266071, Shandong Province, China

Correspondence to: Shu-Hui Zhan, Professor, Department of Gastroenterology, Qingdao Municipal Hospital Affiliated to Qingdao University Medical College, 1 Jiaozhou Road, Qingdao 266071, Shandong Province, China. zhanductor@126.com

Received: 2013-07-08 Revised: 2013-08-08

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To detect the expression of mucin-1 and mucin-2 in gastritis, intestinal metaplasia and gastric cancer.

METHODS: Thirty patients with gastritis (without intestinal metaplasia), thirty patients with intestinal metaplasia and forty-eight patients with gastric cancer, who were treated at our hospital from November 2011 to April 2012, were enrolled in this study. The expression of mucin-1 and mucin-2 in different types of gastric lesions was determined by immunohistochemistry.

RESULTS: The expression of mucin-1 in intestinal metaplasia was lower than that in gastritis ($P > 0.05$), but the expression of mucin-2 in intestinal metaplasia was higher than that in gastritis (P

< 0.05). The rate of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection in intestinal metaplasia was higher than that in gastritis ($P > 0.05$). The expression of mucin-1 in gastric cancer was lower than that in intestinal metaplasia ($P > 0.05$), but the expression of mucin-2 in gastric cancer was lower than that in intestinal metaplasia ($P < 0.05$). The rate of *H. pylori* infection in gastric cancer was lower than that in intestinal metaplasia ($P < 0.05$). The expression of mucin-1 in gastric cancer was lower than that in gastritis ($P > 0.05$), but the expression of mucin-2 in gastric cancer was higher than that in gastritis ($P < 0.05$). The rate of *H. pylori* infection in gastric cancer was lower than that in gastritis ($P > 0.05$).

CONCLUSION: The expression of mucin-1 is down-regulated in the evolution of gastric cancer; however, the expression of mucin-2 is positive only in precancerous lesions and gastric cancer. This finding suggests that mucin-2 may be more closely related to the occurrence of gastric cancer. There is a negative correlation between expression of mucin-1 and *H. pylori* infection, but a positive correlation between mucin-2 expression and *H. pylori* infection.

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

Key Words: Mucin-1; Mucin-2; Gastric neoplasms; *Helicobacter pylori*

Cui XQ, Jiang M, Dong QJ, Gao YQ, Xie XJ, Zhan SH. Expression of mucin-1 and mucin-2 in different types of gastric lesions. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3112-3118 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3112.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3112>

摘要

目的: 探讨MUC1黏蛋白、MUC2黏蛋白在不同类型胃黏膜中的表达。

方法: 随机选取2011-11/2012-04就诊于青岛市市立医院病理诊断为慢性浅表性胃炎(不伴有肠化生)的患者30例、肠上皮化生患者30例,

■同行评议者

卢晓梅, 教授, 研究员, 新疆医科大学第一附属医院临床医学研究院

胃癌患者48例, 用免疫组织化学的方法检测胃黏膜中MUC1黏蛋白和MUC2黏蛋白的表达。

结果: (1)肠上皮化生组患者与慢性浅表性胃炎组患者相比, 胃黏膜内MUC1黏蛋白的阳性表达率下降($P>0.05$), 胃黏膜内MUC2黏蛋白的阳性表达率上升($P<0.05$), 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染率升高($P>0.05$); (2)胃癌组患者与肠上皮化生组患者相比, 胃黏膜内MUC1黏蛋白的阳性表达率下降($P>0.05$), 胃黏膜内MUC2黏蛋白的阳性表达率下降($P<0.05$), *H. pylori*感染率下降($P<0.05$); (3)胃癌组患者与慢性浅表性胃炎组患者相比, 胃黏膜内MUC1黏蛋白的阳性表达率下降($P>0.05$), 胃黏膜内MUC2黏蛋白的阳性表达率上升($P<0.05$), *H. pylori*感染率下降($P>0.05$)。

结论: 在胃黏膜癌变过程中MUC1黏蛋白表达下调, MUC2黏蛋白仅在肠上皮化生胃黏膜及胃癌中呈阳性表达, 这种现象的发生可能与胃癌的发生有关。 *H. pylori*感染能导致胃黏膜MUC1黏蛋白的阳性表达率下降, MUC1黏蛋白可能有抗*H. pylori*感染的作用, *H. pylori*感染与MUC2黏蛋白的相关性需要进一步探讨。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: MUC1黏蛋白; MUC2黏蛋白; 胃癌; 幽门螺杆菌

核心提示: 与幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)阴性患者相比*H. pylori*阳性患者胃黏膜MUC1黏蛋白表达阳性率降低, 提示*H. pylori*可能影响MUC1黏蛋白的表达; MUC2黏蛋白全部在杯状细胞表达, 在胃癌组织中表达阳性率降低, 提示MUC2黏蛋白可能与胃癌的发展有关, 他与*H. pylori*的相关性需要研究进一步的证实。

崔小强, 姜曼, 董全江, 高玉强, 解祥军, 战淑慧. 不同类型胃黏膜中MUC1黏蛋白和MUC2黏蛋白的表达. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3112-3118 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3112.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3112>

0 引言

黏蛋白是高分子量糖蛋白, 分为膜结合型和分泌型两种形式, 具有多种功能, 如水化、保护、润滑人体内各种管腔的上皮细胞, 调控细胞信号传导及转录等^[1-3]. 胃癌在我国的恶性肿瘤发病率和死亡率分别为第2、3位, 在世界上, 胃癌

在美国的发病率为第7位, 是威胁人类健康常见的癌症之一^[4]. 超过90%以上的胃癌是腺癌, 腺癌分为弥漫型胃癌和肠型胃癌^[5], 在肠型胃癌的发展过程中, 胃黏膜上皮经历了一系列的病理阶段, 包括慢性浅表性胃炎、萎缩性胃炎、肠上皮化生、异性增生、胃癌^[6]. 正常胃黏膜可表达MUC1、MUC5AC、MUC6黏蛋白^[7-9], MUC2黏蛋白是一种分泌型黏蛋白, 正常胃黏膜不表达^[9,10]. 本实验通过免疫组织化学方法检测不同胃黏膜病变组织MUC1黏蛋白和MUC2黏蛋白的表达情况, 并对他们与幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染的相关性作初步探讨, 旨在为胃癌的诊断、预防和治疗提供帮助。

1 材料和方法

1.1 材料 随机选取青岛市市立医院病理科2011-11/2012-04诊断为慢性浅表性胃炎(不伴有肠化生)的胃黏膜标本30例, 肠化生胃黏膜标本30例, 胃癌手术标本48例. 标本的获取已通过当地医院的伦理批准或通过患者签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学: 采用免疫组织化学SP法(streptavidin-peroxidase法, 即链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶连接法), MUC1黏蛋白和MUC2黏蛋白的一抗稀释溶度均为1:100. 主要试剂: 鼠抗人MUC1黏蛋白单克隆抗体浓缩液、鼠抗人MUC2黏蛋白单克隆抗体浓缩液, 均购自北京中杉金桥生物技术公司, 兔抗鼠快捷型酶标抗体、柠檬酸抗原修复液(pH 6.0)及DAB显色试剂盒均购自福州迈新生物技术开发公司. 所有标本均经过10%中性甲醛溶液固定, 常规脱水, 石蜡包埋, 2 μm厚连续切片, 免疫组织化学染色. 免疫组织化学染色步骤包括: 常规脱蜡脱水, 清水冲洗, 过氧化氢孵育10 min清除内源性过氧化物酶, 抗原热修复, 滴加一抗, 37 ℃孵育1 h, 滴加二抗, 常温下孵育10 min, DAB显色3-5 min, 苏木素复染, 二甲苯透明, 中性树胶封片. 实验中设立阴性对照和阳性对照, 以确保实验的特异性和可靠性. 所有的胃组织标本通过HE染色确定*H. pylori*阳性。

1.2.2 判定标准: 在光学显微镜下观察全片, 对切片染色阳性情况进行评估. 阳性细胞的判定标准: MUC1黏蛋白、MUC2黏蛋白阳性着色位于细胞浆, 着色呈棕黄或棕褐色颗粒, 细胞核不着色. 根据染色程度计分, 其中无色为0分, 浅黄

■ 研发前沿

目前关于MUC1黏蛋白和MUC2黏蛋白与胃癌的关系的报道已有较多, 然而他们与胃癌发生的机制的相关性尚不清楚. MUC1黏蛋白和MUC2黏蛋白是否参与了胃癌的发展、*H. pylori*感染机制以及他们与*H. pylori*的相关性仍需进一步探讨。

■相关报道

Radziejewska等通过研究发现根治胃炎患者*H. pylori*感染后胃液中MUC1黏蛋白的含量会升高; Michaël Perrais等通过研究发现*H. pylori*的尿素酶、鞭毛蛋白及毒力因子CagA可以影响MUC2基因转录,提示MUC1黏蛋白和MUC2黏蛋白参与了*H. pylori*感染机制。

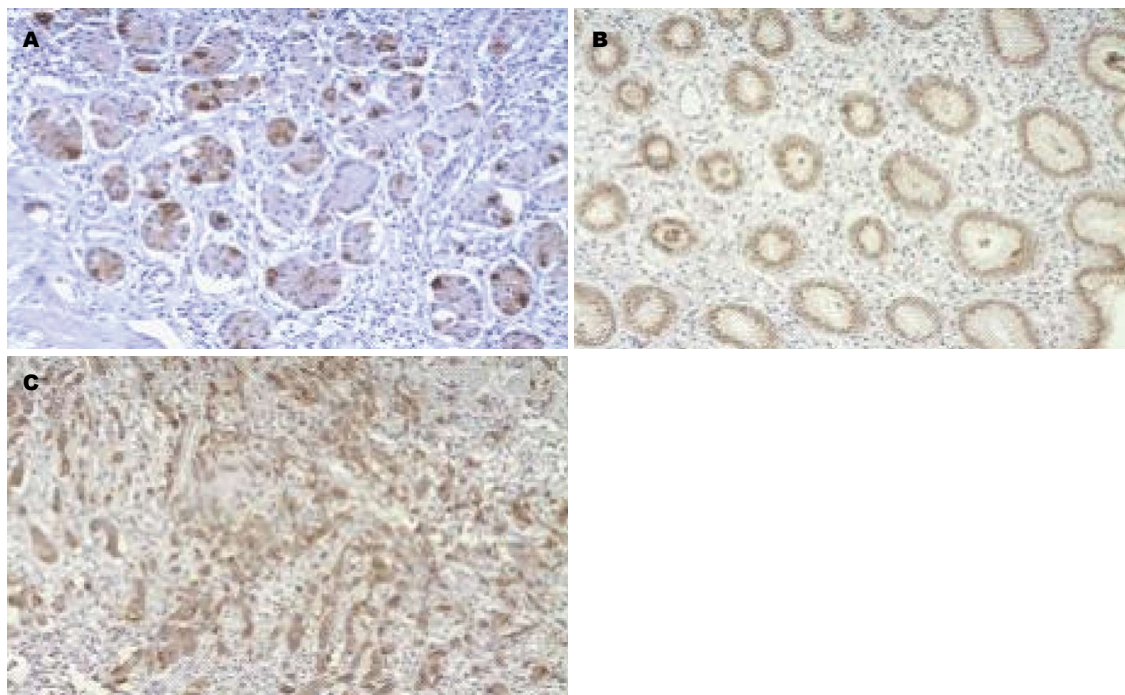


图1 MUC1黏蛋白的表达(SP × 100). A: 慢性浅表性胃炎; B: 肠化生; C: 胃癌中的表达。

表1 MUC1黏蛋白在不同胃黏膜组织中的表达

组织类型	n	MUC1黏蛋白				阳性	阴性	阳性率(%)	χ^2 值	P值
		(-)	(+)	(++)	(+++)					
慢性浅表性胃炎	30	0	2	8	20	2	28	93.33	0.185 ^a	0.667 ^a
肠上皮化生	30	0	4	9	17	4	26	86.67	0.288 ^c	0.592 ^c
胃癌	48	4	6	29	9	10	38	79.17	1.862 ^b	0.172 ^b

^a $P < 0.05$ vs 肠化生组; ^b $P < 0.05$ vs 胃癌组; ^c $P < 0.05$ vs 慢性胃炎组。

色为1分, 棕黄色为2分, 棕褐色为3分。根据阳性细胞数计分, 阳性细胞数 $<10\%$ 为0分, $10\%-30\%$ 为1分, $31\%-50\%$ 为2分, $>50\%$ 为3分。染色程度计分与阳性细胞数计分相乘, 0分记为-, 1-3分记为+(弱阳性), 4-5分记为++(阳性), ≥ 6 分记为+++ (强阳性), 将弱阳性与阴性归为阴性, 将阳性与强阳性归为阳性。

统计学处理 数据经SPSS17.0软件进行统计学处理, MUC1黏蛋白和MUC2黏蛋白阳性表达的比较分析采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 慢性浅表性胃炎组、肠上皮化生组、胃癌组间MUC1黏蛋白表达阳性率的比较 30例慢性浅表性胃炎胃黏膜中MUC1黏蛋白表达阳性率为93.33%, 表达于黏膜固有层腺体, 30例肠化生

胃黏膜中MUC1黏蛋白表达阳性率为86.67%, 表达于黏膜固有层腺体, 48例胃癌组织中MUC1黏蛋白表达阳性率为79.17%, 表达于腺体腔缘、胃癌细胞浆。慢性胃炎组、肠上皮化生组、胃癌组MUC1黏蛋白表达阳性率逐渐下降, 但三者间两两比较差异均无统计学意义(图1, 表1)。

2.2 慢性浅表性胃炎组、肠上皮化生组、胃癌组间MUC2黏蛋白表达阳性率的比较 MUC2黏蛋白在30例慢性浅表性胃炎组织中不表达, 在30例肠化生胃黏膜中表达阳性率为93.33%, 表达于杯状细胞胞浆内, 48例胃癌组织中MUC2黏蛋白表达阳性率为31.25%, 表达于癌细胞胞浆内, 呈弥漫性分布, 细胞核内不表达。肠上皮化生组和慢性浅表性胃炎组相比MUC2黏蛋白表达阳性率明显上升($P < 0.05$), 胃癌组较肠上皮化生组相比MUC2黏蛋白表达阳性率明显下降($P < 0.05$), 胃癌组较慢性浅表性胃炎组相比较阳

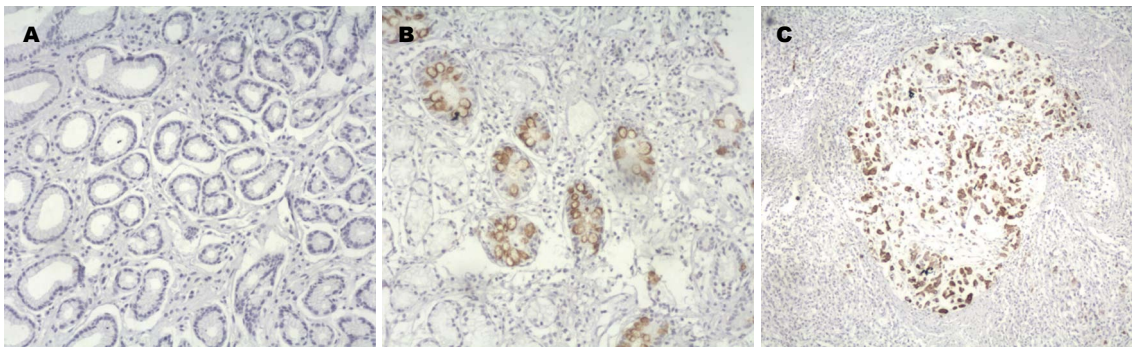


图 2 MUC2黏蛋白的表达(SP × 100). A: 慢性浅表性胃炎; B: 肠化生; C: 胃癌中的表达.

表 2 MUC2黏蛋白在不同胃黏膜胃组织中的表达

组织类型	n	MUC2黏蛋白				阴性	阳性	阳性率(%)	χ^2 值	P值
		(-)	(+)	(++)	(+++)					
慢性浅表性胃炎	30	30	0	0	0	30	0	0 ^a	39.497	0.00
肠上皮化生	30	0	5	5	20	5	25	83.33 ^c	20.045	0.00
胃癌	48	33	0	9	6	33	15	31.25 ^e	9.682	0.002

^a $P < 0.05$ vs 肠化生组; ^c $P < 0.05$ vs 胃癌组; ^e $P < 0.05$ vs 慢性胃炎组.

表 3 各组间*H. pylori*的感染率及*H. pylori*对胃黏膜MUC1黏蛋白和MUC2黏蛋白表达的影响

分组	n	<i>H. pylori</i>	n	MUC-1		P值	MUC-2		P值	MUC-1 阳性率(%)	MUC-2 阳性率(%)	<i>H. pylori</i> 感染率(%)	P值
				(+)	(-)		(+)	(-)					
慢性浅表性胃炎	30	阳性	12	10	2	0.296	0	12		83.33	0.0	40	0.071 ^a
		阴性	18	18	0		0	18		100.0	0.0		
肠上皮化生	30	阳性	19	17	2	0.970	16	3	1.00	89.47	84.21	63.33	0.026 ^c
		阴性	11	9	2		9	2		100.0	81.82		
胃癌	48	阳性	18	12	6	0.199	2	16	0.44	66.67	11.11	37.5	0.825 ^e
		阴性	30	26	4		13	17		86.67	43.33		

^a $P < 0.05$ vs 肠化生组; ^c $P < 0.05$ vs 胃癌组; ^e $P < 0.05$ vs 慢性胃炎组.

性率明显上升($P < 0.05$)(图2, 表2).

2.3 各组间*H. pylori*感染率的比较 慢性浅表性胃炎组*H. pylori*感染率为40.00%(12/30), 肠上皮化生组*H. pylori*感染率为63.33%(19/30), 胃癌组*H. pylori*感染率为37.50%(18/48), 慢性胃炎组与肠上皮化生组相比较*H. pylori*感染率差异无统计学意义($P > 0.05$), 肠上皮化生组与胃癌组*H. pylori*感染率差异有统计学意义($P < 0.05$), 慢性胃炎组与胃癌组相比*H. pylori*感染率差异无统计学意义($P > 0.05$)(表3).

2.4 *H. pylori*感染对胃黏膜MUC1黏蛋白和MUC2黏蛋白表达的影响 慢性胃炎组*H. pylori*感染患者胃黏膜MUC1黏蛋白的阳性表达率较无*H. pylori*感染患者下降($P > 0.05$), MUC2黏蛋白

阳性表达率为0.0%, 而肠上皮化生组*H. pylori*感染患者胃黏膜MUC1黏蛋白的阳性表达率较无*H. pylori*感染患者下降($P > 0.05$), MUC2黏蛋白上升($P > 0.05$). 胃癌组*H. pylori*感染患者胃黏膜MUC1黏蛋白的阳性表达率较无*H. pylori*感染患者下降($P > 0.05$), 但MUC2黏蛋白表达阳性率下降($P < 0.05$).

3 讨论

胃癌的发展过程经历了慢性浅表性胃炎、萎缩性胃炎、肠上皮化生、异性增生、胃癌一系列病理阶段^[6]. 黏蛋白是分布在人体消化系的高分子量糖蛋白, 对上皮细胞起重要的保护和润滑作用. 按结构特点黏蛋白分为细胞表面型和凝

■创新盘点
本研究通过免疫组织化学技术检测了沿海青岛地区MUC1和MUC2黏蛋白在胃癌发展阶段不同类型胃黏膜的表达情况, 并探讨他们与*H. pylori*的相关性.

■应用要点

MUC1和MUC2黏蛋白可能与胃癌的发展相关, 他们的表达异常可能作为胃癌诊断的生物学指标对胃癌的治疗及预后提供理论基础。

胶形成型^[11], 前者研究比较多的黏蛋白是MUC1黏蛋白, 后者研究则集中在MUC2黏蛋白。

MUC1黏蛋白是一种细胞表面型黏蛋白, 可表达于正常人胃黏膜, 在胃窦部的表层黏膜上皮广泛表达, 在胃窦部幽门腺和胃体腺中呈灶状表达^[12]。2006年Wang和Fang^[23]通过免疫组织化学方法研究了中国重庆地区胃癌患者MUC1黏蛋白表达情况, 结果发现46例胃癌患者胃癌组织MUC1黏蛋白阳性表达率63.04%, 胃癌前病变组织MUC1黏蛋白阳性表达率51.35%。本研究通过免疫组织化学法检测了MUC1黏蛋白在慢性浅表性胃炎癌变过程中的表达情况, 结果显示MUC1黏蛋白在慢性浅表性胃炎、肠上皮化生胃黏膜、胃癌组织中的阳性表达率分别为93.33%、86.67%、79.17%, 阳性表达率逐渐降低, 研究结果与上述文献报道不同, 原因可能与研究对象的饮食习惯、遗传、*H. pylori*感染及种族差异有关^[19]。因胃癌的发生是一个多因素、多步骤的复杂过程, *H. pylori*作为胃癌的I类致癌原, 是慢性活动性胃炎、消化性溃疡、胃黏膜相关淋巴组织(mucosa-associated lymphoid tissue, MALT)淋巴瘤和胃癌的主要致病因素, 大约70%的胃癌被认为是由*H. pylori*引起的^[14]。黏蛋白可能参与了*H. pylori*感染机制并影响*H. pylori*的定植^[15,16], 2010年Radziejewska等^[17]通过酶联免疫吸附测定(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)方法检测了13例胃液标本中MUC1黏蛋白存在情况及*H. pylori*与MUC1黏蛋白的黏附情况, 结果显示所有被检测的胃液标本中都含有MUC1黏蛋白, 而且*H. pylori*都可以与MUC1黏蛋白相黏附, 提示*H. pylori*感染可以导致MUC1黏蛋白表达降低^[18], 2008年Radziejewska^[21]等通过Western blotting方法检测了*H. pylori*治疗对胃炎患者胃液中MUC1黏蛋白的影响, 结果显示在治疗之前几乎所有患者胃液中MUC1黏蛋白的含量都较低, 而在治疗末期所有患者胃液中MUC1黏蛋白的含量均有升高, 提示*H. pylori*可以抑制细胞膜MUC1黏蛋白的表达。MUC1黏蛋白能够为胃黏膜提供保护性屏障, 限制*H. pylori*定植于胃黏膜上皮表面以及*H. pylori*导致的炎症^[20]。已经有研究证实MUC1黏蛋白在胃组织中的表达与*H. pylori*相关疾病的发生呈负相关^[21]。2002年Vinall等^[22]使用免疫组织化学方法分析了欧洲人群中胃炎患者胃上皮MUC1黏蛋白表达情况, 结果显示41例*H. pylori*阴性胃炎患者中胃上皮MUC1黏蛋白表

达阳性率为82.93%, 而在36例*H. pylori*阳性胃炎患者的MUC1黏蛋白表达阳性率为0%。2006年Wang和Fang^[23]通过免疫组织化学方法研究了中国重庆地区胃癌患者MUC1黏蛋白表达情况, 结果显示*H. pylori*阳性患者中50%胃癌组织表达MUC1黏蛋白, 33.33%胃癌前组织表达MUC1黏蛋白, *H. pylori*阴性患者中, 80%患者胃癌组织表达MUC1黏蛋白, 68.8%胃癌前组织表达MUC1黏蛋白, 提示与*H. pylori*阴性胃病变组织相比, MUC1黏蛋白在*H. pylori*阳性胃癌前病变和胃癌组织的表达率显著下降。本研究通过免疫组织化学方法检测了青岛地区慢性胃炎组、肠上皮化生组、胃癌组患者中*H. pylori*(+)组和*H. pylori*(-)组MUC1黏蛋白的表达阳性率, 结果显示各组中*H. pylori*(+)患者胃黏膜MUC1黏蛋白的阳性表达率较*H. pylori*(-)患者下降, 与以上文献报道一致。

MUC2黏蛋白是一种凝胶形成型黏蛋白, 是形成结肠黏液层的主要黏蛋白, 正常胃黏膜不表达^[9,10]。1999年Reis等^[24]通过免疫组织化学方法检测了胃黏膜肠化生组织MUC2黏蛋白的表达情况, 结果显示在不完全肠化或肠化组织中都有MUC2黏蛋白的表达, 而且几乎都表达于杯状细胞内。2006年Barresi等^[13]使用免疫组织化学方法检测MUC2黏蛋白在胃癌组织中的表达阳性率, 结果显示37例胃癌组织中其阳性表达率为48.65%。本研究发现MUC2黏蛋白全部在肠上皮化生胃黏膜中杯状细胞中表达, 在慢性浅表性胃炎胃黏膜中不表达, 而在胃癌组织中的表达阳性率为31.25%, 表明MUC2黏蛋白和胃癌的发展相关。MUC2黏蛋白在不同组织类型胃癌组织中的阳性表达率有显著差异, 中高分化腺癌阳性率高于低分化腺癌、印戒细胞癌、黏液腺癌, 并且在黏液腺癌中呈高表达, 推断MUC2黏蛋白可能与胃癌的组织学分型、预后及肿瘤的进展相关, 本研究为新的胃黏膜癌变发展监测及临床预后新指标的研究提供了理论基础^[25,26]。2008年Kazuyuki Matsuda等^[27]使用实时逆转录聚合酶链反应(Real-time reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)检测了*H. pylori*感染对不同胃癌细胞系MUC2黏蛋白mRNA水平的影响, 结果显示*H. pylori*感染诱导或不改变胃癌细胞MUC2黏蛋白mRNA的表达。2013年Michaël Perrais等^[28]使用细胞感染的体外模型研究了*H. pylori*尿素酶、鞭毛蛋白及毒力因子CagA对MUC2基因调控的影响, 结果显示胃癌

细胞*H. pylori*的感染可以改变MUC2基因的转录. 本研究发现慢性胃炎组、肠上皮化生组、胃癌组中*H. pylori*(+)患者胃黏膜MUC2黏蛋白的阳性表达率较*H. pylori*(-)患者相比, 无明显规律性, 因此*H. pylori*感染与胃黏膜中MUC2黏蛋白表达的关系需要研究进一步的证实.

4 参考文献

- Hattrup CL, Gendler SJ. Structure and function of the cell surface (tethered) mucins. *Annu Rev Physiol* 2008; 70: 431-457 [PMID: 17850209]
- Bafna S, Kaur S, Batra SK. Membrane-bound mucins: the mechanistic basis for alterations in the growth and survival of cancer cells. *Oncogene* 2010; 29: 2893-2904 [PMID: 20348949 DOI: 10.1038/onc.2010.87]
- Kim YS, Gum J, Brockhausen I. Mucin glycoproteins in neoplasia. *Glycoconj J* 1996; 13: 693-707 [PMID: 8909996]
- Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 10-29 [PMID: 22237781 DOI: 10.3322/caac.20138]
- Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. an attempt at a histo-clinical classification. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1965; 64: 31-49 [PMID: 14320675]
- Chiba T, Marusawa H, Seno H, Watanabe N. Mechanism for gastric cancer development by *Helicobacter pylori* infection. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 1175-1181 [PMID: 18637055 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05472.x.]
- De Bolós C, Garrido M, Real FX. MUC6 apomucin shows a distinct normal tissue distribution that correlates with Lewis antigen expression in the human stomach. *Gastroenterology* 1995; 109: 723-734 [PMID: 7657100]
- Reis CA, David L, Nielsen P. Immunohistochemical study of MUC5AC expression in human gastric carcinomas using a novel monoclonal antibody. *Int J Cancer* 1997; 74: 112-121
- Piafsky KM, Borgá O, Odar-Cederlöf I, Johansson C, Sjöqvist F. Increased plasma protein binding of propranolol and chlorpromazine mediated by disease-induced elevations of plasma alpha1 acid glycoprotein. *N Engl J Med* 1978; 299: 1435-1439 [PMID: 82206]
- Ho SB, Niehans GA, Lyftogt C, Yan PS, Cherwitz DL, Gum ET, Dahiya R, Kim YS. Heterogeneity of mucin gene expression in normal and neoplastic tissues. *Cancer Res* 1993; 53: 641-651 [PMID: 7678777]
- McGuckin MA, Lindén SK, Sutton P, Florin TH. Mucin dynamics and enteric pathogens. *Nat Rev Microbiol* 2011; 9: 265-278 [PMID: 21407243 DOI: 10.1038/nrm]
- 邓敏,靖大道.胃黏蛋白在抗幽门螺杆菌感染中的作用. 世界华人消化杂志 2010; 18: 798-802
- Barresi V, Vitarelli E, Grosso M, Tuccari G, Barresi G. Relationship between immunoexpression of mucin peptide cores MUC1 and MUC2 and Lauren's histologic subtypes of gastric carcinomas. *Eur J Histochem* 2006; 50: 301-309 [PMID: 17213039]
- Lindén SK, Sheng YH, Every AL, Miles KM, Skoog EC, Florin TH, Sutton P, McGuckin MA. MUC1 Limits *Helicobacter pylori* infection both by steric hindrance and by acting as a releasable decoy. *PLoS Pathog* 2009; 5: e1000617 [PMID: 19816567 DOI: 10.1371/journal.ppat.1000617]
- Snyder LM, Liu SC, Palek J, Bulat P, Edelstein L, Srivastava SK, Fortier NL. Partition of catalase and its peroxidase activities in human red cell membrane: effect of ATP depletion. *Biochim Biophys Acta* 1977; 470: 290-302 [PMID: 20953 DOI: 10.1007/s10238-010-0113-6]
- Morgenstern S, Koren R, Moss SF, Fraser G, Okon E, Niv Y. Does *Helicobacter pylori* affect gastric mucin expression? Relationship between gastric antral mucin expression and *H. pylori* colonization. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001; 13: 19-23 [PMID: 11204804]
- Orth DN. Metyrapone is useful only as adjunctive therapy in Cushing's disease. *Ann Intern Med* 1978; 89: 128-130 [PMID: 208445]
- Byrd JC, Yunker CK, Xu QS, Sternberg LR, Bresalier RS. Inhibition of gastric mucin synthesis by *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology* 2000; 118: 1072-1079 [PMID: 10833482]
- Palli D. Epidemiology of gastric cancer: an evaluation of available evidence. *J Gastroenterol* 2000; 35 Suppl 12: 84-89 [PMID: 10779225]
- Radziejewska I, Borzym-Kluczyk M, Kisiel DG, Namiot Z, Gindzieński A. The influence of *Helicobacter pylori* patients' treatment on MUC 1 content in gastric juice. *Hepatogastroenterology* 2008; 55: 1887-1889 [PMID: 19102415]
- McGuckin MA, Every AL, Skene CD, Linden SK, Chionh YT, Swierczak A, McAuley J, Harbour S, Kaparakis M, Ferrero R, Sutton P. Muc1 mucin limits both *Helicobacter pylori* colonization of the murine gastric mucosa and associated gastritis. *Gastroenterology* 2007; 133: 1210-1218 [PMID: 17919495]
- Guang W, Ding H, Czinn SJ, Kim KC, Blanchard TG, Lillehoj EP. Muc1 cell surface mucin attenuates epithelial inflammation in response to a common mucosal pathogen. *J Biol Chem* 2010; 285: 20547-20557 [PMID: 20430889 DOI: 10.1074/jbc.M110.121319]
- Vinall LE, King M, Novelli M, Green CA, Daniels G, Hilkens J, Sarner M, Swallow DM. Altered expression and allelic association of the hypervariable membrane mucin MUC1 in *Helicobacter pylori* gastritis. *Gastroenterology* 2002; 123: 41-49 [PMID: 12105832]
- Wang RQ, Fang DC. Effects of *Helicobacter pylori* infection on mucin expression in gastric carcinoma and pericancerous tissues. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 425-431 [PMID: 16509869]
- Reis CA, David L, Correa P, Carneiro F, de Bolós C, Garcia E, Mandel U, Clausen H, Sobrinho-Simões M. Intestinal metaplasia of human stomach displays distinct patterns of mucin (MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6) expression. *Cancer Res* 1999; 59: 1003-1007 [PMID: 10070955]
- Babu SD, Jayanthi V, Devaraj N, Reis CA, Devaraj H. Expression profile of mucins (MUC2, MUC5AC and MUC6) in *Helicobacter pylori* infected preneoplastic and neoplastic human gastric epithelium. *Molecular Cancer* 2006; 5: 10 [PMID: 16545139]
- İlhan Ö, Han Ü, Önal B, Çelik SY. Prognostic significance of MUC1, MUC2 and MUC5AC expressions in gastric carcinoma. *Turk J Gastroenterol* 2010; 21:

同行评价

本文内容充实, 具有一定意义.

- 345-352 [PMID: 21331986]
- 28 Matsuda K, Yamauchi K, Matsumoto T, Sano K, Yamaoka Y, Ota H. Quantitative analysis of the effect of *Helicobacter pylori* on the expressions of SOX2, CDX2, MUC2, MUC5AC, MUC6, TFF1, TFF2, and TFF3 mRNAs in human gastric carcinoma cells. *Scand J Gastroenterol* 2008; 43: 25-33 [PMID: 18938748]
- 29 Perrais M, Rousseaux C, Ducourouble MP, Courcol R, Vincent P, Jonckheere N, Van Seuning I. *Helicobacter pylori* urease and flagellin alter mucin gene expression in human gastric cancer cells. *Gastric Cancer* 2013 May 24. [Epub ahead of print] [PMID: 23703470]

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)。

老年早期胃癌内镜综合治疗的效果及长期随访

陈孝, 张子其, 王志强, 刘婧, 付永和, 张钰, 周庆

陈孝, 张子其, 王志强, 刘婧, 付永和, 张钰, 周庆, 中国人民解放军总医院南楼消化内镜诊疗科 北京市 100853

陈孝, 副主任医师, 主要从事消化系统疾病的内镜诊断和治疗。

军队“十一·五”卫生科研面上基金资助项目, No. 07A0703
作者贡献分布: 陈孝、张子其及王志强对此文所作贡献均等;
此课题由陈孝、张子其及王志强设计; 临床诊断治疗过程由陈孝、张子其、王志强及刘婧完成; 付永和、张钰及周庆主要承担技师工作; 数据统计与分析由陈孝完成; 本论文写作由陈孝完成。

通讯作者: 陈孝, 副主任医师, 100853, 北京市复兴路28号, 中国解放军总医院南楼消化内镜诊疗科。chenxiao301@sina.com

收稿日期: 2013-05-10 修回日期: 2013-08-27

接受日期: 2013-09-09 在线出版日期: 2013-10-18

Endoscopic treatment of early gastric cancer in the elderly patients and the outcomes during long-term follow-up

Xiao Chen, Zi-Qi Zhang, Zhi-Qiang Wang, Jing Liu, Yong-He Fu, Yu Zhang, Qing Zhou

Xiao Chen, Zi-Qi Zhang, Zhi-Qiang Wang, Jing Liu, Yong-He Fu, Yu Zhang, Qing Zhou, Geriatric Endoscopic center, Nanlou division, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Supported by: the General Program of the “Eleventh Five-year” Military Health Found, No. 07A0703

Correspondence to: Xiao Chen, Associated Chief Physician, Geriatric Endoscopic Center, Nanlou division, Chinese PLA General Hospital, 28 Fuxing Road, Beijing 100853, China. chenxiao301@sina.com

Received: 2013-05-10 Revised: 2013-08-27

Accepted: 2013-09-09 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To evaluate the effectiveness and safety of endoscopic methods for the treatment of early gastric cancer.

METHODS: A total of 45 consecutive patients with early gastric carcinomas (50 lesions) underwent endoscopic treatments in the department of geriatric endoscopy in General Hospital of PLA from April 1992 to Dec 2011. 44 patients were followed up (median, 48.53 mo±44.96 mo). The endoscopic therapeutic methods included endoscopic mucosa resection (EMR), endoscopic submucosa dissection (ESD), argon plasma coagulation (APC), photodynamic therapy (PDT), laser irradiation, electrocoagulation, submucosa

injection with chemical.

RESULTS: The early gastric carcinoma lesion underwent endoscopy treatment with a mean of 1.98 sorts of methods and a mean of 3.08 times treatments. 32 lesions obtained radical cure by endoscopy treatment. There were 16 patients without effects of radical cure, 7 underwent an additional operation, 4 died of gastric remnant carcinoma, 5 died of causes other than gastric cancer. The 3-year survival rate was 94.44%, and the 5-year and 10-year rate were 78.70% all. There were no serious complications of endoscopy treatment such as bleeding and perforation.

CONCLUSION: Early gastric carcinoma can affect a radical cure by endoscopic methods treatment, which includes not only endoscopy mucosa resection, but also APC, PDT, laser irradiation and electrocoagulation. But the early gastric cancer in gastric remnant carcinoma or with low tissue differentiation is not suit for endoscopy treatment.

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

Key Words: Early gastric carcinoma; Endoscopy treatment; Indications; Long-term follow-up; Geriatric

Chen X, Zhang ZQ, Wang ZQ, Liu J, Fu YH, Zhang Y, Zhou Q. Endoscopic treatment of early gastric cancer in the elderly patients and the outcomes during long-term follow-up. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3119-3123 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3119.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3119>

摘要

目的: 了解早期胃癌内镜下综合治疗方案的选择及其长期效果。

方法: 回顾性分析1992-4/2011-12由我科诊断并进行内镜治疗的早期胃癌45病例的临床资料及其长期随访结果。

结果: 45例患者的癌灶50个进行了内镜治疗。

■背景资料

近年来早期胃癌内镜治疗的方法获得重大突破, 疗效也获得显著提升, 为胃癌治疗提供了丰富的选择。老年胃癌患者在合并多种疾患时无法外科手术, 内镜微创治疗经常作为首要治疗方案为祛除疾患、延长生命提供了重要保障。

■同行评议者

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

■研究前沿

早期胃癌内镜治疗适应症的掌握和治疗方法的合理选择仍面临许多亟待解决的问题,有待进一步深入研究、优化。

45例患者共进行治疗156次或疗程。每个病灶的接受治疗方法平均为1.98种 \pm 1.21种(1-5种),治疗次数平均为3.08次 \pm 3.04次(1-14次)。除1例在内镜治疗后失访外,其余均接受了胃镜定期复查随访,随访率为97.78%,平均随访时间为48.53 mo \pm 44.96 mo(3-190 mo)。经内镜治疗后,32个病灶胃镜检查并经活组织病理证实已彻底清除,病灶原位清除率为64.0%。接受随访的44例患者内镜治愈28例;癌组织残留16例:其中死于胃癌4例(均为残胃癌、均治疗7疗程、平均生存时间为42.33 mo),补充手术7例,死于其他疾病5例。经内镜治疗后,早期胃癌患者3年生存率为94.44%,5年和10年生存率均为78.70%。所有患者均耐受了内镜下胃癌的治疗,无一例发生消化系出血、穿孔等严重并发症。

结论:早期胃癌内镜下治疗可以完全达到根治性效果,但残胃癌和低分化或者病损范围较大的早期胃癌不适合进行内镜下治疗。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词:早期胃癌;内镜治疗;适应症;长期随访;老年人

核心提示:病例选择是早期胃癌内镜治疗成功与否的关键,治疗方法的选择对早期胃癌治疗效果有重要影响,围手术期的细致处理可以减少内镜治疗并发症。

陈孝, 张子其, 王志强, 刘婧, 付永和, 张钰, 周庆. 老年早期胃癌内镜综合治疗的效果及长期随访. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3119-3123 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3119>. asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3119>

0 引言

胃癌是危害人们身体健康的重要恶性肿瘤之一,其治疗手段首选手术切除^[1]。早期胃癌具有可完全治愈性,部分患者由于自身原因无法或拒绝接受手术治疗,从而丧失根治机会,造成不可估量的损失^[1,2]。随着内镜设备和操作技术的发展,早期胃癌经内镜微创治疗获得根治得以实现^[3-5]。我科从1992年始开展了早期胃癌的内镜下治疗,取得了良好的效果。现总结报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 1992-04/2011-12在我科就诊并检出的早期胃癌患者。纳入本研究条件是: (1)经两位副主任医师以上依据胃镜表现和其他检查方法

(如上消化道气钡双重造影、CT扫描、超声内镜等)及各项临床资料确诊为早期胃癌者; (2)患者主动要求进行内镜下局部治疗,且签订“胃癌内镜治疗知情同意书”; (3)病情和治疗方案同时上报医院专业领导和患者所属单位,经审查后同意者。符合上述条件共计45例,男44例,女1例,平均年龄为72.81岁 \pm 7.97岁(65-92岁)。病理诊断由两位高年资主治医师资质以上人员复核确诊。胃癌内镜治疗方案由两位具有副主任医师以上职称的内镜医师依据病情确定。仪器与材料:电子胃镜XQ-200、XQ-240、XQ-260、H-260和Olympus PSD-2E高频电发生器为Olympus光学株式会社制造。氩离子治疗仪APC 300型为德国爱尔博电子医疗器械公司制造。内镜配件如:电凝管、圈套器由Olympus制造;IEAU-3型金蒸气激光治疗仪和脉冲Nd:YAG激光治疗机为国产;血卟啉单甲醚由第二军医大学研制。

1.2 方法

1.2.1 内镜治疗:本研究所采用的内镜治疗方法共计10种,包括:电切、透明帽辅助黏膜切除术(Cap-assisted endoscopic mucosa resection, CAPEMR)、黏膜切除术(endoscopic mucosa resection, EMR)、黏膜下剥离术(endoscopic submucous dissection, ESD)、光动力疗法(photodynamic therapy, PDT)、高频电电凝、金蒸气激光烧灼、氩气刀电凝(argon plasma coagulation, APC)、黏膜下注射治疗(注射化疗药物或生物制剂)、活检钳钳除。

1.2.2 治疗方案的选择原则:以镜下形态为主要依据选择内镜治疗方案,同时兼顾组织学类型,力争做到治疗方案的个性化^[6]。I型早期胃癌选择电切或EMR为主;IIa型以电切、EMR或CAPEMR为主,IIb型EMR或CAPEMR为主,辅以电凝、APC或PDT等方法;IIc型以EMR、激光、PDT为主,辅以电凝、注射化疗;III型以激光、PDT、电凝为主,辅以注射化疗。治疗间隔时间和治疗次数依据病灶大小、浸润深度、治疗效果、治疗反应以及患者的耐受程度确定。

1.2.3 内镜治疗后处理方案:依据内镜治疗的创伤情况决定禁食程度、卧床静养时间,酌情使用质子泵抑制剂口服或静脉滴注、补液。

1.2.4 治愈标准:(1)内镜切除活组织标本经病理切片证实癌灶已完全切除;(2)内镜治疗后胃镜复查并进行活组织检查至少两次,均未发现癌

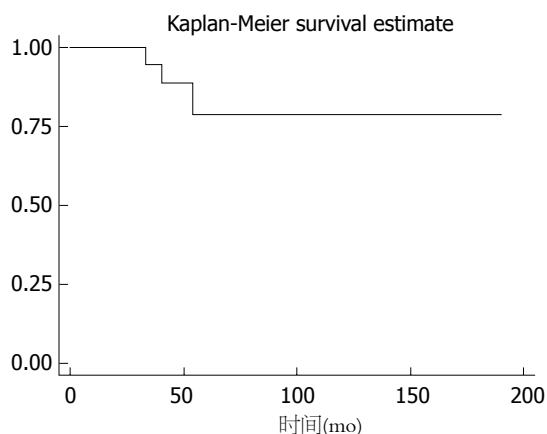


图1 44例早期胃癌内镜治疗后生存分析。

组织残留或中重度异型增生者。满足以上条件之一者视为病灶完全清除。

统计学处理 统计使用STATA10.0软件完成, 生存分析采用Kaplan-Meier生存分析法。

2 结果

2.1 早期胃癌患者的一般情况和病灶状况 45例早期胃癌患者, 无症状27病例, 上腹痛6例、上腹部不适8例、消化系失血(黑便)3例、吞咽不畅1例。

45例患者的癌灶50个, 分布为: 贲门14个、残胃8个、胃体10个、胃角5个、胃窦10个、胃底3个。癌组织分化程度: 低分化6个、中分化3个、高分化41个。病灶胃镜下形态: I型6个、IIa型4个、IIb型12个、IIc型24个、III型4个。病灶大小: <0.5 cm 24个、0.5-1.0 cm 10个、1.0-2.0 cm 8个、>2.0 cm 8个。

2.2 早期胃癌的内镜治疗方案 45例患者共进行治疗156次或疗程。每个病灶的接受治疗方法种类平均为1.98种 \pm 1.21种(1-5种), 治疗次数平均为3.08次 \pm 3.04次(1-14次)。治疗方法的种类和次数分别为: 透明帽辅助黏膜切除术12例次, 黏膜切除术24例次, 黏膜下剥离术4例次, 电切18例次, 高频电凝21例次, PDT 10例次, APC 21例次, 激光3例次, 注射化疗41例次, 活检2例次。其中只进行了1次治疗即获得根治性效果的有病灶27个, 2次治疗者有14个病灶, 3次治疗者3个病灶, 4次治疗者3个病灶, 5次治疗者2个病灶, 6次治疗者2个病灶, 7次治疗者5个病灶, 9次治疗者1个病灶, 14次治疗者1个病灶。

2.3 早期胃癌的内镜治疗效果及随访 45例早期胃癌患者, 除1例在内镜治疗后失访外, 其余均接受了胃镜定期复查随访, 随访率为97.78%, 平

均随访时间为48.53 mo \pm 44.96 mo(3-190 mo)。经内镜治疗后, 32个病灶胃镜检查并经活组织病理证实已彻底清除, 病灶原位清除率为64.0%。随访44例经内镜治愈28例(随访期间死于其他疾病8例); 癌组织残留16例: 其中死于胃癌4例(均为残胃癌、均治疗7疗程、平均生存时间为42.33 mo), 补充手术7例, 死于其他疾病5例。病灶经1种方法1次治疗即达到治愈者24例: CAPEMR 3例, EMR 5例, ESD 4例, 电切1例, 高频电2例, PDT 3例, APC 3例, 活检2例, 激光1例。经内镜治疗后, 早期胃癌患者3年生存率为94.44%(95%可信区间为66.64%-99.20%), 5年和10年生存率均为78.70%(95%可信区间为45.33%-93.01%)(图1)。

所有患者均耐受了内镜下胃癌的治疗, 部分患者在内镜治疗后出现了轻微腹痛、烧心、心悸等症状, 在对症处理后均在3 d内完全缓解, 无一例发生消化系出血、穿孔等严重并发症。

3 讨论

胃癌是危害我国人们身体健康甚至生命的重要原因。胃癌的治疗仍以手术切除为首选, 这是获得根治性治疗的最佳方式。但临床上也存在一些特殊情况, 比如: 合并多器官严重疾病而无法耐受大手术者; 对手术恐惧而拒绝手术者, 即使早期诊断了胃癌, 仍无法获得彻底治疗。对这部分患者应该采取何种合理的处置是值得临床医师思考的问题^[7-9]。

治疗内镜技术是在内镜学发展到了一定程度基础上逐渐形成并完善的。治疗内镜为胃癌的微创治疗带来了革新, 也为早期胃癌的根治性治疗带来了更完备的选择^[10]。EMR^[11,3,11,12]是早期胃癌进行内镜下根治性微创治疗的主要方法, 文献报道其成功率可达76%-100%, 无癌存活率最高可达99%。目前, EMR已被广泛应用于早期胃癌的镜下治疗。但EMR的最主要适应症是: 高分化型早期胃癌, 且直径<2 cm的隆起型病变或<1 cm的凹陷型病变^[3], 而对病变范围较大或者是凹陷型早期胃癌处理上则需要操作技术更高的ESD^[3,13]来完成, 但即使如此, ESD带来更多根治性治疗的同时, 并发症的发生更多了, 而且依然有部分病例无法获得根治性治疗效果^[14-18]。非切除类方法如激光、光动力疗法、高频电、APC等可适用于病变范围更大的早期胃癌, 而且不良反应低、方法更简洁方便^[19-23]。目前, 各种内镜下早期胃癌治疗方法的综合运用基本可

■相关报道

日本在早期胃癌的内镜诊断治疗上一直处于学界领先。针对各种内镜治疗方法在早期胃癌治疗的运用面临的优势和缺陷都有详实的论述, 有重要的指导价值。

■创新盘点

本文所累积的临床病例时间跨度长、病例种类丰富、治疗方法多种多样,几乎涵盖了目前所有的早期胃癌内镜治疗方法,因此获得的结论可靠,对临床运用具有确切的指导价值。

以治愈所有类型和范围的早期胃癌。本研究对45例早期胃癌进行内镜下综合性治疗,获得了3、5、10年存活率分别为94.44%、78.70%、78.70%的效果。若除去本组中对生存统计有较大影响的5例残胃癌患者,则本组早期胃癌经内镜治疗后的5年、10年存活率高达100%,无1例早期胃癌患者在内镜治疗后死于胃癌。

治疗方法的选择对早期胃癌治疗效果有重要影响。原则上隆起性或平坦性病变应首选黏膜切除类方法,而凹陷性病变则需根据病变部位、大小、组织学形态等进行综合判定以选择最适合方法^[1,2,10]。本组使用的治疗方法中,黏膜切除类共计达到了28例次,其中首选为15个病灶,单一方法达到根治性效果6个病灶;使用非黏膜切除类方法共达63例次,其中20个病灶首选,单一方法即可获得根治性效果7个,两者之间无显著差异;在多种内镜治疗方法综合运用的19个早期胃癌病灶中,9个获得根治性效果,可见只要针对病人进行个性化方案设计,这两类治疗方法均可以完全获得根治性效果。本组在治疗方法的选择上:首选烧灼类超过了黏膜切除类可能的原因有:(1)不同年代内镜治疗方法的成熟度不一。本组病例时间跨度长。早先时,黏膜切除类方法在临床上使用不成熟,故很少使用;(2)受制于治疗时间的控制。本组均为老年患者,大部分病例合并有多器官疾病,无法耐受长时间操作。在治疗方法选择上倾向于选择操作简便、快捷的手段;(3)病灶的形态。本组病例平坦型和凹陷型病例明显多于隆起型病例(56.76% vs 43.24%)。本组还另有2例“一点癌”,在活检时即被完全钳除,可见活检不仅是诊断手段,而且对早期病灶尤其是微小病灶的毁损作用还是相当明显的。局部注射药物的方法则完全为辅助性治疗,难以达到根治性作用。本组9个病灶在进行黏膜切除类或非黏膜切除类内镜治疗的基础上,进行了注射化疗药物或者生物制剂治疗,只有1个病灶在获得根治性效果时最后一次治疗措施是注射生物制剂,进一步验证了这个观点。

病例选择是早期胃癌内镜治疗成功与否的关键。一般认为范围超过2 cm的凹陷性或病理为低分化腺癌的早期胃癌不适合内镜下治疗^[6]。本组结果进一步支持了这种论点。本组5例低分化腺癌,经内镜治疗后均未达到根治性效果^[24,25],2例为残胃癌,治疗无效死亡;1例治疗期间死于白血病,2例治疗无效后追加手术治疗。本组4例

内镜下病变大小超过2 cm的早期胃癌,内镜获得根治性效果2例,1例(残胃癌)无效死亡,1例无效追加手术治疗,术后病理显示病变范围为10 cm × 5.8 cm,累及黏膜肌层。另外,本组中的5例残胃癌只2例获得根治,3例无效死亡,表明残胃癌即使为早期也不适合进行内镜下治疗。分析其原因为:残胃癌的发病机制与胃癌不同^[26],病理性质更加趋向于低分化(本组为2例),易早期转移;残胃胃腔狭小,病变不易充分暴露且内镜操作空间有限,内镜治疗不易原位切净。内镜治疗效果欠佳而需补充手术治疗的5例患者,其镜下表现均为凹陷性病变(平坦凹陷型3例、凹陷型2例)。

早期胃癌的内镜治疗还必须考虑手术并发症问题。黏膜切除类方法的并发症是所有内镜下治疗方法中发生率最高的,可达到4%-28%,最常见的是消化道出血和穿孔。本组所进行的总计156例次内镜下早期胃癌治疗术,无1例严重并发症的发生,我们的体会是:(1)合理确定治疗时机,术前充分准备;(2)增强爱伤观念,操作轻柔,避免不必要的动作和减少对消化系内壁的直接刺激;(3)加强医患沟通,坚持术后随访,及时处理术后情况;(4)严格围治疗期管理,保证患者在治疗后有足够的休息时间和获得充分的药物治疗。

总之,内镜综合治疗是早期胃癌获得根治性疗效的有效手段,通过选择合适的病例和适当的治疗方法,完全可以得到与手术相媲美的疗效,而且手术创伤小、并发症少,值得推广。

4 参考文献

- 1 Ono H. Early gastric cancer: diagnosis, pathology, treatment techniques and treatment outcomes. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2006; 18: 863-866 [PMID: 16825902]
- 2 Reshamwala PA, Darwin PE. Endoscopic management of early gastric cancer. *Curr Opin Gastroenterol* 2006; 22: 541-545 [PMID: 16891887]
- 3 Gotoda T, Jung HY. Endoscopic resection (endoscopic mucosal resection/ endoscopic submucosal dissection) for early gastric cancer. *Dig Endosc* 2013; 25 Suppl 1: 55-63 [PMID: 23362925 DOI: 10.1111/den.12003]
- 4 Baptista V, Singh A, Wassef W. Early gastric cancer: an update on endoscopic management. *Curr Opin Gastroenterol* 2012; 28: 629-635 [PMID: 22954691 DOI: 10.1097/MOG.0b013e328358e5b5]
- 5 Yasuda K. Early gastric cancer: diagnosis, treatment techniques and outcomes. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2006; 18: 839-845 [PMID: 16825899]
- 6 Yamamoto H, Kita H. Endoscopic therapy of early gastric cancer. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2005; 19: 909-926 [PMID: 16338649]

- 7 Matsushita I, Hanai H, Kajimura M, Tamakoshi K, Nakajima T, Matsubayashi Y, Kanek E. Should gastric cancer patients more than 80 years of age undergo surgery? Comparison with patients not treated surgically concerning prognosis and quality of life. *J Clin Gastroenterol* 2002; 35: 29-34 [PMID: 12080223]
- 8 Etoh T, Katai H, Fukagawa T, Sano T, Oda I, Gotoda T, Yoshimura K, Sasako M. Treatment of early gastric cancer in the elderly patient: results of EMR and gastrectomy at a national referral center in Japan. *Gastrointest Endosc* 2005; 62: 868-871 [PMID: 16301028]
- 9 Kusano C, Iwasaki M, Kaltenbach T, Conlin A, Oda I, Gotoda T. Should elderly patients undergo additional surgery after non-curative endoscopic resection for early gastric cancer? Long-term comparative outcomes. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 1064-1069 [PMID: 21407189 DOI: 10.1038/ajg.2011.49]
- 10 Wassef W, Rullan R. Interventional endoscopy. *Curr Opin Gastroenterol* 2005; 21: 644-652 [PMID: 16220039]
- 11 Crumley AB, Going JJ, McEwan K, McKernan M, Abela JE, Shearer CJ, Stanley AJ, Stuart RC. Endoscopic mucosal resection for gastroesophageal cancer in a U.K. population. Long-term follow-up of a consecutive series. *Surg Endosc* 2011; 25: 543-548 [PMID: 20623237 DOI: 10.1007/s00464-010-1213-1219]
- 12 Youn JC, Youn YH, Kim TI, Park SW, Lee SJ, Song SY, Chung JB, Lee YC, Youn JC, Youn YH. Factors affecting long-term clinical outcomes of endoscopic mucosal resection of early gastric cancer. *Hepatogastroenterology* 2006; 53: 643-647 [PMID: 16995480]
- 13 Lian J, Chen S, Zhang Y, Qiu F. A meta-analysis of endoscopic submucosal dissection and EMR for early gastric cancer. *Gastrointest Endosc* 2012; 76: 763-770 [PMID: 22884100 DOI: 10.1016/j.gie.2012.06.014]
- 14 Isomoto H, Ohnita K, Yamaguchi N, Fukuda E, Ikeda K, Nishiyama H, Akiyama M, Ozawa E, Nakao K, Kohno S, Shikuwa S. Clinical outcomes of endoscopic submucosal dissection in elderly patients with early gastric cancer. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2010; 22: 311-317 [PMID: 19494784 DOI: 10.1097/MEG.0b013e32832c61d7]
- 15 Oda I, Suzuki H, Nonaka S, Yoshinaga S. Complications of gastric endoscopic submucosal dissection. *Dig Endosc* 2013; 25 Suppl 1: 71-78 [PMID: 23368986 DOI: 10.1111/j.1443-1661.2012.01376.x]
- 16 Suzuki H, Oda I, Nonaka S, Yoshinaga S, Saito Y. Is endoscopic submucosal dissection an effective treatment for operable patients with clinical submucosal invasive early gastric cancer? *Endoscopy* 2013; 45: 93-97 [PMID: 23307150 DOI: 10.1055/s-0032-1325929]
- 17 Kim M, Jeon SW, Cho KB, Park KS, Kim ES, Park CK, Seo HE, Chung YJ, Kwon JG, Jung JT, Kim EY, Jang BI, Lee SH, Kim KO, Yang CH. Predictive risk factors of perforation in gastric endoscopic submucosal dissection for early gastric cancer: a large, multicenter study. *Surg Endosc* 2013; 27: 1372-1378 [PMID: 23239296 DOI: 10.1007/s00464-012-2618-4]
- 18 Yanai H, Matsubara Y, Kawano T, Okamoto T, Hirano A, Nakamura Y, Nakamura H, Nishikawa J, Okita K. Clinical impact of strip biopsy for early gastric cancer. *Gastrointest Endosc* 2004; 60: 771-777 [PMID: 15557953]
- 19 Murakami M, Nishino K, Inoue A, Takaoka Y, Iwamasa K, Murakami B, Tanabe S. Argon plasma coagulation for the treatment of early gastric cancer. *Hepatogastroenterology* 2004; 51: 1658-1661 [PMID: 15532798]
- 20 Tomita T, Arai E, Kohno T, Kondo T, Kim Y, Oshima T, Hori K, Watari J, Matsumoto T, Miwa H. Outcomes of treatment of argon plasma coagulation therapy in elderly or high-risk patients with early gastric cancer: a comparison of outcomes among experienced and nonexperienced endoscopists. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45: e54-e59 [PMID: 20838235 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181ef3612]
- 21 Malick KJ. Clinical applications of argon plasma coagulation in endoscopy. *Gastroenterol Nurs* 2006; 29: 386-391; quiz 392-393 [PMID: 17038840]
- 22 Wolfsen HC. Uses of photodynamic therapy in premalignant and malignant lesions of the gastrointestinal tract beyond the esophagus. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39: 653-664 [PMID: 16082272]
- 23 Gossner L, Ell C. Photodynamic therapy of gastric cancer. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 2000; 10: 461-480 [PMID: 10899257]
- 24 Abe N, Watanabe T, Sugiyama M, Yanagida O, Masaki T, Mori T, Atomi Y. Endoscopic treatment or surgery for undifferentiated early gastric cancer? *Am J Surg* 2004; 188: 181-184 [PMID: 15249247]
- 25 Nagano H, Ohyama S, Fukunaga T, Seto Y, Fujisaki J, Yamaguchi T, Yamamoto N, Kato Y, Yamaguchi A. Indications for gastrectomy after incomplete EMR for early gastric cancer. *Gastric Cancer* 2005; 8: 149-154 [PMID: 16086117]
- 26 Johannesson KA, Hammar E, Staël von Holstein C. Mucosal changes in the gastric remnant: long-term effects of bile reflux diversion and Helicobacter pylori infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15: 35-40 [PMID: 12544692]

同行评价

本文回顾性分析了单中心20年早期胃癌内镜治疗并进行性了长期随访, 资料详实, 有一定的新颖性。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



外周血CD4⁺CD25⁺Treg细胞与HBV携带者的相关性分析: Meta分析

潘宗琴, 吕红, 胡世芸, 陈宇, 庄勤建, 徐林, 姚新生, 肖政, 邱隆敏

■背景资料

乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 感染呈世界性流行, 感染HBV后转归及预后影响因素多样。CD4⁺CD25⁺Tregs细胞发挥的免疫调节作用可能对HBV携带者预后及转归产生影响。

潘宗琴, 吕红, 胡世芸, 陈宇, 庄勤建, 邱隆敏, 遵义医学院附属医院感染科 贵州省遵义市 563000

徐林, 姚新生, 遵义医学院免疫学教研室 贵州省遵义市 563000

肖政, 遵义医学院循证医学中心(循证医学教育部网上合作研究中心遵义医学院分中心) 贵州省遵义市 563000

潘宗琴, 在读研究生, 主要从事慢性乙型肝炎免疫学发病机制的研究。

贵州省优秀科技教育人才省长专项基金资助项目, No. 黔省专合字(2008)111号

贵州省社会发展公关项目资助, No. 黔科合SY[2010]3049号。

作者贡献分布: 本课题由潘宗琴、肖政及邱隆敏策划设计; 潘宗琴与吕红负责文献检索、筛选及评价资料; 本论文写作由潘宗琴完成; 姚新生与徐林负责审核; 胡世芸、陈宇及庄勤建共同协助发表。

通讯作者: 邱隆敏, 教授, 563000, 贵州省遵义市大连路145号, 遵义医学院附属医院感染科。qiuml128@163.com

电话: 0852-8609805

收稿日期: 2013-07-20 修回日期: 2013-08-25

接受日期: 2013-09-06 在线出版日期: 2013-10-18

Correlation between peripheral blood CD4⁺CD25⁺ Treg cells and disease progression and prognosis in HBV carriers: A Meta-analysis

Zong-Qin Pan, Hong Lv, Shi-Yun Hu, Yu Chen, Qin-Jian Zhuang, Lin Xu, Xin-Sheng Yao, Zheng Xiao, Long-Min Qiu

Zong-Qin Pan, Hong Lv, Shi-Yun Hu, Yu Chen, Qin-Jian Zhuang, Long-Min Qiu, Department of Infectious Diseases, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China

Lin Xu, Xin-Sheng Yao, Department of Immunology, Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China

Zheng Xiao, Evidence-Based Medicine Center, Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China

Supported by: the Program for New Century Excellent Talents in University, No. (2008)111; and the Social Development Foundation of Guizhou Province, No. Qiankehe SY[2010]3049

Correspondence to: Long-Min Qiu, Professor, Department of Infectious Diseases, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, 145 Dalian Road, Zunyi 563000, Guizhou Province, China. qiuml128@163.com

Received: 2013-07-20 Revised: 2013-08-25

Accepted: 2013-09-06 Published online: 2013-10-18

■同行评议者

周陶友, 副教授, 四川大学华西医院感染性疾病中心

Abstract

AIM: To reveal the relationship between peripheral

blood CD4⁺CD25⁺ Treg cells and disease progression and prognosis in HBV carriers by investigating the distribution characteristics of peripheral blood CD4⁺CD25⁺ Tregs in HBV carriers and other patients with HBV infection.

METHODS: Two reviewers independently searched relevant articles in the databases (PubMed, SCI, Embase, CNKI, WanFang and VIP), evaluated their quality, extracted data and synthesized the data by meta-analysis.

RESULTS: Twenty-four case-control studies were included, but their quality was not high. The level of CD4⁺CD25⁺ Tregs was significantly higher in HBV carriers than in healthy controls ($P = 0.01$). Compared with HBV carriers, a significantly higher level of CD4⁺CD25⁺ Tregs was observed in CHB patients ($P = 0.12$), but a significantly lower level of these cells was noted in patients with acute hepatitis B ($P = 0.15$). The level of CD4⁺CD25⁺ Tregs in chronic HBV carriers was higher than in inactive HBsAg carriers ($P = 0.01$).

CONCLUSION: CD4⁺CD25⁺ Treg cells may play an important role in disease progression and prognosis in HBV carriers.

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

Key Words: HBV carriers; CD4⁺CD25⁺ Treg cells; T-Lymphocytes; Meta-analysis

Pan ZQ, Lv H, Hu SY, Chen Y, Zhuang QJ, Xu L, Yao XS, Xiao Z, Qiu LM. Correlation between peripheral blood CD4⁺CD25⁺ Treg cells and disease progression and prognosis in HBV carriers: A Meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3124-3131 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3124.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3124>

摘要

目的: 探讨CD4⁺CD25⁺Treg细胞在乙型肝炎病毒(Hepatitis B virus, HBV)携带者及相关感染

状态中分布特征, 以期揭示其与HBV携带者的相关性, 为临床干预提供依据。

方法: 计算机检索Pubmed、SCI、Embase、CNKI、万方及维普等数据库, 依据Newcastle-Ottawa Scale(NOS)标准评价文献质量, 按照PICOS原则提取资料, 采用RevMan5.1软件进行Meta分析。

结果: 纳入文献24篇。HBV携带者外周血Treg细胞含量较健康对照高($P = 0.01$); 与HBV携带者比较, 慢性乙型肝炎Treg细胞含量较高($P = 0.12$), 急性乙型肝炎较低($P = 0.15$); 慢性HBV携带者Treg细胞高于非活动性HBsAg携带者($P = 0.01$)。Treg细胞含量与HBV DNA、丙氨酸转氨酶是否存在相关性, 因研究一致性差, 结论尚不能确定。

结论: CD4⁺CD25⁺Treg细胞可能成为影响HBV携带者预后及转归的重要因素。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: HBV携带者; CD4⁺CD25⁺Treg细胞; 调节性T细胞; Meta分析

核心提示: 外周血CD4⁺CD25⁺Tregs细胞频率与乙型肝炎病毒(Hepatitis B virus, HBV)不同感染状态相关, CD4⁺CD25⁺Treg细胞可能成为影响HBV携带者预后及转归的重要因素。

潘宗琴, 吕红, 胡世芸, 陈宇, 庄勤建, 徐林, 姚新生, 肖政, 邱隆敏. 外周血CD4⁺CD25⁺Treg细胞与HBV携带者的相关性分析: Meta分析. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3124-3131
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3124.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3124>

0 引言

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染呈世界性流行, 感染HBV后转归及预后影响因素多样。Treg细胞(regulatory T cell)是免疫调节细胞, 其最重要的亚群为CD4⁺CD25⁺Tregs, 对肿瘤免疫、内分泌疾病、自身免疫性疾病及慢性感染性疾病等进程及预后有重要影响^[1]。免疫调节对HBV携带者预后及转归有重要影响, 但其机制不清楚, CD4⁺CD25⁺Treg细胞在HBV携带者中发挥何种作用目前尚无可靠证据证实。本研究对HBV携带者CD4⁺CD25⁺Treg细胞相关研究做系统评价及Meta分析, 探讨HBV携带者与其他

HBV感染状态下外周血Treg细胞频率特征及其与相关指标的关系, 以期揭示其与HBV携带者的相关性, 为临床干预提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料 纳入标准: (1)研究类型: 临床研究; (2)研究对象: 有明确诊断标准的HBV携带者; (3)干预措施: 采用流式细胞术检测患者外周血CD4⁺CD25⁺Treg细胞频率。排除标准: (1)动物研究、细胞研究; (2)综述、会议摘要、无关、重复发表或数据混乱、模糊不清的文献。

1.2 方法

1.2.1 检索策略: 两名检索员以检索词: 乙型肝炎、乙肝、乙肝病毒、HBV、HBsAg、携带者、免疫耐受期、Treg细胞、T细胞、hepatitis B、HBV、HBsAg、carrier、immune tolerance、Treg cell、T-Lymphocytes、Regulatory构建中英文检索式: (乙型肝炎or乙肝or乙肝病毒or HBV or HBsAg) and (携带者or免疫耐受期) and (Treg细胞or T细胞)/(hepatitis B or HBV or HBsAg) and (carrier or immune tolerance) and (Treg cell or T-Lymphocytes, Regulatory)。独立检索Pubmed、SCI、Embase、CNKI、万方及维普等数据库(建库至2013-03, 不限语种)。

1.2.2 质量评价标准: 纳入文献均为病例对照研究, 选择Newcastle-Ottawa Scale(NOS)标准^[2], 从选择、可比性、暴露信息3个方面独立评价纳入文献质量。

1.2.3 文献筛选与质量评价: 两位评价员严格按照纳入及排除标准、NOS质量评价标准, 独立筛选及评价文献质量, 任何分歧通过讨论或与第3方讨论解决。

1.2.4 资料提取: 依据PICOS原则设计资料提取表格包括文献出处、发表年代、参考指南、研究对象及对照的例数、干预措施(标本来源、检测方法)、结局指标及研究设计。

统计学处理 采用RevMan5.1软件进行Meta分析。依据纳入研究特征, 纳入研究定量资料(CD4⁺CD25⁺Treg细胞含量在实验组与对照组之间差异比较)、选用均数差(MD)为合并统计量。对各纳入研究结果进行异质性检验, 根据检验结果(以 $\alpha = 0.05$ 为检验水准, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义)选择相应数据合并方法。如 $P > 0.05$ 、 $I^2 < 25\%$, 选用固定效应模型、倒方差法计算合并MD值; 反之, 选用随机效应模型、D-L法计算合并MD值, 并分析导致异质性的可能原因。对于临床异质性大、

■ 研发前沿

CD4⁺CD25⁺Tregs细胞为重要免疫调节细胞, 与HBV不同感染状态相关, CD4⁺CD25⁺Tregs细胞可能成为影响HBV携带者预后及转归的重要因素。

■相关报道

杨宜娥等研究结果显示, HBV携带者外周血CD4⁺CD25⁺Tregs频率低于慢性乙型肝炎, CD4⁺CD-25⁺Tregs下调了免疫应答, 造成慢性感染和疾病进展。但是, 周正仕等研究表明HBV携带者外周血CD4⁺C-25⁺Tregs频率高于慢性乙型肝炎, CD4⁺CD25⁺Tregs对HBV携带者维持免疫耐受状态发挥重要作用。

表 1 纳入研究基本特征

文献出处	年代	研究对象					干预措施		结局			研究设计
		RG	P	C1	C2	C3	PB	FC	1	2	3	
李凤惠等 ^[3]	2012	A	26	42	15	/	✓	✓	✓	/	/	病例对照
Xu等 ^[4]	2012	/	48	47	28	/	✓	✓	✓	-	-	病例对照
张慧等 ^[5]	2011	C	40	38	40	/	✓	✓	✓	/	+	病例对照
杨宜娥等 ^[6]	2011	A	30	30	20	/	✓	✓	✓	+	-	病例对照
吴小飞等 ^[7]	2011	D	10	18	/	/	✓	✓	✓	/	+	病例对照
程瑗等 ^[8]	2011	C	15	45	15	/	✓	✓	✓	/	/	病例对照
赵爽等 ^[9]	2010	D	30	75	/	/	✓	✓	✓	/	/	病例对照
王玉辉 ^[10]	2010	C	20	32	20	18	✓	✓	✓	/	+	病例对照
谭雨龙 ^[11]	2010	C	24	20	16	/	✓	✓	✓	-	-	病例对照
吕峰等 ^[12]	2010	C	15	26	16	/	✓	✓	✓	/	/	病例对照
李浩等 ^[13]	2010	B	48	52	25	/	✓	✓	✓	-	-	病例对照
丛丽媛等 ^[14]	2010	B	28	14	14	/	✓	✓	✓	/	/	病例对照
Zhang等 ^[15]	2010	C	22	42	20	16	✓	✓	✓	/	/	病例对照
Deng等 ^[16]	2010	C	65	26	/	/	✓	✓	✓	-	+	病例对照
马艳品 ^[17]	2009	BD	10	10	10	/	✓	✓	✓	/	/	病例对照
Yang等 ^[18]	2009	D	17	44	16	/	✓	✓	✓	/	+	病例对照
詹爱琴 ^[19]	2008	D	35	50	30	26	✓	✓	✓	-	+	病例对照
刘清泉等 ^[20]	2008	/	15	20	12	/	✓	✓	✓	#	-	病例对照
周正仕等 ^[21]	2007	C	20	20	10	/	✓	✓	✓	/	+	病例对照
乐晓华等 ^[22]	2007	/	21	19	15	/	✓*	✓	✓	/	+	病例对照
Tian等 ^[23]	2007	D	23	28	14	19	✓	✓	✓	/	-	病例对照
Shen等 ^[24]	2007	D	19	19	19	/	✓	✓	✓	/	-	病例对照
杨桂林 ^[25]	2006	C	51	70	55	/	✓*	✓	✓	/	+	病例对照
邢同京 ^[26]	2006	D	25	27	29	/	✓	✓	✓	/	-	病例对照

RG: 参考指南; P: 实验组(HBV携带者); C1: 慢性乙型肝炎; C2: 健康对照; C3: 急性乙型肝炎; PB: 标本(外周血); FC: 流式细胞术; A: 2010版《慢性乙型肝炎防治指南》; B: 2005年修订的《慢性乙型肝炎防治指南》; C: 2000年修订的《病毒性肝炎防治指南》; D: 2000年中华传染病与寄生虫病学会、肝病分会西安会议标准; 1: CD4⁺CD25⁺Treg细胞占CD4⁺T淋巴细胞百分比; 2: Treg与ALT的相关性; 3: Treg与HBV DNA的相关性; *: 标本有肝组织; /: 未描述; +: 正相关; -: 无相关; #: 负相关。

不可合并的试验结果采用描述性分析。

2 结果

2.1 文献检索及筛选结果 共检索出文献392篇, 依次阅读题目、摘要、全文, 排除重复、无关及无数据综述、会议摘要后, 纳入符合文献24篇(图1)。

2.2 纳入研究基本特征 纳入文献24篇, 均为我国研究, 最早研究为2006年, 近年呈递增趋势, 2010年达高峰。纳入HBV携带者657例、慢性乙型肝炎814例、健康对照439例及急性乙型肝炎79例, 病例诊断标准具有多样性, 包括2010版《慢性乙型肝炎防治指南》、2005年修订的《慢性乙型肝炎防治指南》、2000年修订的《病毒性肝炎防治指南》、2000年中华传染病与寄生虫病学会、肝病分会西安会议标准等

4个标准。标本为外周血(24篇), 并肝脏活检组织(2篇), 流式检测术等检测CD4⁺CD25⁺Treg细胞及HBV DNA、ALT。主要探讨Treg细胞及对不同HBV感染状态预后影响(表1)。结果表明: 此类研究近年重视程度增加, 流式检测外周血Treg细胞频率, 探讨Treg细胞对不同HBV感染状态预后影响, 但纳入病例诊断标准多样化, 增加了研究异质性。

2.3 质量评价 纳入文献24篇。(1)选择评价: 21项研究有明确诊断标准对研究对象进行分组, 3项诊断标准描述不清楚, 24项对照定义均明确, 但24项研究均非连续收集且有代表性的病例, 对照选择均非社区对照, 选择评分21项研究均为2分, 余3项得1分; (2)可比性评价: 可比性评分6项研究得2分, 18项得1分; (3)暴露评价: 24项研究病例和对照的暴露均采用相同确定方法(流式细

表 2 纳入研究质量评分表

文献出处	年代	选择				可比性		暴露		评分
		1	2	3	4	1	1	2	3	
李凤惠等 ^[3]	2012	*	—	—	*	*	*	*	—	5
Xu等 ^[4]	2012	—	—	—	*	*	*	*	—	4
张慧等 ^[5]	2011	*	—	—	*	**	*	*	—	6
杨宜娥等 ^[6]	2011	*	—	—	*	*	*	*	—	5
吴小飞等 ^[7]	2011	*	—	—	*	**	*	*	—	6
程瑗等 ^[8]	2011	*	—	—	*	*	*	*	—	5
赵爽等 ^[9]	2010	*	—	—	*	*	*	*	—	5
王玉辉 ^[10]	2010	*	—	—	*	*	*	*	—	5
谭雨龙 ^[11]	2010	*	—	—	*	*	*	*	—	5
吕峰等 ^[12]	2010	*	—	—	*	*	*	*	—	5
李浩等 ^[13]	2010	*	—	—	*	*	*	*	—	5
丛丽媛等 ^[14]	2010	*	—	—	*	**	*	*	—	6
Zhang等 ^[15]	2010	*	—	—	*	*	*	*	—	5
Deng等 ^[16]	2010	*	—	—	*	*	*	*	—	5
马艳品 ^[17]	2009	*	—	—	*	**	*	*	—	6
Yang等 ^[18]	2009	*	—	—	*	*	*	*	—	5
詹爱琴 ^[19]	2008	*	—	—	*	**	*	*	—	6
刘清泉等 ^[20]	2008	—	—	—	*	*	*	*	—	4
周正仕等 ^[21]	2007	*	—	—	*	*	*	*	—	5
乐晓华等 ^[22]	2007	—	—	—	*	**	*	*	—	5
Tian等 ^[23]	2007	*	—	—	*	*	*	*	—	5
Shen等 ^[24]	2007	*	—	—	*	*	*	*	—	5
杨桂林 ^[25]	2006	*	—	—	*	*	*	*	—	5
邢同京 ^[26]	2006	*	—	—	*	*	*	*	—	5

选择1: 病例的定义是否充分? 选择2: 病例的代表性; 选择3: 对照的选择; 选择4: 对照的定义; 可比性
1: 基于设计或分析所得的病例与对照的可比性; 暴露1: 暴露的确定; 暴露2: 病例和对照的暴露是否采用了相同的确定方法; 暴露3: 无应答率; *: 1分; -: 0分.

胞术), 暴露因素的确定有可靠记录, 对暴露无应答率均未作描述, 暴露评分24项研究得分均为2分. 结果表明: 整体评分4-6分(表2), 质量均不高.

2.4 不同HBV感染状态CD4⁺CD25⁺Treg细胞含量差异比较

2.4.1 HBV携带者与慢性乙型肝炎患者CD4⁺CD25⁺Treg细胞含量差异比较: 纳入文献22篇, HBV携带者524例, 慢性乙型肝炎患者724例. 各研究间异质性较大 $P < 0.0001$ 、 $I^2 = 96\%$, 故选用随机效应模型, 结果(图2)显示: 均数差(MD)的合并效应量(total)为-0.68, 其95%CI(-1.53-0.18), 合并效应量的检验(test for overall effect) $Z = 1.55$, $P = 0.12$. HBV携带者Treg细胞含量较慢性乙型肝炎低, 差异无统计学意义.

2.4.2 HBV携带者与急性乙型肝炎患者CD4⁺CD25⁺Treg细胞含量的差异比较: 纳入文献4篇, HBV携带者90例, 急性乙型肝炎79例. 各研究

间异质性较大, $P = 0.06$ 、 $I^2 = 60\%$, 故选用随机效应模型, 结果(图3)显示: 均数差(MD)的合并效应量为0.64, 其95%CI(-0.23-1.51), 合并效应量的检验 $Z = 1.45$, $P = 0.15$. HBV携带者Treg细胞含量高于急性乙型肝炎, 差异无统计学意义($P = 0.15$).

2.4.3 HBV携带者与健康对照者CD4⁺CD25⁺Treg细胞含量的差异比较: 纳入文献17篇, HBV携带者407例, 健康对照者360例. 各研究间异质性较大 $P < 0.00001$ 、 $I^2 = 97\%$, 故选用随机效应模型, 结果(图4)显示: 均数差(MD)的合并效应量为1.24, 其95%CI(0.24-2.23), 合并效应量的检验 $Z = 2.44$, $P = 0.01$. HBV携带者外周血Treg细胞含量较健康对照高, 差异有统计学意义($P = 0.01$).

2.4.4 慢性HBV携带者及非活动性HBsAg携带者CD4⁺CD25⁺Treg细胞含量的差异比较: 纳入文献6篇, 慢性HBV携带者126例, 非活动性HBsAg携带者119例. 各研究间异质性较小 $P =$

■创新盘点

近年来, CD4⁺CD25⁺Tregs在HBV感染发病机制中的作用越来越受到重视, 外周血CD4⁺CD25⁺Tregs频率在不同HBV感染状态呈现的差异及发挥的免疫功能, 各研究结论众说纷纭. 所以本文做此研究, 探究HBV感染状态外周血CD4⁺CD25⁺Tregs频率的分布特征, 分析其与HBV携带者的相关性.

■应用要点

各研究结果显示不同HBV感染状态外周血CD4⁺CD25⁺Tregs频率分布特征不尽相同,可能与纳入研究诊断标准及标本采集时间不统一,检测试剂盒的质量及流式操作、流式设门等因素有关,本文将对HBV携带者外周血CD4⁺CD25⁺Tregs的频率进行荟萃分析,为今后的科研和临床研究提供一定的思路。

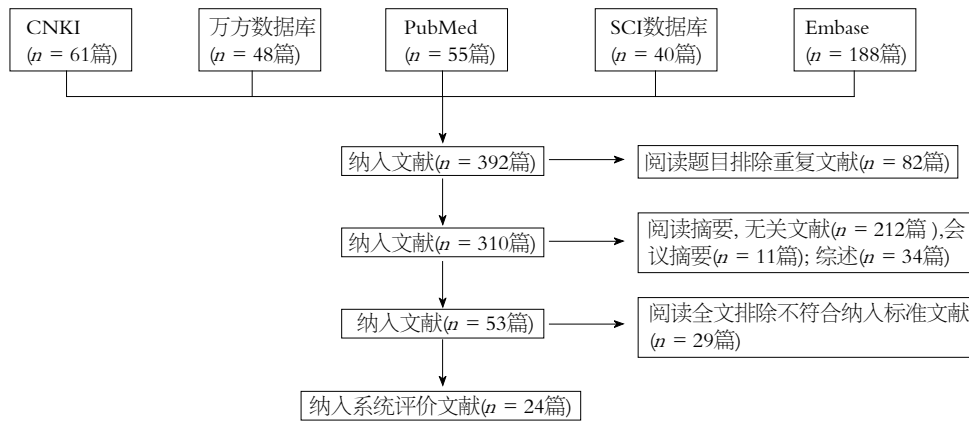
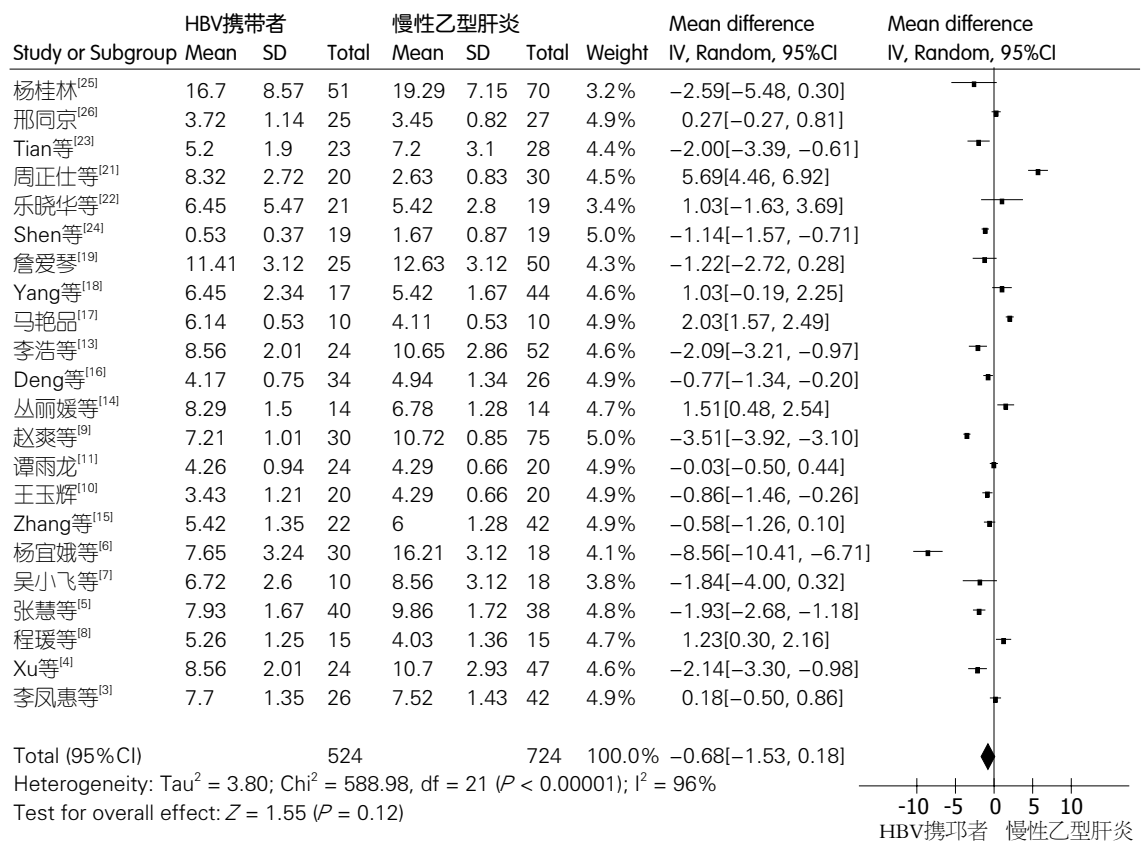


图1 文献筛选流程图。

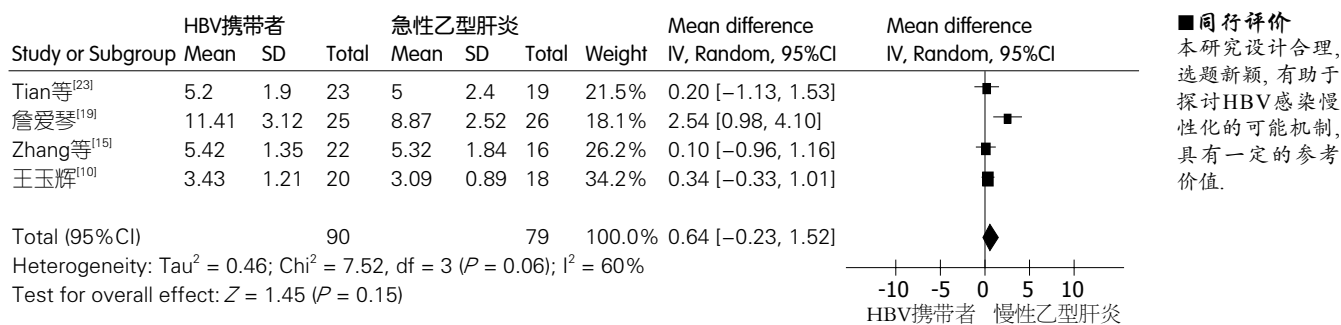
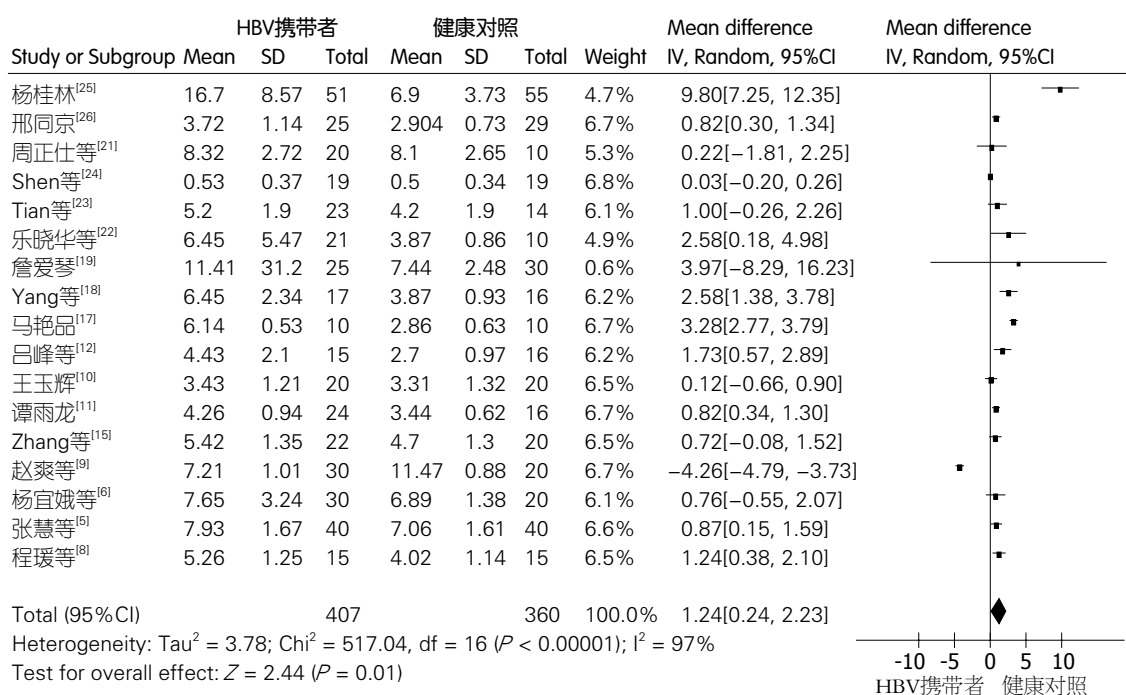
图2 HBV携带者与慢性乙型肝炎患者CD4⁺CD25⁺Treg含量的Meta分析。

0.69, $I^2 = 0\%$, 故选用固定效应模型, 结果(图5)显示: 均数差(MD)的合并效应量(total)为0.41, 其95%CI(0.09-0.72), 合并效应量的检验(test for overall effect) $Z = 2.54$, $P = 0.01 < 0.05$ 。慢性HBV携带者Treg细胞含量高于非活动性HBsAg携带者, 差异有统计学意义($P = 0.01$)。

2.5 ALT、HBV DNA与外周血CD4⁺CD25⁺Treg频率相关性 纳入研究无详细数据描述, 因此采用描述性整合分析提取数据。CD4⁺CD25⁺Treg细

胞含量与ALT的相关性分析7篇, 1项研究(质量评分5分)分析结果两者呈正相关性, 1项(质量评分4分)呈负相关性; 5项研究(质量均分5分)认为无关, 表明各研究一致性差, 质量不高, 提示此相关性不能确定。

CD4⁺CD25⁺Treg细胞含量与HBV DNA的相关性分析17项, 其中9项研究分析(质量评分均在5-6分之间, 均分为5.33分)结果为各研究对象外周血的CD4⁺CD25⁺Treg细胞含量与HBV DNA之

图 3 HBV携带者与急性乙型肝炎患者CD4⁺CD25⁺Treg含量的Meta分析.图 4 HBV携带者与健康对照CD4⁺CD25⁺Treg含量的Meta分析.

间呈正相关性, 8项研究(质量评分均在4-5分之间, 均分为4.75分)认为两者无相关性. 表明各研究一致性差, 质量不高, 提示其相关性不能确定.

2.6 发表偏倚评价 从研究的漏斗图(未列出)基本对称, 可以看出并无明显发表偏倚.

3 讨论

Treg细胞为免疫调节细胞, 为探讨CD4⁺CD25⁺Treg细胞频率在HBV携带者与其他HBV感染状态中的分布特征, 揭示其与HBV携带者间的相关性. 本研究系统评价24篇文献, 纳入研究均采用流式细胞术检测CD4⁺CD25⁺Treg, 均为病例对照研究, 采用NOS评价标准评价研究质量, 整体评分为4-6分, 提示研究质量不高. 异质性原因分析: 纳入研究诊断标准多样性, 标本采集时间不一, Treg细胞设门不同、检测试剂盒及流式操作

等为重要影响因素. 因此我们认为: 为相关领域提供更加科学可靠证据, 未来相关研究必须严谨、科学设计.

近年来, CD4⁺CD25⁺Tregs在HBV感染发病机制中的作用越来越受到重视, CD4⁺CD25⁺Treg细胞能抑制机体过度免疫损伤, 也有利于乙型肝炎HBV持续感染^[5]. 本研究结果: HBV携带者外周血CD4⁺CD25⁺Treg细胞频率较健康对照高, 差异有统计学意义($P = 0.01$), 推测可能机制为感染HBV后, Treg细胞发挥免疫负调作用, 机体清除HBV能力下调, 而导致HBV病毒持续存在, 表现为免疫耐受状态. 本研究显示, HBV携带者Treg细胞高于急性乙型肝炎, 差异无统计学意义($P = 0.15$), 推测Treg细胞降低可能有利于急性乙型肝炎患者清除HBV, 实现HBV转阴; 本研究纳入CD4⁺CD25⁺Treg细胞含量与ALT相关性分析7

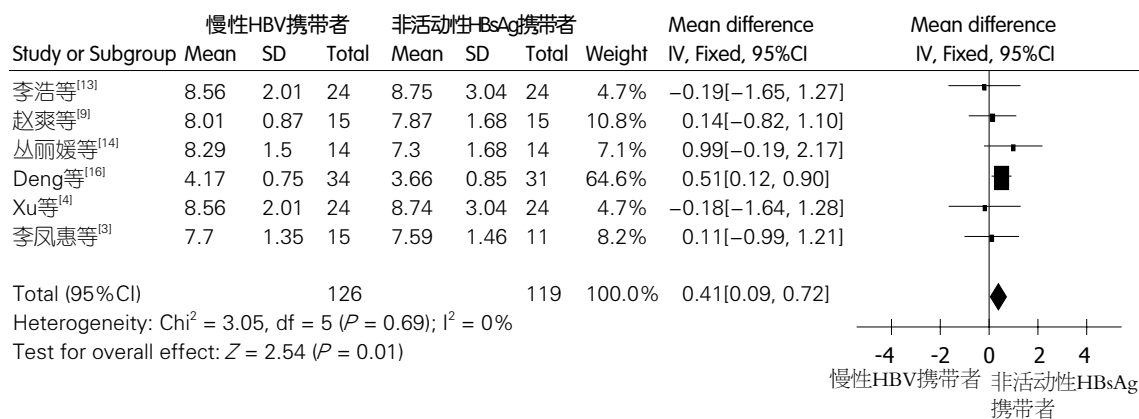


图5 慢性HBV携带者及非活动性HBsAg携带者CD4⁺CD25⁺Treg含量的Meta分析。

篇, 1项研究^[6]认为呈正相关性, 1项^[20]呈负相关, 其他^[4]否定其相关性, 此结论尚有待于新研究证实。慢性乙肝外周血Treg细胞含量较HBV携带者高, 推测是否由于Treg细胞反应性升高, 下调免疫应答, 减轻免疫损伤, 但可能会导致HBV感染慢性化, 此差异无统计学意义($P = 0.12$)、研究异质性大, 尚需进一步研究证实。

本研究表明慢性HBV携带者Treg细胞频率高于非活动性HBsAg携带者, 差异有统计学意义($P = 0.01$), 既往研究表明, Treg细胞为HBV持续感染的重要因素^[5], 推测CD4⁺CD25⁺Treg细胞发挥免疫负调节导致HBV病毒持续存在。本研究纳入CD4⁺CD25⁺Treg细胞含量与HBV DNA的相关性分析17项研究, 有研究^[16]认为两者呈正相关, 另有研究^[11]认为无相关, 研究一致性差, 结论不能确定。

总之, 研究表明CD4⁺CD25⁺Treg细胞可能与HBV不同感染状态相关, CD4⁺CD25⁺Treg细胞可能成为影响HBV携带者预后及转归的重要因素。但纳入研究质量不高, 异质性较大, 确切机制尚有待高质量研究证实。

4 参考文献

- de Kleer I, Vastert B, Klein M, Teklenburg G, Arkesteijn G, Yung GP, Albani S, Kuis W, Wulfraat N, Prakken B. Autologous stem cell transplantation for autoimmunity induces immunologic self-tolerance by reprogramming autoreactive T cells and restoring the CD4⁺CD25⁺ immune regulatory network. *Blood* 2006; 107: 1696-1702 [PMID: 16263787]
- Stroup DF, Berlin JA, Morton SC, Olkin I, Williamson GD, Rennie D, Moher D, Becker BJ, Sipe TA, Thacker SB. Meta-analysis of observational studies in epidemiology: a proposal for reporting. Meta-analysis Of Observational Studies in Epidemiology (MOOSE) group. *JAMA* 2000; 283: 2008-2012 [PMID: 10789670]
- 李凤惠, 吕洪敏, 王芳, 向慧玲, 王凤梅, 李晓爽, 泽塔

多吉, 王鹏. 慢性HBV感染者外周血CXCR5 CD4⁺Tfh细胞的测定及其与FoxP3⁺Treg细胞的相关性. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 1100-1106

- Xu HT, Xing TJ, Li H, Ye J. Association of T regulatory cells with natural course and response to treatment with interferon- α in patients with chronic hepatitis B infection. *Chin Med J (Engl)* 2012; 125: 1465-1468 [PMID: 22613654]
- 张慧, 黄丽霞, 陈朝霞, 宋文剑. CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺Treg细胞在HBV感染所致慢加急性肝衰竭中作用. *东南大学学报(医学版)* 2011; 30: 315-318
- 杨宜娥, 索翠萍, 邵贝贝. 外周血CD4⁺CD25⁺调节性T细胞和血浆TGF- β 在慢性HBV感染者中的表达及意义. *医学检验与临床* 2011; 22: 21-24
- 吴小飞, 王华雨, 杨爱平, 周宝勤, 汤伟. 慢性乙型肝炎患者血CD4⁺CD25⁺调节性T细胞检测的临床意义. *中国医药* 2011; 6: 1198-1200
- 程媛, 金晓芝, 叶超, 陈永平, 章圣辉, 洪伟龙, 谷甸娜, 张磊, 郑明华. 慢性乙型肝炎患者外周血CD4⁺CD25⁺调节性T细胞数量与肝脏疾病慢性化进展关系的研究. *医学研究杂志* 2011; 40: 50-55
- 赵爽, 孙均, 周培培, 徐娟, 颜学兵. HBV持续感染者调节性T细胞检测及其意义. *徐州医学院学报* 2010; 30: 652-654
- 王玉辉. 乙型肝炎患者CD4⁺CD25⁺调节性T细胞水平与HBV病毒载量相关性. *中国热带医学* 2010; 10: 15-16
- 谭雨龙. 乙肝病毒感染者外周血中CD4⁺Foxp3⁺T细胞亚群的表达及临床意义研究. 重庆: 第三军医大学, 2010
- 吕峰, 邵玉峰, 崔明芳, 张振华, 尹华发. 慢性HBV感染者外周血CD4⁺CD25⁺调节性T细胞表达及其临床意义. *实用肝脏病杂志* 2010; 13: 13-15
- 李浩, 徐洪涛, 邢同京, 咸建春, 叶军, 张立新. HBV感染者外周血CD4⁺CD25⁺调节性T细胞的表达水平及临床意义. *肝脏* 2010; 15: 174-176
- 丛丽媛, 李爱民, 吴庆军, 李芸, 杨海燕, 谢锐姬, 杨富强. 慢性乙型肝炎病毒感染细胞免疫功能与血清HBV DNA的关系. *传染病信息* 2010; 23: 218-220
- Zhang Y, Lian JQ, Huang CX, Wang JP, Wei X, Nan XP, Yu HT, Jiang LL, Wang XQ, Zhuang Y, Li XH, Li Y, Wang PZ, Robek MD, Bai XF. Overexpression of Toll-like receptor 2/4 on monocytes modulates the activities of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in chronic hepatitis B virus infection. *Virology* 2010; 397: 34-42 [PMID: 19945134]
- Deng M, Li MH, Liu SA, Liu F, Sang Y, Song SJ, Zang SF, Guan XP, Yao X, Wu XP, Cheng J, Xu DZ. [Studies about the level of CD4⁺CD25⁺ regulatory

- T cells and relation between expression of Foxp3 and CD127 in peripheral blood of chronic HBV infection]. *Zhonghua Shiyan He Linchuang Bingduxue Zazhi* 2010; 24: 21-23 [PMID: 20848841]
- 17 马艳品. 慢性乙型肝炎免疫应答及抗病毒治疗对免疫功能的影响. 河北: 河北医科大学, 2009
- 18 Yang GL, Xu LM, Yao HY, Wang HS, Jiang XL, Li W, Wang M, Zhou BP. [Association between CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ regulatory T cells and serum transforming growth factor beta 1 in patients with chronic hepatitis B]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2009; 17: 831-834 [PMID: 19958642]
- 19 詹爱琴. 乙型肝炎病毒感染外周血CD4⁺CD25⁺调节性T细胞表达的初步研究. 新疆: 石河子大学, 2008
- 20 刘清泉, 洪沙, 徐哲, 王进, 王平忠, 黄长彤. 慢性HBV感染者外周血CD4⁺CD25^{high}调节性T细胞初步分析. *中华微生物学和免疫学杂志* 2008; 28: 885-890
- 21 周正仕, 张伦理. CD4⁺CD25⁺调节性T细胞在重型乙型肝炎发病中的作用. *浙江临床医学* 2007; 9: 1014-1015
- 22 乐晓华, 杨桂林, 陈心春, 王敏, 李美忠, 李丽雄, 陈凤永. CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺调节性T细胞与慢性乙型肝炎病毒感染感染的关系. *中国基层医药* 2007; 14: 776-778
- 23 Tian Y, Qiu ZF, Li TS. The difference and significance of peripheral blood regulatory t cells in patients with symptomatic chronic hepatitis b, asymptomatic hbv carriers and acute self-limiting hbv infection. *Chinese Journal of Microbiology and Immunology* 2007; 27: 831-834
- 24 Shen JH, Li N, Fan XG: Significance of CD4⁺CD25⁺ regulatory t cells in peripheral blood of chronic hepatitis b patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15: 2790-2795
- 25 杨桂林. CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺调节性T细胞异常与乙型肝炎慢性化和病毒清除的关系. 上海: 上海交通大学, 2006
- 26 邢同京. 调节性T细胞及单核细胞在乙型肝炎重型化机制中的作用. 浙江: 浙江大学, 2006

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》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%。

内毒素和前列腺素I₂/血栓素A₂与1型肝肾综合征的关系

黄华兰, 聂鑫, 贺勇, 吴斌, 宋昊岚, 罗通行, 杨正兵, 高宝秀, 李贵星

■背景资料

肝肾综合征(hepatorenal syndrome, HRS)是慢性重型肝病和肝硬化并发的最常见的功能性肾损伤疾病,其1年和5年的发病率为18%和40%。HRS包括1型和2型,1型HRS表现为急性肾功能障碍,除肝移植或肝肾联合移植外尚无有效的治疗方法,患者平均生存时间仅为2 wk。

黄华兰, 聂鑫, 贺勇, 吴斌, 宋昊岚, 罗通行, 高宝秀, 李贵星, 四川大学华西医院实验医学科 四川省成都市 610041
杨正兵, 四川大学华西医院消化内科 四川省成都市 610041
黄华兰, 硕士, 主要从事肝肾疾病的发病机制研究。
四川省科技支撑基金资助项目, No. 2010SZ0252
作者贡献分布: 此课题由李贵星设计; 研究过程由黄华兰、聂鑫、吴斌及贺勇操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由宋昊岚、罗通行及高宝秀提供; 数据分析由李贵星、杨正兵、黄华兰及聂鑫完成; 本论文写作由黄华兰与聂鑫共同完成。
通讯作者: 李贵星, 副教授, 610041, 四川省成都市外南国学巷37号, 四川大学华西医院实验医学科。liguixing27@163.com
电话: 028-85422615
收稿日期: 2013-07-11 修回日期: 2013-08-05
接受日期: 2013-08-15 在线出版日期: 2013-10-18

Relationship between serum levels of endotoxin and PGI₂/TXA₂ and hepatorenal syndrome

Hua-Lan Huang, Xin Nie, Yong He, Bin Wu, Hao-Lan Song, Tong-Xing Luo, Zheng-Bing Yang, Bao-Xiu Gao, Gui-Xing Li

Hua-Lan Huang, Xin Nie, Yong He, Bin Wu, Hao-Lan Song, Tong-Xing Luo, Bao-Xiu Gao, Gui-Xing Li, Department of Laboratory Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China
Zheng-Bing Yang, Department of Gastroenterology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Supported by: the Supporting Program of the Ministry of Science and Technology of Sichuan Province, No. 2010SZ0252

Correspondence to: Gui-Xing Li, Associate Professor, Department of Laboratory Medicine, West China Hospital, Sichuan University, 37 Wainan Guoxue Xiang, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. liguixing27@163.com

Received: 2013-07-11 Revised: 2013-08-05
Accepted: 2013-08-15 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To explore the relationship between serum levels of endotoxin and prostaglandin I₂ (PGI₂)/thromboxane A₂ (TXA₂) and development of hepatorenal syndrome (HRS) by analyzing clinical data, routine laboratory parameters, rate of infection, serum levels of procalcitonin (PCT), PGI₂ and TXA₂ in cirrhotic patients with ascites and type 1 HRS.

METHODS: Thirty-eight cirrhotic inpatients with ascites and type 1 HRS and 41 cirrhotic

inpatients with ascites but normal renal function, who were treated at our hospital between January 2009 and December 2011, were enrolled and divided into a HRS group and a non-HRS group, respectively. Clinical data, cirrhosis etiology, rate and type of infections, Child-Pugh classification, model for end-stage liver disease (MELD) score, systemic inflammatory response (SIRS) score and mean arterial pressure (MAP) were recorded. Blood samples were obtained for laboratory analysis of liver function, renal function, electrolytes, PCT, PGI₂ and TXA₂. All the data were compared between the two groups, and correlation between PCT and PGI₂/TXA₂ was performed in the HRS group.

RESULTS: Rate of infection, SIRS score, serum levels of PCT and TXA₂ were significantly higher in the HRS group than in the non-HRS group [73.6% vs 29.2%, 2.1 ± 1.1 vs 0.6 ± 0.6, 8.72 (3.14, 31.68) ng/mL vs 0.11 (0.04, 0.45) ng/mL, 7432 pg/mL ± 2186 pg/mL vs 5064 pg/mL ± 2007 pg/mL; all *P* < 0.05], while serum levels of PGI₂/TXA₂ were significantly lower in the HRS group (4.79 ± 1.58 vs 7.47 ± 2.36, *t* = 2.26, *P* < 0.05). Age, gender, cause of the disease, Child-Pugh classification, and PGI₂ levels did not differ significantly between the two groups (all *P* > 0.05). In the HRS group, serum levels of PCT and PGI₂/TXA₂ showed a significant negative correlation (*r* = -0.64, *P* < 0.05).

CONCLUSION: Cirrhotic patients are prone to develop endotoxemia and PGI₂/TXA₂ imbalance. Elevated endotoxin and decreased PGI₂/TXA₂ are closely associated with the development of HRS.

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

Key Words: Endotoxin; Prostaglandin I₂; Thromboxane A₂; Hepatorenal syndrome

Huang HL, Nie X, He Y, Wu B, Song HL, Luo TX, Yang ZB, Gao BX, Li GX. Relationship between serum levels of endotoxin and PGI₂/TXA₂ and hepatorenal syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3132-3138
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3132.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3132>

■同行评议者

王德盛, 副主任医师, 中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

摘要

目的: 通过分析肝硬化腹水伴I型肝肾综合征(hepatorenal syndrome, HRS)患者的临床资料、实验室指标、感染发生率、血清降钙素原(procalcitonin, PCT)、前列腺素I₂(prostaglandin I₂, PGI₂)、血栓素A₂(thromboxane A₂, TXA₂), 探讨血清内毒素、PGI₂/TXA₂水平与HRS发生的关系。

方法: 纳入我院2009-01/2011-12住院的肝硬化腹水伴1型HRS患者38例(HRS组)及肝硬化腹水但肾功能正常患者38例(非HRS组), 收集两组患者的一般资料、肝硬化病因、感染发生率及类型、Child-pugh分级、全身炎症反应评分(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)及平均动脉压(mean arterial pressure, MAP); 同时采集两组患者血液, 分析肝肾功能、电解质、PCT、PGI₂、TXA₂水平。比较两组患者的临床资料和检测指标, 并分析HRS组PCT水平与PGI₂/TXA₂的相关性。

结果: HRS组的感染发生率、SIRS评分、PCT、TXA₂分别为73.6%、2.1±1.1、8.72 ng/mL(3.14 ng/mL, 31.68 ng/mL)、7432 pg/mL±2186 pg/mL, 高于非HRS组的29.2%、0.6±0.6、0.11 ng/mL(0.04 ng/mL, 0.45 ng/mL)、5064 pg/mL±2007 pg/mL(χ^2 值、 t 值或 H 值分别为11.91, 5.64, 81, 2.38, $P<0.05$); HRS组PGI₂/TXA₂为4.79±1.58, 低于非HRS组的7.47±2.36(t 值2.26, $P<0.05$); 两组间年龄、性别、肝硬化病因、Child-Pugh分级和PGI₂水平差异无统计学意义($P>0.05$)。HRS组PCT与PGI₂/TXA₂呈负相关关系($r=-0.64$, $P<0.05$)。

结论: 内毒素可能诱导花生四烯酸类物质的异常表达, 引起PGI₂/TXA₂平衡紊乱导致肾血管舒张/收缩平衡失衡导致1型HRS发生。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 内毒素; 前列腺素I₂; 血栓素A₂; 肝肾综合征

核心提示: 内毒素可能诱导花生四烯酸类物质的异常表达, 引起花生四烯酸代谢产物前列腺素I₂(prostaglandin I₂)和血栓素A₂(thromboxane A₂)平衡紊乱导致肾血管舒张/收缩平衡失衡导致1型肝肾综合征(hepatorenal syndrome)发生。

黄华兰, 聂鑫, 贺勇, 吴斌, 宋昊岚, 罗通行, 杨正兵, 高宝秀, 李贵星. 内毒素和前列腺素I₂/血栓素A₂与1型肝肾综合征的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3132-3138 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3132.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3132>

0 引言

肝肾综合征(hepatorenal syndrome, HRS)是慢性重型肝病和肝硬化并发的最常见的功能性肾损伤疾病^[1,2], 其1年和5年的发病率为18%和40%。HRS包括1型和2型, 1型HRS表现为急性肾功能衰竭, 除肝移植或肝肾联合移植外尚无有效的治疗方法, 患者平均生存时间仅为2 wk。HRS的发病机制尚未明了, 相关因素包括门脉高压、内脏血管扩张、肾脏血管收缩等因素。基于传统的“内脏血管扩张理论”在临床治疗中效果不佳, 作者前期研究也发现去除血液中一氧化氮(NO)仍不能改善患者的肾功能^[3]。近来国内外研究认为1型HRS属于急性肾损伤(acute kidney injury, AKI), 其发生和肾血管舒张和收缩平衡失调有关^[4]。花生四烯酸代谢产物前列腺素I₂(prostaglandin I₂, PGI₂)和血栓素A₂(thromboxane A₂, TXA₂)是体内维持血管舒张和收缩平衡的一对主要活性分子。作者前期研究发现HRS患者存在内毒素血症^[5], 而国外研究认为^[6]内毒素可诱导环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)的表达, 通过调节花生四烯酸代谢, 从而改变PGI₂和TXA₂水平。为探讨内毒素、PGI₂和TXA₂与HRS发生的关系, 本文通过对1型HRS患者的临床资料、感染发生率、降钙素原(procalcitonin, PCT)、PGI₂、TXA₂及实验室指标进行分析, 探讨内毒素及PGI₂/TXA₂在HRS发生中的作用, 为HRS的预防和治疗提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料 纳入对象为我院2009-01/2011-12住院的肝硬化腹水伴1型HRS患者38例(HRS组)。肝硬化诊断以病史、体格检查和实验室检查综合诊断, 腹水确诊以B超检查为准, 1型HRS诊断标准符合《国际腹水研究小组肝肾综合征诊断标准》^[7], 同时满足48 h血肌酐水平升高超过50%。排除标准为经病史、X线、心电图、超声心动图和实验室检查有原发性肾病、原发心脏病的肝硬化患者, 并排除消化道出血的患者。为保证研究的一致性, 对照组选取同期连续入院的肝硬化伴腹水且肾功能正常患者共41例(非HRS组)。

1.2 方法 肝硬化腹水患者入院后, 经实验室检查和临床评价排除有原发肾病、原发心脏病和消化道有出血的肝硬化患者, 纳入的研究对象按内科标准化治疗方案进行治疗, 同时密切追踪观察患者, 当患者出现肾功能障碍并符合

■研究前沿

近来国内外研究认为1型HRS属于急性肾损伤, 其发生和肾血管舒张和收缩平衡失调有关。

■相关报道

作者前期研究发现HRS患者存在内毒素血症,而国外研究认为内毒素可诱导环氧合酶-2的表达,通过调节花生四烯酸代谢,从而改变PGI₂和TXA₂水平。

1型HRS诊断时,记录患者心率、呼吸频率和体温,计算全身炎症反应(systemic inflammatory response, SIRS)评分,并依据患者临床表现和细菌培养确定是否有感染以及感染的类型包括肺部感染、胆道感染、自发性细菌性腹膜炎(spontaneous bacterial peritonitis, SBP)以及其他不明原因的感染,肺部感染诊断依据患者病史、症状、体征以及影像学检查结果。胆道感染诊断标准^[8]为:出现腹痛、寒战、高热等临床症状,实验室检查示白细胞计数(white blood cell, WBC)计数显著升高和肝功能损害,经超声和/或CT检查而明确诊断;伴有低血压、意识障碍、氧合指数<300、国际标准化比值>1.5及少尿。SBP的诊断标准为:(1)不同程度的发热、腹痛、腹胀;(2)腹部张力增高,压痛、反跳痛;(3)腹水量迅速增多,利尿效果差;(4)腹水检查WBC $\geq 250 \times 10^6/L$ 或多性核中性白细胞比例 $\geq 50\%$,血常规WBC总数或中性粒细胞分类升高;(5)腹水培养发现致病菌;(6)排除腹腔继发性感染。第5条为确诊标准,1-4条中有2条符合即可作为临床诊断。同时采集患者4管空腹静脉血,包括2管无添加剂管、1管枸橼酸钠抗凝管和1管EDTA抗凝管。对照组记录临床资料并采集4管空腹静脉血进行相关分析。在本研究中,用PCT水平反映患者血液内毒素水平。无添加剂管以3000 r/min离心15 min,血清用于肝功能指标,包括丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、直接胆红素(direct bilirubin, DBIL);肾功能指标,包括尿素(Urea)、肌酐(creatinine, Crea),半胱氨酸蛋白酶抑制剂(cystatin C, Cys. C);电解质,包括血清钠(sodium, Na)、钾(potassium, K)、氯(chlorine, Cl)分析;EDTA抗凝全血用于血常规分析。另一无添加剂管以3000 r/min离心15 min,分离血清置-20℃冰冻保存,用于PCT、PGI₂、TXA₂分析。肝肾功能指标、电解质指标检测采用德国罗氏公司Modular-P800全自动生化分析仪及配套试剂和校准品进行测定;血常规采用日本Sysmex XE 2100全自动血液分析仪及其配套试剂和校准品进行测定;PCT采用德国Roche公司 Cobas E170化学发光分析仪及其配套试剂和校准品进行测定;PGI₂和TXA₂极不稳定,两者降解成等分子稳定的6-keto-PGF_{1 α} 和TXB₂,本研究测定血6-keto-PGF_{1 α} 和TXB₂代表血PGI₂和TXA₂水平,6-keto-PGF_{1 α} 和TXB₂测定用ELISH方法,分析试

剂采用美国Enzo公司产品。本实验室通过美国病理学家协会(College of American Pathology, CAP)实验室认可,所有分析指标均通过美国病理学家协会的能力验证。

统计学处理 采用SPASS13.0统计软件进行统计分析。计数资料采用 χ^2 检验,正态分布计量资料mean \pm SD表示,组间比较采用成组资料的 t 检验;相关性分析采用Person积矩相关分析;非正态分布计量资料采用中位数(P25, P75)表示,组间比较采用Wilcoxon秩和检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料 HRS组中男30例,女8例,平均年龄(60 \pm 13)岁。HRS组和非HRS组一般资料比较(表1)。表1结果显示:两组的年龄、性别、肝硬化病因、child-pugh分级差异无统计学意义(t 或 χ^2 分别为0.74, 0.03, 0.18, 0.89, $P>0.05$)。HRS组感染发生率为73.6%,高于非HRS组的29.2%($\chi^2 = 11.91$, $P<0.05$);HRS组的SIRS评分为 2.1 ± 1.1 ,高于非HRS组的 0.6 ± 0.6 ($t = 5.64$, $P<0.05$)。

2.2 HRS组和非HRS组实验室指标分析 两组实验指标测定结果(表2)。表2结果显示: HRS组血清Urea、Crea、Cys. C及K水平分别为 $29.9 \text{ mmol/L} \pm 11.1 \text{ mmol/L}$ 、 $417.1 \text{ }\mu\text{mol/L} \pm 97.4 \text{ }\mu\text{mol/L}$ 、 $3.5 \text{ mg/L} \pm 1.2 \text{ mg/L}$ 和 $4.78 \text{ mmol/L} \pm 0.89 \text{ mmol/L}$,明显高于非HRS组的 $4.6 \text{ mmol/L} \pm 1.0 \text{ mmol/L}$ 、 $69.2 \text{ }\mu\text{mol/L} \pm 10.3 \text{ }\mu\text{mol/L}$ 、 $1.2 \text{ mg/L} \pm 0.5 \text{ mg/L}$ 和 $3.75 \text{ mmol/L} \pm 0.38 \text{ mmol/L}$ (t 值分别为12.80、20.10、7.45、4.82, $P<0.05$),而HRS组的Na、Cl水平为 $127.9 \text{ mmol/L} \pm 6.5 \text{ mmol/L}$ 和 $91.8 \text{ mmol/L} \pm 6.7 \text{ mmol/L}$,明显低于非HRS组的 $140.3 \text{ mmol/L} \pm 2.3 \text{ mmol/L}$ 和 $105.1 \text{ mmol/L} \pm 3.7 \text{ mmol/L}$ (t 值分别为8.58、8.34, $P<0.05$),两组间ALT、AST、TBIL、DBIL差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.3 HRS组和非HRS组PCT水平分析 HRS组的PCT水平为 8.72 ng/mL (3.14 ng/mL , 31.68 ng/mL),显著高于非HRS组的 0.11 ng/mL (0.04 ng/mL , 0.45 ng/mL) ($H = 81$, $P<0.01$)。

2.4 HRS组与病例对照组PGI₂和TXA₂水平分析 按Enzo公司的试剂说明书分析两组的6-keto-PGF_{1 α} (PGI₂)和TXB₂(TXA₂),结果(表3)。表3结果显示:两组PGI₂水平差异无统计学意义($t = 1.20$, $P>0.05$),HRS组TXA₂水平高于非HRS组($t = 2.38$, $P<0.05$),而PGI₂/TXA₂水平低于非HRS组(t

表 1 肝肾综合征组与非肝肾综合征组一般资料比较

分组	HRS组	非HRS组	χ^2 或 t	P 值
n	38	41		
年龄(岁)	60 ± 13	58 ± 14	0.74	0.46
性别			0.03	0.86
男	30	33		
女	8	8		
肝硬化病因			0.18	0.67
HBV	32	34		
HCV	2	4		
原发性胆汁性肝硬化	2	2		
酒精性肝硬化	2	1		
child-pugh分级			0.89	0.477
B	11	16		
C	27	25		
感染率 n (%)	73.6%	29.2%	11.91	0.01 ^a
肺部感染	11(28.9)	6(14.6)		
SBP	9(23.6)	3(7.3)		
胆道感染	6(15.7)	2(4.9)		
原因不明	2(5.4)	1(2.5)		
无感染	10(26.4)	29(70.8)		
SIRS评分	2.1 ± 1.1	0.6 ± 0.6	5.64	0.00 ^c
体温(°C)	37.4 ± 1.4	36.7 ± 0.4	1.02	
呼吸(/min)	23 ± 3	20 ± 1	3.84	
心率(/min)	96 ± 12	81 ± 9	4.56	
WBC($10^9/L$)	13.4 ± 9.2	4.7 ± 2.3	$t = 4.37$	

^a $P < 0.05$, ^c $P < 0.05$ vs 对照组. HRS: 肝肾综合征; HBV: 乙型病毒性肝炎; HCV: 丙型病毒性肝炎; SBP: 自发性细菌性腹膜炎; WBC: 白细胞.

= 2.29, $P < 0.05$).

2.5 HRS组PCT与PGI₂/TXA₂相关性分析 分析HRS组PCT与PGI₂/TXA₂相关性, 结果为 $r = -0.64$, $P = 0.002$, 表明PCT与PGI₂/TXA₂呈负相关关系.

3 讨论

由于我国肝炎病毒的高感染率以及酒精性肝病不断增加, 导致肝硬化的患病率处于上升的趋势. 肝硬化患者有多种并发症产生, 如HRS、肝性脑病及消化系出血等^[9]. HRS是肝硬化患者最主要最严重的并发症之一, 表现为扩血管物质增加以及多种激素调节失调^[10], 引发肾脏血流灌注减少、肾小球滤过率下降致肾脏功能性衰竭, 其特点为肾前性、功能性损伤^[11]. HRS形成的确切机制并不清楚, 目前主要有两种学说, 即“充盈灌注不足”和“泛溢学说”, 涉及的因素包括门静脉高压、内脏血管扩张、钠水潴留及继发高醛固酮血症等. 英国^[12]、美国^[13]和欧洲^[14]的肝硬化腹水治疗导则中均认为HRS的形成是内

脏血管扩张引起有效血容量降低, 导致肾脏血管强烈收缩从而引发HRS的发生. 但是基于这些理论的治疗方法效果均不理想.

降钙素原是降钙素的前体, 正常情况下由甲状腺C细胞产生, 并在细胞内经过特异性蛋白水解过程生成降钙素, 正常人血清PCT水平低于0.05 ng/mL^[15]. 在内毒素刺激下, 机体多种细胞和器官均可表达PCT, 由于这些细胞缺乏特异性蛋白水解酶, PCT不能降解为CT, 血液中PCT表现为升高, PCT水平可用于反映血液中内毒素水平^[16-18]. 本研究结果显示: HRS组感染发生率、SIRS评分、PCT明显高于非HRS组($P < 0.05$). 肝硬化患者易发生肠源性内毒素血症, 其可能原因有二: 一方面肝脏功能减退及枯否氏细胞数量及功能的降低, 使肝脏清除外来的异物(主要是来至肠道的病原微生物和毒素)的能力低下, 从而易发生感染和内毒素血症; 另一方面, 肝硬化患者因门静脉高压导致胃肠道水肿, 肠道黏膜屏障受损, 同时胃肠蠕动减弱易发生感染并

■创新盘点

感染引发HRS的主要原因可能是内毒素通过调节花生四烯酸代谢引起血管舒张和收缩平衡失衡引起, 不是炎症介质诱导NO合成增加引起.

■应用要点

积极预防感染、保持肠道功能正常减少肠内毒素的产生和吸收,从而阻止内毒素血症的发生,是阻止HRS发生发展的关键。

表 2 肝肾综合征组与非肝肾综合征组肝、肾功能及电解质分析

	HRS组	非HRS组	<i>F</i> 值或 <i>t</i> 值	<i>P</i> 值
<i>n</i>	38	41		
ALT(U/L)	44(24,74)	31(17,63)	854	0.24
AST(U/L)	81(39,141)	60(33,89)	268	0.164
TBIL(μ mol/L)	267.23 \pm 48.19	249.14 \pm 67.58	0.57	0.63
DBIL(μ mol/L)	187.38 \pm 57.23	169.24 \pm 29.47	0.73	0.46
Urea(mmol/L)	29.9 \pm 11.1	4.6 \pm 1.0	12.80	0.00 ^a
Crea(μ mol/L)	471.1 \pm 97.4	69.2 \pm 10.3	20.10	0.00 ^a
Cys.C(mg/L)	3.5 \pm 1.2	1.2 \pm 0.5	7.45	0.00 ^a
Na(mmol/L)	127.9 \pm 6.5	140.3 \pm 2.3	8.58	0.00 ^a
K(mmol/L)	4.78 \pm 0.89	3.75 \pm 0.38	4.82	0.00 ^a
Cl(mmol/L)	91.8 \pm 6.7	105.1 \pm 3.7	8.34	0.00 ^a

^a*P*<0.05 vs 对照组。HRS: 肝肾综合征; ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶; TBIL: 总胆红素; DBIL: 直接胆红素。

表 3 肝肾综合征组与非肝肾综合征组6-keto-PGF_{1 α} 和TXB₂分析

	HRS组	非HRS组	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
<i>n</i>	38	41		
6-keto-PGF _{1α} (PGI ₂)(pg/mL)	32517 \pm 6023	29642 \pm 3343	1.20	0.25 ^a
TXB ₂ (TXA ₂)(pg/mL)	7432 \pm 2186	5064 \pm 2007	2.38	0.029 ^a
PGI ₂ /TXA ₂	4.79 \pm 1.58	7.47 \pm 2.36	2.26	0.037 ^a

^a*P*<0.05 vs 对照组。HRS: 肝肾综合征; PGI₂: 花生四烯酸代谢产物前列腺素; TXA₂: 血栓素A₂。

产生大量内毒素,肠道内细菌及内毒素发生移位导致感染和内毒素血症。本研究中HRS组的PCT平均水平超过2 ng/mL,表明确实存在内毒素血症。符合脓毒血症的范畴;同时HRS患者组SIRS评分平均值为2.1 \pm 1.1,超过2的水平,表明HRS组患者存在全身炎症反应。

PGI₂和TXA₂属于前列腺素类因子,均来源于花生四烯酸代谢产物,在体内经过一系列的酶促反应生成,PGI₂具有舒张肾脏血管的作用,而TXA₂具有收缩肾血管作用,PGI₂和TXA₂是体内一对主要的维持血管舒张和收缩平衡的活性分子^[19,20],其受体在肾脏系膜细胞和平滑肌细胞广泛存在,正常情况下PGI₂/TXA₂水平维持动态平衡。文献报道^[21,22]认为内毒素通过诱导COX-2等花生四烯酸代谢酶的活性进而影响PGI₂和TXA₂的生成。本研究结果显示:HRS组TXA₂水平高于非HRS组(*P*<0.05),PGI₂水平在两组间无差异(*P*>0.05),而PGI₂/TXA₂水平低于对照组(*P*<0.05),即HRS组血管舒张和收缩能力失

衡,表现为收缩血管能力增强,使肾灌注不足引发HRS发生。同时,HRS组PCT与PGI₂/TXA₂水平呈负相关关系(*P*<0.05),表明内毒素可能参与了花生四烯酸代谢。有研究认为^[23,24]肝硬化患者发生HRS的可能原因与感染引发细胞因子、肿瘤坏死因子及白细胞介素等炎性介质释放有关,他们引起内皮细胞合成NO增加,扩张内脏血管,使有效血容量不足,导致HRS发生。作者前期研究^[3]发现NO并不是引发HRS的关键因素,与国外的研究结果一致^[25]。通过本研究,作者认为感染引发HRS的主要原因可能是内毒素通过调节花生四烯酸代谢引起血管舒张和收缩平衡失衡引起,不是炎症介质诱导NO合成增加引起。

另外,值得注意的是HRS组血Na水平明显低于非HRS组(*P*<0.05)。在我们的前期研究中已发现低钠血症与HRS关系密切^[26],其可能的机制是低钠血症激活肾素-血管紧张素-醛固酮系统,肾素、血管紧张素及醛固酮具有强烈的肾动脉收缩作用,从而引发HRS发生。低钠血症在HRS发

生中作用需要进一步的研究。

通过本研究, 结合国内外的文献, 作者认为: 肝硬化患者易发生感染和内毒素血症, 内毒素通过影响花生四烯酸代谢, 导致PGI₂和TXA₂合成异常, 使肾系膜细胞和平滑肌细胞过度收缩, 肾脏灌注不足从而引发HRS。因此, 一方面积极预防和治疗感染减少内毒素的产生; 另一方面通过酸化肠道等方法增强肠蠕动, 保持肠道通畅降低肠源性内毒素的产生和吸收是阻止HRS发生发展的关键, 同时深入研究内毒素调节花生四烯酸代谢的详细机制, 早日揭开HRS的发生机制, 为HRS的预防和治疗提供理论依据。

4 参考文献

- Wong F. Hepatorenal syndrome: current management. *Curr Gastroenterol Rep* 2008; 10: 22-29 [PMID: 18417039]
- Angeli P, Merkel C. Pathogenesis and management of hepatorenal syndrome in patients with cirrhosis. *J Hepatol* 2008; 48 Suppl 1: S93-103 [PMID: 18304678 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.01.010]
- 李贵星, 贺勇, 罗通行, 高宝秀, 聂鑫, 余萍, 张焕强. 一氧化氮水平、低钠血症和心功能对肝肾综合征发病的影响. *中华医学杂志* 2011; 91: 2534-2537
- 郭莲怡, 刘沛. 肝肾综合征肾血管收缩机制的研究进展. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 982-986
- 张焕强, 聂鑫, 吴斌, 宋昊岚, 高宝秀, 罗通行, 胥劲, 李贵星. 内毒素血症与肝肾综合征的关系研究. *实用肝脏病杂志* 2012; 15: 539-541.
- Font-Nieves M, Sans-Fons MG, Gorina R, Bonfill-Teixidor E, Salas-Pédomo A, Márquez-Kisinousky L, Santalucia T, Planas AM. Induction of COX-2 enzyme and down-regulation of COX-1 expression by lipopolysaccharide (LPS) control prostaglandin E2 production in astrocytes. *J Biol Chem* 2012; 287: 6454-6468 [PMID: 22219191 DOI: 10.1074/jbc.M111.327874]
- Salerno F, Gerbes A, Ginès P, Wong F, Arroyo V. Diagnosis, prevention and treatment of hepatorenal syndrome in cirrhosis. *Gut* 2007; 56: 1310-1318 [PMID: 17389705 DOI: 10.1136/gut.2006.107789]
- 华医学会外科学分会胆道外科学组. 急性胆道系统感染的诊断和治疗指南(2011版). *中华消化外科杂志* 2011; 10: 9-13
- García-Pagán JC, Caca K, Bureau C, Laleman W, Appenrodt B, Luca A, Abalde JG, Nevens F, Vinel JP, Mössner J, Bosch J. Early use of TIPS in patients with cirrhosis and variceal bleeding. *N Engl J Med* 2010; 362: 2370-2379 [PMID: 20573925 DOI: 10.1056/NEJMoa0910102]
- Cárdenas A, Gines P. Hepatorenal syndrome. *Clin Liver Dis* 2006; 10: 371-385, ix-x [PMID: 16971267 DOI: 10.1016/j.cld.2006.05.006]
- Krag A, Bendtsen F, Henriksen JH, Møller S. Low cardiac output predicts development of hepatorenal syndrome and survival in patients with cirrhosis and ascites. *Gut* 2010; 59: 105-110 [PMID: 19837678 DOI: 10.1136/gut.2009.180570]
- Moore KP, Aithal GP. Guidelines on the management of ascites in cirrhosis. *Gut* 2006; 55 Suppl 6: vi1-v12 [PMID: 16966752 DOI: 10.1136/gut.2006.099580]
- Runyon BA. Management of adult patients with ascites due to cirrhosis: an update. *Hepatology* 2009; 49: 2087-2107 [PMID: 19475696 DOI: 10.1002/hep.22853]
- . EASL clinical practice guidelines on the management of ascites, spontaneous bacterial peritonitis, and hepatorenal syndrome in cirrhosis. *J Hepatol* 2010; 53: 397-417 [PMID: 20633946 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.05.004]
- Harbarth S, Holeckova K, Froidevaux C, Pittet D, Ricou B, Grau GE, Vadas L, Pugin J. Diagnostic value of procalcitonin, interleukin-6, and interleukin-8 in critically ill patients admitted with suspected sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 396-402 [PMID: 11500339 DOI: 10.1164/ajrccm.164.3.2009052]
- Zannoni A, Giunti M, Bernardini C, Gentilini F, Zaniboni A, Bacci ML, Forni M. Procalcitonin gene expression after LPS stimulation in the porcine animal model. *Res Vet Sci* 2012; 93: 921-927 [PMID: 22001598 DOI: 10.1016/j.rvsc.2011.09.011]
- Endo S, Aikawa N, Fujishima S, Sekine I, Kogawa K, Yamamoto Y, Kushimoto S, Yukioka H, Kato N, Totsuka K, Kikuchi K, Ikeda T, Ikeda K, Yamada H, Harada K, Satomura S. Usefulness of procalcitonin serum level for the discrimination of severe sepsis from sepsis: a multicenter prospective study. *J Infect Chemother* 2008; 14: 244-249 [PMID: 18574663 DOI: 10.1007/s10156-008-0608-1]
- de Kruif MD, Lemaire LC, Giebelen IA, Struck J, Morgenthaler NG, Papassotiriou J, Elliott PJ, van der Poll T. The influence of corticosteroids on the release of novel biomarkers in human endotoxemia. *Intensive Care Med* 2008; 34: 518-522 [PMID: 18080111 DOI: 10.1007/s00134-007-0955-x]
- Ricciotti E, FitzGerald GA. Prostaglandins and inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011; 31: 986-1000 [PMID: 21508345 DOI: 10.1161/ATVBAHA.110.207449]
- Britt RD, Locy ML, Tipple TE, Nelin LD, Rogers LK. Lipopolysaccharide-induced cyclooxygenase-2 expression in mouse transformed Clara cells. *Cell Physiol Biochem* 2012; 29: 213-222 [PMID: 22415090 DOI: 10.1159/000337602]
- Shoeb M, Yadav UC, Srivastava SK, Ramana KV. Inhibition of aldose reductase prevents endotoxin-induced inflammation by regulating the arachidonic acid pathway in murine macrophages. *Free Radic Biol Med* 2011; 51: 1686-1696 [PMID: 21856412 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.07.024]
- Mackelaite L, Alsaukas ZC, Ranganna K. Renal failure in patients with cirrhosis. *Med Clin North Am* 2009; 93: 855-69, viii [PMID: 19577118 DOI: 10.1016/j.mcna.2009.03.003]
- Turban S, Thuluvath PJ, Atta MG. Hepatorenal syndrome. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 4046-4055 [PMID: 17696221]
- Thabut D, Massard J, Gangloff A, Carbonell N, Francoz C, Nguyen-Khac E, Duhamel C, Lebre C, Poynard T, Moreau R. Model for end-stage liver disease score and systemic inflammatory response are major prognostic factors in patients with cirrhosis and acute functional renal failure. *Hepatology* 2007; 46: 1872-1882 [PMID: 17972337 DOI: 10.1002/hep.21920]
- Wong F, Raina N, Richardson R. Molecular ad-

同行评价

本文学术水平较高, 具有临床治疗应用指导意义。

sorbent recirculating system is ineffective in the management of type 1 hepatorenal syndrome in patients with cirrhosis with ascites who have failed vasoconstrictor treatment. *Gut* 2010; 59: 381-386

[PMID: 19710033 DOI: 10.1136/gut.2008.174615]
26 宋昊岚, 贺勇, 聂鑫, 吴斌, 罗通行, 高宝秀, 张国富, 李贵星. 重度低钠血症与肝肾综合征的关系研究. *实用医学杂志* 2012; 28: 3582-3584

编辑 黄新珍 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。

取石球囊负压吸引造影法辅助导丝插入在胆管结石嵌顿中的应用

陈莉丽, 卜平, 陈超伍, 刘军, 陈娟, 邓登豪

陈莉丽, 卜平, 陈超伍, 刘军, 陈娟, 邓登豪, 扬州大学临床医学院附属医院消化内科 江苏省苏北人民医院 江苏省扬州市 225001

陈莉丽, 医师, 主要从事胆胰疾病及反流性食管炎方面的研究。

作者贡献分布: 课题设计由陈超伍、邓登豪及卜平设计; 病历收集由陈超伍与刘军收集; 数据分析由陈莉丽与陈娟统计; 论文由陈莉丽撰写。

通讯作者: 邓登豪, 主任医师, 225001, 江苏省扬州市南通西路 98号, 扬州大学临床医学院附属医院消化内科, 江苏省苏北人民医院. dengdenghao@medmail.com.cn

电话: 0514-87373275

收稿日期: 2013-07-13 修回日期: 2013-08-10

接受日期: 2013-08-23 在线出版日期: 2013-10-18

Application of balloon suction radiography-assisted guidewire insertion in management of incarcerated stones in the common bile duct

Li-Li Chen, Ping Bu, Chao-Wu Chen, Jun Liu, Juan Chen, Deng-Hao Deng

Li-Li Chen, Ping Bu, Chao-Wu Chen, Jun Liu, Juan Chen, Deng-Hao Deng, Department of Gastrointestinal Medicine, Subei People's Hospital of Jiangsu Province; Clinical Medical College of Yangzhou University, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Deng-Hao Deng, Chief Physician, Department of Gastrointestinal Medicine, Subei People's Hospital of Jiangsu Province; Clinical Medical College of Yangzhou University, 98 Nantong West Road, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China. dengdenghao@medmail.com.cn

Received: 2013-07-13 Revised: 2013-08-10

Accepted: 2013-08-23 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To assess the application of balloon suction radiography-assisted guidewire insertion in endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) in patients with incarcerated stones in the upper or middle segment of the common bile duct.

METHODS: Clinical data for 15 patients with incarcerated stones in the upper or middle segment of the common bile duct who underwent radiography-assisted guidewire insertion in

ERCP at our hospital from June 2005 to January 2012 were retrospectively analyzed.

RESULTS: Radiography was successful in all 15 patients, and the guidewire went through the incarcerated stones in each patient. After ERCP, one patient developed acute pancreatitis and hyperamylasemia but recovered after receiving medical treatment for 2-5 d. No bleeding or perforation occurred.

CONCLUSION: Balloon suction radiography-assisted guidewire insertion can reduce operative time and improve the success rate and safety in patients with incarcerated stones in the common bile duct.

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

Key Words: Endoscopic retrograde cholangiopancreatography; Balloon suction radiography; Incarcerated stones

Chen LL, Bu P, Chen CW, Liu J, Chen J, Deng DH. Application of balloon suction radiography-assisted guidewire insertion in management of incarcerated stones in the common bile duct. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3139-3141 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3139.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3139>

摘要

目的: 探讨取石球囊负压吸引造影法辅助导丝插入在内镜逆行胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangio pancreatography, ERCP)胆管中上段结石嵌顿中的应用。

方法: 回顾性分析2005-06/2012-01我院收治的15例ERCP术中发现胆管结石嵌顿于胆管中上段的患者临床资料,我们创新运用取石球囊负压吸引造影法辅助导丝插入。

结果: 本组患者中, ERCP造影成功率为100%(15/15), 皆成功将导丝越过嵌顿结石, 术

■背景资料

随着内镜逆行胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangio pancreatography, ERCP)技术广泛应用于胆胰疾病的诊断和治疗, 而在取石过程中常容易遇到困难, 尤其有结石嵌顿在胆管中上段, 导丝无法越过结石时, 容易导致操作时间过长, 并发症增多或者取石失败。

■同行评议者

刘超, 教授, 主任医师, 中山大学孙逸仙纪念医院(附属第二医院)肝胆胰外科

■研发前沿

我们创新使用取石球囊负压吸引造影法辅助导丝插入,提高了ERCP成功率,缩短了操作时间,减少了并发症。

后发生胰腺炎1例,高淀粉酶血症,保守治疗2-5 d后痊愈,未发生出血和穿孔并发症。

结论: 取石球囊负压吸引法辅助导丝插入在合并胆管中上段结石嵌顿的患者中简单易行,提高成功率,减少操作时间,是一种安全有效的操作方法。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 内镜逆行胰胆管造影术; 球囊负压吸引造影法; 结石嵌顿

核心提示: 取石球囊负压吸引造影法辅助导丝插入法能够提高插管成功率和取石成功率。

陈莉丽, 卜平, 陈超伍, 刘军, 陈娟, 邓登豪. 取石球囊负压吸引造影法辅助导丝插入在胆管结石嵌顿中的应用. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3139-3141 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3139.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3139>

0 引言

随着内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)技术广泛应用于胆胰疾病的诊断和治疗,而在取石过程中常遇到困难,尤其有结石嵌顿在胆管中上段,导丝无法越过结石时,容易导致操作时间过长,并发症增多或者取石失败。我们创新使用取石球囊负压吸引造影法辅助导丝插入,提高了ERCP成功率,缩短了操作时间,减少了并发症。本研究回顾性分析2005-06/2012-01我科收治的15例ERCP术中发现胆管结石嵌顿于胆管中上段的患者临床资料,探讨对于胆管中上段嵌顿结石使用改进导丝插入方法(取石球囊负压吸引造影法辅助导丝插入)在ERCP操作中的应用。

1 材料和方法

1.1 材料 我科2005-06/2012-01间行ERCP的患者中,ERCP术中发现结石嵌顿于胆管中上段患者15例,男9例,女6例;年龄39-79岁,中位年龄63岁。ERCP检查前皆行B超或磁共振胰胆管造影(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP),临床诊断为胆总管结石15例,直径>1.5 cm 2例,1.2-1.5 cm 8例,<1.2 cm 5例;单枚结石10例,2枚结石3例,多枚结石2例;其中合并胆管炎8例,急性胰腺炎1例。

1.2 方法 应用Olympus-TJF260或者Olympus-JF240电子十二指肠镜检查。患者取左侧俯卧位,

采用拉直法进镜,在导丝引导下进行选择性插管,直至进入胆管。插管造影成功后,如发现结石嵌顿在胆总管中上段,通过推拉镜身拉直胆管、调整插管方向插入导丝,如仍无法使导丝越过结石,在导丝引导下将取石球囊插至结石下方,充气至胆管相应直径,在外拉气囊的同时,注射造影剂,同时尝试导丝插入,直至导丝越过结石,留置导丝予以乳头括约肌切开,或行柱状气囊扩张乳头至相应直径,采用球囊和/或网篮取尽结石。如结石较大无法取出,可予以碎石网篮碎石或者予以导丝引导下置入圣诞树支架。术中常规予以鼻胆管引流。

2 结果

本组15例胆管中上段结石嵌顿患者ERCP插管成功率为100%(15/15),皆通过取石球囊负压吸引造影法辅助导丝插入成功将导丝越过嵌顿结石。15例患者均进行内镜下乳头括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST)治疗,乳头行小至中切口,部分患者根据结石情况给予柱状气囊扩张。其中1例予以碎石网篮碎石后取出,1例结石过大,考虑取石困难,给予放置胆管塑料支架;其余成功取石,术后均给予留置经鼻胆管1-3 d后拔除鼻胆管。手术时间<15 min 6例,15-30 min 6例,>30 min 3例,平均操作时间25.2 min,ERCP术后发生胰腺炎1例,胆管炎1例,行保守治疗3-5 d后痊愈,未发生出血或穿孔等严重并发症,无死亡病例。

3 讨论

导丝作为ERCP中常用器械之一,在ERCP中发挥越来越重要的作用,成为ERCP术中的“生命线”,在导丝引导下可进行乳头插管、插入弓形刀、球囊清理、碎石、放置鼻胆管等大部分ERCP的常规操作,同时可以减少术后胰腺炎、高淀粉酶血症、穿孔、出血等并发症^[1-4],但在合并胆管中上段结石嵌顿的情况下,导丝有时无法越过结石而导致其他操作无法完成,最终导致操作失败。此时可通过推拉镜身拉直胆道、调整弓形刀深度来调整插导丝方向,如结石嵌顿较紧,则仍不能成功,从而导致操作时间延长,容易合并胆道出血、穿孔、术后胰腺炎、高淀粉酶血症等并发症。

本组所有病例皆短时间内顺利将导丝越过嵌顿结石,从而进行常规取石及支架置入术,术后无穿孔和出血等严重并发症。这主要得益于

插管时我们运用球囊负压吸引法辅助导丝插入的方法, 这种方法以往未见报道. 该法可以显著提高中上段胆管结石嵌顿的操作成功率.

我们的体会如下: 首先常规乳头插管, 胆道造影, 如发现结石位于胆管中上段, 且造影时无明显移动, 予以常规导丝插入不能越过, 通过推拉镜身拉直胆道、调整弓形刀深度来调整插导丝方向, 如仍不能越过结石, 我们在导丝引导下将取石球囊插至结石下方, 充气至胆管相应直径(等于或者略大于胆管直径)同时注入造影剂增加胆管压力, 起到一定扩张胆管作用, 再通过外拉球囊, 产生负压可使结石松动, 同时进行导丝插入, 通过胆管壁与结石之间产生一定空隙, 导丝常能通过, 增加了操作的成功率.

我们认为成功插管的具体机制可能如下: (1)当气囊充气后, 结石下方胆道扩张, 增加了结石松动的可能; (2)同时注入造影增加胆管压力, 起到一定扩张胆管作用, 使胆管壁与结石之间产生一定空隙; (3)外拉气囊, 使得气囊与结石之间形成负压, 导致结石下移; (4)外拉气囊使得胆管变直, 导丝容易沿结石上方插入; (5)导丝在气囊引导下插入, 使得导丝位于胆管中央, 改变了原有的导丝方向.

术后胰腺炎(PEP)或者高淀粉酶血症在插管困难患者中很常见, 相关报道为1.3%-33%左右^[5-9], 本研究中, 总并发症为13.3%(2/15), 术后胰腺炎和高淀粉酶血症的发生率皆为6.7%, 和相关报道的一致. 在ERCP术中, 长时间操作是影响PEP的重要因素, 为术后并发症的独立危险因素^[10-13], 本研究中, 平均ERCP时间为25.2 min, 和冯佳等报道的19.3-35.3 min大致相当^[14,15], 鉴于本组皆为胆管结石梗阻患者, 说明本方法能够一定程度上减少操作时间, 减少术后并发症的发生.

总之, 对结石嵌顿于胆管中上段的患者, 可采取取石球囊负压吸引造影法辅助导丝插入, 简单易行, 提高操作成功率, 减少操作时间, 降低并发症, 是一种安全有效的操作方法.

4 参考文献

1 Lella F, Bagnolo F, Colombo E, Bonassi U. A simple way of avoiding post-ERCP pancreatitis. *Gastrointest Endosc* 2004; 59: 830-834 [PMID: 15173796 DOI: 10.1016/S0016-5107(04)00363-3]

- 2 Sutton VR, Hong MK, Thomas PR. Using the 4-hour Post-ERCP amylase level to predict post-ERCP pancreatitis. *JOP* 2011; 12: 372-376 [PMID: 21737899]
- 3 Tse F, Yuan Y, Moayyedi P, Leontiadis GI. Guide wire-assisted cannulation for the prevention of post-ERCP pancreatitis: a systematic review and meta-analysis. *Endoscopy* 2013; 45: 605-618 [PMID: 23807804 DOI: 10.1055/s-0032-1326640]
- 4 Belverde B, Frattaroli S, Carbone A, Viceconte G. Double guidewire technique for ERCP in difficult bile cannulation: experience with 121 cases. *Ann Ital Chir* 2012; 83: 391-393 [PMID: 23064299]
- 5 张筱凤, 张啸. ERCP后高淀粉酶血症和胰腺炎的相关危险因素. *中华消化内镜杂志* 2004; 21: 287-288
- 6 Bailey AA, Bourke MJ, Kaffes AJ, Byth K, Lee EY, Williams SJ. Needle-knife sphincterotomy: factors predicting its use and the relationship with post-ERCP pancreatitis (with video). *Gastrointest Endosc* 2010; 71: 266-271 [PMID: 20003969 DOI: 10.1016/j.gie.2009.09.024]
- 7 Ito K, Fujita N, Noda Y, Kobayashi G, Horaguchi J, Takasawa O, Obana T. Relationship between post-ERCP pancreatitis and the change of serum amylase level after the procedure. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 3855-3860 [PMID: 17657841]
- 8 Abdel Aziz AM, Lehman GA. Pancreatitis after endoscopic retrograde cholangio-pancreatography. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 2655-2668 [PMID: 17569133]
- 9 Feurer ME, Adler DG. Post-ERCP pancreatitis: review of current preventive strategies. *Curr Opin Gastroenterol* 2012; 28: 280-286 [PMID: 22450899 DOI: 10.1097/MOG.0b013e3283528e68]
- 10 Ito K, Fujita N, Kanno A, Matsubayashi H, Okaniwa S, Nakahara K, Suzuki K, Enohara R. Risk factors for post-ERCP pancreatitis in high risk patients who have undergone prophylactic pancreatic duct stenting: a multicenter retrospective study. *Intern Med* 2011; 50: 2927-2932 [PMID: 22185981 DOI: 10.2169/internalmedicine.50.6235]
- 11 陈小微, 洪万东, 吴小丽, 黄庆科, 朱启槐. 治疗性ERCP术后胰腺炎危险因素的Logistic回归分析. *实用医学杂志* 2012; 28: 614-615
- 12 Iorgulescu A, Sandu I, Turcu F, Iordache N. Post-ERCP acute pancreatitis and its risk factors. *J Med Life* 2013; 6: 109-113 [PMID: 23599832]
- 13 Swahn F, Nilsson M, Arnelo U, Löhr M, Persson G, Enochsson L. Rendezvous cannulation technique reduces post-ERCP pancreatitis: a prospective nationwide study of 12,718 ERCP procedures. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 552-559 [PMID: 23419386 DOI: 10.1038/ajg.2012.470]
- 14 冯佳, 令狐恩强, 杨云生, 李闻, 蔡逢春, 秦治初. ERCP插管操作模式改变的回顾性分析. *中华消化内镜杂志* 2009; 26: 283-286
- 15 Tammaro S, Caruso R, Pallone F, Monteleone G. Post-endoscopic retrograde cholangio-pancreatography pancreatitis: is time for a new preventive approach? *World J Gastroenterol* 2012; 18: 4635-4638 [PMID: 23002332 DOI: 10.3748/wjg.v18.i34.4635]

■同行评价

ERCP术中, 中段胆总管结石确实是比较难处理, 本文作者采用自创的取石球囊负压吸引造影法辅助导丝插入法大大提高了插管成功率和取石成功率, 具有一定的创新性和临床的实用价值.

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



阑尾黏液腺癌10例

钟邦华, 李昱骥, 董明, 孔凡民

■背景资料

原发性阑尾恶性肿瘤非常少见, 仅占胃肠道恶性肿瘤的0.4%-1.0%。阑尾黏液腺癌是阑尾恶性肿瘤的主要病理类型。由于其起病隐匿, 无特异表现, 术前临床上很难明确诊断, 多在术中探查发现或经病理检查证实。

钟邦华, 李昱骥, 董明, 孔凡民, 中国医科大学附属第一医院胃肠外科 辽宁省沈阳市 110001

钟邦华, 医师, 主要从事胃肠相关疾病的研究。

作者贡献分布: 数据收集统计与论文撰写由钟邦华完成; 论文设计、数据审核及论文审阅修改由李昱骥与孔凡民完成; 董明完成最终审阅并提出宝贵意见。

通讯作者: 孔凡民, 主任医师, 110001, 辽宁省沈阳市和平区南京北路155号, 中国医科大学附属第一医院胃肠外科。

kong_fanmin@yahoo.com.cn

电话: 024-83282881

收稿日期: 2013-07-15 修回日期: 2013-08-12

接受日期: 2013-08-23 在线出版日期: 2013-10-18

Diagnosis and treatment of mucous adenocarcinoma of the appendix: Our experience with 10 cases

Bang-Hua Zhong, Yu-Ji Li, Ming Dong, Fan-Min Kong

Bang-Hua Zhong, Yu-Ji Li, Ming Dong, Fan-Min Kong, Department of Gastrointestinal Surgery, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Correspondence to: Fan-Min Kong, Professor, Department of Gastrointestinal Surgery, the First Hospital of China Medical University, 155 Nanjing North Road, Heping District, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. kong_fanmin@yahoo.com.cn

Received: 2013-07-15 Revised: 2013-08-12

Accepted: 2013-08-23 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To investigate the diagnosis and treatment of mucous adenocarcinoma of the appendix.

METHODS: The clinical data for 10 patients with mucous adenocarcinoma of the appendix were retrospectively analyzed.

RESULTS: Of 10 patients, 8 were diagnosed with a mass in the lower right abdomen (including 4 cases suspected to have mucous neoplasm of the appendix), 1 with appendicitis, and 1 with intestinal intussusception; 7 underwent right hemicolectomy (including 1 case undergoing subsequent right hemicolectomy), 1 underwent cytoreductive surgery, 1 received exploratory lapotomy, and 1 underwent partial cecectomy. The patients were followed for 4 to 66 mo. One

case was lost to follow-up, one patient died, and the remaining 8 cases showed no relapse or metastasis.

CONCLUSION: Combined ultrasonography, CT and colonoscopy are helpful in diagnosing mucous adenocarcinoma of the appendix. A final diagnosis depends on pathology. Right hemicolectomy should be performed once a final diagnosis is made.

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

Key Words: Mucous adenocarcinoma of the appendix; Right hemicolectomy

Zhong BH, Li YJ, Dong M, Kong FM. Diagnosis and treatment of mucous adenocarcinoma of the appendix: Our experience with 10 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3142-3145 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3142.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3142>

摘要

目的: 探讨阑尾黏液腺癌的临床诊断和治疗。

方法: 回顾分析10例阑尾黏液腺癌患者的临床资料。

结果: 10例患者中8例术前诊断为右下腹肿物(其中4例考虑阑尾黏液性肿瘤), 1例诊断为阑尾炎, 1例诊断为肠套叠。7例行右半结肠切除术(其中1例为补充右半结肠切除术); 1例行减瘤术、1例行剖腹探查术; 1例行盲肠部分切除术。随访: 随访时间4-66 mo, 其中1例失访, 1例死亡, 余8例无复发转移。

结论: 术前结合超声、CT、肠镜等有利于阑尾黏液腺癌的诊断, 确诊依赖于术中病理检查。对于明确诊断者行右半结肠切除术, 效果良好。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 阑尾黏液腺癌; 右半结肠切除术

■同行评议者

关玉盘, 教授, 首都医科大学附属北京朝阳医院消化科

核心提示: 阑尾切除术多为低年资住院医师完成, 提高对阑尾黏液腺癌的认识, 将有助于减少误诊及漏诊。

钟邦华, 李昱骥, 董明, 孔凡民. 阑尾黏液腺癌10例. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3142-3145 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3142.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3142>

0 前言

原发性阑尾恶性肿瘤非常少见, 阑尾黏液腺癌是阑尾恶性肿瘤的主要病理类型. 由于其起病隐匿, 无特异表现, 术前临床上很难明确诊断, 多在术中探查发现或经病理检查证实. 我院2007-01/2012-09共收治阑尾黏液腺癌10例, 本文对其临床资料进行了回顾分析.

1 材料和方法

1.1 材料 10例患者中男4例, 女6例, 平均年龄54.6岁. 以右下腹肿物为主诉就诊者8例(80%), 伴右下腹痛者5例(50%). 查体均有不同程度的右下腹固定压痛, 扣及右下腹肿物者8例(80%). 10例患者中行B超检查9例, 仅1例提示阑尾黏液囊肿, 余8例提示右下腹肿物. 行计算机断层扫描(computed tomography, CT)检查7例, 其中1例提示阑尾肿瘤. 行肠镜检查者3例, 其中2例提示阑尾开口处隆起性病变. 因其中2例患者伴有白细胞及中性粒细胞比例升高, 分别以阑尾炎及肠套叠为诊断入院, 其余8例诊断为腹部肿物, 其中4例考虑阑尾黏液性肿瘤.

1.2 方法 10例患者均行手术治疗, 术中发现9例患者阑尾区肿物(90%), 2例腹腔内胶冻样腹水(20%), 3例阑尾腔内胶冻样物质(30%). 7例患者术中病理证实为黏液腺癌, 其中5例行右半结肠切除术, 1例行单纯阑尾切除及腹腔假黏液瘤切除术, 另1例仅行剖腹探查术. 1例术中病理诊断为阑尾黏液囊肿伴腹膜假黏液瘤形成, 行盲肠部分切除术, 而术后病理报告为阑尾黏液腺癌伴腹膜假黏液瘤形成, 安全缘阴性, 未再次手术. 1例诊断为阑尾炎行阑尾切除术, 术后病理回报为黏液腺癌, 于术后17 d再次行右半结肠切除术. 1例术中诊断为阑尾肿瘤, 行I期右半结肠切除术, 术后病理证实为黏液腺癌. 术后行folfox或xelox化疗者6例, 其中仅1例患者完成全部疗程化疗, 腹腔灌注化疗者1例.

2 结果

10例患者均痊愈出院. 术后随访9例, 随访时间4-66 mo, 平均32.6 mo, 其中1例术后4 mo死亡, 死于非肿瘤性疾病, 余无复发转移, 健康生存.

3 讨论

原发性阑尾恶性肿瘤仅占胃肠道恶性肿瘤的0.4%-1.0%^[1], 包括类癌、腺癌、印戒细胞癌和杯状细胞类癌. 其中腺癌又分为结肠型和黏液型(又称囊性)^[2,3]. 魏振军等^[4]报道黏液腺癌是主要的病理类型. 阑尾黏液腺癌的病因不明确, 好发于中老年, 男女均可发病, 女性略高于男性. 本组报告的同期病例中, 阑尾黏液腺癌占原发性阑尾腺癌的62.5%(10/16), 平均发病年龄54.6岁, 男女比例4:6.

阑尾黏液腺癌临床症状不典型, 主要表现为右下腹疼痛、腹部肿物. 其病理机制为肿瘤导致阑尾管腔狭窄, 腔内分泌物排出受阻, 黏液积聚, 腔内压力增高, 引起右下腹胀痛不适. 肿瘤长大或与周围组织粘连后常形成肿物. 当并发感染, 临床上出现右下腹痛、发热等症状, 因此可被误诊为阑尾炎或阑尾周围脓肿. 当黏液腺癌进一步发展甚至穿孔突破浆膜层, 向腹腔、盆腔内播散转移, 广泛种植在腹盆腔脏器及大小网膜表面, 粘连形成肿块, 或形成大量黏液性腹水, 此临床病变称腹膜假黏液瘤(pseudomyxoma peritonei, PMP), 且有文献^[5]已证实阑尾黏液性肿瘤是导致PMP的主要病因. 此时的临床表现有腹痛、腹胀、腹部肿物、腹水征等. 本组有8例表现为腹部肿物, 占80%; 5例有右下腹疼痛病史, 占50%, 其中1例诊断为“急性阑尾炎”; 2例术中诊断腹膜假黏液瘤.

超声作为首选的检查方法^[6], 可探查到中下腹实性或囊实性肿块及腹水, 因没有明确的诊断标准, 术前很难明确诊断, 当合并感染时容易误诊为阑尾炎^[7]. 张丽敏等^[8]认为阑尾黏液性肿瘤的CT表现有一定的特征性, 表现为: (1) 肿块往往较大, 一般呈分叶状, 囊壁及囊内分隔厚薄不均, 局部可有壁结节向腔内突入, 增强后实质部分呈不均匀中、高密度结节、花环样强化, 囊性部分不强化; (2) 病灶周围脂肪间隙因肿瘤浸润密度增高, 与周围肠道、系膜血管粘连, 并可向腹腔脏器的实质内浸润, 可推压或侵犯盲肠, 致肠壁偏侧性增厚、僵硬. 也有文献报道^[9,10]CT能提示腹膜假性黏液瘤形成. 纤维结肠

■ 研究前沿

阑尾黏液性囊腺癌少见, 既往对本病及其并发症腹膜假黏液瘤认识较少, 目前已证实阑尾黏液性肿瘤是引起腹膜假黏液瘤的主要原因.

■相关报道

阑尾黏液性囊腺癌多为个案报道, 大宗报道较少。

镜无特征性表现, 主要作用是排除结肠肿瘤、肠结核等病变, 同时有助于判断肿瘤有无肠腔内浸润。肿瘤标志物CEA、CA19-9等对阑尾黏液腺癌有辅助诊断价值。本组术前诊断阑尾黏液性肿瘤者4例(40%), 原因(1)对本病缺乏认识; (2)无特异性检查; (3)临床满足于阑尾黏液囊肿的诊断。

本病需提高认识才能提高对其诊断率。当中老年人患者有以下情况需警惕本病: (1)慢性或反复急性阑尾炎病史; (2)腹腔穿刺抽出粘稠胶冻样腹水; (3)B超和CT发现盆腹腔囊性肿块, 腹水密度较高, 有分隔; (4)结肠镜发现阑尾开口隆起、质硬、溃疡。如仍未能明确同时考虑恶性肿瘤者应及时剖腹探查。而当术中发现: (1)腹腔内有胶冻样黏液腹水; (2)阑尾增粗, 管壁增厚, 管腔内有胶冻样黏液, 应取样送快速冰冻病理检查以明确诊断。但由于肿瘤黏液分泌旺盛, 瘤细胞成分相对较少, 病理学在此时也很难判断出其良恶性, 部分患者的确诊还要依靠术后石蜡切片病理。因此, 是否腹水穿刺尚存在争议。

在术中获得病理学依据后, 首选术式是右半结肠切除术。当一期以“阑尾炎”行阑尾切除术, 而病理回报为黏液腺癌时, 二期右半结肠切除是必要的。因为单纯阑尾切除和姑息性手术易导致肿瘤复发和转移。直接浸润、播散种植是阑尾黏液腺癌主要的转移途径, 并且主要局限在腹腔内。González-Moreno等^[11]报道阑尾黏液性肿瘤淋巴途径转移仅约2%。国外文献荟萃分析^[12]统计2101例阑尾黏液腺癌患者在右半结肠切除后的5年生存率为70%, 10年生存率为65%; 即使有腹膜假黏液瘤的患者5年生存率亦可达50%。而另有文献报道^[13]姑息切除术后患者5年生存率为32%, 有显著差异。而此外女性患者术中还应探查子宫、附件是否受累, 必要时需行联合脏器切除。而术中临床高度怀疑, 但术中病理又无法确诊的情况下, 应选用何种术式则尚无文献可供参考, 我们采取的是局部扩大切除, 行回盲部切除术或盲肠部分切除术, 并达到安全缘阴性。由于黏液腺癌极易发生腔内种植, 术中应注意保护术野及切口。对于已经并发PMP的患者, 目前的术式仍存在争议。最常采用的是减瘤手术, 尽可能完整切除肿瘤, 消除腹腔内肉眼可见转移灶。此手术难度较大, 病变广泛时需要切除小肠、结肠或脾、子宫等, 且术后复发率高。但对于复发病例仍应积极手术治疗, 可延长生存时间及改善生存质量。本组病例中一期

右半结肠切除者6例, 补充右半结肠切除者1例, 减瘤术者1例, 扩大局部切除者1例, 剖腹探查者1例, 其中右半结肠切除及扩大局部切除者均获得良好生存。

有学者^[14]建议在高级别的阑尾黏液性肿瘤, 同时有腹膜转移的病例中, 推荐静脉全身化疗, 但目前尚无公认的化疗方案。而对于并发腹腔假黏液瘤的患者, 术中用0.5% 5-FU溶液反复冲洗术野, 术后早期行腹腔灌注化疗及热疗, 能提高药物对肿瘤的作用, 对肿瘤细胞更具有细胞毒性, 使肿瘤局限、包裹, 尤其适于PMP这种肿瘤细胞较浅浸润的病变, 已得到多数国内外学者的认可^[15,16]。Deraco等^[17]报道在治疗35例腹膜假黏液瘤的减瘤术期间加用丝裂霉素、顺铂(加热至42.5℃)进行热化疗, 1例在术后21 d死亡, 其余患者5年生存率达97%。本组患者采用的是folfox方案或xelox方案, 但仅1例患者完成规律序贯化疗, 但生存期无明显差异。

多次手术及广泛的腹腔病变引起不同程度肠梗阻、肠功能紊乱、感染及肿瘤穿过隔肌导致胸膜假黏液瘤等并发症是常见的致死原因。辅助化疗能否改善患者生存尚存争议, 需有待进一步研究。阑尾黏液腺癌患者的预后较结肠型阑尾腺癌患者要好。决定预后的因素主要有原发肿瘤的部位和病理组织学分级。手术治疗是阑尾黏液腺癌的首选方法, 即便对复发病例, 如果能做到姑息切除或行减瘤手术, 也将有益于患者生存。

4 参考文献

- 1 Murphy EM, Farquharson SM, Moran BJ. Management of an unexpected appendiceal neoplasm. *Br J Surg* 2006; 93: 783-792 [PMID: 16775823 DOI: 10.1002/bjs.5385]
- 2 McCusker ME, Coté TR, Clegg LX, Sobin LH. Primary malignant neoplasms of the appendix: a population-based study from the surveillance, epidemiology and end-results program, 1973-1998. *Cancer* 2002; 94: 3307-3312 [PMID: 12115365 DOI: 10.1002/cncr.10589]
- 3 Benedix F, Reimer A, Gastinger I, Mroczkowski P, Lippert H, Kube R. Primary appendiceal carcinoma--epidemiology, surgery and survival: results of a German multi-center study. *Eur J Surg Oncol* 2010; 36: 763-771 [PMID: 20561765 DOI: 10.1016/j.ejso.2010.05.025]
- 4 魏振军, 梁浩. 阑尾黏液腺癌临床资料回顾性调查分析. *人民军医杂志* 2007; 50: 604-605
- 5 Bradley RF, Stewart JH, Russell GB, Levine EA, Geisinger KR. Pseudomyxoma peritonei of appendiceal origin: a clinicopathologic analysis of 101 patients uniformly treated at a single institution, with literature review. *Am J Surg Pathol* 2006;

- 30: 551-559 [PMID: 16699309 DOI: 10.1097/01.pas.0000202039.74837.7d]
- 6 张韵华, 刘利民, 袁海霞, 李超伦, 张晖. 阑尾黏液性囊性病变的超声表现. *上海医学影像* 2011; 20: 17-19
- 7 董发进, 接连利, 刘清华. 阑尾原发性黏液性囊腺癌超声表现一例. *中华医学超声杂志(电子版)* 2008; 5: 1010-1011
- 8 张丽敏, 滕陈迪, 黄崇权, 洪瑞镇. 阑尾黏液性肿瘤的CT诊断及鉴别诊断. *放射学实践* 2011; 26: 205-208
- 9 Coulter B, Pestieau S, Hamels J, Lefebvre Y. US and CT diagnosis of complete cecocolic intussusception caused by an appendiceal mucocoele. *Eur Radiol* 2002; 12: 324-328 [PMID: 11870429 DOI: 10.1007/s003300101020]
- 10 Lam CW, Kuo SJ, Chang HC, Chen ST, Chen YL, Yang LH, Hsieh CS. Pseudomyxoma peritonei, origin from appendix: report of cases with images. *Int Surg* 2003; 88: 133-136 [PMID: 14584767]
- 11 González-Moreno S, Sugarbaker PH. Right hemicolectomy does not confer a survival advantage in patients with mucinous carcinoma of the appendix and peritoneal seeding. *Br J Surg* 2004; 91: 304-311 [PMID: 14991630 DOI: 10.1002/bjs.4393]
- 12 Turaga KK, Pappas SG, Gamblin T. Importance of histologic subtype in the staging of appendiceal tumors. *Ann Surg Oncol* 2012; 19: 1379-1385 [PMID: 22302267 DOI: 10.1245/s10434-012-2238-1]
- 13 Ito H, Osteen RT, Bleday R, Zinner MJ, Ashley SW, Whang EE. Appendiceal adenocarcinoma: long-term outcomes after surgical therapy. *Dis Colon Rectum* 2004; 47: 474-480 [PMID: 14978617]
- 14 Sugarbaker PH. New standard of care for appendiceal epithelial neoplasms and pseudomyxoma peritonei syndrome? *Lancet Oncol* 2006; 7: 69-76 [PMID: 16389186]
- 15 Sugarbaker PH. Are there curative options to peritoneal carcinomatosis? *Ann Surg* 2005; 242: 748-50; author reply 750-1 [PMID: 16244553 DOI: 10.1016/S1470-2045]
- 16 Butterworth SA, Panton ON, Klaassen DJ, Shah AM, McGregor GI. Morbidity and mortality associated with intraperitoneal chemotherapy for Pseudomyxoma peritonei. *Am J Surg* 2002; 183: 529-532 [PMID: 12034386]
- 17 Deraco M, Baratti D, Inglese MG, Allaria B, Andreola S, Gavazzi C, Kusamura S. Peritonectomy and intraperitoneal hyperthermic perfusion (IPHP): a strategy that has confirmed its efficacy in patients with pseudomyxoma peritonei. *Ann Surg Oncol* 2004; 11: 393-398 [PMID: 15070599]

■同行评价

该文章总结和分
析10例阑尾黏液
腺瘤具有很好的
临床意义. 病例选
择恰当可靠, 分析
清晰, 提高了临床
工作对阑尾恶性
肿瘤的认识.

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)

10q21基因rs10761659多态性与广西壮族人群炎症性肠病的相关性

龙伟艳, 詹灵凌, 陈兰, 吕小平

■背景资料

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种多基因复杂疾病, 自2001年由Hugot等报道了人类的第一个CD易感基因NOD2/CARD15之后, 人们通过全基因组关联性研究已证实99个IBD易感性基因位点, 其中10q21基因rs10761659多态性已被国外多项研究证实与CD的易感性相关, 但在我国汉族人群中未被证实, 尚未见报道其与广西壮族IBD的相关性。

龙伟艳, 陈兰, 吕小平, 广西医科大学第一附属医院西院消化内科 广西壮族自治区南宁市 530021

詹灵凌, 广西医科大学第一附属医院临床医学实验部 广西壮族自治区南宁市 530021

龙伟艳, 在读硕士, 主要从事炎症性肠病的研究。

广西自然科学基金资助项目, No. 桂科回0832009

广西研究生教育创新基金资助项目, No. YCSZ2012035

广西教育厅基金资助项目, No. 201203YB036

作者贡献分布: 龙伟艳与吕小平对此文所作贡献均等。此课题由龙伟艳与吕小平设计; 研究过程由龙伟艳与陈兰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由詹灵凌提供; 数据分析由龙伟艳完成; 本论文写作由龙伟艳与吕小平完成。

通讯作者: 吕小平, 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西院消化内科。

lxxp58@hotmail.com

电话: 0771-3277211

收稿日期: 2013-05-18 修回日期: 2013-09-12

接受日期: 2013-09-17 在线出版日期: 2013-10-18

Association of 10q21 gene rs10761659 polymorphism with susceptibility to inflammatory bowel disease in Guangxi Zhuang population

Wei-Yan Long, Ling-Ling Zhan, Lan Chen, Xiao-Ping Lv

Wei-Yan Long, Lan Chen, Xiao-Ping Lv, Department of Gastroenterology, the Western Hospital of First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Ling-Ling Zhan, Department of Clinical Experimental Medicine, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 0832009; the Guangxi Graduate Education Innovation Project Foundation, No. YCSZ2012035; the Guangxi Department of Education Foundation, No. 201203YB036

Correspondence to: Xiao-Ping Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the Western Hospital of First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. lxxp58@hotmail.com

Received: 2013-05-18 Revised: 2013-09-12

Accepted: 2013-09-17 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To study the association of 10q21 gene rs10761659 polymorphism and susceptibility to inflammatory bowel disease (IBD) in the Zhuang

population from Guangxi, China.

METHODS: A case-control study was conducted from August 2009 to October 2012, which included intestinal tissue samples of 73 Zhuang and 67 Han unrelated IBD patients and 70 Zhuang and 78 Han unrelated healthy people in Guangxi. Genomic DNA was extracted from intestinal tissue by the phenol chloroform method. rs10761659 of 10q21 gene was amplified by polymerase chain reaction (PCR), then detected by restriction fragment length polymorphism (RFLP) and verified by gene sequencing.

RESULTS: The homozygous mutant, heterozygous mutant and wild-type of 10q21 gene rs10761659 polymorphism were found in both IBD patients and healthy controls, but the distributions of genotype and allele frequencies were not significantly different among Crohn's disease, ulcerative colitis and control groups ($P > 0.05$). No significant difference was detected in the 10q21 gene rs10761659 polymorphism between patients with Crohn's disease, ulcerative colitis in Zhuang and Han population of Guangxi ($P > 0.05$).

CONCLUSION: rs10761659 polymorphism of 10q21 gene is not associated with susceptibility to IBD in the Zhuang population in Guangxi.

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

Key Words: Inflammatory bowel disease; 10q21 gene; Single nucleotide polymorphisms

Long WY, Zhan LL, Chen L, Lv XP. Association of 10q21 gene rs10761659 polymorphism with susceptibility to inflammatory bowel disease in Guangxi Zhuang population. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3146-3152 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3146.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3146>

摘要

目的: 研究10q21基因rs10761659多态性与广

■同行评议者

万军, 教授, 中国人民解放军总医院南楼老年消化科。

西壮族人群炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)易感性的相关性。

方法: 采用病例对照研究, 分别收集2009-08/2012-10广西区域无血缘关系的壮族73例和汉族67例IBD患者及广西区域无血缘关系的壮族70例和汉族78例健康对照者的肠黏膜组织。使用酚-氯仿法提取基因组DNA, PCR扩增目的片段, RFLP筛查rs10761659突变点, 基因测序法再进一步证实突变位点, 最后统计该多态性位点的基因型频率及等位基因频率, 分析其分布与广西壮族人群IBD的相关性。

结果: 广西壮族及汉族IBD患者与正常对照者均发现了10q21基因rs10761659突变型纯合子、突变型杂合子及野生型纯合子, 但其基因型频率及等位基因频率分布在克罗恩病(Chron's disease)患者、溃疡性结肠炎(ulcerative colitis)患者及正常对照者中差异均无统计学意义($P>0.05$); 壮族与汉族病例组比较, 其基因型频率分布也无统计学差异($P>0.05$)。

结论: 10q21基因rs10761659多态性与中国广西壮族人群炎症性肠病无明显相关性。

© 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; 10q21基因; 单核苷酸多态性

核心提示: 本研究通过PCR-RFLP法及基因测序法发现与西方国家炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)易感性相关的10q21基因rs10761659多态性与广西壮族IBD患者无显著相关性。

龙伟艳, 詹灵凌, 陈兰, 吕小平. 10q21基因rs10761659多态性与广西壮族人群炎症性肠病的相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3146-3152 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3146.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3146>

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种胃肠道的慢性反复发作性炎性疾病, 包括克罗恩病(Chron's disease, CD)及溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)两种临床病理类型。到目前为止, IBD的发病机制仍未明确, 普遍认为是一种由遗传、环境、感染及免疫共同作用的多因素疾病^[1,2]。大量研究证实遗传易感性在IBD的发病及发展过程起重要作用^[3-5]。自2001年由Hugot、Ogura及Hampe等^[6-8]报道了人类的第一个CD易感基因之后, 人们通过全基因组关联性

研究及对其的Meta分析, 已证实了99个IBD易感基因位点, 其中UC及CD共享的有28个^[9], 而与CD相关的可达71个^[10], 近年来许多研究发现了一些新的IBD易感基因位点, 其中研究较多的如IL-23R-rs11805303, ATG16L1-rs10210303, NOD2-P268S, PTPN22-rs2542151, 10q21-rs10761659等^[11-15], 但多数位于基因编码区上, 而rs10761659是位于10q21基因非编码基因间区(和内含子一起统称基因沙漠区)上的IBD多态性位点, 目前越来越多的研究开始关注基因沙漠区的疾病易感基因。国外已有多项研究证实10q21基因的rs10761659改变可以增加CD的易感性^[11,12,16,17], 而对意大利人群的研究显示rs10761659与UC及CD均相关, 并证实其与成人CD的回肠发病相关^[18]。但在我国广东地区却报道了该位点与我国汉族人群UC、CD的发病无显著相关^[19], 提示在不同的种族遗传背景中, rs10761659对IBD发病机制的作用存在显著的差异性。广西是我国壮族人口最大的聚居地, 他的疾病遗传性和易感基因都非常独特。在广西壮族人群中, 10q21基因变异与IBD的相关性如何目前尚未见报道。因此, 本研究的目的是探索10q21基因rs10761659多态性与广西壮族人群中IBD的相关性。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2009-08/2012-10在广西医科大学第一附属医院消化内科就诊的广西区域无血缘关系的IBD患者140例, 其中UC 98例, CD 42例, 壮族73例, 汉族67例, 男75例, 女65例, 平均年龄40.79岁±13.56岁, IBD的诊断依据2012年中华医学会消化病学分会制定的标准^[20], 并排除患有其他自身免疫性疾病者。并收集广西区域无血缘关系的健康对照者148例, 其中壮族70例, 汉族78例, 男75例, 女73例, 平均年龄41.52岁±14.15岁。IBD组和正常对照组年龄及性别比较差异无统计学意义($P>0.05$), 标本采集经医院伦理委员会批准和患者本人或家属知情同意。

1.2 方法

1.2.1 基因组DNA的提取: 内镜下钳取25-50 mg的新鲜肠黏膜组织, 立即转移至-80℃冰箱。用生理盐水将解冻的肠黏膜组织洗净, 置EP管中尽量剪碎, 加入50 μL的SDS(10%)、450 μL TES及5 μL蛋白酶K(20 g/L), 轻柔混匀后放置56℃水浴箱中充分消化(7-8 h), 加入等体积的Tris饱和酚, 混匀后在4℃、12000 r/min离心机中离心10 min, 提取上清液至另一EP管; 加入等体积的

■ 研发前沿

多数IBD易感基因位点是位于基因的编码区, 而rs10761659位于10q21基因非编码基因间区(和内含子合称沙漠区), 目前对基因沙漠区的疾病易感基因的致病机制及其功能的研究已成为一热点。

■ 相关报道

*rs10761659*与CD的相关性已在英国、德国、荷兰、比利时、意大利等西方国家中反复证实,意大利还发现*rs10761659*与UC相关。日本的研究提示*rs10761659*与日本CD患者弱相关或者无关,而我国广东未能证实该多态性位点与我国汉族人IBD的易感性相关。

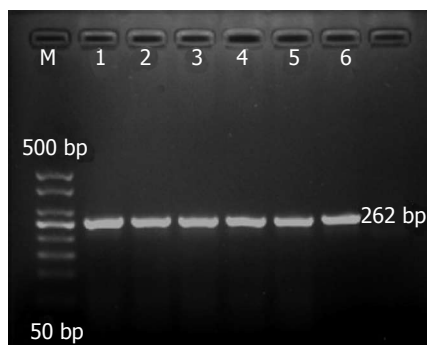


图1 PCR产物电泳图。M: Marker (50 ladder); 1, 2: 壮族UC、CD; 3, 4: 汉族UC、CD; 5, 6: 健康对照者。UC: 溃疡性结肠炎; CD: 克罗恩病。

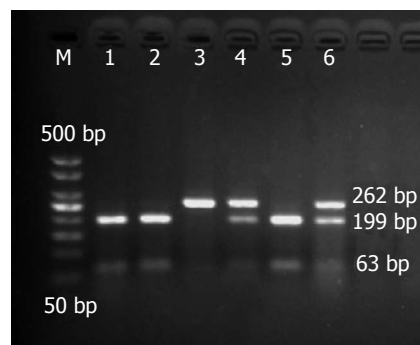


图2 酶切产物电泳图。M: Marker (50 ladder); 1, 2, 5: 野生型纯合子; 3: 突变型纯合子; 4, 6: 突变型杂合子。

Tris饱和酚、氯仿、异戊醇混合液(25:24:1), 轻柔混匀分层后4℃、12000 r/min离心10 min并提取上清液至另一EP管; 再加入等体积的氯仿、异戊醇混合液(24:1), 混匀后同样条件离心10 min, 提取上清液于另一EP管; 然后加入约2.5倍体积的无水乙醇, 用枪头轻轻吹吸至白色絮状物完全析出, 再次离心10 min后弃去上清液, 在白色沉淀中加入适量750 mL/L的乙醇洗涤2次, 相同条件离心5 min后弃去上清液, 放置通风橱自然挥干, 最后加入50-120 μL TE溶解, 置-20℃保存备用, 用分光光度仪检测DNA的纯度及浓度。

1.2.2 PCR扩增DNA目的片段: 引物序列设计参考文献[19], 上游: 5'-GCTTAGGAAA-CAAAGGAATCAC-3'; 下游: 5'-AGTCAAAGAG-GAGGGCGTT-3', 由生工生物技术(上海)有限公司合成引物。PCR反应体系包括DNA模板2 μL、引物(10 μmol/L)上下游各1 μL、2×pfuPCR Master Mix(北京天根)10 μL, 最后加ddH₂O至20 μL。反应条件: 预变性94℃, 5 min; 变性94℃、45 s, 退火60℃、45 s, 延伸72℃、45 s, 总共35个循环; 72℃继续延伸10 min。PCR产物置4℃冰箱保存, 取5 μL在含核酸染料的2%琼脂糖凝胶上电泳, 凝胶成像仪上鉴定目的片段。

1.2.3 RFLP筛查突变位点: 根据突变位点(G→A)选择相应限制性内切酶*Taa I* (*HpyCH4III*) (美国Fermentas公司)。酶切反应体系包括PCR产物5 μL, 10×Buffer Tango缓冲液1 μL, 限制性内切酶0.5 μL, 再加ddH₂O至17 μL。将混匀后的反应体系置于37℃水浴15 h, 取10 μL酶切产物加于含核酸染料的3%琼脂糖凝胶上, 在90 V电压下电泳约60 min, 凝胶成像仪上判断酶切产物片段大小。

1.2.4 基因测序进一步确定突变位点: 对RFLP中

发现突变者重新用PCR扩增目的片段, 切胶纯化后送往北京三博远志测序部进行基因测序, 测序仪为美国ABI 3730XL, 测序结果在PubMed中的BLAST里进行比对, 用Chromas软件判读基因型。

统计学处理 用SPSS16.0软件包进行分析, 统计*rs10761659*在壮族与汉族的CD组、UC组及健康对照组中的基因型频率及等位基因频率, 用Hardy-Weinberg进行遗传平衡性检验, 用 χ^2 检验比较各组间基因型及等位基因频率分布的差异, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PCR产物电泳分析 PCR扩增后, 形成了包含*rs10761659*位点的262 bp目的片段(图1)。

2.2 酶切产物电泳分析 *Taa I* (*HpyCH4III*)内切酶可识别碱基序列ACNGT, *rs10761659*的PCR目的片段被其消化后形成了3种基因型的条带, 野生型被切开形成两条条带(199、63 bp), 突变型杂合子被切开形成3条条带(262、199、63 bp), 而突变型纯合子不能被切开, 仍保留262 bp一条条带(图2)。

2.3 基因测序分析 将*rs10761659*的PCR产物进行测序后, 结果和RFLP的一致, 出现了3种基因型: 野生型(G/G)、突变型杂合子(G/A)、突变型纯合子(A/A)(图3)。

2.4 基因型与等位基因频率分布 汉族和壮族的病例组及正常对照组的*rs10761659*基因型及等位基因频率分布符合Hardy-Weinberg遗传平衡定律($P>0.05$), 提示所选样本具有群体代表性。广西壮族及汉族的CD组、UC组与正常对照组均发现有*rs10761659*突变型纯合子、突变型杂合子及野生型纯合子, 但其基因型及等位基因频率在CD组、UC组和正常对照组中的分布均无统计学差异($P>0.05$); 壮族CD组与

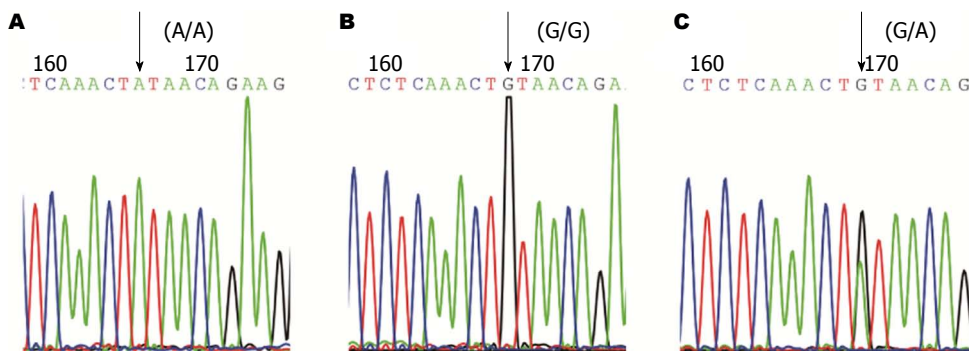


图3 基因测序图. A: 突变型纯合子; B: 野生型纯合子; C: 突变型杂合子.

■ 创新盘点

广西是我国壮族人口最大的聚居地, 他的疾病遗传性和易感基因都非常独特. 本研究发现广西壮族IBD患者存在rs10761659突变体, 但未达统计学相关性, 这和西方国家的研究结果相反, 提示IBD的基因易感性存在显著的种族、区域差异性.

表1 10q21基因rs10761659多态性的基因型与等位基因频率分布n(%)

民族	基因型	正常对照组	CD组	UC组
壮族	GG	40(57.1)	9(47.4)	30(55.6)
	GA	26(37.1)	8(42.1)	21(38.9)
	AA	4(5.7)	2(10.5)	3(5.6)
	等位基因A的频率(%)	24.2	31.5	25.0
汉族	GG	50(64.1)	12(52.2)	23(52.3)
	GA	24(30.8)	8(34.8)	18(40.9)
	AA	4(5.1)	3(13.0)	3(6.8)
	等位基因A的频率(%)	20.5	30.4	27.2

CD: 克罗恩病; UC: 溃疡性结肠炎.

汉族CD组比较、壮族UC组与汉族UC组比较, rs10761659基因型频率分布差异也无统计学意义($P>0.05$)(表1).

3 讨论

IBD是一种多基因疾病, 近年来, 全基因组关联性研究已成为一种发现复杂疾病(包括IBD)易感基因或位点的有效途径, 使人类对IBD的遗传易感性有了更深的了解. 2008年Barrett等^[21]对3个关于欧洲人群CD大样本(包含3230个患者及4829个正常者)的全基因组关联性研究进行了meta分析及重复研究, 一共定义了30余种CD易感基因, 包括10q21等11个之前所报道的突变体及21个新的CD高危基因如STAT3、JAK2、ICOSLG、CDKAL1、ITLN1等. 随后, 另一个更大规模(包含了6333例患者及15056例正常对照者)的meta分析结果显示在全基因组关联性研究中得到证实的欧洲人CD易感基因已达71个, 包括10q21-rs10761659^[10]. 这些研究结果强烈支持了CD是一种多基因相关性疾病, 为将来这些易感基因的致病机制及功能的研究提供了重要线索.

2007年由Rioux等^[11]首次报道了10q21-

rs10761659与CD的易感性相关, 同年, 由英国病例控制协会(WTCCC)进行的全基因组关联性研究再次证实了10q21-rs10761659与CD显著相关($P = 2.7 \times 10^{-7}$)^[12]. rs10761659是一个位于染色体10q21上非编码基因间区的SNP位点, 和锌指蛋白基因ZNF365末端的着丝点相距14 kb, 和4型遗传蛋白假基因的着丝点相距55 kb^[11]. 锌指蛋白基因及假基因的致病机制目前尚未明确, ZNF365基因编码的蛋白又称锌指蛋白, 他作为一种对真核生物的基因转录过程起调控作用的重要转录因子^[22], 而假基因可以调节信使RNA的稳定性^[23], 当rs10761659发生改变(G突变成A)时, 可能会影响与其相邻的这两个基因的功能, 最终引起IBD的发病.

rs10761659是近几年发现的一个CD易感基因, 但在不同种族及人群中存在着显著差异, 自2007年的一项全基因组关联性研究报道rs10761659与CD的易感性相关之后^[11], 在英国^[12]、德国^[16]、荷兰、比利时^[17]及德系犹太人群^[24]中反复得到了证实. 此外, rs10761659除了与意大利人群CD相关外, 还被发现与意大利人群UC相关, 其中与成人CD及UC的易感性均相

■应用要点

10q21基因rs10761659多态性可能不是中国广西壮族群炎症性肠病的易感基因位点。

关, 但仅与儿童UC相关^[18]。一项最近的Meta分析也提示了rs10761659是CD和UC的共享易感位点^[9]。然而对日本人群前期的研究表明位于NKX2-3基因上游区域的rs10761659与日本CD患者弱相关^[25], 但之后的另一个研究却报道其与日本人群IBD无关^[26], 而我国广东地区也报道了该多态性位点与我国汉族人IBD无关^[19], 提示可能是因为研究样本量偏小引起的误差, 或者是该基因多态性不是亚洲人IBD的易感基因位点。我们此次的研究结果和我国广东汉族人的研究结果一致, 虽然我们发现了10q21-rs10761659在壮族或汉族UC、CD中的突变率均比正常对照者高, 但差异无统计学意义($P>0.05$)。这和其他一些IBD易感基因的研究不同的是, 该基因位点在CD患者、UC患者和正常人中的突变率均高, 各组间比较未达统计学差异, 而之前对我国人群的研究显示, NOD2-R702W, G908R, L1007R^[27,28], TLR4-Asp299Gly, Thr399Ile; TLR2-Arg753Gln, Arg677Trp^[29]和OCTN1-C1672T, OCTN2-G-207C^[30]等基因位点在IBD患者及正常人中均缺如, NOD2-P268S尽管在我国CD患者中的突变率不高, 但和正常人对比仍然有统计学差异。综合各项研究数据表明rs10761659对IBD的作用存在明显的种族、地理及人群差异性, 且对IBD的不同病理类型的作用也不同。

很多研究都证明了CD的基因易感性和他的临床特征存在关联性^[31,32], 我国广东地区的研究也发现了NOD2/CARD15基因上的P268S多态性改变可能与我国汉族人群CD的发病年龄偏小、回肠病变及合并肠腔狭窄相关^[19]。对于10q21基因rs10761659多态性与CD临床特征的关系研究, 意大利学者仅发现其与成人的回肠型CD相关, 与儿童CD的临床特征并不相关^[18], 而其他几个关于rs10761659的研究未见报道其与CD临床特征的相关性^[11,12,16,17,19,24], 我们此次的研究并没有发现rs10761659与CD的发病机制相关, 而且壮族与汉族人之间无差别, 因此没有进一步研究他与CD临床特征的关系, 未来对致病基因型及临床表型之间的关系还有待更多的研究去探索。

4 参考文献

- Xavier RJ, Podolsky DK. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 2007; 448: 427-434 [PMID: 17653185]
- Podolsky DK. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 2002; 347: 417-429 [PMID: 12167685]
- 于鹏丽, 张晓斐, 沈方, 张红杰. IL-17基因多态性与中国汉族人群炎症性肠病的关系. *世界华人消化杂志*

2012; 20: 875-882

- 沈秀云, 施瑞华. 炎症性肠病易感基因研究进展. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1591-1601
- Haritunians T, Jones MR, McGovern DP, Shih DQ, Barrett RJ, Derkowski C, Dubinsky MC, Dutridge D, Fleshner PR, Ippoliti A, King L, Leshinsky-Silver E, Levine A, Melmed GY, Mengesha E, Vasilauskas EA, Ziaee S, Rotter JI, Targan SR, Taylor KD. Variants in ZNF365 isoform D are associated with Crohn's disease. *Gut* 2011; 60: 1060-1067 [PMID: 21257989 DOI: 10.1136/gut.2010.227256]
- Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cézard JP, Belaiche J, Almer S, Tysk C, O'Morain CA, Gassull M, Binder V, Finkel Y, Cortot A, Modigliani R, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, Macry J, Colombel JF, Sahbatou M, Thomas G. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001; 411: 599-603 [PMID: 11385576]
- Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, Nicolae DL, Chen FF, Ramos R, Britton H, Moran T, Karaliuskas R, Duerr RH, Achkar JP, Brant SR, Bayless TM, Kirschner BS, Hanauer SB, Nuez G, Cho JH. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001; 411: 603-606 [PMID: 11385577]
- Hampe J, Cuthbert A, Croucher PJ, Mirza MM, Mascheretti S, Fisher S, Frenzel H, King K, Hasselmeier A, MacPherson AJ, Bridger S, van Deventer S, Forbes A, Nikolaus S, Lennard-Jones JE, Foelsch UR, Krawczak M, Lewis C, Schreiber S, Mathew CG. Association between insertion mutation in NOD2 gene and Crohn's disease in German and British populations. *Lancet* 2001; 357: 1925-1928 [PMID: 11425413]
- Anderson CA, Boucher G, Lees CW, Franke A, D'Amato M, Taylor KD, Lee JC, Goyette P, Imielinski M, Latiano A, Lagacé C, Scott R, Amininejad L, Bumpstead S, Baidoo L, Baldassano RN, Barclay M, Bayless TM, Brand S, Büning C, Colombel JF, Denson LA, De Vos M, Dubinsky M, Edwards C, Ellinghaus D, Fehrmann RS, Floyd JA, Florin T, Franchimont D, Franke L, Georges M, Glas J, Glazer NL, Guthery SL, Haritunians T, Hayward NK, Hugot JP, Jobin G, Laukens D, Lawrence I, Lémann M, Levine A, Libioulle C, Louis E, McGovern DP, Milla M, Montgomery GW, Morley KI, Mowat C, Ng A, Newman W, Ophoff RA, Papi L, Palmieri O, Peyrin-Biroulet L, Panés J, Phillips A, Prescott NJ, Proctor DD, Roberts R, Russell R, Rutgeerts P, Sanderson J, Sans S, Schumm P, Seibold F, Sharma Y, Simms LA, Seielstad M, Steinhart AH, Targan SR, van den Berg LH, Vatn M, Verspaget H, Walters T, Wijmenga C, Wilson DC, Westra HJ, Xavier RJ, Zhao ZZ, Ponsioen CY, Andersen V, Torkvist L, Gazouli M, Anagnou NP, Karlsen TH, Kugathasan S, Silverberg MS, Halfvarson J, Rotter JI, Mathew CG, Griffiths AM, Gearry R, Ahmad T, Brant SR, Chamaillard M, Satsangi J, Cho JH, Schreiber S, Daly MJ, Barrett JC, Parkes M, Annesse V, Hakonarson H, Radford-Smith G, Duerr RH, Vermeire S, Weersma RK, Rioux JD. Meta-analysis identifies 29 additional ulcerative colitis risk loci, increasing the number of confirmed associations to 47. *Nat Genet* 2011; 43: 246-252 [PMID: 21297633 DOI: 10.1038/ng.764]
- Franke A, McGovern DP, Barrett JC, Wang K,

- Radford-Smith GL, Ahmad T, Lees CW, Balschun T, Lee J, Roberts R, Anderson CA, Bis JC, Bumpstead S, Ellinghaus D, Festen EM, Georges M, Green T, Haritunians T, Jostins L, Latiano A, Mathew CG, Montgomery GW, Prescott NJ, Raychaudhuri S, Rotter JI, Schumm P, Sharma Y, Simms LA, Taylor KD, Whiteman D, Wijmenga C, Baldassano RN, Barclay M, Bayless TM, Brand S, Büning C, Cohen A, Colombel JF, Cottone M, Stronati L, Denson T, De Vos M, D'Inca R, Dubinsky M, Edwards C, Florin T, Franchimont D, Geary R, Glas J, Van Gossom A, Guthery SL, Halfvarson J, Verspaget HW, Hugot JP, Karban A, Laukens D, Lawrance I, Lemann M, Levine A, Libioulle C, Louis E, Mowat C, Newman W, Panés J, Phillips A, Proctor DD, Regueiro M, Russell R, Rutgeerts P, Sanderson J, Sans M, Seibold F, Steinhart AH, Stokkers PC, Torkvist L, Kullak-Ublick G, Wilson D, Walters T, Targan SR, Brant SR, Rioux JD, D'Amato M, Weersma RK, Kugathasan S, Griffiths AM, Mansfield JC, Vermeire S, Duerr RH, Silverberg MS, Satsangi J, Schreiber S, Cho JH, Annesse V, Hakonarson H, Daly MJ, Parkes M. Genome-wide meta-analysis increases to 71 the number of confirmed Crohn's disease susceptibility loci. *Nat Genet* 2010; 42: 1118-1125 [PMID: 21102463 DOI: 10.1038/ng.717]
- 11 Rioux JD, Xavier RJ, Taylor KD, Silverberg MS, Goyette P, Huett A, Green T, Kuballa P, Barmada MM, Datta LW, Shugart YY, Griffiths AM, Targan SR, Ippoliti AF, Bernard EJ, Mei L, Nicolae DL, Regueiro M, Schumm LP, Steinhart AH, Rotter JI, Duerr RH, Cho JH, Daly MJ, Brant SR. Genome-wide association study identifies new susceptibility loci for Crohn disease and implicates autophagy in disease pathogenesis. *Nat Genet* 2007; 39: 596-604 [PMID: 17435756]
- 12 Wellcome Trust Case Control Consortium. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature* 2007; 447: 661-678 [PMID: 17554300]
- 13 Chua KH, Hilmi I, Ng CC, Eng TL, Palaniappan S, Lee WS, Goh KL. Identification of NOD2/CARD15 mutations in Malaysian patients with Crohn's disease. *J Dig Dis* 2009; 10: 124-130 [PMID: 19426395 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2009.00374.x]
- 14 Gasche C, Nemeth M, Grundtner P, Willheim-Polli C, Ferenci P, Schwarzenbacher R. Evolution of Crohn's disease-associated Nod2 mutations. *Immunogenetics* 2008; 60: 115-120 [PMID: 18253730 DOI: 10.1007/s00251-008-0274-6]
- 15 Zhao XD, Shen FC, Zhang HJ, Shen XY, Wang YM, Yang XZ, Tu HM, Tai YH, Shi RH. Association of interleukin-23 receptor gene polymorphisms with susceptibility and phenotypes of inflammatory bowel diseases in Jiangsu Han population. *Zhonghua Neike Zazhi* 2011; 50: 935-41 [PubMed: 22333126]
- 16 Franke A, Balschun T, Karlsen TH, Hedderich J, May S, Lu T, Schuldt D, Nikolaus S, Rosenstiel P, Krawczak M, Schreiber S. Replication of signals from recent studies of Crohn's disease identifies previously unknown disease loci for ulcerative colitis. *Nat Genet* 2008; 40: 713-715 [PMID: 18438405 DOI: 10.1038/ng.148]
- 17 Weersma RK, Stokkers PC, Cleynen I, Wolfkamp SC, Henckaerts L, Schreiber S, Dijkstra G, Franke A, Nolte IM, Rutgeerts P, Wijmenga C, Vermeire S. Confirmation of multiple Crohn's disease susceptibility loci in a large Dutch-Belgian cohort. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 630-638 [PMID: 19174780 DOI: 10.1038/ajg.2008.112]
- 18 Latiano A, Palmieri O, Latiano T, Corritore G, Bossa F, Martino G, Biscaglia G, Scimeca D, Valvano MR, Pastore M, Marseglia A, D'Inca R, Andriulli A, Annesse V. Investigation of multiple susceptibility loci for inflammatory bowel disease in an Italian cohort of patients. *PLoS One* 2011; 6: e22688 [PMID: 21818367 DOI: 10.1371/journal.pone.0022688]
- 19 Lv C, Yang X, Zhang Y, Zhao X, Chen Z, Long J, Zhang Y, Zhong C, Zhi J, Yao G, Jiang B, Zhi F. Confirmation of three inflammatory bowel disease susceptibility loci in a Chinese cohort. *Int J Colorectal Dis* 2012; 27: 1465-1472 [PMID: 22426692 DOI: 10.1007/s00384-012-1450-6]
- 20 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2012年. 广州). 胃肠病学 2012; 17: 763-780
- 21 Barrett JC, Hansoul S, Nicolae DL, Cho JH, Duerr RH, Rioux JD, Brant SR, Silverberg MS, Taylor KD, Barmada MM, Bitton A, Dassopoulos T, Datta LW, Green T, Griffiths AM, Kistner EO, Murtha MT, Regueiro MD, Rotter JI, Schumm LP, Steinhart AH, Targan SR, Xavier RJ, Libioulle C, Sandor C, Lathrop M, Belaiche J, Dewit O, Gut I, Heath S, Laukens D, Mni M, Rutgeerts P, Van Gossom A, Zelenika D, Franchimont D, Hugot JP, de Vos M, Vermeire S, Louis E, Cardon LR, Anderson CA, Drummond H, Nimmo E, Ahmad T, Prescott NJ, Onnie CM, Fisher SA, Marchini J, Ghori J, Bumpstead S, Gwilliam R, Tremelling M, Deloukas P, Mansfield J, Jewell D, Satsangi J, Mathew CG, Parkes M, Georges M, Daly MJ. Genome-wide association defines more than 30 distinct susceptibility loci for Crohn's disease. *Nat Genet* 2008; 40: 955-962 [PMID: 18587394 DOI: 10.1038/ng.175]
- 22 Wolfe SA, Nekludova L, Pabo CO. DNA recognition by Cys2His2 zinc finger proteins. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 2000; 29: 183-212 [PMID: 10940247]
- 23 Hirotsune S, Yoshida N, Chen A, Garrett L, Sugiyama F, Takahashi S, Yagami K, Wynshaw-Boris A, Yoshiki A. An expressed pseudogene regulates the messenger-RNA stability of its homologous coding gene. *Nature* 2003; 423: 91-96 [PMID: 12721631]
- 24 Kenny EE, Pe'er I, Karban A, Ozelius L, Mitchell AA, Ng SM, Erazo M, Ostrer H, Abraham C, Abreu MT, Atzmon G, Barzilai N, Brant SR, Bressman S, Burns ER, Chowers Y, Clark LN, Darvasi A, Doheny D, Duerr RH, Eliakim R, Giladi N, Gregersen PK, Hakonarson H, Jones MR, Marder K, McGovern DP, Mulle J, Orr-Urtreger A, Proctor DD, Pulver A, Rotter JI, Silverberg MS, Ullman T, Warren ST, Waterman M, Zhang W, Bergman A, Mayer L, Katz S, Desnick RJ, Cho JH, Peter I. A genome-wide scan of Ashkenazi Jewish Crohn's disease suggests novel susceptibility loci. *PLoS Genet* 2012; 8: e1002559 [PMID: 22412388 DOI: 10.1371/journal.pgen.1002559]
- 25 Yamazaki K, Takahashi A, Takazoe M, Kubo M, Onouchi Y, Fujino A, Kamatani N, Nakamura Y, Hata A. Positive association of genetic variants in the upstream region of NKX2-3 with Crohn's disease in Japanese patients. *Gut* 2009; 58: 228-232 [PMID: 18936107 DOI: 10.1136/gut.2007.140764]
- 26 Nakagome S, Takeyama Y, Mano S, Sakisaka

同行评价

本文目的明确, 资料详实, 结果可靠, 有助于深入认识IBD发病机制所涉及的遗传因素中易感基因的种族差异问题。

- S, Matsui T, Kawamura S, Oota H. Population-specific susceptibility to Crohn's disease and ulcerative colitis; dominant and recessive relative risks in the Japanese population. *Ann Hum Genet* 2010; 74: 126-136 [PMID: 20367632 DOI: 10.1111/j.1469-1809.2010.00567.x]
- 27 林美娇, 吕小平, 陈兰, 詹灵凌. NOD2/CARD15基因R702W、G908R及L1007fs多态性与广西壮族人群炎症性肠病的相关性. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 1210-1215
- 28 Gao M, Cao Q, Luo LH, Wu ML, Hu WL, Si JM. [NOD2/CARD15 gene polymorphisms and susceptibility to Crohn's disease in Chinese Han population]. *Zhonghua Neike Zazhi* 2005; 44: 210-212 [PMID: 15840263]
- 29 Chen L, Lin MJ, Zhan LL, Lv XP. Analysis of TLR4 and TLR2 polymorphisms in inflammatory bowel disease in a Guangxi Zhuang population. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 6856-6860 [PMID: 23239925 DOI: 10.3748/wjg.v18.i46.6856]
- 30 林美娇, 吕小平, 詹灵凌, 唐星火. OCTN1、OCTN2基因多态性与广西壮族炎症性肠病患者相关性研究. *广西医学* 2011; 33: 1099-1102
- 31 Jung C, Colombel JF, Lemann M, Beaugerie L, Allez M, Cosnes J, Vernier-Massouille G, Gornet JM, Gendre JP, Cezard JP, Ruemmele FM, Turck D, Merlin F, Zouali H, Libersa C, Dieudé P, Soufir N, Thomas G, Hugot JP. Genotype/phenotype analyses for 53 Crohn's disease associated genetic polymorphisms. *PLoS One* 2012; 7: e52223 [PMID: 23300620 DOI: 10.1371/journal.pone.0052223]
- 32 Cleynen I, González JR, Figuerola C, Franke A, McGovern D, Bortlik M, Crusius BJ, Vecchi M, Artieda M, Szczypiorska M, Bethge J, Arteta D, Ayala E, Danese S, van Hogezaand RA, Panés J, Peña SA, Lukas M, Jewell DP, Schreiber S, Vermeire S, Sans M. Genetic factors conferring an increased susceptibility to develop Crohn's disease also influence disease phenotype: results from the IBDchip European Project. *Gut* 2012; 62: 1556-1565 [PMID: 23263249 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300777]

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)

溃疡性结肠炎患者血浆及肠黏膜组织中IL-23、IL-17的表达及相互关系

姚宏凤, 沈洪, 郑凯, 朱磊

姚宏凤, 南京市中医院急诊科 江苏省南京市 210001
沈洪, 郑凯, 朱磊, 江苏省中医院脾胃病科 江苏省南京市 210029

姚宏凤, 住院医师, 主要从事溃疡性结肠炎的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 012071001137

作者贡献分布: 此课题由沈洪、郑凯及姚宏凤设计; 研究过程由姚宏凤完成; 数据分析由姚宏凤与朱磊完成; 文章由姚宏凤撰写; 沈洪提供实验材料, 并审阅论文、指导论文修改。

通讯作者: 沈洪, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 210029, 江苏省南京市汉中中路155号, 江苏省中医院脾胃病科。

shenhong999@163.com

电话: 13851872859

收稿日期: 2013-05-10 修回日期: 2013-08-28

接受日期: 2013-09-17 在线出版日期: 2013-10-18

Expression of IL-23, IL-17 in plasma and intestinal mucosal tissues of ulcerative colitis patients and their relationship

Hong-Feng Yao, Hong Shen, Kai Zheng, Lei Zhu

Hong-Feng Yao, Department of Emergency, TCM Hospital of Nanjing City, Nanjing 210001, Jiangsu Province, China
Hong Shen, Kai Zheng, Lei Zhu, Department of the Spleen and Stomach Diseases, Jiangsu Province Traditional Chinese Medicine Hospital, Nanjing 210001, Jiangsu Province, China

Supported by: National Natural Science Fund, No. 012071001137

Correspondence to: Hong Shen, Professor, Chief Physician, Department of the Spleen and Stomach Diseases, Jiangsu Province Traditional Chinese Medicine Hospital, 155 Hanzhong Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. shenhong999@163.com

Received: 2013-05-10 Revised: 2013-08-28

Accepted: 2013-09-17 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To investigate the expression and role of interleukin 23 (IL-23) and interleukin 17 (IL-17) in plasma and colon mucosa of ulcerative colitis (UC) and to analyze their correlation.

METHODS: ELISA method and immunohistochemical technology was applied to detect the expression of IL-23, IL-17 in plasma and colon mucosa of 40 UC and 12 healthy controls.

RESULTS: The expression of IL-23 and IL-17 in

UC patients were significantly increased than that in healthy controls ($P < 0.05$). IL-23 and IL-17 immunoreactivity was significantly associated with pathologic grading of UC. The expression of IL-17 exhibited a positive correlation to IL-23.

CONCLUSION: IL-23, IL-17 may play an important role in the course of UC.

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

Key Words: Ulcerative colitis; Interleukin-23; Interleukin-17

Yao HF, Shen H, Zheng K, Zhu L. Expression of IL-23, IL-17 in plasma and intestinal mucosal tissues of ulcerative colitis patients and their relationship. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3153-3157 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3153.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3153>

摘要

目的: 检测白介素-23(interleukin-23, IL-23)和IL-17在溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)患者血浆及肠黏膜组织中的表达, 并探讨二者间关系。

方法: 留取40例UC患者血浆及肠黏膜组织标本, 进行组织学分级, 同时收集12例正常对照者血浆和肠黏膜组织标本。ELISA法检测血浆中IL-23、IL-17水平, 免疫组织化学SP法检测肠黏膜组织中IL-23、IL-17的表达, 并分析两者关系。

结果: 40例UC患者组织学分级1级7例, 2级21例, 3级12例。UC患者血浆及肠黏膜组织中IL-23、IL-17表达均高于正常对照组(分别为: 0.17 ± 0.58 vs 4.38 ± 1.27 , $P < 0.05$; 0.42 ± 1.00 vs 4.88 ± 0.91 , $P < 0.05$), 且二者的表达随UC组织病理分级增加而增高(分别为: 3.00 ± 0.53 vs 4.12 ± 1.15 vs 5.58 ± 0.51 ; 3.71 ± 0.76 vs 4.81 ± 0.60 vs 5.67 ± 0.65), IL-23与IL-17呈显著正相关($P < 0.01$)。

■背景资料

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)发病由肠黏膜天然免疫异常启动、肠壁黏膜免疫调节异常持续、肠道感染、肠壁黏膜屏障缺损、遗传和环境等因素共同参与, 其中免疫反应异常是UC发生发展的核心环节。白细胞介素(interleukin)-23、IL-17作为IL-23/IL-17轴主要细胞因子已成为研究热点, 但两者表达水平变化与UC肠黏膜组织学分级是否相关以及两者内部关联性尚不明确。

■同行评议者

杜群, 副研究员, 广州中医药大学脾胃研究所药理室; 卢晓梅, 教授, 研究员, 新疆医科大学第一附属医院临床医学研究院

■研究前沿

本研究通过检测IL-23、IL-17在活动期UC患者血浆及肠黏膜组织中的表达,分析两种细胞因子的变化与UC肠黏膜组织学分级的关系,同时分析两者内部关联性。

结论: IL-23、IL-17在UC的病程中可能发挥重要作用。

© 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; 白介素17; 白介素23

核心提示: 本研究针对活动期溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)血浆及肠黏膜组织中白细胞介素(interleukin, IL)-23、IL-17的表达、相关性进行研究,同时分析两者与组织学分级的相关性,意在说明IL-23、IL-17在一定程度上可以评估UC疾病活动情况及肠黏膜组织的损伤程度,临床上我们可以IL-23、IL-17为新的切入点,寻找更有效的治疗方法。

姚宏凤, 沈洪, 郑凯, 朱磊. 溃疡性结肠炎患者血浆及肠黏膜组织中IL-23、IL-17的表达及相互关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3153-3157 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3153.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3153>

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)为直肠和结肠慢性非特异性炎症性疾病^[1], 病变主要局限于大肠黏膜及黏膜下层, 临床表现为腹泻、黏液脓血便、腹痛等, 病情轻重不等, 多反复发作。

UC发病机制涉及遗传、免疫等多方面。白细胞介素-23(interleukin-23, IL-23)与IL-17做为IL-23/IL-17轴最主要的炎症因子, 是近年来国内外学者研究的热点。IL-23由抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC)分泌, 文献报道IL-23可能是引起肠道炎症的关键介质^[2], 他与辅助性T细胞17(T helper 17 cells, Th17)表面IL-23受体(IL-23R)结合, 促使Th17细胞稳定扩增, 从而表达大量效应致炎细胞因子IL-17, 破坏肠黏膜屏障、损伤肠上皮细胞, 导致肠道炎症^[3]。至今虽有多项研究表明IL-23、IL-17在UC肠黏膜组织及血浆中表达均升高^[4-6], 但IL-23、IL-17表达相关性及其与UC患者肠黏膜组织病理分级关系尚不明确。因此, 我们检测了IL-23、IL-17在UC血浆及肠黏膜中的表达, 探讨他们在UC发病机制中的作用和相互关系。

1 材料和方法

1.1 材料 选择2012-04/2012-12江苏省中医院及南京市第一人民医院消化科住院及门诊符合条件的40例活动期UC患者, 所有UC患者临床表现、肠镜和病理检查均符合2007年中华医学会

消化病学会炎症性肠病协作组制定的UC诊断标准^[7]。其中男23例, 女17例, 年龄19-63岁(中位年龄42.8岁), 病程0.4-8.4年。对照组12例, 为性别、年龄与患者相匹配的健康体检者。组织学分级由2位病理科医生阅片, 按Riley-Manigoodman标准进行^[8]。所有患者及健康对照者标本留取前均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 标本采集: 分别在患者就诊时行电子结肠镜检查, 留取结肠黏膜活检标本, 10%甲醛固定, 脱水, 常规石蜡包埋待测; 另于肠镜次日取患者晨空腹肘静脉血2 mL, 离心后分离血浆, 置-80 °C冰箱保存待测。

1.2.2 检测: (1)酶联免疫吸附(ELISA)法: 分别使用IL-23、IL-17 ELISA试剂盒检测血浆中IL-23、IL-17水平, 由CliniBio 128型酶标仪测定结果, 采用EXCEL软件绘制标准曲线, 试剂盒均由美国RB公司提供, 操作按说明书进行。所有标本均同批检测; (2)免疫组织化学染色: 石蜡切片脱蜡水化, H₂O₂灭活内源性酶, 高压锅高温高压修复抗原, 免疫组织化学染色方法参照SP试剂盒产品说明书操作流程依次进行, 用0.01 mol/L PBS替代一抗作阴性对照, 用已知阳性切片作阳性对照。DAB显色、苏木素复染, 脱水, 透明, 封片显微镜下观察。所用试剂: 纯化的鼠抗人IL-23(p19)多克隆抗体(稀释比例1:100), 购自Biolegend公司; 兔抗人IL-17多克隆抗体(稀释比例1:100), 购自Santa Cruz公司。结果判定: 将黏膜病理切片染色强度、染色面积均为阴性记0分; 黏膜病理切片染色强度、染色面积分别为淡黄色及<10%均记1分; 黏膜病理切片染色强度、染色面积分别为黄色及10%-25%均记2分; 黏膜病理切片染色强度、染色面积分别为棕黄色及26%-50%均记3分; 黏膜病理切片染色面积>50%记4分。计算病理切片染色强度及染色面积赋分。

统计学处理 采用SPSS19.0统计软件处理数据资料, 结果以mean±SD表示, 运用两独立样本均数t检验(Student's *t*-test)检验UC组和对对照组血浆及组肠黏膜组织IL-23、IL-17表达水平; 单因素方差分析(one way ANOVA)进行组织学分级间的比较; IL-23与IL-17相关性分析采用Pearson相关分析。*P*<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 纳入的UC患者临床病理特点 临床类型为初

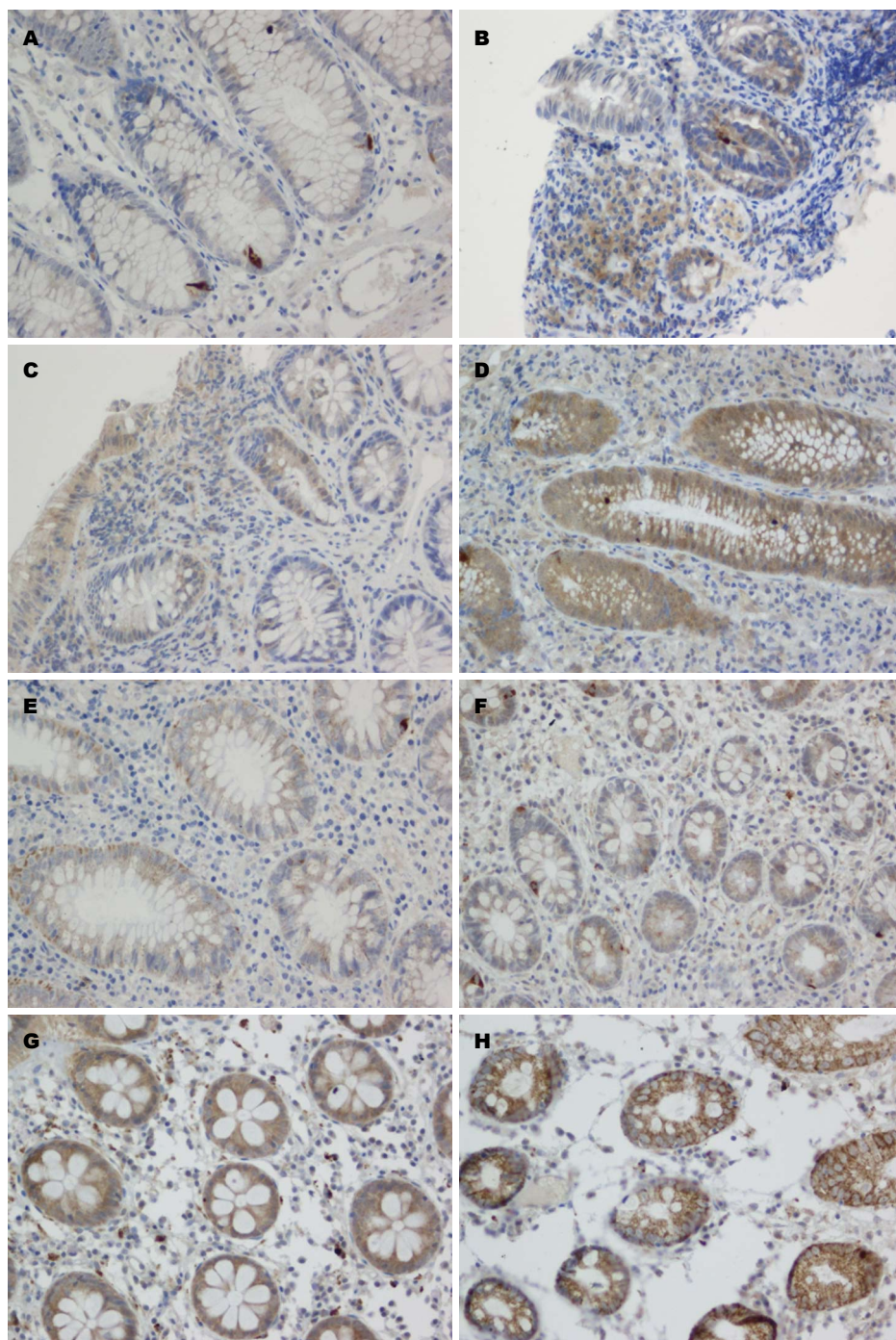


图1 免疫组织化学SP法检测IL-23、IL-17在结肠黏膜中的表达($\times 40$)。A, E:对照组; B, F: 病理组织学分级1级; C, G: 病理组织学分级2级; D, H: 病理组织学分级3级; A, B, C, D: IL-23在结肠黏膜中的表达; E, F, G, H: IL-17在结肠黏膜中的表达。

发型和慢性复发型; 按Southerland疾病活动指数进行分期^[9], 入选患者均为活动期; 组织学分级1级7例, 2级21例, 3级12例。

2.2 IL-23、IL-17在不同病理组织学分级UC患者血浆中水平 活动期UC患者血浆中IL-23、IL-17表达水平高于对照组($639.79 \text{ ng/L} \pm 309.41 \text{ ng/L}$ vs $2231.27 \text{ ng/L} \pm 1623.87 \text{ ng/L}$, $P < 0.05$; 1.46 ± 0.22 vs 4.80 ± 4.33 , $P < 0.05$)。且随着病理组织学级别增加, IL-23、IL-17水平增高, 其中组织学分级

为1、2级UC患者IL-23、IL-17水平虽高于对照组, 但两组间差异无统计学意义($P > 0.05$, 表1)。

2.3 不同病理组织学分级UC患者肠黏膜中IL-23、IL-17的表达 活动期UC肠黏膜组织中IL-23、IL-17表达明显高于对照组($P < 0.05$)。且随着病理组织学级别增加, IL-23、IL-17表达明显增多, 且组间比较均有显著性差异($P < 0.05$, 表2, 图1)。

2.4 IL-23与IL-17表达相关性分析 UC患者结肠

■ 相关报道

Liu等研究显示UC肠黏膜IL-23p19主要表达于肠黏膜中的CD68⁺巨噬细胞, 其表达数量明显高于健康对照组; 同时, IL-23可刺激UC IEL分泌IL-17A。Fujino等研究发现, 活动期UC血浆IL-17水平明显高于健康对照组; 同时, IL-17表达于UC肠黏膜中CD3⁺T细胞、CD68⁺单核细胞及巨噬细胞, UC活动期IL-17表达数量明显高于缓解期; 健康对照组、缺血性肠病、感染性结肠炎患者均无IL-17的阳性表达。

■创新盘点

已有研究显示 IL-23、IL-17 在 UC 患者中均表达增高,但其表达水平的变化与组织学分级是否相关,两细胞因子内部是否有关联性,尚无明确论述。本研究发现,IL-23、IL-17 不仅在血浆及肠黏膜组织中表达显著高于对照组,且随着组织学分级增高而表达水平升高;数据经检验分析,发现 IL-17 伴随 IL-23 表达增高而增高,两者呈显著直线正相关。

表 1 不同肠组织病理分级 UC 血浆中 IL-23、IL-17 的水平比较(mean ± SD, ng/L)

分组	IL-23	IL-17
对照组	639.79 ± 309.41	1.46 ± 0.22
UC 组	2231.27 ± 1623.87 ^a	4.80 ± 4.33 ^a
病理分级 1 级	1145.52 ± 175.83	2.02 ± 0.22
病理分级 2 级	1927.90 ± 1435.08 ^a	3.62 ± 3.18
病理分级 3 级	3395.51 ± 1784.18 ^{a,b}	8.50 ± 5.03 ^{a,b}

^a*P* < 0.05 vs 对照组; ^b*P* < 0.05 vs 轻度组; ^c*P* < 0.05 vs 中度组。IL: 白介素; UC: 溃疡性结肠炎。

黏膜及血浆中 IL-23 与 IL-17 表达水平经双变量相关分析,结果显示 *r* = 0.725, *P* < 0.01, 认为两者呈正向直线相关。

3 讨论

IL-23/IL-17 轴是近年来研究的热点,研究证实^[10-12],该轴与银屑病、原发性胆汁性肝硬化、闭塞性细支气管炎综合征等多种炎症反应及自身免疫相关性疾病的发病密切相关。在 UC 肠黏膜炎症中,IL-23、IL-17 在 IL-23/IL-17 轴中通过以下途径发挥致炎作用。当肠道内致病菌产物(如脂多糖 LPS、磷酸葡萄糖酸盐 PGN 等)与各自的 Toll 样受体(Toll-like receptor, TLR)(分别是 TLR4 和 TLR2)结合,从而诱导 APC's(如被激活的树突状细胞、巨噬细胞等)分泌 IL-23。IL-23 与 Th17 细胞表面 IL-23R 结合,促使 Th17 细胞稳定、大量扩增,与此同时, Th17 细胞表达大量效应致炎细胞因子 IL-17。IL-17 促使血管内皮细胞分泌黏附分子(如: ICAM-1 等),使肌纤维细胞、上皮细胞分泌 IL-6、IL-8。IL-8 作为中性粒细胞浸入肠黏膜组织的趋化因子。中性粒细胞的浸润导致炎症介质(如基质金属蛋白酶)及诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)释放,这一系列过程最终导致肠道慢性炎症、上皮细胞的损伤,肠黏膜屏障破坏,形成 UC。其中 IL-23 通过 STAT3 信号通路介导,在 UC 的发病机制中起中枢性纽带作用。有学者推测 IL-23 是通过先激活固有免疫系统,然后后者再激活、诱导肠道局部的 T 细胞免疫应答,导致 UC 发病^[13]; IL-23 可激活 UC 患者肠黏膜上皮间淋巴细胞(intraepithelial lymphocyte, IEL)、NK 细胞,促使其分泌相应的致炎细胞因子,调节炎症反应;还通过抑制 Foxp3⁺ 调节性 T 细胞的发展来促进肠炎的发生^[14]。而 IL-17 是 UC 肠黏膜组

表 2 不同肠组织病理分级 UC 肠黏膜中 IL-23、IL-17 的表达(mean ± SD)

分组	IL-23	IL-17
对照组	0.17 ± 0.58	0.42 ± 1.00
UC 组	4.38 ± 1.27 ^a	4.88 ± 0.91 ^a
病理分级 1 级	3.00 ± 0.53 ^a	3.71 ± 0.76 ^a
病理分级 2 级	4.12 ± 1.15 ^{a,c}	4.81 ± 0.60 ^{a,c}
病理分级 3 级	5.58 ± 0.51 ^{a,b}	5.67 ± 0.65 ^{a,b}

^a*P* < 0.05 vs 对照组; ^b*P* < 0.05 vs 轻度组; ^c*P* < 0.05 vs 中度组。IL: 白介素; UC: 溃疡性结肠炎。

织炎症反应中重要的调节因子,他通过细胞外信号调节(extracellular regulated protein kinases, ERK)-丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)和 NF-κB 通路发挥生物学效应,诱导 IL-6、粒细胞/巨噬细胞集落刺激因子、细胞间黏附分子 1 等炎症相关基因表达,引起组织细胞浸润和组织破坏,导致肠道炎症。IL-23 作为 IL-23/IL-17 轴中炎症的始动因子,而 IL-17 则为核心致炎因子,促发炎症的级联放大,最终介导了肠道炎症的发生和肠黏膜的损伤。

Liu 等^[6]研究显示 UC 肠黏膜组织标本 IL-23p19 主要表达于肠黏膜的 CD68⁺ 巨噬细胞, IL-23p19 阳性细胞的百分比及 IL-23p19 mRNA 较健康对照组显著增高;同时,在 UC 肠黏膜中, IEL 的 IL-23R 表达明显增高, IL-23 可刺激 UC IEL 分泌更高水平的 IFN-γ、TNF、IL-2,同时分泌 IL-17A,而健康对照者的 IEL 经 IL-23 刺激无 IL-17A 的表达。而 Fujino 等^[5]对 UC 患者血浆及肠黏膜组织中的 IL-17 研究显示,活动期 UC 血浆 IL-17 水平明显高于健康对照组;同时, IL-17 表达于 UC 肠黏膜中 CD3⁺ T 细胞、CD68⁺ 单核细胞及巨噬细胞,活动期 UC IL-17 表达数量明显高于缓解期 UC;而健康对照组、缺血性肠病、感染性结肠炎患者中均无 IL-17 的阳性表达。IL-23、IL-17 在 UC 患者中均表达增高,但两者表达水平变化与 UC 患者肠黏膜组织学分级是否相关,以及两者内部关联性,尚无明确报道阐述证实。本研究发现, IL-23、IL-17 不仅在活动期 UC 血浆及肠黏膜组织中表达高于健康对照组,还随着组织学分级增高而表达增强,虽组织学分级 1、2 级的 UC 血浆中两致炎细胞因子较健康对照组表达水平增高,但无统计学意义,与相关研究结果^[15]证实 IL-23、IL-17 在中重度 UC 及克罗恩病(crohn's disease, CD)患者中显著表达吻合。且 IL-23 与

IL-17表达密切相关, 无论是在血浆中还是肠黏膜组织中IL-17均伴随IL-23升高而升高。

总之, IL-23/IL-17轴相关的细胞因子IL-23、IL-17在活动期UC患者血浆及肠黏膜组织中均高表达, 且随着UC肠黏膜组织学分级的增加而表达水平增高, 提示IL-23/IL-17轴的主要细胞因子IL-23、IL-17与UC肠道黏膜损伤程度密切相关, 在UC的发生发展中占据重要地位, 其具体的作用机制有待进一步研究。

4 参考文献

- 1 Danese S, Fiocchi C. Ulcerative colitis. *N Engl J Med* 2011; 365: 1713-1725 [PMID: 22047562 DOI: 10.1056/NEJMr1102942]
- 2 Hue S, Ahern P, Buonocore S, Kullberg MC, Cua DJ, McKenzie BS, Powrie F, Maloy KJ. Interleukin-23 drives innate and T cell-mediated intestinal inflammation. *J Exp Med* 2006; 203: 2473-2483 [PMID: 17030949]
- 3 Fitzpatrick LR. Novel Pharmacological Approaches for Inflammatory Bowel Disease: Targeting Key Intracellular Pathways and the IL-23/IL-17 Axis. *Int J Inflam* 2012; 2012: 389404 [PMID: 22506136 DOI: 10.1155/2012/389404]
- 4 张晓斐, 蒋文瑜, 于鹏丽, 李文杰, 张红杰. Th17细胞及其相关因子在活动期溃疡性结肠炎患者中的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 19-26
- 5 Fujino S, Andoh A, Bamba S, Ogawa A, Hata K, Araki Y, Bamba T, Fujiyama Y. Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease. *Gut* 2003; 52: 65-70 [PMID: 12477762]
- 6 Liu Z, Yadav PK, Xu X, Su J, Chen C, Tang M, Lin H, Yu J, Qian J, Yang PC, Wang X. The increased expression of IL-23 in inflammatory bowel disease promotes intraepithelial and lamina propria lymphocyte inflammatory responses and cytotoxicity. *J Leukoc Biol* 2011; 89: 597-606 [PMID: 21227898 DOI: 10.1189/jlb.0810456]
- 7 中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组. 对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见. *中华消化杂志* 2007; 27: 545-550
- 8 Atreya I, Atreya R, Neurath MF. NF-kappaB in inflammatory bowel disease. *J Intern Med* 2008; 263: 591-596 [PMID: 18479258 DOI: 10.1111/j.1365-2796]
- 9 Schroeder KW, Tremaine WJ, Ilstrup DM. Coated oral 5-aminosalicylic acid therapy for mildly to moderately active ulcerative colitis. A randomized study. *N Engl J Med* 1987; 317: 1625-1629 [PMID: 3317057]
- 10 Vanaudenaerde BM, De Vleeschauwer SI, Vos R, Meyts I, Bullens DM, Reynders V, Wuyts WA, Van Raemdonck DE, Dupont LJ, Verleden GM. The role of the IL23/IL17 axis in bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation. *Am J Transplant* 2008; 8: 1911-1920 [PMID: 18786233 DOI: 10.1111/j.1600-6143]
- 11 Qian C, Jiang T, Zhang W, Ren C, Wang Q, Qin Q, Chen J, Deng A, Zhong R. Increased IL-23 and IL-17 expression by peripheral blood cells of patients with primary biliary cirrhosis. *Cytokine* 2013; 64: 172-180 [PMID: 23910013 DOI: 10.1016/j.cyto.2013.07.005]
- 12 Brunner PM, Koszik F, Reininger B, Kalb ML, Bauer W, Stingl G. Infliximab induces downregulation of the IL-12/IL-23 axis in 6-sulfo-LacNac (slan)(+) dendritic cells and macrophages. *J Allergy Clin Immunol* 2013 Jul 25. [Epub ahead of print] [PMID: 23890755 DOI: 10.1016/j.jaci.2013.05.036]
- 13 Buonocore S, Ahern PP, Uhlig HH, Ivanov II, Littman DR, Maloy KJ, Powrie F. Innate lymphoid cells drive interleukin-23-dependent innate intestinal pathology. *Nature* 2010; 464: 1371-1375 [PMID: 20393462 DOI: 10.1038/nature08949]
- 14 Izcue A, Hue S, Buonocore S, Arancibia-Carcamo CV, Ahern PP, Iwakura Y, Maloy KJ, Powrie F. Interleukin-23 restrains regulatory T cell activity to drive T cell-dependent colitis. *Immunity* 2008; 28: 559-570 [PMID: 18400195 DOI: 10.1016/j.immuni.2008.02.019]
- 15 Higa S, Suzuki T, Hayashi A, Tsuge I, Yamamura Y. Isolation of catecholamines in biological fluids by boric acid gel. *Anal Biochem* 1977; 77: 18-24 [PMID: 12678]

■同行评价

本文具有一定的科学性和可读性。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



结直肠癌中microRNA-625表达的临床意义

刘楠启, 孟胜男, 刘莹

■背景资料

结直肠癌发病率及死亡率在近几十年间快速升高, 肿瘤进展决定在很大程度上决定了患者的预后生存时间, 特异性标志物的确定有助于肿瘤的治疗及预后的评估, miRNA-625即是本研究待确定的标志物。

刘楠启, 刘莹, 中国医科大学基础医学院生物化学与分子生物学教研室 辽宁省沈阳市 110001

孟胜男, 中国医科大学药学院药剂教研室 辽宁省沈阳市 110001

刘楠启, 主要从事生物化学与分子生物学方面的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81173123

作者贡献分布: 课题设计与试剂提供由刘莹与孟胜男完成; 研究过程、数据分析及论文写作由刘楠启完成。

通讯作者: 刘莹, 副教授, 110001, 辽宁省沈阳市和平区北二马路92号, 中国医科大学生物化学与分子生物学教研室。

yingliucmu@gmail.com

电话: 024-23256666

收稿日期: 2013-08-10 修回日期: 2013-09-16

接受日期: 2013-09-20 在线出版日期: 2013-10-18

Clinical significance discussion of microRNA-625 expression in colorectal cancer

Nan-Qi Liu, Sheng-Nan Meng, Ying Liu

Nan-Qi Liu, Ying Liu, Department of Biochemistry and Molecular Biology, China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Sheng-Nan Meng, Department of Pharmaceutics, China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81173123

Correspondence to: Ying Liu, Associate Professor, Department of Biochemistry and Molecular Biology, China Medical University, 92 Beier Road, Heping District, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. yingliucmu@gmail.com

Received: 2013-08-10 Revised: 2013-09-16

Accepted: 2013-09-20 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To evaluate the relationship between the expression of microRNA-625 (miR-625) and its clinical correlation with colorectal cancer (CRC).

METHODS: The expression level of miR-625 was determined in 78 pairs of human colorectal cancer tissues and pair-matched adjacent noncancerous colorectal tissues by quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction (qRT-PCR). Furthermore, association of miR-625 expression with clinicopathological characteristics and survival rate in CRC patients were evaluated.

RESULTS: Compared with the tissue from the adjacent normal mucosa (mean expression level = 2.748) miR-625 was significantly down regulated in CRC tissues (mean expression level = 0.769) ($P = 0.021$). miR-625 expression was decreased in CRC cell lines HCT116 and SW480 (mean expression level 0.634, 0.941, respectively) compared with lower metastatic potential Caco-2 cell line (mean expression level = 2.048) ($P < 0.05$). In addition, the lower expression level of miR-625 was positively associated with advanced lymph node metastasis, liver metastasis and overall survival ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Our researches show that miR-625 may serve as an efficient clinical biomarker and a potential therapeutic tool for the inhibition of metastasis in CRC.

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

Key Words: miR-625; Colorectal cancer; qRT-PCR

Liu NQ, Meng SN, Liu Y. Clinical significance discussion of microRNA-625 expression in colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3158-3162 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3158.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3158>

摘要

目的: 了解microRNA-625(miR-625)在结直肠癌组织中的表达情况及其与肿瘤临床病理参数及生存率的相关性。

方法: 应用定量逆转录聚合酶链反应(quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction, qRT-PCR)技术检测78对结直肠癌及癌旁正常组织以及结直肠癌细胞系中miR-625的表达, 统计学分析其表达水平与肿瘤临床病理参数及生存率的关系。

结果: 结直肠癌组织及癌旁正常黏膜组织中miR-625表达水平分别为 0.769 ± 0.372 和 2.748 ± 0.923 , 癌组织中表达显著下调, $P = 0.021$ 。结直肠癌细胞系HCT、SW480中miR-625表达水

■同行评议者

刘炳亚, 研究员, 上海交通大学医学院附属瑞金医院上海消化外科研究所

平分别为0.634和0.941, 表达水平与低转移潜能细胞系Caco-2中表达水平显著差异, $P < 0.05$. miR-625的低表达与晚期淋巴结转移, 肝转移密切相关, P 值均小于0.05. 随访数据提示miR-625低表达结直肠癌患者5年生存率较低.

结论: 结直肠癌组织及肿瘤细胞系中miR-625低表达, 其低表达与结直肠癌侵袭转移密切相关, 且提示较差的预后.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司

关键词: miR-625; 结直肠癌; qRT-PCR

核心提示: 应用定量PCR的方法检测结直肠癌肿瘤组织及对应癌旁组织以及3种肿瘤细胞系中miR-625的表达, 研究结果提示miR-625的下调与肿瘤的侵袭转移特性密切相关, 且低表达导致更差的预后.

刘楠启, 孟胜男, 刘莹. 结直肠癌中microRNA-625表达的临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3158-3162 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3158.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3158>

0 引言

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是最常见的恶性肿瘤之一, 最近几十年间其发病率和死亡率显著升高^[1]. 目前, 尽管外科手术技术和药物化疗手段均有了长足的进步, 结直肠癌患者的5年生存率依然主要取决于肿瘤的进展^[2]. 因此, 寻找肿瘤特异性生物学标记分子以期达到检测肿瘤治疗效果及预测肿瘤预后成为目前研究的重点.

MicroRNA(miRNA)是一类小分子量, 内源性非编码的RNA分子, 广泛存在于真核生物中, 进化上相对保守, miRNA通过降解mRNA或抑制翻译达到转录后调控目的基因表达的功能^[3]. 近来研究证实miRNA可起到肿瘤抑制因子或原癌基因的作用, 在多种肿瘤生物和病理学进程中发挥重要作用. 异常的miRNA表达可能成为恶性肿瘤诊断和预后的潜在标志物^[4].

研究发现miR-625在多种肿瘤中异常表达^[5,6], 目前国内尚没有miR-625与结直肠癌相关性方面的报道, 本研究旨在了解结直肠癌组织及肿瘤细胞系中miR-625表达情况, 并研究其表达与肿瘤临床病理参数以及生存率的相关性.

1 材料和方法

1.1 材料 2004-01/2007-08在本院胃肠外科接受手

术治疗的78例结直肠癌患者, 其中男42例, 女36例, 年龄62岁 \pm 10.23岁, 所有病例术前均未行放疗或化疗, 术后经病理确诊, 详细临床病理参数如表1所示. 同时收集距肿瘤边缘 >10 cm的78例癌旁正常组织作为对照. 所有受试对象均参加每3月一次的随访计划, 随访采用电话随访的方式与患者或家属取得联系, 计算平均生存期和生存率. 标本的制备与分析获得本院伦理委员会批准并在委员会监督下进行, 所有受试对象均知情同意. 本研究选取SW480、HCT116和Caco-2 3种结直肠癌细胞系, 使用包含血清的培养基, 37 °C, 50 mL/L CO₂条件下培养.

1.2 方法

1.2.1 RNA提取: 细胞系及石蜡包埋组织样本的总RNA提取使用TRIzol(Invitrogen公司)试剂和RecoverAll全核酸提取试剂盒(ABI公司). 所得RNA经紫外分光光度计检测260 nm波长处的光密度值, 计算RNA浓度. $A_{260/280}$ 比值决定RNA纯度, 比值在1.8-2.1之间说明质量较好. RNA样本立即放入-80 °C冰箱保存或者立即进行逆转录.

1.2.2 定量逆转录聚合酶链反应(quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction, qRT-PCR)分析miRNA-625的表达: 取包含miRNA的RNA样本40-500 ng, 先经多聚腺苷酸聚合酶加poly A, 继而应用One Step PrimeScript miRNA cDNA合成试剂盒(TAKARA公司)行逆转录得到cDNA. 定量PCR反应使用SYBR Premix Ex Taq试剂盒, 应用Primer Premier 6.0自行设计miRNA特异性上游引物, 下游引物试剂盒提供. 使用U6作为内参照, 两者上游引物序列如下: 5'-CCAGGGGAAAGTTCTATAGTCC-3'(miR-625)和5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGTCAT-3'(U6). 相对表达量以U6 snRNA的表达量为标准, 应用2^{- $\Delta\Delta C_t$} 进行分析.

统计学处理 数据分析采用SPSS17.0软件包, 计量资料以mean \pm SD表示, miR-625表达量比较采用配对资料 t 检验, 生存分析应用Kaplan-Meier法, 生存率比较采用Log-rank检验. 所有检验结果以 $P < 0.05$ 为差异具统计学意义.

2 结果

2.1 结直肠癌、癌旁正常组织以及细胞系中miR-625表达结果 定量PCR反应扩增产物特异, 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, miR-625在结直肠癌组织和正常组织中的相对表达量分别为(0.769 \pm 0.372)和

■ 研发前沿

目前国内外研究者报道多种miRNA在众多肿瘤组织及细胞系中的表达情况, 亟待解决miRNA发挥作用的具体机制.

■ 相关报道

Wang等研究者发现miR-625在胃癌中表达显著下调, 体内体外实验均提示miR-625具有抑制肿瘤侵袭及转移的能力, 且提出整合素偶联激酶(integrin linked kinase, ILK)是miR-625作用靶点. Korpai等研究发现miR-200家族成员具有抑制肿瘤细胞迁移和上皮间质转化的能力, 其作用靶点为ZEB1和ZEB2.

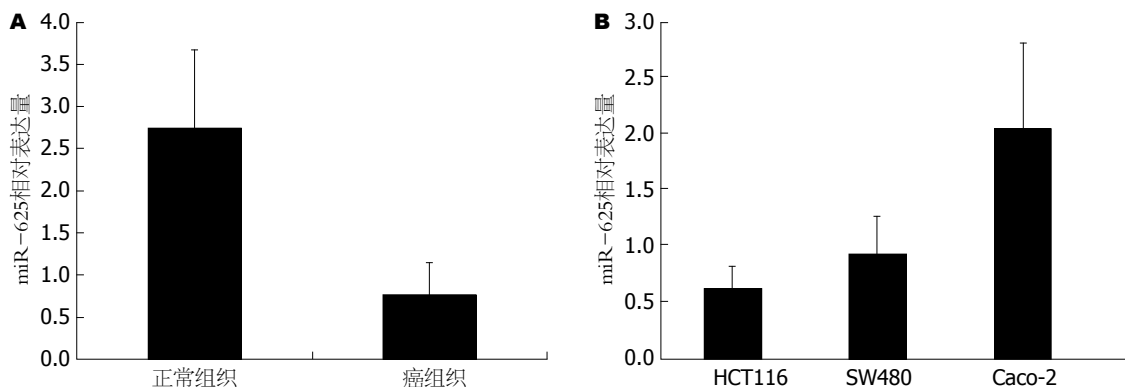


图1 结直肠癌组织与癌旁正常组织中以及细胞系中miR-625表达水平. A: 癌组织与癌旁正常组织miR-625表达水平对比; B: HCT116、SW480及Caco-2细胞系miR-625表达水平. CRC: 结直肠癌.

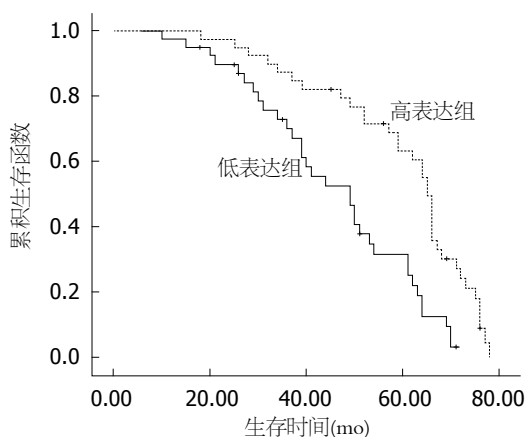


图2 结直肠癌患者miR-625高表达组及低表达组生存曲线.

(2.748 ± 0.923), 差异具有统计学意义($P = 0.021$). 此外, 3种CRC细胞系检测结果显示, HCT116、SW480中miR-625表达水平显著低于低转移潜能的Caco-2细胞系, $P < 0.05$ (图1).

2.2 miR-625表达与肿瘤临床病理参数相关性分析 结直肠癌78例患者miR-625表达水平与肿瘤病理参数分析结果显示, 其低表达与肿瘤淋巴结及肝脏转移情况密切相关, 具有统计学意义($P < 0.05$)(表2).

2.3 miR-625表达水平与患者生存时间的关系 miR-625表达与患者预后的关系 78例结直肠癌患者依照miR-625表达水平的均值0.769分为高表达组和低表达组, 每组均39例. 低表达组5年生存率25.6%, 平均生存时间 $46.025 \text{ mo} \pm 2.781 \text{ mo}$ (95%CI: 40.575-51.475), 高表达组5年生存率59.0%, 生存时间 59.863 mo (95%CI: 54.718-65.009), 生存曲线如图2所示.

3 讨论

结直肠癌是目前发病率增长最快的恶性肿瘤之

表1 结直肠癌患者病理资料(n)

病理参数	n
性别	
男	42
女	36
年龄(岁)	
<60	18
≥60	60
肿瘤直径(cm)	
<5	40
≥5	38
分化程度	
高-中分化	55
低中分化	23
转移情况	
淋巴结转移N0	43
淋巴结转移 N1-N2	35
肝转移	67
无肝转移	11

一, 预后不佳严重影响患者生活质量. 近年来, 遗传因素在结直肠癌发生、发展过程中所起到的作用越来越引起研究者的重视^[7]. 为了最终达到改进临床治疗策略, 改善疾病治疗效果, 非常有必要确定新的结直肠癌诊断、预后以及治疗的分子靶点. 研究发现, 一些miRNA在结直肠癌组织中表达异常^[8-10], 这些小分子量的非编码核苷酸序列可能在肿瘤发生发展过程中发挥肿瘤抑制因子的作用, 这一结果提示对于结直肠癌, miRNA可能作为其诊断和预后的分子标志物.

目前虽有许多人类肿瘤组织中一些miRNA的表达水平的研究^[11,12], 但少见miRNA表达与肿瘤分期分级相关分析, 国内未见miR-625与结直肠癌之间相关性的研究, 此外本研究应用敏感性更高的定量分析手段检测miR-625在结直肠

表 2 miR-625表达与结直肠癌临床病理参数的关系

病理参数	n	miR-625表达量	P值
淋巴结转移			0.024
N0	43	1.373 ± 0.673	
N1-N2	35	0.642 ± 0.212	
肝转移			0.015
存在	67	0.723 ± 0.326	
不存在	11	1.543 ± 0.534	

癌组织及细胞系中的表达情况, 并进一步分析其表达水平与临床病理参数的相关性以及与生存率的关系。

本研究发现, 对比正常癌旁组织和转移潜能相对较低的细胞系, 结直肠癌组织和高转移潜能肿瘤细胞系中miR-625表达水平明显下降, 研究结果与胃癌、乳腺癌及急性淋巴细胞白血病等肿瘤中的研究结果相一致。此外, 统计分析结果显示, miR-625的低表达与结直肠癌的转移特性密切相关, 包括淋巴结转移以及肝脏转移。病例组中, 表达水平相对较高的39例患者有着更高的5年生存率和中位生存时间。依据所得结果, 我们推断miR-625表达下调是影响结直肠癌预后重要的分子机制, 其下调可能参与结直肠癌转移过程。

近年来, miRNA引起了众多学者的关注, 近期更是在肿瘤组织中频发miRNA的异常表达。目前, 已有千余miRNA被发现, 这类保守的非编码小分子在肿瘤发生发展中的作用可能包括: miRNA具有调控特异性mRNA表达的功能, 通过降解目的mRNA或是抑制其翻译达到下调特定基因表达的功能, 目前研究的多数肿瘤组织中miRNA均呈现低表达, 提示miRNA发挥抑制肿瘤发生发展的作用^[13,14]; miRNA可能参与上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)过程, EMT是人体器官发育的正常生理过程, 他赋予细胞侵袭和转移能力, miRNA可负性调控EMT相关基因的表达^[15,16], 使得肿瘤细胞获得更强的侵袭力和转移能力, 这与本研究得出结果相一致。病例组中, miR-625表达量相对较低的患者因肿瘤的转移力更强, 淋巴结及肝脏的转移可能在一定程度上影响了患者的生存率。

尽管本研究纳入了足够的样本数量, 为了明确证实miR-625是结直肠癌特异标志物, 还需要大规模的前瞻性研究。此外, 还需要更加深入的机制研究来揭示结直肠癌发生发展过程中

miR-625的下调是如何影响到肿瘤的侵袭与转移功能。

总之, 结直肠癌和高转移潜能的细胞系中miR-625表达下调, 其低表达与肿瘤的转移密切相关并导致较差的预后。结果提示miR-625可能成为潜在的结直肠癌转移力特异标志物及治疗靶点。

4 参考文献

- 1 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]
- 2 Weeks JC, Catalano PJ, Cronin A, Finkelman MD, Mack JW, Keating NL, Schrag D. Patients' expectations about effects of chemotherapy for advanced cancer. *N Engl J Med* 2012; 367: 1616-1625 [PMID: 23094723 DOI: 10.1056/NEJMoa1204410]
- 3 Brennecke J, Hipfner DR, Stark A, Russell RB, Cohen SM. bantam encodes a developmentally regulated microRNA that controls cell proliferation and regulates the proapoptotic gene hid in Drosophila. *Cell* 2003; 113: 25-36 [PMID: 12679032]
- 4 Farazi TA, Spitzer JL, Morozov P, Tuschl T. miRNAs in human cancer. *J Pathol* 2011; 223: 102-115 [PMID: 21125669 DOI: 10.1002/path.2806]
- 5 Wang M, Li C, Nie H, Lv X, Qu Y, Yu B, Su L, Li J, Chen X, Ju J, Yu Y, Yan M, Gu Q, Zhu Z, Liu B. Down-regulated miR-625 suppresses invasion and metastasis of gastric cancer by targeting ILK. *FEBS Lett* 2012; 586: 2382-2388 [PMID: 22677169 DOI: 10.1016/j.febslet.2012.05.050]
- 6 Si H, Sun X, Chen Y, Cao Y, Chen S, Wang H, Hu C. Circulating microRNA-92a and microRNA-21 as novel minimally invasive biomarkers for primary breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2013; 139: 223-229 [PMID: 23052693 DOI: 10.1007/s00432-012-1315-y]
- 7 Dutilh BE, Backus L, van Hijum SA, Tjalsma H. Screening metatranscriptomes for toxin genes as functional drivers of human colorectal cancer. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2013; 27: 85-99 [PMID: 23768555 DOI: 10.1016/j.bpg.2013.03.008]
- 8 Zhang Y, Wang X, Xu B, Wang B, Wang Z, Liang Y, Zhou J, Hu J, Jiang B. Epigenetic silencing of miR-126 contributes to tumor invasion and angiogenesis in colorectal cancer. *Oncol Rep* 2013; 30: 1976-1984 [PMID: 23900443 DOI: 10.3892/or.2013.2633]
- 9 Mlcochova J, Faltejskova P, Nemecek R, Svoboda M, Slaby O. MicroRNAs targeting EGFR signaling pathway in colorectal cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2013; 139: 1615-1624 [PMID: 23817698 DOI: 10.1007/s00432-013-1470-9]
- 10 Karaayvaz M, Zhai H, Ju J. miR-129 promotes apoptosis and enhances chemosensitivity to 5-fluorouracil in colorectal cancer. *Cell Death Dis* 2013; 4: e659 [PMID: 23744359 DOI: 10.1038/cddis.2013.193]
- 11 张子兰, 贾筱琴. miRNA在肝癌发生与转移中的研究

■创新盘点

肿瘤细胞中miRNA表达情况比较复杂, 有些上调, 有些则表达下调, 目前国内尚无结直肠癌中miR625表达研究报道。

■同行评价

本文检测78例结肠直肠癌肿瘤组织及其对应癌旁组织中miR-625的表达,并分析了miR-625表达与结肠癌患者的临床病理参数的关系,表明肿瘤组织中miR625表达与患者生存期相关,与肿瘤是否伴有淋巴结以及肝转移相关。

- 进展. 现代肿瘤医学 2013; 21: 887-891
- 12 刘志鹏, 王宗华, 卢斌, 胡春燕, 李学成, 邹利全, 张方征, 陈陵. 腺病毒介导miRNA-29a过表达抑制人胃癌细胞的增殖. 中国肿瘤生物治疗杂志 2013; 20: 312-316
- 13 Wuchty S, Arjona D, Bauer PO. Important miRs of pathways in different tumor types. *PLoS Comput Biol* 2013; 9: e1002883 [PMID: 23358700 DOI: 10.1371/journal.pcbi.1002883]
- 14 Druz A, Chen YC, Guha R, Betenbaugh M, Martin SE, Shiloach J. Large-scale screening identifies a novel microRNA, miR-15a-3p, which induces apoptosis in human cancer cell lines. *RNA Biol* 2013; 10: 287-300 [PMID: 23353574 DOI: 10.4161/rna.23339]
- 15 Korpai M, Lee ES, Hu G, Kang Y. The miR-200 family inhibits epithelial-mesenchymal transition and cancer cell migration by direct targeting of E-cadherin transcriptional repressors ZEB1 and ZEB2. *J Biol Chem* 2008; 283: 14910-14914 [PMID: 18411277 DOI: 10.1074/jbc.C800074200]
- 16 Park SM, Gaur AB, Lengyel E, Peter ME. The miR-200 family determines the epithelial phenotype of cancer cells by targeting the E-cadherin repressors ZEB1 and ZEB2. *Genes Dev* 2008; 22: 894-907 [PMID: 18381893 DOI: 10.1101/gad.1640608]

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》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。

术前同步放化疗联合TME治疗 II / III期直肠癌的临床疗效分析

董新华, 张谢夫, 杨振, 刘光辉

董新华, 张谢夫, 杨振, 刘光辉, 郑州大学第一附属医院胃肠外科 河南省郑州市 450052

董新华, 在读硕士, 主要从事胃肠道肿瘤的基础与临床研究。

作者贡献分布: 本课题由张谢夫设计; 研究过程由董新华、杨振及刘光辉完成; 数据分析由董新华与杨振完成; 本论文写作由董新华完成。

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

收稿日期: 2013-07-21 修回日期: 2013-08-07

接受日期: 2013-08-15 在线出版日期: 2013-10-18

Efficacy and safety of preoperative radiochemotherapy combined with total mesorectal excision in treatment of stage II / III rectal cancer

Xin-Hua Dong, Xie-Fu Zhang, Zhen Yang, Guang-Hui Liu

Xin-Hua Dong, Xie-Fu Zhang, Zhen Yang, Guang-Hui Liu, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Correspondence to: Xie-Fu Zhang, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. zhangxiefu@medmail.com.cn

Received: 2013-07-21 Revised: 2013-08-07

Accepted: 2013-08-15 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To assess the efficacy and safety of preoperative radiochemotherapy combined with total mesorectal excision (TME) in the treatment of stage II / III rectal cancer.

METHODS: One hundred and twelve patients with stage II / III rectal cancer, who were hospitalized in Department of Gastrointestinal Surgery of the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University from January 2006 to December 2011 were collected and equally divided into two groups to receive either preoperative radiochemotherapy combined with TME (group A) or TME alone (group B). The R0 resection rate, anal preservation rate, local recurrence rate and long-term survival rate were compared between the two groups.

RESULTS: There were significant differences in R0 radical resection rate (91.1% vs 75%, $P < 0.05$) and anal preservation rate (64.7% vs 26.3%, $P < 0.05$) between the two groups, although no significant difference was observed in the rates of anastomotic leakage (6.0% vs 4.8%, $P > 0.05$) and poor healing of incision (12.5% vs 8.9%, $P > 0.05$). The 3-year local recurrence rate was significantly lower in group A than in group B (8.9% vs 26.8%, $P < 0.05$), but there were no significant differences in the 3-year survival rate (80.4% vs 71.4%, $P > 0.05$) or 5-year survival rate (57.1% vs 53.6%, $P > 0.05$) between the two groups.

CONCLUSION: Preoperative chemoradiotherapy can increase the rates of R0 radical resection and anal preservation but can not increase the rate of complications. Preoperative chemoradiotherapy combined with TME can significantly reduce the 3-year local recurrence rate but can not improve the long-term survival rate.

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

Key Words: Preoperative radiotherapy; Total mesorectal excision; Local recurrence rate; Long-term survival rate

Dong XH, Zhang XF, Yang Z, Liu GH. Efficacy and safety of preoperative radiochemotherapy combined with total mesorectal excision in treatment of stage II / III rectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3163-3167 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3163.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3163>

摘要

目的: 分析术前同步放化疗联合全直肠系膜切除术(total mesorectal excision, TME)手术治疗 II / III期直肠癌的安全性、有效性。

方法: 收集郑州大学第一附属医院胃肠外科 2006-01/2011-12期间收治的112例TME治疗的 II / III期直肠癌患者的临床病例资料, 其中接受术前同步放化疗联合TME手术治疗方案者为A组($n = 56$), 单纯行TME手术者为B组(n

■背景资料

直肠癌是我国常见的消化系统恶性肿瘤之一, 对于直肠癌的治疗目前多数多采用单纯手术治疗, 术后生存率依然不太令人满意, 且术后并发症较高, 故何种方式更好的解决直肠癌, 各科医师都在持续关注。

■同行评议者

李革, 副教授, 吉林省延吉市延边大学附属医院

■ 研究前沿

本文采用术前放化疗联合TME手术方式研究直肠癌的生存预后及术后并发症,以期能找到更好地应对直肠癌办法。

= 56), 比较分析两组的术后并发症、R0切除率、保肛率、局部复发率和远期生存率。

结果: 两组患者R0切除率(91.7% vs 75%)和保肛率(64.7% vs 26.3%)存在显著差异($P < 0.05$); 两组患者术后吻合口瘘(6.0% vs 4.8%)和切口愈合不良(12.5% vs 8.9%)发生率无显著差异($P < 0.05$); 两组患者3年局部复发率分别为8.9%和26.8%, A组明显低于B组($P < 0.05$), 两组患者3年生存率(80.4% vs 71.4%)和5年生存率(57.1% vs 53.6%)均无显著性差异($P > 0.05$)。

结论: 术前放同步放化疗可以提高手术R0切除率和保肛率而不增加患者术后并发症的发生率。术前同步放化疗联合TME治疗II/III期直肠癌可以明显降低3年局部复发率, 但是并不能明显改善患者远期生存预后。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 术前同步放化疗; 全直肠系膜切除术; 局部复发率; 远期生存率

核心提示: 局部进展期直肠癌术前放化疗可提高R0切除率和保肛率, 降低局部复发率, 全直肠系膜切除术理论上可以使直肠癌手术达到根治效果与传统手术相比, 术前同步放化疗联合TME能更好地提高R0切除率, 降低直肠癌局部复发率及泌尿系统功能的损伤。

董新华, 张谢夫, 杨振, 刘光辉. 术前同步放化疗联合TME治疗II/III期直肠癌的临床疗效分析. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3163-3167 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3163.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3163>

0 引言

近年来随着对直肠癌生物学行为的深入研究、新辅助治疗理念的提出、外科手术方式的改进、吻合器械的应用以及术后辅助治疗的进展, 直肠癌预后得到了明显的改善, 但是局部复发和远处转移是直肠癌治疗失败的两大主要原因^[1,2]. 随着全直肠系膜切除术(total mesorectal excision, TME)^[3]和新辅助治疗的提出, 直肠癌的治疗效果有了很大改观. 本文旨在通过回顾性分析既往接受术前放化疗联合TME治疗方案的II/III期直肠癌患者的病例资料, 总结临床经验, 探讨此治疗方案的安全性和有效性, 为其推广应用提供更多有利的临床证据, 以期更好地指导临床治疗决策, 进一步改善直肠癌患者的生活质量和预后。

1 材料和方法

1.1 材料 收集郑州大学第一附属医院胃肠外科2006-01/2011-12期间收治的112例TME治疗的II/III期直肠癌患者的临床病例资料, 其中接受术前同步放化疗联合TME手术治疗的为A组($n = 56$), 单纯行TME手术者为B组($n = 56$). 两组患者基本情况及肿瘤距肛缘的距离详见表1. 所有病例均经肠镜病理证实为直肠腺癌. 患者纳入标准: (1)术前肠镜病理确诊为直肠腺癌, 硬质肠镜检查肿瘤下缘距肛缘距离 ≤ 10 cm; (2)术前CT分期为II期(淋巴结阴性, 肿瘤穿透肠壁肌层)和III期(淋巴结阳性, 无远处转移)的直肠癌患者; (3)接受术前放化疗联合TME手术治疗方案或按TME原则单纯行手术治疗的直肠癌患者; (4)所有患者均知情同意, 遵循自愿原则, 该临床研究报我院伦理委员会批准同意后进行。

1.2 方法

1.2.1 术前同步放化疗: 术前化疗方案采用FOLFOX6方案, 即奥沙利铂85 mg/m²静脉滴注2 h, 第一天亚叶酸钙400 mg/m²静脉滴注2 h, 然后氟尿嘧啶(flourouracil, 5-FU)400 mg/m²静脉推注不小于10 min, 之后5-FU 1200 mg/(m²·d)×2静脉滴注持续46-48 h为一疗程, 每2 wk重复, 术前进行2疗程化疗. 于化疗开始第1天同步进行放疗, 放疗方案采用常规分割放疗, 总剂量36-40 Gy, 每次1.8-2.0 Gy, 每周5次, 共4 wk.

1.2.2 手术方式: 术前放化疗结束后间隔4 wk在我科进行手术, A组与B组直肠癌患者的手术均由同等资质、同等技术水平的医生完成. A组患者实施手术前复查血常规、肝肾功等生化检查以及盆腔CT, 了解有无手术禁忌症, 对直肠癌病变重新进行术前评估分期. 手术方式有腹会阴联合直肠癌切除术(Miles手术)、经腹直肠癌切除术(Dixon手术)和经腹直肠癌切除、近端造口、远端封闭手术(Hartmann手术), 无一例患者行预防性造瘘术, 术中均遵循TME手术原则, 肠管吻合均采用同一厂家同类型吻合器械。

1.2.3 术后辅助治疗: A组患者无论术后病理结果如何, 均接受FOLFOX6化疗方案进行术后辅助治疗^[4]. B组患者根据术后病理情况, 如果术后病理提示恶性程度高、淋巴结转移比例高(N2)或者有血管、神经侵犯等情况, 且病人条件允许, 给予FOLFOX6方案进行术后辅助治疗. 否则均参照NCCN结直肠癌指南(2012中国版)^[5]给予对症处理。

1.2.4 术后治疗监测及随访: 术后每次辅助化疗

表 1 两组患者基本情况及肿瘤距肛缘位置

分组	性别(例)		年龄(岁)		肿瘤位置(下缘距肛缘)			
	男	女	分布	平均	距离(cm)		患者分布(例)	
					平均	中位	距离≤6 cm	距离>6 cm
A组	30	26	36-75	51	2.5-8.0	5.5	38	18
B组	35	21	40-78	55	2-9	5	36	20

A组: 术前放化疗联合TME手术患者基本情况及肿瘤最下缘距肛缘的距离; B组: 单纯行TME手术患者基本情况及肿瘤最下缘距肛缘的距离。

表 2 两组患者R0切除率和保肛率的比较

分组	A组	B组	χ^2	P值
R0切除率	91.1%	75.0%	5.134	0.023
保肛率	64.7%	26.3%	5.355	0.021

A组: 术前放化疗联合TME术后患者R0切除率和保肛率; B组: 单纯行TME术后患者R0切除率和保肛率。

表 3 两组患者术后并发症发生率的比较

分组	A组	B组	χ^2	P值
切口愈合不良	12.5%	8.9%	0.373	0.541
吻合口瘘	6.0%	4.8%	0.061	0.805

A组: 术前放化疗联合TME术后患者并发症的发生率; B组: 单纯行TME术后患者并发症的发生率。

之前复查血常规、肝功能和肿瘤标志物, 在最初的2年应每3 mo一次病史询问和系统的体格检查, 然后每6 mo 检查1次, 总共5年. 对于II/III期直肠癌患者, 在最初的3-5年内每年至少进行一次胸、腹和盆腔CT扫描检查. 随访采用住院复查、门诊随访和电话随访. 随访终止日期为2012-12-31.

统计学处理 应用SPSS17.0统计软件进行统计学分析, 计数资料采用 χ^2 检验和Fisher确切概率法进行统计学分析, 生存分析采用Kaplan-Meier法和Log-rank检验进行统计学处理, 本研究中 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 术后结果比较

2.1.1 两组患者手术R0切除率和保肛率的比较: A组与B组所有患者肿瘤两端切缘术中快速病理活检均为阴性, A组56例患者均获得手术切除, 有5例患者术后系统病理检查CRM阳性, R0切除率为91.1%(51/56). 新辅助治疗前有17例患者肿瘤拟行Miles手术, 而最终只有6例实施了Miles手术, 保肛率为64.7%(11/17), 其余病例均行Dixon手术. B组56例患者也均获得手术切除, 有14例患者术后病理证实CRM阳性, R0切除率为75%(42/56). 手术前有19例患者拟行Miles手术, 而最终根据术中探查情况仅有5例实施了保肛手术, 有1例患者因为年龄较大, 身体

一般状况较差实施了Hartmann手术, 保肛率为26.3%(5/19). 两组患者R0切除率和保肛率的统计学差异如表2.

2.1.2 术后短期并发症的比较: 手术后A组患者出现7例切口愈合不良(12.5%), 3例超低位吻合口瘘(6.0%). B组患者出现5例切口愈合不良(8.9%), 包括3例会阴部积液, 2例低位吻合口瘘(4.8%), 发生吻合口瘘的患者经积极给予营养支持、局部通畅冲洗引流及给予抗生素等保守治疗后均于1 mo内闭瘘. 两组患者术后切口愈合不良和吻合口瘘的发生率无显著差异(表3). 术后短期内出现排尿功能障碍者9例, 均于术后7-10 d天恢复正常. 65例男性患者中, 有3例患者出现性功能障碍, 其中2例表现为勃起障碍, 1例失访.

2.2 随访结果 两组患者术后3年局部复发率的比较: A组与B组者均获随访, A组随访时间16-80 mo, 中位随访时间为55 mo, 6位患者失访, 失访率为10.7%(6/56); B组患者随访时间为12-80 mo, 中位随访时间为50 mo, 5位患者失访, 失访率为8.9%(5/56). 随访于2012-12-31或患者死亡时间或失访时间终止. A组患者术后随访3年有5例出现局部复发, 1例发生远处转移至肝脏, 局部复发率为8.9%(5/56); B组患者后随访3年有15例出现局部复发, 有3例因转移至肝脏而死亡, 局部复发率为26.8%(15/56). 两组患者3年复发率比较有显著差异($\chi^2 = 6.087, P = 0.014$), A组治疗组3年局部复发率明显低于B治疗组(8.9% vs

■创新盘点

现很多文章单一从放化疗或者单一手术去治疗直肠癌, 进而去评估其生存率、并发症, 结论都比较单一; 而本文采取术前同步放化疗联合TME手术方式去论证直肠癌的生存率及其并发症, 为以后寻找直肠癌更合理的方式提供了借鉴。

■应用要点

术前放化疗已成为直肠癌的标准治疗模式,全直肠系膜切除术(total mesorectal excision, TME)理论上可以使直肠癌手术达到根治效果,所以术前放化疗结合TME势必会成为直肠癌治疗的主流趋势。

表 4 两组患者的1年、3年、5年累计生存率

分组	累计生存率			期内死亡人数(例)		
	1年	3年	5年	1年	3年	5年
A组	100%	80.4%	57.1%	0	11	24
B组	100%	71.4%	53.6%	0	16	26

A组: 术前放化疗联合TME术后患者1、3、5年累计生存率; B

组: 单纯行TME术后患者1、3、5年累计生存率。

26.8%)。

2.2.2 两组患者术后的生存率估计和生存曲线比较: 对两组患者的随访资料应用Kaplan-Meier法和Log-rank检验进行生存分析估计和生存曲线比较。两组患者3年生存率($\chi^2 = 1.220$, $P = 0.269$)和5年生存率($\chi^2 = 0.145$, $P = 0.704$)均无显著性差异(表4, 图1)。

3 讨论

直肠癌是我国常见的消化系恶性肿瘤之一,近年来其发病率呈上升趋势,严重危害了人类的身心健康。近年来随着对直肠癌生物学行为的深入研究、新辅助治疗理念的提出、外科手术方式的改进、吻合器械的应用以及术后辅助治疗的进展,直肠癌预后得到了明显的改善,但是局部复发和远处转移是直肠癌治疗失败的两大主要原因。随着TME和新辅助治疗的提出,直肠癌的治疗效果有了很大改观^[6]。

局部进展期直肠癌术前放化疗可降低肿瘤分期,提高R0切除率和保肛率,降低局部复发率,可以说已经成为综合治疗的标准模式^[7,8]。术前由于肿瘤血供较好切肿瘤组织含氧量较高,可以提高放疗效果和局部化疗药物浓度;且可以同时控制和消灭临床或亚临床的微小病灶^[9],所以术前放化疗可以提高R0切除率。TME并不是一种手术方式,而是直肠癌手术中坚持的一种原则。TME理论上可以使直肠癌手术达到根治效果,大量的临床研究也证实了TME在降低直肠癌局部复发率中的价值, TME的另一优势在于直视下锐性分离可以更好地保护盆腔自主神经,减少直肠癌术后的泌尿生殖功能障碍。TME强调的是环绕直肠锐性剥离直肠系膜,切除直肠远端系膜不少于5 cm或全部系膜,癌肿肛侧肠管切线距癌肿远端不少于2 cm。故与传统手术相比,术前同步放化疗联合TME能更好地提高R0切除率,降低直肠癌局部复发率及泌尿系统功能的损伤^[10-12]。

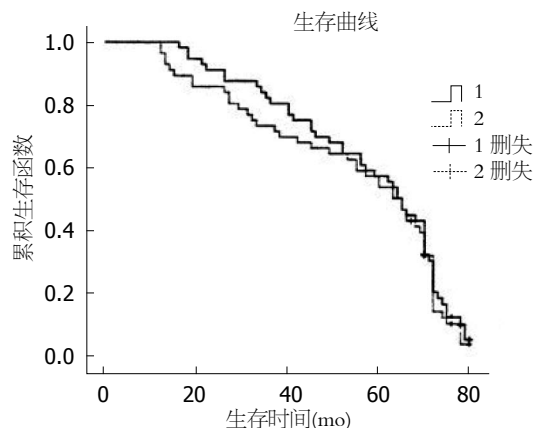


图 1 两组患者的生存曲线。1: 术前放化疗联合TME; 2: 单纯手术TME。

术前同步放化疗联合手术根治切除的多学科综合治疗可以降低肿瘤分期^[13],提高保肛率、降低局部复发率,但是均未改善总体生存^[14,15]。两组患者的生存曲线如图1, 3年、5年生存率分别为80.4%、57.1%和71.4%、53.6%,远期生存无显著差异,与Glynne-Jones等^[15]的研究结果相符。虽没有统计学差异,但是从生存曲线上可以看出,术后5年内,A组生存曲线位于B组上方。可见术前同步放化疗联合TME治疗II/III期直肠癌其优势明显高于单纯手术者,但是术前同步放化疗联合TME治疗II/III期直肠癌最终能否改善5年生存率尚需进一步临床研究。

4 参考文献

- Bonadeo FA, Vaccaro CA, Benati ML, Quintana GM, Garione XE, Telenta MT. Rectal cancer: local recurrence after surgery without radiotherapy. *Dis Colon Rectum* 2001; 44: 374-379 [PMID: 11289283 DOI: 10.1007/BF02234736]
- Roh MS, Colangelo LH, O'Connell MJ, Yothers G, Deutsch M, Allegra CJ, Kahlenberg MS, Baez-Diaz L, Ursiny CS, Petrelli NJ, Wolmark N. Preoperative multimodality therapy improves disease-free survival in patients with carcinoma of the rectum: NSABP R-03. *J Clin Oncol* 2009; 27: 5124-5130 [PMID: 19770376 DOI: 10.1200/JCO.2009.22.0467]
- Heald RJ, Husband EM, Ryall RD. The mesorectum in rectal cancer surgery--the clue to pelvic recurrence? *Br J Surg* 1982; 69: 613-616 [PMID: 6751457 DOI: 10.1002/bjs.1800691019]
- Hofheinz RD, Wenz F, Post S, Matzdorff A, Laechelt S, Hartmann JT, Müller L, Link H, Moehler M, Kettner E, Fritz E, Hieber U, Lindemann HW, Grunewald M, Kremers S, Constantin C, Hipp M, Hartung G, Gencer D, Kienle P, Burkholder I, Hochhaus A. Chemoradiotherapy with capecitabine versus fluorouracil for locally advanced rectal cancer: a randomised, multicentre, non-inferiority, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2012; 13: 579-588 [PMID: 22503032 DOI: 10.1016/S1470-2045(12)70116-X]
- National Comprehensive Cancer Network(NCCN).

- NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology-Rectal Cancer. Available from: URL: http://www.nccn.org/professional/physician_gls/pdf/rectal.pdf
- 6 Braendengen M, Tveit KM, Berglund A, Birkemeyer E, Frykholm G, Pahlman L, Wiig JN, Byström P, Bujko K, Glimelius B. Randomized phase III study comparing preoperative radiotherapy with chemoradiotherapy in nonresectable rectal cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26: 3687-3694 [PMID: 18669453 DOI: 10.1200/JCO.2007.15.3858]
 - 7 Pucciarelli S, Del Bianco P, Efficace F, Serpentine S, Capirci C, De Paoli A, Amato A, Cuicchi D, Nitti D. Patient-reported outcomes after neoadjuvant chemoradiotherapy for rectal cancer: a multicenter prospective observational study. *Ann Surg* 2011; 253: 71-77 [PMID: 21135694 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181fcb856]
 - 8 任焯. 术前同步放化疗是直肠癌标准治疗模式. 实用肿瘤杂志 2013; 28: 20-23
 - 9 Gérard JP, Conroy T, Bonnetain F, Bouché O, Chapet O, Closon-Dejardin MT, Untereiner M, Leduc B, Francois E, Maurel J, Seitz JF, Buecher B, Mackiewicz R, Ducreux M, Bedenne L. Preoperative radiotherapy with or without concurrent fluorouracil and leucovorin in T3-4 rectal cancers: results of FFCD 9203. *J Clin Oncol* 2006; 24: 4620-4625 [PMID: 17008704 DOI: 10.1200/JCO.2006.06.7629]
 - 10 Lange MM, Marijnen CA, Maas CP, Putter H, Rutten HJ, Stiggelbout AM, Meershoek-Klein Kranenbarg E, van de Velde CJ. Risk factors for sexual dysfunction after rectal cancer treatment. *Eur J Cancer* 2009; 45: 1578-1588 [PMID: 19147343 DOI: 10.1016/j.ejca.2008.12.014]
 - 11 Lange MM, Maas CP, Marijnen CA, Wiggers T, Rutten HJ, Kranenbarg EK, van de Velde CJ. Urinary dysfunction after rectal cancer treatment is mainly caused by surgery. *Br J Surg* 2008; 95: 1020-1028 [PMID: 18563786 DOI: 10.1002/bjs.6126]
 - 12 Baxter NN, Garcia-Aguilar J. Organ preservation for rectal cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25: 1014-1020 [PMID: 17350952 DOI: 10.1200/JCO.2006.09.7840]
 - 13 Francois Y, Nemoz CJ, Baulieux J, Vignal J, Grandjean JP, Partensky C, Souquet JC, Adeleine P, Gerard JP. Influence of the interval between preoperative radiation therapy and surgery on downstaging and on the rate of sphincter-sparing surgery for rectal cancer: the Lyon R90-01 randomized trial. *J Clin Oncol* 1999; 17: 2396 [PMID: 10561302]
 - 14 Bosset JF, Collette L, Calais G, Mineur L, Maingon P, Radosevic-Jelic L, Daban A, Bardet E, Beny A, Ollier JC. Chemotherapy with preoperative radiotherapy in rectal cancer. *N Engl J Med* 2006; 355: 1114-1123 [PMID: 16971718 DOI: 10.1056/NEJMoa060829]
 - 15 Glynne-Jones R, Sebag-Montefiore D. Role of neoadjuvant chemotherapy in rectal cancer: interpretation of the EXPERT study. *J Clin Oncol* 2006; 24: 4664-4665; author reply 4664-4665 [PMID: 17008708 DOI: 10.1200/JCO.2006.07.9491]

同行评价

本论文采用新辅助治疗方法对直肠癌患者治疗, 取得明显效果, 有一定的临床价值, 试验设计合理, 结论可信, 有一定的科学性和可读性。

编辑 黄新珍 电编 鲁亚静



可变硬度结肠镜在老年患者结肠镜检查中的应用价值

钱晶瑶, 高建新, 齐艳荣, 王文静, 贾卫江

■背景资料

结肠镜检查是筛查结直肠疾病的首选手段, 其重要性已得到广泛共识, 结肠镜检查的舒适度和盲肠插管率是影响老年患者接受结肠镜检查的重要因素, 自可变硬度结肠镜问世以来, 其在结肠镜检查中相比于传统结肠镜的优劣已有相关报道, 但较少作者在操作技巧层面分析可变硬度结肠镜在老年患者中的应用。

钱晶瑶, 高建新, 齐艳荣, 王文静, 贾卫江, 大港油田总医院消化科 天津市 300280

钱晶瑶, 主治医师, 主要从事消化内科和消化内镜的研究。

作者贡献分布: 此课题由高建新与钱晶瑶设计; 研究过程由钱晶瑶与贾卫江完成; 数据处理由齐艳荣与王文静完成; 论文写作由钱晶瑶完成。

通讯作者: 钱晶瑶, 主治医师, 300280, 天津市大港区大港油田二号院, 大港油田总医院消化科。qianjingyao@sina.com

收稿日期: 2013-07-17 修回日期: 2013-08-12

接受日期: 2013-08-23 在线出版日期: 2013-10-18

Application value of variable stiffness colonoscope in colonoscopy in elderly patients

Jing-Yao Qian, Jian-Xin Gao, Yan-Rong Qi, Wen-Jing Wang, Wei-Jiang Jia

Jing-Yao Qian, Jian-Xin Gao, Yan-Rong Qi, Wen-Jing Wang, Wei-Jiang Jia, Department of Gastroenterology, Dagang Oil Field General Hospital, Tianjing 300280, China
Correspondence to: Jing-Yao Qian, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Dagang Oil Field General Hospital, No. 2 Courtyard, Dagang District, Tianjing 300280, China. qianjingyao@sina.com

Received: 2013-07-17 Revised: 2013-08-12

Accepted: 2013-08-23 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To explore the application value of variable stiffness colonoscope (VSC) in colonoscopy in elderly patients.

METHODS: From July 2012 to March 2013, 732 elderly patients (60-74 years) suspected to have colorectal cancer underwent colonoscopy at our hospital. They were randomly divided into two groups to receive colonoscopy using either VSC or standard adult colonoscope (SAC). Cecal intubation rate, cecal intubation time, abdominal pain score, position changes during colonoscopy, and additional use of sedation and/or analgesia were compared between the two groups.

RESULTS: VSC was associated with higher cecal intubation rate (95.9% vs 90.7%, $P < 0.05$) and fewer position changes or ancillary maneuvers during colonoscopy (12.6% vs 33.3%, $P < 0.01$) compared to SAC. Cecal intubation time was

similar between the two groups (8.2 min \pm 3.5 min vs 9.4 min \pm 3.2 min, $P > 0.05$). Although VAS score was higher in the VSC group than in the SAC group (57.4 vs 44.1), additional use of sedation and/or analgesia showed no significant difference between the two groups (4.1% vs 3.8%, $P > 0.05$).

CONCLUSION: Use of VSC significantly improves cecal intubation rate and reduces position changes or ancillary maneuvers during the procedure. Cecal intubation time and additional use of sedation and/or analgesia are similar for the two types of colonoscope.

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

Key Words: Colonoscopy; Variable stiffness colonoscope; Cecal intubation rate; Cecal intubation time

Qian JY, Gao JX, Qi YR, Wang WJ, Jia WJ. Application value of variable stiffness colonoscope in colonoscopy in elderly patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3168-3172 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3168.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i29.3168>

摘要

目的: 评价可变硬度结肠镜(variable-stiffness colonoscope, VSC)在老年患者结肠镜筛查中的应用价值。

方法: 2012-07/2013-03在我院接受大肠癌筛查项目(60-74岁年龄组)行结肠镜检查的患者共732例, 随机分为: 可变硬度结肠镜(VSC组)和普通成人结肠镜(standard adult colonoscope, SAC)(SAC组), 分别用OLYMPUS CF-H260和FUJINON 450WM5型结肠镜完成单人结肠镜插入。统计分析两组的达盲率、达盲时间、腹痛VAS评分、变换体位/腹部按压、追加镇静镇痛药物等指标。

结果: VSC组的达盲率较高(95.9% vs 90.7%, $P < 0.05$); 同时, VSC组也较少需要在检查过程中变换体位和助手协助腹部按压(12.6%

■同行评议者

顾国利, 副主任医师, 空军总医院普通外科

vs 33.3%, $P < 0.01$); 达盲时间VSC组和SAC组近似 $8.2 \text{ min} \pm 3.5 \text{ min}$ vs $9.4 \text{ min} \pm 3.2 \text{ min}$, $P > 0.05$; VSC组腹痛评分较SAC组高(57.4 vs 44.1), 但需要镇静镇痛几率类似(4.1% vs 3.8%, $P > 0.05$).

结论: 使用VSC可提高达盲率, 并在插入过程中较少需要体位变换和助手协助, 两组达盲时间相近, VSC腹痛等不适较SAC多见, 但程度较轻, 并不增加需要镇静镇痛的几率.

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 结肠镜; 可变硬度结肠镜; 达盲率; 达盲时间

核心提示: 本研究发现使用可变硬度结肠镜可提高盲肠插管率, 并在插入过程中较少需要体位变换和助手协助, 两组盲肠插管时间相近, 可变硬度结肠镜检查引起的腹痛等不适较传统单人结肠镜检查多见, 但程度较轻, 并不增加需要镇静镇痛的几率.

钱晶瑶, 高建新, 齐艳荣, 王文静, 贾卫江. 可变硬度结肠镜在老年患者结肠镜检查中的应用价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3168-3172 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3168.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3168>

0 引言

结肠镜检查已被公认为是诊断结直肠疾病(如结直肠癌、息肉、炎性肠病等疾病)最常用最准确的工具. 传统结肠镜检查已经普及, 但是, 在结肠镜插入过程中, 传统结肠镜镜身易成角或成袢, 会给患者带来痛苦和不适, 甚至导致达盲失败, 由此导致的达盲失败率为2%-10%^[1,2]. 而结肠镜检查达盲率又与息肉检出率有密不可分的关系^[3]. 接受结肠镜检查的老年人, 多伴有基础疾病或既往有腹部手术史, 具有耐受性差、不便麻醉镇痛等特点. 这就对操作舒适度、尽量缩短操作时间提出要求. 可变硬度结肠镜(variable-stiffness colonoscope, VSC)由于有较细的镜身直径和更好的灵活性, 从理论上讲, VSC比普通成人结肠镜(standard adult colonoscope, SAC)有插入优势^[4-6]. 近年来, 有几个试验对比了VSC和SAC. 但是, 在临床工作中, VSC是否确实比SAC更有优势, 其结果仍未肯定^[7-9]. 我们在老年患者采用VSC取得良好的效果, 经验如下.

1 材料和方法

1.1 材料 2012-07/2013-03在我院接受大肠癌筛

查项目(60-74岁年龄组)行单人结肠镜操作的患者共732例为研究对象. 男419例, 女313例, 中位年龄65.7岁, 纳入标准: 符合大肠癌筛查问卷高危人群及便潜血初筛为阳性的患者. 排除标准: 存在结肠镜检查禁忌症者. 禁忌症包括: 肛管直肠部位狭窄, 结肠镜无法插入; 有腹膜刺激症状的患者, 如怀疑肠穿孔、腹膜炎等; 肛管直肠急性期感染或有疼痛性病灶, 如肛裂、肛周脓肿等; 体质衰弱、严重心脑血管疾病者; 肠痿或广泛腹腔粘连者; 精神病患者及不能配合检查者.

1.2 方法

1.2.1 患者随机分组: 内镜中心安排2个检查室分别进行VSC组和SAC组的筛检工作. 内镜中心护士按照社区筛检信息表的顺序预约结肠镜检查, 在每个筛检日预约20例患者, 最后1个筛检日为12例患者. 检查当日护士准备好与患者人数相当的双色号牌放置入纸箱内, 患者自行拿取号牌, 根据号牌颜色进入不同检查室. 由此方式所有患者随机分为VSC组和SAC组(表1).

1.2.2 医生随机: 进行结肠镜操作的2名医师经验是从事结肠镜操作时间超过5年、操作例数超过2000例. 为避免结肠镜检查医生水平对研究的影响, 每日筛查工作进行前, 医生从内镜护士处领取双色随机号牌, 根据号牌颜色进入不同检查室.

1.2.3 结肠镜类型: VSC组: 使用OLYMPUS CF-H260AI型结肠镜(先端直径13.2 mm, 镜身直径12.9 mm, 钳道3.65 mm, 镜身有效长度1330 mm)或OLYMPUS CF-H260AL型结肠镜(先端直径13.2 mm, 镜身直径12.9 mm, 钳道3.65 mm, 镜身有效长度1655 mm). 两者除镜身有效长度不同外, 其他物理特性一致, 在结肠镜操作部有调节硬度的调节旋钮(0-3档). SAC组: 使用FUJINON EC-450WM5型结肠镜(镜身直径12.8 mm, 钳道3.8 mm, 镜身长度1350 mm). 无硬度调节旋钮(表2).

1.2.4 单人结肠镜插入方法: SAC组: 使用FUJINON EC-450WM5型结肠镜, 患者取左侧卧位, 术者采用轴保持短缩法进镜, 对于已采用回转穿行、Jiggling手技、适时解袢等手法, 在常规左侧卧位仍不能完成插镜操作者, 及时变换患者体位或助手按压腹部的辅助进镜方式, 以便插入至回盲部, 对于进镜过程中出现腹痛、腹胀等不适, 患者不能耐受继续进镜者, 给予镇痛镇静药物后继续进行结肠镜插入.

■ 研发前沿

本文重点研究可变硬度结肠镜在老年患者结肠镜检查中的应用价值: 针对老年人肠道特点, 可变硬度结肠镜是否可以发挥其硬度可变的物理特性, 在老年患者结肠镜检查中是否有保证舒适度、提高盲肠插管率的优势.

■相关报道

自2001年以来,国外已有可变硬度结肠镜的应用报道,重点体现在对比传统结肠镜的优缺点,多数报道认为可变硬度结肠镜有利于插入,Jeffrey还报道了使用导丝来增加结肠镜硬度可达到方便插入的目的,但也有可变硬度结肠镜导致肠穿孔的病例报道,因此Saunders等认为“too stiff or not too stiff”是可变硬度结肠镜操作过程中必须要注意的关键点。

表 1 VSC组和SAC组患者基本情况 ($n = 366$)

分组	性别(男/女)	中位年龄(岁)	合并高血压(%)	合并心脑血管疾病(%)	既往腹部手术史(%)
VSC	207/159	66.5	61.7(226/366)	51.9(190/366)	16.9(62/366)
SAC	212/154	64.2	63.9(234/366)	47.8(175/366)	15.6(57/366)
<i>P</i> 值		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

VSC: 可变硬度结肠镜; SAC: 普通成人结肠镜。

表 2 VSC组和SAC组结肠镜物理特性

分组	内镜型号	可变硬度	镜身有效长度(mm)	镜身直径(mm)	先端直径(mm)	钳道直径(mm)
VSC	OLYMPUS CF-H260AI/AL	是	1330/1655	12.9	13.2	3.65
SAC	FUJINON EC-450WM5	否	1350	12.8	13.1	3.80

VSC: 可变硬度结肠镜; SAC: 普通成人结肠镜。

表 3 单人结肠镜操作VSC组和SAC组操作数据比较 ($n = 366$)

分组	达盲率(%)	达盲时间(min)	辅助措施(%)	腹痛VAS评分	需要追加镇静镇痛(%)
VSC	95.9(356/366)	6.2 ± 3.5	12.6(46/366)	57.4	4.1(15/366)
SAC	90.7(332/366)	9.4 ± 3.2	33.3(122/366)	44.1	3.8(14/366)
<i>P</i> 值	<0.05	>0.05	<0.01	<0.05	>0.05

VSC: 可变硬度结肠镜; SAC: 普通成人结肠镜。

VSC组: 使用Olympus CF-H260AI/L型结肠镜,除采用上述单人结肠镜手法外,在进镜过程中,根据进镜位置、肠腔走行特点、术者右手感知的镜身自由度等情况,调节操作部0-3的可变硬度环,以方便进镜,通常在开始插入时直至成袢或达到乙状结肠前,右手感知的镜身自由度大,且插入阻力小,此时使用最软硬度(硬度环置于0),当镜身弯曲部深入插至乙状结肠时,常常遇到成袢情况,此时插镜阻力感加强,先解袢,拉直镜身,增加硬度到较硬位置,可先尝试应用硬度2,如果前进失败则加大硬度至3.如果再次成袢,则回到较软硬度,重复以上步骤.当镜身弯曲部越过结肠脾曲,完成横结肠插入时,如调解硬度最大镜身仍不能前进,则配合体位变动(由左侧卧位改为仰卧位或右侧卧位)或助手辅助腹部按压.在达盲后的退镜过程中,改用0档,使用最软镜身硬度。

1.2.5 操作进程监测及指标: 在结肠镜操作过程中,密切观察询问患者情况,如出现腹胀痛不适,难以耐受检查但镜身阻力感较小时,给予肌肉注射安定或山莨菪碱;如患者腹胀痛且镜身阻

力较大时,则终止结肠镜检查,转行钡灌肠或CT仿真内窥镜检查.术程中记录达盲时间、达盲率、过程中变换体位、需要追加镇静镇痛等指标。

统计学处理 采用SPSS17.0软件进行统计学处理,年龄数据应用秩和检验,正态分布的计量资料比较行 t 检验,计数资料两样本率的比较行 χ^2 检验, $P < 0.05$ (或 $P < 0.01$)为差异有统计学意义。

2 结果

VSC组的达盲率较高(95.9% vs 90.7%, $P < 0.05$);同时,VSC组也较少需要在检查过程中变换体位和助手协助(12.6% vs 33.3%, $P < 0.01$);达盲时间VSC组和SAC组近似(8.2 min ± 3.5 min vs 9.4 min ± 3.2 min, $P > 0.05$);VSC组腹痛评分较SAC组高(57.4 vs 44.1),但需要镇静镇痛率类似(4.1% vs 3.8%, $P > 0.05$).两组中除腹痛、腹胀等不适外,均无并发症发生(表3)。

使用VSC可提高达盲率,并在插入过程中较少需要体位变换和助手协助,两组达盲时间相近,VSC腹痛等不适较SAC多见,但程度较轻,并

不增加需要镇静镇痛的几率。

3 讨论

对于传统单人结肠镜操作而言, 在乙状结肠和横结肠, 由于肠道游离度较大, 内镜易于成袢, 在镜身较软的情况下尤其明显, 并且, 在内镜插入较深情况下, 右手不易感知前端成袢情况。在成袢情况下进镜, 插镜力度不能传递到头端, 而是分散于镜身各处, 因此导致镜轴偏移, 肠管伸展, 难以完成短缩动作。可变硬度结肠镜的镜身具有4档可变硬度, 操作中可灵活运用硬度变化, 避免上述情况的发生。

VSC在其操作部有0-3档的可变硬度环, 结肠镜操作医师可视情况, 调节镜身插入部硬度。由于VSC有上述的灵活性, VSC比SAC更易于插入^[10,11]。在通过游离度较大的乙状结肠和横结肠时, 硬度较大的镜身更易于将插入力度传达到镜身前端, 如辅以气量的控制、对操作部旋钮的精细调节、右手轻微的左右旋镜调校镜轴角度, 则易于套取肠道, 防止镜身成袢。但较硬镜身进镜或解袢时, 施加于肠壁的力度及对系膜的牵拉力度均较大, 此时患者往往感知到腹痛加剧^[12]。因此我们的经验是, 在通过乙状结肠时, 先选用软镜身(硬度调节环位于0档), 运用回转弯行、jiggling手技等插入技巧, 小心细致地取直肠道, 适时拉镜解袢。当到达乙状结肠近端即接近降乙交界时, 再加大镜身硬度(硬度调节环位于2档或3档), 利用镜身变硬、不易弯折、进镜力度易于传递到先端的优势, 使内镜先端从游离的乙状结肠进入相对固定的降结肠。继续进镜越过结肠脾曲, 到达横结肠中段时, 如感到镜身自由度欠佳, 进镜阻力加大, 则可将镜身恢复变软, 进行拉镜解袢的动作, 消除因深入肠腔较长, 镜身的自然弯曲或直径较大袢曲的存在。然后加硬镜身, 并视情况辅以体位变动、助手按压腹部等措施, 完成横结肠下垂角至结肠肝曲的插镜动作。由结肠肝曲至升结肠的插镜动作相对简单, 一般通过抽吸空气, 适度退镜, 右旋镜身, 调节旋钮, 即可插入升结肠。对于VSC而言, 所遇到的肝曲难以通过的情况, 多半是此前的气量控制不佳, 导致横结肠过分伸展, 或者带袢进镜, 以致于到达肝曲时, 有效镜身已全部插入肠腔, 难以完成右旋解袢的动作。遇到该种情况, 可尝试恢复患者左侧卧位, 将内镜退至横结肠中段, 充分抽吸肠腔气体, 选择软镜身退镜解

袢后, 加大镜身硬度, 再次进镜。由升结肠至回盲部的插入相对容易, 如有困难, 无需改变镜身硬度(即保持硬镜身状态), 辅以变换体位和腹部按压即可完成。

在老年患者中, 其肠道特点为肠壁张力低, 蠕动较慢, 特别是在部分便秘患者, 多存在结肠传输功能障碍, 导致肠壁松弛, 或存在冗长的乙状结肠和横结肠, 使用SAC, 镜身易于成袢, 且即使成袢, 患者也缺乏腹痛等主观感觉。而VSC可克服以上缺点, 易于在不成袢的情况下套取短缩松弛的肠管, 达到顺利完成检查的目的。

值得注意的是, 既往有手术史的老年患者, 因术后肠道粘连, 导致肠道形成急峻且固定的转弯, 通过这些弯角时, 内镜镜身通常处于成角状态, 并难以展现肠腔, 进镜困难, 此时要耐心地进行角度调节, 禁止通过不断给气、变硬镜身、甚至滑镜的动作来进行插镜操作。在这部分患者, 只有通过急峻弯角肠段后方可考虑加硬镜身, 且避免在硬镜身状态进行大角度旋镜解袢动作, 甚至需全程采用软镜身的状态完成结肠镜的插入, 否则可能造成穿孔或系膜撕裂。

在我们的研究中发现: SAC组失败病例, 多由于在镜身有效长度内未能达盲(6例)或出现患者不能耐受的腹胀(4例)。我们判断是由于患者肠道松弛冗长, 既往手术史导致肠道成角等因素, 导致操作时间延长, 操作过程中向肠腔内注入的总气量过多, 导致肠管过分伸展, 从而为后续的插入造成困难, 因此, 在操作中适时见腔吸气, 控制好总气量, 或在操作中使用CO₂代替空气是可取的对策。

对于接受结肠镜检查的患者, 特别是老年患者, 他们更关心的是检查舒适度及诊断符合率。因此, 作为结肠镜医师, 应熟知日常使用的各种结肠镜的物理特性, 进镜过程中, 时刻感知镜身自由度及阻力感, 预判肠腔走行及思考镜身所处状态, 如使用的是VSC, 则根据以上分析, 灵活转换镜身硬度, 在保证患者安全及检查舒适的基础上, 发挥镜身硬度可变的物理优势, 提高达盲率及缩短达盲时间^[13,14]。

总之, 内镜医师应当了解所用结肠镜的物理特性, 顺应镜身物理特性, 提高插镜技巧, 或可在初始插镜失败后, 即刻或择期选用其他特质内镜(如VSC或加长结肠镜)进行插镜尝试, 完成结肠镜操作, 提高达盲率^[15], 实现结肠镜检查筛查高危患者的初衷。

■创新盘点

以往类似文章、报道也多对比研究了可变硬度结肠镜与传统结肠镜在舒适度、盲肠插管率、盲肠插管时间、息肉检出率等方面的影响, 本文的创新之处在于, 详细阐明可变硬度结肠镜的操作技巧及对老年患者实施检查过程中的注意事项, 既可以发挥可变硬度结肠镜的插入优势, 同时不增加穿孔、腹胀等并发症。

■同行评价

本文提供了比较充足的有意义的信息,详细讲述了可变硬度结肠镜的应用技巧,虽然国内已有类似报道,但本文对于可变硬度结肠镜应用的技巧方面阐述非常细致,对临床具有一定指导意义和实用价值。

4 参考文献

- Mitchell RM, McCallion K, Gardiner KR, Watson RG, Collins JS. Successful colonoscopy; completion rates and reasons for incompleteness. *Ulster Med J* 2002; 71: 34-37 [PMID: 12137162]
- Cardin F, Minicuci N, Andreotti A, Pinetti E, Campigotto F, Donà BM, Martella B, Terranova O. Maximizing the general success of cecal intubation during propofol sedation in a multi-endoscopist academic centre. *BMC Gastroenterol* 2010; 10: 123 [PMID: 20961451 DOI: 10.1186/1471-230X-10-123]
- Banks MR, Haidry R, Butt MA, Whitley L, Stein J, Langmead L, Bloom SL, O'Bichere A, McCartney S, Basherdas K, Rodriguez-Justo M, Lovat LB. High resolution colonoscopy in a bowel cancer screening program improves polyp detection. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4308-4313 [PMID: 22090787 DOI: 10.3748/wjg.v17.i38.4308]
- Sola-Vera J, Uceda F, Brotons A, Sáez J, Girona E, Pérez E, Picó MD, Grau C, Sillero C. Does the use of a variable stiffness colonoscope offer advantages during colonoscopy under deep sedation? Results of a randomized trial. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2011; 23: 593-597 [PMID: 21593674 DOI: 10.1097/MEG.0b013e32834793d3.]
- Xie Q, Chen B, Liu L, Gan H. Does the variable-stiffness colonoscope makes colonoscopy easier? A meta-analysis of the efficacy of the variable stiffness colonoscope compared with the standard adult colonoscope. *BMC Gastroenterol* 2012; 12: 151 [PMID: 23095461 DOI: 10.1186/1471-230X-12-151]
- 孟尼丽, 张月寒, 焦泽. 硬度可变式结肠镜的临床评价. *中华消化内镜杂志* 2004; (4): 64-66
- Baumann UA. Does retroflexion improve adenoma miss rates on the right side of the colon when using a pediatric variable-stiffness colonoscope during routine colonoscopy? *Endoscopy* 2009; 41: 654 [PMID: 19588295 DOI: 10.1055/s-0029-1214876]
- East JM. Effect of a proprietary intraluminal stiffening wire device on cecal intubation time and rate with used colonoscopes; a randomized, controlled trial. *BMC Res Notes* 2013; 6: 48 [PMID: 23379922 DOI: 10.1186/1756-0500-6-48]
- Kaffes AJ, Mishra A, Ding SL, Hope R, Williams SJ, Gillespie PE, Bourke MJ. A prospective trial of variable stiffness pediatric vs. standard instrument colonoscopy. *Gastrointest Endosc* 2003; 58: 685-689 [PMID: 14595301]
- Prieto-de-Frías C, Muñoz-Navas M, Carretero C, Carrascosa J, Betés MT, De-la-Riva S, Herraiz MT, Súbtil JC. Comparative study of a responsive insertion technology (RIT) colonoscope versus a variable-stiffness colonoscope. *Rev Esp Enferm Dig* 2013; 105: 208-214 [PMID: 23859449]
- Saunders BP, East JE. What are the benefits of the variable-stiffness colonoscope? *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2008; 5: 8-9 [PMID: 17971796]
- Saunders BP, Williams CB. The variable-stiffness colonoscope: "too stiff or not too stiff, that is the question"--a new twist to the plot. *Endoscopy* 2001; 33: 70-73 [PMID: 11204991]
- Leung FW. Methods of reducing discomfort during colonoscopy. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 1462-1467 [PMID: 17999189 DOI: 10.1007/s10620-007-0025-9]
- Chen PJ, Shih YL, Chu HC, Chang WK, Hsieh TY, Chao YC. A prospective trial of variable stiffness colonoscopes with different tip diameters in unsedated patients. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 1365-1371 [PMID: 18513270 DOI: 10.1111/j.1572-0241]
- Roberts-Thomson IC, Teo E. Colonoscopy: Art or science? *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 180-184 [PMID: 19215330 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05739.x]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



TSLC1、DAL-1/4.1B和MPP3在大肠癌中的表达及其临床意义

高文颂, 熊晶, 王渝

高文颂, 华中科技大学同济医学院附属同济医院肿瘤中心
湖北省武汉市 430030

熊晶, 王渝, 华中科技大学同济医学院附属同济医院病理研究所
湖北省武汉市 430030

高文颂, 技师, 主要从事消化系统肿瘤方面的研究.

作者贡献分布: 此课题由高文颂、熊晶及王渝设计; 研究过程由高文颂与王渝操作完成; 数据分析由熊晶完成; 本论文写作由高文颂与王渝完成.

通讯作者: 王渝, 主治医师, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院病理研究所.

tongjisiyu@163.com

电话: 027-83663624

收稿日期: 2013-07-18 修回日期: 2013-08-10

接受日期: 2013-08-23 在线出版日期: 2013-10-18

Clinical significance of expression of TSLC1, DAL-1/4.1B and MPP3 in colorectal carcinoma

Wen-Song Gao, Jing Xiong, Yu Wang

Wen-Song Gao, Oncology Center, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hunan Province, China

Jing Xiong, Yu Wang, Institute of Pathology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Avenue, Wuhan 430030, Hunan Province, China

Correspondence to: Yu Wang, Attending physician, Institute of Pathology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Avenue, Wuhan 430030, Hunan Province, China. tongjisiyu@163.com

Received: 2013-07-18 Revised: 2013-08-10

Accepted: 2013-08-23 Published online: 2013-10-18

Abstract

AIM: To investigate the clinicopathological significance of expression of tumor suppressor in lung cancer-1 (TSLC1), differentially expressed in adenocarcinoma of the lung/4.1B (DAL-1/4.1B) and membrane protein palmitoylated 3 (MPP3) proteins in colorectal carcinoma.

METHODS: Immunohistochemistry was used to detect the expression of TSLC1, DAL-1/4.1B and MPP3 in 76 colorectal carcinoma tissue samples and 22 normal colorectal mucosal tis-

sue samples. The correlation between expression of TSLC1, DAL-1/4.1B and MPP3 and clinicopathologic features of colorectal carcinoma was analyzed.

RESULTS: Positive staining for TSLC1, DAL-1/4.1B and MPP3 was observed in the cytoplasm and/or membrane of epithelial cells in normal colorectal mucosal tissue. The positive rates of TSLC1, DAL-1/4.1B and MPP3 expression were significantly lower than in colorectal carcinoma than in normal control tissue (32.89% vs 81.81%, 27.63% vs 63.64%, 26.32% vs 68.18%; all $P < 0.05$). The lower expression of TSLC1, DAL-1/4.1B and MPP3 in colorectal carcinoma showed a significant correlation with degree of differentiation, depth of infiltration, lymph node metastasis and Dukes' stage (all $P < 0.05$), but not with gender, age or tumor size.

CONCLUSION: Low expression of TSLC1, DAL-1/4.1B and MPP3 may be involved in the development and metastasis of colorectal carcinoma.

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

Key Words: Colorectal carcinoma; Tumor suppressor in lung cancer-1; DAL-1/4.1B; Membrane protein palmitoylated 3; Immunohistochemistry

Gao WS, Xiong J, Wang Y. Clinical significance of expression of TSLC1, DAL-1/4.1B and MPP3 in colorectal carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3173-3178 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3173.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3173>

摘要

目的: 研究肺癌肿瘤抑制物1(tumor suppressor in lung cancer-1, TSLC1)、肺腺癌差异表达因子4.1B(differentially expressed in adenocarcinoma of the lung/4.1B, DAL-1/4.1B)和果蝇肿瘤抑制因子同源分子-3(membrane

■背景资料

TSLC1是一种细胞黏附分子,可参与细胞间黏附、细胞运动、信号转导及免疫调节,在多种肿瘤中表达缺失或减少. TSLC1与DAL-1和MPP3在细胞附着位点相互作用,共同发挥级联抑癌作用.

■同行评议者

邹小明, 教授, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学附属第二医院普外科

■研究前沿

TSLC1参与细胞运动和信号传导的功能与DAL-1及MPP3基因密不可分,三者共同发挥级联抑癌作用。本研究提示TSLC1蛋白可能与DAL-1和MPP3蛋白结合构成三聚体,共同参与大肠癌的发生发展和转移。

protein palmitoylated 3, MPP3)在大肠癌中的表达及其相互关系,并探讨其临床病理意义。

方法: 采用免疫组织化学EnVision™法检测76例大肠癌和22例正常肠黏膜组织中TSLC1、DAL-1/4.1B、MPP3的表达,并结合其临床病理特征分析。

结果: 正常肠黏膜组织中TSLC1、DAL-1/4.1B和MPP3均呈清晰的棕黄色染色定位在上皮细胞质和/或细胞膜。TSLC1、DAL-1/4.1B和MPP3蛋白在大肠癌中的阳性表达率均明显低于其在正常肠黏膜组织中的表达(32.89% vs 81.81%, 27.63% vs 63.64%, 35.53% vs 68.18%; $P<0.05$)。TSLC1、DAL-1/4.1B和MPP3蛋白在大肠癌的表达缺失与肿瘤的分化程度、浸润深度、淋巴结转移和Dukes'分期密切相关($P<0.05$),而与患者的性别、年龄和肿瘤大小无关。

结论: 大肠癌中存在TSLC1、DAL-1/4.1B和MPP3基因的表达缺失, TSLC1与DAL-1/4.1B及MPP3之间的相互作用可能是其发挥肿瘤抑制作用的主要分子机制,三者可能通过TSLC1级联反应共同参与大肠癌的发生、发展和转移。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 大肠癌; TSLC1; DAL-1/4.1B; MPP3; 免疫组织化学

核心提示: 抑癌基因TSLC1与DAL-1和MPP3结合构成三聚体,共同参与调控大肠癌的发生、发展和转移。

高文娟, 熊昆, 王渝. TSLC1、DAL-1/4.1B和MPP3在大肠癌中的表达及其临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3173-3178
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3173.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3173>

0 引言

大肠癌是消化系统最常见的恶性肿瘤之一,其生长、侵袭及转移过程受到多种因素的影响。其中抑癌基因的突变、缺失和沉默失活是大肠癌发生、发展和转移的重要机制之一。肺癌肿瘤抑制物1(tumor suppressor in lung cancer-1, TSLC1)是在2001年由Kuramochi等^[1]应用功能性互补的方法在人类非小细胞肺癌中发现的一种新的抑癌基因。TSLC1是一种细胞黏附分子,可参与细胞间黏附、细胞运动、信号转导及免疫调节^[2]。研究发现,在宫颈癌^[3]、喉癌^[4]、乳腺癌

^[5]、食管癌^[6]、胰腺癌^[7]等多种恶性肿瘤中均存在TSLC1基因的表达缺失或减少,该基因在肿瘤的发生、发展中起负性作用,且TSLC1的表达失活与恶性肿瘤的浸润、转移和预后相关。肺癌癌差异表达因子4.1B(differentially expressed in adenocarcinoma of the lung/4.1B, DAL-1/4.1B)是一类细胞膜骨架蛋白,定位于人染色体18p11.3^[8],近年的研究已经证实该基因在多种肿瘤中表达缺失,并且表现出抑制肿瘤转移功能,被认为是一种潜在的抑癌基因^[9]。果蝇肿瘤抑制因子同源分子-3(membrane protein palmitoylated 3, MPP3)是由585个氨基酸组成一种膜蛋白,属于膜相关鸟苷酸激酶同系物蛋白(MAGuK)家族成员^[10]。研究发现, TSLC1参与细胞运动和信号传导的功能与DAL-1及MPP3基因密不可分, DAL-1和MPP3与TSLC1在细胞附着位点相互作用,共同发挥级联抑癌作用^[11]。本研究采用免疫组织化学(EnVision™法)检测大肠癌中TSLC1、DAL-1/4.1B和MPP3的表达情况其与临床病理特征之间的关系,并分析三者之间的相关性,以探讨三者在大肠癌发生发展和转移中的作用及其临床意义。

1 材料和方法

1.1 材料 收集华中科技大学同济医学院附属同济医院2011-01/2012-12具有完整临床资料大肠癌手术标本73例,并选取22例癌旁8-10 cm以外的正常段肠管处的正常肠黏膜组织作为对照,所有病例术前均未进行任何放疗或化疗。标本经40 g/L甲醛固定、常规石蜡包埋切片和HE染色。其中男48例,女28例。年龄35-72岁,平均年龄59.6岁。组织学分级:高分化腺癌18例,中分化腺癌33例,低分化腺癌25例。浸润深度:浸润突破肌层者54例,未突破肌层者22例。Dukes'分期: A期与B期共45例, C期与D期共31例。有淋巴结转移者31例,无淋巴结转移者45例。兔抗人多克隆抗体TSLC1购自Santa Cruz Biotechnology USA; 羊抗人多克隆抗体DAL-1/4.1B购自Abcam公司; 羊抗人多克隆抗体MPP3购自Abcam公司; 免疫组织化学二步法检测试剂盒购自DAKO公司; DAB显色试剂盒购自福州迈新生物技术开发有限公司。

1.2 方法

1.2.1 采用免疫组织化学染色EnVision™二步法检测TSLC1、DAL-1/4.1B和MPP3的表达: 实验步骤参照EnVision™说明书进行。石蜡切片经烤

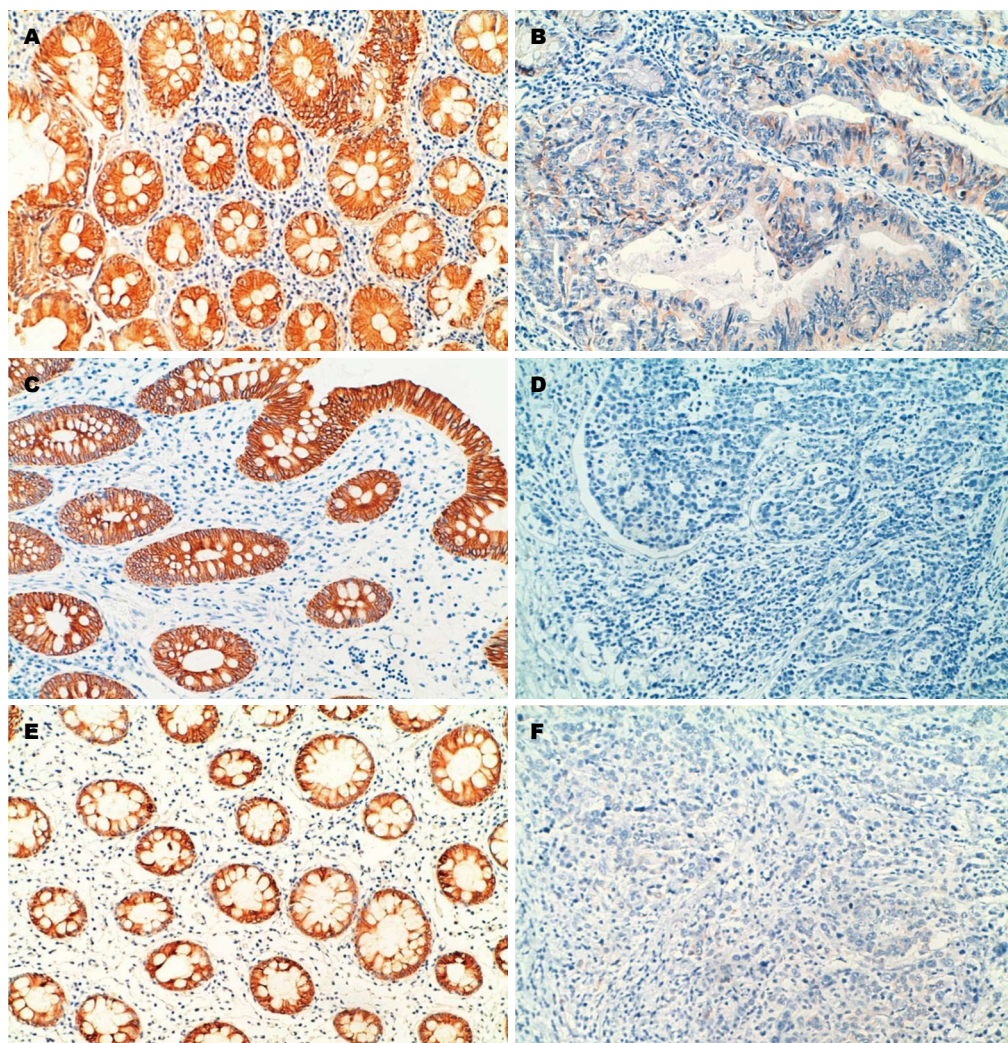


图1 免疫组织化学染色结果(EnVision™法×200). A: TSLC1在正常大肠黏膜组织中呈阳性表达; B: TSLC1在大肠癌(中分化)中呈阴性表达图; C: DAL-1/4.1B在正常大肠黏膜组织中呈阳性表达; D: DAL-1/4.1B在大肠癌(低分化)呈阴性表达; E: MPP3在正常大肠黏膜组织中呈阳性表达; F: MPP3在大肠癌(低分化)呈阴性表达.

■相关报道

TSLC1可通过与DAL-1蛋白及MPP3蛋白相互连接形成复合体,参与细胞骨架的构建和信号传导,维持细胞极性,发挥肿瘤抑制功能. TSLC1、DAL-1和MPP3在大肠癌中表达下调或缺失,且大肠癌中TSLC1蛋白与DAL-1及MPP3蛋白的表达相关,三者可能共同参与维持正常肠道组织结构和肠上皮细胞增殖、黏附功能的稳定,在大肠癌的发生发展中具有协同作用.

片、脱蜡、梯度酒精水化后,用0.01 mol/L(pH 6.0)枸橼酸缓冲液微波抗原修复15 min, 3%双氧水37℃孵育10 min. 再分别滴加一抗TSLC1(1:150)、DAL-1/4.1B(1:500)和MPP3(1:500), 37℃孵育2 h. 滴加二抗, 37℃孵育30 min. DAB显色, 苏木素复染, 脱水, 透明, 中性树脂封片, 镜检. 用已知阳性表达的组织切片做阳性对照, 用PBS缓冲液代替一抗做阴性对照.

1.2.2 结果判断: TSLC1、DAL-1/4.1B和MPP3蛋白阳性表达均定位于细胞质和/或细胞膜, 以细胞质和/或细胞膜出现清晰的棕黄色颗粒判定为阳性细胞. 判断标准: 按照国外文献方法^[12], 在高倍镜下(×400倍)对每张切片随机选取10个视野, 每个高倍视野计数200个细胞, 计算阳性细胞数<30%为阴性, 阳性细胞数≥30%为阳性.

统计学处理 采用SPSS 18.0统计软件包进行

分析, 计数资料采用 χ^2 检验, 相关性检验用Spearman相关分析. $P<0.05$ 表示差异有统计学意义.

2 结果

2.1 TSLC1、DAL-1/4.1B和MPP3在大肠癌和正常肠黏膜组织中的表达 TSLC1、DAL-1/4.1B和MPP3的表达部位相似, 主要定位于细胞质和/或细胞膜, 呈棕黄色颗粒(图1A, C, E). 在76例大肠癌中, TSLC1、DAL-1/4.1B和MPP3均呈不同程度的缺失表达(图1B, D, F), 其阳性表达率分别为32.89%(25/76)、27.63%(21/76)、26.32%(20/76); 而三者正常肠黏膜组织中的阳性表达率分别为81.81%(18/22)、63.64%(14/22)、68.18%(15/22); 差异有显著性统计学意义($P<0.05$, 表1).

2.2 大肠癌中TSLC1、DAL-1/4.1B和MPP3的表

■创新盘点

本文检测了抑癌基因TSLC1、DAL-1和MPP3在大肠癌中的表达情况及其与临床病理特征之间的关系,并分析三者之间的相关性,探讨三者在大肠癌发生发展和转移中的作用。

表 1 TSLC1、DAL-1和MPP3在正常大肠黏膜及大肠癌中的表达 $n(\%)$

分组	n	TSLC1			DAL-1			MPP3		
		阳性表达率(%)	阴性表达率(%)	P 值	阳性表达率(%)	阴性表达率(%)	P 值	阳性表达率(%)	阴性表达率(%)	P 值
正常肠黏膜组织	22	18(81.8)	4(18.2)	<0.01	14(63.6)	8(36.4)	<0.05	15(68.2)	7(31.8)	<0.01
大肠癌组织	76	25(32.9)	51(67.1)		21(27.6)	55(72.4)		27(35.5)	49(64.5)	

TSLC1: 肺癌肿瘤抑制物1; DAL-1: 肺腺癌差异表达因子4.1B; MPP3: 果蝇肿瘤抑制因子同源分子-3。

表 2 TSLC1、DAL-1和MPP3与临床病理参数之间的关系 $n(\%)$

临床病理特征	n	TSLC1表达			DAL-1表达			MPP3表达		
		阳性(%)	阴性(%)	P 值	阳性(%)	阴性(%)	P 值	阳性(%)	阴性(%)	P 值
年龄(岁)										
≤55	32	10(31.2)	22(68.8)	>0.05	11(34.4)	21(63.6)	>0.05	13(40.1)	19(59.9)	>0.05
>55	44	15(34.1)	29(65.9)		10(22.7)	34(77.3)		14(31.8)	30(68.2)	
性别										
男	48	14(29.2)	34(70.8)	>0.05	14(29.2)	34(70.8)	>0.05	17(35.4)	31(64.6)	>0.05
女	28	11(39.3)	17(60.7)		7(25.0)	21(75.0)		10(35.7)	18(64.3)	
肿瘤大小(cm)										
≤5	46	16(34.8)	30(65.2)	>0.05	13(28.3)	33(71.7)	>0.05	19(41.3)	27(59.7)	>0.05
>5	30	9(30.0)	21(70.0)		11(36.7)	19(63.3)		8(26.7)	22(73.3)	
分化程度										
高	18	10(55.6)	8(44.4)	<0.05	9(50.0)	9(50.0)	<0.05	11(61.1)	7(38.9)	<0.05
中	33	10(30.3)	23(69.7)		8(24.2)	25(75.8)		10(30.3)	23(69.7)	
低	25	5(20.0)	20(80.0)		4(16.0)	21(84.0)		6(24.0)	19(76.0)	
淋巴结转移										
有	31	6(19.4)	25(80.6)	<0.05	4(12.9)	27(87.1)	<0.05	6(19.4)	25(70.6)	<0.05
无	45	19(42.2)	26(57.8)		17(37.8)	28(62.2)		21(46.7)	24(53.3)	
浸润深度										
未及浆膜	54	12(22.2)	43(77.8)	<0.01	11(20.4)	43(79.6)	<0.05	14(25.9)	40(74.1)	<0.01
侵及浆膜	22	13(59.1)	9(40.9)		10(45.5)	12(54.5)		13(61.9)	9(38.1)	
Duke's分期										
A+B期	45	21(46.7)	24(53.3)	<0.01	17(37.8)	28(62.2)	<0.05	21(46.7)	24(53.4)	<0.05
C+D期	31	4(12.9)	27(87.1)		4(12.9)	27(87.1)		6(19.4)	25(80.6)	

TSLC1: 肺癌肿瘤抑制物1; DAL-1: 肺腺癌差异表达因子4.1B; MPP3: 果蝇肿瘤抑制因子同源分子-3。

达与临床病理因素之间的关系 TSLC1、DAL-1/4.1B和MPP3在大肠癌中的表达与肿瘤的分化程度、浸润深度、淋巴结转移和Dukes'分期密切相关($P<0.05$), 而与患者的性别、年龄和肿瘤大小无关(表2)。TSLC1、DAL-1/4.1B和MPP3在Dukes'分期C+D期、低分化腺癌、有浆膜浸润及淋巴结转移者中阳性表达率明显低于Duke's分期A+B期、高-中分化腺癌、无浆膜浸润及无淋巴结转移者, 差异有显著性统计学意义。

2.3 TSLC1、DAL-1/4.1B和MPP3在大肠癌中表达的相关性 TSLC1与DAL-1/4.1B、MPP3

在大肠癌中的表达具有一定的相关性。在25例TSLC1阳性表达大肠癌, 12例DAL-1/4.1B呈阳性表达, 18例MPP3呈阳性表达; 而在51例TSLC1表达减少或缺失的病例中, 9例DAL-1/4.1B呈阳性表达, 8例MPP3呈阳性表达; TSLC1与DAL-1/4.1B、MPP3的表达之间存在显著的正相关性($r = 0.319, r = 0.534; P<0.05$)(表3)。

3 讨论

TSLC1是2001年Kuramochi等^[1]在人非小细胞肺癌中通过功能性互补方法发现的一种新的抑癌

表 3 大肠癌组织中TSLC1与DAL-1及MPP3表达之间的关系 $n(\%)$

TSLC1	n	DAL-1				MPP3			
		阳性(%)	阴性(%)	P 值		阳性(%)	阴性(%)	P 值	
阳性(%)	25	12(48.0)	13(52.0)	0.319	<0.01	18(72.0)	7(28.0)	0.534	<0.01
阴性(%)	51	9(17.6)	42(82.4)			9(17.6)	42(72.6)		

TSLC1: 肺癌肿瘤抑制物1; DAL-1: 肺腺癌差异表达因子4.1B; MPP3: 果蝇肿瘤抑制因子同源分子-3.

■应用要点

本文提示TSLC1与DAL-1及MPP3在调控大肠癌的发生发展和转移中共同发挥肿瘤抑制功能作用。

基因, 定位于人染色体11q23.2, 全长约300 kb, 包含12个外显子, 属于细胞黏附分子中免疫球蛋白超家族成员. TSLC1作为一种细胞与细胞之间相互作用的膜蛋白, 可维持上皮细胞之间的紧密连接, 主要参与细胞间黏附、细胞运动、信号转导及免疫调节, 并在肿瘤的发生发展中起负性作用^[2]. 研究发现, 在宫颈癌^[3]、喉癌^[4]、鼻咽癌^[13]、乳腺癌^[5]、食管癌^[6]、胃癌^[14]、胰腺癌^[7]、前列腺癌^[15]等多种恶性肿瘤中均存在TSLC1的表达缺失或减少, 且TSLC1的失活在肿瘤晚期发生更频繁, 启动子甲基化和杂合性缺失是其主要失活机制^[2]. 本研究显示, TSLC1在大肠癌中的表达明显低于其在正常肠黏膜组织中的表达. 随着大肠癌分化程度的降低、浸润深度的增加、Dukes'分期的进展以及淋巴结转移的发生, TSLC1的阳性表达率明显降低, 呈缺失表达状态. 因此我们推测作为一种抑癌基因, TSLC1的表达失活不仅在大肠癌的发生发展中发挥了重要作用, 而且与大肠癌的侵袭、转移和预后相关.

DAL-1/4.1B属于4.1蛋白家族, 定位于人染色体18p11.3, 是一种将TSLC1和肌动蛋白细胞骨架相连接的锚连蛋白^[8]. DAL-1/4.1B具有维持细胞膜稳定的作用, 与细胞内信号转导和细胞间相互作用密切相关. 该基因已经证实多种肿瘤中表达缺失, 并且具有抑制肿瘤转移功能, 被认为是一种潜在的抑癌基因^[9]. MPP3是由585个氨基酸组成一种膜蛋白, 定位于人染色体17q21, 与CASK、Pals2及syntenin等均属于膜相关鸟苷酸激酶同系物蛋白(MAGUK)家族成员, 与果蝇肿瘤抑制基因DLG(discs large)高度同源^[10]. MPP3在细胞中起着分子支架的作用, 可参与保持细胞极性和形态, 并通过其多个作用域参与信号传导^[10]. DAL-1和MPP3目前认为与TSLC1结合的蛋白, DAL-1和MPP3与TSLC1在细胞附着位点相互作用, 共同参与维持相邻细胞间黏附, 一旦其中的一种蛋白表达缺失, 就

会引起TSLC1级联蛋白的功能丧失, 破坏细胞间黏附而诱发肿瘤转移^[5]. 在本研究中, 免疫组织化学结果显示DAL-1和MPP3在大肠癌中的表达与TSLC1具有相似性, DAL-1和MPP3在大肠癌中的表达明显低于其在正常肠黏膜组织中的表达; 且二者的表达与大肠癌的分化程度、浸润深度、淋巴结转移和Dukes'分期密切相关($P<0.05$), 而与患者的性别、年龄以及肿瘤大小无关. 上述研究结果提示TSLC1、DAL-1和MPP3的低表达与大肠癌的侵袭和发展密切相关, TSLC1与DAL-1及MPP3间的相互作用可能是其发挥肿瘤抑制能力的主要分子机制.

研究发现, TSLC1与DAL-1及MPP3可能位于同一级联路径, TSLC1参与细胞运动和信号传导的功能与DAL-1及MPP3密不可分. TSLC1的胞内区羧基端含2个重要蛋白结合模序: FERM(protein4.1/ezrin/radixin/moesin)结合模序和PDZ(PSD-95/Dlg/ZO-1)结合模序. TSLC1通过这两个结合模序分别与DAL-1蛋白及MPP3蛋白相互连接形成复合体, 参与细胞骨架的构建和维持正常细胞的黏附功能的稳定; 并通过MPP3参与信号传导, 维持细胞极性, 发挥肿瘤抑制功能^[5]. 本研究显示, 大肠癌中TSLC1蛋白与DAL-1及MPP3蛋白的表达呈正相关($P<0.05$), 三者可能共同参与维持正常肠道组织结构和肠上皮细胞增殖、黏附功能的稳定, 在大肠癌的发生发展中具有协同作用.

总之, TSLC1、DAL-1和MPP3在大肠癌中表达下调或缺失, 三者的表达失活均与大肠癌的分化程度、浸润深度、淋巴结转移和Dukes'分期密切相关. 大肠癌中TSLC1的表达与DAL-1及MPP3的表达之间具有一定的正相关性. TSLC1蛋白可能与DAL-1和MPP3蛋白结合构成三聚体, 共同参与大肠癌的发生、发展和转移.

4 参考文献

- 1 Kuramochi M, Fukuhara H, Nobukuni T, Kanbe

■同行评价

抑癌基因*TSLC1*、*DAL-1*和*MPP3*在大肠癌中的表达, 有重要临床意义。

- 2 Masuda M, Kikuchi S, Maruyama T, Sakurai-Yageta M, Williams YN, Ghosh HP, Murakami Y. Tumor suppressor in lung cancer (TSLC)1 suppresses epithelial cell scattering and tubulogenesis. *J Biol Chem* 2005; 280: 42164-42171 [PMID: 16223734 DOI: 10.1074/jbc.M507136200]
- 3 Steenbergen RD, Kramer D, Braakhuis BJ, Stern PL, Verheijen RH, Meijer CJ, Snijders PJ. TSLC1 gene silencing in cervical cancer cell lines and cervical neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 294-305 [PMID: 14970278 DOI: 10.1093/jnci/djh031]
- 4 Lu B, Di W, Wang H, Ma H, Li J, Zhang Q. Tumor suppressor TSLC1 is implicated in cell proliferation, invasion and apoptosis in laryngeal squamous cell carcinoma by regulating Akt signaling pathway. *Tumour Biol* 2012; 33: 2007-2017 [PMID: 23136087 DOI: 10.1007/s13277-012-0460-x]
- 5 Heller G, Geradts J, Ziegler B, Newsham I, Filipits M, Markis-Ritzinger EM, Kandioler D, Berger W, Stiglbauer W, Depisch D, Pirker R, Zielinski CC, Zöchbauer-Müller S. Downregulation of TSLC1 and DAL-1 expression occurs frequently in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2007; 103: 283-291 [PMID: 17260099 DOI: 10.1007/s10549-006-9377-7]
- 6 Ito T, Shimada Y, Hashimoto Y, Kaganai J, Kan T, Watanabe G, Murakami Y, Imamura M. Involvement of TSLC1 in progression of esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Res* 2003; 63: 6320-6326 [PMID: 14559819]
- 7 Mao X, Seidlitz E, Truant R, Hitt M, Ghosh HP. Re-expression of TSLC1 in a non-small-cell lung cancer cell line induces apoptosis and inhibits tumor growth. *Oncogene* 2004; 23: 5632-5642 [PMID: 15184878 DOI: 10.1038/sj.onc.1207756]
- 8 Takakuwa Y. Protein 4.1, a multifunctional protein of the erythrocyte membrane skeleton: structure and functions in erythrocytes and nonerythroid cells. *Int J Hematol* 2000; 72: 298-309 [PMID: 11185985]
- 9 Kikuchi S, Yamada D, Fukami T, Masuda M, Sakurai-Yageta M, Williams YN, Maruyama T, Asamura H, Matsuno Y, Onizuka M, Murakami Y. Promoter methylation of DAL-1/4.1B predicts poor prognosis in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 2954-2961 [PMID: 15837747 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-04-2206]
- 10 Fukuhara H, Masuda M, Yageta M, Fukami T, Kuramochi M, Maruyama T, Kitamura T, Murakami Y. Association of a lung tumor suppressor TSLC1 with MPP3, a human homologue of Drosophila tumor suppressor Dlg. *Oncogene* 2003; 22: 6160-6165 [PMID: 13679854 DOI: 10.1038/sj.onc.1206744]
- 11 Yageta M, Kuramochi M, Masuda M, Fukami T, Fukuhara H, Maruyama T, Shibuya M, Murakami Y. Direct association of TSLC1 and DAL-1, two distinct tumor suppressor proteins in lung cancer. *Cancer Res* 2002; 62: 5129-5133 [PMID: 12234973]
- 12 Goto A, Niki T, Chi-Pin L, Matsubara D, Murakami Y, Funata N, Fukayama M. Loss of TSLC1 expression in lung adenocarcinoma: relationships with histological subtypes, sex and prognostic significance. *Cancer Sci* 2005; 96: 480-486 [PMID: 16108829 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2005.00075.x]
- 13 Lung HL, Cheung AK, Xie D, Cheng Y, Kwong FM, Murakami Y, Guan XY, Sham JS, Chua D, Popov AI, Zabarovskiy ER, Tsao SW, Stanbridge EJ, Lung ML. TSLC1 is a tumor suppressor gene associated with metastasis in nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Res* 2006; 66: 9385-9392 [PMID: 17018592 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-0590]
- 14 Tamura G. Promoter methylation status of tumor suppressor and tumor-related genes in neoplastic and non-neoplastic gastric epithelia. *Histol Histopathol* 2004; 19: 221-228 [PMID: 14702190]
- 15 Williams YN, Masuda M, Sakurai-Yageta M, Maruyama T, Shibuya M, Murakami Y. Cell adhesion and prostate tumor-suppressor activity of TSL2/IGSF4C, an immunoglobulin superfamily molecule homologous to TSLC1/IGSF4. *Oncogene* 2006; 25: 1446-1453 [PMID: 16261159 DOI: 10.1038/sj.onc.1209192]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



肝血色病并肝癌1例

左丽丽, 胥莹, 杨婧, 吴华美, 杨晋辉

左丽丽, 胥莹, 杨婧, 吴华美, 杨晋辉, 昆明医科大学第二附属医院肝胆胰内科 云南省肝病中心 云南省昆明市 650101
左丽丽, 在读硕士, 主要从事肝脏疾病的研究。

作者贡献分布: 本文由左丽丽完成; 胥莹、杨婧、吴华美及杨晋辉审核。

通讯作者: 杨晋辉, 主任医师, 650101, 云南省昆明市昆瑞路112号, 昆明医科大学第二附属医院肝胆胰内科, 云南省肝病中心。zll_2011321@163.com

电话: 0871-65351281-2288

收稿日期: 2013-07-11 修回日期: 2013-08-20

接受日期: 2013-08-29 在线出版日期: 2013-10-18

Hemochromatosis complicated by hepatic carcinoma: A case report

Li-Li Zuo, Ying Xu, Jing Yang, Hua-Mei Wu, Jin-Hui Yang

Li-Li Zuo, Ying Xu, Jing-Yang, Hua-Mei Wu, Jin-Hui Yang, Department of Hepatobiliary and Pancreatic Medicine, Center for Liver Diseases, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650101, Yunnan Province, China

Correspondence to: Jin-Hui Yang, Chief Physician, Department of Hepatobiliary and Pancreatic Medicine, Center for Liver Diseases, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, 112 Kunrui Road, Kunming 650101, Yunnan Province, China. zll_2011321@163.com

Received: 2013-07-11 Revised: 2013-08-20

Accepted: 2013-08-29 Published online: 2013-10-18

Abstract

A 75-year-old male patient was admitted to hospital due to poor appetite, fatigue and recurrent fever for one month. Physical examination revealed that he had hepatomegaly and elevated serum iron and ferritin levels. He was diagnosed with hemochromatosis by liver biopsy and hepatic carcinoma by hepatic angiography. Hemochromatosis is a rare condition that has no specific clinical manifestations, is difficult to diagnose at the early stage, and has a poor prognosis. Clinicians should raise awareness of the disease in order to improve the quality of diagnosis and treatment.

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

Key Words: Hemochromatosis; Hepatomegaly;

Hepatic cirrhosis; Hepatic carcinoma

Zuo LL, Xu Y, Yang J, Wu HM, Yang JH. Hemochromatosis complicated by hepatic carcinoma: A case report. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(29): 3179-3182 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3179.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3179>

摘要

患者,男,75岁,因纳差、乏力、反复发热1 mo入院,入院检查示肝肿大、血清铁升高及铁蛋白升高,经肝穿活检确诊为血色病及肝动脉造影确诊为肝癌。由于本病罕见,临床表现无特异性,早期诊断困难,晚期预后差。因此临床医师应提高对本病的认识,以提高诊疗质量。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 血色病; 肝肿大; 肝硬化; 肝癌

核心提示: 本文报道了1例肝血色病合并肝癌的病例,同时复习了国内外相关文献,总结了此少见代谢性疾病的病因、临床资料、临床表现、病理诊断以及治疗方法,以期在今后的临床工作中提高对本病的认识,力求对高危人群及血色病患者做到早发现、早诊断、早治疗。

左丽丽, 胥莹, 杨婧, 吴华美, 杨晋辉. 肝血色病并肝癌1例. 世界华人消化杂志 2013; 21(29): 3179-3182 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3179.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i29.3179>

0 引言

血色病(hemochromatosis, HC)是一种铁代谢障碍性疾病,过量的铁沉积于肝脏、胰腺、心脏及其他实质器官,并对这些器官的结构和功能造成损害的疾病状态。其中肝是最常见的受累部位,当过多的铁沉积于肝脏,即为肝血色病,又称为肝铁过度沉积症。肝硬化和肝癌是本病的主要致死原因。本病罕见,起病隐匿,临床表现缺乏特异性,早期诊断困难,晚期预后差。现将我们遇到的1例血色病并发肝癌病例及相关文献复习报道如下。

■背景资料

原发性血色病(primary haemochromatosis, PHC)又称遗传性血色病(hereditary haemochromatosis, HH),属常染色体隐性遗传性疾病,是由6号染色体短臂上的血色病遗传基因(hemochromatosis gene, *HFE* gene)突变引起肠道铁的过度吸收所致。其基本发病机制为铁质长期过度沉积于肝脏、心脏、胰腺及其他实质组织和器官,并对这些组织器官的结构和功能造成损害的疾病状态。血色病是北欧白人常见的遗传性疾病,其人群中发病率可达1/200,而在我国非常罕见。

■同行评议者

倪润洲,教授,南通大学附属医院消化内科

■相关报道

Elmberg等研究表明血色病时由于铁超载继发肝癌危险性显著提高。

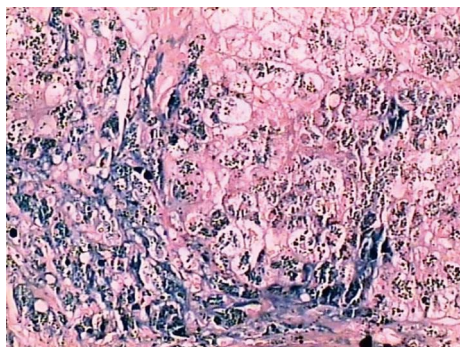


图1 肝组织普鲁士兰染色(×200). 肝细胞内、胆管上皮细胞内和部分纤维间隔内可见大量色素沉积, 普鲁士兰染色(+), 铜染色(-), 未见明显Mallory小体。

1 病例报告

患者, 男, 75岁, 主因纳差、乏力、反复发热1 mo入院。患者1 mo前无明显诱因出现纳差、乏力, 反复发热, 体温波动在37.3 °C-38.0 °C之间, 伴有腹胀、出汗、咳嗽、咳痰, 为黄脓痰, 无咯血、痰中带血、盗汗、心悸、胸闷、胸痛、头晕, 无恶心、呕吐、呃逆、腹痛等症状, 遂至昭通市人民医院就诊, 诊断为大叶性肺炎, 同时发现肝占位性质待查, 行相关治疗(具体不详)后稍好转出院。随后低热1 wk后好转, 为明确肝占位性质收住云南省肝胆胰内科(肝病中心)。病程中患者精神、饮食差, 大小便正常, 体质量下降约3 kg。既往有高血压病史10余年, 服用吲达帕胺控制血压, 血压控制不详; 糖尿病史7年, 服用诺和龙、阿卡波糖控制血糖; 有痛风、风湿性关节炎病史, 有痔疮手术史; 否认冠心病史; 否认肝炎、结核等传染病史; 否认输血史; 否认药物过敏史; 否认贫血及任何铁剂服用史; 预防接种史不详。有50年吸烟史, 已戒5年, 偶饮酒, 无大量饮酒史。否认家族遗传性疾病, 父母非近亲结婚。查体: 体温36.3 °C, 呼吸18次/min, 脉搏78次/min, 血压116/64 mmHg。神清, 慢性病容, 全身皮肤呈青灰色, 尤以面部明显, 巩膜无黄染, 全身浅表淋巴结未触及肿大。心肺查体未见明显异常, 腹平坦, 软, 无压痛, 肝于剑下5 cm可触及, 质硬, 缘钝, 表面尚光滑, 无触痛, 脾肋下未触及, 移动性浊音阴性, 双下肢不肿。

辅助检查: 血常规示白细胞(WBC)7.71 × 10⁹/L, 红细胞(RBC)3.48 × 10¹²/L, 血红蛋白(Hb)86 g/L, 血小板(PLT)176 × 10⁹/L; 血生化示白蛋白40.7 g/L, 丙氨酸氨基转移酶25 U/L, 天门冬氨酸氨基转移酶37 U/L, 碱性磷酸酶109 U/L, 谷氨酰基转移酶42 U/L, 胆碱酯酶3563 U/L, 总

胆红素14.7 μmol/L, 肌酐尿素均正常, 甘油三酯2.86 mmol/L, 血糖6.94 mmol/L, 血钾2.5 mmol/L; 血清铁38.3 μmol/L。凝血功能基本正常; 大小便常规基本正常; 甲、乙、丙、戊型肝炎、艾滋病、梅毒病毒血清标志物均阴性; 自免肝相关抗体均为阴性; 铜蓝蛋白0.408 g/L; 甲胎蛋白(AFP)1.5 IU/mL, 癌胚抗原(CEA)11.09 ng/mL, 糖类抗原19-9(CA199)89.59 U/mL, 糖类抗原50(CA50)33.69 U/mL, 铁蛋白(Ft)1000.0 ng/mL; 胸片示: (1)双肺间质性改变; (2)动脉硬化, 主动脉型心; (3)双侧胸膜局部增厚、粘连。心电图示: (1)窦性心律; (2)部分导联T波改变; (3)u波出现。彩色B超示: (1)肝脏稍大, 肝后叶可疑实性病灶(建议进一步检查); (2)胆囊泥沙样结石, 胆囊息肉样病变; (3)双肾囊肿。胸腹部CT示: (1)左肺上叶纤维条索状影, 双侧胸膜增厚粘连; (2)肝右叶低密度影, 性质? (3)胆囊结石; (4)肝脏密度弥漫性增高, CT值约92 HU, 多考虑代谢性病变, 建议进一步检查, 必要时穿刺活检; (5)肝大, 各叶比例失调, 考虑肝硬化; (6)脾稍大, 边缘及内部点条状钙化, 脾脏内类圆形低密度影, 考虑囊肿; (7)双肾小囊肿。磁共振示: (1)肝脏信号降低, 考虑血色素沉着症; (2)肝右后叶一病变, 考虑血管瘤, 脾脏小囊肿, 多发含铁血黄素沉积; (3)胆囊炎, 胆囊内沉积物或小结石; (4)扫描野见双肾小囊肿, 约胸11椎体一血管瘤。肝穿病理结果回示: 肝小叶结构紊乱, 为多数纤维组织分隔、形成肝硬化。肝细胞广泛水肿, 气球样变, 伴有小泡性脂肪变性, 肝细胞内、胆管上皮细胞内和部分纤维间隔内可见大量色素沉积, 普鲁士兰染色(+)(图1), 铜染色(-), 未见明显Mallory小体。纤维隔内少量炎症细胞浸润, CK19和CK17显示胆管明显增生, HbsAg(-)。考虑: 结节性肝硬化, 血色素沉着症。患者血色病诊断明确, 但由于肝穿刺时避开了肝后叶可疑实性病灶部位的活检, 肝右后叶占位性质仍不明确, 为进一步明确肝占位性质, 建议患者行肝动脉造影。经与患者家属仔细沟通后, 其表示: 愿意行肝动脉造影, 若为肝癌, 并愿意行肝动脉化疗栓塞术, 并签订术前同意书。在造影过程中发现肝右后动脉迂曲、增粗, 见杂乱的肿瘤血管, 于实质期见一团块状肿瘤染色, 远端另一小类圆形肿瘤染色(考虑转移灶)。最后考虑肝右后叶肝癌并肝内转移, 予行第1次肝动脉化疗栓塞术。

结合患者病史、症状、体征及辅助检查, 同

时按照血色病的欧美诊断治疗规范^[1]以及排除继发性血色病, 目前诊断为: (1)原发性血色病; (2)原发性肝癌并肝内转移; (3)肝硬化肝功能代偿期; (4)高血压病3级极高危; (5)2型糖尿病。因患者家属拒绝行外科手术治疗, 同时考虑患者年龄大合并中度贫血, 便未行放血治疗。入院后予以营养心肌、纠正电解质紊乱、控制血压、控制血糖等对症支持治疗后症状好转, 予以出院。3 mo后返院复查并行第2次肝动脉化疗栓塞术。6 mo后感腹胀、纳差、乏力, 双下肢水肿再次返院复查发现AFP 496 IU/mL, WBC $4.07 \times 10^9/L$, RBC $2.56 \times 10^{12}/L$, Hb 71 g/L, PLT $55 \times 10^9/L$ 。心脏彩超示: (1)左室舒张功能减退; (2)主动脉柔顺性降低; (3)少-中等量心包积液。入院予以行第3次肝动脉化疗栓塞术及抗肿瘤、保肝、利尿等对症支持治疗后症状好转出院。

2 讨论

血色病是一组罕见的因铁代谢紊乱引起体内铁负荷过重所致的疾病, 根据病因可分为原发性血色病(primary haemochromatosis, PHC)和继发性血色病(secondary haemochromatosis, SHC), PHC又称遗传性血色病(heritage haemochromatosis, HH), 属常染色体隐性遗传性疾病, 是由6号染色体短臂上的血色病遗传基因(hemochromatosis gene, *HFE* gene)突变引起肠道铁的过度吸收所致; SHC多继发于血液病(如地中海贫血)、多次大量输血、过量应用铁剂、铁利用障碍所致贫血、慢性肝病等。HC起病隐匿、进展缓慢, 男性多见, 早期可无症状, 随着病情的进展体内过多的铁沉着在脏器组织, 引起不同程度的基质细胞破坏、纤维组织增生及脏器功能障碍, 临床可表现^[2]为: (1)非特异性全身症状: 乏力、疲劳、嗜睡、淡漠、体质量减轻; (2)特异性器官损害症状: 腹痛(肝肿大、肝硬化)、关节痛(关节炎)、糖尿病(胰腺)、闭经(肝硬化)、性功能减退(脑垂体、肝硬化)、心力衰竭、心律失常、皮肤色素沉着等症状。实验室检查可发现血清铁、铁蛋白、转铁蛋白饱和度明显增高。CT和磁共振能间接提示血色病, 以往肝活检是诊断HC的金标准, 随着基因检测的出现, 肝活检的作用由诊断转向对已确诊患者进行预后评价^[2]。Elmberg等^[3]研究表明血色病时由于铁超载继发肝癌的危险性显著提高。所以本例患者出现皮肤色素沉着、肝脾肿大、肝硬化、糖尿病、并伴发原发性肝癌, 可认为均直接或间接地与

血色病有关。同时结合肝活检病理检查^[4,5]本例倾向考虑为PHC, 虽然暂时未发现明确家族史, 建议其家人健康体检时注意行铁代谢等相关检查, 当然也可到有条件的医院行基因筛查, 力求早发现、早诊断、早治疗^[6]。

HC是北欧白人中常见的遗传性疾病, 其人群中发病率可达1/200^[7], 而在我国非常罕见, 从1957年首次报道至今约200例, 而血色病并发肝癌仅有10余例个案报道。由于血色病在临床上并不多见, 临床上常由于对其缺乏认识而导致无法早期确诊甚至误诊误治。早期诊断、早期治疗可防止肝硬化等并发症的发生, 减少肝癌的发生, 而晚期预后不良。结合本例我们有如下体会: (1)临床发现肝肿大、血清铁及铁蛋白升高的患者, 要考虑血色病可能。同时对血清铁代谢异常的人群或者血色病患者的一级亲属应注意筛查, 以早期发现该病; (2)血色病患者肝功能可正常, 如本例患者还合并肝癌, 肝功能在前3 mo完全正常, 6 mo时仅出现胆碱酯酶稍下降, 说明该病起病隐匿, 不易引起临床医师的注意。而6 mo内患者出现心包积液, 心功能不全, 心内科会诊考虑与原发病有关, 同时AFP明显升高、Hb和PLT明显降低, 说明该病晚期进展快, 预后不良; (3)CT和MRI等影像学检查可提示血色病, 如本例腹部CT提示肝大、肝脏密度弥漫性增高, CT值约92HU, 这与田春梅等^[8]研究报道的血色病的CT值是一致的; MRI示肝实质于T1WI、T2WI信号普遍减低, 考虑血色素沉着症。MRI在诊断本病的作用可能大于CT; (4)由于实验室检查缺乏特异性指标, 我院尚不能进行HC的基因检测, 肝穿刺活检病理检查成为确诊的主要依据。本例患者入住我科后MRI检查后提示血色病, 进一步的肝穿刺肝组织病理证实了该诊断。当然在诊断本病时, 应注意与其他可引起肝脏肿大的疾病如肝脓肿、脂肪肝、酒精性肝硬化、肝豆状核变性、肝淀粉样变等相鉴别; (5)血色病的治疗常用两种方法: 静脉放血和螯合剂治疗。而反复放血排出体内的铁是此病最有效、最经济的治疗方法^[9]。范振平等^[10]对1991/2010国内血色病荟萃分析得出祛铁、放血疗法对于早期患者疗效好。当然晚期患者, 有条件者可行肝移植治疗。此病如能在肝硬化发生前进行放血治疗, 其健康和寿命可与正常人一样^[11]。因此, 对高危人群及血色病患者进行早期诊断和及时处理非常必要。故提供此病例, 以期引起重视, 以望提高诊疗质量。

■创新盘点

本文中所描述的病例通过肝穿活检确诊为血色病及肝动脉造影确诊为肝癌, 同时结合国内外相关文献进行分析、讨论, 概括了本病的病因、临床表现、诊断及治疗。

■同行评价

本文报道了1例肝血色病并发肝癌的病例,结合文献讨论了血色病的诊断和治疗,对临床医生提高对血色病的认识有一定作用。

3 参考文献

- 1 李丽,贾继东,王宝恩. 血色病的欧美诊断治疗规范. 胃肠病学和肝病杂志 2008; 17: 1-3
- 2 Bacon BR, Adams PC, Kowdley KV, Powell LW, Tavill AS. Diagnosis and management of hemochromatosis: 2011 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology* 2011; 54: 328-343 [PMID: 21452290 DOI: 10.1002/hep.24330]
- 3 Elmberg M, Hultcrantz R, Ekbom A, Brandt L, Olsson S, Olsson R, Lindgren S, Lööf L, Stål P, Wallerstedt S, Almer S, Sandberg-Gertzén H, Askling J. Cancer risk in patients with hereditary hemochromatosis and in their first-degree relatives. *Gastroenterology* 2003; 125: 1733-1741 [PMID: 14724826]
- 4 卢韶华,谭云山,宿杰·阿克苏,王岫南. 原发性血色病伴肝癌临床病理观察. 诊断病理学杂志 2006; 13: 31-33, i0006
- 5 梁丽,赵景民,周光德,熊璐,李文淑,王海滨,郭晓东,赵雨来,刘树红,韦立新. 血色素沉积症20例临床病理分析. 解放军医学杂志 2011; 36: 75-79
- 6 孙晓敏,任大宾,徐萍,杨小娟,赖跃兴,何桂钧,万红宇. 原发性肝血色病并急性胆源性胰腺炎1例. 世界华人消化杂志 2010; 18: 521-523
- 7 Adams P, Brissot P, Powell LW. EASL International Consensus Conference on Haemochromatosis. *J Hepatol* 2000; 33: 485-504 [PMID: 11020008]
- 8 田春梅,张林,许昌,杨青霖,王山山,冯艳. 血色病CT表现. 中外医学研究 2011; 9: 51-52
- 9 Pietrangelo A. Hereditary hemochromatosis--a new look at an old disease. *N Engl J Med* 2004; 350: 2383-2397 [PMID: 15175440]
- 10 范振平,石红霞,张文瑾,史雪敏,蔡少平,吉英杰,高峰,何卫平. 1991-2010年国内国内血色病荟萃分析. 临床荟萃 2011; 26: 2132-2136
- 11 Niederau C, Fischer R, Püschel A, Stremmel W, Häussinger D, Strohmeyer G. Long-term survival in patients with hereditary hemochromatosis. *Gastroenterology* 1996; 110: 1107-1119 [PMID: 8613000]

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}不能写成Vmax, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*ln*-(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), *p*(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。

《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。M_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、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)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上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, 则在该论述的句末右上

角注码号。如马连生^[1]报告……, 潘伯荣等^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]。文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊: 序号, 作者(列出全体作者)。文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传。读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程。

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcyj.asp>

4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>。审稿过程平均时间需要14-28天。所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审。

6 修回稿须知

6.1 修回稿信件 来稿包括所有作者签名的作者投稿函。内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该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

中国消化科学学术论坛

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!

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

程树群 副教授
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院综合治疗三科

崔云甫 教授
哈尔滨医科大学第二附属医院普外一科

高凌 副教授
武汉大学人民医院内分泌科

顾岩 教授
上海交通大学医学院附属上海第九人民医院普外科

郭晓钟 教授
中国人民解放军沈阳军区总医院消化内科

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

何向辉 教授
天津医科大学总医院普通外科

英卫东 教授
安徽省立院肝脏外科

江建新 副主任医师
贵阳医学院附属医院肝胆外科

蓝宇 教授
北京积水潭医院消化科

李涛 副主任医师
北京大学人民医院肝胆外科

李焱 副研究员
中山大学肿瘤防治中心实验研究部

李勇 副教授
上海中医药大学附属市中医医院消化科

李瑜元 教授
广州市第一人民医院内科

刘改芳 主任医师
河北医科大学第三医院消化内科

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

刘占举 教授
同济大学附属上海市第十人民医院

宁钧宇 副研究员
北京市疾病预防控制中心卫生毒理所

齐清会 教授
大连医科大学附属第一医院

石毓君 副研究员
四川大学华西医院移植工程与移植免疫实验室

孙明军 教授
中国医科大学附属第一医院内镜中心

谭晓冬 教授
中国医科大学附属盛京医院

王邦茂 教授
天津医科大学总医院消化内科

王健生 教授
西安交通大学医学院第一附属医院肿瘤外科

王小众 教授
福建医科大学附属协和医院消化内科

杨柏霖 副主任医师
南京中医药大学附属医院

袁建业 副研究员
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

张火俊 副教授
长海医院放射科

赵春玲 副教授
潍坊医学院细胞生物学教研室

智绪亭 教授
山东大学齐鲁医院普外科

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会
代章：





Published by **Baishideng Publishing Group 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>

