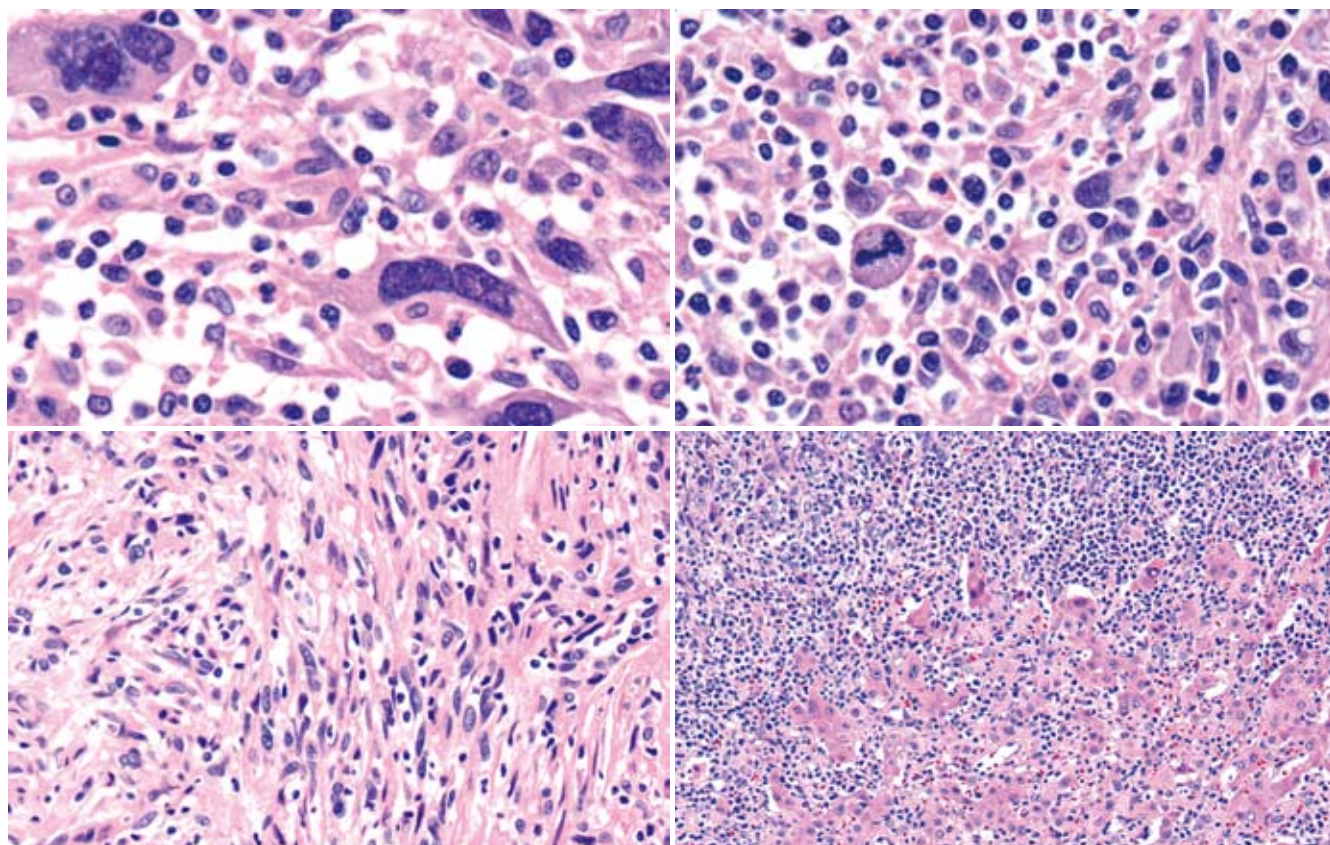


世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2010年6月18日 第18卷 第17期 (Volume 18 Number 17)



17 / 2010

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

《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》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》的英文摘要被美国《化学文摘》,荷兰《医学文摘库/医学文摘》和俄罗斯《文摘杂志》收录。

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2009-01-01/2011-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

总顾问

陈可冀教授
黄象谦教授
黄志强教授
王宝恩教授
危北海研究员
吴孟超教授
杨春波教授
周殿元教授

名誉总编辑

潘伯荣教授

社长/总编辑

马连生教授

副总编辑

纪小龙教授
姜洪池教授
王苑本教授
吴云林教授
徐克成教授
杨思风教授
姚希贤教授
岳茂兴教授
张万岱教授
周学文教授

常务编委

程英升教授
范学工教授
高毅主任医师
江学良主任医师
李岩教授
刘连新教授
吕宾教授
罗和生教授
聂青和教授
王小众教授

编委

消化内科学

白爱平副教授
聂新明教授
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
崔立红副教授
邓长生教授
丁士刚主任医师
董蕾教授
杜雅菊主任医师
樊晓明主任医师
房静远教授
冯志杰主任医师
傅春彬主任医师
高峰副教授
戈之铮教授
关玉盘教授
郭晓钟教授
郝建宇教授
何松教授
洪天配教授
胡伏莲教授
胡和平主任医师
黄晓东副主任医师
黄颖秋教授
黄缘教授
季国忠教授
江米足主任医师
姜春萌教授
姜慧卿教授
金瑞教授
蓝宇教授
李定国教授
李淑德教授
李瑜元教授
李玉民教授
李玉明教授
李祖国副教授
林志辉教授
刘冰熔教授
刘凤斌教授
刘改芳主任医师
刘海峰主任医师
刘海林主任医师
刘占举教授
陆伦根教授

马红主任医师
马欣主任医师
倪润洲教授
欧希龙副教授
潘秀珍教授
朴云峰教授
秦成勇教授
任粉玉副教授
任建林教授
邵先玉教授
沈琳主任医师
沈守荣教授
沈薇教授
施瑞华教授
宋军副教授
宋于刚教授
唐世刚教授
田宇彬教授
王邦茂教授
王炳元教授
王承尧教授
王艳艳副教授
闻勤生教授
夏冰教授
夏时海副教授
徐可树教授
许乐主任医师
杨建民教授
姚树坤教授
叶红军主任医师
张春清教授
张国梁主任医师
张军教授
张小晋主任医师
张晓岚教授
张筱茵副教授
张志坚教授
郑培永副教授
郑鹏远教授
郑素军副主任医师
周国雄主任医师
周晓东副教授
朱春兰主任医师
邹晓平主任医师

消化外科学
蔡开琳副教授

蔡三军主任医师
曹杰主任医师
陈光教授
陈海龙教授
陈积圣教授
陈进宏副主任医师
陈力教授
陈立波教授
陈凇教授
陈强谱教授
陈汝福教授
陈亚军主任医师
陈钟教授
程爱国教授
程爱群主任医师
程树群副教授
仇毓东副教授
崔云甫教授
戴朝六教授
戴冬秋教授
单云峰副主任医师
丁义涛教授
董明教授
房林副教授
傅红副教授
傅华群教授
傅志仁主任医师
葛海燕教授
巩鹏副教授
谷俊朝主任医师
顾岩教授
韩天权教授
郝纯毅主任医师
何超教授
何裕隆教授
黄志勇教授
季加孚教授
莫卫东副主任医师
蒋龙元副教授
李国威教授
李华副教授
李华山主任医师
李奇林教授
李胜研究员
李涛副主任医师

李文岗教授
李旭副教授
李永翔主任医师
梁力建教授
刘超副教授
刘建教授
卢实春教授
陆才德教授
禄韶英副主任医师
吕明德教授
吕云福教授
彭吉润主任医师
彭心宇教授
秦春宏副主任医师
秦华东教授
秦环龙教授
秦建民副主任医师
邱宝安主任医师
邱双健副教授
邱伟华副主任医师
裘正军教授
沈柏用副教授
沈世强教授
施诚仁教授
石毓君副研究员
宋振顺教授
孙诚谊教授
孙学英教授
孙延平副主任医师
邵升副教授
汤恢煊教授
田晓峰教授
汪波副主任医师
汪根树副教授
王春友教授
王德盛副主任医师
王凤山教授
王广义教授
王健生教授
王鲁副教授
王蒙副教授
王石林主任医师
王文跃主任医师
王要军教授
王悦华副主任医师

王振宁教授
王正康教授
王志刚副主任医师
王忠裕教授
吴河水教授
吴健雄教授
吴金术教授
吴泰璜教授
吴志勇教授
谢敏主任医师
谢晓华副教授
邢光明教授
徐大华主任医师
徐迅迪副主任医师
徐泱副主任医师
许戈良教授
严律南教授
杨柏霖副主任医师
杨家和主任医师
杨秋蒙副主任医师
杨维良教授
伊力亚尔·夏合丁教授
殷正丰教授
于聪慧教授
于则利教授
郁宝铭教授
元云飞教授
张佳林教授
张进祥副教授
张俊副研究员
张群华教授
张水军教授
张宗明教授
周伟平教授
邹小明教授

消化感染病学

陈国凤主任医师
陈红松研究员
陈建杰教授
陈仕珠主任医师
陈志辉副主任医师
党双锁教授
丁惠国教授
范建高教授
范小玲主任医师
高润平教授

高泽立副教授
龚国忠教授
管世鹤副教授
何生松教授
胡国信副主任医师
林菊生教授
刘正稳教授
貌盼勇研究员
宁琴教授
钱林学主任医师
孙殿兴主任医师
谭德明教授
汤华研究员
唐霓副研究员
唐晓鹏教授
王凯教授
王怡主任医师
魏来教授
吴建国教授
吴君主任医师
宣世英教授
杨江华副主任医师
杨林副研究员
姚鹏副教授
张继明教授
张明辉副主任医师
张占卿主任医师
赵桂鸣主任医师
赵连三教授
周霞秋教授
朱传武主任医师
庄林主任医师

消化中医学

蔡淦教授
陈治水主任医师
杜群副研究员
黄恒青主任医师
李军祥教授
李康副教授
李勇副教授
李振华教授
刘成海研究员
刘孟安教授
刘平教授
刘绍能主任医师

沈洪教授
唐志鹏研究员
王富春教授
王新月教授
谢鸣教授
徐列明教授
许玲副教授
张声生教授

消化肿瘤学

曹秀峰教授
曹志成院士
陈公琰主任医师
李璦教授
刘宝瑞教授
刘彬彬副研究员
刘云鹏教授
沈克平主任医师
肖文华主任医师
熊斌教授
张凤春教授

消化影像学

白彬主任医师
陈克敏教授
官泳松教授
韩新巍教授
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
徐爱民副教授
徐克教授
严惟力副教授
杨业发教授
杨建勇教授
赵卫主任医师

消化内镜及介入治疗学

丁佑铭教授
郝俊鸣副主任医师
潘林娜教授
孙明军教授
万军教授
吴硕东教授

袁友红副教授

消化中西医结合学

唐文富副教授
王学美研究员
魏睦新教授
张春虎副教授

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
樊红副教授
高春芳研究员
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
胡旭初副教授
黄园教授
黄文林教授
李刚教授
李杰副教授
李永哲副研究员
李增山副教授
刘克辛教授
梅林教授
钱睿哲教授
任超世研究员
任浩副教授
台桂香教授
谭学瑞教授
田文静副教授
田颖刚副研究员
王钦红教授
汪思应教授
吴军研究员
吴俊华副教授
徐宁志研究员
许文燮教授
姚登福教授
阴赅宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬副教授
张青云研究员
张学教授
赵平副教授
周南进研究员

周士胜教授
周素芳教授
周晓东研究员
周晓武副主任医师

消化病理学

杜祥教授
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
马大烈教授
潘兴华副主任医师
王鲁平主任医师
王娅兰教授
魏蕾教授
颜宏利副教授
于颖彦教授
余宏宇教授
张锦生教授
赵景民教授
朱亮副教授

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2010年6月18日 第18卷 第17期 (总第313期)

述 评

1741 针对肿瘤缺氧微环境探寻新的治疗方法

孙学英, 姜宪, 姜洪池

基础研究

1747 SOCS-1在内毒素血症及耐受小鼠肝组织中的表达变化及意义

陈先锋, 李旭宏, 游海波, 刘海忠, 刘作金, 龚建平

1756 门脉高压肝脏小叶间动脉与小叶间静脉血管内皮生长因子受体的分布

徐珊珊, 赵金满, 杨思贤

1761 塞来昔布在胆管炎中的抗增殖作用

陈文龙, 蒋力生, 李富宇

1767 莫苯唑酸对牛脂促进的大鼠结肠癌发生的影响

苗鲁杰, 白石良介, 藤濑刚弘, 柿本隆志, 岩切龙一, 藤本一真, 施瑞华, 李学良

临床研究

1773 新疆汉族、维吾尔族及哈萨克族食管癌血清蛋白质指纹图谱

张昌明, 张建龙, 张琼, 张铸, 张海平, 孙清超, 丁旭, 刘钰莉, 伊力亚尔·夏合丁

1780 肝肉瘤样癌的临床病理特征

黄海建, 余英豪, 郑智勇

文献综述

1786 多层螺旋CT肝体积测量及临床应用

李金平, 姜慧杰

1792 生物人工肝用肝细胞低温保存的现状与进展

蒋知新, 沙杭, 李庆勇, 张清华, 李安全, 林虎, 高毅

1799 缺血后处理对肝脏缺血再灌注的保护机制研究进展

林杰, 曾仲

1804 表皮生长因子受体靶向治疗结直肠癌的临床进展

王玉, 方明治, 金黑鹰

研究快报

1810 肿瘤-睾丸抗原SPANX-C基因mRNA在肝细胞癌中的表达及HLA-A2限制性CTL表位的预测

赵力, 牟东成, 彭吉润, 冷希圣

临床经验

1815 光动力治疗Barrett's食管的系统评价

何继东, 王一平, 欧阳晓波

1820 慢性丙型肝炎患者脂类代谢与丙型肝炎病毒复制以及肝脏病理的关系

李蕴铤, 凌伟, 陈凤欣, 范小玲

1824 应用精细肝脏外科理念治疗原发性肝癌53例

许戈良, 莫卫东, 李建生, 马金良, 刘文斌, 葛勇胜, 余继海, 王伟

1829 标准残肝体积对肝脏储备功能的评价

陈熙, 杜正贵, 李波, 魏永刚, 严律南, 文天夫

1834 壶腹周围憩室与内镜后复发性胆管结石的关系

丁国乾, 秦鸣放, 王震宇, 邹富胜

1838 经结肠镜高频电圈套器联合尼龙绳套扎和/或钛夹钳夹治疗大肠宽蒂和大息肉156例

王萍, 吴杰, 黄晓东, 孙圣斌, 张姮, 郑丹, 宋敏, 刘文敏

病例报告	1842 胃气囊肿症1例 肖洪斌
附录	1844 《世界华人消化杂志》投稿须知 1849 2010年国内国际会议预告
志 谢	1850 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	1746 《世界华人消化杂志》按时完成2009年度出版任务 1755 《世界华人消化杂志》修回稿须知 1766 《世界华人消化杂志》入选《中国学术期刊评价研究报告-RCCSE权威、核心期刊排行榜与指南》 1772 《2009年版中国科技期刊引证报告》(核心版)发布《世界华人消化杂志》2008年影响因子0.547 1779 《世界华人消化杂志》计量单位标准 1785 WJG成功通过评审被PMC收录 1791 《世界华人消化杂志》入选北京大学图书馆2008年版《中文核心期刊要目总览》 1803 《世界华人消化杂志》栏目设置 1814 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 1823 《世界华人消化杂志》被收录情况 1828 汤姆森-路透公布2009年WJG影响因子2.092 1833 《世界华人消化杂志》正文要求 1837 2009年《世界华人消化杂志》编委审稿总结 1841 《世界华人消化杂志》标点符号用法
封面故事	黄海建, 余英豪, 郑智勇. 肝肉瘤样癌的临床病理特征. 世界华人消化杂志 2010; 18(17): 1780-1785 http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1780.asp
本期责任人	编务 刘晓芳; 送审编辑 李军亮; 组版编辑 吴鹏朕; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 李军亮; 形式规范 马连生

<p>世界华人消化杂志</p> <p>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</p> <p>吴阶平 题写封面刊名 陈可冀 题写版权刊名 (旬刊)</p> <p>创 刊 1993-01-15 改 刊 1998-01-25 出 版 2010-06-18 原刊名 新消化病学杂志</p> <p>名誉总编辑 潘伯荣 总 编 辑 马连生 编辑部主任 李军亮</p> <p>期 刊 名 称 世界华人消化杂志 主 管 单 位 山西省科学技术厅 主 办 单 位 太原消化病研治中心</p>	<p>编辑 世界华人消化杂志编辑委员会 030001, 山西省太原市双塔西街77号 电话: 0351-4078656 E-mail: wcjd@wjgnet.com http://www.wjgnet.com</p> <p>出版 世界华人消化杂志编辑部 030001, 山西省太原市双塔西街77号 电话: 0351-4078656 E-mail: wcjd@wjgnet.com http://www.wjgnet.com</p> <p>印刷 北京科信印刷厂</p> <p>发行 国内: 北京报刊发行局 国外: 中国国际图书贸易总公司 (100044, 北京市399信箱)</p> <p>订购 全国各地邮电局</p> <p>邮购 世界华人消化杂志编辑部 030001, 山西省太原市双塔西街77号 电话: 0351-4078656 E-mail: wcjd@wjgnet.com http://www.wjgnet.com</p>	<p>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》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》的英文摘要被美国《化学文摘》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘》和俄罗斯《文摘杂志》收录.</p> <p>世界华人消化杂志正式开通了在线办公系统(http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者、编者之间的信息反馈交流.</p> <p>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.</p> <p>2010年版权归世界华人消化杂志所有</p>
中国标准连续出版物号 ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R	邮发代号 82-262 国外代号 M 4481	国内定价 每册56.00元 全年2016.00元 广告经营许可证 1401004000050

World Chinese Journal of Digestology

June 2010 Contents in Brief Volume 18 Number 17

EDITORIAL	1741 Novel therapeutic strategies targeting the hypoxic microenvironment of tumors <i>Sun XY, Jiang X, Jiang HC</i>
BASIC RESEARCH	<p>1747 Significance of SOCS-1 expression changes in the liver of endotoxemic mice and endotoxin-tolerant mice <i>Chen XF, Li XH, You HB, Liu HZ, Liu ZJ, Gong JP</i></p> <p>1756 Distribution of vascular endothelial growth factor receptor in hepatic arteries and veins of rats with portal hypertension <i>Xu SS, Zhao JM, Yang SX</i></p> <p>1761 Anti-proliferation activity of celecoxib in cholangitis <i>Chen WL, Jiang LS, Li FY</i></p> <p>1767 Mofezolac suppresses beef tallow-promoted colon carcinogenesis in rats <i>Miao LJ, Shiraishi R, Fujise T, Kakimoto T, Iwakiri R, Fujimoto K, Shi RH, Li XL</i></p>
CLINICAL RESEARCH	<p>1773 Identification of esophageal carcinoma-associated proteins by proteomics in Han, Uygur and Kazakh patients with esophageal carcinoma in Xinjiang, China <i>Zhang CM, Zhang JL, Zhang Q, Zhang Z, Zhang HP, Sun QC, Ding X, Liu YL, Ilyar SH</i></p> <p>1780 Clinicopathologic analysis of sarcomatoid hepatocellular carcinoma <i>Huang HJ, Yu YH, Zheng ZY</i></p>
REVIEW	<p>1786 Clinical application of measurement of liver volume by multi-slice spiral CT <i>Li JP, Jiang HJ</i></p> <p>1792 Hypothermic storage of hepatocytes used for bioartificial liver support system: current status and recent advances <i>Jiang ZX, Sha H, Li QY, Zhang QH, Li AQ, Lin H, Gao Y</i></p> <p>1799 Advances in research on the protective mechanisms of ischemic postconditioning against hepatic ischemia-reperfusion injury <i>Lin J, Zeng Z</i></p> <p>1804 Recent advances in epidermal growth factor receptor-targeted therapy of colorectal cancer <i>Wang Y, Fang MZ, Jin HY</i></p>
RAPID COMMUNICATION	1810 Expression of cancer-testis antigen SPANX-C mRNA in human hepatocellular carcinoma and prediction of HLA-A2-restricted CTL epitopes of SPANX-C <i>Zhao L, Mou DC, Peng JR, Leng XS</i>
CLINICAL PRACTICE	<p>1815 Photodynamic therapy for Barrett's esophagus: a systematic review <i>He JD, Wang YP, Ouyang XB</i></p> <p>1820 Correlation of plasma lipid levels with serum hepatitis C virus RNA load and liver histopathological changes in patients with chronic hepatitis C <i>Li YR, Ling W, Chen FX, Fan XL</i></p> <p>1824 Treatment of primary liver cancer by precise liver surgery: an analysis of 53 cases <i>Xu GL, Jia WD, Li JS, Ma JL, Liu WB, Ge YS, Yu JH, Wang W</i></p>

	<p>1829 Value of measurement of standard remnant liver volume in the evaluation of liver reserve function <i>Chen X, Du ZG, Li B, Wei YG, Yan LN, Wen TF</i></p> <p>1834 Relationship between periampullary diverticulum and recurrent bile duct stones after endoscopic surgery <i>Ding GQ, Qin MF, Wang ZY, Zou FS</i></p> <p>1838 Treatment of large colorectal polyps with wide peduncle by nylon endoloop ligature and/or clamping with titanium clips in combination with colonoscopy-assisted high-frequency electric snare: an analysis of 156 cases <i>Wang P, Wu J, Huang XD, Sun SB, Zhang H, Zheng D, Song M, Liu WM</i></p>
CASE REPORT	<p>1842 Diagnosis and treatment of air cyst in stomach: a report of one case <i>Xiao HB</i></p>
APPENDIX	<p>1844 Instructions to authors of World Chinese Journal of Digestology</p> <p>1849 Meeting events calendar in 2010</p>
ACKNOWLEDGMENT	<p>1850 Acknowledgments to reviewers of World Chinese Journal of Digestology</p>
COVER	<p>Huang HJ, Yu YH, Zheng ZY. Clinicopathologic analysis of sarcomatoid hepatocellular carcinoma. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2010; 18(17): 1780-1785 http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1780.asp</p>
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	<p>Assistant Editor: <i>Xiao-Fang Liu</i> Review Editor: <i>Jun-Liang Li</i> Electronic Page Editor: <i>Peng-Zhen Wu</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Jun-Liang Li</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i></p>

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date June 18, 2010

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

RESPONSIBLE INSTITUTION

Department of Science and Technology
of Shanxi Province

SPONSOR

Taiyuan Research and Treatment Center
for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie,
Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

EDITING

Editorial Board of *World Chinese Journal of Digestology*, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China
Telephone: +86-351-4078656
E-mail: wjcd@wjgnet.com

PRINTING

Beijing Kexin Printing House

PUBLISHING

Editorial Department of *World Chinese Journal of Digestology*, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China
Telephone: +86-351-4078656
E-mail: wjcd@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

OVERSEAS DISTRIBUTOR

Beijing Bureau for Distribution of Newspapers and Journals (Code No. 82-261)
China International Book Trading Corporation PO Box 399, Beijing, China (Code No. M4481)

HONORARY EDITOR-IN-CHIEF

Bo-Rong Pan

EDITOR-IN-CHIEF

Lian-Sheng Ma

SCIENCE EDITORS

Director: Jun-Liang Li

SUBSCRIPTION

RMB 56 Yuan for each issue
RMB 2016 Yuan for one year

CSSN

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

COPYRIGHT

© 2010 Published by *WCJD*. All rights reserved; no part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise without the prior permission of *WCJD*. Authors are required to grant *WCJD* an exclusive licence to publish.

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.

Copyright © 2010 by Editorial Department of *World Chinese Journal of Digestology*

针对肿瘤缺氧微环境探寻新的治疗方法

孙学英, 姜宪, 姜洪池

孙学英, 姜宪, 姜洪池, 哈尔滨医科大学第一附属医院肝脾外科中心 黑龙江省哈尔滨市 250012

孙学英, 教授, 主要从事肿瘤治疗方面的研究.

通讯作者: 孙学英, 教授, 250012, 黑龙江省哈尔滨市邮政街23号, 哈尔滨医科大学第一附属医院肝脾外科中心.

kevsun88@hotmail.com

电话: 0451-53643628

收稿日期: 2010-05-06 修回日期: 2010-06-10

接受日期: 2010-06-15 在线出版日期: 2010-06-18

Novel therapeutic strategies targeting the hypoxic microenvironment of tumors

Xue-Ying Sun, Xian Jiang, Hong-Chi Jiang

Xue-Ying Sun, Xian Jiang, Hong-Chi Jiang, Center for Hepatosplenic Surgery, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

Correspondence to: Professor Xue-Ying Sun, Center for Hepatosplenic Surgery, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 23 Youzheng Street, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China. kevsun88@hotmail.com

Received: 2010-05-06 Revised: 2010-06-10

Accepted: 2010-06-15 Published online: 2010-06-18

Abstract

Hypoxic microenvironment is closely related to tumorigenesis, progression, metastasis and prognosis and has become a hot topic in cancer research. This article discusses investigations seeking novel therapies targeting the hypoxic microenvironment of tumors, including hypoxic conversion of non-toxic pro-drugs to cytotoxic drugs, and regulation of upstream and downstream genes of hypoxia-inducible factors (HIFs). Additionally, the article reviews our serial studies on tumor hypoxia, including blockade of HIF-1 α expression or overexpression of von Hippel-Lindau to enhance the efficacy of immunotherapy, anti-angiogenic therapy, chemotherapy and transarterial embolization to combat malignancies.

Key Words: Hypoxic environment; Hypoxia-inducible factor; Malignant tumor

Sun XY, Jiang X, Jiang HC. Novel therapeutic strategies targeting the hypoxic microenvironment of tumors. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(17): 1741-1746

摘要

肿瘤缺氧微环境与肿瘤的发展、转移和患者预后, 以及治疗的效果密切相关, 已经成为癌症研究的热点. 本文介绍了针对肿瘤缺氧微环境所进行的新治疗方法的探索, 包括阻断肿瘤缺氧诱导通路、利用缺氧微环境将无活性的药物前体转化为细胞毒性药物、改变缺氧诱导因子上下游基因的表达等. 最后介绍了作者和研究小组针对肿瘤缺氧微环境的系列研究进展, 包括阻断缺氧诱导因子-1 α 表达或过表达 von Hippel-Lindau 蛋白提高免疫治疗、抗新生血管生成治疗、化疗和肝动脉插管治疗恶性肿瘤疗效的研究.

关键词: 缺氧微环境; 缺氧诱导因子; 恶性肿瘤

孙学英, 姜宪, 姜洪池. 针对肿瘤缺氧微环境探寻新的治疗方法. *世界华人消化杂志* 2010; 18(17): 1741-1746

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1741.asp>

0 引言

绝大多数实体肿瘤内存在缺氧微环境. 肿瘤缺氧微环境影响肿瘤细胞的基因表型, 激活新生血管生成因子包括血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)促进肿瘤新生血管的生成^[1], 上调肿瘤细胞能量代谢赖以进行的葡萄糖转运蛋白(glucose transporter, GLUT)和多种糖酵解酶^[2,3], 促进肿瘤细胞无氧酵解. 缺氧进一步加剧了肿瘤细胞基因的不稳定性并激活一些肿瘤生存因子, 造成肿瘤对化疗和放疗的耐受^[4], 促进了肿瘤的转移^[5]. 因此, 肿瘤缺氧微环境与肿瘤的发生发展、预后和转移, 以及治疗的效果密切相关, 而对这一领域的研究已经成为寻找癌症新治疗方法的热点^[6,7]. 本文对近年来在肿瘤缺氧微环境研究进展综述如下.

1 肿瘤内缺氧微环境产生的机制

细胞的生长和增殖有赖于充分的氧气和能量供应. 在供氧量正常的组织中, 细胞的能量来源约90%依赖于线粒体的有氧氧化, 仅有10%来源于葡萄糖酵解, 因为后者的能量产生效率较低(仅

■背景资料

绝大多数实体肿瘤内存在缺氧微环境. 肿瘤缺氧微环境影响肿瘤细胞的基因表型, 激活新生血管生成因子包括血管内皮生长因子(VEGF)促进肿瘤新生血管的生成, 上调肿瘤细胞能量代谢赖以进行的葡萄糖转运蛋白(GLUT)和多种糖酵解酶, 促进肿瘤细胞无氧酵解. 缺氧进一步加剧了肿瘤细胞基因的不稳定性并激活一些肿瘤生存因子, 造成肿瘤对化疗和放疗的耐受, 促进了肿瘤的转移.

■同行评议者

陈积圣, 教授, 中山大学孙逸仙纪念医院肝胆外科

■研发前沿

肿瘤缺氧微环境与肿瘤的发生、发展、预后和转移,以及治疗的效果密切相关,而对这一领域的研究已经成为寻找癌症新治疗方法的热点。

为有氧氧化的5%)。然而,肿瘤组织内,肿瘤细胞失控性生长和增殖消耗大量的营养和氧气,其内部不能及时、有效的建立新生血管网,或新生血管网的结构和功能异常,存在暂时性封闭或“盲端”;并且通透性较高,液体外渗至组织间隙导致血流黏滞阻力增加。这些因素使肿瘤内部血流减少,氧的供应远少于氧的需求,肿瘤细胞处于急性(灌注缺乏)或慢性(弥散障碍)缺氧状态。此外,恶性肿瘤的自身进程以及抗肿瘤治疗所造成的贫血亦加剧了肿瘤的缺氧,肿瘤内部缺氧微环境由此产生^[8]。

2 缺氧的检测

目前尚缺乏直接检测肿瘤或组织内部氧分压的方法,缺氧的检测仅局限于少数的物理或化学方法。检测体内缺氧的“金标准”为氧电极极谱法^[9],该技术为将阴极探针置入肿瘤内部,通过检测氧的离子化过程中产生的电流来测量肿瘤内某个区域的氧分压,通过计算机实时监控,可达到每10秒测量1次,对判断肿瘤预后有一定意义^[10,11]。目前该方法已经应用于临床,局限性在于他仅能检测肿瘤组织中表浅或一部分区域的氧分压,由于肿瘤内部难免存在不均一性,所以他难以准确评估肿瘤整体的缺氧程度;同时该方法需要消耗检测部位的氧,因此无法进行重复测量。由于氧可促进荧光的淬灭,Urano等^[12]使用荧光探针检测肿瘤内氧含量,该方法具有灵敏(可在局部氧分压较低时应用)、高效(多通道同时测量)、可在特定位点重复测量(便于观察对比治疗效果)等优点。

检测肿瘤内缺氧的免疫组织化学方法为,在外科手术切除肿瘤前将检测外源性缺氧标记物的抗体输入患者体内,通过肿瘤内的抗原-抗体结合反应,在显微镜下观察其缺氧部位和程度。他能反映肿瘤组织内相对氧分压,但通常只有少数切片能够获得理想的阳性染色,并且存在样本误差,使其应用受到限制^[13]。目前,可供检测肿瘤氧合水平的内源性标志物包括:低氧诱导因子-1(hypoxia inducible factor-1, HIF-1),葡萄糖转运蛋白-1(glucose transporter-1, GLUT-1),碳脱水酶9等,然而,他们仅适用于一些特定组织来源的肿瘤(如口腔鳞状细胞癌、宫颈癌、乳腺癌等),并不适合大多数肿瘤^[14,15]。

检测肿瘤缺氧的影像学方法包括:磁共振(magnetic resonance, MR),正电子发射断层扫描(positron emission tomography, PET),单光子发

射体层显像(single photon emission computerized tomography, SPECT),此外,近红外线光谱法(near-infrared spectroscopy, NIRS)及电子顺磁共振光谱法(electron paramagnetic resonance, EPR)正处于实验研究阶段。传统磁共振成像技术可以监测组织的灌流,但不能提示组织中氧的水平 and 分子-基因学改变。核磁共振波谱法能探测组织内乳酸盐的堆积、ATP的减少及pH值的变化,但其敏感性和空间分辨率较差^[16]。与磁共振相比, PET检测组织氧含量具有更高的敏感性和准确性。采用¹⁵O₂吸入PET检查,可以评估组织氧合水平、局部氧释放分数以及代谢率等,已经成为非侵入性检测组织氧水平的“金标准”。由于¹⁵O₂半衰期较短(小于2 min)及费用昂贵,限制了该手段在临床中的应用^[17]。临床中常应用一些物质的卤化示踪剂来进行PET扫描,这些复合物在低氧环境中被还原,进而与细胞内外的分子共价结合,用以检测肿瘤内的缺氧状态。最常用的为¹⁸F标记的甲氧甲基硝基咪唑乙醇(¹⁸F-FMISO)^[18]。其他如¹⁸F-FETNIM^[19]、¹⁸F-EF5^[20]、¹⁸F-FAZA^[21]、¹⁸F-FETA^[22]等也有应用的报道,但前者多局限于头颈部肿瘤的研究,后者尚处于实验研究阶段。

3 缺氧诱导因子和肿瘤

缺氧诱导因子(hypoxia-inducible factor, HIF)是肿瘤缺氧反应中关键性因子,也是调节肿瘤新生血管生成、能量代谢、细胞增殖、浸润和转移等相关基因的上游转录调节蛋白^[23,24]。肿瘤细胞通过激活HIF信号通路并利用缺氧诱导反应,导致肿瘤恶性程度的增加和肿瘤生物学行为的改变。到目前为止,已经证明的受HIF调节和控制的基因超过100余种,包括血管生成因子(VEGF, ANG-1, ANG-2, VEGFR, IGF-2),能量代谢相关因子(ALDA, GLUT-1, GLUT-3, LDHA, PFK1, ENO1),细胞增殖相关因子(cyclin D1)等^[7]。这些基因都是影响肿瘤生存和生长的关键要素^[2,23],决定着肿瘤发生、生长、转移和对放化疗耐受^[25]。因此,下调HIF的基因表达、或促进他的降解、抑制他的调节功能等,可以阻断肿瘤生长所必需的缺氧诱导反应,达到抑制肿瘤生长的效果^[7]。

4 缺氧诱导因子的成员和分子作用机制

HIF是由 α 和 β 亚单位组成的异构二聚体,在低氧条件下HIF与靶基因的缺氧反应元件(HRE)结合

而调节上述基因的表达^[26]。在有氧条件下, HIF α 亚单位内特异的氨基酸残基转录后羟基化, 与VHL蛋白的E3泛素连接酶复合体相互反应, 被蛋白酶降解, 而失去活性^[27]。HIF-1 α 是最早被认识的HIF异构体^[28], 在寻找HIF家族新成员或与HIF-1 β (ARNT)相互反应的亚单位时发现了HIF-2 α 和HIF-3 α 。HIF-3 α 与其他二者关系较疏, 在按一定的顺序组合时他编码一种能拮抗HRE依赖性基因表达的多肽。然而, HIF-1 α 和HIF-2 α 密切相关, 均能活化HRE依赖性基因的转录^[29]。HIF-2 α (也称为EPAS1)与HIF-1 α 有48%的同源氨基酸序列, 分子结构相似, 包含bHLH、PAS和ODD结构。HIF-2 α 与HIF-1 α 在缺氧环境下的稳定以及转录激活方式很相似, 都能与ARNT形成异构二聚体并调节基因的表达^[7]。但是其不同之处正在不断被人们发现^[26]。比如HIF-1 α 在缺氧环境中的稳定是短暂的, 在持续缺氧情况下HIF-1 α 的含量会逐渐减少直至消失。相反, HIF-2 α 的含量则在缺氧的一段时期内持续增加, 缺氧诱导基因如VEGF在缺氧早期主要由HIF-1 α 激活, 而在之后的时间内主要由HIF-2 α 激活^[30]。HIF-1 α 与HIF-2 α 在很多人类肿瘤组织中表达, 但二者的表达有一定差异^[31]。在肿瘤组织以及非肿瘤组织中氧分压较高的条件下, HIF-2 α 均比HIF-1 α 更能稳定表达^[26]。另外, 与HIF-1 α 不同, HIF-2 α 仅能在特定细胞内表达, 包括肝细胞^[32]。这些不同的特点决定HIF-1 α 和HIF-2 α 在肿瘤缺氧诱导反应中具有不同的功能。在肝细胞肝癌中, 尽管二者都呈阳性表达, HIF-2 α 与患者的预后关系更加密切^[31,33]。

5 缺氧对肿瘤生长的影响

当组织内氧浓度 $<1\%$ ($PO_2 < 7$ mmHg)时, 能抑制细胞增殖、促进其分化并诱导细胞发生坏死和凋亡。另一方面, 缺氧作为应激因素, 使肿瘤内部分细胞发生适应性改变, 他们通过改变相关基因(HIF-1 α 、AP-1、NF- κ B)的表达获得更有侵袭性的表型, 细胞的侵袭、增殖和抵御凋亡的能力增加, 从而促使其更易发生局部、远处转移及对治疗的抵抗^[8]。缺氧同样会促进肿瘤新生血管生成。其机制为缺氧能够上调多种促血管生成因子如VEGF、血小板源性生长因子-B(platelet-derived growth factor-B, PDGF-B)、TGF- β 、胰岛素样生长因子-2及表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)等, 同时下调血管生成抑制因子如angiostatin、endostatin、

16 kDa催乳素及白血病抑制因子等。研究表明, 缺氧能活化VEGF基因转录并增加VEGF mRNA的稳定性^[34]。此外, 缺氧还能通过上调MMP-9^[5]、下调细胞间黏附分子^[35]的表达来促进肿瘤的转移。当组织内氧浓度 $<0.1\%$ ($PO_2 < 0.7$ mmHg)时, 肿瘤细胞基因组变得不稳定, 选择压力增加, 促进细胞的恶性筛选。缺氧导致肿瘤细胞遗传不稳定性的机制为促使双微体融合并重组于脆性位点上^[36]; 增加细胞内核酸内切酶的活性。为适应这种极度缺氧的环境, 肿瘤细胞的侵袭性增加, 进展迅速, 又加剧了肿瘤的缺氧, 如此形成恶性循环。

6 缺氧增加肿瘤的放化疗耐受

现已证实, 缺氧是实体肿瘤对放疗、化疗产生耐受性的重要原因之一。缺氧能诱导肿瘤多耐药基因(multidrug resistance-1, MDR-1)的表达, 增加肿瘤细胞对化疗药物的抵抗性^[37]。缺氧能改变肿瘤细胞的周期, 使多数肿瘤细胞停滞于G₁期, 对化疗药物不敏感; 缺氧还可减少肿瘤细胞内拓扑异构酶II的表达, 造成拓扑异构酶代谢的化疗药物的耐药^[38]。如前所述, 肿瘤内不能及时、有效的建立新生血管网, 或新生血管网的结构和功能异常, 导致肿瘤细胞与化疗药物接触的机会减少。同时, 缺氧导致肿瘤细胞产生凋亡抑制, 而诱导细胞凋亡是化疗药物发挥重要作用的重要机制之一, 因此缺氧能增加肿瘤细胞的化疗耐药。Williams等比较了HIF-1 β 缺陷型与正常野生型肿瘤的放疗反应性, 发现前者对放疗的敏感性明显增加, 因此他们总结缺氧增加肿瘤放疗耐受的机制为: 自由基造成肿瘤细胞DNA损伤的“固定化”; 缺氧/HIF-1诱导多种基因表达而造成细胞对放疗的耐受^[39]。

7 针对缺氧微环境的肿瘤治疗策略

多数实体肿瘤内部存在缺氧微环境和HIF及其相关下游基因的表达, 并且与预后密切相关^[40]。一些学者针对肿瘤的上述生物学特征, 对肿瘤的治疗进行了有益探索, 包括阻断肿瘤的缺氧诱导通路、利用缺氧微环境将无活性的药物前体转化为细胞毒性药物、改变HIF的上、下游基因的表达等。

Yang等将酪氨酸激酶抑制剂PTK787与缺氧联合治疗大鼠原位肝癌, 发现与单独缺氧相比, 联合治疗通过抑制肿瘤细胞增殖、迁移、诱导肿瘤细胞坏死和凋亡以及抑制内皮细胞运动和

■相关报道

Urano等使用荧光探针检测肿瘤内氧含量, 该方法具有灵敏(可在局部氧分压较低时应用)、高效(多通道同时测量)、可在特定位置重复测量(便于观察对比治疗效果)等优点。

■同行评价

本文选题先进, 针对肿瘤缺氧微环境的病理生理特点, 探索肿瘤新的治疗方式, 具有新颖性和科学性, 前沿性。

血管生成, 显著缩小了肿瘤体积、延长了大鼠的生存期^[41]。Zhao等采用RNA干扰技术减少视网膜色素上皮细胞内HIF-1 α 的表达, 发现能有效抑制共培养的脉络膜微血管内皮细胞的增殖、迁移和血管形成^[42]。葱醌AQ4N是需缺氧环境活化的药物前体, 一期临床试验显示出良好的耐受性^[43]。他对多种移植瘤内的低氧细胞均有抑制作用, 他在体内经双电子还原途径转化为AQ4, 后者为DNA嵌入剂/拓扑异构酶II抑制剂, 作用于分裂期细胞, 但由于其半衰期较长, 对低氧环境中的细胞亦可能有作用^[44]。其他需缺氧环境活化的药物前体包括SN23862、indoloquinones和cobalt(III)复合物等^[23]。Mx1是c-myc的拮抗剂, 为HIF的下游基因, 通过shRNA沉默Mx1基因能抑制裸鼠786-0肿瘤的生长, 并且主要是通过抑制细胞增殖来实现的^[45]。

8 作者在本领域的研究成果

作者和研究小组自2000年始, 针对肿瘤的缺氧微环境进行了系列研究。采用反义基因技术阻断HIF-1 α 的表达能增强B7-1免疫基因治疗对EL-4淋巴瘤的疗效。其机制为下调VEGF的表达, 减少肿瘤的MVD, 同时诱导NK细胞对肿瘤细胞的杀伤作用, 增强小鼠的T细胞免疫功能^[46]。von Hippel-Lindau蛋白(pVHL)与HIF的 α 亚单位结合, 调节其泛素化, 促进HIF-1 α 的降解, 肿瘤内VHL功能的缺失能导致HIF-1 α 过表达, 并造成血管生成增多^[47]。我们构建编码VHL表达载体, 并与反义HIF-1 α 的表达载体联合, 显著减少了肿瘤内血管密度, 促进肿瘤细胞的凋亡, 下调HIF-1 α 和VEGF的表达, 达到了根除肿瘤的效果^[48,49]。最近发现阻断肿瘤HIF-1的表达可以提高抗肿瘤新生血管生成治疗的疗效^[50]。

近年来, 针对肝癌对化疗极其不敏感的特点, 针对肿瘤HIF探索提高肝癌化疗的新途径。作为目前最有效的化疗药物之一, 多柔比星仅对4%-10.5%肝癌患者有效^[51]。研究发现反义HIF基因治疗提高了多柔比星治疗肝癌的效果, 抑制了新生血管生成和细胞增殖, 促进了肿瘤细胞的凋亡^[52]。肝动脉插管化疗(transcatheter arterial chemoembolization, TAE)是治疗肝癌的主要非手术方法之一。但是国内外多项大宗病例分析发现TAE治疗肝癌的效果短暂, 主要原因在于栓塞后肿瘤很快形成新的侧支循环^[53,54]。TAE治疗后残存肿瘤及周围肝脏组织中HIF-1 α 和VEGF的表达明显上调。因此我们联合TAE和

针对HIF的基因治疗弥补了TAE的缺点, 肿瘤体积明显小于TAE单独治疗的肿瘤。研究中发现, 阻断HIF的表达可以下调VEGF、GLUT、LDHA和PCNA的表达^[55]。

9 结论

实体肿瘤普遍存在缺氧微环境, 缺氧对肿瘤的生长、进展发挥十分重要且复杂的作用, 目前尚缺乏简单、有效评估肿瘤缺氧程度的手段, 肿瘤缺氧信号通路是一个受多因素调控的复杂网络, 如何阻断该信号通路, 并通过该通路寻找新的治疗策略、提高癌症治疗效果, 是将来努力的方向。

10 参考文献

- 1 Carmeliet P, Jain RK. Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature* 2000; 407: 249-257
- 2 Harris AL. Hypoxia--a key regulatory factor in tumour growth. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 38-47
- 3 Gordan JD, Simon MC. Hypoxia-inducible factors: central regulators of the tumor phenotype. *Curr Opin Genet Dev* 2007; 17: 71-77
- 4 Semenza GL. Targeting HIF-1 for cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 721-732
- 5 Gort EH, Groot AJ, van der Wall E, van Diest PJ, Vooijs MA. Hypoxic regulation of metastasis via hypoxia-inducible factors. *Curr Mol Med* 2008; 8: 60-67
- 6 Löfstedt T, Fredlund E, Holmquist-Mengelbier L, Pietras A, Ovenberger M, Poellinger L, Pahlman S. Hypoxia inducible factor-2 α in cancer. *Cell Cycle* 2007; 6: 919-926
- 7 Rankin EB, Giaccia AJ. The role of hypoxia-inducible factors in tumorigenesis. *Cell Death Differ* 2008; 15: 678-685
- 8 Vaupel P. Hypoxia and aggressive tumor phenotype: implications for therapy and prognosis. *Oncologist* 2008; 13 Suppl 3: 21-26
- 9 Davda S, Bezabeh T. Advances in methods for assessing tumor hypoxia in vivo: implications for treatment planning. *Cancer Metastasis Rev* 2006; 25: 469-480
- 10 Nordmark M, Overgaard M, Overgaard J. Pretreatment oxygenation predicts radiation response in advanced squamous cell carcinoma of the head and neck. *Radiother Oncol* 1996; 41: 31-39
- 11 Brizel DM, Scully SP, Harrelson JM, Layfield LJ, Bean JM, Prosnitz LR, Dewhirst MW. Tumor oxygenation predicts for the likelihood of distant metastases in human soft tissue sarcoma. *Cancer Res* 1996; 56: 941-943
- 12 Urano M, Chen Y, Humm J, Koutcher JA, Zanzonico P, Ling C. Measurements of tumor tissue oxygen tension using a time-resolved luminescence-based optical oxylite probe: comparison with a paired survival assay. *Radiat Res* 2002; 158: 167-173
- 13 Serganova I, Humm J, Ling C, Blasberg R. Tumor hypoxia imaging. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 5260-5264
- 14 Lancaster JA, Harris AL, Davidson SE, Logue JP, Hunter RD, Wycoff CC, Pastorek J, Ratcliffe PJ, Stratford IJ, West CM. Carbonic anhydrase (CA

- IX) expression, a potential new intrinsic marker of hypoxia: correlations with tumor oxygen measurements and prognosis in locally advanced carcinoma of the cervix. *Cancer Res* 2001; 61: 6394-6399
- 15 Colpaert CG, Vermeulen PB, Fox SB, Harris AL, Dirix LY, Van Marck EA. The presence of a fibrotic focus in invasive breast carcinoma correlates with the expression of carbonic anhydrase IX and is a marker of hypoxia and poor prognosis. *Breast Cancer Res Treat* 2003; 81: 137-147
- 16 Gillies RJ, Raghunand N, Karczmar GS, Bhujwalla ZM. MRI of the tumor microenvironment. *J Magn Reson Imaging* 2002; 16: 430-450
- 17 Gupta AK, Hutchinson PJ, Fryer T, Al-Rawi PG, Parry DA, Minhas PS, Kett-White R, Kirkpatrick PJ, Mathews JC, Downey S, Aigbirhio F, Clark J, Pickard JD, Menon DK. Measurement of brain tissue oxygenation performed using positron emission tomography scanning to validate a novel monitoring method. *J Neurosurg* 2002; 96: 263-268
- 18 Rasey JS, Koh WJ, Evans ML, Peterson LM, Lewellen TK, Graham MM, Krohn KA. Quantifying regional hypoxia in human tumors with positron emission tomography of [18F]fluoromisonidazole: a pretherapy study of 37 patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1996; 36: 417-428
- 19 Lehtiö K, Eskola O, Viljanen T, Oikonen V, Grönroos T, Sillanmäki L, Grénman R, Minn H. Imaging perfusion and hypoxia with PET to predict radiotherapy response in head-and-neck cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004; 59: 971-982
- 20 Evans SM, Kachur AV, Shiue CY, Hustinx R, Jenkins WT, Shive GG, Karp JS, Alavi A, Lord EM, Dolbier WR Jr, Koch CJ. Noninvasive detection of tumor hypoxia using the 2-nitroimidazole [18F]EF1. *J Nucl Med* 2000; 41: 327-336
- 21 Souvatzoglou M, Grosu AL, Röper B, Krause BJ, Beck R, Reischl G, Picchio M, Machulla HJ, Wester HJ, Piert M. Tumour hypoxia imaging with [18F]FAZA PET in head and neck cancer patients: a pilot study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2007; 34: 1566-1575
- 22 Barthel H, Wilson H, Collingridge DR, Brown G, Osman S, Luthra SK, Brady F, Workman P, Price PM, Aboagye EO. In vivo evaluation of [18F]fluoroetanidazole as a new marker for imaging tumour hypoxia with positron emission tomography. *Br J Cancer* 2004; 90: 2232-2242
- 23 Brown JM, Wilson WR. Exploiting tumour hypoxia in cancer treatment. *Nat Rev Cancer* 2004; 4: 437-447
- 24 Büchler P, Reber HA, Büchler MW, Friess H, Lavey RS, Hines OJ. Antiangiogenic activity of genistein in pancreatic carcinoma cells is mediated by the inhibition of hypoxia-inducible factor-1 and the down-regulation of VEGF gene expression. *Cancer* 2004; 100: 201-210
- 25 Ratcliffe PJ, Pugh CW, Maxwell PH. Targeting tumors through the HIF system. *Nat Med* 2000; 6: 1315-1316
- 26 Ratcliffe PJ. HIF-1 and HIF-2: working alone or together in hypoxia? *J Clin Invest* 2007; 117: 862-865
- 27 Schofield CJ, Ratcliffe PJ. Oxygen sensing by HIF hydroxylases. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004; 5: 343-354
- 28 Wang GL, Jiang BH, Rue EA, Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92: 5510-5514
- 29 Wenger RH. Cellular adaptation to hypoxia: O₂-sensing protein hydroxylases, hypoxia-inducible transcription factors, and O₂-regulated gene expression. *FASEB J* 2002; 16: 1151-1162
- 30 Holmquist-Mengelbier L, Fredlund E, Löfstedt T, Noguera R, Navarro S, Nilsson H, Pietras A, Vallon-Christersson J, Borg A, Gradin K, Poellinger L, Pahlman S. Recruitment of HIF-1alpha and HIF-2alpha to common target genes is differentially regulated in neuroblastoma: HIF-2alpha promotes an aggressive phenotype. *Cancer Cell* 2006; 10: 413-423
- 31 Talks KL, Turley H, Gatter KC, Maxwell PH, Pugh CW, Ratcliffe PJ, Harris AL. The expression and distribution of the hypoxia-inducible factors HIF-1alpha and HIF-2alpha in normal human tissues, cancers, and tumor-associated macrophages. *Am J Pathol* 2000; 157: 411-421
- 32 Wiesener MS, Jürgensen JS, Rosenberger C, Scholze CK, Hörstrup JH, Warnecke C, Mandriota S, Bechmann I, Frei UA, Pugh CW, Ratcliffe PJ, Bachmann S, Maxwell PH, Eckardt KU. Widespread hypoxia-inducible expression of HIF-2alpha in distinct cell populations of different organs. *FASEB J* 2003; 17: 271-273
- 33 Bangoura G, Liu ZS, Qian Q, Jiang CQ, Yang GF, Jing S. Prognostic significance of HIF-2alpha/EPAS1 expression in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 3176-3182
- 34 von Marschall Z, Cramer T, Höcker M, Finkenzeller G, Wiedenmann B, Rosewicz S. Dual mechanism of vascular endothelial growth factor upregulation by hypoxia in human hepatocellular carcinoma. *Gut* 2001; 48: 87-96
- 35 Czekay RP, Aertgeerts K, Curriden SA, Loskutoff DJ. Plasminogen activator inhibitor-1 detaches cells from extracellular matrices by inactivating integrins. *J Cell Biol* 2003; 160: 781-791
- 36 Coquelle A, Toledo F, Stern S, Bieth A, Debatisse M. A new role for hypoxia in tumor progression: induction of fragile site triggering genomic rearrangements and formation of complex DMs and HSRs. *Mol Cell* 1998; 2: 259-265
- 37 Comerford KM, Wallace TJ, Karhausen J, Louis NA, Montalto MC, Colgan SP. Hypoxia-inducible factor-1-dependent regulation of the multidrug resistance (MDR1) gene. *Cancer Res* 2002; 62: 3387-3394
- 38 Ogiso Y, Tomida A, Lei S, Omura S, Tsuruo T. Proteasome inhibition circumvents solid tumor resistance to topoisomerase II-directed drugs. *Cancer Res* 2000; 60: 2429-2434
- 39 Williams KJ, Telfer BA, Xenaki D, Sheridan MR, Desbaillets I, Peters HJ, Honess D, Harris AL, Dachs GU, van der Kogel A, Stratford IJ. Enhanced response to radiotherapy in tumours deficient in the function of hypoxia-inducible factor-1. *Radiother Oncol* 2005; 75: 89-98
- 40 Kimura S, Kitadai Y, Tanaka S, Kuwai T, Hihara J, Yoshida K, Toge T, Chayama K. Expression of hypoxia-inducible factor (HIF)-1alpha is associated with vascular endothelial growth factor expression and tumour angiogenesis in human oesophageal squamous cell carcinoma. *Eur J Cancer* 2004; 40: 1904-1912
- 41 Yang ZF, Poon RT, Liu Y, Lau CK, Ho DW, Tam KH, Lam CT, Fan ST. High doses of tyrosine kinase inhibitor PTK787 enhance the efficacy of ischemic hypoxia for the treatment of hepatocellular carcinoma: dual effects on cancer cell and

- angiogenesis. *Mol Cancer Ther* 2006; 5: 2261-2270
- 42 Zhao W, Wang YS, Hui YN, Zhu J, Zhang P, Li X, Dou GR. Inhibition of proliferation, migration and tube formation of choroidal microvascular endothelial cells by targeting HIF-1alpha with short hairpin RNA-expressing plasmid DNA in human RPE cells in a coculture system. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2008; 246: 1413-1422
 - 43 Papadopoulos KP, Goel S, Beeram M, Wong A, Desai K, Haigentz M, Milián ML, Mani S, Tolcher A, Lalani AS, Sarantopoulos J. A phase 1 open-label, accelerated dose-escalation study of the hypoxia-activated prodrug AQ4N in patients with advanced malignancies. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 7110-7115
 - 44 Patterson LH, McKeown SR. AQ4N: a new approach to hypoxia-activated cancer chemotherapy. *Br J Cancer* 2000; 83: 1589-1593
 - 45 Tsao CC, Teh BT, Jonasch E, Shreiber-Agus N, Efstathiou E, Hoang A, Czerniak B, Logothetis C, Corn PG. Inhibition of Mxi1 suppresses HIF-2alpha-dependent renal cancer tumorigenesis. *Cancer Biol Ther* 2008; 7: 1619-1627
 - 46 Sun X, Kanwar JR, Leung E, Lehnert K, Wang D, Krissansen GW. Gene transfer of antisense hypoxia inducible factor-1 alpha enhances the therapeutic efficacy of cancer immunotherapy. *Gene Ther* 2001; 8: 638-6454
 - 47 Ohh M, Park CW, Ivan M, Hoffman MA, Kim TY, Huang LE, Pavletich N, Chau V, Kaelin WG. Ubiquitination of hypoxia-inducible factor requires direct binding to the beta-domain of the von Hippel-Lindau protein. *Nat Cell Biol* 2000; 2: 423-427
 - 48 Sun X, Kanwar JR, Leung E, Vale M, Krissansen GW. Regression of solid tumors by engineered overexpression of von Hippel-Lindau tumor suppressor protein and antisense hypoxia-inducible factor-1alpha. *Gene Ther* 2003; 10: 2081-2089
 - 49 Sun X, Liu M, Wei Y, Liu F, Zhi X, Xu R, Krissansen GW. Overexpression of von Hippel-Lindau tumor suppressor protein and antisense HIF-1alpha eradicates gliomas. *Cancer Gene Ther* 2006; 13: 428-435
 - 50 Sun X, Vale M, Jiang X, Gupta R, Krissansen GW. Antisense HIF-1alpha prevents acquired tumor resistance to angiostatin gene therapy. *Cancer Gene Ther* 2010 Mar 26. [Epub ahead of print]
 - 51 Zhu AX. Systemic therapy of advanced hepatocellular carcinoma: how hopeful should we be? *Oncologist* 2006; 11: 790-800
 - 52 Liu F, Wang P, Jiang X, Tan G, Qiao H, Jiang H, Krissansen GW, Sun X. Antisense hypoxia-inducible factor 1alpha gene therapy enhances the therapeutic efficacy of doxorubicin to combat hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci* 2008; 99: 2055-2061
 - 53 Llovet JM, Bruix J. Systematic review of randomized trials for unresectable hepatocellular carcinoma: Chemoembolization improves survival. *Hepatology* 2003; 37: 429-442
 - 54 Llovet JM, Real MI, Montaña X, Planas R, Coll S, Aponte J, Ayuso C, Sala M, Muchart J, Solà R, Rodés J, Bruix J. Arterial embolisation or chemoembolisation versus symptomatic treatment in patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised controlled trial. *Lancet* 2002; 359: 1734-1739
 - 55 Sun X, Jiang H, Jiang X, Tan H, Meng Q, Sun B, Xu R, Krissansen GW. Antisense hypoxia-inducible factor-1alpha augments transcatheter arterial embolization in the treatment of hepatocellular carcinomas in rats. *Hum Gene Ther* 2009; 20: 314-324

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》按时完成2009年度出版任务

本刊讯 2009-12-28,《世界华人消化杂志》按时完成2009年1-36期的出版任务,出版各类文章774篇,全部经过同行专家评议。其中评论性文章158篇(20.41%),原创性文章237篇(30.62%),研究快报91篇(11.76%),临床经验253篇(32.69%),病例报告13篇(1.68%),会议纪要2篇(0.26%)。

2010年,《世界华人消化杂志》将坚持开放获取(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。

SOCS-1在内毒素血症及耐受小鼠肝组织中的表达变化及意义

陈先锋, 李旭宏, 游海波, 刘海忠, 刘作金, 龚建平

陈先锋, 重庆医科大学附属涪陵医院肝胆外科 重庆市 408000

李旭宏, 游海波, 刘海忠, 刘作金, 龚建平, 重庆医科大学附属第二医院肝胆外科 重庆市 400010

陈先锋, 重庆医科大学外科学硕士, 主要从事感染信号传导机制研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30471696, No. 30500473

作者贡献分布: 本课题由龚建平设计, 研究过程由陈先锋、李旭宏、游海波、刘海忠及刘作金操作完成; 数据分析及论文写作由陈先锋完成。

通讯作者: 龚建平, 教授, 400010, 重庆市渝中区临江路74号, 重庆医科大学附属第二医院肝胆外科。

gongjianping11@hotmail.com

电话: 023-63036701

收稿日期: 2010-03-13 修回日期: 2010-05-08

接受日期: 2010-05-18 在线出版日期: 2010-06-18

Significance of SOCS-1 expression changes in the liver of endotoxemic mice and endotoxin-tolerant mice

Xian-Feng Chen, Xu-Hong Li, Hai-Bo You, Hai-Zhong Liu, Zuo-Jin Liu, Jian-Ping Gong

Xian-Feng Chen, Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Fuling Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 408000, China

Xu-Hong Li, Hai-Bo You, Hai-Zhong Liu, Zuo-Jin Liu, Jian-Ping Gong, Department of Hepatobiliary Surgery, the 2nd Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30471696, No. 30500473

Correspondence to: Professor Jian-Ping Gong, Department of Hepatobiliary Surgery, the 2nd Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, 74 Linjiang Road, Yuzhong District, Chongqing 400010, China. gongjianping11@hotmail.com

Received: 2010-03-13 Revised: 2010-05-08

Accepted: 2010-05-18 Published online: 2010-06-18

Abstract

AIM: To investigate SOCS-1 (suppressor of cytokine signaling-1) expression changes in the liver of endotoxemic mice and endotoxin-tolerant mice and to explore the relationship between SOCS-1 expression and endotoxin tolerance.

METHODS: The mouse models of endotoxemia and endotoxin tolerance were established by

lipopolysaccharide (LPS) pretreatment. At different time points after LPS pretreatment, the level of serum TNF- α was detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), the expression levels of TNF- α and SOCS-1 mRNAs in the liver were detected by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR), the pathological and ultrastructural changes in liver tissue were observed, and SOCS-1 protein expression in liver tissue was detected by immunohistochemistry.

RESULTS: After LPS stimulation, the levels of serum TNF- α and hepatic TNF- α and SOCS-1 mRNAs began to increase at 1 h, peaked at 3 h, and then decreased gradually to the normal level. In contrast, serum TNF- α and hepatic TNF- α mRNA levels showed no significant changes in mice treated with PBS. No SOCS-1 mRNA expression was detected in control mice ($P < 0.01$). At 3 h, serum TNF- α and hepatic TNF- α mRNA levels were significantly lower in endotoxin-tolerant mice than in endotoxin-intolerant mice ($693.38 \text{ ng/L} \pm 95.2 \text{ ng/L}$ vs $1110.24 \text{ ng/L} \pm 164.33 \text{ ng/L}$, $P < 0.01$; 97.96 ± 19.67 vs 139.14 ± 31.17 , $P < 0.05$), while hepatic SOCS-1 mRNA level was significantly higher in endotoxin-tolerant mice than in endotoxin-intolerant mice (91.58 ± 12.94 vs 52.82 ± 6.96 , $P < 0.01$). Pathological and histological changes in the liver of endotoxemic mice included fatty degeneration and necrosis, while the major ultrastructural change was presence of activated Kupffer cells whose phagocytic function was enhanced. Hepatic SOCS-1 protein expression could be detected by immunohistochemistry.

CONCLUSION: SOCS-1 mRNA expression in liver tissue is enhanced markedly in endotoxin-tolerant mice. Close associations are noted among hepatic SOCS-1 mRNA expression, Kupffer cell activation and endotoxin tolerance.

Key Words: Lipopolysaccharide; Endotoxin tolerance; Suppressor of cytokine signaling-1; Kupffer cell

Chen XF, Li XH, You HB, Liu HZ, Liu ZJ, Gong JP.

■背景资料

内毒素又名脂多糖, 是G⁻菌的主要致病成分, 临床上常见的严重创伤、烧伤、感染、休克、外科大手术等常导致肠道内G⁻细菌过度生长繁殖, 从而产生大量的内毒素, 进而造成多器官功能损害; 而内毒素耐受是生物在长期进化过程中形成的一种负反馈调节机制, 可以避免机体产生对内毒素持续过度的反应, 其调节机制极其复杂。

■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

■研究前沿

SOCS-1主要在单核巨噬细胞系统中表达, Kupffer细胞是机体中最大的巨噬细胞群, 目前就SOCS-1如何参与内毒素耐受的形成和调节相关文献报道较少。

Significance of SOCS-1 expression changes in the liver of endotoxemic mice and endotoxin-tolerant mice. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2010; 18(17): 1747-1755

摘要

目的: 观察内毒素血症及内毒素耐受模型小鼠对LPS刺激的反应性, 以及肝组织中SOCS-1表达的变化, 试图从机体水平探讨SOCS-1与内毒素耐受状态之间的关系。

方法: 通过脂多糖(LPS)预处理建立内毒素血症及内毒素耐受动物模型, 并与对照组进行比较。分时段用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测细胞培养液中TNF- α 水平, 逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)检测肝组织中TNF- α mRNA的表达水平以及肝组织中SOCS-1 mRNA的表达, 并观察肝组织病理改变及超微结构改变, 免疫组织化学检测SOCS-1在肝脏的表达。

结果: 在LPS刺激后, LPS组血清TNF- α 水平、TNF- α mRNA、SOCS-1 mRNA均在1 h开始升高, 至3 h时达到峰值, 随后又逐渐下降至正常水平; PBS组血清TNF- α 水平及TNF- α mRNA表达几乎没有明显变化, 且无SOCS-1 mRNA表达, 与LPS组比较有统计学意义($P<0.01$); 但是耐受组(ETT)的3 h血清TNF- α 水平较非耐受组(NETT)低($693.38 \text{ ng/L} \pm 95.2 \text{ ng/L}$ vs $1110.24 \text{ ng/L} \pm 164.33 \text{ ng/L}$, $P<0.01$); 3 h肝组织TNF- α mRNA表达峰值较NETT组低(97.96 ± 19.67 vs 139.14 ± 31.17 , $P<0.05$); 而肝组织SOCS-1 mRNA表达峰值较NETT组高(91.58 ± 12.94 vs 52.82 ± 6.96 , $P<0.01$); 肝组织可见脂肪变性、坏死等病理改变, 超微结构表现为Kupffer细胞激活, 吞噬功能增强; 免疫组织化学可见肝组织中SOCS-1的表达。

结论: 内毒素耐受状态下, 肝组织中的SOCS-1 mRNA表达却明显增强, 肝组织中的SOCS-1 mRNA表达、Kupffer细胞的激活以及机体的内毒素耐受状态三者间可能有着紧密的联系。

关键词: 脂多糖; 内毒素耐受; 细胞因子信号传导抑制因子-1; Kupffer细胞

陈先锋, 李旭宏, 游海波, 刘海忠, 刘作金, 龚建平. SOCS-1在内毒素血症及耐受小鼠肝组织中的表达变化及意义. 世界华人消化杂志 2010; 18(17): 1747-1755

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1747.asp>

0 引言

临床上常见的严重创伤、烧伤、感染、休克、外

科大手术等常导致肠道内G⁻细菌过度生长繁殖, 产生大量的内毒素(又名脂多糖, lipopolysaccharide, LPS), 加上肠壁通透性增高, 导致经门静脉吸收的内毒素增多, 从而造成不同程度的肠源性内毒素血症(intestinal endotoxemia, IETM)^[1,2]. 肠源性感染导致内毒素移位首先攻击肝脏, 而肝脏又是体内内毒素的主要清除器官^[3]. 因此, 肝脏对内毒素的反应直接关系到整个机体对内毒素的反应, 而Kupffer细胞(Kupffer cells, KCs)是肝脏主要起清除作用的细胞, 在机体防御特别是防御来自肠道内的细菌、病毒和毒素发挥着重要的作用^[4,5]. 然而, 机体对内毒素的反应轻重不一, 表明机体存在一种耐受机制, 已知内毒素耐受(endotoxin tolerance, ET)是细胞或机体经过低剂量LPS刺激后, 对更大剂量LPS的再次刺激呈低反应性或无反应的一种状态^[6-8]. 研究表明, LPS刺激巨噬细胞产生炎症介质肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、白介素6(interleukin 6, IL-6)等^[9,10], 同时, 在这些炎症介质的诱导下, 促使巨噬细胞又产生一种名为细胞因子信号传导抑制因子(suppressor of cytokine signaling, SOCS)的细胞因子^[11-13], SOCS家族现有8个成员, 其中SOCS-1可通过与JAKs结合, 从而抑制下游的信号传导^[14]. 因此推测SOCS-1可能与内毒素耐受的产生有关. 鉴于SOCS-1在单核-巨噬细胞系统表达的特异性, 肝脏中的KCs又是体内最大的巨噬细胞群^[15,16], 因此, 本实验通过诱导昆明小鼠产生内毒素耐受, 观察LPS刺激后小鼠肝组织中SOCS-1基因的表达情况, 从而从动物水平阐明SOCS-1与内毒素耐受的关系, 为下一步细胞实验提供实验基础。

1 材料和方法

1.1 材料 健康清洁级成年昆明小鼠, 体质量20-25 g, 购自重庆医科大学实验动物中心. 所有动物均达到了由重庆医科大学实验动物管理委员会制定的实验动物管理要求. LPS(*E.coli* O111:B4)购自美国Sigma公司. SOCS-1山羊多克隆抗体购自美国Santa Cruz公司. SA-1023即用型免疫组织化学染色试剂盒购自武汉博士德公司. 小鼠TNF- α ELISA试剂盒购自武汉博士德. 小量组织/细胞总RNA快速抽提纯化试剂盒购自上海华舜公司. 两步法RT-PCR试剂盒购自大连TaKaRa公司. PCR引物由上海鼎安生物科技有限公司设计并合成。

1.2 方法

1.2.1 分组及造模: (1)内毒素血症模型: 将昆明

小鼠66只随机分为2组($n = 30$): 内毒素血症组(LPS组), 以5 mg/kg的LPS腹腔注射建立内毒素血症模型; PBS组, 以等体积的0.01 mol/L PBS液注射。各组动物分别于注射后1 h、3 h、6 h、12 h、24 h活杀取材, 每组每时点选动物6只, 另外6只小鼠作为0时点。(2)内毒素耐受模型: 将昆明小鼠72只随机分为2组($n = 36$): 非耐受组(NETT组), 先腹腔注射等体积0.01 mol/L PBS液, 24 h后注射5 mg/kg体质量的LPS; LPS诱导耐受组(ETT组), 先腹腔注射0.5 mg/kg的LPS, 24 h后注射5 mg/kg体质量的LPS。各组动物分别于注射后0、1、3、6、12、24 h活杀取材, 每组每时点选动物6只。

1.2.2 血清TNF- α 的含量测定: 小鼠采用眼球摘除法取血, 于4 $^{\circ}\text{C}$ 下250 g离心15 min, 取血清于-70 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。采用博士德公司的夹心法ELISA试剂盒检测, 操作步骤详见试剂盒说明书。

1.2.3 肝组织中TNF- α 及SOCS-1的mRNA表达: 取30 mg肝组织, 采用上海华舜生物工程有限公司的小量组织/细胞总RNA快速抽提纯化试剂盒, 室温离心, 离心速度均为8 000-10 000 g。RNA样品的纯度用分光光度计根据在260 nm及280 nm吸光度的比值(A_{260}/A_{280})来判断, 确保比值为1.8-2.0。电泳验证部分总RNA完整性并照相。RT-PCR反应: PCR引物由上海鼎安生物科技有限公司设计并合成, 如下所示: SOCS-1, sense 5'-GCC GAC AAT GCG ATC TCC-3', antisense 5'-GAT GCG CTG GCG ACA CA-3', 产物大小528 bp; TNF- α , sense 5'-TCT ACT GAA CTT CGG GGT GA-3', antisense 5'-AGT AGA CCT GCC CGG ACT C-3'产物大小542 bp, β -actin, sense 5'-CAT TGT GAT GGA CTC CGG AG-3', antisense 5'-ATA GTG ATG ACC TGG CCG TC -3', 产物大小300 bp, 逆转录反应条件: 30 $^{\circ}\text{C}$ 10 min, 42 $^{\circ}\text{C}$ 30 min, 99 $^{\circ}\text{C}$ 5 min, 5 $^{\circ}\text{C}$ 5 min; PCR反应条件: 94 $^{\circ}\text{C}$ 2 min, 94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 45 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 40个循环, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸5 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。反应结束后, 制备1.5%琼脂糖凝胶并取样80 V电泳30 min。在Gel Doc 2000凝胶成像系统下成像并以Bio-Image Analysis System进行半定量分析, 结果以相对吸光度值(relative absorption ratio, RA) \times 面积(mm^2)表示。mRNA相对含量 = (目的基因条带RA \times mm^2)/(β -actin条带RA \times mm^2)。

1.2.4 形态学变化的观察: 光镜标本用100 g/L甲醛固定, 石蜡包埋, 4 μm 厚连续切片并进行苏木精-伊红(HE)染色, 作组织病理学观察; 电镜标

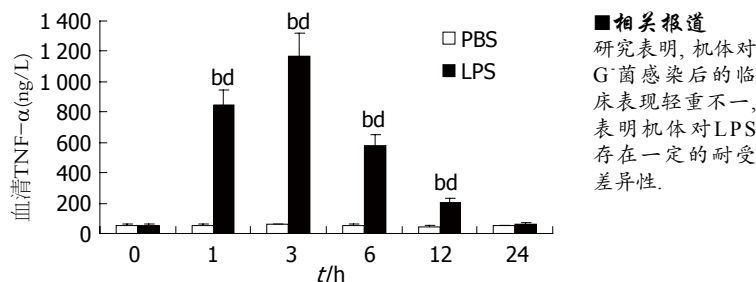


图1 LPS(5 mg/kg)和PBS(0.01 mol/L)刺激后预定时间小鼠血清TNF- α 水平的变化($n = 6$). ^b $P < 0.01$ vs PBS; ^d $P < 0.01$ vs LPS 0 h.

本用3%戊二醛固定, 常规电镜制样, 于透射电镜下观察肝脏细胞超微结构改变。

1.2.5 免疫组织化学检测肝组织中SOCS-1基因的表达: 将保存于40 g/L的多聚甲醛中的肝组织取出, 石蜡包埋, 切片(厚约4 μm); 载玻片用多聚赖氨酸(Poly-Lysine)防脱片处理, 烘干, 切片常规脱蜡至水; 参照武汉博士德公司SA-1023即用型免疫组织化学染色试剂盒说明书操作, 苏木素轻度复染, 脱水, 透明, 封片, 拍照。

统计学处理 实验所得数据以mean \pm SD表示, 采用SPSS13.0统计软件包进行统计分析, 各组间均数的比较采用方差分析, 两组间均数的比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异有显著性; $P < 0.01$ 表示差异性非常显著。

2 结果

2.1 血清TNF- α 含量的变化 观察经LPS(5 mg/kg)和PBS(0.01 mol/L)处理后预定时间小鼠血清TNF- α 含量水平的变化, PBS组在各时相的TNF- α 值几乎没有明显变化, 各时点比较, 没有显著性统计学意义($P > 0.05$); LPS组可见其TNF- α 值有一个起伏波动的变化, 在LPS刺激后1 h开始升高, 至3 h时达到峰值1 168.84 ng/L \pm 154.49 ng/L, 随后又逐渐下降, 至24 h大概降至正常水平, 其1、3、6、12 h之值与0 h比较, 统计学意义显著($P < 0.01$), 而1、3、6、12 h之值分别与PBS组对应的1、3、6、12 h之值作比较, 各组统计学意义显著($P < 0.01$, 图1)。

预先以PBS(0.01 mol/L)刺激24 h的非耐受组小鼠, 当再次给予LPS(5 mg/kg)刺激, 其3 h的血清TNF- α 平均值为1 110.24 ng/L \pm 164.33 ng/L; 而预先以LPS(0.5 mg/kg)诱导耐受的耐受组小鼠, 在诱导24 h后再次给予LPS(5 mg/kg)刺激, 其3 h的血清TNF- α 平均值为693.38 ng/L \pm 95.2 ng/L, 可见, 耐受组的血清TNF- α 值明显较非耐受组低, 两者比较统计学意义非常显著($P < 0.01$, 图2)。

■创新盘点

本实验通过诱导昆明小鼠产生内毒素耐受, 观察LPS刺激后小鼠肝组织中SOCS-1基因的表达情况, 从而从动物水平阐明SOCS-1与内毒素耐受的关系, 为下一步细胞实验提供实验基础。

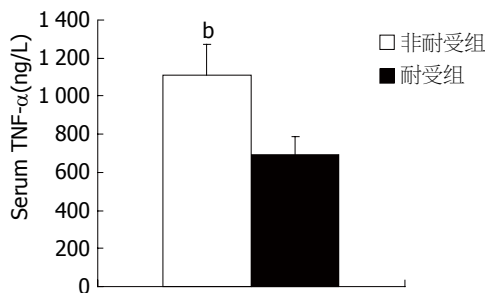


图2 LPS(5 mg/kg)再刺激3 h后非耐受组和耐受组小鼠血清TNF-α值($n=6$). ^b $P<0.01$ vs 耐受组。

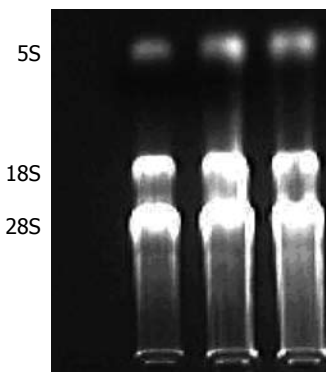


图3 总RNA完整性检测。

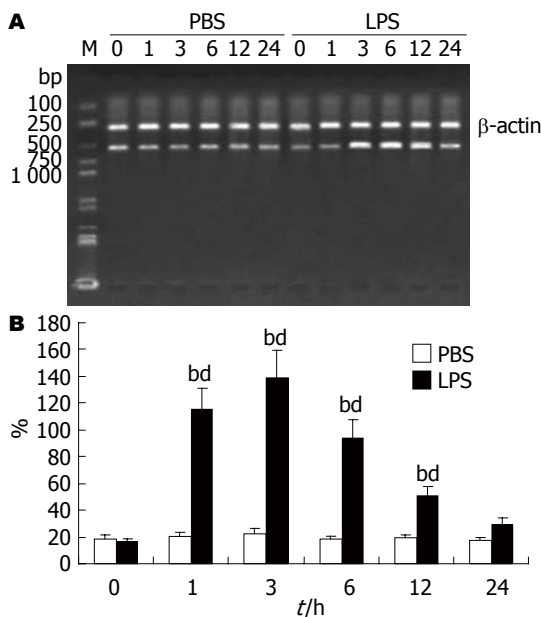


图4 半定量分析LPS(5 mg/kg)和PBS(0.01 mol/L)刺激后预定时间小鼠肝脏TNF-α mRNA的表达($n=6$). ^b $P<0.01$ LPS vs PBS; ^d $P<0.01$ vs LPS 0 h。

2.2 脂糖凝胶电泳检测总RNA完整性 总RNA呈现明显的28S、18S和5S三个条带, 证明提取的总RNA完整性良好(图3)。

2.3 肝组织中TNF-α mRNA的表达水平 TNF-α mRNA的PCR产物大小为542 bp, 半定量分析显示: PBS组TNF-α mRNA的表达在各预定时间没有显著性变化, 与其0 h比较没有显著性意义($P>0.05$); 而LPS组TNF-α mRNA的表达在1 h时表达开始增强, 3 h达到高峰, 随后又逐渐下降, 至24 h基本降至正常水平, 其1、3、6、12 h之值较0 h之值统计学意义显著($P<0.01$), 与PBS组对应的1、3、6、12 h之值比较统计学意义显著($P<0.01$, 图4); 非耐受组和耐受组的TNF-α mRNA表达在LPS(5 mg/kg)再刺激后均再次升高, 但耐受组在3 h的峰值(97.96 ± 19.67)较非耐受组(139.14 ± 31.17)明显低, 两者比较统计学意义显著($P<0.05$, 图5)。

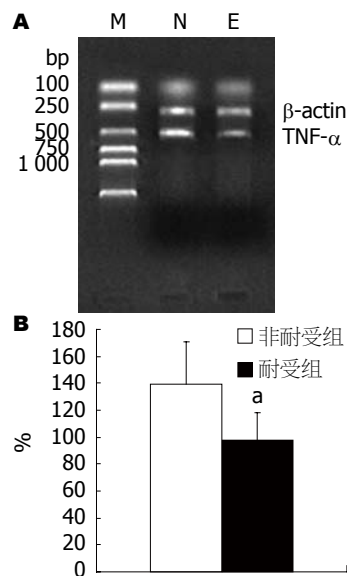


图5 半定量分析LPS(5 mg/kg)再刺激后非耐受组和耐受组小鼠3 h肝脏TNF-α mRNA的表达($n=6$). ^a $P<0.05$ vs 耐受组。M: Marker; N: 非耐受组, E: 耐受组。

2.4 肝组织中SOCS-1 mRNA的表达 PBS组SOCS-1 mRNA在各时相点均没有表达, 而LPS组在LPS(5 mg/kg)刺激后1 h SOCS-1 mRNA开始表达, 3 h其表达达到高峰, 随后逐渐降低, 至12 h后则不再表达, 其3 h之值与1 h和6 h之值比较统计学意义非常显著($P<0.01$), 其1 h之值与6 h之值比较统计学意义非常显著($P<0.01$, 图6)。非耐受组小鼠当再次给予LPS(5 mg/kg)注射后, 半定量分析其3 h后的SOCS-1 mRNA表达的平均值为 52.82 ± 6.96 , 而耐受组小鼠当再次给予LPS(5 mg/kg)刺激后, 半定量分析其3 h后的SOCS-1 mRNA表达的平均值为 91.58 ± 12.94 。可见, 耐受组的SOCS-1 mRNA值明显较非耐受组高, 两者比较统计学意义非常显著($P<0.01$, 图7)。

2.5 肝脏的组织病理学改变 PBS组肝组织形态、结构较正常肝组织没有明显变化; LPS组表现为: 肝细胞索结构紊乱, 肝窦扩张, 充血, 肝细胞空泡变性明显, 呈网状, 并有局灶性坏死, 汇管区有炎性细胞浸润; 耐受组与非耐受组比较, 同一时点的肝脏的形态以及肝细胞的变性、坏死均较非耐受组轻(图8)。

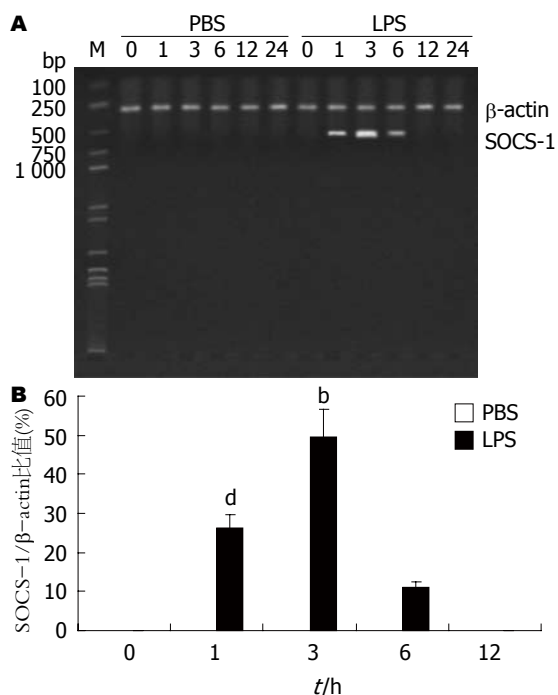


图6 半定量分析LPS(5 mg/kg)和PBS(0.01 mol/L)刺激后预定时间小鼠肝脏SOCS-1 mRNA的表达($n=6$). ^b $P<0.01$ vs 1 h, 6 h; ^d $P<0.01$ vs 6 h.

2.6 肝脏细胞的超微结构改变 LPS刺激3 h后的肝组织可见炎性细胞浸润明显, 以嗜中性粒细胞为主, 线粒体轻微肿胀, 并可见少量脂滴; LPS刺激12 h的肝组织可见肝窦内的KCs, 其吞噬功能活跃, 胞质内可见较多的吞噬溶酶体, 并且内皮细胞肿胀, 体积增大, 肝细胞脂肪变, 线粒体肿胀; 非耐受组24 h的肝组织可见肝细胞脂肪变, 有较多大小不一的脂滴, 肝细胞核染色质边集, 线粒体减少; 而耐受组肝组织24 h的超微结构变化较非耐受组损害较轻, 表现为肝细胞轻微脂肪变, 线粒体微肿胀(图9).

2.7 免疫组织化学SOCS-1在肝脏的表达 免疫组织化学染色显示, PBS组肝组织SOCS-1表达呈阴性(-); LPS组1 h可见在肝组织的中央静脉区周围有较淡的黄色染色区域, SOCS-1表达呈阳性(+); LPS组3 h可见肝组织的中央静脉区周围有明显黄染区域, SOCS-1表达呈强阳性(++) (图10).

3 讨论

肝脏作为机体内一个功能颇为复杂的器官, 能不断地解毒、清除门静脉血流中源于胃肠道吸收的外源性物质或毒素, 因而在维持机体内环境的稳定处于关键的地位^[17,18]. 随着现代医学的迅猛发展, 人们越来越清楚认识到源于胃

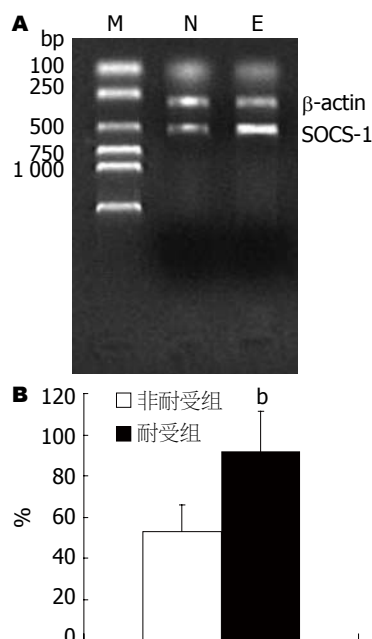


图7 半定量分析LPS(5 mg/kg)再刺激后非耐受组和耐受组小鼠3 h肝脏SOCS-1 mRNA的表达($n=6$). ^b $P<0.01$ vs 耐受组. M: Marker; N: 非耐受组, E: 耐受组.

■应用要点

本研究表明内毒素状态下, 肝组织中的SOCS-1 mRNA表达明显增强; 肝组织中的SOCS-1 mRNA表达、Kupffer细胞的激活以及机体的内毒素耐受状态三者间可能有着紧密的联系, 为内毒素血症的临床研究提供了潜在的应用研究基础.

肠道的内毒素血症(endotoxemia, ETM)及其所诱发的多器官功能不全综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)是临床常见的创伤和感染患者死亡的主要原因, 其中G⁻细菌细胞壁的LPS成分在其发生发展中起着举足轻重的作用^[19,20]. 其主要致病机制是由于机体严重的创伤、感染等导致肠道内的G⁻杆菌过度增殖, 产生大量的内毒素, 加上此时肠壁通透性增高, 造成内毒素移位, 从而经门静脉入血增多^[21,22]; 抑或肝内KCs吞噬功能下降, 过量的内毒素超过了肝脏的清除能力, 从而进入血液循环引发ETM或脓毒症^[23,24].

脓毒症一直是临床治疗中的一个难点, 其中一个重要原因就是临床抗生素的应用, 已知抗生素杀灭细菌的同时也促使大量LPS从菌体中释放, 这些释放的LPS将在体内继续发挥其生物毒性作用^[25,26]. 因此对内毒素的研究是自然成为科研的热点, 研究表明, 机体对G⁻菌感染后的临床表现轻重不一, 表明机体对LPS存在一定的耐受差异性^[27-29]. 内毒素耐受是细胞或机体经低剂量LPS刺激后, 对更大剂量LPS的再次刺激呈低反应性 or 无反应的一种状态^[30], 他是生物在长期进化过程中形成的一种保守的负性调节机制, 是一种适应性应答, 也是机体防御机制的重要组成部分^[31,32]. LPS耐受的机制比较复杂, 目前还不清楚. 目前认为, LPS结合蛋白(lipopolysaccharide binding protein, LBP)、CD14、Toll样受体-4(toll-like receptor, TLR4)、以及清道夫受体(scavenger receptor, SR)对内毒素

■同行评价

本文设计较好, 创新性较强, 统计合理, 可信度较高, 学术价值较好.

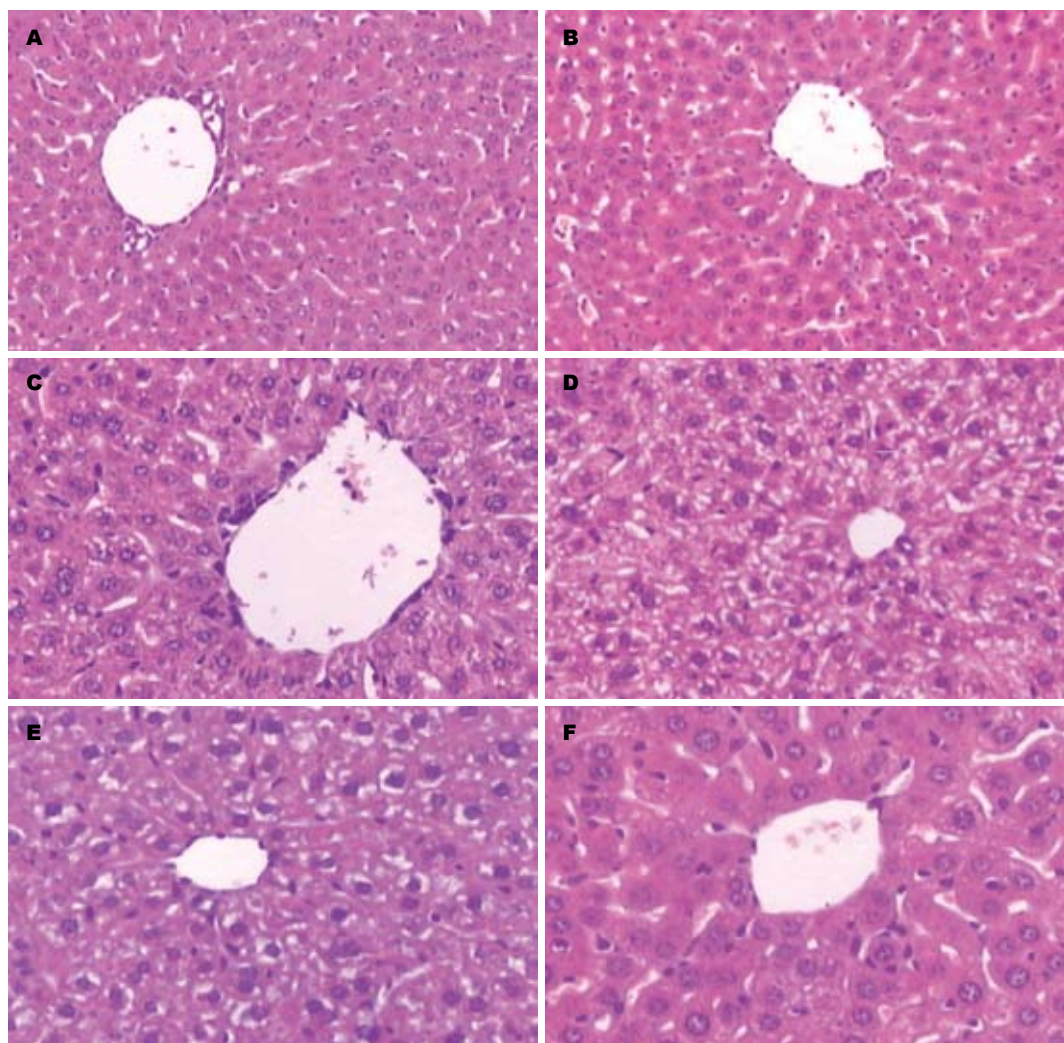


图 8 正常肝组织及PBS, LPS刺激后肝组织的光镜结构变化. A: 正常小鼠肝脏组织(HE × 200); B: PBS(0.01 mol/L)刺激12 h的小鼠肝脏组织(HE × 200); C: LPS(5 g/L)刺激6 h的小鼠肝脏组织(HE × 400); D: LPS(5 g/L)刺激12 h的小鼠肝脏组织(HE × 400); E: LPS(5 g/L)再次刺激12 h非耐受组小鼠的肝脏组织(HE × 400); F: LPS(5 g/L)再次刺激12 h耐受组小鼠的肝脏组织(HE × 400).

在体内的生物学效应上发挥着重要的作用^[33-35]. 另外, LPS耐受机制可能与一些细胞因子的表达, 其中不乏可通过下调LPS信号传导受体TLR4/MD2的表达, 以及降低NF- κ B的活性等有关, 但是, 其潜在的机制仍未明了^[36]. 最近在研究JAK/STAT信号传导途径时, 发现在经LPS或CpG-DNA刺激的巨噬细胞能够产生一种名为细胞信号传导因子的抑制因子SOCS-1的细胞因子, 又名STAT诱导的STAT抑制因子-1(STAT-induced STAT inhibitor-1, SSI-1)或JAK结合蛋白-1(JAK binding protein-1, JAK-1), 他作为JAK/STAT信号传导途径的特异性内源性抑制物, 能够抑制一些炎性因子如IFN- γ 、IL-4、IL-6等刺激所产生的JAK-STAT介导的信号级联反应的过度激活^[11-13]. SOCS家族现已有8个成员, 其中SOCS-1的表达较早, 可能与内毒素耐受的早期机制有关^[14]. 因此, SOCS-1可能在内毒素耐受的形

发挥着重要的作用. 本部分实验通过建立ETM及内毒素耐受小鼠模型, 观察模型动物对更LPS刺激的反应性, 以及肝组织中SOCS-1表达的变化, 试图从机体水平探讨SOCS-1与内毒素耐受状态之间的关系, 得到的主要结果和结论如下: (1)综合观察分析ETM和内毒素耐受小鼠的实验结果, 发现经低剂量LPS预处理的小鼠对更大剂量LPS的刺激呈低反应性, 表现为肝组织中的TNF- α mRNA表达减少及其血清TNF- α 水平降低、以及肝脏组织病理学和细胞超微结构学上的损害减轻; 因而从前炎性细胞因子的表达和释放以及肝脏的损害等多方面证实本实验中的内毒素耐受动物模型建立成功. (2)实验动物在表现出对内毒素耐受的同时, 其肝组织中SOCS-1基因的表达明显增强, 提示SOCS-1基因的表达与内毒素耐受的形

成有密切关系.

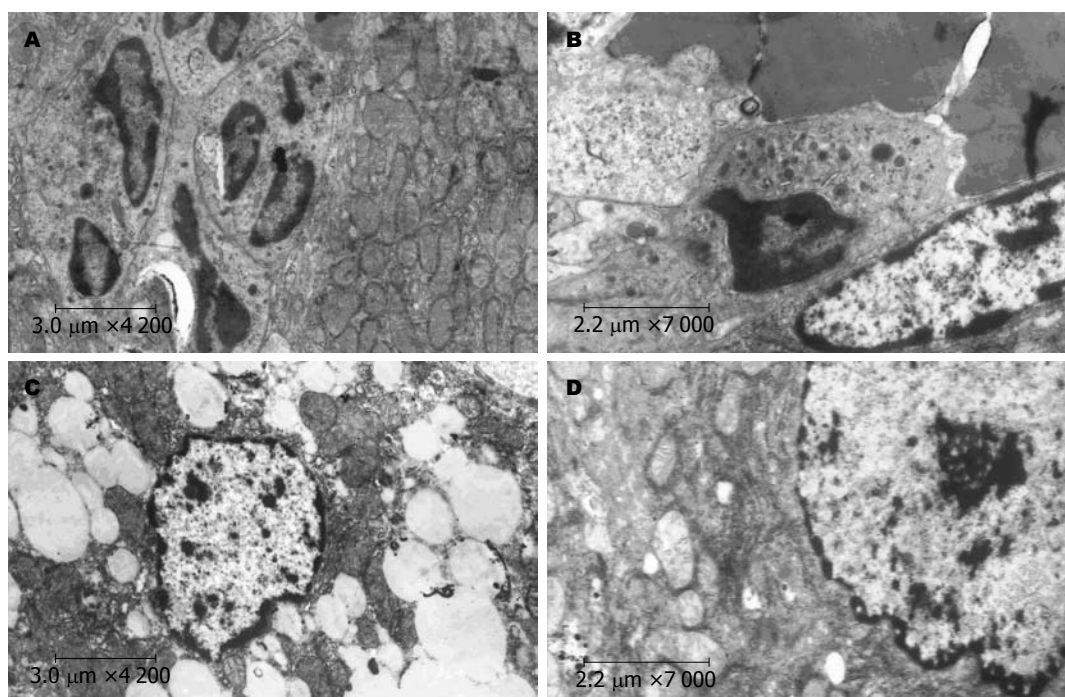


图9 LPS刺激后肝组织的电镜超微结构变化. A: LPS组3 h炎症细胞浸润明显(TEM×4 200); B: LPS组12 h内皮细胞轻度肿胀, KC吞噬功能活跃, 可见较多溶酶体(TEM×7 000); C: 非耐受组24 h肝细胞严重脂肪变, 线粒体减少(TEM×4 200); D: 耐受组24 h肝细胞线粒体轻微肿胀, 可见少许脂肪变性(TEM×7 000).

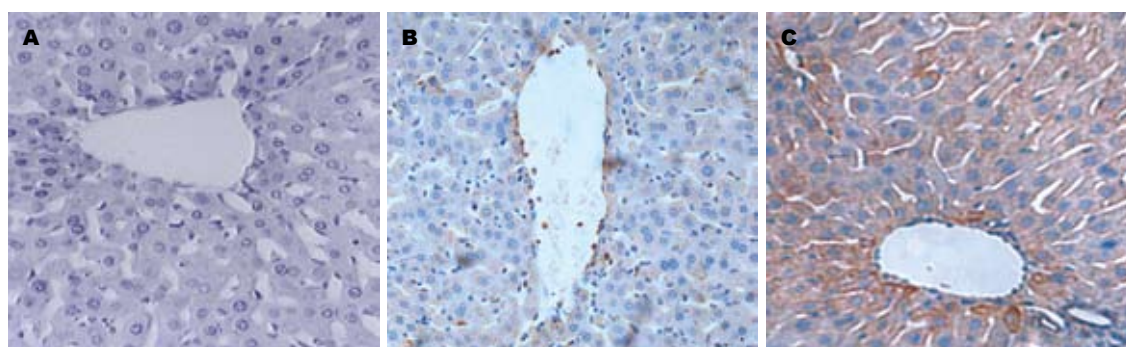


图10 大鼠胰腺组织病理变化(免疫组织化学染色×400). A: PBS组肝组织的SOCS-1(-); B: LPS组1 h肝组织的SOCS-1(+); C: LPS组3 h肝组织的SOCS-1(++).

其在LPS介导的肝损害中发挥着重要的作用, 结合本实验内毒素刺激状态下KCs激活, 以及内毒素耐受状态下前炎症细胞因子释放减少以及肝脏病理损害较轻等表现, 提示SOCS-1表达、KCs活性与内毒素耐受三者间可能存在紧密联系, 前两者的变化可能与内毒素耐受的形成有关. 因此, 本实验将为以KCs作为研究对象, 从细胞水平研究SOCS-1表达与内毒素耐受之间的关系提供了实验依据.

4 参考文献

- 1 Han DW. Intestinal endotoxemia as a pathogenetic mechanism in liver failure. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 961-965
- 2 Sukhotnik I, Agam M, Shamir R, Shehadeh N, Lurie M, Coran AG, Shiloni E, Mogilner J. Oral glutamine prevents gut mucosal injury and improves mucosal recovery following lipopolysaccharide endotoxemia in a rat. *J Surg Res* 2007; 143: 379-384
- 3 Kono H, Fujii H, Asakawa M, Yamamoto M, Matsuda M, Maki A, Matsumoto Y. Protective effects of medium-chain triglycerides on the liver and gut in rats administered endotoxin. *Ann Surg* 2003; 237: 246-255
- 4 Schlegel L, Coudray-Lucas C, Barbut F, Le Boucher J, Jardel A, Zarrabian S, Cynober L. Bacterial dissemination and metabolic changes in rats induced by endotoxemia following intestinal *E. coli* overgrowth are reduced by ornithine alpha-ketoglutarate administration. *J Nutr* 2000; 130: 2897-2902
- 5 Ito Y, Lukita-Atmadja W, Machen NW, Baker GL, McCuskey RS. High doses of intravenous immunoglobulin G enhance Kupffer cell phagocytic function during the late phase of sepsis and

- endotoxemia in rats. *Shock* 2000; 13: 485-491
- 6 Onzuka T, Tomita Y, Shimizu I, Okano S, Yamada H, Yoshikai Y, Tominaga R. Effects of lipopolysaccharide on the induction of mixed chimerism in cyclophosphamide-induced tolerance. *Scand J Immunol* 2009; 70: 423-430
- 7 Biswas SK, Lopez-Collazo E. Endotoxin tolerance: new mechanisms, molecules and clinical significance. *Trends Immunol* 2009; 30: 475-487
- 8 Zacharioudaki V, Androulidaki A, Arranz A, Vrentzos G, Margioris AN, Tsatsanis C. Adiponectin promotes endotoxin tolerance in macrophages by inducing IRAK-M expression. *J Immunol* 2009; 182: 6444-6451
- 9 Zhang DY, Chen LL, Li SL, Gu ZY, Yan J. Lipopolysaccharide (LPS) of *Porphyromonas gingivalis* induces IL-1 β , TNF- α and IL-6 production by THP-1 cells in a way different from that of *Escherichia coli* LPS. *Innate Immun* 2008; 14: 99-107
- 10 Abrahám S, Szabó A, Kaszaki J, Varga R, Eder K, Duda E, Lázár G, Tiszlavicz L, Boros M, Lázár G Jr. Kupffer cell blockade improves the endotoxin-induced microcirculatory inflammatory response in obstructive jaundice. *Shock* 2008; 30: 69-74
- 11 Starr R, Willson TA, Viney EM, Murray LJ, Rayner JR, Jenkins BJ, Gonda TJ, Alexander WS, Metcalf D, Nicola NA, Hilton DJ. A family of cytokine-inducible inhibitors of signalling. *Nature* 1997; 387: 917-921
- 12 Endo TA, Masuhara M, Yokouchi M, Suzuki R, Sakamoto H, Mitsui K, Matsumoto A, Tanimura S, Ohtsubo M, Misawa H, Miyazaki T, Leonor N, Taniguchi T, Fujita T, Kanakura Y, Komiya S, Yoshimura A. A new protein containing an SH2 domain that inhibits JAK kinases. *Nature* 1997; 387: 921-924
- 13 Naka T, Narazaki M, Hirata M, Matsumoto T, Minamoto S, Aono A, Nishimoto N, Kajita T, Taga T, Yoshizaki K, Akira S, Kishimoto T. Structure and function of a new STAT-induced STAT inhibitor. *Nature* 1997; 387: 924-929
- 14 Dalpke A, Heeg K, Bartz H, Baetz A. Regulation of innate immunity by suppressor of cytokine signaling (SOCS) proteins. *Immunobiology* 2008; 213: 225-235
- 15 Liu ZJ, Liu XL, Zhao J, Shi YJ, Yan LN, Chen XF, Li XH, You HB, Xu FL, Gong JP. The effects of SOCS-1 on liver endotoxin tolerance development induced by a low dose of lipopolysaccharide are related to dampen NF- κ B-mediated pathway. *Dig Liver Dis* 2008; 40: 568-577
- 16 Sakuda S, Tamura S, Yamada A, Miyagawa J, Yamamoto K, Kiso S, Ito N, Imanaka K, Wada A, Naka T, Kishimoto T, Kawata S, Matsuzawa Y. Activation of signal transducer and activator transcription 3 and expression of suppressor of cytokine signal 1 during liver regeneration in rats. *J Hepatol* 2002; 36: 378-384
- 17 Döll S, Schrickx JA, Dänicke S, Fink-Gremmels J. Interactions of deoxynivalenol and lipopolysaccharides on cytokine excretion and mRNA expression in porcine hepatocytes and Kupffer cell enriched hepatocyte cultures. *Toxicol Lett* 2009; 190: 96-105
- 18 Huang H, Park PH, McMullen MR, Nagy LE. Mechanisms for the anti-inflammatory effects of adiponectin in macrophages. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23 Suppl 1: S50-S53
- 19 Marzocco S, Di Paola R, Ribocco MT, Sorrentino R, Domenico B, Genesio M, Pinto A, Autore G, Cuzzocrea S. Effect of methylguanidine in a model of septic shock induced by LPS. *Free Radic Res* 2004; 38: 1143-1153
- 20 Yamamoto M, Akira S. Lipid A receptor TLR4-mediated signaling pathways. *Adv Exp Med Biol* 2009; 667: 59-68
- 21 Wong KF, Luk JM. Endotoxin-neutralizing peptides as gram-negative sepsis therapeutics. *Protein Pept Lett* 2009; 16: 539-542
- 22 Ng SW, Zhang H, Hegde A, Bhatia M. Role of preprotachykinin-A gene products on multiple organ injury in LPS-induced endotoxemia. *J Leukoc Biol* 2008; 83: 288-295
- 23 Maitra U, Chang S, Singh N, Li L. Molecular mechanism underlying the suppression of lipid oxidation during endotoxemia. *Mol Immunol* 2009; 47: 420-425
- 24 Kamimoto M, Mizuno S, Nakamura T. Reciprocal regulation of IL-6 and IL-10 balance by HGF via recruitment of heme oxygenase-1 in macrophages for attenuation of liver injury in a mouse model of endotoxemia. *Int J Mol Med* 2009; 24: 161-170
- 25 Aoshiba K, Onizawa S, Tsuji T, Nagai A. Therapeutic effects of erythropoietin in murine models of endotoxin shock. *Crit Care Med* 2009; 37: 889-898
- 26 Tsai WH, Cheng PY, Lee YM, Chiu MC, Jiau SS, Wu ES, Yen MH. Anti-inflammatory effects of LK-3, on LPS-induced sepsis in rats. *Chin J Physiol* 2008; 51: 292-300
- 27 Cornell RP. Endogenous gut-derived bacterial endotoxin tonically primes pancreatic secretion of insulin in normal rats. *Diabetes* 1985; 34: 1253-1259
- 28 Zhou BR, Gumscheimer M, Freudenberg MA, Galanos C. Lethal effect and apoptotic DNA fragmentation in response of D-GalN-treated mice to bacterial LPS can be suppressed by pre-exposure to minute amount of bacterial LPS: dual role of TNF receptor 1. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 3398-3404
- 29 Piao W, Song C, Chen H, Diaz MA, Wahl LM, Fitzgerald KA, Li L, Medvedev AE. Endotoxin tolerance dysregulates MyD88- and Toll/IL-1R domain-containing adapter inducing IFN- β -dependent pathways and increases expression of negative regulators of TLR signaling. *J Leukoc Biol* 2009; 86: 863-875
- 30 West MA, Koons A. Endotoxin tolerance in sepsis: concentration-dependent augmentation or inhibition of LPS-stimulated macrophage TNF secretion by LPS pretreatment. *J Trauma* 2008; 65: 893-898; discussion 898-900
- 31 Staikos L, Malellari L, Chang SL. Lipopolysaccharide-induced pro-inflammatory cytokines in the brain of rats in the morphine-tolerant state. *J Neuroimmune Pharmacol* 2008; 3: 236-240
- 32 Gerhold K, Avagyan A, Reichert E, Blumchen K, Wahn U, Hamelmann E. Lipopolysaccharides modulate allergen-specific immune regulation in a murine model of mucosal tolerance induction. *Int Arch Allergy Immunol* 2008; 147: 25-34
- 33 Gamble L, Bagby GJ, Quinton LJ, Happel KI, Mizgerd JP, Zhang P, Nelson S. The systemic and pulmonary LPS binding protein response to intratracheal lipopolysaccharide. *Shock* 2009; 31: 212-217
- 34 Berbee JF, Coomans CP, Westerterp M, Romijn JA, Havekes LM, Rensen PC. Apolipoprotein

- CI Enhances the Biological Response to Lipopolysaccharide via the CD14/TLR4 Pathway by LPS-binding Elements in Both Its N- and C-Terminal Helix. *J Lipid Res* 2010 Mar 24. [Epub ahead of print]
- 35 Amiel E, Acker JL, Collins RM, Berwin B. Uncoupling scavenger receptor A-mediated phagocytosis of bacteria from endotoxic shock resistance. *Infect Immun* 2009; 77: 4567-4573
- 36 Schnabl B, Brandl K, Fink M, Gross P, Taura K, Gäbele E, Hellerbrand C, Falk W. A TLR4/MD2 fusion protein inhibits LPS-induced pro-inflammatory signaling in hepatic stellate cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 375: 210-214

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

1 修回稿信件

来稿包括所有作者签名的作者投稿函. 内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该文代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版出版权转让给本刊编辑部.

2 稿件修改

来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见寄回给作者修改, 而作者必须于15 d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寄回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回的, 作重新投稿处理.

3 版权

本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有. 编辑部可将文章在《中国学术期刊光盘版》等媒体上长期发布; 作者允许该文章被美国《化学文摘》、《荷兰医学文摘库/医学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》、《中国生物学文摘》等国内外相关文摘与检索系统收录.

门脉高压肝脏小叶间动脉与小叶间静脉血管内皮生长因子受体的分布

徐珊珊, 赵金满, 杨思贤

■背景资料

门静脉入肝后分支成小叶间静脉, 肝动脉入肝后分支成小叶间动脉。肝硬化是以缺血为特征, 肝硬化门脉高压时VEGFR的变化目前尚不清楚。

徐珊珊, 赵金满, 杨思贤, 中国医科大学附属第一医院消化内科 辽宁省沈阳市 110001

徐珊珊, 2007年中国医科大学在读硕士, 主要从事消化系统疾病研究。

作者贡献分布: 此课题立项由赵金满与徐珊珊完成; 设计由赵金满与徐珊珊完成; 研究过程由赵金满、徐珊珊及杨思贤完成; 实验指导及论文修改由赵金满完成。

通讯作者: 赵金满, 教授, 110001, 辽宁省沈阳市, 中国医科大学附属第一医院消化内科. jinmanzhao@163.com

电话: 024-83282554

收稿日期: 2010-03-14 修回日期: 2010-05-17

接受日期: 2010-05-25 在线出版日期: 2010-06-18

Distribution of vascular endothelial growth factor receptor in hepatic arteries and veins of rats with portal hypertension

Shan-Shan Xu, Jin-Man Zhao, Si-Xian Yang

Shan-Shan Xu, Jin-Man Zhao, Si-Xian Yang, Department of Gastroenterology, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Correspondence to: Professor Jin-man Zhao, Department of Gastroenterology, the First Hospital of China Medical University, 155 Nanjing North Street, Heping District, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. jinmanzhao@163.com

Received: 2010-03-14 Revised: 2010-05-17

Accepted: 2010-05-25 Published online: 2010-06-18

Abstract

AIM: To observe the distribution of vascular endothelial growth factor receptor-1 and -2 (VEGFR-1 and -2) in both hepatic arteries and veins of rats with portal hypertension (PHT).

METHODS: Thirty male Sprague-Dawley rats, weighing 180-220 g, were randomly divided into two groups: normal control group ($n = 10$), and model group ($n = 20$). The normal control group was given normal drinking water, while the model group was given drinking water containing thioacetamide (TAA). Twelve weeks later, 12 rats who had a portal pressure > 1.57 kPa and obvious pseudolobules were selected for subsequent experiments. The distribution of VEGFR-1 and -2 in both hepatic arteries and veins of these

rats was determined by immunohistochemistry.

RESULTS: VEGFR-2 expression in both hepatic arteries and veins of PHT rats significantly increased ($t = 24.306, 54.776$, both $P < 0.05$). VEGFR-1 expression in both hepatic arteries and portal veins of PHT models also significantly increased ($t = 20.669, 33.210$, both $P < 0.05$). VEGFR-2 expression in hepatic veins was markedly higher than that in hepatic arteries in PHT rats ($t = 23.424, P < 0.05$). There is no difference in VEGFR-1 expression between hepatic arteries and veins in PHT models ($t = 1.434, P > 0.05$).

CONCLUSION: VEGFR-2 can decrease the pressure of portal veins possibly by promoting the neovascularization of hepatic veins.

Key Words: Vascular endothelial growth factor receptor; Portal hypertension; Immunohistochemistry

Xu SS, Zhao JM, Yang SX. Distribution of vascular endothelial growth factor receptor in hepatic arteries and veins of rats with portal hypertension. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(17): 1756-1760

摘要

目的: 明确肝硬化门脉高压前后VEGFR-1、2在肝脏血管的分布变化。

方法: SD大鼠30只, 体质量180-220 g。动物随机分为肝硬化门脉高压模型组($n = 20$)和随正常对照组($n = 10$)。正常对照组正常饮水饮食, 实验组采用硫代乙酰胺皮下注射法制作肝硬化门脉高压模型。12 wk后经组织病理学检查证实肝脏有假小叶形成和门静脉压力大于1.57 kPa的大鼠共12只纳入本研究。采用免疫组织化学染色法, 分别观察VEGFR-1和VEGFR-2的变化特点。

结果: VEGFR-2在肝硬化门静脉高压组大鼠的小叶间动脉和静脉中的表达均显著高于正常对照组($t = 24.306, 54.776$, 均 $P < 0.05$)。VEGFR-1在肝硬化门静脉高压组大鼠的小叶

■同行评议者

董蕾, 教授, 西安交通大学第二附属医院消化内科

间动脉和静脉中的表达也显著高于正常对照组($t = 20.669, 33.210$, 均 $P < 0.05$). VEGFR-2在肝硬化门脉高压组大鼠的小叶间静脉的表达显著高于小叶间动脉($t = 23.424, P < 0.05$); 而VEGFR-1在门脉高压组大鼠的小叶间动脉和小叶间静脉的表达几乎无明显差异($t = 1.434, P > 0.05$).

结论: VEGFR-2可能通过促进肝内小叶间静脉的新生血管生成代偿性降低门静脉高压.

关键词: 血管内皮生长因子受体; 门静脉高压; 免疫组织化学

徐珊珊, 赵金满, 杨思贤. 门脉高压肝脏小叶间动脉与小叶间静脉血管内皮生长因子受体的分布. 世界华人消化杂志 2010; 18(17): 1756-1760
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1756.asp>

0 引言

门脉高压是肝硬化患者最严重的并发症, 严重威胁人类生命^[1,2]. 大多数慢性门静脉高压症(portal hypertension, PHT)早期主要发病机制为门静脉系统血流阻力增加, 而肝硬化是最常见的引起门静脉阻力增加的原因之一. 血管生成是门静脉高压症的病理特征^[3], PHT伴有的门静脉高压性血管病变(portal hypertension vascular lesion)在PHT的发展中起重要作用. 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)被认为是最重要的血管生成形成的因子, 也是肝硬化过程中重要的调节因子^[4-6]. VEGF通过结合并激活两个酪氨酸激酶受体, 血管内皮生长因子受体1(vascular endothelial growth factor receptor-1, VEGFR-1)(Flt-1)和VEGFR-2(KDR/FLK-1)来调节生理和病理血管生成^[7]. VEGFR-1能更准确地调节血管形成和血管渗透性, 而VEGFR-2对内皮细胞增殖最终形成新生血管更为重要. 肝硬化是以缺血为特征, 肝硬化门脉高压时VEGFR的变化目前尚不清楚. 本次研究旨在明确肝硬化门脉高压前后VEGFR-1、2在肝脏血管的分布变化.

1 材料和方法

1.1 材料 SD ♂ 大鼠30只, 体质量180-220 g, 购自本校实验动物中心.

1.2 方法

1.2.1 肝硬化门脉高压动物模型的建立: 动物随机分为肝硬化模型组($n = 20$)和正常对照组($n =$

10). 采用硫代乙酰胺皮下注射法制作肝硬化模型^[9-11]. 经组织病理学检查证实肝脏有假小叶形成和门静脉压力大于1.57 kPa的大鼠共12只纳入本研究.

1.2.2 标本处理: 于注射硫代乙酰胺第12周末处死大鼠, 取大鼠肝脏组织, 以生理盐水洗去血迹后迅速置于冰冷的多聚甲醛磷酸缓冲液内(4%, pH7.2), 在4 °C冰箱内固定8-12 h, 然后转入20%蔗糖磷酸缓冲液内, 4 °C冰箱内过夜. 制作石蜡切片, 每个标本连续切片3-5张.

1.2.3 SP免疫组织化学染色检测VEGFR-1、2表达: 石蜡切片脱蜡. PBS冲洗3×5 min. 每张切片滴加3% H₂O₂ 50 μL, 室温孵育20 min, 抑制过氧化物酶. PBS冲洗3×5 min. 5%正常山羊血清封闭, 室温, 30 min, 用滤纸吸去多余血清. 滴加一抗50 μL, 4%孵育24 h, PBS冲洗3×5 min. 滴加链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶溶液, 37 °C孵育60 min, PBS冲洗3×5 min. 滴加新鲜配置的DAB 100 μL显色3-10 min, 显微镜下控制显色时间. 自来水流水冲洗, 苏木素复染. 梯度酒精脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封片. 光镜下观察染色结果, VEGFR阳性产物为棕色, 与背景同色为阴性.

1.2.4 免疫组织化学染色图片分析: 选取肝硬化前后不同血管VEGFR-1、2染色切片各6张, 计算单位视野下阳性细胞个数.

统计学处理 测量结果以mean±SD表示、组间差异采用双侧 t 检验, 差异显著性水平设为 $P < 0.05$.

2 结果

2.1 VEGFR-1和VEGFR-2免疫组织化学染色 肝硬化门静脉高压组大鼠和正常对照组大鼠肝脏组织切片免疫组织化学染色. VEGFR-1和VEGFR-2免疫组织化学染色阳性产物表现为棕色颗粒状(图中箭头所指), 与背景同色为阴性. 可见VEGFR-2在肝硬化门静脉高压组大鼠的小叶间静脉和小叶间动脉的阳性表达细胞个数明显多于正常对照组(图1A, B, C). VEGFR-1在肝硬化门静脉高压组大鼠的小叶间静脉和小叶间动脉的阳性表达细胞个数明显多于正常对照组, 正常对照组几乎无阳性细胞表达(图1D, E, F). VEGFR-2在肝硬化门脉高压组大鼠的小叶间静脉的阳性表达细胞个数明显多于小叶间动脉(图1A); 而VEGFR-1在门脉高压组大鼠的小叶间动脉和小叶间静脉的阳性表达细胞个数几乎无明

■ 相关报道

叶春华等将门静脉注射VEGF-2应用于临床治疗肝硬化门脉高压取得一定的效果, 但至今对于其理论基础的研究尚未见报道.

■创新盘点

本研究应用 VEGFR-1 和 VEGFR-2 的特异性抗体, 对大鼠肝脏内小叶间静脉和小叶间动脉血管壁的 VEGFR 的分布特点进行了观察。结果显示, 肝硬化门脉高压组大鼠小叶间动脉和小叶间静脉血管壁各层均有 VEGFR 分布, 但主要位于内皮层。

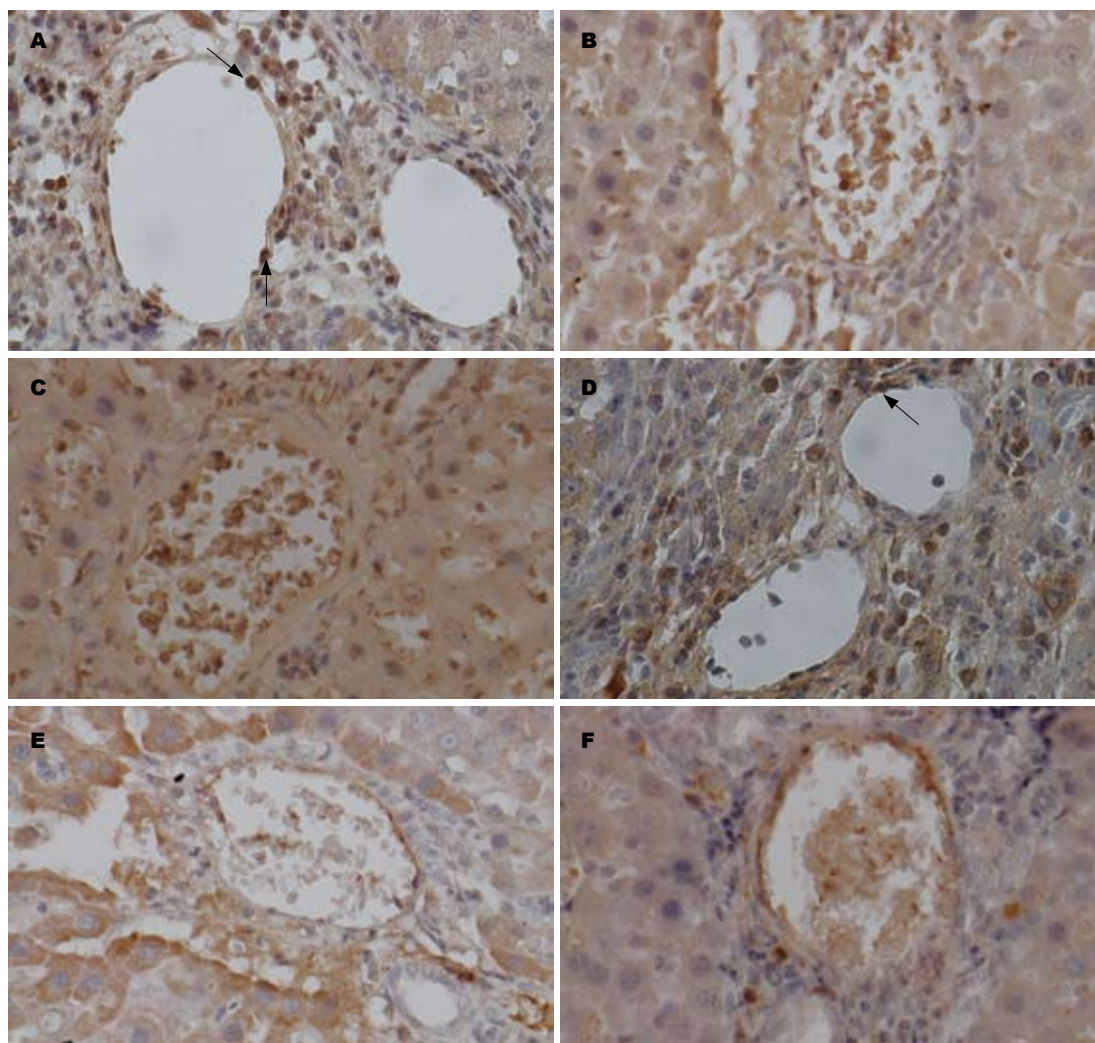


图 1 肝硬化门静脉高压组大鼠和正常对照组大鼠肝脏组织切片光学显微镜下观察(免疫组织化学染色 $\times 40$)。VEGFR-1 和 VEGFR-2 阳性产物表现为棕色颗粒状(图中黑色箭头所指), 与背景同色为阴性。A: 肝硬化门静脉高压组 VEGFR-2(左: 小叶间静脉; 右: 小叶间动脉); B: 正常对照组 VEGFR-2(小叶间静脉); C: 正常对照组 VEGFR-2(小叶间动脉); D: 肝硬化门脉高压组 VEGFR-1(上: 小叶间动脉; 下: 小叶间静脉); E: 正常对照组 VEGFR-1(小叶间静脉); F: 正常对照组 VEGFR-1(小叶间动脉)。

显差异(图1D)。

2.2 VEGFR 表达观察统计 VEGFR-2 在肝硬化门静脉高压组大鼠的小叶间动脉中的表达显著高于正常对照组($t = 24.306, P < 0.05$); VEGFR-2 在肝硬化门静脉高压组大鼠的小叶间静脉中的表达显著高于正常对照组($t = 54.776, P < 0.05$)。VEGFR-1 在肝硬化门静脉高压组大鼠的小叶间动脉中的表达显著高于正常对照组($t = 20.669, P < 0.05$); VEGFR-1 在肝硬化门静脉高压组大鼠的小叶间静脉中的表达显著高于正常对照组($t = 33.210, P < 0.05$)。VEGFR-2 在肝硬化门脉高压组大鼠的小叶间静脉的表达显著高于小叶间动脉($t = 23.424, P < 0.05$); 而 VEGFR-1 在门脉高压组大鼠的小叶间动脉和小叶间静脉的表达几乎无明显差异($t = 1.434, P > 0.05$, 图2)。

2.3 肝脏血管壁内 VEGFR-1、2 分布特点 正常对

照组和肝硬化门脉高压组大鼠肝脏小叶间动脉和小叶间静脉均有 VEGFR-1、2 染色, 但肝硬化门脉高压组较正常对照组染色明显增强。在肝硬化门脉高压组大鼠肝脏小叶间动脉和小叶间静脉血管壁各层均有 VEGFR-2 分布, 但以内皮层为主。而正常对照组 VEGFR-2 染色稀少, 浅淡。肝硬化门脉高压组大鼠和正常对照组大鼠的肝脏小叶间动脉和小叶间静脉血管壁 VEGFR-1 均较局限地分布于血管内皮层, 而平滑肌层则极少着色(表1, 2)。

3 讨论

大多数慢性 PHT 早期主要发病机制为门静脉系统血流阻力增加^[12], 而肝硬化是最常见的引起门静脉阻力增加的原因之一。PHT 伴有的门静脉高压性血管病变(portal hypertension vascular

表 1 单位视野下VEGFR-1染色阳性表达细胞个数

	小叶间动脉	小叶间静脉	P值
肝硬化组(<i>n</i> = 12)	19 ± 1.91	20 ± 1.48	>0.05
正常对照组(<i>n</i> = 10)	5 ± 1.05	2 ± 0.94	>0.05
P值	<0.05	<0.05	

表 2 单位视野下VEGFR-2染色阳性表达细胞个数

	小叶间动脉	小叶间静脉	P值
肝硬化组(<i>n</i> = 12)	23 ± 2.13	44 ± 2.26	<0.05
正常对照组(<i>n</i> = 10)	5 ± 1.05	2 ± 0.94	>0.05
P值	<0.05	<0.05	

lesion)在PHT的发展中起重要作用。

VEGF是血管生成的主要调节因子^[13], 结合并激活两个酪氨酸激酶受体, VEGFR-1(Flt-1)和VEGFR-2(KDR/FLK-1)。这些受体调节生理和病理血管生成^[9]。VEGFR-1能更准确地调节血管形成和血管渗透性, 而VEGFR-2对内皮细胞增殖最终形成新生血管更为重要。

随着对VEGF研究的不断深入, 很多学者认识到VEGF在肝硬化门静脉高压症的发生、发展中扮演着重要的角色。已证实肝组织中VEGF及其受体VEGFR-1、2随肝硬化门脉高压严重程度增加而增加^[14,15], 而且肝组织中VEGF及其受体的表达和血管数目密切相关^[16]。本研究应用VEGFR-1和VEGFR-2的特异性抗体, 对大鼠肝脏内小叶间静脉和小叶间动脉血管壁的VEGFR的分布特点进行了观察。结果显示, 肝硬化门脉高压组大鼠小叶间动脉和小叶间静脉血管壁各层均有VEGFR分布, 但主要位于内皮层。这提示血管内皮细胞是产生VEGFR的主要细胞, 其即可表达VEGFR-1也可表达VEGFR-2。本研究亦发现肝脏小叶间动脉和小叶间静脉血管壁VEGFR的表达以及对VEGFR的反应性存在差异。这种动静脉差异可能是由血管内皮和或平滑肌细胞在结构和或功能上的不同导致。本研究发现VEGFR-2在肝硬化门脉高压组大鼠的肝脏小叶间静脉的表达显著高于小叶间动脉, 而VEGFR-1在肝硬化门脉高压组大鼠的肝脏小叶间动脉和小叶间静脉的表达却无明显差异。VEGFR-2在肝硬化门脉高压组大鼠小叶间静脉的表达比小叶间动脉高可能是由于肝硬化时小叶间静脉缺血较小叶间动脉缺血重, 反射调节VEGFR-2活性升高促进血管生成, 而小叶间动

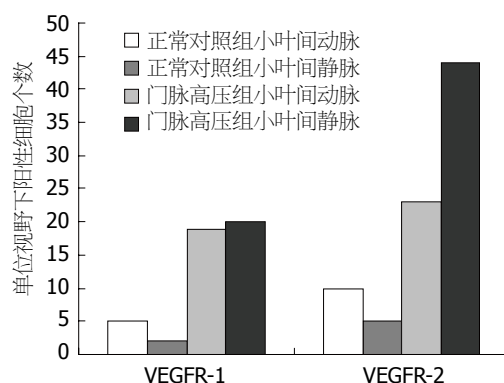


图 2 门脉高压前后VEGFR-1、2在小叶间动脉和小叶间静脉的分布比较。

脉相对缺血轻而出现上述结果^[17,18]。而VEGFR-2在肝硬化门脉高压组大鼠肝脏血管的表达显著高于VEGFR-1, 可能由于VEGFR-2对内皮细胞增殖最终形成新生血管更为重要; 而VEGFR-1主要起调节血管形成和血管渗透性的作用^[19]。这提示在肝硬化门脉高压发展过程中主要通过新生的小叶间静脉代偿性地改善局部硬变肝组织所处的缺血缺氧状态, 最大限度地维持肝细胞功能^[20], 并且可以代偿性地降低门静脉高压。VEGFR-2在此过程中起主要作用, 而VEGFR-1则更多地参与肝硬化的形成^[19,21]。

目前临床用于治疗门脉高压的方法主要有外科手术、经颈静脉肝内门体分流术、药物治疗等。(1)外科手术是治疗门脉高压的传统方法, 分为分流术与断流术。由于分流术减少了肝脏血流灌注量, 加重了肝细胞损伤, 并使肠道吸收的氨绕过肝脏, 不经肝脏解毒, 而经分流通直接进入体循环, 引起肝性脑病。因此, 这类手术已很少临床应用。目前普遍采用贲门周围血管离断术, 此法克服了分流术的上述弊端, 并手术损伤减少, 但仍有较高的手术死亡率和再出血率。此法只是解决了食管胃底静脉曲张破裂出血的危险, 并不能降低门静脉压力, 反可使门静脉压力进一步升高。因此, 不能认为外科手术是治疗门脉高压的理想手段;(2)经颈静脉肝内门体分流术是近年来发展起来的一种介入放射学技术。与外科手术相比经颈静脉肝内门体分流术避免了麻醉和手术风险, 但作为一种非外科门体分流术, 仍存在术后加重肝细胞损伤、引起肝性脑病的缺点, 仍有一定死亡率, 术后支架狭窄或阻塞及经济费用太高等, 致使其应用受到限制^[20];(3)药物治疗主要用于有明显食管静脉曲张的患者以预防破裂出血(如心得安、H2受体拮抗剂)和治疗食管静脉曲张破裂出血(如生长

应用要点
VEGFR-1能更准确地调节血管形成和血管渗透性, 而VEGFR-2对内皮细胞增殖最终形成新生血管更为重要。

■同行评价

本文有一定临床价值,而且研究了VEGF在小叶间动静脉的分布,有一定新颖性。

抑素、垂体后叶素)。其主要治疗机制是减少门静脉血流和降低门静脉阻力,使门静脉压力在药物作用下得到暂时缓解,并不是从根本上治疗门脉高压,而且有诸多药物不良反应。因此近年来许多学者^[8,22]将门静脉注射VEGF-2应用于临床治疗^[23-26]肝硬化门脉高压,由于门静脉入肝后分支成小叶间静脉,肝动脉入肝后分支成小叶间动脉,故本实验通过观察肝硬化门脉高压前后VEGFR-1、2在小叶间动脉和小叶间静脉的分布变化为此种疗法提供了一定理论基础。但VEGF及其受体在肝硬化门脉高压病程中所起的确切作用及临床应用的确切疗效仍需大量基础及临床药理实验研究^[27-29]。

4 参考文献

- Mejias M, Garcia-Pras E, Tiani C, Miquel R, Bosch J, Fernandez M. Beneficial effects of sorafenib on splanchnic, intrahepatic, and portocollateral circulations in portal hypertensive and cirrhotic rats. *Hepatology* 2009; 49: 1245-1256
- Cárdenas A, Ginès P. Portal hypertension. *Curr Opin Gastroenterol* 2009; 25: 195-201
- Dai J, Rabie AB. VEGF: an essential mediator of both angiogenesis and endochondral ossification. *J Dent Res* 2007; 86: 937-950
- 邹美银, 章幼奕, 赵云, 吴月平. 失代偿期肝硬化患者血清血管内皮生长因子水平检测的临床意义. *实用肝脏病杂志* 2009; 12: 359-361
- 顾驾云, 章幼奕, 邹美银. 肝硬化患者VEGF水平和终末期肝病模型评分的临床意义. *南通大学学报(医学版)* 2009; 29: 242-243, 246
- 章幼奕, 邹美银, 吴月平, 施旦华, 陶虎, 高金华. 失代偿期肝硬化患者血清VEGF、TGF- β_1 、TNF- α 检测及临床意义. *南通医学院学报* 2009; 29: 244-246
- Shibuya M. Differential roles of vascular endothelial growth factor receptor-1 and receptor-2 in angiogenesis. *J Biochem Mol Biol* 2006; 39: 469-478
- Xu H, Shi BM, Lu XF, Liang F, Jin X, Wu TH, Xu J. Vascular endothelial growth factor attenuates hepatic sinusoidal capillarization in thioacetamide-induced cirrhotic rats. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 2349-2357
- 徐安书, 文正荣, 孙志为. 肝硬化实验动物模型的研究现状. *医学综述* 2010; 17: 1046-1048
- 向贤宏, 李家平, 陈柳琴, 谭国胜, 陈伟, 杨建勇, 李鹤平. 大鼠肝硬化模型制备的改良. *当代医学* 2009; 3: 729-731
- 张贵阳, 杨卫平, 陈皓. 肝硬化动物模型构建的研究进展. *外科理论与实践* 2008; 13: 266-269
- Cichoz-Lach H, Celiński K, Słomka M, Kasztelan-Szczerbińska B. Pathophysiology of portal hypertension. *J Physiol Pharmacol* 2008; 59 Suppl 2: 231-238
- Roy H, Bhardwaj S, Ylä-Herttuala S. Biology of vascular endothelial growth factors. *FEBS Lett* 2006; 580: 2879-2887
- 郭艳萍, 杨广英, 王建君, 姜黄, 李军. 转化生长因子- β_1 及VEGF在肝纤维化中的表达. *中华实用诊断与治疗杂志* 2008; 22: 724-725
- 邓琰, 马庆久, 鲁建国, 任朝霞, 邓明福. 血管内皮细胞生长因子在肝硬化门静脉高压症中的表达及其意义. *陕西医学杂志* 2003; 32: 99-100
- Brodsky SV, Mendelev N, Melamed M, Ramaswamy G. Vascular density and VEGF expression in hepatic lesions. *J Gastrointest Liver Dis* 2007; 16: 373-377
- Paternostro C, David E, Novo E, Parola M. Hypoxia, angiogenesis and liver fibrogenesis in the progression of chronic liver diseases. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 281-288
- Valfrè di Bonzo L, Novo E, Cannito S, Busletta C, Paternostro C, Povero D, Parola M. Angiogenesis and liver fibrogenesis. *Histol Histopathol* 2009; 24: 1323-1341
- Wynn TA. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J Pathol* 2008; 214: 199-210
- Corpechot C, Barbu V, Wendum D, Kinnman N, Rey C, Poupon R, Housset C, Rosmorduc O. Hypoxia-induced VEGF and collagen I expressions are associated with angiogenesis and fibrogenesis in experimental cirrhosis. *Hepatology* 2002; 35: 1010-1021
- Jaroszewicz J, Januszkiewicz M, Flisiak R, Rogalska M, Kalinowska A, Wierzbicka I. Circulating vascular endothelial growth factor and its soluble receptors in patients with liver cirrhosis: possible association with hepatic function impairment. *Cytokine* 2008; 44: 14-17
- 叶春华, 刘浔阳. 静脉应用血管内皮生长因子治疗肝硬化门静脉高压症大鼠的实验研究. *中国医学工程* 2005; 13: 232-235, 239
- Perry BN, Arbiser JL. The duality of angiogenesis: implications for therapy of human disease. *J Invest Dermatol* 2006; 126: 2160-2166
- Poordad FF, Sigal SH, Brown RS. Pathophysiologic basis for the medical management of portal hypertension. *Expert Opin Pharmacother* 2009; 10: 453-467
- 马秀现, 李晶义. 干细胞移植联合血管内皮生长因子对门静脉高压症大鼠腹膜后交通支形成的影响. *中国组织工程研究与临床康复* 2008; 12: 7451-7454
- Ueno T, Nakamura T, Torimura T, Sata M. Angiogenic cell therapy for hepatic fibrosis. *Med Mol Morphol* 2006; 39: 16-21
- 陈之白, 黄源. 血管内皮生长因子与门脉高压症及其并发症的研究现状. *广西医学* 2008; 30: 218-220
- 梅瑞平, 陈旭瑜, 熊江琴, 周槐娜. 肝硬化门脉高压的药物治疗进展. *江西医药* 2010; 45: 67-71
- Bosch J, Berzigotti A, Garcia-Pagan JC, Abraldes JG. The management of portal hypertension: rational basis, available treatments and future options. *J Hepatol* 2008; 48 Suppl 1: S68-S92

编辑 曹丽鸥 电编 吴鹏朕

塞来昔布在胆管炎中的抗增殖作用

陈文龙, 蒋力生, 李富宇

陈文龙, 蒋力生, 李富宇, 四川大学华西医院胆道外科 四川省成都市 610041

陈文龙, 2007年四川大学在读硕士, 主要从事肝胆胰疾病的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30801111

作者贡献分布: 陈文龙与蒋力生对此文所作贡献均等; 此课题选题及审校由蒋力生完成; 课题设计由陈文龙和李富宇完成; 课题实施、文献检索、数据分析及撰写由陈文龙完成。

通讯作者: 蒋力生, 教授, 610041, 四川省成都市外南国学巷37号, 四川大学华西医院胆道外科. chengwenlong7@sohu.com
电话: 028-85422465

收稿日期: 2010-03-30 修回日期: 2010-04-29

接受日期: 2010-05-10 在线出版日期: 2010-06-18

Anti-proliferation activity of celecoxib in cholangitis

Wen-Long Chen, Li-Sheng Jiang, Fu-Yu Li

Wen-Long Chen, Li-Sheng Jiang, Fu-Yu Li, Department of Biliary Surgery, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30801111

Correspondence to: Professor Li-Sheng Jiang, Department of Biliary Surgery, West China Hospital of Sichuan University, 37 Wainanguoxue Lane, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. chengwenlong7@sohu.com
Received: 2010-03-30 Revised: 2010-04-29

Accepted: 2010-05-10 Published online: 2010-06-18

Abstract

AIM: To investigate the application value of celecoxib in treating chronic proliferative cholangitis (CPC).

METHODS: Thirty healthy male Sprague-Dawley rats were randomly divided into three groups: sham-operation group ($n = 10$), CPC model group ($n = 10$), and celecoxib therapy group ($n = 10$). CPC was induced in rats by inserting a 5-0 nylon suture into the common bile duct up to the porta hepatis retrogradely through the Vater papilla. Rats in the sham-operation group only underwent abdominal wall incision and suturing. Celecoxib [50 mg/(kg·d)] was injected into the abdominal cavity of each rat in the therapy group from day 1 after operation. All rats were executed 1 wk after operation. The anti-proliferation activity of celecoxib was evaluated by hematoxylin and eosin (HE) staining, periodic acid-Schiff (PAS) staining, Masson

staining and immunohistochemistry staining of the biliary epithelial mucosa, submucosal gland and collagen fiber in the bile duct wall of CPC rats.

RESULTS: The proliferative degree of the biliary epithelial mucosa and submucosal gland as well as the fibrotic degree of the biliary wall in the celecoxib therapy group were obviously lower than those in the CPC group, but still higher than those in the sham-operation group. Immunohistochemistry analysis showed that the expression intensity of cyclooxygenase 2 (COX-2) in the celecoxib therapy group was obviously inferior to that in the CPC model group ($IA: 8.62 \pm 0.19$ vs 35.27 ± 0.43 , $P < 0.05$), but close to that in the sham-operation group ($IA: 8.62 \pm 0.19$ vs 8.41 ± 0.13 , $P > 0.05$).

CONCLUSION: By down-regulating COX-2 expression, celecoxib can effectively inhibit the hyperplasia of the biliary epithelial mucosa, submucosal gland, and collagen fiber and reduce the amount of mucous glycoprotein secreted by the submucosal gland, thus holding the promise for controlling CPC and reducing the recurrence of intrahepatic bile duct stones.

Key Words: Chronic proliferative cholangitis; Celecoxib; Intrahepatic bile duct stone

Chen WL, Jiang LS, Li FY. Anti-proliferation activity of celecoxib in cholangitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(17): 1761-1766

摘要

目的: 探讨塞来昔布在慢性增生性胆管炎 (chronic proliferative cholangitis, CPC) 治疗中的应用价值。

方法: 健康♂SD大鼠30只, 随机分为3组: 假手术组($n = 10$), CPC模型组($n = 10$), 塞来昔布治疗组($n = 10$)。模型组及治疗组经十二指肠乳头向胆总管逆行插入5-0尼龙缝合线, 直至肝门。假手术组仅开腹后关腹。术后第1天开始治疗组予塞来昔布50 mg/(kg·d)腹腔注射。1 wk后处死动物。通过HE染色、Masson染色、PAS染色

■背景资料

肝内胆管结石病因复杂, 目前虽然有多种治疗措施, 但术后复发率高, 反复发作。通过对肝内胆管结石的病理学研究发现, 其基本病理改变为慢性增生性胆管炎, 通过对慢性增生性胆管炎的控制, 有望改变这一状况。

■同行评议者

房林, 副教授, 同济大学附属上海市第十人民医院普外科

■ 研发前沿

目前对肝内胆管结石的治疗方法主要集中在手术治疗和非手术治疗两方面,但对于术后的高复发率及对慢性增生性胆管炎的控制,尚无有效方法。

及免疫组织化学评估塞来昔布能否对CPC中过度增殖的胆管黏膜上皮、黏膜下腺体、胆管壁胶原纤维产生抑制作用及其效果。

结果: 塞来昔布治疗组胆管黏膜上皮、黏膜下腺体、胆管壁胶原纤维的增殖较CPC模型组受到明显的抑制,但略高于假手术组,免疫组织化学示环氧化酶2(cyclooxygenase 2, COX-2)表达明显弱于CPC模型组(IA值: 8.62 ± 0.19 vs 35.27 ± 0.43 , $P < 0.05$),与假手术组接近(IA值: 8.62 ± 0.19 vs 8.41 ± 0.13 , $P > 0.05$)。

结论: 塞来昔布可通过对COX-2的表达抑制,有效抑制胆管黏膜上皮、黏膜下腺体、管壁胶原纤维的过度增殖,降低黏蛋白的高分泌,从而有望控制CPC,降低肝内胆管结石术后复发率。

关键词: 慢性增生性胆管炎; 塞来昔布; 肝内胆管结石

陈文龙, 蒋力生, 李富宇. 塞来昔布在胆管炎中的抗增殖作用. 世界华人消化杂志 2010; 18(17): 1761-1766
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1761.asp>

0 引言

肝内胆管结石(intrahepatic bile duct stone)是亚太地区常见病,近年来,其相对发病率明显下降,但这种患者的绝对数量仍然很多^[1],且有癌变可能^[2-5],其治疗一直十分棘手。通过对肝内胆管结石的病理学研究发现,75%-100%的亚太地区肝内胆管结石患者均是以反复发作的慢性增生性胆管炎(chronic proliferative cholangitis, CPC)为病理学基础^[6,7],根除CPC有助于降低肝内胆管结石术后复发率和胆道再狭窄率^[8,9]。塞来昔布为环氧化酶2(cyclooxygenase-2, COX-2)选择性抑制剂,多项研究发现其有确切的抗增殖作用^[10-14]。我们拟用CPC动物模型来探讨塞来昔布能否对过度增殖的胆管黏膜上皮、黏膜下腺体及胆管胶原纤维产生抑制作用及其效果,从而达到控制肝内胆管结石复发的目的。

1 材料和方法

1.1 材料 健康SD大鼠30只,♂,体质量200-250 g,由四川大学华西实验动物供应站提供。塞来昔布为辉瑞制药有限公司产品。苏木素和伊红均为自配。PAS染色试剂盒及Masson染色试剂盒(广州市俪科贸易有限公司)。COX-2一抗(Bios公司,货号bs-0732R)。二抗系统是DAKO公司的

Envision™(K5007)兔鼠双标检测系统。

1.2 方法

1.2.1 造模: 将大鼠随机分为假手术组(10只),CPC模型组(10只),塞来昔布治疗组(10只),适应性饲养1 wk,新眠灵0.5 mg/kg肌肉注射麻醉大鼠后,仰卧固定,腹部消毒,正中切口入腹。假手术组仅开腹后关腹。对照组及治疗组参照Park等^[15]介绍的方法,建立动物模型。治疗组于术后第1天开始予塞来昔布50 mg/(kg·d)腹腔注射。

1.2.2 标本采集: 术后1 wk处死动物,分离切开大鼠的全部胆总管后,置于100 g/L甲醛中固定,常规行HE染色、PAS染色、Masson染色,采用Envision双抗法,行COX-2的免疫组织化学检测。

1.2.3 图像分析: 用美国Nikon&Spot图像采集系统采集图像,Image-proplus 4.5分析软件(美国Media Cybernetic公司)进行图像分析。COX-2阳性表达为细胞膜及细胞质可见棕黄色颗粒的阳性反应物。计算方法:切片在光镜下按统一放大倍数(400倍)进行分析,五名操作者独立将每张切片按等距抽样原则随机摄取5个视野,输入计算机作为测定视场。选取积分吸光度值(LA)作为参数进行计算。

统计学处理 应用SPSS 12.0软件进行分析处理,计量资料以mean±SD表示,各组间比较用方差分析(One-way ANOVA),两两比较用LSD过程。 $P < 0.05$ 为差异显著标准。

2 结果

2.1 大体病理观察 在标本采集时,通过对各分组大鼠的胆管进行大体病理学观察发现,CPC模型组的胆管直径明显增粗,慢性炎症反应十分明显,管腔内可见浑浊胆汁(图1B)。塞来昔布治疗组的胆管直径及炎症较CPC模型组明显减轻(图1C),但仍大于假手术组(图1A)。

2.2 HE染色观察 CPC模型组的胆管壁呈十分明显的慢性增生性改变,胆管黏膜上皮呈乳头样增生,黏膜下腺体也增生明显,并被广泛增生的致密纤维结缔组织包裹(图2B)。塞来昔布治疗组的胆管黏膜上皮及黏膜下腺体、纤维结缔组织增生均较模型组减轻(图2C),但与假手术组(图2A)相对,仍有少数增生的黏膜下腺体。

2.3 PAS染色观察 PAS染色下黏液糖蛋白阳性表达呈紫红色,CPC模型组胆管PAS染色明显增强,阳性物质主要位于胆管的黏膜下腺体的细胞表面及部分细胞质和黏膜上皮细胞表面(图3B),塞

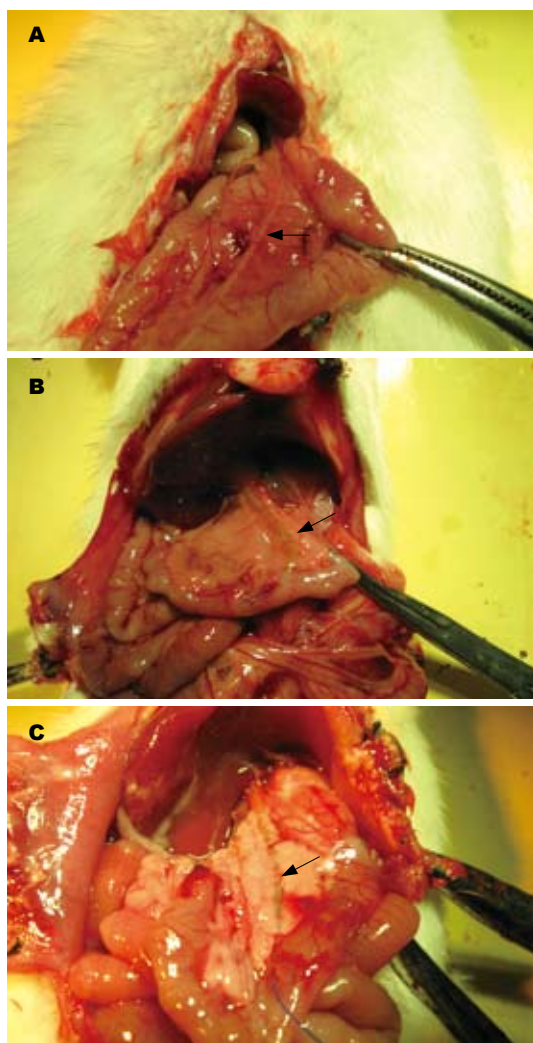


图 1 胆管大体病理观察(箭头所指为胆管). A: 假手术组; B: CPC模型组; C: 塞来昔布治疗组.

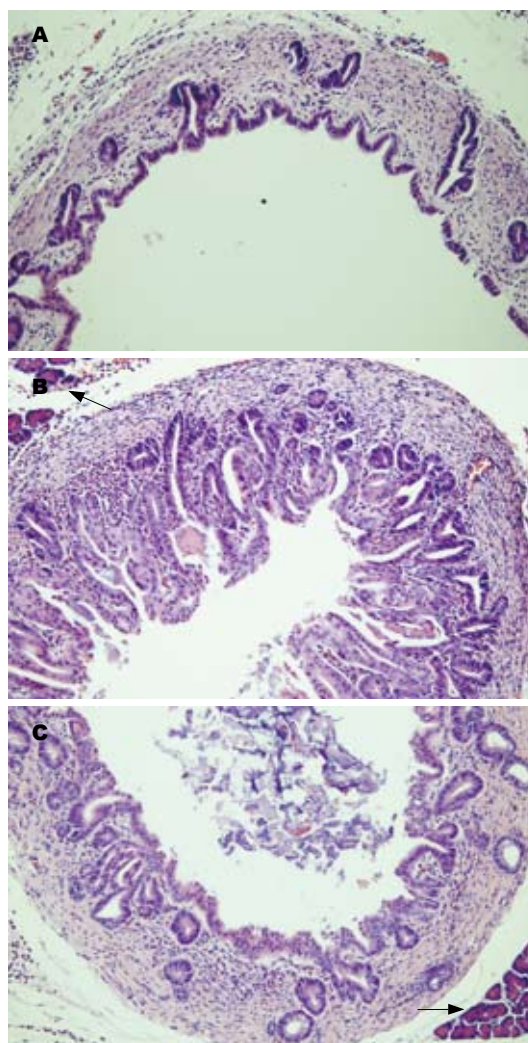


图 2 胆管HE染色观察(箭头所指为胰腺组织). A: 假手术组; B: CPC模型组; C: 塞来昔布治疗组.

■创新盘点

塞来昔布为环氧化酶2选择性抑制剂, 研究表明其对多种肿瘤细胞具有抗增殖作用, 本文通过动物实验研究了其是否对慢性增生性胆管炎过度增殖的黏膜上皮、黏膜下腺体及胆管壁胶原纤维和高分泌的黏液糖蛋白具有抑制作用.

来昔布治疗组(图3C)和假手术组(图3A)的PAS染色则明显减弱, 但塞来昔布治疗组的阳染物质仍稍多于假手术组.

2.4 Masson染色观察 Masson染色下胶原纤维呈蓝色, CPC模型组动物胆管壁胶原纤维明显增生, 增生的黏膜下腺体也被周围的胶原纤维所包绕(图4B), 而塞来昔布治疗组(图4C)较假手术组(图4A)胶原纤维仅轻度增生.

2.5 COX-2的免疫组织化学检测结果 COX-2阳性表达为细胞膜和细胞质出现棕黄色颗粒的阳性反应物. CPC模型组可见大量的COX-2阳染于增生的胆管黏膜上皮及黏膜下腺体的细胞膜和细胞质(图5B). 以积分吸光度(IA)作为参数来量化各组间的COX-2表达, 塞来昔布治疗组较CPC模型组COX-2阳染明显减弱(IA值: 8.62 ± 0.19 vs 35.27 ± 0.43 , $P < 0.05$)(图5C), 和假手术组接近(IA值: 8.62 ± 0.19 vs 8.41 ± 0.13 , $P > 0.05$)(图5A).

3 讨论

肝内胆管结石指左右肝管汇合部以上的胆管结石, 其病因与胆道细菌感染、寄生虫感染、饮食习惯、胆汁淤积、先天解剖异常、免疫因素等多种因素有关, 多为胆色素结石. 近年来, 肝内胆管结石发病率明显下降, 相对发病率下降至5%左右, 但患者的绝对数量仍然很多, 并有发展为胆管癌的可能, 治疗十分棘手^[1-5]. 目前, 肝内胆管结石的治疗以外科治疗为主, 基本原则为“取尽结石, 解除梗阻, 去除病灶, 通畅引流”. 主要术式有: 肝叶(肝段)切除术, 肝门部狭窄胆管切开整形、取石、胆肠内引流术, 及晚期的肝移植术^[6]. 腹腔镜及纤维内镜的运用使患者痛苦减少, 治愈率提高^[17-20]. 但对于结石的复发, 总体治疗效果欠佳, 术后4-10年的复发率可达4.2%-40%^[6,21,22]. 究其原因, 主要是术后胆道狭窄的存在与再狭窄, 胆汁黏稠, 胆道感染未廓清

■应用要点

塞来昔布以慢性增生性胆管炎为治疗靶点,对提高肝内胆管结石的远期疗效具有良好的潜在性应用前景。

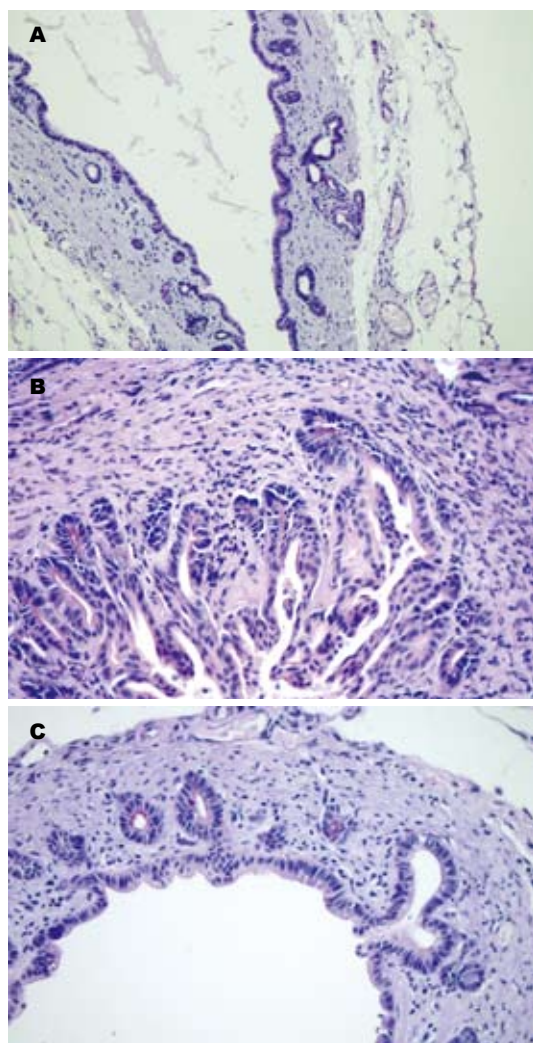


图3 胆管PAS染色观察. A: 假手术组; B: CPC模型组; C: 塞来昔布治疗组.

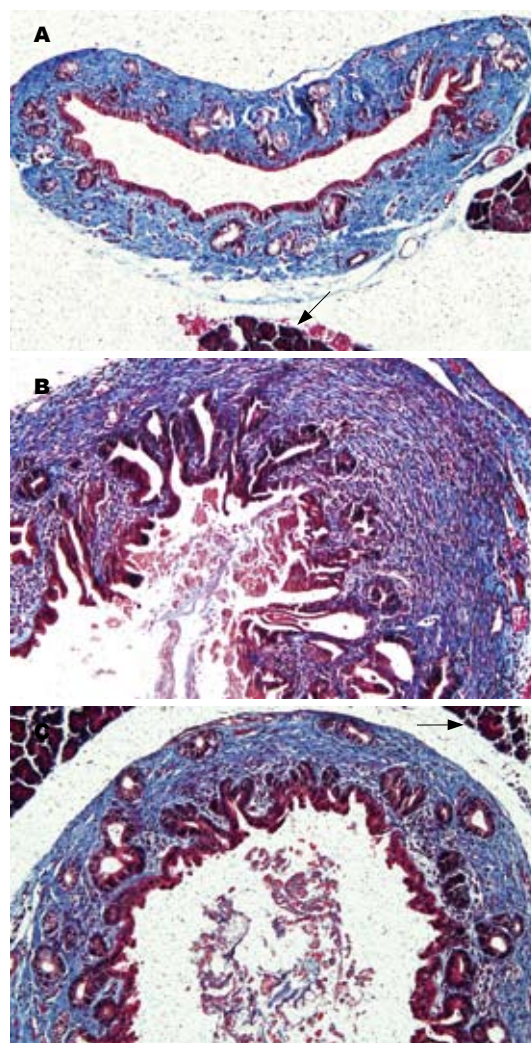


图4 胆管Masson染色观察(箭头所指为胰腺组织). A: 假手术组; B: CPC模型组; C: 塞来昔布治疗组.

等因素有关. 而这些因素, 主要是由于肝内胆管结石的基本病理改变CPC所致^[7,23,24]. 因此, CPC成为预防肝内胆管结石复发的理想治疗靶点.

我国肝内胆管结石患者均是以反复发作的CPC为其病理学基础^[6,7]. CPC主要表现为胆管黏膜上皮、管壁腺体及管壁、管周纤维组织的增生. 增生的组织导致管壁增厚、管腔狭窄、胆汁淤积. 增生的腺体分泌大量的黏液糖蛋白、酸性黏多糖等物质, 导致胆汁黏稠, 加重胆汁淤积, 促进成石^[8,9]. 胆汁中黏液糖蛋白具有凝胶性、粘弹性及脂结合性, 其分泌的增加导致胆汁黏稠、淤积, 胆石形成^[25]. 胆汁淤积导致胆汁中细菌繁殖, 通过 β -G等途径, 进一步促进成石, 并导致胆管上皮特别是腺上皮的感染. 炎症感染进一步加重腺体的增殖, 增加黏液糖蛋白等的分泌, 如此反复. 增生的纤维组织将腺体包裹, 腺体周围小血管也因反复炎症刺激狭窄或闭塞, 药物难于到达局部, 感染不易廓清^[26]. 一旦条件

形成, 细菌再次大量繁殖, 最终导致肝内胆管结石的高复发率. 迁延不愈的胆管炎症, 致胆管上皮及腺上皮增生活跃, 发生不典型增生较多, 极易癌变. 能否应用塞来昔布对CPC抑制成为本研究的最初设想.

塞来昔布为COX-2选择性抑制剂. 环氧酶是花生四烯酸转换为前列腺素类物质的关键限速酶, 包括两种同工酶: COX-1和COX-2. COX-1为人体固有酶, 生理情况下广泛分布于各种组织, 调节机体功能; COX-2是一种可诱导型酶, 在正常组织中水平很低, 在炎症、内毒素及致癌物等诱导下, 可异常表达, 促进前列腺素类物质的生成. 胆管上皮细胞受到结石、细菌、炎症等刺激后, 亦可使COX-2表达上调, 促进前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2)的生成^[27,28]. PGE2生成增多, 可介导产生和分泌黏蛋白^[29-31]. COX-2抑制剂通过对COX-2的选择性抑制, 减少前列腺素类物质的释放, 从而减少黏蛋白的生成, 抑制成

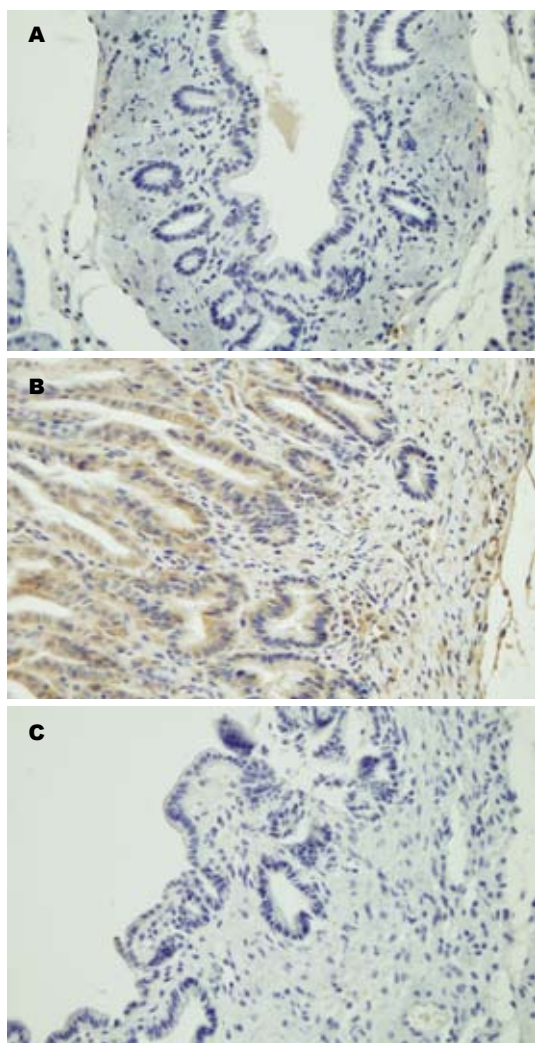


图 5 胆管COX-2的免疫组织化学检测结果. A: 假手术组; B: CPC模型组; C: 塞来昔布治疗组.

石. 已有研究发现COX-2抑制剂NS-398可显著减少炎症介质PGE₂的产生, 从而阻止黏蛋白的高分泌和高表达^[32]. 作为与NS-398同为COX-2选择性抑制剂的塞来昔布, 多项研究表明其有确切的抗增殖作用^[10-14]. 基于此, 本研究探讨了塞来昔布是否对CPC过度增殖的胆管黏膜上皮、黏膜下腺体及胆管壁胶原纤维和高分泌的黏液糖蛋白产生抑制作用.

结果显示, 通过塞来昔布的干预, CPC的黏膜上皮、黏膜下腺体和管壁纤维组织的增殖受到了明显的抑制. 外观上, 胆管直径减小, 胆管质地变软, 管壁炎症反应减轻; PAS阳性染色表达强度明显下降, 提示黏液糖蛋白这一成石初期主要的成核因素分泌下降; Masson染色下观察, 胆管壁胶原纤维的增殖亦受到明显抑制. 故塞来昔布对CPC的抗增殖及黏液糖蛋白的分泌抑制效果明显. 通过对COX-2表达的研究发现,

CPC模型组COX-2的表达明显高于假手术组; 经塞来昔布干预后, COX-2的表达明显下降, 与假手术组相比无显著差异性. 据此我们推测, 塞来昔布是通过COX-2途径来发挥其作用的.

总之, 我们认为, 塞来昔布在CPC中具有确切的抗增殖作用, 亦能抑制黏液糖蛋白的高分泌, 对于肝内胆管结石术后复发率和胆管再狭窄率的降低, 有望产生较好的效果. 然而, 有资料表明, 塞来昔布有增加心血管病发病的危险^[33]. 亦发现机制不明的塞来昔布介导的肝损害^[34]. 但通过局部用药, 有望使这一不良反应降到最低. 权衡利弊, 塞来昔布以CPC为治疗靶点, 对于提高肝内胆管结石的远期疗效, 具有良好的潜在性应用前景.

4 参考文献

- 1 黄志强. 肝内胆管结石肝切除手术的演变. 中国现代普通外科进展 2009; 12: 1-2
- 2 Zhou H, Wang H, Zhou D, Wang H, Wang Q, Zou S, Tu Q, Wu M, Hu H. Hepatitis B virus-associated intrahepatic cholangiocarcinoma and hepatocellular carcinoma may hold common disease process for carcinogenesis. *Eur J Cancer* 2010; 46: 1056-1061
- 3 Cheon YK, Cho YD, Moon JH, Lee JS, Shim CS. Evaluation of long-term results and recurrent factors after operative and nonoperative treatment for hepatolithiasis. *Surgery* 2009; 146: 843-853
- 4 Eun JR, Jang BI, Lee JY, Kim KO, Lee SH, Kim TN, Lee HJ. [Clinical characteristics of intrahepatic cholangiocarcinoma and prognostic factors in patients who received non-surgical treatment] *Korean J Gastroenterol* 2009; 54: 227-234
- 5 Han SL, Zhou HZ, Cheng J, Lan SH, Zhang PC, Chen ZJ, Zeng QQ. Diagnosis and surgical treatment of intrahepatic hepatolithiasis associated cholangiocarcinoma. *Asian J Surg* 2009; 32: 1-6
- 6 Yoshida M, Yamamoto N, Nitta T, Uehara T, Terao R, Hatano E, Iimuro Y, Yamaoka Y. Suppression of proliferative cholangitis by E2F decoy oligodeoxynucleotide. *J Surg Res* 2002; 102: 95-101
- 7 Li FY, Cheng NS, Mao H, Jiang LS, Cheng JQ, Li QS, Munireddy S. Significance of controlling chronic proliferative cholangitis in the treatment of hepatolithiasis. *World J Surg* 2009; 33: 2155-2160
- 8 Terao R, Honda K, Hatano E, Uehara T, Yamamoto M, Yamaoka Y. Suppression of proliferative cholangitis in a rat model with direct adenovirus-mediated retinoblastoma gene transfer to the biliary tract. *Hepatology* 1998; 28: 605-612
- 9 Li F, Cheng J, He S, Li N, Zhang M, Dong J, Jiang L, Cheng N, Xiong X. The practical value of applying chemical biliary duct embolization to chemical hepatectomy for treatment of hepatolithiasis. *J Surg Res* 2005; 127: 131-138
- 10 Venkatesan P, Das S, Krishnan MM, Chakraborty C, Chaudhury K, Mandal M. Effect of AEE788 and/or Celecoxib on colon cancer cell morphology using advanced microscopic techniques. *Micron* 2010; 41: 247-256
- 11 Amrite AC, Kompella UB. Celecoxib inhibits proliferation of retinal pigment epithelial and choroid-

■名词解释

慢性增生性胆管炎: 表现为胆管黏膜上皮、管壁腺体及管壁、管周纤维组织的增生. 增生的组织导致管壁增厚、管腔狭窄、胆汁淤积. 增生的腺体分泌大量的黏液糖蛋白、酸性黏多糖等物质, 导致胆汁黏稠, 加重胆汁淤积, 促进成石.

同行评价

本研究选题尚可,可能有一定的临床应用价值,但需进一步研究。

- retinal endothelial cells by a cyclooxygenase-2-independent mechanism. *J Pharmacol Exp Ther* 2008; 324: 749-758
- 12 Peluffo GD, Stillitani I, Rodríguez VA, Diamant MJ, Klein SM. Reduction of tumor progression and paraneoplastic syndrome development in murine lung adenocarcinoma by nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Int J Cancer* 2004; 110: 825-830
- 13 Bozzo F, Bassignana A, Lazzarato L, Boschi D, Gasco A, Bocca C, Miglietta A. Novel nitro-oxy derivatives of celecoxib for the regulation of colon cancer cell growth. *Chem Biol Interact* 2009; 182: 183-190
- 14 吴高松, 刘正人, 邹声泉, 裘法祖. 塞来昔布(celecoxib)通过前列腺素E2途径影响胆管癌细胞株生长和凋亡. *外科理论与实践* 2003; 8: 137-144
- 15 Park SM, Choi JW, Kim ST, Cho MC, Sung RH, Jang LC, Park JW, Lee SP, Park YH. Suppression of proliferative cholangitis in a rat model by local delivery of paclitaxel. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2003; 10: 176-182
- 16 巨邦律, 方驰华. 原发性肝内胆管结石的诊断和外科治疗. *世界华人消化杂志* 2004; 12: 1413-1415
- 17 Machado MA, Makdissi FF, Surjan RC, Teixeira AR, Sepúlveda A Jr, Bacchella T, Machado MC. Laparoscopic right hemihepatectomy for hepatolithiasis. *Surg Endosc* 2008; 22: 245
- 18 Cai X, Wang Y, Yu H, Liang X, Peng S. Laparoscopic hepatectomy for hepatolithiasis: a feasibility and safety study in 29 patients. *Surg Endosc* 2007; 21: 1074-1078
- 19 Lee JK, Kim TK, Byun JH, Kim AY, Ha HK, Kim PN, Lee MG. Diagnosis of intrahepatic and common duct stones: combined unenhanced and contrast-enhanced helical CT in 1090 patients. *Abdom Imaging* 2006; 31: 425-432
- 20 Mori T, Sugiyama M, Atomi Y. Gallstone disease: Management of intrahepatic stones. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2006; 20: 1117-1137
- 21 Lee TY, Chen YL, Chang HC, Chan CP, Kuo SJ. Outcomes of hepatectomy for hepatolithiasis. *World J Surg* 2007; 31: 479-482
- 22 Uchiyama K, Onishi H, Tani M, Kinoshita H, Kawai M, Ueno M, Yamaue H. Long-term prognosis after treatment of patients with choledocholithiasis. *Ann Surg* 2003; 238: 97-102
- 23 Nakanuma Y, Yamaguchi K, Ohta G, Terada T. Pathologic features of hepatolithiasis in Japan. *Hum Pathol* 1988; 19: 1181-1186
- 24 Terada T, Nakanuma Y. Pathologic observations of intrahepatic peribiliary glands in 1,000 consecutive autopsy livers: IV. Hyperplasia of intramural and extramural glands. *Hum Pathol* 1992; 23: 483-490
- 25 陈燕凌, 殷凤峙, 黄建富, 黄长玉. 粘液糖蛋白成石作用的研究. *肝胆胰外科杂志* 1995; 21: 21-23
- 26 陈燕凌, 余菲菲, 黄建富, 黄长玉, 殷凤峙. 胆石病胆道感染不易廓清的原因. *中华实验外科杂志* 1996; 13: 73-74
- 27 Kuroki T, Tajima Y, Kanematsu T. Hepatolithiasis and intrahepatic cholangiocarcinoma: carcinogenesis based on molecular mechanisms. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2005; 12: 463-466
- 28 Shoda J, Ueda T, Kawamoto T, Todoroki T, Asano T, Sugimoto Y, Ichikawa A, Maruyama T, Nimura Y, Tanaka N. Prostaglandin E receptors in bile ducts of hepatolithiasis patients and the pathobiological significance for cholangitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2003; 1: 285-296
- 29 Phillipson M, Johansson ME, Henriksnäs J, Petersson J, Gendler SJ, Sandler S, Persson AE, Hansson GC, Holm L. The gastric mucus layers: constituents and regulation of accumulation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 295: G806-G812
- 30 Cho KN, Choi JY, Kim CH, Baek SJ, Chung KC, Moon UY, Kim KS, Lee WJ, Koo JS, Yoon JH. Prostaglandin E2 induces MUC8 gene expression via a mechanism involving ERK MAPK/RSK1/cAMP response element binding protein activation in human airway epithelial cells. *J Biol Chem* 2005; 280: 6676-6681
- 31 Shimamoto C, Fujiwara S, Kato M, Ito S, Katsu K, Mori H, Nakahara T. Inhibition of ACh-stimulated exocytosis by NSAIDs in guinea pig antral mucous cells: autocrine regulation of mucin secretion by PGE2. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 288: G39-G47
- 32 Kim HJ, Lee SK, Kim MH, Seo DW, Min YI. Cyclooxygenase-2 mediates mucin secretion from epithelial cells of lipopolysaccharide-treated canine gallbladder. *Dig Dis Sci* 2003; 48: 726-732
- 33 White WB, Faich G, Whelton A, Maurath C, Ridge NJ, Verburg KM, Geis GS, Lefkowitz JB. Comparison of thromboembolic events in patients treated with celecoxib, a cyclooxygenase-2 specific inhibitor, versus ibuprofen or diclofenac. *Am J Cardiol* 2002; 89: 425-430
- 34 El Hajj II, Malik SM, Alwakeel HR, Shaikh OS, Sasatomi E, Kandil HM. Celecoxib-induced cholestatic liver failure requiring orthotopic liver transplantation. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 3937-3939

编辑 曹丽鸥 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》入选《中国学术期刊评价研究报告—RCCSE 权威、核心期刊排行榜与指南》

本刊讯 《中国学术期刊评价研究报告-RCCSE权威、核心期刊排行榜与指南》由中国科学评价研究中心、武汉大学图书馆和信息管理学院联合研发,采用定量评价和定性分析相结合的方法,对我国万种期刊大致浏览、反复比较和分析研究,得出了65个学术期刊排行榜,其中《世界华人消化杂志》位居396种临床医学类期刊第45位。(编辑部主任:李军亮 2010-01-08)

莫苯唑酸对牛脂促进的大鼠结肠癌发生的影响

苗鲁杰, 白石良介, 藤濑刚弘, 柿本隆志, 岩切龙一, 藤本一真, 施瑞华, 李学良

苗鲁杰, 施瑞华, 李学良, 南京医科大学第一附属医院消化科 江苏省南京市 210029

白石良介, 藤濑刚弘, 柿本隆志, 岩切龙一, 藤本一真, 日本国立佐贺大学医学部消化器内科 日本佐贺县佐贺市锅岛 5-1-1 (849-8501)

苗鲁杰, 硕士在读, 主要从事结肠癌预防方面的研究。

作者贡献分布: 该课题由李学良、藤本一真及岩切龙一共同设计; 研究过程由苗鲁杰、白石良介及柿本隆志操作完成; 研究所用试剂及分析工具由白石良介提供; 数据分析由苗鲁杰与白石良介合作完成; 论文撰写由苗鲁杰完成; 藤濑刚弘与施瑞华协助课题设计并修改论文; 李学良最终审定论文。

通讯作者: 李学良, 副教授, 210029, 江苏省南京市广州路300号, 南京医科大学第一附属医院消化科, ligakur@yahoo.com.cn
电话: 025-83718836-6033

收稿日期: 2010-03-08 修回日期: 2010-04-28

接受日期: 2010-05-10 在线出版日期: 2010-06-18

Mofezolac suppresses beef tallow-promoted colon carcinogenesis in rats

Lu-Jie Miao, Ryosuke Shiraishi, Takehiro Fujise, Takashi Kakimoto, Ryuichi Iwakiri, Kazuma Fujimoto, Rui-Hua Shi, Xue-Liang Li

Lu-Jie Miao, Rui-Hua Shi, Xue-Liang Li, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Ryosuke Shiraishi, Takehiro Fujise, Takashi Kakimoto, Ryuichi Iwakiri, Kazuma Fujimoto, Department of Internal Medicine and Gastrointestinal Endoscopy, Saga Medical School, 5-1-1 Nabeshima, Saga 849-8501, Japan

Correspondence to: Associate Professor Xue-Liang Li, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, 300 Guangzhou Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. ligakur@yahoo.com.cn

Received: 2010-03-08 Revised: 2010-04-28

Accepted: 2010-05-10 Published online: 2010-06-18

Abstract

AIM: To investigate the effect of mofezolac, a selective cyclooxygenase (COX)-1 inhibitor, on beef tallow-promoted colon carcinogenesis in rats.

METHODS: One hundred and eight male Sprague-Dawley rats were used in this study. One group of rats were injected with azoxymethane (AOM) and fed diets containing different percentages of beef tallow (with or without 0.12% mofezolac) for 12 wk. Total aberrant crypt

foci (ACF) and multicrypt ACF were counted to evaluate the effect of mofezolac on early carcinogenesis. Another group of rats were injected with AOM or saline and fed a 10% beef tallow diet (with or without 0.12% mofezolac) for 44 wk to evaluate the effect of mofezolac on tumor incidence and number. To explore the mechanism behind the effect of mofezolac on carcinogenesis, the proliferation of normal-appearing colonic mucosa surrounding the tumor was evaluated by BrdU incorporation assay, and the expression of β -catenin in the normal-appearing colonic mucosa was analyzed by Western blot.

RESULTS: At week 12, the number of ACF in the mofezolac group was significantly lower than that in the control group ($P < 0.05$). At week 44, tumor incidence and multiplicity were significantly lower in the mofezolac group than in the control group (66.7% vs 100%, and 2.5 ± 2.3 vs 5.3 ± 1.2 , respectively; both $P < 0.05$). Proliferative cells were much fewer in the mofezolac group than in the control group (5 ± 0.82 vs 3.25 ± 0.50 ; 7.75 ± 0.96 vs 4.75 ± 0.50 , both $P < 0.05$). Besides, the distribution of proliferative cells in saline- and AOM-treated rats was similar to that under physiological condition. Down-regulation of β -catenin expression was also observed in the mofezolac group when compared with the control group.

CONCLUSION: Mofezolac effectively suppresses beef tallow-promoted colon carcinogenesis in rats probably by down-regulating β -catenin expression and inhibiting colonic proliferation.

Key Words: Aberrant crypt foci; Cyclooxygenase-1; β -catenin

Miao LJ, Shiraishi R, Fujise T, Kakimoto T, Iwakiri R, Fujimoto K, Shi RH, Li XL. Mofezolac suppresses beef tallow-promoted colon carcinogenesis in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(17): 1767-1772

摘要

目的: 探讨环氧化酶-1(COX-1)选择性抑制剂莫苯唑酸对牛脂促进的大鼠结肠癌发生的作用。

■背景资料

结肠癌是目前威胁人类健康的主要肿瘤之一, 在欧美等高饱和脂肪酸饮食习惯国家发病率较高。多种研究表明, 脂类可通过各种途径对结肠癌发生产生影响。本课题组先前研究表明, 牛脂饮食可促进化学诱导大鼠结肠癌发生。牛脂饮食大鼠结肠上皮具有高增殖、低凋亡表现, 肿瘤相关蛋白如 Wnt/ β -catenin、cyclin D1 有高表达。在中国, 由于饮食习惯向西方国家靠拢, 结肠癌发病率增长迅速。因此在高脂饮食人群中开展结肠肿瘤化学预防有积极意义。

■同行评议者

樊晓明, 主任医师, 复旦大学附属金山医院消化科

■研究前沿

COX-1在机体广泛表达,具有看家基因的功能,目前对其在肿瘤发生中作用的研究尚不多。

方法: SD♂大鼠共108只,腹腔注射AOM (azoxymethane)后予不同牛脂含量饲料(混合0.12%莫苯唑酸)12 wk,通过对结肠总ACF及多隐窝ACF(≥ 4 个异常隐窝/病灶)计数,评估莫苯唑酸对结肠肿瘤形成早期的影响;腹腔注射生理盐水或AOM后予以10%牛脂饲料(混合0.12%莫苯唑酸)44 wk,观察莫苯唑酸对肿瘤发病率及数量的影响。BrdU评估肿瘤周围外观正常黏膜的增殖状况,Western blot检测黏膜 β -catenin的表达,探讨莫苯唑酸影响肿瘤发生的可能机制。

结果: 12 wk时,莫苯唑酸组ACF尤其是多隐窝ACF显著低于对照组($P<0.05$)。44 wk时莫苯唑酸组肿瘤发病率及平均肿瘤数量分别为66.7%和 2.5 ± 2.3 , 低于对照组(100%、 5.3 ± 1.2)($P<0.05$);莫苯唑酸组隐窝增殖细胞的数量均显示出下降趋势(5 ± 0.82 vs 3.25 ± 0.50 ; 7.75 ± 0.96 vs 4.75 ± 0.50 , 均 $P<0.05$),且表现出趋向于生理分布的变化。 β -catenin表达均低于对照组($P<0.05$)。

结论: 莫苯唑酸可有效抑制牛脂促进的大鼠结肠癌发生,这可能与结肠隐窝上皮细胞 β -catenin的表达及增殖受到抑制有关。

关键词: 异常隐窝灶; 环氧化酶-1; β -catenin

苗鲁杰, 白石良介, 藤濑刚弘, 柿本隆志, 岩切龙一, 藤本一真, 施瑞华, 李学良. 莫苯唑酸对牛脂促进的大鼠结肠癌发生的影响. 世界华人消化杂志 2010; 18(17): 1767-1772
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1767.asp>

0 引言

结肠癌是世界范围内导致死亡的主要肿瘤之一,在欧美日等发达国家尤为显著^[1]。在我国,随着饮食结构的变化,其发病率呈逐年快速上升趋势。流行病学证实,高脂饮食(主要为饱和性脂肪酸)与结肠癌发病存在正相关^[2-5]。本实验室先前研究表明,牛脂饮食可通过Wnt/ β -catenin途径提高大鼠结肠癌的发病风险^[6]。考虑到饮食结构转变的困难性,化学预防或成为降低结肠癌更加现实有效的手段。流行病学及临床试验证实,长期摄入非甾体类抗炎药(non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)对结肠癌的发生具有抑制作用^[7]。作为NSAIDs的靶目标,环氧化酶(cyclooxygenase, COX)在花生四烯酸转化为前列腺素(prostaglandins, PGs)如前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2)中发挥着限速酶的作用,而后者参与了一系列肿瘤相关活动,如免疫

反应、细胞增殖、血管生成等^[8]。目前普遍认为,COX-2可催化合成前列腺素H2(prostaglandin H2, PGH2),后者进一步转化为PGE2,因此COX-2选择性抑制在结肠癌防治中有重要作用^[9,10]。但近年的研究表明,COX-2选择性抑制剂在安全性及有效性方面仍存在很大缺陷^[11,12],限制了其在临床的推广应用。另一方面,COX-1在机体内广泛表达,参与了多种生理功能如维持胃黏膜完整性,维持正常肾功能等^[13],其在肿瘤发生发展方面也具有重要作用^[14],但相关研究较少。异常隐窝灶(aberrant crypt foci, ACF)通常由单个或聚集成灶的异常隐窝组成。异常隐窝(aberrant crypt)不同于正常隐窝之处在于:开口呈锯齿状、裂隙状等多种形状;上皮层增厚;细胞核多表现为不典型增生等。ACF在结肠癌发生的早期即可出现。致癌剂处理后异常隐窝灶中隐窝的数量(crypt/foci)常随时间增长,且ACF常具有高水平的细胞增殖表现。ACF目前被认为是肿瘤前期或癌变前期损害^[15]。因此ACF在评估肿瘤发病风险中具有较高价值。Apc基因最早发现于家族腺瘤性息肉病(familial adenomatous polyposis, FAP)^[16],约85%散发型结肠癌显示具有Apc基因功能的丢失^[17]。目前普遍认为Apc基因的重要功能在于他可使聚集在细胞质内的 β -catenin不稳定化,进而被降解^[18-21],而后者参与了胚胎发育及肿瘤的发生^[18,19]。本研究旨在观察COX-1选择性抑制剂莫苯唑酸对牛脂饮食大鼠结肠癌发生的作用及对结肠隐窝增殖细胞和 β -catenin表达的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 清洁级SD大鼠108只,♂,周龄6 wk,购自佐贺大学动物中心,体质量约200 g,饲养环境为日本佐贺大学医学部动物中心SPF实验室,室温 $24^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$,相对湿度 $55\% \pm 5\%$,每12 h进行一次亮/暗循环,饲料、水均不受限。动物饲料由日本武田生物株式会社提供。氧化偶氮甲烷(azoxymethane, AOM)购自Sigma日本公司。细胞增殖检测试剂盒购自英国Amersham公司。莫苯唑酸由日本田辺三菱制药株式会社赠送。SZH10立体显微镜购自奥林巴斯公司。兔抗 β -catenin单克隆抗体购自美国Cell Signaling公司。

1.2 方法

1.2.1 分组及饲养: (1)ACF诱导: 36只大鼠随机分为3组,即常规饲料组,10%牛脂组,20%牛脂组,每组再分为单纯饲料组(对照组),单纯饲料

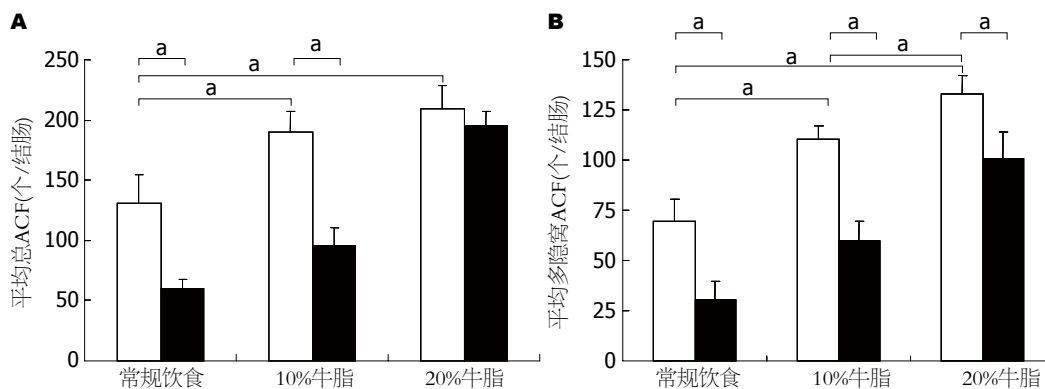


图1 莫苯唑酸对不同牛脂含量饮食大鼠ACF的影响。A: 平均总ACF的变化; B: 平均多隐窝ACF的变化。* $P<0.05$ 。

■ 相关报道
Nih o等报道
COX-1抑制剂可
显著降低化学诱
导大鼠结肠肿瘤的
发病率, 数量及
体积。

表1 44 wk时莫苯唑酸对AOM处理大鼠肿瘤形成的影响

分组	肿瘤发病率(%)		平均肿瘤数量(个/鼠)	
	生理盐水	AOM	生理盐水	AOM
牛脂组	0.0(0/6)	100.0(6/6)	0	5.3 ± 1.2
牛脂+ 莫苯唑酸组	0.0(0/6)	66.7(4/6) ^a	0	2.5 ± 2.3 ^a

^a $P<0.05$ vs 10%牛脂组。

+0.12%莫苯唑酸(莫苯唑酸组)2个亚组。各组大鼠第7, 8周龄时分别腹腔注射AOM 1次, 共2次, 剂量为15 mg/kg。第1次AOM注射后次日起, 各组予以相应饲料12 wk。(2)肿瘤诱导: 72只大鼠随机分为生理盐水、AOM注射2组, 每组再分为10%牛脂组, 10%牛脂+0.12%莫苯唑酸两个亚组, 注射流程同前, 各组予以相应饲料44 wk。

1.2.2 ACF计数: 实验开始后第12周, 过量麻醉处死ACF诱导大鼠后取出结肠, 沿肠系膜对侧纵轴剪开, 暴露内腔后固定于40 g/L甲醛24 h, 0.2%亚甲蓝甲醛溶液染色5 min, 生理盐水冲洗后SZH10立体显微镜下ACF计数。

1.2.3 肿瘤数量及发病率: 实验第44周时, 过量麻醉处死肿瘤诱导大鼠后取结肠组织, 于40 g/L甲醛固定, 计算肿瘤数量及发病率。

1.2.4 BrdU评估瘤体周围外观正常黏膜的增殖状况: 使用细胞增殖检测试剂盒BrdU结合法, 即第2次注射AOM后第44周时, 大鼠腹腔注射BrdU标记溶液10 mL/kg体质量, 2 h后取大鼠结肠。标本按照佐贺大学医学部免疫组织化学常规流程处理。40 g/L甲醛固定, 石蜡包埋并切片。采用DBA显色、苏木紫复染两步法, 检测结肠隐窝增殖细胞的数量和分布。分别依次加入一、二抗体^[6]。所有操作均按试剂盒说明书提供的浓度和流程进行。

1.2.5 收集结肠黏膜及提取蛋白: 使用玻片轻而快速的刮取结肠黏膜, PBS液离心清洗2次。刮取黏膜加入裂解液匀浆后, 1 000 g, 10 min离心, 而后以10 000 g、15 min, 1 000 000 g、1 h的条件分别依次离心上清液, 最终收集的上清液为胞质蛋白^[6]。

1.2.6 Western blot检测胞质 β -catenin的表达: 蛋白上样量40 μ g, 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离后转移至PVDF膜(美国Bio-Rad公司)。5%牛奶PBST液(Tween-20, 美国Sigma公司)4 $^{\circ}$ C封闭过夜。兔抗 β -catenin单克隆抗体, 工作浓度为1:500, β -actin为内参, 室温下孵育1 h。辣根过氧化物酶标记猴抗兔IgG(美国Affinity BioReagent公司)二抗室温孵育1 h, 工作浓度为1:500。ECL(英国Amersham公司)化学发光试剂盒检测杂交信号。使用Image Gauge VDS图像分析仪测定条带的光密度(日本Fujifilm公司), 以 β -catenin/ β -actin值代表蛋白的相对表达量。

统计学处理 使用SPSS11.5统计软件, 所得数值均以means \pm SD表示。采用独立样本 t 检验或方差分析LSD法; 发病率以百分比表示, 使用 χ^2 检验分析。 $P<0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 ACF及肿瘤的变化 牛油饮食可增加经AOM处理大鼠ACF数量, 多隐窝ACF数量与牛油呈剂量依赖关系, 莫苯唑酸可显著降低ACF的数量($P<0.05$, 图1)。对多隐窝ACF, 其抑制作用非常显著(图1B)。44 wk时, 肿瘤仅发生于AOM处理组, 莫苯唑酸组发病率及平均肿瘤数量分别为66.7%、2.5 \pm 2.3, 显著低于对照组的100%、5.3 \pm 1.2($P<0.05$, 表1)。

2.2 结肠隐窝增殖细胞的变化 生理盐水组中, 单纯牛油组与莫苯唑酸组BrdU阳性细胞分别为5.00 \pm 0.82、3.25 \pm 0.50; AOM处理组中, 牛油

■创新盘点

本研究首次提出COX-1抑制剂莫苯唑酸可抑制高脂饮食促进的结肠癌发生,为在高脂饮食人群中开展结肠癌的化学预防提供了实验依据。

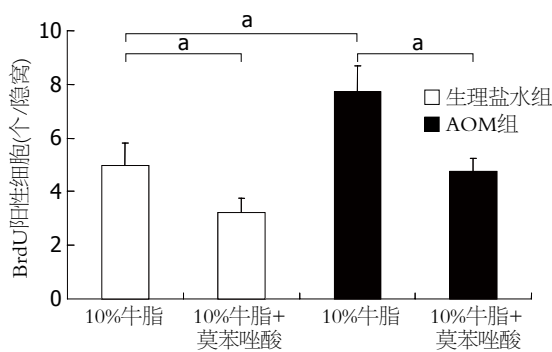


图2 莫苯唑酸对10%牛脂饮食大鼠正常黏膜增殖细胞数量的影响。* $P<0.05$ 。

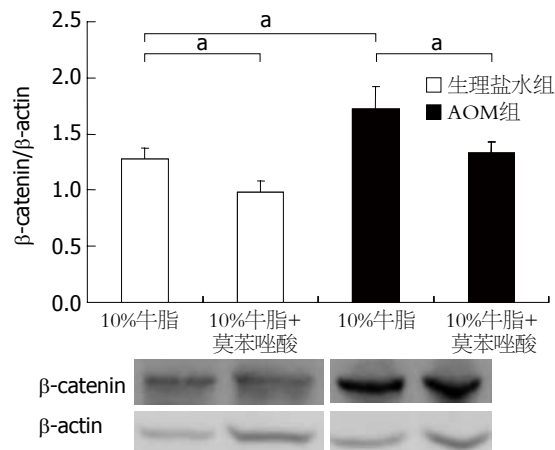


图4 莫苯唑酸对10%牛脂饮食大鼠正常黏膜β-catenin表达的影响。* $P<0.05$ 。

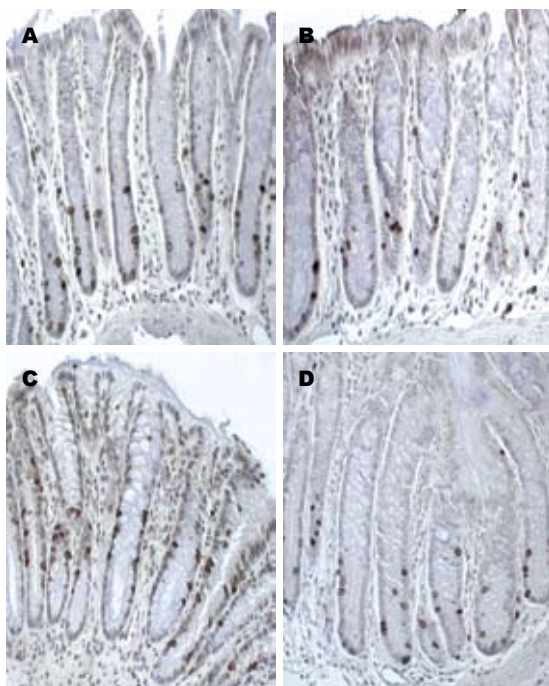


图3 莫苯唑酸对10%牛脂饮食大鼠隐窝增殖细胞分布的影响。A: 生理盐水; B: 生理盐水+莫苯唑酸; C: AOM; D: AOM+莫苯唑酸。

组与莫苯唑酸组BrdU阳性细胞则分别为 7.75 ± 0.96 、 4.75 ± 0.50 (图2)。生理盐水组大鼠BrdU阳性细胞由隐窝底部向开口分布(图3A), AOM处理组多在隐窝中上部广泛分布(图3C); 经莫苯唑酸处理两组BrdU阳性细胞则多限于隐窝的下部与基底部(图3B, D)。

2.3 胞质β-catenin表达的变化 AOM处理可提高β-catenin的表达水平, 莫苯唑酸处理两组β-catenin均低于各自对照组($P<0.05$, 图4)。

3 讨论

尽管结肠癌具有高发病率和高死亡率的特点, 但由正常结肠隐窝转变为腺瘤、腺癌瘤通常需要10-20年, 因此在结肠癌发生前尚有相当长的

窗口期, 这为结肠癌的有效预防提供了条件^[22]。

我们以往的研究证实, 10%牛脂可增加经AOM处理大鼠的结肠癌发生^[6]。COX-1在机体广泛表达, 具有看家基因的功能^[13], 目前对其在肿瘤发生中作用的研究尚不多。有研究表明, 结肠肿瘤组织内PGE2的含量明显高于其周边正常组织, 而COX-1及COX-2共同参与了PGE2的合成^[14]。在Min/+小鼠模型中, COX-1基因敲除可减少约80%息肉的发生^[14]。这都表明, COX-1在结肠肿瘤发生中可能具有重要作用。对于COX-1选择性抑制剂如莫苯唑酸能否抑制高脂饮食促进的结肠癌发生, 本实验尚属首次。本研究中12 wk时, 莫苯唑酸可有效抑制ACF的发生。44 wk时, 莫苯唑酸可显著降低结肠肿瘤的发病率及数量。这些数据显示, 莫苯唑酸在此模型中具有有良好的肿瘤抑制作用。有研究表明, n-6多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid, PUFA)及饱和脂肪酸(saturated fatty acid, SFA)可在结肠癌始发后和/或加速期发挥促肿瘤作用^[4,5,23,24]。我们的数据表明, COX-1在早晚期均参与了结肠癌的发生, 这一结果与目前已有研究一致^[14,25]。

肿瘤通常具有过度增殖的异常分化细胞的特点。结肠隐窝细胞增殖失调被认为是结肠癌变的最早事件之一, 如散发型结肠腺瘤^[26]。目前已有研究主要集中在肿瘤组织上, 由于早期病变及肿瘤多由正常黏膜转变而来, 因此, 对瘤体周围正常黏膜的研究可能揭示这一演变过程。我们先前曾证实, 不同的脂肪酸对结肠隐窝增殖细胞的数量及空间分布具有不同的影响^[6]。本研究中, 长期给予牛油的大鼠, 结肠增殖细胞在隐窝中呈由底部向上散在分布, 而经AOM处理大鼠增殖细胞则多分布于隐窝中部以上。这显

示出牛脂饮食大鼠尤其是AOM处理后其结肠隐窝具有较强的增殖能力。有研究表明, COX-1在保护结肠干细胞免受 γ 射线损伤中具有重要作用^[27]。被强致癌剂AOM损伤DNA的干细胞可通过COX-1来源PGE2而存活^[28]。上述两者均可产生基因损伤干细胞, 从而导致结肠癌发生^[27,28]。本实验中, 莫苯唑酸可显著减少增殖细胞数量, 并使其局限于隐窝底部, 这一分布与生理情况下相似^[29]。最近, Wu等^[30]的体外实验证实, COX-1抑制剂sc-560可降低结肠细胞增殖使细胞停滞于G₀/G₁期, 并诱导巨细胞自噬。可见, 作为COX-1选择性抑制剂, 莫苯唑酸似乎具有减少异常增殖细胞的能力, 从而防止其进一步发展导致结肠癌发生。

β -catenin信号通路在结肠隐窝的自我更新及干细胞转化为各细胞株的过程中有极为重要的作用^[18,19]。其信号失调可见于各种肿瘤患者, 如散发型结肠癌^[21]。 β -catenin在胞质内聚集后进入细胞核, 进而活化肿瘤相关基因如c-Myc、cyclin D1等, 导致肿瘤发生。由 β -catenin, GSK-3 β , Axin及Apc组成的 β -catenin降解复合物可在胞质降解 β -catenin, 避免其在胞质内聚集并向细胞核内转移^[6,21]。近年来有研究证实, β -catenin降解复合物与COX/PGE2通路有交联性^[31], PGE2可通过此复合物阻止 β -catenin的降解。作为COX-1抑制剂, 这可能部分解释莫苯唑酸抑制 β -catenin表达的作用。

尽管COX-1选择性抑制剂对结肠癌具有良好的预防作用, 其消化系统不良反应, 如胃溃疡, 胃肠道出血等仍是值得注意的问题。有文献报道, COX-1基因敲除鼠并没有消化系损伤表现, 甚至寿命更长^[14]。也有报道称在COX-1与COX-2同时抑制的情况下, 胃肠道损伤才会出现^[32]。以本实验中莫苯唑酸的使用剂量, 我们尚未观察到胃肠道损伤表现。但对此药物的长期安全性尚有待进一步研究。

总之, 长期摄入COX-1选择性抑制莫苯唑酸对牛脂饮食大鼠的结肠肿瘤发生具有良好的抑制作用。隐窝增殖细胞及 β -catenin表达的抑制可能参与了这一过程。对于高脂饮食人群而言, 莫苯唑酸可能是一种化学预防结肠癌的潜在药物。

4 参考文献

- 1 Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murray T, Thun MJ. Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin* 2008; 58: 71-96
- 2 Willett WC, Stampfer MJ, Colditz GA, Rosner BA, Speizer FE. Relation of meat, fat, and fiber intake

- to the risk of colon cancer in a prospective study among women. *N Engl J Med* 1990; 323: 1664-1672
- 3 Meyerhardt JA, Niedzwiecki D, Hollis D, Saltz LB, Hu FB, Mayer RJ, Nelson H, Whittom R, Hantel A, Thomas J, Fuchs CS. Association of dietary patterns with cancer recurrence and survival in patients with stage III colon cancer. *JAMA* 2007; 298: 754-764
- 4 Bird RP, Yao K, Lasko CM, Good CK. Inability of low- or high-fat diet to modulate late stages of colon carcinogenesis in Sprague-Dawley rats. *Cancer Res* 1996; 56: 2896-2899
- 5 Singh J, Hamid R, Reddy BS. Dietary fat and colon cancer: modulation of cyclooxygenase-2 by types and amount of dietary fat during the postinitiation stage of colon carcinogenesis. *Cancer Res* 1997; 57: 3465-3470
- 6 Fujise T, Iwakiri R, Kakimoto T, Shiraishi R, Sakata Y, Wu B, Tsunada S, Ootani A, Fujimoto K. Long-term feeding of various fat diets modulates azoxymethane-induced colon carcinogenesis through Wnt/ β -catenin signaling in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 292: G1150-G1156
- 7 Flossmann E, Rothwell PM. Effect of aspirin on long-term risk of colorectal cancer: consistent evidence from randomised and observational studies. *Lancet* 2007; 369: 1603-1613
- 8 Wang D, Dubois RN. Prostaglandins and cancer. *Gut* 2006; 55: 115-122
- 9 Tsujii M, Kawano S, Tsuji S, Sawaoka H, Hori M, DuBois RN. Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells. *Cell* 1998; 93: 705-716
- 10 Tsujii M, Kawano S, DuBois RN. Cyclooxygenase-2 expression in human colon cancer cells increases metastatic potential. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94: 3336-3340
- 11 Baron JA, Sandler RS, Bresalier RS, Lanos A, Morton DG, Riddell R, Iverson ER, Demets DL. Cardiovascular events associated with rofecoxib: final analysis of the APPROVe trial. *Lancet* 2008; 372: 1756-1764
- 12 Mukherjee D, Nissen SE, Topol EJ. Risk of cardiovascular events associated with selective COX-2 inhibitors. *JAMA* 2001; 286: 954-959
- 13 Vane JR, Bakhle YS, Botting RM. Cyclooxygenases 1 and 2. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1998; 38: 97-120
- 14 Chulada PC, Thompson MB, Mahler JF, Doyle CM, Gaul BW, Lee C, Tian HF, Morham SG, Smithies O, Langenbach R. Genetic disruption of Ptg-1, as well as Ptg-2, reduces intestinal tumorigenesis in Min mice. *Cancer Res* 2000; 60: 4705-4708
- 15 Takayama T, Katsuki S, Takahashi Y, Ohi M, Nojiri S, Sakamaki S, Kato J, Kogawa K, Miyake H, Niitsu Y. Aberrant crypt foci of the colon as precursors of adenoma and cancer. *N Engl J Med* 1998; 339: 1277-1284
- 16 Groden J, Thliveris A, Samowitz W, Carlson M, Gelbert L, Albertsen H, Joslyn G, Stevens J, Spirio L, Robertson M. Identification and characterization of the familial adenomatous polyposis coli gene. *Cell* 1991; 66: 589-600
- 17 Kinzler KW, Vogelstein B. Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell* 1996; 87: 159-170
- 18 Clevers H. Wnt/ β -catenin signaling in development and disease. *Cell* 2006; 127: 469-480
- 19 Klaus A, Birchmeier W. Wnt signalling and its impact on development and cancer. *Nat Rev Cancer* 2008; 8: 387-398
- 20 Morin PJ, Sparks AB, Korinek V, Barker N, Clevers H, Vogelstein B, Kinzler KW. Activation of β -

■应用要点

莫苯唑酸在临床上应用多年, 尚未有严重不良反应报告, 具有较好的临床应用前景。

■同行评价

本文对用COX-1选择性抑制剂用于结肠癌的化学预防提供了实验依据, 具有较好的学术价值.

- catenin-Tcf signaling in colon cancer by mutations in beta-catenin or APC. *Science* 1997; 275: 1787-1790
- 21 Su Y, Fu C, Ishikawa S, Stella A, Kojima M, Shitoh K, Schreiber EM, Day BW, Liu B. APC is essential for targeting phosphorylated beta-catenin to the SCFbeta-TrCP ubiquitin ligase. *Mol Cell* 2008; 32: 652-661
- 22 Winawer SJ. The multidisciplinary management of gastrointestinal cancer. Colorectal cancer screening. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2007; 21: 1031-1048
- 23 Wu B, Iwakiri R, Ootani A, Tsunada S, Fujise T, Sakata Y, Sakata H, Toda S, Fujimoto K. Dietary corn oil promotes colon cancer by inhibiting mitochondria-dependent apoptosis in azoxymethane-treated rats. *Exp Biol Med* (Maywood) 2004; 229: 1017-1025
- 24 Rao CV, Hirose Y, Indranie C, Reddy BS. Modulation of experimental colon tumorigenesis by types and amounts of dietary fatty acids. *Cancer Res* 2001; 61: 1927-1933
- 25 Takeda H, Sonoshita M, Oshima H, Sugihara K, Chulada PC, Langenbach R, Oshima M, Taketo MM. Cooperation of cyclooxygenase 1 and cyclooxygenase 2 in intestinal polyposis. *Cancer Res* 2003; 63: 4872-4877
- 26 Wong WM, Mandir N, Goodlad RA, Wong BC, Garcia SB, Lam SK, Wright NA. Histogenesis of human colorectal adenomas and hyperplastic polyps: the role of cell proliferation and crypt fission. *Gut* 2002; 50: 212-217
- 27 Cohn SM, Schloemann S, Tessner T, Seibert K, Stenson WF. Crypt stem cell survival in the mouse intestinal epithelium is regulated by prostaglandins synthesized through cyclooxygenase-1. *J Clin Invest* 1997; 99: 1367-1379
- 28 Riehl TE, George RJ, Sturmoski MA, May R, Dieckgraefe B, Anant S, Houchen CW. Azoxymethane protects intestinal stem cells and reduces crypt epithelial mitosis through a COX-1-dependent mechanism. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 291: G1062-G1070
- 29 Potten CS. Stem cells in gastrointestinal epithelium: numbers, characteristics and death. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1998; 353: 821-830
- 30 Wu WK, Sung JJ, Wu YC, Li HT, Yu L, Li ZJ, Cho CH. Inhibition of cyclooxygenase-1 lowers proliferation and induces macroautophagy in colon cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 382: 79-84
- 31 Castellone MD, Teramoto H, Williams BO, Druey KM, Gutkind JS. Prostaglandin E2 promotes colon cancer cell growth through a Gs-axin-beta-catenin signaling axis. *Science* 2005; 310: 1504-1510
- 32 Tanaka A, Araki H, Komoike Y, Hase S, Takeuchi K. Inhibition of both COX-1 and COX-2 is required for development of gastric damage in response to nonsteroidal antiinflammatory drugs. *J Physiol Paris* 2001; 95: 21-27

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《2009年版中国科技期刊引证报告》(核心版)发布 《世界华人消化杂志》2008年影响因子 0.547

本刊讯 中国科学技术信息研究所发布2008年《世界华人消化杂志》的总被引频次为2 480, 位居1 868种中国科技论文统计源期刊的第100位, 41种内科学类期刊的第6位. 2008年《世界华人消化杂志》的影响因子为0.547, 41种内科学类期刊的第17位. 大家最为关注的是《2009年版中国科技期刊引证报告》(核心版)中新增一个综合评价指标, 即综合评价总分, 该指标根据科学计量学原理, 系统性地综合考虑被评价期刊的各影响力指标(总被引频次、影响因子、他引率、基金论文比、引文率等)在其所在学科中的相对位置, 并按照一定的权重系数将这些指标进行综合集成, 对期刊进行综合评价. 《世界华人消化杂志》总分为49.5, 在41种内科学类期刊中排名第8位, 在1 868种中国科技期刊排名第341位. (编辑部主任: 李军亮 2010-01-08)

新疆汉族、维吾尔族及哈萨克族食管癌血清蛋白质指纹图谱

张昌明, 张建龙, 张琼, 张铸, 张海平, 孙清超, 丁旭, 刘钰莉, 伊力亚尔·夏合丁

张昌明, 张铸, 张海平, 孙清超, 丁旭, 刘钰莉, 伊力亚尔·夏合丁, 新疆医科大学第一临床学院胸外科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000

张建龙, 新疆医科大学基础学院 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000

张琼, 新疆医科大学第一临床学院检验科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000

张昌明, 2005年新疆医科大学在读博士, 主要从事食管癌研究。

新疆维吾尔自治区自然科学基金项目, No. 200821147

作者贡献分布: 张昌明与伊力亚尔·夏合丁对此文所作贡献均等; 此课题由张昌明、伊力亚尔·夏合丁及张建龙设计; 研究过程由张昌明、张琼、张铸、张海平及孙清超操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由张琼提供; 数据分析由张昌明、伊力亚尔·夏合丁及张琼完成; 本论文写作由张昌明、丁旭及伊力亚尔·夏合丁完成。

通讯作者: 伊力亚尔·夏合丁, 教授, 主任医师, 博士生导师, 830000, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市, 新疆医科大学第一临床学院胸外科, ilyarsha@hotmail.com

电话: 0991-4361528

收稿日期: 2010-02-05 修回日期: 2010-05-03

接受日期: 2010-05-18 在线出版日期: 2010-06-18

Identification of esophageal carcinoma-associated proteins by proteomics in Han, Uygur and Kazakh patients with esophageal carcinoma in Xinjiang, China

Chang-Ming Zhang, Jian-Long Zhang, Qiong Zhang, Zhu Zhang, Hai-Ping Zhang, Qing-Chao Sun, Xu Ding, Yu-Li Liu, Ilyar Sheyhidin

Chang-Ming Zhang, Zhu Zhang, Hai-Ping Zhang, Qing-Chao Sun, Xu Ding, Yu-Li Liu, Ilyar Sheyhidin, Department of Thoracic Surgery, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Jian-Long Zhang, Basic Medical College of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Qiong Zhang, Department of Clinical Laboratory Sciences, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Supported by: the Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region, No. 200821147

Correspondence to: Professor Ilyar Sheyhidin, Department of Thoracic Surgery, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. ilyarsha@hotmail.com

Received: 2010-02-05 Revised: 2010-05-03

Accepted: 2010-05-18 Published online: 2010-06-18

Abstract

AIM: To conduct a serum protein profile analysis in Han, Uygur and Kazakh patients with esophageal carcinoma (EC) in Xinjiang, China.

METHODS: Serum samples from patients with EC (43 Han, 43 Uygur and 41 Kazakh subjects) were detected by weak cation exchange (CM10) protein chip assay using surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (SELDI-TOF-MS) technology to screen differentially expressed serum markers for EC.

RESULTS: The peaks at the mass to charge ratios (M/Z) 4 310.0109, 8 713.0142 and 7 993.0223 were significantly different between Han and Uygur EC patients ($P < 0.05$). The peaks at M/Z 4 310.0184, 8 167.9277, 8 158.1117, 13 789.4864, 8 067.7056, 4 611.9098, 7 993.4422 and 16 146.8706 were significantly different between Han and Kazakh EC patients ($P < 0.05$). The peaks at M/Z 9 161.7944, 4 611.6342, 6 649.6163 and 4 979.3807 were significantly different between Uygur and Kazakh EC patients ($P < 0.05$). The peak at M/Z 4 310.0109 was highly expressed in Uygur and Kazakh patients but lowly expressed in Han patients.

CONCLUSION: The protein fingerprints are significantly different among Han, Uygur and Kazakh EC patients in Xinjiang, China, which can be used to build a diagnostic model of EC.

Key Words: Surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry; Esophageal carcinoma; Han; Kazakh; Serum; Proteomics

Zhang CM, Zhang JL, Zhang Q, Zhang Z, Zhang HP, Sun QC, Ding X, Liu YL, Ilyar SH. Identification of esophageal carcinoma-associated proteins by proteomics in Han, Uygur and Kazakh patients with esophageal carcinoma in Xinjiang, China. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(17): 1773-1779

摘要

目的: 探讨新疆主要民族之间食管癌患者血

■背景资料

食管癌是世界上最常见的恶性肿瘤之一, 居世界恶性肿瘤死亡的第6位, 难于早期诊断, 仅有少数患者能够及时接受手术, 因此在食管癌临床治疗没有取得突破性进展之前, 研究重点是对食管癌患者的血清蛋白质指纹图谱进行对比研究, 筛选血清特异性蛋白质, 以此来早期发现食管癌患者。

■同行评议者

李淑德, 主任医师, 中国人民解放军第二军医大学长海医院消化内科

■研究前沿

采用新的蛋白质组学方法,可以直接对食管癌患者血清进行分析,具有灵敏度高、检测样本量大的优点,其中,SELDI蛋白质指纹技术作为一种较新的质谱技术,擅长于检测小分子低丰度蛋白分子。目前其在美国已应用于卵巢癌和前列腺癌的诊断,其特异性和敏感性远远高于传统方法。

清蛋白质指纹图谱的差异。

方法: 用表面增强激光解吸电离飞行时间质谱技术(SELDI-TOF-MS)检测43例汉族、43例维吾尔族及41例哈萨克族食管癌血清蛋白质指纹图谱,所得结果用ZUCI-PDAS软件分析处理,筛选血清差异性蛋白质。

结果: 同民族间的血清蛋白质指纹图谱存在明显差异。汉族组与维吾尔族组中质荷比为4 310.0109, 8 713.0142, 7 993.0223的3个蛋白质峰差异具有统计学意义($P<0.05$);汉族组与哈萨克族食管癌组中质荷比为4 310.0184, 8 167.9277, 8 158.1117, 13 789.4864, 8 067.7056, 4 611.9098, 7 993.4422, 16 146.8706的8个蛋白质峰差异具有统计学意义($P<0.05$);维吾尔族组与哈萨克族组中质荷比分别为9 161.7944, 4 611.6342, 6 649.6163, 4 979.3807的4个蛋白质峰差异具有统计学意义($P<0.05$);质荷比4 310.0109的蛋白峰在汉族组中呈低表达,而在维吾尔族组和哈萨克族组中均呈高表达。在维吾尔族组和哈萨克族组之间该蛋白峰未见有差异。

结论: 汉族、维吾尔族及哈萨克族食管癌患者之间血清蛋白质指纹图谱的差异具有统计学意义,在新疆地区建立不同民族食管癌患者血清蛋白质指纹图谱疾病诊断模型有一定的临床意义。

关键词: 表面增强激光解吸电离飞行时间质谱;食管癌;汉族;维吾尔族;哈萨克族;蛋白指纹图谱

张昌明, 张建龙, 张琼, 张铸, 张海平, 孙清超, 丁旭, 刘钰莉, 伊力亚尔·夏合丁. 新疆汉族、维吾尔族及哈萨克族食管癌血清蛋白质指纹图谱. 世界华人消化杂志 2010; 18(17): 1773-1779

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1773.asp>

0 引言

食管癌是最常见的恶性肿瘤之一^[1]。居世界恶性肿瘤死亡的第6位^[2], 每年约30万人死于食管癌疾病。其流行病特征除了显著的地域分布差异之外, 民族分布差异亦是其主要的流行病学特征之一^[3]。食管癌发病率地区和种族差异很大。新疆是多民族的聚集区, 主要是哈萨克、维吾尔族、汉族和回族四个民族, 哈萨克族食管癌粗死亡率为89.82/10万, 其调整死亡率达68.88/10万^[4], 明显高于其他三个民族(汉族11.36/10万、维吾尔族13.01/10万、回族25.6/10万)。

随着蛋白质组学相关技术的迅速发展, 临床

血清蛋白质组学成为当今生命科学领域中极其活跃的学科^[5]。临床血清蛋白质组学从新的角度研究肿瘤, 寻找肿瘤标志物, 为肿瘤的早期诊断、预后和动态监测提供了重要依据。目前, 蛋白质组学研究包括双相凝胶电泳为主的蛋白质分离技术和以质谱技术、生物信息学为主的蛋白质鉴定技术^[6]。主要核心技术是蛋白质芯片^[7]。双向凝胶电泳技术(two-dimensional gel elec-trophoresis, 2-DE)是蛋白质组学研究中普遍应用的技术平台^[8-10]。其优点是能够同时分离大量蛋白质, 并通过蛋白质点染色的强度对其进行定量分析, 也可提供蛋白质翻译后修饰信息。但是2-DE技术也存在着一些不足之处, 如检测样本量少、重复性差、染色转移等环节操作困难等缺点^[11]。这些使其在蛋白质组学研究中的应用受到一定的制约。表面增强激光解吸电离飞行时间质谱技术(surface enhanced laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry, SELDI-TOF-MS)是一种新的蛋白质组学研究手段, 由Yip等^[12]将其应用于临床检测, 建立了多种疾病蛋白质指纹图谱诊断模型, SELDI-TOF-MS是发现肿瘤标志物最有希望的工具之一^[13,14], 被广泛应用于体液和组织蛋白的分析。食管癌是最常见的恶性肿瘤之一, 其发病率地区和种族差异很大。新疆是食管癌的高发区, 同时又是多民族聚集区。不同民族之间食管癌的血清蛋白质指纹图谱有无差异尚未见文献报道。我们采用该项技术对新疆地区主要民族(汉族、维吾尔族、哈萨克族)食管癌患者的血清蛋白质指纹图谱进行对比研究, 筛选血清特异性蛋白质。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2008-01/2008-08我院胸外科住院经手术病理诊断确诊为食管癌患者127例, 其中汉族43例, 男30例, 女13例, 年龄45-78(63.32±7.31)岁; 维吾尔族43例, 男30例, 女13例, 年龄40-69(55.07±7.80)岁; 哈萨克族41例, 男30例, 女11例, 年龄31-82(57.08±8.90)岁。所有食管癌患者于术前抽取清晨空腹前臂静脉全血5 mL。均已获患者知情同意。Protein Chip Biology System(PBS II-C)质谱仪、弱阳离子交换蛋白芯片(CM10蛋白芯片, Cip hergen Biosystems公司, US)。尿素(Urea)、乙腈(CAN)、3-[3-(胆酰胺基丙酸)二甲氨基]丙磺酸盐(CHAPS)、50%乙腈和0.5%三氟乙酸饱和溶液(SPA)。三羟甲基氨基甲烷盐酸盐(Tris-HCl)、二硫苏糖醇(DDT)等均购自

美国Sigma公司. 96孔细胞培养板购自美国BD公司.

1.2 方法

1.2.1 样品收集: 外周血采集后立即放入4℃冰箱静置20 min, 3 000 r/min, 于4℃离心5 min. 取上清加eppendorf管, 3 000 r/min, 4℃再次离心5 min, 0.5 mL eppendorf管分装(在干冰上分装), 100 μL每管, 放入-80℃冰箱保存. 每个样本至少三管以上. 溶血样本弃用.

1.2.2 样品的准备: 使用前自-80℃冰箱内取出样本, 冰上溶解30 min左右, 10 000 r/min, 在4℃离心2 min. 除去血清中的不溶物. 取5 μL血清加10 μL U9缓冲液(9 mol/L Urea, 2% CHAPS, 1% DTT)稀释混匀, 振荡器600 r/min 4℃振荡30 min. 然后向15 μL稀释样品中加185 μL醋酸钠缓冲液(50 mmol/L NaAC, pH4.0), 振荡器上混匀.

1.2.3 芯片预处理: (1)将CM10芯片安装于加样器(bioprocessor)内; (2)平衡芯片: 取醋酸钠缓冲液(50 mmol/L NaAC, pH4.0)200 μL/孔加入芯片的加样孔中, 平衡芯片2次, 每次5 min; (3)芯片上样: 取稀释后的血清样品100 μL/孔加入平衡好的芯片中的加样孔, 置芯片于振荡器振荡(4℃ 1 h); (4)样品洗脱: 取醋酸钠缓冲液(50 mmol/L NaAC, pH4.0)200 μL/孔加入芯片加样孔, 洗脱3次, 每次5 min. 取200 μL/孔的HPLC水冲洗芯片2次; (5)蛋白质获能: 卸下加样器, 待芯片表面自然晾干后, 取能量吸收剂SPA(含饱和芥子酸溶于50%乙腈和0.5%三氟乙酸)1 μL/孔加入芯片加样孔, 待自然挥发后再重复加SPA 1 μL/孔.

1.2.4 芯片检测: 将芯片置入蛋白芯片阅读机中, 用加有All-in-one标准蛋白质的NP20芯片校正仪器至0.1%范围内. 芯片阅读仪参数设置如下: 激光强度190, 检测灵敏度8, 收集数据的最高相对分子质量50 000 Da, 优化相对分子质量范围2 000-20 000 Da, 信号收集位置从20-80, 每个样本取144个点. Ciphergen Protein Chip 3.0软件收集数据并输出. 其中纵坐标为蛋白质相对含量, 横坐标为蛋白质质荷比.

统计学处理 采用浙江大学肿瘤研究所蛋白质质谱数据分析软件包(ZUCI-Protein Chip Data Analyze System软件包)分析所得到的数据. 即先将原始数据用离散小波分析去除噪声, 并减掉基线. 将各个样本种质荷比的差异小于0.30%的峰聚为一类. 用支持向量机方法建立蛋白质指纹图诊断模型, 用留一法交叉验证作为评估模型判别效果的方法. 特征向量的选取采用统计

表1 汉族与维吾尔族食管癌血清特异性蛋白质

蛋白质峰(M/Z)	平均峰强度		P值
	汉族组	维吾尔族组	
4 310.0109	201.8093	239.4164	0.023115
8 713.0142	1 605.8303	1 264.4156	0.032196
7 993.0223	383.6436	446.9580	0.044176
15 963.5803	261.4016	316.8008	0.053029
6 897.7447	277.0574	223.8065	0.067094
4 148.6997	218.9902	248.1421	0.071054
9 162.9468	125.3912	164.8305	0.078078
8 164.5504	131.2737	293.6366	0.081042
6 649.2984	2 334.8658	1 845.1582	0.088851
6 909.0273	218.5518	185.4641	0.090484

过滤结合模型依赖性筛选的方法. 对每个荷质比峰作Wilcoxon秩和检验, 检验水准 $\alpha = 0.05$, 选出P值最小的几个峰进一步分析. 将几个峰的任意组合用于支持向量机模型的输入, 用留一法评估模型的预测效果, 选出建立支持向量机模型预测的约登指数最高的组作为最终的候选标志物. 用Ciphergen Protein Chip 3.2.1软件初步筛选蛋白质峰. 获得血清蛋白质指纹图谱后, 用ZUCI-PDAS进行数据分析及统计学处理. 两组之间的蛋白质峰的比较采用Wilcoxon秩和检验, $P < 0.05$ 有统计学意义.

2 结果

2.1 汉族与维吾尔族食管癌血清蛋白质指纹图谱比较 比较43例汉族组与43例维吾尔族组食管癌血清蛋白质指纹图谱数据, 判别分析筛选出质荷比(M/Z)为4 310.0109, 8 713.0142, 7 993.0223的3个蛋白质峰差异具有统计学意义($P < 0.05$, 表1). 图1显示了在汉族组呈低表达而在维吾尔族组呈高表达的一个蛋白峰(4 310.0109)的质谱图. 用4 310.0109, 8 713.0142, 7 993.0223, 15 963.5803, 6 897.7447, 4 148.6997, 9 162.9468, 8 164.5504, 6 649.2984, 6 909.0273这10个蛋白质峰建立了汉族、维吾尔族食管癌血清蛋白指纹图谱验证模型. 用该分类树模型作为生物标志物来检测, 在学习模式下分组正确率均是100%(43/43), 在测试模式下分组正确率65.1%(28/43)和67.4%(29/43).

2.2 汉族与哈萨克族食管癌血清蛋白质指纹图谱比较 比较43例汉族组与41例哈萨克族食管癌组血清蛋白质指纹图谱数据, 经判别分析筛选出质荷比分别为4 310.0184, 8 167.9277,

■ 相关报道

王庆荣等应用SELDI-TOF-MS对新疆302例血清样本进行族别、性别之间的血清蛋白质指纹图谱的比较. 结果显示, 不同民族间的血清蛋白质指纹图谱存在明显差异, 汉族血清中4个差异蛋白质的丰度均低于维吾尔族和哈萨克族.

■创新盘点

实验再次验证 SELDI-TOF-MS 技术是筛选食管癌患者的血清潜在肿瘤标志物的方法之一。本研究首次发现质荷比 4 310.0109 的蛋白峰在汉族组中呈低表达,而在维吾尔族组和哈萨克族组中均呈高表达。在维吾尔族组和哈萨克族组之间该蛋白峰未见有差异。提示该蛋白可能是食管癌种族差异的特异蛋白。

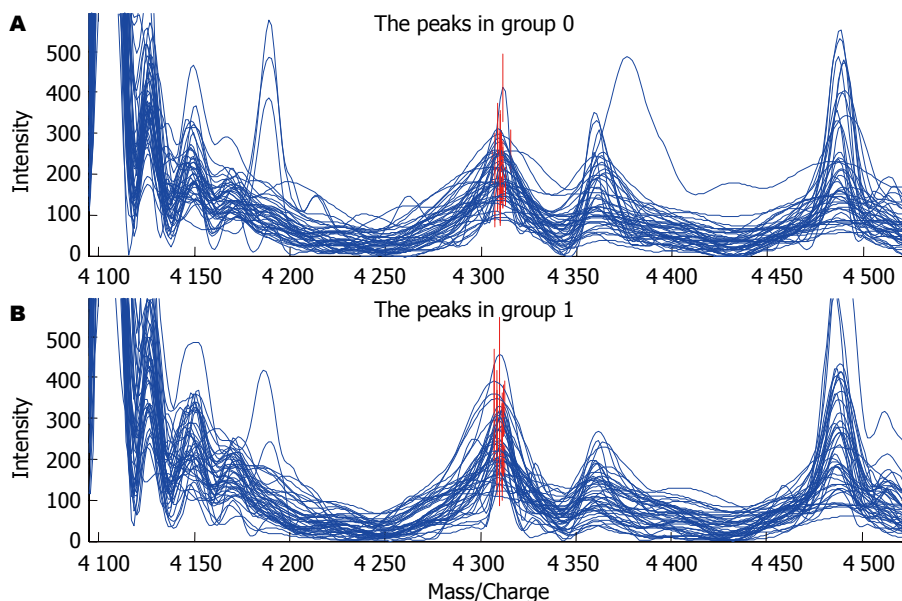


图 1 蛋白峰 (4 310.0109)的质谱
图. A: 汉族组; B: 维吾尔族组.

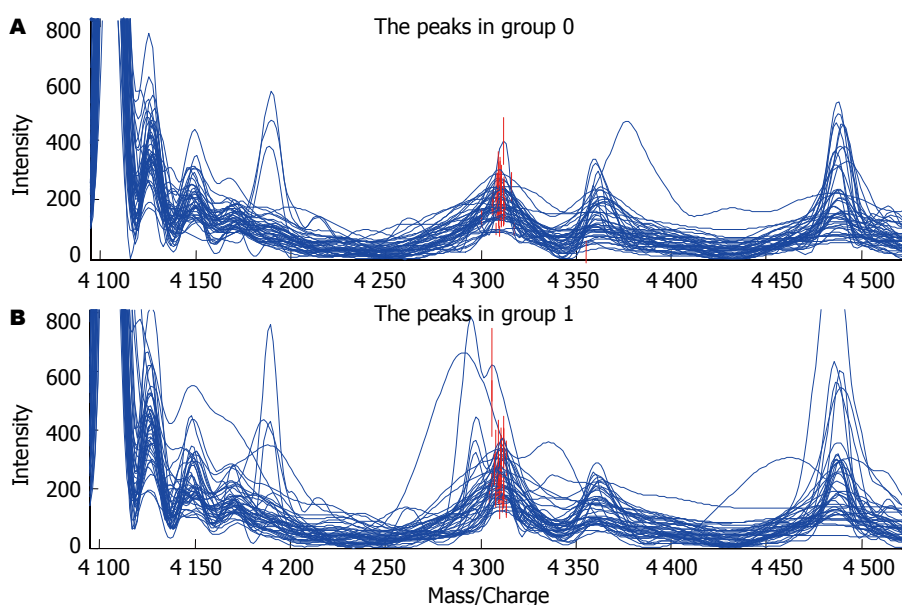


图 2 蛋白峰 (4 310.0184)的质谱
图. A: 汉族组; B: 哈萨克族组.

8 158.1117, 13 789.4864, 8 067.7056, 4 611.9098, 7 993.4422, 16 146.8706 的 8 个蛋白质峰差异具有统计学意义 ($P < 0.05$, 表 2)。图 2 显示了在汉族组呈低表达而在哈萨克族组呈高表达的一个蛋白峰 (4 310.0184) 的质谱图。

用 4 310.0184, 13 789.4864, 8 067.7056 这 3 个蛋白质峰建立了汉族、哈萨克族食管癌血清蛋白质指纹图谱验证模型。用该分类树模型作为生物标志物来检测, 在学习模式下分组正确率分别为 86.0%(37/43) 和 87.8%(36/41), 在测试模式下分组正确率 79.1%(34/43), 73.2%(30/41)。

2.3 维吾尔族与哈萨克族食管癌血清蛋白质指纹图谱比较 比较 43 例维吾尔族组与 41 例哈萨克族组蛋白质指纹图谱数据, 经判别分析筛选出质荷比分别为 9 161.7944, 4 611.6342,

6 649.6163, 4 979.3807 的 4 个蛋白质峰差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 结果见表 3。用 4 611.6342, 4 979.3807, 5 672.3799 这 3 个蛋白质峰建立了维吾尔族、哈萨克族食管癌血清蛋白指纹图谱验证模型。用该分类树模型作为生物标志物来检测, 在学习模式下分组正确率分别为 81.4%(35/43) 和 65.9%(27/41), 在测试模式下分组正确率 67.4%(29/43), 48.8%(20/41)。

3 讨论

食管癌是一种常见的消化系统肿瘤, 目前食管癌患者的预后极差, 临床就诊的患者大多数属中晚期, 其主要原因是: 食管癌病因不清, 发病机制不明确, 缺乏敏感有效的早期生物学诊断指标和方法^[15]。全世界每年约有 30 万人死于食管

表 2 汉族与哈萨克族食管癌血清特异性蛋白质

蛋白质峰(M/Z)	平均峰强度		P值
	汉族组	维吾尔族组	
4 310.0184	195.9261	251.8594	0.0040724
8 167.9277	125.4354	197.7775	0.0078668
8 158.1117	124.1499	205.9943	0.0131840
13 789.4864	254.0904	169.7487	0.0149320
8 067.7056	118.2393	187.2620	0.0204660
4 611.9098	329.1491	183.4712	0.0219730
7 993.4422	366.0990	620.9567	0.0362620
16 146.8706	88.2441	164.4688	0.0469680
6 898.7666	268.4546	215.9549	0.0706660
9 213.4132	1 849.3786	1 023.8855	0.0764240

表 3 维吾尔族与哈萨克族食管癌血清特异性蛋白质

蛋白质峰(M/Z)	平均峰强度		P值
	汉族组	维吾尔族组	
9 161.7944	162.8568	112.8158	0.0066995
4 611.6342	415.6786	190.2466	0.0168820
6 649.6163	1 843.3545	2 307.8194	0.0459840
4 979.3807	102.1327	275.7468	0.0469680
9 213.5520	2 056.7564	1 059.4678	0.0532490
9 443.0115	385.6755	300.8297	0.0566440
6 451.5978	682.3664	859.0737	0.0942510
9 425.7070	401.0780	262.9021	0.1111900
9 384.7967	261.7463	197.4603	0.1237700
5 672.3799	351.4679	399.3350	0.1522100

■应用要点

本文采用SELDI-TOF-MS技术建立食管癌组织蛋白谱,并筛选出一些标志蛋白,为下一步进行分离纯化鉴定这些蛋白提供了依据,有助于更深层次的理解食管癌的蛋白组学改变。

癌. 我国是世界上食管癌高发地区之一, 每年平均病死约15万人, 占各部位癌死亡的第2位, 仅次于胃癌. 流行病学研究发现, 食管癌的发病地区差异很大, 高发区人群食管癌的发病率和死亡率与低发区相差50倍. 食管癌在种族方面也有很大的差异. 南非和北美的黑人中, 尤其是年龄在55岁以前, 食管鳞状细胞癌发病的危险明显高于同地区的白种人. 这种情况在该地区其他肿瘤中并没有发现. 新疆哈萨克民族是食管癌的高发民族, 其中新疆托里县哈萨克民族EC的发病率是155.9/10万, 而同地区的其他民族EC癌的发病率仅是22.3/10万. 中国部分少数民族食管癌死亡情况统计显示, 新疆哈萨克族男女合计死亡率是33.90/10万人口, 是其他民族的2-31倍; 维吾尔族是男女合计死亡率是10.60/10万人口.

SELDI-TOF-MS是近几年新兴的差异蛋白质组学技术, 整合了芯片和质谱的优点, 方便, 快速, 灵敏度高, 蛋白信息量多^[16], 可直接对原始生物样品(血清^[17]、尿液^[18]、脑脊液^[19,20]、胸腔积液^[21]、乳头分泌物^[22]、细胞裂解液^[23,24]等)进行分析. 不仅可发现一种蛋白质或生物标志分子, 而且还可以发现不同的多种方式的组合蛋白质谱, 目前被广泛用于肿瘤标志物的筛选^[25-27].

在以血清蛋白质指纹图谱技术建立疾病诊断模型时必须考虑到人种之间的差异^[28]. He等以中国汉族人群为研究对象, 采用霰弹策略(shortgun strategy)建立了蛋白质指纹图谱, 并鉴定了944种蛋白质^[29]. 王庆荣等^[30]应用SELDI-TOF-MS对新疆302例血清样本进行族别、性别之间的血清蛋白质指纹图谱的比较. 结果显示,

不同民族间的血清蛋白质指纹图谱存在明显差异, 汉族血清中4个差异蛋白质的丰度均低于维吾尔族和哈萨克族.

本研究应用SELDI-TOF-MS对新疆43例汉族、43例维吾尔族及41例哈萨克族食管癌血清标本的蛋白质指纹图谱进行比较. 结果显示, 不同民族间的血清蛋白质指纹图谱之间的差异具有统计学意义. 汉族组与维吾尔族组中质荷比为4 310.0109, 8 713.0142, 7 993.0223的3个蛋白质峰差异具有统计学意义, 用该分类树模型作为生物标志物来检测, 在学习模式下分组正确率均是100%(43/43), 在测试模式下分组正确率65.1%(28/43)和67.4%(29/43); 汉族组与哈萨克族食管癌组中质荷比为4 310.0184, 8 167.9277, 8 158.1117, 13 789.4864, 8 067.7056, 4 611.9098, 7 993.4422, 16 146.8706的8个蛋白质峰差异具有统计学意义($P<0.05$), 用4 310.01843, 13 789.4864, 8 067.70556这3个蛋白质峰建立了汉族、哈萨克族食管癌血清蛋白质指纹图谱验证模型. 用该分类树模型作为生物标志物来检测, 在学习模式下分组正确率分别为86.0%(37/43)和87.8%(36/41), 在测试模式下分组正确率79.1%(34/43), 73.2%(30/41). 维吾尔族组与哈萨克族组中质荷比分别为9 161.7944, 4 611.6342, 6 649.6163, 4 979.3807的4个蛋白质峰差异具有统计学意义($P<0.05$), 用4 611.6342, 4 979.3807, 5 672.3799这3个蛋白质峰建立了维吾尔族、哈萨克族食管癌血清蛋白指纹图谱验证模型. 用该分类树模型作为生物标志物来检测, 在学习模式下分组正确率分别为81.4%(35/43)和65.9%(27/41), 在测试模式下分组正确率67.4%(29/43), 48.8%(20/41). 本研究发

■名词解释

表面增强激光解吸电离飞行时间质谱技术(SELDI-TOF-MS): 该技术主要是在飞行质谱的检测系统中, 芯片特异性地与被检测标本中蛋白结合, 再通过选择性清洗, 获得高分辨率的保留蛋白质谱, 当加入能量吸收分子后, 芯片上保留的蛋白形成晶体, 在激光照射下, 晶体发生解离作用, 带电分子在通过电场时加速, 检测仪记录飞行时间的长短, 质荷比(M/Z)越小, 飞行时间越短, 就会被最先检测到。被测定蛋白质以一系列峰值的形式呈现。

现质荷比4 310.0109的蛋白峰在汉族组中呈低表达, 而在维吾尔族组和哈萨克族组中均呈高表达。在维吾尔族组和哈萨克族组之间该蛋白峰未见到有差异。提示该蛋白可能是食管癌种族差异的特异蛋白。本实验所建立的验证模型的分组正确率相对较低, 与软件在选取建立模型的蛋白峰有关, 有些选取的蛋白峰两组比较中并无差异。

SELDI-TOF-MS对不同民族食管癌差异蛋白的检测具有良好的应用前景。由于肿瘤细胞的复杂性, 联合其他肿瘤标志物共同检测可以提高肿瘤诊断准确性。为了进一步了解肿瘤的基因和蛋白质的特点, 我们还需要开发功能更加强大的生物信息工具^[31]。当然, SELDI-TOF-MS技术也有其局限性, 还需不断研究, SELDI-TOF-MS技术可以得出蛋白或肽段的近似分子质量, 但却无法鉴定是何种蛋白^[32], 对同一病例组织和血清的蛋白谱进行分析比较, 分离纯化和鉴定这些蛋白将是以后实验的重点。这将有助于进一步更深层次的理解食管癌蛋白组学改变和食管癌种族差异发生机制的认识。

4 参考文献

- Lam AK. Molecular biology of esophageal squamous cell carcinoma. *Crit Rev Oncol Hematol* 2000; 33: 71-90
- Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. *Int J Cancer* 2001; 94: 153-156
- Pearson FG, Cooper JD, Deslauriers J, Ginsberg RJ, Hiebert CA, Patterson GA, Urschel HC Jr. Esophageal Surgery. 2ed Edition. Churchill Livingstone, Elsevier Science, Kidlington, UK. 2002: 714
- 林东昕. 中国食管癌分子流行病学研究. *中华流行病学杂志* 2003; 24: 939-943
- Smith RD. Probing proteomes--seeing the whole picture? *Nat Biotechnol* 2000; 18: 1041-1042
- Issaq HJ, Conrads TP, Prieto DA, Tirumalai R, Veenstra TD. SELDI-TOF MS for diagnostic proteomics. *Anal Chem* 2003; 75: 148A-155A
- Weinberger SR, Dalmasso EA, Fung ET. Current achievements using ProteinChip Array technology. *Curr Opin Chem Biol* 2002; 6: 86-91
- Anderson NL, Anderson NG. The human plasma proteome: history, character, and diagnostic prospects. *Mol Cell Proteomics* 2002; 1: 845-867
- Bergman AC, Benjamin T, Alaiya A, Waltham M, Sakaguchi K, Franzén B, Linder S, Bergman T, Auer G, Appella E, Wirth PJ, Jörnvall H. Identification of gel-separated tumor marker proteins by mass spectrometry. *Electrophoresis* 2000; 21: 679-686
- He QY, Chen J, Kung HF, Yuen AP, Chiu JF. Identification of tumor-associated proteins in oral tongue squamous cell carcinoma by proteomics. *Proteomics* 2004; 4: 271-278
- Garbis S, Lubec G, Fountoulakis M. Limitations of current proteomics technologies. *J Chromatogr A* 2005; 1077: 1-18
- Yip TT, Hutchens TW. Mapping and sequence-specific identification of phosphopeptides in unfractionated protein digest mixtures by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *FEBS Lett* 1992; 308: 149-153
- Rosty C, Christa L, Kuzdzal S, Baldwin WM, Zahurak ML, Carnot F, Chan DW, Canto M, Lillemoe KD, Cameron JL, Yeo CJ, Hruban RH, Goggins M. Identification of hepatocarcinoma-intestine-pancreas/pancreatitis-associated protein I as a biomarker for pancreatic ductal adenocarcinoma by protein biochip technology. *Cancer Res* 2002; 62: 1868-1875
- Petricoin EF, Ardekani AM, Hitt BA, Levine PJ, Fusaro VA, Steinberg SM, Mills GB, Simone C, Fishman DA, Kohn EC, Liotta LA. Use of proteomic patterns in serum to identify ovarian cancer. *Lancet* 2002; 359: 572-577
- Wang LD, Zhou Q, Feng CW, Liu B, Qi YJ, Zhang YR, Gao SS, Fan ZM, Zhou Y, Yang CS, Wei JP, Zheng S. Intervention and follow-up on human esophageal precancerous lesions in Henan, northern China, a high-incidence area for esophageal cancer. *Gan To Kagaku Ryoho* 2002; 29 Suppl 1: 159-172
- Zhang Z, Bast RC Jr, Yu Y, Li J, Sokoll LJ, Rai AJ, Rosenzweig JM, Cameron B, Wang YY, Meng XY, Berchuck A, Van Haaften-Day C, Hacker NF, de Bruijn HW, van der Zee AG, Jacobs IJ, Fung ET, Chan DW. Three biomarkers identified from serum proteomic analysis for the detection of early stage ovarian cancer. *Cancer Res* 2004; 64: 5882-5890
- 胡朝军, 李永哲, 赵冠飞, 李宁, 许洋, 佟大伟, 张蜀澜. 应用蛋白指纹图谱技术筛选原发性胆汁性肝硬化患者血清特异性标志物. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 277-283
- Vlahou A, Schellhammer PF, Mendrinos S, Patel K, Kondylis FI, Gong L, Nasim S, Wright Jr GL Jr. Development of a novel proteomic approach for the detection of transitional cell carcinoma of the bladder in urine. *Am J Pathol* 2001; 158: 1491-1502
- Sauter ER, Zhu W, Fan XJ, Wassell RP, Chervoneva I, Du Bois GC. Proteomic analysis of nipple aspirate fluid to detect biologic markers of breast cancer. *Br J Cancer* 2002; 86: 1440-1443
- Carrette O, Demalte I, Scherl A, Yalkinoglu O, Corthals G, Burkhard P, Hochstrasser DF, Sanchez JC. A panel of cerebrospinal fluid potential biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease. *Proteomics* 2003; 3: 1486-1494
- Lewczuk P, Esselmann H, Groemer TW, Bibl M, Maler JM, Steinacker P, Otto M, Kornhuber J, Wiltfang J. Amyloid beta peptides in cerebrospinal fluid as profiled with surface enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry: evidence of novel biomarkers in Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry* 2004; 55: 524-530
- Uchida T, Fukawa A, Uchida M, Fujita K, Saito K. Application of a novel protein biochip technology for detection and identification of rheumatoid arthritis biomarkers in synovial fluid. *J Proteome Res* 2002; 1: 495-499
- Prieto D, Conrads TP, Scudiero DA, Veenstra TD, Issaq HJ. Profiling of Secreted Proteins from Human Ovarian Cancer Cell Lines by Surface-Enhanced Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry. *J Liquid Chromatogr Relat*

- Technol* 2003; 26: 2315-2328
- 24 Shiwa M, Nishimura Y, Wakatabe R, Fukawa A, Arikuni H, Ota H, Kato Y, Yamori T. Rapid discovery and identification of a tissue-specific tumor biomarker from 39 human cancer cell lines using the SELDI ProteinChip platform. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 309: 18-25
 - 25 Jr GW, Cazares LH, Leung SM, Nasim S, Adam BL, Yip TT, Schellhammer PF, Gong L, Vlahou A. Proteinchip(R) surface enhanced laser desorption/ionization (SELDI) mass spectrometry: a novel protein biochip technology for detection of prostate cancer biomarkers in complex protein mixtures. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 1999; 2: 264-276
 - 26 Verma M, Wright GL Jr, Hanash SM, Gopal-Srivastava R, Srivastava S. Proteomic approaches within the NCI early detection research network for the discovery and identification of cancer biomarkers. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 945: 103-115
 - 27 Paweletz CP, Trock B, Pennanen M, Tsangaris T, Magnan C, Liotta LA, Petricoin EF 3rd. Proteomic patterns of nipple aspirate fluids obtained by SELDI-TOF: potential for new biomarkers to aid in the diagnosis of breast cancer. *Dis Markers* 2001; 17: 301-307
 - 28 Gelfi C, De Palma S, Ripamonti M, Eberini I, Wait R, Bajracharya A, Marconi C, Schneider A, Hoppeler H, Cerretelli P. New aspects of altitude adaptation in Tibetans: a proteomic approach. *FASEB J* 2004; 18: 612-614
 - 29 He P, He HZ, Dai J, Wang Y, Sheng QH, Zhou LP, Zhang ZS, Sun YL, Liu F, Wang K, Zhang JS, Wang HX, Song ZM, Zhang HR, Zeng R, Zhao X. The human plasma proteome: analysis of Chinese serum using shotgun strategy. *Proteomics* 2005; 5: 3442-3453
 - 30 王庆荣, 张琼, 张朝霞, 余捷凯. 新疆地区汉族、维吾尔族及哈萨克族血清蛋白质指纹图谱研究. *临床检验杂志* 2009; 27: 195-197
 - 31 Zhukov TA, Johanson RA, Cantor AB, Clark RA, Tockman MS. Discovery of distinct protein profiles specific for lung tumors and pre-malignant lung lesions by SELDI mass spectrometry. *Lung Cancer* 2003; 40: 267-279
 - 32 李冬, 张建中, 郑燕华. 蛋白芯片技术对肝细胞癌组织蛋白谱的建立及标志蛋白的筛选. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 2424-2430

■同行评价

本研究临床指导意义大, 研究手段先进, 结果可靠.

编辑 李军亮 电编 吴鹏联

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》计量单位标准

本刊讯 本刊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±前后都要列出. 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d. 3.56 pg/ml ± 0.27 pg/ml 应为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用 $\times 10^{12}/L$, WBC数用 $\times 10^9/L$, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M_r 明确的体内物质以mmol/L, 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 μg, 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酒精; 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.

肝肉瘤样癌的临床病理特征

黄海建, 余英豪, 郑智勇

■背景资料

肝肉瘤样癌(SHC)是一种少见的原发于肝的恶性上皮性肿瘤,与一般的肝细胞癌相比,SHC的临床表现、形态学特征及预后等均有显著差异,因此SHC的准确诊断对于提高该类肿瘤的认识显得尤为重要。

黄海建, 中国人民解放军南京军区福州总医院病理科 福建医科大学福总临床学院 福建省福州市 350025
余英豪, 郑智勇, 中国人民解放军南京军区福州总医院病理科 福建省福州市 350025

黄海建, 2008级福建医科大学硕士, 主要从事肝脏病理学研究。
作者贡献分布: 本研究由黄海建设计; 研究过程由黄海建、余英豪及郑智勇完成; 本论文写作由黄海建完成。

通讯作者: 余英豪, 主任医师, 350025, 福建省福州市西二环北路156号, 中国人民解放军南京军区福州总医院病理科。

yuyinghao0808@126.com

电话: 0591-24937095 传真: 0591-83717703

收稿日期: 2010-03-05 修回日期: 2010-05-20

接受日期: 2010-05-27 在线出版日期: 2010-06-18

Clinicopathologic analysis of sarcomatoid hepatocellular carcinoma

Hai-Jian Huang, Ying-Hao Yu, Zhi-Yong Zheng

Hai-Jian Huang, Department of Pathology, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA; Fuzong Clinical School of Fujian Medical University, Fuzhou 350025, Fujian Province, China.

Ying-Hao Yu, Zhi-Yong Zheng, Department of Pathology, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, Fuzhou 350025, Fujian Province, China

Correspondence to: Ying-Hao Yu, Department of Pathology, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, 156 North Erhuan Road, Fuzhou 350025, Fujian Province, China. yuyinghao0808@126.com

Received: 2010-03-05 Revised: 2010-05-20

Accepted: 2010-05-27 Published online: 2010-06-18

Abstract

AIM: To explore the clinical and pathological features of sarcomatoid hepatocellular carcinoma and to discuss its diagnosis, differential diagnosis, treatment and prognosis.

METHODS: One case of sarcomatoid hepatocellular carcinoma was treated at our hospital. The clinical, pathological, histopathological and immunohistological features, diagnosis and treatment of this disease were investigated. A literature review was performed to summarize the characteristics of the disease.

RESULTS: The tumor was located in the right lobe of the liver, demonstrating an infiltrative growth pattern. Histopathological and immunohistochemistry analyses showed coexistence

of epithelial carcinoma and spindle cell sarcoma and presence of transitional area between carcinoma and sarcoma. Coagulative necrosis was noted in some areas of the tumor. Immunohistochemically, the tumor cells were strongly positive for CK (Pan) and EMA, weakly positive for AFP and Hepar-1, and negative for CK7, CK8, CK18, CK (H), CD34, CD117, Dog-1, Actin, SMA, Caldesmon, Desmin, CD10, CD21, CD23, CD35, CD1a, CD2, CD3, CD20, CD45, ALK, CD68, CD163, CD30, CD15, HMB45 and S-100.

CONCLUSION: Sarcomatoid hepatocellular carcinoma is a rare tumor with high malignancy. Clinically, differential diagnosis is needed to distinguish sarcomatoid hepatocellular carcinoma from hepatic carcinosarcoma, inflammatory follicular dendritic cell sarcoma and inflammatory myofibroblastoma. The prognosis of sarcomatoid hepatocellular carcinoma is correlated with tumor stage and morphological characteristics.

Key Words: Liver neoplasm; Sarcomatoid hepatocellular carcinoma; Clinicopathology; Diagnosis; Differential diagnosis

Huang HJ, Yu YH, Zheng ZY. Clinicopathologic analysis of sarcomatoid hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(17): 1780-1785

摘要

目的: 探讨肝肉瘤样癌患者的临床病理学特征、诊断、鉴别诊断、治疗方法和预后。

方法: 以我院收治的1例肝肉瘤样癌患者为对象, 分析其临床表现及诊疗经过, 并进行随访, 同时对送检标本进行病理学检查, 结合有关文献探讨该病的临床病理学特点。

结果: 肿瘤位于肝脏右后叶, 呈浸润性生长。组织学上可见上皮源性肿瘤成分与梭形细胞肉瘤成分同时存在并伴有移行现象; 肿瘤中见大片凝固性坏死。免疫组织化学显示肿瘤细胞呈CK(Pan)和EMA强阳性, AFP和Hepar-1呈弱阳性表达, 免疫组织化学阴性为: CK7, CK8, CK18, CK(H), CD34, CD117, Dog-1,

■同行评议者

杜祥, 教授, 复旦大学附属肿瘤医院病理科; 刘丽江, 教授, 江汉大学医学院病理学

Actin, SMA, Caldesmon, Desmin, CD10, CD21, CD23, CD35, CD1a, CD2, CD3, CD20, CD45, ALK, CD68, CD163, CD30, CD15, HMB45, S-100. 病理诊断: 肝肉瘤样癌。

结论: 肝肉瘤样癌是一种罕见的高度恶性肿瘤, 临床与病理上需要与肝癌肉瘤、炎症性滤泡树突细胞肉瘤、炎性肌纤维母细胞肉瘤等相鉴别, 预后与肿瘤分期有关。

关键词: 肝肿瘤; 肝肉瘤样癌; 临床病理学; 诊断; 鉴别诊断

黄海建, 余英豪, 郑智勇. 肝肉瘤样癌的临床病理特征. 世界华人消化杂志 2010; 18(17): 1780-1785
http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1780.asp

0 引言

肉瘤样癌(sarcomatoid carcinoma, SS)是指形态学似梭形细胞肉瘤但实为癌的一类肿瘤的总称^[1], 比较少见, 多脏器均可发生, 常见于食管、上呼吸道、甲状腺、子宫、肺、乳腺、胃肠道、膀胱等部位^[2]。肝肉瘤样癌(sarcomatoid hepatocellular carcinoma, SHC)是原发于肝的恶性上皮性肿瘤, 恶性度高, 预后差, 十分罕见^[3]。梭形细胞成分中有10%存在恶变区域^[2], 梭形细胞似异常增生的纤维母细胞^[4]、平滑肌细胞、横纹肌细胞^[5,6]、骨母细胞等^[7], 但免疫组织化学显示梭形细胞常CK(Pan)强阳性表达, 而Vimentin阴性。SHC可以合并胆囊癌^[8]、肝细胞癌^[9], 多位于肝被膜下, 呈实性占位, 可侵犯肝脏包膜, 累及临近脏器及组织, 并有坏死。本文报道我院收治的SHC病例1例, 并复习文献探讨该病的发生发展、临床表现、病理学特征、诊断、治疗和预后。

1 材料和方法

1.1 材料 因“腹痛、腹胀2 mo”于2009-12-01入院患者, 男, 63岁。疼痛为阵发性胀痛, 无明显诱因。轻度发热及黄疸, 发病以来消瘦明显, 体质量减轻约5 kg。既往史: 有“乙型肝炎小三阳”15年及“糖尿病”1年, 自口服拜糖平治疗, 血糖控制好。本次入院后体检: 一般状态可, 皮肤巩膜轻度黄染, 腹部平坦, 未触及包块, 肝脾肋下未及, 肝上界位于右锁骨中线第五肋间, 移动性浊音弱阳性, 肝区轻度叩击痛。腹部MRI检查显示肝左叶内侧段片状低密度影。肿瘤标志物检查: CA19-9: 69.7 kU/L(0-37 kU/L), CEA: 11.27 μg/L(0-5 μg/L),

AFP: 301.25 kIU/L(0-9 kIU/L)。治疗: 胆囊及肝左叶部分切除术+肝右叶部分切除术。术后10 d CA19-9降至37.7 kU/L, AFP降至39.17 kIU/L。术后1 mo入我院肿瘤内科开始规范化疗, 2 mo后增强CT扫描发现肝脏再次出现多发转移病灶, 伴有腹膜后脏器侵犯, AFP再次升高达236.39 kU/L, 于2010-2-4再次肝右叶部分切除, 术后AFP降至31.9 kU/L, 其二次手术后20 d增强CT扫描肝脏未见异常。

1.2 方法 手术结合术中超声, 将胆囊、肝脏Ⅱ、Ⅲ、Ⅵ段和肝脏所有病灶(共计4处)完整切除。手术标本经40 g/L甲醛溶液固定, 常规石蜡包埋, 4 μm厚切片, HE染色; 采用EliVision法分别进行CK(Pan), EMA, CEA, CK(L), Ki-67, Vimentin, AFP, Hepar-1, HBsAg, HBcAg, CK7, CK8, CK18, CK(H), CD34, CD117, Dog-1, Actin, SMA, Caldesmon, Desmin, CD10, CD21, CD23, CD35, CD1a, CD2, CD3, CD20, CD45, ALK, CD68, CD163, CD30, CD15, HMB45, S-100等免疫组织化学染色。光镜观察。所用一抗和EliVision试剂盒均购自福建迈新生物技术有限公司。

2 结果

2.1 大体所见 第1次手术标本: 部分肝切除标本: 大小约7 cm×7 cm×6 cm, 灰黄色, 切面于肝脏被膜下见一灰红灰黄色肿物, 大小约5 cm×4.6 cm×4.5 cm, 质硬, 部分区出血坏死, 肿物与周围肝界限不清, 浸润性生长, 周围肝小结节性肝硬化伴胆汁淤积, 胆管弥漫轻度扩张。胆囊大小约9 cm×6 cm×5 cm, 浆膜面充血水肿灰白色, 内含墨绿色胆汁约50 mL, 黏膜光滑, 壁厚约0.5 cm, 未见息肉及结石。第2次手术标本: 部分肝组织, 大小11 cm×8 cm×8 cm, 灰黄色, 切面于肝脏被膜下见4个灰红灰黄色肿物, 直径在3.5-5.5 cm之间, 质硬, 部分区出血坏死, 肿物与周围肝界限不清, 浸润性生长, 周围肝小结节性肝硬化伴胆汁淤积。

2.2 辅助检查 第1次术前腹部MRI检查示: 肝左内叶见一团块状实性异常信号影, 大小约5 cm×5 cm×6 cm, 边界不清, 边缘呈浅分叶状, 病灶T1WI呈稍低信号, T2WI呈稍高信号, DWI呈高信号, 增强扫描动脉期病灶边缘不规则环形强化, 门静脉期示病灶中央斑片状强化, 延迟期示中央及边缘强化程度减低(图1A)。第2次术前CT示: 现胆囊及部分肝叶缺如, 呈术后改变, 肝脏内见多发大小不等、形态不规则异常团块影,

■**研发前沿**
肝肉瘤样癌(SHC)是原发于肝的恶性上皮性肿瘤, 恶性度高, 预后差, 十分罕见。

■创新盘点

本文主要对1例接受手术治疗的原发性SHC的临床表现、CT影像学特征、病理形态学特征进行总结,讨论原发性SHC的临床及病理形态学特征。

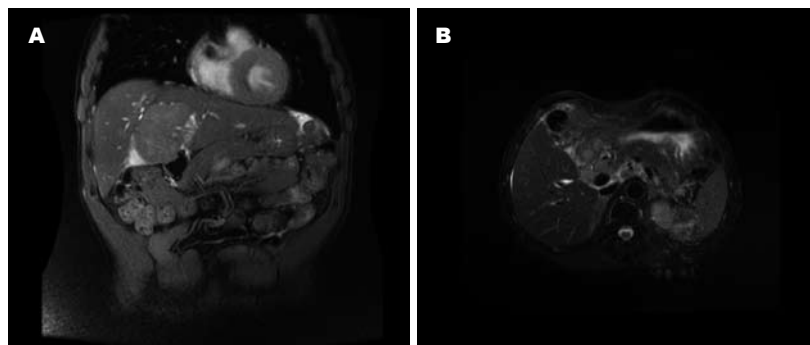


图1 术前检查。A: 第1次术前MRI检查示肝左内叶见一肿块状实性占位, 大小约5 cm × 5 cm × 6 cm, 边界尚清, 病灶T2WI呈稍高信号。B: 第2次术前CT示: 胆囊及部分肝叶缺如, 肝脏内见多发大小不等、形态不规则结节, 大小3.5-4.5 cm。

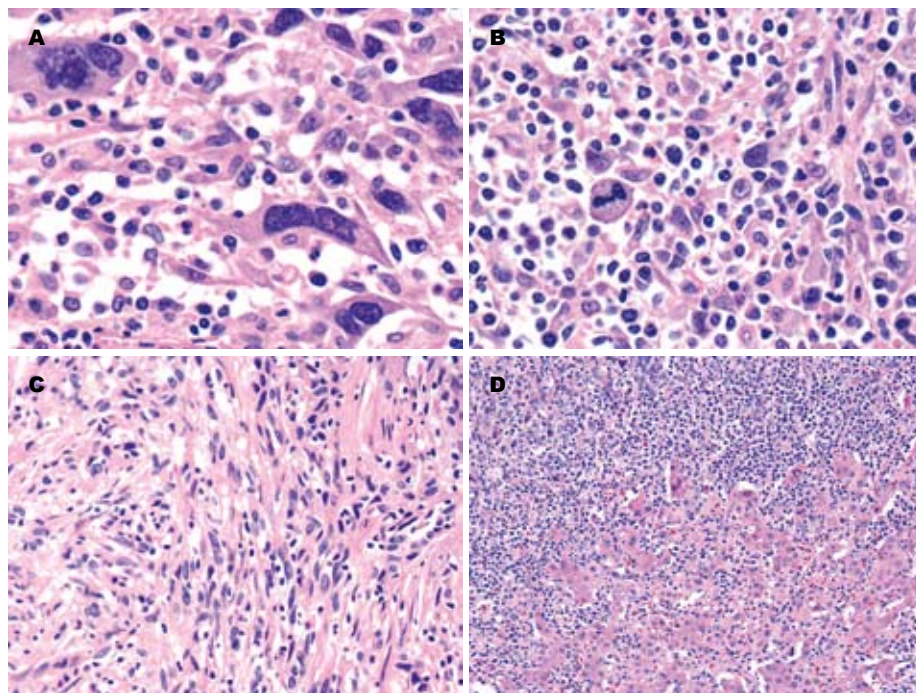


图2 组织切除物镜下所见。A: 肝肉瘤样癌, 高倍镜下肿瘤细胞异型性明显, 可见多核瘤巨细胞, 似低分化肝细胞癌; B: 细胞丰富, 生长活跃, 可见病理性核分裂象; C: 部分区肿瘤细胞呈梭形、短梭形, 呈束状排列, 间质少量炎细胞浸润, 似炎症性滤泡树突状细胞肉瘤; D: 肿瘤细胞弥漫成片分布, 背景中散在炎细胞浸润, 肿瘤浸润性生长, 可见残留的肝细胞。

大小3.5-4.5 cm, 增强扫描病灶呈明显环形强化(图1B)。

2.3 镜下所见 两次手术切除肿物组织学表现相似。肿瘤组织由数量不等的肝细胞癌和肉瘤样成分构成; 肿瘤细胞部分呈上皮样、星状、多边形, 胞质丰富嗜伊红染色, 核大深染, 异型明显, 可见奇异型瘤巨细胞, 排列呈小梁状、条索状、实性巢状, 瘤细胞排列3层以上(图2A); 瘤细胞部分呈梭形或短梭形, 类似软组织的梭形细胞肉瘤, 胞质少, 核染色深且染色质分布不均, 细胞界限不清, 瘤细胞排列呈束状、编织状或弥漫分布, 可见病理学核分裂象(图2B); 两种形态细胞之间有移行; 肿瘤间质富于炎症细胞, 可见较多的淋巴细胞、浆细胞、分叶核细胞及组织细胞等类似于炎症性树突状细胞肉瘤(图2C); 肿瘤组织中可见大片凝固性坏死及局灶性出血; 肿瘤细胞呈浸润性生长, 侵及周围的肝组织(图2D), 周围肝呈小结节性肝硬化, 汇管区中度炎症, 浸润以

小淋巴细胞质细胞为主, 小胆管增生明显, 且围绕假小叶的周围分布, 肝细胞中度浊肿伴胆汁淤积, 及轻度萎缩。胆囊示黏膜慢性炎症伴黏膜糜烂。

2.4 免疫组织化学染色 肿瘤细胞CK(Pan)(+)(图3A), EMA(+)(图3B), CEA(±), CK(Pan)的阳性分布与肿瘤细胞的形态有关, 即在肿瘤细胞呈上皮样伴巢状、梁状分布区域, CK(Pan)呈强阳性表达, 而肿瘤细胞呈梭形伴肉瘤样变区域, CK(Pan)呈弱阳性表达。EMA的表达也有类似的特点, CK(L)显示肿瘤组织中残留少量小胆管上皮细胞阳性。肿瘤细胞弱表达AFP和Hepar-1。Vimentin显示癌细胞巢及梭形细胞肉瘤样变区域弱阳性表达。Ki-67标记约25%(图3C), 周围肝组织表达HBsAg和HBcAg。免疫组织化学阴性有: CK7, CK8, CK18, CK(H), CD34, CD117, Dog-1, Actin, SMA, Caldesmon, Desmin, CD10, CD21, CD23, CD35, CD1a, CD2, CD3, CD20, CD45,

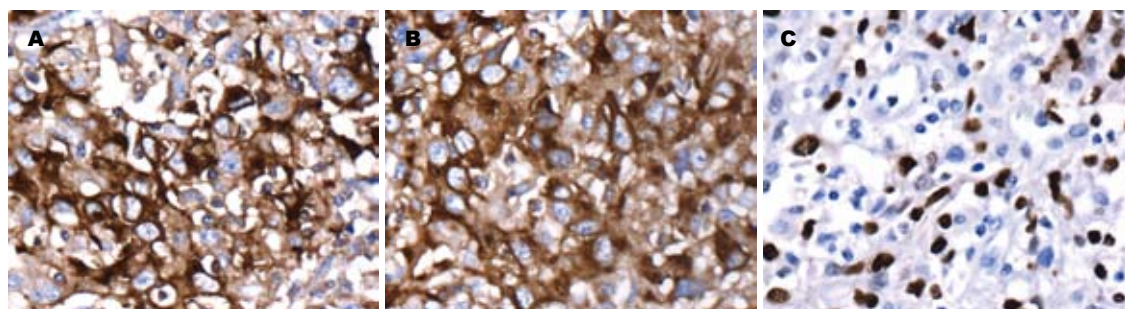


图3 肿瘤细胞弥漫一致呈CK(Pan)(胞质)和EMA(胞质及胞膜)强阳性, 肿瘤细胞Ki-67(胞核)标记约25%(EliVision法)。A: CK(Pan); B: EMA; C: Ki-67。

■应用要点

原发性SHC的临床及病理形态学表现均有一定的特征性, 肉瘤样成分与肝细胞癌同时存在, 二者并有移行, 需病理形态学和免疫组织化学支持方能确诊。

ALK, CD68, CD163, CD30, CD15, HMB45, S-100。

2.5 病理诊断 病理诊断为肝肉瘤样癌。

3 讨论

SHC是一种罕见的肝恶性上皮性肿瘤。SHC约占外科手术切除肝癌的1.8%, 活检病例的3.9%-9.4%^[2]。目前国外的文献报道20多例, 国内报道8例^[10-17]。复习文献易发现SHC以老年多见, 发病年龄24-59(平均40)岁^[16], 男性多于女性, 但国外Hanet等报道SHC无性别差异^[2]。至今SHC病因不明^[18], 可能和病毒感染、放疗、化疗等有关。临床表现不一, 可有腹痛、腹胀不适等消化系统症状, 若继发于肝硬化基础, 可有腹水、脾肿大、上消化道出血、蜘蛛痣、黄疸等症状^[19]。部分可无明显症状, 仅在体检时发现肝脏占位。本例患者有乙型肝炎病史15年, 以腹痛入院, 体检有肝硬化表现。

目前关于SHC的报道大多是散在个例, SHC发生的确切机制还不清楚。SHC的肉瘤样细胞可能起源于未分化胆管上皮, 也可能起源于原始的未分化肝细胞, 其分化异常而导致细胞肉瘤样变^[20]。本例肿瘤细胞显示AFP和Hepar-1弱阳性表达, 提示SHC的肉瘤样细胞可能起源于未分化肝细胞。其次, 本例有“乙型肝炎小三阳”15年, 并已进展为小结节性肝硬化, 肿物周围肝组织HBsAg和HBcAg强阳性, 提示HBV感染和肝硬化与SHC的发生相关^[21,22]。

SHC的诊断主要依赖临床、影像学及病理组织学, 确诊需病理形态学和免疫组织化学。AFP检测有利发现肝癌, 尤其是超过400 kIU/L排除胚胎性肿瘤后提示肝癌。CA19-9作为胆道系统恶性肿瘤的标志物, 有助于排除肝内胆管癌。本例术前AFP高达301.25 kIU/L, 显著高于正常值(0-9 kIU/L), CA19-9为69.7 kU/L(0-37 kU/L)有轻度升

高, 在肿瘤首次完全切除后, AFP迅速下降(39.17 kIU/L), 3 mo后肿瘤复发AFP再次上升(236.39 kIU/L)。这提示SHC的发生和AFP得升高有关, AFP可以辅助诊断SHC。首发时CA19-9只轻度升高, 复发时处于正常值, 故对于诊断SHC意义不明显。其次HBV和SHC可能有关, 本例乙型肝炎有“乙型肝炎小三阳”15年, 已进展为肝硬化, 肿瘤继发于肝硬化, 这与文献的报道一致^[16]。CT检查是早期发现病灶的主要方法^[23], 增强CT扫描对SHC与肝癌的鉴别有一定的价值。对肉瘤样癌增强扫描, 中央区域强化不明显, 而肝癌常表现为瘤体均匀强化, 或肿瘤内不规则强化^[24]。

病理学特点包括: (1)肿瘤中应包含明确的恶性上皮性成分, 同时可见梭形细胞肉瘤样成分, 且两者之间有一定的移行^[25]。(2)免疫组织化学, 肿瘤细胞上皮性标记CK(Pan)(+), EMA(+)等强阳性, 而间叶性标记弱阳性或阴性。肉瘤样梭形细胞可弱表达SMA, Vimentin等间叶性标记, 表明肿瘤细胞向平滑肌方向分化。另外中间性的角蛋白CAM 5.2, CK8, CK18, CK19可呈阳性表达^[24], 但本例没有此特点。(3)电镜表现为, SHC的癌细胞可见中间丝蛋白, 细胞内少见有基质。本例在诊断时, 临床及影像学均考虑肝癌可能, 形态学主要是异型性明显的梭形细胞及炎症性背景, 病理诊断时曾考虑炎症性滤泡树突细胞肉瘤, 炎性肌纤维母细胞肉瘤。本例诊断为SHC的主要依据是^[1]: (1)临床及影像学均支持肝脏原发性肿瘤; (2)形态学上可见恶性上皮及梭形细胞肉瘤样区域, 二者之间分界不清; (3)免疫组织化学显示肿瘤细胞上皮标记(CK, EMA)强阳性, 而间叶标记(Vimentin)弱阳性或阴性。

SHC在临床与病理学上需与肝癌肉瘤、淋巴瘤及梭形细胞肿瘤鉴别。(1)肝癌肉瘤, 肝癌肉瘤是指肿瘤中同时包含恶性上皮成分和间叶成分, 但二者之间没有移行; 上皮成分可以是

同行评价

本文系统回顾了肝肉瘤样癌的临床特点、组织发生、诊断及形态学特点以及鉴别诊断以及治疗和预后, 尽管国内已有报道, 但作为罕见肿瘤可供个病理学和肿瘤临床医生同行交流。

腺癌、鳞状细胞癌或两者均有; 间叶成分表现为梭形细胞肉瘤, 包括骨肉瘤、软骨肉瘤、纤维肉瘤和横纹肌肉瘤等。免疫组织化学显示肉瘤样细胞表达间叶性标记(Vimentin), 而上皮性标记(CK, EMA)阴性, 这是诊断癌肉瘤的最重要依据^[26]; (2)淋巴瘤, 尤其是具有肉瘤样表现的淋巴瘤^[27], 如炎症性滤泡树突细胞肉瘤, 形态学似SHC, 需要鉴别诊断, 但前者LCA, CD21, CD23, CD35阳性的免疫组织化学特点可以和SHC鉴别; (3)恶性纤维组织细胞瘤, 细胞异型性明显, 核分裂多, 免疫组织化学显示肿瘤细胞表达Vimentin及组织细胞标记CD68, CD163等阳性^[28]; (4)炎性肌纤维母细胞瘤/肉瘤, 表现为梭形细胞肿瘤^[29], 有时单从形态学上难与肉瘤样癌鉴别^[30], 但是前者表达肌源性标记, 如Actin, SMA, Caldesmon, Desmin等可以与之鉴别^[31]; (5)胃肠道外间质瘤, 肝脏是胃肠道外间质瘤的好发脏器, 形态学主要为上皮样细胞和梭形细胞组成的软组织肉瘤, 所以需与SHC鉴别, 但前者表达间质瘤特异标记CD34, CD117, Dog-1可与之鉴别^[32]。此外, 还应根据肿瘤发生的部位和形态学表现及免疫组织化学结果与其他梭形细胞肿瘤如恶性外周神经鞘膜瘤、恶性纤维组织细胞瘤、滑膜肉瘤等相鉴别。

手术完整切除是治疗SHC主要手段, 必要时可以辅以放疗和化疗。因为限于个例报道, 化疗或放疗对SHC治疗的有效性还不清楚。对于由肝穿刺等方法确诊而无手术机会的患者应及时给予射频消融术、肝动脉栓塞术^[18]等综合治疗。

复习文献报道肉瘤样癌的预后主要与肿瘤分级、临床分期、手术切除范围有关。临床分期可以参照肝癌的TNM系统分期标准。根据不同的T、N、M分类将肝癌分4期: I期: 肿瘤单发累及一叶肝组织。II期: 肿瘤单发累及一叶肝组织伴血管浸润或肿瘤多发但直径不超过5 cm。III期: 肿瘤多发且直径大于5 cm; 或肿瘤浸润血管和肝静脉; 或肿瘤侵犯胆囊以外血管及肝脏脏层腹膜; 或肿瘤出现淋巴结转移。IV期: 肿瘤出现远处转移^[33]。

大多数SHC发现时已经处于晚期, 因而错失手术治疗的最佳时机, 预后差^[34]。本例第一次手术完整切除肿物, 短期内迅速复发, 提示肿瘤恶性浸润行为, 但是二次手术完整切除后, 随访1 mo, CT检查无肿瘤复发及残留, 一般状况尚可。预示早期发现和完整切除可以有效地提高患者生存质量^[35]。

参考文献

- Seok JY, Kim YB. [Sarcomatoid hepatocellular carcinoma] *Korean J Hepatol* 2010; 16: 89-94
- Han JH, Park YN, Jung WH, Chi HS, Park C. A case with sarcomatoid hepatocellular carcinoma. *Yonsei Med J* 1998; 39: 390-394
- Koo HR, Park MS, Kim MJ, Lim JS, Yu JS, Jin H, Kim KW. Radiological and clinical features of sarcomatoid hepatocellular carcinoma in 11 cases. *J Comput Assist Tomogr* 2008; 32: 745-749
- Inoue T, Kudo M, Minami Y, Chung H, Fukunaga T, Kawasaki T. Case of rapidly progressed sarcomatoid hepatocellular carcinoma in a young female without risk factor. *Liver Int* 2007; 27: 1428-1430
- Park MY, Kim KR, Park HS, Park BH, Choi HN, Jang KY, Chung MJ, Kang MJ, Lee DG, Moon WS. Expression of the serum response factor in hepatocellular carcinoma: implications for epithelial-mesenchymal transition. *Int J Oncol* 2007; 31: 1309-1315
- Losada MH, Roa JC, García MD, Araya JC, Burgos SJ, Silva A J. [Hepatocarcinoma with sarcomatoid transformation: case report] *Rev Med Chil* 2007; 135: 768-772
- Ikeda T, Seki S, Maki M, Noguchi N, Kawamura T, Arii S, Igari T, Koike M, Hirokawa K. Hepatocellular carcinoma with osteoclast-like giant cells: possibility of osteoclastogenesis by hepatocyte-derived cells. *Pathol Int* 2003; 53: 450-456
- Murata M, Miyoshi Y, Iwao K, Wada H, Shibata K, Tateishi H, Shimano T, Ohasawa M, Imai Y, Nishikawa M, Kobayashi T, Nakamura Y. Combined hepatocellular/cholangiocellular carcinoma with sarcomatoid features: genetic analysis for histogenesis. *Hepatol Res* 2001; 21: 220-227
- Mirejovský T, Mirejovský P. [Sarcomatous hepatocellular carcinoma] *Cesk Patol* 1997; 33: 127-131
- 王安群, 杨永红, 许荣双. 原发性肉瘤样肝细胞癌一例. *四川肿瘤防治* 1998; 11: 51-52
- 曾勇, 李寿柏. 巨大肉瘤样肝癌1例报告. *中华外科基础与临床杂志* 2002; 9: 138
- 吴影, 甘梅富, 赵文丽. 肝原发性肉瘤样癌1例. *实用肿瘤杂志* 2003; 18: 414
- 梁玉梅, 李向红, 吕亚莉, 钟梅. 肝脏梭形细胞恶性肿瘤的临床病理及免疫组织化学特点. *中华医学杂志* 2005; 85: 96-100
- 朱朝勇, 李富秀, 旦措毛. 肝原发肉瘤样癌1例. *临床荟萃* 2006; 21: 550
- 张西坤, 石学涛, 周武元, 蔡淑萍. 肝肉瘤样癌的诊断及治疗. *山东医药* 2008; 48: 61-63
- 杨炼, 陈立波, 潘华雄, 韩萍. 原发性肉瘤样肝细胞癌的CT诊断. *临床放射学杂志* 2009; 2: 210-213
- 王天浩, 潘志刚, 任正刚. 少见类型的肝脏原发性恶性肿瘤. *复旦学报(医学版)* 2009; 36: 221-224
- Koda M, Maeda Y, Matsunaga Y, Mimura K, Murawaki Y, Horie Y. Hepatocellular carcinoma with sarcomatous change arising after radiofrequency ablation for well-differentiated hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res* 2003; 27: 163-167
- Jeong BJ, Hyun DH, Lee KW, Ryu ST, Lee JW, Lee JI, Jeong S, Lee DH, Kim PS, Kim HG, Kim YS, Kim JM. [A case of sarcomatoid combined hepatocellular-cholangiocarcinoma] *Korean J Gastroenterol* 2004; 43: 56-60
- Cho MS, Lee SN, Sung SH, Han WS. Sarcomatoid hepatocellular carcinoma with hepatoblastoma-like

- features in an adult. *Pathol Int* 2004; 54: 446-450
- 21 Amarapurkar AD, Vibhav, Kim V. Angiogenesis in liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Indian J Pathol Microbiol* 2008; 51: 323-328
 - 22 Chu PG, Ishizawa S, Wu E, Weiss LM. Hepatocyte antigen as a marker of hepatocellular carcinoma: an immunohistochemical comparison to carcinoembryonic antigen, CD10, and alpha-fetoprotein. *Am J Surg Pathol* 2002; 26: 978-988
 - 23 杨炼, 陈立波. 原发性肉瘤样肝细胞癌的临床与CT特征. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 904-907
 - 24 Schneidera G, Massmanna A, Friesa P, Kramanna B, Remberger K. MRI of sarcomatoid carcinoma of the liver. *European J Radiol Extra* 2005; 54: 63-67
 - 25 Kim DG, Park SY, Kim H, Chun YH, Moon WS, Park SH. A comprehensive karyotypic analysis on a newly established sarcomatoid hepatocellular carcinoma cell line SH-J1 by comparative genomic hybridization and chromosome painting. *Cancer Genet Cytogenet* 2002; 132: 120-124
 - 26 Lao XM, Chen DY, Zhang YQ, Xiang J, Guo RP, Lin XJ, Li JQ. Primary carcinosarcoma of the liver: clinicopathologic features of 5 cases and a review of the literature. *Am J Surg Pathol* 2007; 31: 817-826
 - 27 Hayashi H, Ohtani H, Ueda T, Yamaguchi J, Izawa K, Hayashida T, Higami Y, Shimokawa I. Primary hepatic lymphoma with spindle cell components: a case report. *Virchows Arch* 2006; 449: 591-596
 - 28 Kim HS, Kim GY, Lim SJ, Lee SM, Kim YW. Undifferentiated pleomorphic sarcoma of the liver presenting as a unilocular cyst. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2009; 8: 541-543
 - 29 Park JS, Federle MP, Sass DA. Education and imaging. Hepatobiliary and pancreatic: Budd-Chiari syndrome presenting as a caudate lobe pseudotumor. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 219
 - 30 Sevinç AI, Unek T, Astarcioglu H. Inflammatory myofibroblastic tumour (IMT) of the liver: a report of two cases. *Acta Chir Belg* 2010; 110: 87-89
 - 31 So K, Macquillan GC, Adams LA, Delriviere L, Mitchell A, Moody H, Wood DJ, Junckerstorff RC, Jeffrey GP. Malignant fibrous histiocytoma complicating nephrogenic systemic fibrosis post liver transplantation. *Intern Med J* 2009; 39: 613-617
 - 32 Yamamoto H, Miyamoto Y, Nishihara Y, Kojima A, Imamura M, Kishikawa K, Takase Y, Ario K, Oda Y, Tsuneyoshi M. Primary gastrointestinal stromal tumor of the liver with PDGFRA gene mutation. *Hum Pathol* 2010; 41: 605-609
 - 33 回允中. 外科病理学. 第9版. 北京: 北京大学医学出版社, 2006: 2814
 - 34 Nishie W, Iitoyo M, Koshiyama T, Kusama T. Sarcomatoid carcinoma of the liver with skin and pleural metastases. *Br J Dermatol* 2003; 148: 1069-1071
 - 35 Nam HS, Kim HK, Ma SU, Yu BH, Jung KM, Gong KT, Lee YJ, Park TI, Hu BW, Park SH, Na JY, Choi JU, Kim HJ, Yu US. [A case of sarcomatoid hepatocellular carcinoma in a young female without risk factor] *Korean J Gastroenterol* 2006; 47: 458-462

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

WJG 成功通过评审被 PMC 收录

本刊讯 PubMed Central(PMC)是由美国国家医学图书馆(NLM)下属国家生物技术信息中心(NCBI)创立的开放存取(Open Access)的生物医学和生命科学全文数据库. 此数据库只收录采取国际同行评审制度评议的期刊, 并对收录期刊有较高的科学、编辑及数据文件质量要求.

截至目前, 我国只有两本期刊被PMC收录. 《浙江大学学报B》(英文版)(*Journal of Zhejiang University Science B*)是我国第一本通过PMC评审并于2006-03-15被收录的期刊. 《世界胃肠病学杂志》(英文版)(*World Journal of Gastroenterology, WJG*)第二本通过PMC评审并于2009-03-26被收录, 全文免费向公众开放, 见: [http://www.pubmedcentral.nih.gov/tocrender.fcgi?journal=818&action=archive\(WJG编辑部主任: 程剑侠 2009-03-26\)](http://www.pubmedcentral.nih.gov/tocrender.fcgi?journal=818&action=archive(WJG编辑部主任: 程剑侠 2009-03-26))

多层螺旋CT肝体积测量及临床应用

李金平, 姜慧杰

■背景资料

以往, 临床上多采用Child-Pugh分级作为肝脏储备功能的评价指标. CT肝脏体积测量可反映肝脏的血流灌注状态和代谢能力, 目前作为又一项重要的肝功能评价指标而成为研究的热点, 临床上被广泛应用.

李金平, 姜慧杰, 哈尔滨医科大学第二附属医院CT室 黑龙江省哈尔滨市 150086
黑龙江省自然科学基金资助项目, No. D200905
黑龙江省教育厅科学技术研究基金资助项目, No. 11541166
作者贡献分布: 文献收集与综述写作由李金平完成; 选题和审校由姜慧杰完成.
通讯作者: 姜慧杰, 教授, 150086, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第二附属医院CT室. jhj68323@yahoo.com.cn
电话: 0451-86605576
收稿日期: 2010-03-19 修回日期: 2010-05-13
接受日期: 2010-05-18 在线出版日期: 2010-06-18

Clinical application of measurement of liver volume by multi-slice spiral CT

Jin-Ping Li, Hui-Jie Jiang

Jin-Ping Li, Hui-Jie Jiang, Department of CT Imaging, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China
Supported by: the Natural Science Foundation of Heilongjiang Province, No. D200905; and the Foundation of Heilongjiang Provincial Educational Department, No. 11541166

Correspondence to: Professor Hui-Jie Jiang, Department of CT Imaging, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. jhj68323@yahoo.com.cn

Received: 2010-03-19 Revised: 2010-05-13

Accepted: 2010-05-18 Published online: 2010-06-18

Abstract

The volume of the liver can not only directly reflect the size of the liver, liver capacity and the quantity of liver cells, but also, to a certain extent, indirectly reflect blood perfusion and metabolic capability of the liver. Therefore, liver volume is an important parameter to evaluate hepatic reserve function. The accurate measurement of liver volume has great significance for the formulation of treatment program, prevention of liver failure, and prediction of prognosis. This article is to review the clinical application of measurement of liver volume by multi-slice spiral CT.

Key Words: Multi-slice spiral CT; Liver volume; Clinical application

■同行评议者

李健丁, 教授, 山西医科大学第一医院放射科CT室

Li JP, Jiang HJ. Clinical application of measurement of liver volume by multi-slice spiral CT. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2010; 18(17): 1786-1791

摘要

肝脏的体积不但可以直观地反映肝脏的大小、容量和肝细胞的数量, 在一定程度上也可以间接地反映肝脏的血流灌注和代谢能力. 因而, 肝脏体积可作为反映肝脏储备功能的一项重要指标. 准确测量肝体积对肝脏疾病治疗方案的制定、肝功能衰竭的预防及预后的判断具有十分重要的意义. 本文就多层螺旋CT肝体积测量及其临床应用价值作一综述.

关键词: 多层螺旋CT; 肝体积; 临床应用

李金平, 姜慧杰. 多层螺旋CT肝体积测量及临床应用. 世界华人消化杂志 2010; 18(17): 1786-1791

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1786.asp>

0 引言

以往, 临床上多采用Child-Pugh分级^[1](C-P分级法)作为肝脏储备功能的评价指标. 一般认为A、B级患者能够耐受手术, 而C级为手术禁忌证. 由常规肝功能指标组成的Child-Pugh分级虽简单易行, 但在临床上已日显其局限性, 其所反映的只是肝脏实质损害程度和肝脏代偿能力的现状, 静止状态下检查的结果无法反映肝脏潜在的储备能力, 也无法预计肝脏在受到打击时是否有足够的代偿能力. 构成肝功能Child-Pugh分级的5个指标受临床干预影响, 可在短期内出现一定程度波动, 而体积是一个更为稳定且难于受干扰的指标. 目前, 国外已将肝脏体积大小视作与肝功能Child-Pugh分级同等重要的肝功能评价指标^[2,3], 并将肝脏的体积测定广泛地运用于临床^[4,5]. 肝体积作为评价肝脏大小的定量数据, 在肝硬化程度的评估及诊疗方案的制订、评价病肝对手术的承受能力、合理选择手术方式与时机, 避免术后发生肝衰竭、随访观察放化疗及手术治疗的疗效等方面具有潜在的临床意义和应用价值^[6,7].

1 肝体积的测量方法

国内已有不少肝脏体积测量的相关研究报道, 但

现有的肝脏体积测量多数侧重于测量结果与人群自身因素相关性及临床适用性研究, 对测量技术方法的探讨报道较少, 而国外较早就有相关方面的报道^[2,8]。水浸法是公认的面积测量的“金标准”, 但该方法只能用于离体肝测量, 不能用于活体上的评估^[9]。传统测量活体肝脏大小主要依靠影像学如超声或CT测量二维径线, 该方法虽简便易行, 但不能准确反映肝脏实际体积。目前三维B超、CT、MR和SPECT等影像学都可进行体积测量。B超精度虽好, 但受主观影响较多、对操作者的依赖性太强。Kwon等^[10]报道用⁹⁹Tcm标记的半乳糖人类血清白蛋白闪烁摄影术进行肝脏的SPECT测量, 对测量功能性肝体积有较高的价值。Strauss等^[11]和Mut等^[12]进行了以单光子发射型CT(single-photon emission CT, SPECT)测量标准模型体积的实验研究, 得到平均误差分别为3.4%和2.8%。McNeal等^[13]实验结果显示MR测得的肝脏体积绝对误差<8%, 与CT相比较MR在软组织的成像上分辨率要高于CT, 因此, 成像后对肝脏边界形态的描记将更为清晰、准确, 并且无辐射, 可用于婴幼儿, 以观察生长发育的情况、有无先天性畸形等, 但SPECT和MR价格昂贵, 远不如CT普及, 故在应用上受到了极大的限制。CT已成为临床上肝脏体积测量最常用的方法, 其准确性也被广泛公认, 甚至被认为是测量肝脏体积的金标准^[14]。

CT肝体积测量方法如下: (1)层切法: 用手工在二维横断面逐层画出肝脏的面积乘上层厚后叠加计算出其容积^[2]。该方法是测量肝体积最常用的方法, 具有较高的准确度和可重复性^[15,16], 但逐层手工描绘肝脏边界机械、冗长, 尤其多层螺旋CT(multi-slice spiral CT, MSCT)薄层扫描产生大量图像, 处理时间增加, 较费时, 而且与操作者关系密切, 临床应用受到限制。(2)选择性VR自动测量法(阈值法): 该方法首先利用VR优化阈值设置, 只有CT值大于某阈值的像素点才被显示, 以选择性VR算式(VR with a seed-growing algorithm), 并结合边缘腐蚀、切割、膨胀等技术而得到单一靶器官-肝脏VR图像, 然后利用体积测量工具对靶器官自动测得体积。此外, VR自动测量法还可同时自动计算出体积内所有像素的平均CT值及其分布曲线图, 可以反映肝脏整体的密度变化。Nakayama等^[17]分别用三维体积自动测量法与逐层叠加法对移植肝叶进行体积测量并与术中测量相比较, 已证实VR自动测量法准确性、实用性及先进性, 并且显著减少了测

量时间, 为肝脏体积测量较理想的方法。

2 MSCT扫描方案

目前, 尚无统一而规范的扫描方案, 图像可以为平扫, 也可以为增强, 后者比前者更准确。一般扫描参数设置为^[14,18]: 120 kV, 250-300 mA, 时间0.8 s/r, 准直16 mm×1.25 mm, 螺距(pitch)1.375。常规腹部平扫后行增强扫描(动脉期25 s, 门静脉期60 s, 平衡期120 s), 经肘静脉用高压注射器注入非离子型对比剂, 用量按1.5-2.0 mL/kg计算, 平均约80 mL, 注射速率3-3.5 mL/s。根据患者的心功能情况提前或推迟延迟时间, 以使门脉系统内的对比剂充盈最佳。选取门脉期图像2 mm重建, 矩阵512×512。扫描前口服2%泛影葡胺800-1 000 mL充盈胃肠道。患者仰卧位, 双手抱头, 扫描时一次屏气完成, 扫描范围由膈顶至肝脏下缘, 包括全肝。图像上传至工作站, 利用Volume软件对重建后的轴位图像进行处理。圈定时注意避开胆囊、肝裂、下腔静脉、门静脉肝内主要分支。所选区域内取阈值30-300 HU(以剔除肝脏血管及肝周脂肪、腹水的体积)由计算机计算出体积。

肝叶划分: 以正中裂(胆囊窝)划分左右半肝, 以左叶间裂为界划分左外叶和方叶, 第一肝门水平以上正中裂显示不清区域以肝中静脉为界划分左右半肝, 并以肝左静脉为界划分左外叶和方叶, 在肝门区以下腔静脉右缘与门静脉右支连线为尾状叶和肝右叶分界。

3 正常肝脏及肝叶的体积测量

正常成人肝脏体积与其自身身高、体质量、体表面积之间存在相关关系^[19-21]。为了排除体格差异, 便于个体间的比较, 再根据体表面积, 计算出每单位体表面积的肝体积。然后比较肝体积与Child-Pugh肝功能分级及其他肝功能指标的相关性, 了解肝体积与肝储备功能的关系。体表面积(m^2) = $0.0071 \times \text{身高}(cm) + 0.0133 \times \text{体质量}(kg) - 0.1971$ ^[22], 每单位体表面积的肝体积(cm^3/m^2) = 肝体积(cm^3)/体表面积(m^2)。

由于体表面积与代谢情况密切相关, 同时包含了身高和体质量两个因素, 能够平衡由于身高体质量不同所带来的偏差, 故应用时选择标准化的肝脏体积(每单位体表面积的肝脏体积)更为合理, 现已有相关方面的报道。由于不同人种、性别之间以及不同测量方法之间的差异, 有关正常肝脏体积大小的具体数值各文献报道不尽相同。

■研究前沿

CT肝体积测量在肝硬化、肝肿瘤、肝移植等方面已有较多的报道, 且其准确性已被证实, 临床应用广泛, 但在肝转移方面的报道罕见, 有待今后进一步研究。

■相关报道

已证实术前预测预切除肝体积的可行性, CT术前预测肝切除体积准确性为92.82%±3.93%.

Liu等^[23]用64排螺旋CT测量15名健康人标准化全肝体积为 $637.98\text{ cm}^3/\text{m}^2 \pm 65.93\text{ cm}^3/\text{m}^2$. Urata等^[24]研究得出成人标准化全肝体积为 $712\text{ cm}^3/\text{m}^2 \pm 51\text{ cm}^3/\text{m}^2$, 而路涛等^[25]测量113例正常人标准化全肝体积、标准化左外叶体积、标准化尾叶体积分别为 $703.15\text{ cm}^3/\text{m}^2 \pm 98.69\text{ cm}^3/\text{m}^2$ 、 $117.07\text{ cm}^3/\text{m}^2 \pm 34.35\text{ cm}^3/\text{m}^2$ 、 $15.92\text{ cm}^3/\text{m}^2 \pm 6.23\text{ cm}^3/\text{m}^2$. 以上研究结果虽有一定的偏差, 但仍在可接受范围内.

部分学者未引用体表面积参数, 进行了肝体积的研究. Joyeux等^[26]用CT测量了50名健康人肝脏体积, 得出平均肝脏体积为 $1\,231\text{ cm}^3$. 丁可等^[27]对16例正常组行16层螺旋CT肝脏容积测量结果为正常肝脏平均容积为 $1\,097.12\text{ cm}^3 \pm 103.53\text{ cm}^3$, 左外叶、方叶、右叶、尾状叶的体积及其占全肝的百分比依次分别为 $166.53\text{ cm}^3 \pm 22.05\text{ cm}^3$ 、 $190.45\text{ cm}^3 \pm 18.54\text{ cm}^3$ 、 $714.96\text{ cm}^3 \pm 43.22\text{ cm}^3$ 、 $25.18\text{ cm}^3 \pm 4.02\text{ cm}^3$; $15.13\% \pm 1.07\%$ 、 $17.34\% \pm 0.58\%$ 、 $65.25\% \pm 1.48\%$ 、 $2.29\% \pm 0.23\%$, 与国内外学者^[5,14,25,28]同类研究结果基本吻合.

4 肝各叶体积测量及形态变化对肝硬化的评价价值

肝硬化体积的变化可以反映其血流灌注的变化. 肝硬化发生后, 整个肝脏以及各个肝叶的体积、各肝叶占全肝的百分比都随之发生变化. 肝硬化时, 右叶和左内叶萎缩, 左外叶和尾叶增大. 有研究表明, 这是肝脏各叶的体积与门静脉的血流灌注密切相关的结果. 门静脉在肝门处分为左右支, 右支分出后直接进入肝右叶实质. 在肝硬化时, 由于肝脏的纤维化和肝硬化结节使肝内门静脉受压以及不规则狭窄, 使肝血管床面积减少, 血流必然减少; 相反, 门静脉左支分出后先在镰状韧带内穿行一段后才进入肝左叶实质, 结果使肝左叶有相对多的血液供应, 所以肝右叶常萎缩, 而肝左外叶则常常增大^[29]. 肝尾叶接受门静脉右后支供血, 因其肝内行程较短, 在一定程度上保护了尾叶血供, 同时该区引流保存尚好, 可能避免了尾状叶的明显萎缩. 另外, 肝左外叶和尾状叶的增大还可能与方叶、右叶容积变小后肝脏的代偿有关.

肝的体积和形状变化可以反映其功能状态^[30,31], 肝功能分级越差, 病肝平均体积就越小. 肝硬化全肝及各叶体积的大小与肝功能Child-Pugh分级的严重程度存在着对应关系, 其关系如下: (1)全肝平均体积在Child-Pugh A、B、C

级肝硬化呈逐级递减的趋势; 全肝体积在Child A、B级, 无明显缩小, 而在Child C级有明显缩小; (2)肝右叶体积随Child-Pugh分级的增高呈逐渐递减的趋势; (3)肝左外叶体积在Child A、B级为绝对增大, 而左外叶体积在Child C级由于全肝体积的缩小, 表现为相对增大. 病情较轻的肝硬化左外叶增大比中、重度肝硬化更明显; (4)尾状叶体积在Child A级为绝对值增大, Child B、C级为相对增大. 其原因是: Child A级时, 尾状叶由于维持代偿功能需要而有明显增大; 尾状叶体积在肝功能进展到Child B级后虽受影响, 但仍表现为相对增大; 尾状叶在Child C级时受损较右叶及方叶为轻, 虽然总肝体积缩小, 而尾叶表现为相对增大.

在Child C级, 肝左叶和尾叶无法代偿时, 内科治疗难以缓解, 肝移植可能是唯一解决问题的办法. 这提示尤其肝左外叶和尾状叶体积变化可以在一定程度上预测肝功能变化情况, 帮助临床制定治疗策略和选择适当的手术时机. 肝硬化治疗前后体积的变化也可作为疗效观察的指标.

肝硬化肝叶体积的变化常与发病原因相关, 不同原因肝硬化肝叶体积变化不尽相同^[29,32,33]. 酒精性肝硬化患者肝脏体积的离散程度较大, 部分患者肝脏体积缩小, 但有部分患者肝脏体积增大, 原因尚有待进一步研究, 可能是脂肪肝的脂肪沉积所致. Okazaki等^[32]比较酒精性肝硬化与肝炎后肝硬化后发现, 尾状叶增大更常见于酒精性肝硬化, 而Dodd等^[33]则认为原发性胆管炎患者尾状叶增大更显著.

5 MSCT肝体积测量在肝切除术中的应用研究

外科手术切除是目前治疗肝脏肿瘤最有效的方法, 尤其是手术切除后残肝体积评估具有重大临床意义. 手术切除的一个原则性要求是在防止术后肿瘤复发的基础上保留足够的肝脏体积以保证术后肝功能需要, 尤其是进行右肝切除或扩大右肝切除时, 如果切除过多, 残肝体积过少, 超过代偿能力就可导致术后肝功能衰竭. 究竟多少残肝体积作为安全底线, 目前尚无明确阐释, 但残肝体积率越小, 术后肝功能损害越严重, 可能同样的病变, 残肝体积越大对保持肝功能越有利. 在肝部分切除术中很难准确评估残肝体积, 因为不同肝功能其变化范围非常大^[5]. 残肝的大小只反映肝的细胞量, 不少肝癌多合并肝硬化, 肝硬化及肝癌破坏或浸润肝细胞, 肝细胞功能

下降或消失, 再大的残肝体积也难以保证肝功能. 因此, 手术前必须熟悉肝脏的基础疾病, 充分评估肝功能情况, 只有结合肝体积测定, 才能更好地保证手术的成功. 然而术后肝功能失代偿, 以致肝功能衰竭的发生率却高达10%-20%, 已有报道认为残肝体积与术后肝功能衰竭有关^[34,35]. Shirabe等^[34]发现残肝体积与体表面积比值 $<250\text{ mL/m}^2$ 者, 术后肝功能衰竭发生率为38%(7/20), 而 $>250\text{ mL/m}^2$ 者, 肝功能衰竭发生率为零. Lee等^[36]在肝脏可切除比率安全性的研究中指出, 肝脏容积测量是评价肝脏功能储备和确定肝可切除率最有力的手段之一, 在肝硬化患者肝切除率小于全肝容积的60%时, 可以有效避免术后肝功能衰竭的发生. Vanthey等^[37]报道, 残肝体积率 $\leq 25\%$ 的患者, 术后严重并发症明显增加. Schindl等^[38]研究发现, 相对残肝体积值减小, 肝切除后严重肝功能衰竭和感染的发病率明显升高, 导致严重肝功能衰竭的临界值为26.6%.

残肝体积测量方法: 规则肝叶或肝段切除时, 按肝脏分区测量; 不规则切除时, 按肿瘤旁开2 cm作为切除部分, 余下部分即为残肝体积. $\text{CT预测术后残肝体积}(\text{cm}^3) = \text{CT测得全肝体积} - \text{CT预测切除肝体积}$; $\text{残肝体积率} = \text{CT预测术后残肝体积} / \text{CT测得全肝体积} \times 100\%$.

部分研究^[39,40]已证实术前预测预切除肝体积的可行性, CT术前预测肝切除体积准确性为 $92.82\% \pm 3.93\%$ ^[18]. 肝癌术前肿瘤切除预测可以很好地帮助手术者明确切除范围, 正确估计残肝体积大小. Soyer等^[39]对转移性肝脏肿瘤的研究显示, 术前CT测量肝脏体积可预测术后肝脏体积与全肝体积比例, 并指出剩余肝脏 $>35\%$ 是肝脏切除的安全界限. Tu等^[35]通过对55例原发性肝癌患者结合残肝体积率和肝硬化CT分级两个参数研究得出, 在尚无肝硬化的背景下40%的残肝体积率是安全的.

6 MSCT肝体积测量在肝移植中的应用研究

肝移植作为终末期肝脏疾病的一种有效治疗手段, 其价值日益受到肯定. 由于肝体积对肝移植有重要价值, 术前使用MSCT测量肝体积已成为常规检查^[6], 其能反映受体肝区的容积与供体肝脏体积是否匹配, 使移植肝的选择更为精确、科学. 移植后对肝脏体积的观察有助于了解器官排异的情况以及移植肝是否生长良好, 尤其是在部分肝移植的患者中肝脏的再生情况是移植是否成功的标志之一. 近年来肝移植术

前肝体积的准确测量成为国内外学者研究的热点, 被广泛应用于活体肝移植手术. 活体肝移植成功的关键是术前对供体和受体肝脏解剖的清晰、全面的了解, 尤其是术前肝脏体积精确的评估^[41,42]. 术前对供、受体肝脏容积的准确测量, 可确保切取的供体肝叶满足受体代谢需要的同时, 供体保留肝叶能保证其再生过程中代谢功能的维持, 从而保证供、受体安全具有十分重要的意义.

原位肝移植要求移植肝理想的大小应与受体原有肝脏的大小一致, 移植肝过大会受到较小的受体腹腔压迫, 极易导致血液灌注不良, 易形成动脉和门静脉栓塞和肝功能不足; 而移植肝过小, 易引起肝衰竭或原发性肝脏无功能^[43], 并因受体门静脉过量血流灌注而发生损伤, 恢复期可能出现更多的并发症, 并增加排斥的风险. 术前肝脏体积精确的评估能有效地防止供体术后并发症和受体术后的“小肝”综合征^[44]. 部分肝移植则要求在保证供体安全的前提下, 能给受体足够的肝脏满足代谢需要, 当残肝体积小于35%时, 其死亡率显著升高^[45]. Kawasaki等^[46]和Miyagawa等^[47]认为活体肝移植后为了保证良好的肝功能, 残肝体积率应 $>30\%$. Kamel等^[7]认为一般受体至少要获得供体原肝体积40%, 供体至少保留原肝体积35%.

7 MSCT肝体积测量在隐匿性肝转移中的应用研究

肝转移的诊断可以帮助制订合理的治疗方案, 但早期较难发现隐匿性肝转移灶的存在. 现已有报道, 较小的转移灶即可引起较明显的肝血流量变化^[48], 肝转移时门静脉血流量减少进而引起肝体积萎缩. Ishizawa等^[49]在对115例结肠或胃癌患者(其中14例存在隐匿性肝转移)肝脏容积测量的研究还发现, 隐匿性肝转移组与无转移组肝容积平均值分别为 $858\text{ cm}^3 \pm 109\text{ cm}^3$ 、 $1\,173\text{ cm}^3 \pm 230\text{ cm}^3$, 存在显著差异($P < 0.001$). 据此认为, MSCT肝容积测量可有助于揭示早期隐匿性的肝脏转移, 但此方面的报道较少, 有待今后进一步研究.

8 结论

肝脏体积可作为反映肝脏储备功能的一项重要指标, 在一定程度上也可以反映肝脏的血流灌注和代谢能力, 目前已成为研究的热点. 应用多层螺旋CT测量肝脏体积, 获得最接近人体自然状态下肝脏体积的变化, 与Child-Pugh分级有机

■创新盘点

本文就CT肝脏体积测量分别在肝硬化评估、肝肿瘤切除、肝移植受、供体选择以及肝转移诊断等方面的作用进行了详尽的阐述, 系统、全面, 条理清晰.

■应用要点

本文介绍CT肝脏体积测量对肝脏疾病临床应用价值,并对目前研究的现状及研究进展作了系统的总结,并指明了研究方向,对提高临床救治水平,具有重要的理论指导和应用价值。

结合起来,有助于正确评价患者肝脏潜在的储备能力,合理制订治疗方案及估计预后。

9 参考文献

- 1 孙春娟, 贺文. 多层螺旋CT对肝硬化患者肝脏体积变化的研究. 中国医学影像技术 2007; 23: 566-569
- 2 Heymsfield SB, Fulenwider T, Nordlinger B, Barlow R, Sones P, Kutner M. Accurate measurement of liver, kidney, and spleen volume and mass by computerized axial tomography. *Ann Intern Med* 1979; 90: 185-187
- 3 Schiano TD, Bodian C, Schwartz ME, Glajchen N, Min AD. Accuracy and significance of computed tomographic scan assessment of hepatic volume in patients undergoing liver transplantation. *Transplantation* 2000; 69: 545-550
- 4 Ogasawara K, Une Y, Nakajima Y, Uchino J. The significance of measuring liver volume using computed tomographic images before and after hepatectomy. *Surg Today* 1995; 25: 43-48
- 5 Abdalla EK, Denys A, Chevalier P, Nemr RA, Vauthey JN. Total and segmental liver volume variations: implications for liver surgery. *Surgery* 2004; 135: 404-410
- 6 彭志毅, 俞哲锋, 黄东胜, 邝平定, 郑树森, 肖圣祥, 吴健. 多层螺旋CT测量肝体积的实验和临床研究及对肝移植的应用价值. 中华放射学杂志 2004; 38: 291-294
- 7 Kamel IR, Raptopoulos V, Pomfret EA, Kruskal JB, Kane RA, Yam CS, Jenkins RL. Living adult right lobe liver transplantation: imaging before surgery with multidetector multiphase CT. *AJR Am J Roentgenol* 2000; 175: 1141-1143
- 8 Gao L, Heath DG, Kuszyk BS, Fishman EK. Automatic liver segmentation technique for three-dimensional visualization of CT data. *Radiology* 1996; 201: 359-364
- 9 方程, 宣吉晴, 雷正明. 肝脏体积与肝脏储备功能的关系及其临床应用. 中华肝胆外科杂志 2008; 14: 749-751
- 10 Kwon AH, Matsui Y, Ha-Kawa SK, Kamiyama Y. Functional hepatic volume measured by technetium-99m-galactosyl-human serum albumin liver scintigraphy: comparison between hepatocyte volume and liver volume by computed tomography. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 541-546
- 11 Strauss LG, Clorius JH, Frank T, van Kaick G. Single photon emission computerized tomography (SPECT) for estimates of liver and spleen volume. *J Nucl Med* 1984; 25: 81-85
- 12 Mut F, Glickman S, Marciano D, Hawkins RA. Optimum processing protocols for volume determination of the liver and spleen from SPECT imaging with technetium-99m sulfur colloid. *J Nucl Med* 1988; 29: 1768-1775
- 13 McNeal GR, Maynard WH, Branch RA, Powers TA, Arns PA, Gunter K, Fitzpatrick JM, Partain CL. Liver volume measurements and three-dimensional display from MR images. *Radiology* 1988; 169: 851-854
- 14 廖锦元, 黄仲奎, 龙莉玲, 黎宁钦. 16层螺旋CT体积测量评估肝硬化肝叶大小的价值. 临床放射学杂志 2006; 25: 425-428
- 15 Urata K, Kawasaki S, Matsunami H, Hashikura Y, Ikegami T, Ishizone S, Momose Y, Komiyama A, Makuuchi M. Calculation of child and adult standard liver volume for liver transplantation. *Hepatology* 1995; 21: 1317-1321
- 16 王茂春, 彭吉润, 冷希圣, 朱继业, 杜如昱. 计算机行肝脏CT断层三维重建及测量在肝癌中的应用研究. 中国医学影像技术 2003; 19: 1735-1738
- 17 Nakayama Y, Li Q, Katsuragawa S, Ikeda R, Hiai Y, Awai K, Kusunoki S, Yamashita Y, Okajima H, Inomata Y, Doi K. Automated hepatic volumetry for living related liver transplantation at multisection CT. *Radiology* 2006; 240: 743-748
- 18 宋瑞, 黄仲奎, 龙莉玲, 廖锦元. 16层螺旋CT测量肝脏体积在肝癌切除术中的应用研究. 临床放射学杂志 2008; 27: 52-56
- 19 Geraghty EM, Boone JM, McGahan JP, Jain K. Normal organ volume assessment from abdominal CT. *Abdom Imaging* 2004; 29: 482-490
- 20 Sandrasegaran K, Kwo PW, DiGirolamo D, Stockberger SM Jr, Cummings OW, Kopecky KK. Measurement of liver volume using spiral CT and the curved line and cubic spline algorithms: reproducibility and interobserver variation. *Abdom Imaging* 1999; 24: 61-65
- 21 Yu HC, You H, Lee H, Jin ZW, Moon JI, Cho BH. Estimation of standard liver volume for liver transplantation in the Korean population. *Liver Transpl* 2004; 10: 779-783
- 22 Hu YM, Wu XL, Hu ZH, Ren AH, Wei XQ, Wang XC, Wang YR. [Study of formula for calculating body surface areas of the Chinese adults] *Sheng Li Xue Bao* 1999; 51: 45-48
- 23 Liu P, Li P, He W, Zhao LQ. Liver and spleen volume variations in patients with hepatic fibrosis. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 3298-3302
- 24 Urata K, Hashikura Y, Ikegami T, Terada M, Kawasaki S. Standard liver volume in adults. *Transplant Proc* 2000; 32: 2093-2094
- 25 路涛, 周翔平, 陈心足, 魏永刚. 16层螺旋CT对肝炎后肝硬化肝体积变化与肝功能分级的相关性研究. 临床放射学杂志 2008; 27: 1670-1674
- 26 Joyeux H, Berticelli J, Chemouny S, Masson B, Borianne P. [Semi-automatic measurements of hepatic lobes. Application to study of liver volumes. Analysis of 50 computed tomography of normal liver] *Ann Chir* 2003; 128: 251-255
- 27 丁可, 黄仲奎, 龙莉玲, 李春兰, 孙龙伟, 林盛才. 慢肝纤维化、肝硬化CT肝脏容积变化与病理学分期的相关性. 实用放射学杂志 2008; 24: 35-39
- 28 Leelaudomlapi S, Sugawara Y, Kaneko J, Matsui Y, Ohkubo T, Makuuchi M. Volumetric analysis of liver segments in 155 living donors. *Liver Transpl* 2002; 8: 612-614
- 29 Awaya H, Mitchell DG, Kamishima T, Holland G, Ito K, Matsumoto T. Cirrhosis: modified caudate-right lobe ratio. *Radiology* 2002; 224: 769-774
- 30 Shoup M, Gonen M, D'Angelica M, Jarnagin WR, DeMatteo RP, Schwartz LH, Tuorto S, Blumgart LH, Fong Y. Volumetric analysis predicts hepatic dysfunction in patients undergoing major liver resection. *J Gastrointest Surg* 2003; 7: 325-330
- 31 Lu LG, Zeng MD, Wan MB, Li CZ, Mao YM, Li JQ, Qiu DK, Cao AP, Ye J, Cai X, Chen CW, Wang JY, Wu SM, Zhu JS, Zhou XQ. Grading and staging of hepatic fibrosis, and its relationship with noninvasive diagnostic parameters. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2574-2578
- 32 Okazaki H, Ito K, Fujita T, Koike S, Takano K, Matsunaga N. Discrimination of alcoholic from virus-induced cirrhosis on MR imaging. *AJR Am J Roentgenol* 2000; 175: 1677-1681
- 33 Dodd GD 3rd, Baron RL, Oliver JH 3rd, Federle MP. End-stage primary sclerosing cholangitis: CT

- findings of hepatic morphology in 36 patients. *Radiology* 1999; 211: 357-362
- 34 Shirabe K, Shimada M, Gion T, Hasegawa H, Takenaka K, Utsunomiya T, Sugimachi K. Postoperative liver failure after major hepatic resection for hepatocellular carcinoma in the modern era with special reference to remnant liver volume. *J Am Coll Surg* 1999; 188: 304-309
- 35 Tu R, Xia LP, Yu AL, Wu L. Assessment of hepatic functional reserve by cirrhosis grading and liver volume measurement using CT. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 3956-3961
- 36 Lee SG, Hwang S. How I do it: assessment of hepatic functional reserve for indication of hepatic resection. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2005; 12: 38-43
- 37 Vauthey JN, Chaoui A, Do KA, Bilimoria MM, Fenstermacher MJ, Charnsangavej C, Hicks M, Alsfasser G, Lauwers G, Hawkins IF, Caridi J. Standardized measurement of the future liver remnant prior to extended liver resection: methodology and clinical associations. *Surgery* 2000; 127: 512-519
- 38 Schindl MJ, Redhead DN, Fearon KC, Garden OJ, Wigmore SJ. The value of residual liver volume as a predictor of hepatic dysfunction and infection after major liver resection. *Gut* 2005; 54: 289-296
- 39 Soyer P, Roche A, Elias D, Levesque M. Hepatic metastases from colorectal cancer: influence of hepatic volumetric analysis on surgical decision making. *Radiology* 1992; 184: 695-697
- 40 余元龙, 李良才, 唐秉航, 胡泽民. 原发性肝癌肿块和肝脏螺旋CT三维体积测量的应用价值. *中华放射学杂志* 2004; 38: 636-639
- 41 Marcos A, Fisher RA, Ham JM, Shiffman ML, Sanyal AJ, Luketic VA, Sterling RK, Fulcher AS, Posner MP. Liver regeneration and function in donor and recipient after right lobe adult to adult living donor liver transplantation. *Transplantation* 2000; 69: 1375-1379
- 42 Fan ST, Lo CM, Liu CL, Yong BH, Chan JK, Ng IO. Safety of donors in live donor liver transplantation using right lobe grafts. *Arch Surg* 2000; 135: 336-340
- 43 Kayaalp C, Arda K, Oto A, Oran M. Liver volume measurement by spiral CT: an in vitro study. *Clin Imaging* 2002; 26: 122-124
- 44 Tucker ON, Heaton N. The 'small for size' liver syndrome. *Curr Opin Crit Care* 2005; 11: 150-155
- 45 Cho JY, Suh KS, Kwon CH, Yi NJ, Lee HH, Park JW, Lee KW, Joh JW, Lee SK, Lee KU. Outcome of donors with a remnant liver volume of less than 35% after right hepatectomy. *Liver Transpl* 2006; 12: 201-206
- 46 Kawasaki S, Makuuchi M, Matsunami H, Hashikura Y, Ikegami T, Nakazawa Y, Chisuwa H, Terada M, Miyagawa S. Living related liver transplantation in adults. *Ann Surg* 1998; 227: 269-274
- 47 Miyagawa S, Hashikura Y, Miwa S, Ikegami T, Urata K, Terada M, Kubota T, Nakata T, Kawasaki S. Concomitant caudate lobe resection as an option for donor hepatectomy in adult living related liver transplantation. *Transplantation* 1998; 66: 661-663
- 48 Leveson SH, Wiggins PA, Giles GR, Parkin A, Robinson PJ. Deranged liver blood flow patterns in the detection of liver metastases. *Br J Surg* 1985; 72: 128-130
- 49 Ishizawa T, Yamamoto T, Nishida K, Tsukui H, Sekikawa T. Diagnostic value of measuring liver volume for detecting occult hepatic metastases from colorectal or gastric cancer. *World J Surg* 2005; 29: 719-722

■同行评价

本文系统归纳了多层螺旋CT在肝脏体积测量的方法及应用, 具有较高的学术水平。

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》入选北京大学图书馆 2008年版《中文核心期刊要目总览》

本刊讯 《中文核心期刊要目总览》(2008年版)采用了被索量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、获国家奖或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80余种, 统计文献量达32 400余万篇次(2003-2005年), 涉及期刊12 400余种。本版还加大了专家评审力度, 5 500多位学科专家参加了核心期刊评审工作。经过定量评价和定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1 980余种核心期刊, 分属七大编73个学科类目。《世界华人消化杂志》入选本版核心期刊库(见R5内科学类核心期刊表, 第66页)。(编辑部主任: 李军亮 2010-01-08)

生物人工肝用肝细胞低温保存的现状与进展

蒋知新, 沙杭, 李庆勇, 张清华, 李安全, 林虎, 高毅

■背景资料

目前肝功能衰竭病死率高达80%左右, 现有病因治疗及支持治疗疗效甚微. 肝移植被认为是最有效的治疗手段, 但存在供体严重不足、终生免疫治疗及费用昂贵等缺点. 生物人工肝的发展为肝衰竭的治疗提供了新的途径.

蒋知新, 沙杭, 张清华, 李安全, 林虎, 中国人民解放军第305医院 北京市 100017

李庆勇, 南方医科大学研究生院 广东省广州市 510515

高毅, 南方医科大学珠江医院肝胆二科 广东省广州市 510262

国家高技术研究发展计划(863计划)基金资助项目, No. 2006AA02A141

全军医学科研“十一五”计划专项基金资助项目, No. 08Z017

作者贡献分布: 论文写作由蒋知新、沙杭及李庆勇完成; 论文审校由张清华、李安全、林虎及高毅完成.

通讯作者: 张清华, 教授, 100017, 北京市西城区文津街甲13号, 中国人民解放军305医院老年病中心. mdlqy@yahoo.com.cn

电话: 010-63096916 传真: 010-63096916

收稿日期: 2010-02-19 修回日期: 2010-04-28

接受日期: 2010-05-10 在线出版日期: 2010-06-18

Hypothermic storage of hepatocytes used for bioartificial liver support system: current status and recent advances

Zhi-Xin Jiang, Hang Sha, Qing-Yong Li,
Qing-Hua Zhang, An-Quan Li, Hu Lin, Yi Gao

Zhi-Xin Jiang, Hang Sha, Qing-Hua Zhang, An-Quan Li, Hu Lin, the 305th Hospital of Chinese PLA, Beijing 100017, China

Qing-Yong Li, the Postgraduate College of Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China
Yi Gao, Department of Hepatobiliary Surgery (Division II), Zhujiang Hospital Affiliated to Southern Medical University, Guangzhou 510262, Guangdong Province, China

Supported by: the National High Technology Research and Development Program of China (863 Program), No. 2006AA02A141; and the Special Foundation for Military Medical Research during the 11th Five-year Plan Period, No. 08Z017

Correspondence to: Professor Qing-Hua Zhang, Department of Gerontology, the 305th Hospital of Chinese PLA, Beijing 100017, China. mdlqy@yahoo.com.cn

Received: 2010-02-19 Revised: 2010-04-28

Accepted: 2010-05-10 Published online: 2010-06-18

Abstract

The problem that high-quality hepatocytes are difficult to obtain restricts the use of bioartificial liver support system (BLASS) in clinical practice. Finding an effective way to preserve hepatocytes and constructing a “ready-to-use” hepatocyte bank would efficiently promote the development of the BLASS. Nowadays, the methods for hypothermic storage of hepatocytes could be classified

into two types: conventional hypothermic storage at 4 °C or subzero nonfreezing storage, and cryopreservation at -80 °C or -196 °C. Each type of hypothermic storage method has its advantages and disadvantages. Many factors may affect the effect of hypothermic storage (cryopreservation), such as storage solution and cryoprotective agent. Although the precise mechanism underlying the death of hepatocytes during hypothermic storage is not well understood, numerous studies have indicated that apoptosis plays an important role in hypothermic storage injury.

Key Words: Bioartificial liver support system; Hypothermic storage; Cell apoptosis

Jiang ZX, Sha H, Li QY, Zhang QH, Li AQ, Lin H, Gao Y. Hypothermic storage of hepatocytes used for bioartificial liver support system: current status and recent advances. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(17): 1792-1798

摘要

大量功能好的肝细胞是生物人工肝支持系统(bio-artificial liver support system, BLASS)的核心, 是制约BLASS临床广泛应用的瓶颈. 探索出一种实用的肝细胞低温保存方法, 建立一个随时可用(ready to use)的肝细胞库是BALSS普遍推广的基础. 目前肝细胞低温保存分为4 °C或零下非结冰保存和-80 °C或-196 °C深低温冻存两大类, 两大类保存方法各有优缺点. 影响肝细胞低温保存的因素很多, 如保存(冻存)液、(冻存)保护剂等. 有关肝细胞在低温保存过程中死亡的机制尚未完全阐明, 但大量研究发现细胞凋亡是除了坏死之外低温保存肝细胞死亡的另一个重要的途径.

关键词: 生物人工肝; 低温保存; 细胞凋亡

蒋知新, 沙杭, 李庆勇, 张清华, 李安全, 林虎, 高毅. 生物人工肝用肝细胞低温保存的现状与进展. *世界华人消化杂志* 2010; 18(17): 1792-1798

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1792.asp>

0 引言

肝功能衰竭(liver failure)是多种因素引起的严

■同行评议者

仇毓东, 副教授, 南京大学医学院附属鼓楼医院肝胆外科; 唐世刚, 教授, 大连大学附属中山医院消化内科

重肝功能损害^[1], 现有病因治疗及一般支持治疗疗效甚微, 病死率高达80%左右^[2]. 除了肝移植^[3,4], 生物人工肝支持系统(Bio-artificial liver support system, BLASS)的发展为肝功能衰竭的治疗开辟了新的途径^[5]. 一方面通过BLASS短期有效的支持, 部分患者肝脏可望通过残存的正常肝细胞代偿增生而恢复功能^[6], 另一方面也可以通过BLASS的体外支持, 为不可逆急慢性肝功能衰竭患者最终的肝移植赢得宝贵的待肝时间, BLASS起到了“肝功能衰竭-肝移植”的桥梁作用^[7]. 肝细胞是BLASS的核心, 是制约BLASS临床广泛应用的瓶颈^[8]. 所以探索出一种可靠的低温保存体系, 建立一个随时可用(ready to use)的肝细胞库^[9-11], 是BLASS技术普遍推广的基础. 目前肝细胞低温保存主要分为两大类: 4℃低温保存(hypothermic preservation)^[12]或者零下非结冰保存(subzero nonfreezing storage)^[13]; -80℃或者-196℃深低温冻存(cryopreservation)^[14]. 有关肝细胞在低温保存过程中死亡的机制尚未完全阐明, 但研究发现细胞凋亡在细胞低温保存损伤中发挥着重要的作用^[15,16]. 本文就肝细胞低温保存的现状与进展及其同细胞凋亡的关系作一综述.

1 4℃常规低温保存

影响4℃低温保存的主要因素有: (1)低温保存液: UW液(University of Wisconsin solution)多用于供肝的短期保存和运输, 被认为是器官保存的标准液^[17]. 随着肝细胞移植与BLASS的发展, 对肝细胞的需求明显增加, UW液广泛被用于肝细胞的短期低温保存且效果明显. Calligaris等^[18]用UW液4℃保存分离的鼠肝细胞72 h, 发现低温保存的肝细胞氨基清除能力及尿素合成能力同新鲜细胞无明显差别. Abrahamse等^[19]分别用UW液, Celsior液及HTK液4℃保存原代猪肝细胞48 h, 发现UW液组肝细胞存活率同Celsior液无差别但优于HTK液, UW液组DNA片段释放及LDH释放明显低于Celsior液及HTK液. Kao等^[12]用UW液4℃保存鼠肝细胞48 h, 细胞存活率及LDH释放同新鲜细胞无差异, 但明显优于林格式乳酸液(Ringer's lactate solution, RL)及磷酸缓冲液(phosphate-buffer saline, PBS)4℃保存鼠肝细胞的效果. 因此, UW液在肝细胞短期4℃保存方面优势明显, 但是UW液比较昂贵, 许多学者开始探索优化其他保存液, 以期获得同UW液同样甚至更佳的保存效果: Mamprin等^[17]发现由

氨基磺酸类缓冲剂BES、葡萄糖酸锑钠和蔗糖构成的BGS液低温保存肝细胞的效果同UW液无差异. 也有关于使用Williams E、L-15和RPMI 1640等培养基4℃保存肝细胞的研究^[20,21], 但是保存时间超过48h后细胞存活率往往降至50%以下, 不及UW液的保存效果. (2)低温保护剂: 聚乙二醇(polyethylene glycol, PGE)的相对分子质量大约8 000 Da, 是一种非渗透性保护剂, 其机制可能是同低温保存时维持肝细胞内外渗透压, 减轻细胞水肿和保护细胞膜和细胞器有关^[22]. 刘鸿凌等^[23]用含5% PGE的RPMI 1640培养基和UW液4℃低温保存原代乳猪肝细胞, 48 h内均可获得较高的细胞存活率及贴壁率, 保存72 h后PGE组细胞存活率有所下降不及UW液组, 但仍然可达60%. 各时间点PGE组肝细胞药物代谢功能及合成功能同UW液组无明显差异. 乙酰半胱氨酸(*N*-acetyl-cystein, NAC)及葡萄糖(glucose, Glu). NAC是一种活性氧自由基清除剂, 具有抗氧化的作用. 葡萄糖是细胞能量代谢最主要的物质. Gómez-Lechón等^[24]发现在磷酸缓冲液(phosphate-buffer saline, PBS)的基础上增加2 mmol NAC及15 mmol Glu 4℃低温保存原代人肝细胞, 肝细胞存活率、生长贴壁率、糖原合成、谷胱甘肽水平及细胞色素酶P450药物代谢水平单纯PBS液(对照组)明显增加. (3)降温速率: Kebis等^[25]0℃-4℃ HTK液低温保存鼠肝组织24 h, 一组采用计算机程控降温(45 min内, HTK液由初始的13℃缓慢降至3℃), 另一组将肝组织直接置于0℃-4℃ HTK液(对照组). 发现程控降温组天冬氨酸转氨酶(AST)及丙氨酸转氨酶(ALT)的释放量是对照组的1/2-1/3. 因此, Kebis认为直接用低温HTK液保存肝组织是不恰当的, 低温保存前控制降温速率可以减轻低温保存肝细胞损伤.

2 零下非结冰低温保存

温度是影响细胞代谢活性的重要因素, 一般而言温度越低细胞代谢活性就越低, 保存时间越长^[26]. 零下非结冰温度(subzero nonfreezing temperature, SNFT)是指0℃到某溶液冰点(freezing point)之间的温度范围. 超冷温度是指溶液冰点之下温度至溶液开始形成冰晶之间的温度范围^[27]. 比如: UW液的冰点是-1℃, 但是只有外界温度降至-4℃(超冷温度阈值)时才开始结冰, 因此, UW液的零下非结冰温度是0℃至-4℃, 超冷温度是-1℃至-4℃. 零下非结冰温度及超冷

■研发前沿

获得大量的生物转化和分泌功能好且能快速临床应用的肝细胞是生物人工肝的核心. 而探索出一种有效的肝细胞低温保存体系, 建立一个随时可用“ready to use”的肝细胞库, 临床随时可以得到大量高活率有功能的肝细胞, 可有效的解决制约人工肝发展的瓶颈, 是人工肝普遍推广的基础.

■相关报道

目前肝细胞低温保存分为两大类: (1)-196℃深低温冻存; (2)4℃常规低温保存。为提高低温保存复温后肝细胞的存活率, 学者们对多种冻存保护剂进行了研究, 同时发现细胞凋亡是除了坏死之外, 低温保存肝细胞死亡的一个重要途径。

温度不仅最大限度的降低了细胞的代谢活性, 而且又避免了冰晶形成引起的冻存损伤, 理论上是一种理想的肝细胞低温保存方式。目前, 有关零下非结冰低温保存肝细胞的文献报道较少: Yoshida等^[28]用UW液保存分离的鼠肝组织, 试验分为两组: 4℃组(对照组), -0.8℃组(零下非结冰组)。低温保存24、48、72及96 h后60 min内测定肝组织的ATP(三磷酸腺苷)含量、TAN(总腺苷)含量、LDH释放(乳酸脱氢酶)及DNA片段释放。结果显示各时间点-0.8℃组ATP含量和TAN含量明显高于零下非结冰组; -0.8℃组各时间点LDH释放(乳酸脱氢酶)明显低于零下非结冰组; 但是各时间点两组DNA片段释放无明显差异。Matsuda等^[29]用UW液保存通过酶消化法分离的鼠肝细胞, 实验分为3组: -4℃组(subzero non-freezing group), 0℃组(zero nonfreezing group), 4℃组(conventional temperature group)。低温保存24和48 h后测定细胞存活率、ATP含量、LDH释放、乳酸释放和尿素合成能力。结果显示: 各时间点-4℃组肝细胞存活率及细胞内ATP含量明显优于4℃组(低温保存48 h: 细胞存活率分别为60.3%±5.4%, 46.0%±6.0%, $P<0.01$; 细胞内ATP含量: $4.47\pm2.11\ \mu\text{g}/10^6$, $1.82\pm1.09\ \mu\text{g}/10^6$, $P<0.05$); -4℃组肝细胞LDH释放及乳酸释放较0℃组和4℃组明显降低; 各组间尿素合成能力无明显差异。Rodriguez等^[30]用UW液保存鼠肝细胞, 试验分为3组: 0℃组(zero nonfreezing group), -4℃组(subzero nonfreezing group), -4℃加非渗透性保护剂丁二醇组。低温保存120 h后, -4℃组肝细胞存活率及细胞内ATP含量较0℃组明显增加, LDH释放及乳酸产物明显降低。-4℃ UW液保存肝细胞的基础上添加非渗透性保护剂丁二醇组, 可进一步提高细胞的存活率及细胞内ATP含量。

3 -80℃或者-196℃(液氮)深低温冻存

目前-80℃或者-196℃(液氮)深低温冻存复苏后细胞存活率在80%左右, 如何优化冻存方法, 提高复苏后细胞存活率及保持细胞功能, 减轻细胞冻存损伤, 满足BLASS的需要是目前研究的重点^[31]。影响深低温冻存肝细胞活性及存活率的因素很多, 包括冻存液, 冻存保护剂, 降温速率, 复苏方式, 保存形式及细胞密度, 冻存前孵育, 复温后培养等^[32]。

3.1 冻存液 冻存液(cryopreservation solution)对肝细胞的冻存效果影响很大^[33], 合适的冻存液有

助于帮助细胞抵抗渗透压的变化和减少冻存过程中细胞内冰晶的形成, 从而提高冻存后肝细胞的存活率。目前比较常用的深低温冻存液有DMEM, William E, RPMI 1640, F12, L-15等培养基^[34-36]。不同保存液的成分及浓度各不相同, 冻存肝细胞的效果也不尽相同: Baldini等^[37]用含50 mL/L FBS, 100 mL/L DMSO, 125 U/L胰岛素和10 ng/L胰高血糖素的DMEM液, 液氮保存猪肝细胞长达数月, 细胞功能无明显影响。Kunieda等^[38]分别用UW液+DMSO及DMEM液+DMSO于-80℃冻存原代猪肝细胞3 d、5 d和5 mo, 结果UW液+DMSO组的肝细胞存活率、贴壁率、尿素合成能力及LDH释放量均优于DMEM液+DMSO组。Illouz等^[39]用ETK液±DMSO及UW液±DMSO液氮冻存原代人肝细胞, 四组间细胞存活率无统计学差异。但是, UW液+DMSO组的肝细胞存活率低于UW液+其他保护剂, 而ETK液+DMSO组的肝细胞存活率同ETK液+其他保护剂无差异。提示ETK液是一种有效的细胞冻存液, 其保存效果同UW液无差异, 加入冻存保护剂可进一步减轻肝细胞冻存损伤。

3.2 冻存保护剂 目前冻存保护剂(cryoprotective agent, CPA)主要分为两大类: 渗透性保护剂, 如二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO); 非渗透性保护剂, 如羟乙基淀粉(hydroxyethyl starch, HES), 低分子右旋糖酐(low molecular weight dextran, D-40), 蔗糖(sucrose), 聚乙烯吡咯烷酮(polyvinylpyrrolidone, PVP)等。DMSO是一种渗透性保护剂, 可以自由通过细胞膜, 一方面可以降低细胞内冰点, 减少细胞内冰晶形成所致的“冰晶性损伤”, 另一方面可以防止冻存过程中细胞外渗透压升高引起的细胞过度脱水所致的“渗透性休克性损伤”^[40]。DMSO是肝细胞深低温冻存最常用的渗透性保护剂, 常用浓度为5%-20%, DMSO浓度过低不能起保护作用, 浓度过高存在严重的毒性作用(DMSO可与蛋白质疏水基团发生作用, 导致蛋白质变性)^[41]。羟乙基淀粉和低分子右旋糖酐是比较常用的非渗透性保护剂, 具体保护机制目前仍然不明确, 可能是与冻存过程中减少细胞内冰晶形成及复苏时减轻由于渗透压改变引起的细胞肿胀有关。非渗透性保护剂HES同渗透性保护剂DMSO在肝细胞低温冻存中联合应用优于单用DMSO且可以降低DMSO浓度, 减轻DMSO的肝细胞毒性作用^[42]。另外, 试验发现在DMSO的基础上添加膜稳定剂^[43,44](如海藻糖, 牛磺酸等)、生物抗氧

化剂^[45,46](如过氧化氢酶, 氨乙酰半胱氨酸, 还原性谷胱甘肽, 胎牛血清等), 凋亡抑制剂^[47,48](如Z-DEVD-FMK, IDN-1965等)可以提高冻存肝细胞存活率, 减轻生物性细胞损伤。

3.3 降温速率 降温速率(freezing rate)是影响细胞深低温冻存复苏后存活率的一项关键因素。如果降温过快, 降温过程中随着细胞外冰晶的形成, 细胞内水分渗出, 可导致致死性的细胞脱水性“溶质性损伤”。如果降温过慢, 降温过程中细胞内不及外渗便在细胞内形成小冰晶, 可引起致死性的“冰晶性损伤”。不同类型的细胞最佳冻存速率不同^[49]。大量研究发现, 肝细胞降温速率曲线呈倒置的“U”型, 最佳降温速率区间-1℃至-5℃/min可以获得较高的细胞存活率及功能恢复^[50]。Hengstler等^[51]通过电脑程控降温: 以-1.8℃/min(降10 min)降至0℃(保持8 min), 继以-2℃/min(降4 min)降至-8℃, -8℃在0.1 min内迅速降至-28℃, 后以-2.5℃/min(降2 min), 又以+2.5℃/min(升2 min), 再以-2℃/min(降16 min)及-10℃/min(降4 min)降至-100℃, 最后至液氮-196℃保存, 肝细胞复苏后存活率可达89%。Neyzen等^[49]研究发现, 在冻存的初级阶段(4℃至-10℃)降温速率非常重要, 此阶段偏离-0.8℃至-1.1℃/min, 将严重影响肝细胞冻存后存活率和细胞功能。周霖等^[52]比较了电脑程控降温(Hengstler法)和梯度降温(4℃/-85℃/-196℃)大规模深低温冻存猪肝细胞1 mo后的差别, 结果两组细胞存活率分别为76.3%±1.9%, 72.4%±1.5%, $P>0.05$; 尿素合成、白蛋白分泌、葡萄糖合成及利多卡因转化功能无统计学差异。

3.4 复苏方式 复苏是指将低温冻存的肝细胞恢复至常温的过程。目前常用的是快速复温法, 目的是使细胞迅速通过变相易损期(0℃至-5℃), 以防止细胞内重结晶形成及渗透性肿胀, 提高肝细胞的存活率和细胞功能^[53]。一般用37℃水浴快速复温, 有人认为40℃复温速度更快。Baldini等^[37]在冷冻的肝细胞放入40℃水浴中快速复温(10 s内), 然后移去上清。Wu等^[54]用电脑程控降温法于-196℃保存肝细胞一段时间, 置于37℃水浴震荡1-2 min, 复苏后电镜观察细胞活力和细胞器形态结构, 经比较冻存细胞同未冻存细胞无明显差别, 把上述两种肝细胞放入生物人工肝反应器, 治疗急性肝衰竭模型猪取得良好的效果。Loven等^[55]用梯度降温冻存肝细胞1-2 d后, 取出肝细胞于37℃水浴震荡1-2 min并用William E液洗涤, 复

苏后冻存肝细胞的存活率及I相、II相代谢活性同未冻存细胞无差异。

3.5 保存形式及细胞密度 目前大多数是将肝细胞悬液直接冻存, 其他肝细胞冻存的形式有单层胶原、三明治夹心、微囊化和微载体冻存等。Khalil等^[56]将肝细胞埋入含胶原基质, -196℃保存肝细胞2 mo, 复温后细胞保持良好的生物学功能。Sugimachi^[34]通过胶原酶消化猪肝脏获得肝细胞进行三明治夹心培养, 3 d后采用程控法降温至-70℃后于冰箱保存3 h或者14 d, 复苏后细胞形态及功能均保持良好。微囊化及微载体是目前应用较多的肝细胞大规模培养方法, 应用于冻存效果较好。Canaple等^[57]于-196℃保存微囊化的肝细胞发现, 冻存30 d和70 d的微囊化肝细胞的白蛋白分泌量相当于包裹的新鲜肝细胞, 冻存4 mo的微囊化肝细胞仍然保持较好的白蛋白合成及转铁蛋白分泌能力。最成功的是Watanabe等^[58]将微载体培养的猪肝细胞电脑程控降温至-70℃保存, 复温后置于中空纤维管中行人工肝支持治疗, 疗效确切。细胞密度对细胞冻存效果也有一定的影响, Madan等^[59]总结既往大量研究发现, 肝细胞以 10^6 - 10^7 /mL冻存比较合适。

3.6 冻存前孵育和复苏后培养 细胞膜的完整性对冻存后细胞质量有重要的影响, 而冻存前孵育可以有效地修复损伤的细胞膜, 使肝细胞对冻存和复温的抵抗力明显增强^[60]。Terry等^[61]进一步研究发现: 含100-300 mmol/L葡萄糖的培养基预孵育可以明显细胞冻存复苏后鼠肝细胞的存活率、贴壁能力及减少LDH的释放; 100-300 mmol/L果糖的培养基预孵育可以明显细胞冻存复苏后鼠肝细胞的存活率、贴壁能力; 含0.5-5 mmol/L α -脂酸的培养基预孵育可以明显细胞冻存复苏后鼠肝细胞的存活率、贴壁能力和人白蛋白分泌能力; 预孵育温度在4℃的效果优于37℃。复苏后培养同样可以减轻细胞冻存损伤, 促进细胞功能恢复。

4 细胞凋亡与肝细胞低温保存损伤

有关肝细胞在低温保存过程中死亡的机制尚未完全阐明, 除了冰晶形成、渗透压改变如pH值外, Fu等^[62]发现肝细胞冻存复苏后, 采用膜联蛋白相关的TUNEL染色、流式细胞仪和DNA梯度分析, 冻存复苏后细胞凋亡指数较新鲜细胞明显增加。Kao等^[12]用UW液4℃低温保存鼠肝细胞24 h后, 发现凋亡细胞明显增加, 同时伴有凋

■创新盘点

本文详细论述了目前肝细胞低温保存的方法及其优缺点, 同时对低温保存肝细胞的效果以及同细胞凋亡的关系也做了一些探讨。

■应用要点

零下非结冰不同于深低温冻存和常规低温保存,是一种比较新的有效的肝细胞低温保存方法。

亡相关蛋白热休克蛋白的改变。因此,细胞凋亡是除了坏死之外冻存肝细胞死亡的另一个重要的途径。

细胞凋亡有两个独立的途径:死亡受体途径^[63,64](外源性途径即由Fas/CD95和TNFR介导的通路);线粒体途径^[65,66](内源性途径即Cyt.C, caspase-2, 3, 9等介导的通路)。关于冻存引起肝细胞凋亡的具体机制目前仍然不明确,但也取得了一定的进展: Fu等^[67]将肝细胞培养温度由37℃降至32℃后培养12 h,使用流式细胞仪及DNA梯度分析测定Fas受体介导的细胞凋亡作用,结果显示:低温保存抑制了Fas受体介导的细胞凋亡及细胞色素C的释放。Matsushita等^[68]在培养液基础上增加25 mmol/L的广谱细胞凋亡蛋白酶抑制剂IDN-1965液氮冻存肝细胞2 wk, TUNEL染色测定细胞凋亡指数,同时测定caspase-3活性及细胞色素C的释放。结果显示凋亡蛋白酶抑制剂IDN-1965明显提高了冻存复苏后肝细胞存活率,抑制了细胞凋亡、caspase-3活性及细胞色素C的释放。Fujita等^[69]进一步研究发现,冻存肝细胞复苏过程中伴有氧化应激活性氧产生和凋亡酶活性增加,冻存前添加抗氧化剂及凋亡酶活性抑制剂可以提高冻存复苏后细胞存活率,抑制细胞凋亡。相反Vanhulle^[48]发现冻存前添加caspase-3抑制剂Z-DEVD-FMK(2.5 μg)未发现肝细胞存活率增加,但是添加caspase-3上游靶点(GSK-3)抑制剂氯化锂,则明显提高了冻存复苏后肝细胞的存活率,抑制了细胞凋亡。因此线粒体途径相关的细胞凋亡在细胞冻存损伤中发挥着重要的作用^[70]。

5 结论

肝细胞低温保存目前分为4℃低温保存或零下非结冰保存和-80℃或-196℃深低温冻存两大类。4℃低温保存肝细胞具有操作简单,随取随用,便于运输和推广等优点,但是保存时间较短(不易超过48 h)。-80℃或-196℃深低温冻存是比较成熟的肝细胞长期低温保存方法,但也在操作比较复杂,程控降温成本高且不便运输等缺点。零下非结冰一方面可以使代谢降至最低,不同于常规低温保存(4℃),另一方面可以避免“细胞内冰晶”、“渗透性休克”等深低温冻存损伤,可能是比较理想的肝细胞低温保存方法。有关肝细胞在低温保存过程中死亡的机制尚未完全阐明,但大量研究发现细胞凋亡可能是除了坏死之外冻存肝细胞死亡的另一个重

要的途径,而线粒体途径相关的细胞凋亡可能在细胞冻存损伤中发挥着重要的作用。总之,探索出一种实用的肝细胞低温保存方法,建立一个随时可用(ready to use)的“血库样”肝细胞库可有效的促进BLASS的发展。

6 参考文献

- 1 高艳颖, 韩涛, 阙志超. 慢性肝衰竭患者预后的影响因素. 世界华人消化杂志 2008; 16: 3343-3346
- 2 Jalan R. Acute liver failure: current management and future prospects. *J Hepatol* 2005; 42 Suppl: S115-S123
- 3 Polson J, Lee WM. AASLD position paper: the management of acute liver failure. *Hepatology* 2005; 41: 1179-1197
- 4 Murray KF, Carithers RL Jr. AASLD practice guidelines: Evaluation of the patient for liver transplantation. *Hepatology* 2005; 41: 1407-1432
- 5 Murphy N. An update in acute liver failure: when to transplant and the role of liver support devices. *Clin Med* 2006; 6: 40-46
- 6 Kjaergard LL, Liu J, Als-Nielsen B, Gluud C. Artificial and bioartificial support systems for acute and acute-on-chronic liver failure: a systematic review. *JAMA* 2003; 289: 217-222
- 7 Gaspari R, Pennisi MA, Mignani V, Gasbarrini A, Mercurio G, Di Campli C, Conti G, Gentiloni Silveri N, Proietti R. Artificial liver support as a bridge to orthotopic liver transplantation in a case of acute liver dysfunction on non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *Z Gastroenterol* 2001; 39 Suppl 2: 15-17
- 8 Lloyd TD, Orr S, Berry DP, Dennison AR. Development of a protocol for cryopreservation of hepatocytes for use in bioartificial liver systems. *Ann Clin Lab Sci* 2004; 34: 165-174
- 9 Alexandre E, Viollon-Abadie C, David P, Gandillet A, Coassolo P, Heyd B, Manton G, Wolf P, Bachellier P, Jaek D, Richert L. Cryopreservation of adult human hepatocytes obtained from resected liver biopsies. *Cryobiology* 2002; 44: 103-113
- 10 Terry C, Mitry RR, Lehec SC, Muiesan P, Rela M, Heaton ND, Hughes RD, Dhawan A. The effects of cryopreservation on human hepatocytes obtained from different sources of liver tissue. *Cell Transplant* 2005; 14: 585-594
- 11 Fiegel HC, Kaufmann PM, Bruns H, Kluth D, Horch RE, Vacanti JP, Kneser U. Hepatic tissue engineering: from transplantation to customized cell-based liver directed therapies from the laboratory. *J Cell Mol Med* 2008; 12: 56-66
- 12 Kao YH, Goto S, Jawan B, Nakano T, Hsu LW, Lin YC, Pan MC, Lai CY, Sun CK, Cheng YF, Tai MH, Huang HT, Chen CL. Heat preconditioning ameliorates hepatocyte viability after cold preservation and rewarming, and modulates its immunoactivity. *Transpl Immunol* 2008; 18: 220-231
- 13 Guibert EE, Almada LL, Mamprin ME, Bellarosa C, Pizarro MD, Tiribelli C, Rodriguez JV. Subzero nonfreezing storage of rat hepatocytes using UW solution and 1,4-butanediol. II- functional testing on rewarming and gene expression of urea cycle enzymes. *Ann Hepatol* 2009; 8: 129-133
- 14 Sosef MN, Baust JM, Sugimachi K, Fowler A, Tompkins RG, Toner M. Cryopreservation of isolated primary rat hepatocytes: enhanced survival

- and long-term hepatospecific function. *Ann Surg* 2005; 241: 125-133
- 15 Keckler MS. Dodging the CTL response: viral evasion of Fas and granzyme induced apoptosis. *Front Biosci* 2007; 12: 725-732
 - 16 Kuo HM, Tsai HC, Lin YL, Yang JS, Huang AC, Yang MD, Hsu SC, Chung MC, Gibson Wood W, Chung JG. Mitochondrial-dependent caspase activation pathway is involved in baicalein-induced apoptosis in human hepatoma J5 cells. *Int J Oncol* 2009; 35: 717-724
 - 17 Mamprin ME, Petrocelli S, Guibert E, Rodriguez J. A novel BES-gluconate-sucrose (BGS) solution for cold storage of isolated hepatocytes. *Cryo Letters* 2008; 29: 121-133
 - 18 Calligaris SD, Almada LL, Guibert EE, Tiribelli C, Rodriguez JV. Ammonium detoxifying activity is maintained after 72 hours of cold preservation of rat hepatocytes in University of Wisconsin (UW) solution. *Cryo Letters* 2002; 23: 245-254
 - 19 Abrahamse SL, van Runnard Heimel P, Hartman RJ, Chamuleau RA, van Gulik TM. Induction of necrosis and DNA fragmentation during hypothermic preservation of hepatocytes in UW, HTK, and Celsior solutions. *Cell Transplant* 2003; 12: 59-68
 - 20 Dabos KJ, Parkinson JA, Nelson LJ, Sadler IH, Hayes PC, Plevris JN. The effect of hypothermia on primary porcine hepatocyte metabolism monitored by (1H) nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15: 283-293
 - 21 Shanina IV, Kravchenko LP, Fuller BJ, Grischenko VI. A comparison of a sucrose-based solution with other preservation media for cold storage of isolated hepatocytes. *Cryobiology* 2000; 41: 315-318
 - 22 Houle R, Raoul J, Lévesque JF, Pang KS, Nicoll-Griffith DA, Silva JM. Retention of transporter activities in cryopreserved, isolated rat hepatocytes. *Drug Metab Dispos* 2003; 31: 447-451
 - 23 刘鸿凌, 王英杰, 郭海涛, 刘国栋, 刘俊, 于乐成. 原代乳猪肝细胞低温保存的初步探索. *肝脏* 2002; 7: 168-170
 - 24 Gómez-Lechón MJ, Lahoz A, Jiménez N, Bonora A, Castell JV, Donato MT. Evaluation of drug-metabolizing and functional competence of human hepatocytes incubated under hypothermia in different media for clinical infusion. *Cell Transplant* 2008; 17: 887-897
 - 25 Kebis A, Kukan M, Grancic P, Jakubovský J. A novel way of liver preservation improves rat liver viability upon reperfusion. *J Zhejiang Univ Sci B* 2007; 8: 289-295
 - 26 Llarrull MS, Pizarro MD, Scandizzi AL, Bottai H, Guibert EE, Rodriguez JV. Cold preservation of isolated hepatocytes in UW solution: experimental studies on the respiratory activity at 0 degrees C. *Cryo Letters* 2007; 28: 313-328
 - 27 Matsumoto N, Yoshizawa H, Kagamu H, Abe T, Fujita N, Watanabe S, Kuriyama H, Ishiguro T, Tanaka J, Suzuki E, Kobayashi K, Gemma A, Kudoh S, Gejyo F. Successful liquid storage of peripheral blood stem cells at subzero non-freezing temperature. *Bone Marrow Transplant* 2002; 30: 777-784
 - 28 Yoshida K, Matsui Y, Wei T, Kaibori M, Kwon AH, Yamane A, Kamiyama Y. A novel conception for liver preservation at a temperature just above freezing point. *J Surg Res* 1999; 81: 216-223
 - 29 Matsuda H, Yagi T, Matsuoka J, Yamamura H, Tanaka N. Subzero nonfreezing storage of isolated rat hepatocytes in University of Wisconsin solution. *Transplantation* 1999; 67: 186-191
 - 30 Rodriguez JV, Almada LL, Mamprin ME, Guibert EE, Furno G. Subzero nonfreezing storage of rat hepatocytes using modified University of Wisconsin solution (mUW) and 1,4-butanediol. I-effects on cellular metabolites during cold storage. *Ann Hepatol* 2009; 8: 57-62
 - 31 Son JH, Kim KH, Nam YK, Park JK, Kim SK. Optimization of cryoprotectants for cryopreservation of rat hepatocyte. *Biotechnol Lett* 2004; 26: 829-833
 - 32 Terry C, Hughes RD. An optimised method for cryopreservation of human hepatocytes. *Methods Mol Biol* 2009; 481: 25-34
 - 33 Lloyd TD, Orr S, Skett P, Berry DP, Dennison AR. Cryopreservation of hepatocytes: a review of current methods for banking. *Cell Tissue Bank* 2003; 4: 3-15
 - 34 Sugimachi K, Roach KL, Rhoads DB, Tompkins RG, Toner M. Nonmetabolizable glucose compounds impart cryotolerance to primary rat hepatocytes. *Tissue Eng* 2006; 12: 579-588
 - 35 Hamel F, Grondin M, Denizeau F, Averill-Bates DA, Sarhan F. Wheat extracts as an efficient cryoprotective agent for primary cultures of rat hepatocytes. *Biotechnol Bioeng* 2006; 95: 661-670
 - 36 Garcia M, Rager J, Wang Q, Strab R, Hidalgo IJ, Owen A, Li J. Cryopreserved human hepatocytes as alternative in vitro model for cytochrome p450 induction studies. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 2003; 39: 283-287
 - 37 Baldini E, Cursio R, Desousa G, Margara A, Honiger J, Saint-Paul MC, Bayer P, Raimondi V, Rahmani R, Mouiel J, Gugenheim J. Cryopreserved porcine hepatocytes: expression and induction of cytochrome P450, isoform CYP2E1. *Transplant Proc* 2009; 41: 1367-1369
 - 38 Kunieda T, Maruyama M, Okitsu T, Shibata N, Takesue M, Totsugawa T, Kosaka Y, Arata T, Kobayashi K, Ikeda H, Oshita M, Nakaji S, Ohmoto K, Yamamoto S, Kurabayashi Y, Kodama M, Tanaka N, Kobayashi N. Cryopreservation of primarily isolated porcine hepatocytes with UW solution. *Cell Transplant* 2003; 12: 607-616
 - 39 Illouz S, Nakamura T, Webb M, Thava B, Bikchandani J, Robertson G, Lloyd D, Berry D, Wada H, Dennison A. Comparison of University of Wisconsin and ET-Kyoto preservation solutions for the cryopreservation of primary human hepatocytes. *Transplant Proc* 2008; 40: 1706-1709
 - 40 Fleming KK, Hubel A. Cryopreservation of hematopoietic and non-hematopoietic stem cells. *Transfus Apher Sci* 2006; 34: 309-315
 - 41 Thirumala S, Zvonic S, Floyd E, Gimble JM, Devireddy RV. Effect of various freezing parameters on the immediate post-thaw membrane integrity of adipose tissue derived adult stem cells. *Biotechnol Prog* 2005; 21: 1511-1524
 - 42 Li AP. Human hepatocytes: isolation, cryopreservation and applications in drug development. *Chem Biol Interact* 2007; 168: 16-29
 - 43 Katenz E, Vondran FW, Schwartzlander R, Pless G, Gong X, Cheng X, Neuhaus P, Sauer IM. Cryopreservation of primary human hepatocytes: the benefit of trehalose as an additional cryoprotective agent. *Liver Transpl* 2007; 13: 38-45
 - 44 Miyamoto Y, Suzuki S, Nomura K, Enosawa

同行评价

本文综述内容系统全面, 条理清楚, 语言流畅, 引文详实, 文章内容对于相关领域研究人员有较高的参考价值, 是一篇较好的综述。

- S. Improvement of hepatocyte viability after cryopreservation by supplementation of long-chain oligosaccharide in the freezing medium in rats and humans. *Cell Transplant* 2006; 15: 911-919
- 45 Limaye LS, Kale VP. Cryopreservation of human hematopoietic cells with membrane stabilizers and bioantioxidants as additives in the conventional freezing medium. *J Hematother Stem Cell Res* 2001; 10: 709-718
- 46 Sasnoor LM, Kale VP, Limaye LS. Supplementation of conventional freezing medium with a combination of catalase and trehalose results in better protection of surface molecules and functionality of hematopoietic cells. *J Hematother Stem Cell Res* 2003; 12: 553-564
- 47 Fu T, Guo D, Huang X, O'Gorman MR, Huang L, Crawford SE, Soriano HE. Apoptosis occurs in isolated and banked primary mouse hepatocytes. *Cell Transplant* 2001; 10: 59-66
- 48 Vanhulle VP, Neyrinck AM, Pycke JM, Horsmans Y, Delzenne NM. Role of apoptotic signaling pathway in metabolic disturbances occurring in liver tissue after cryopreservation: Study on rat precision-cut liver slices. *Life Sci* 2006; 78: 1570-1577
- 49 Neyzen S, Van de Leur E, Borkham-Kamphorst E, Herrmann J, Hollweg G, Gressner AM, Weiskirchen R. Cryopreservation of hepatic stellate cells. *J Hepatol* 2006; 44: 910-917
- 50 Fowler A, Toner M. Cryo-injury and biopreservation. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1066: 119-135
- 51 Hengstler JG, Utesch D, Steinberg P, Platt KL, Diener B, Ringel M, Swales N, Fischer T, Biefang K, Gerl M, Böttger T, Oesch F. Cryopreserved primary hepatocytes as a constantly available in vitro model for the evaluation of human and animal drug metabolism and enzyme induction. *Drug Metab Rev* 2000; 32: 81-118
- 52 周霖, 薛毅珑, 田磊, 李雁凌, 张佐云. 大规模猪肝细胞低温保存方法的建立. *解放军医学杂志* 2003; 28: 816-819
- 53 Wang Y, Zhu YQ, Lin JM, Zhang ZY, Gao Y. [The protective effect of Astragalus membranaceus extraction on cryopreserved primary-cultured human fetal hepatocytes] *Zhong Yao Cai* 2007; 30: 1551-1554
- 54 Wu L, Sun J, Wang L, Wang C, Woodman K, Koutalistras N, Horvat M, Sheil AG. Cryopreservation of primary porcine hepatocytes for use in bioartificial liver support systems. *Transplant Proc* 2000; 32: 2271-2272
- 55 Loven AD, Olsen AK, Friis C, Andersen B. Phase I and II metabolism and carbohydrate metabolism in cultured cryopreserved porcine hepatocytes. *Chem Biol Interact* 2005; 155: 21-30
- 56 Khalil M, Shariat-Panahi A, Tootle R, Ryder T, McCloskey P, Roberts E, Hodgson H, Selden C. Human hepatocyte cell lines proliferating as cohesive spheroid colonies in alginate markedly upregulate both synthetic and detoxificatory liver function. *J Hepatol* 2001; 34: 68-77
- 57 Canaple L, Nurdin N, Angelova N, Saugy D, Hunkeler D, Desvergne B. Maintenance of primary murine hepatocyte functions in multicomponent polymer capsules--in vitro cryopreservation studies. *J Hepatol* 2001; 34: 11-18
- 58 Watanabe FD, Mullon CJ, Hewitt WR, Arkadopoulos N, Kahaku E, Eguchi S, Khalili T, Arnaout W, Shackleton CR, Rozga J, Solomon B, Demetriou AA. Clinical experience with a bioartificial liver in the treatment of severe liver failure. A phase I clinical trial. *Ann Surg* 1997; 225: 484-491; discussion 491-494
- 59 Madan A, DeHaan R, Mudra D, Carroll K, LeCluyse E, Parkinson A. Effect of cryopreservation on cytochrome P-450 enzyme induction in cultured rat hepatocytes. *Drug Metab Dispos* 1999; 27: 327-335
- 60 Gómez-Lechón MJ, Lahoz A, Jiménez N, Vicente Castell J, Donato MT. Cryopreservation of rat, dog and human hepatocytes: influence of preculture and cryoprotectants on recovery, cytochrome P450 activities and induction upon thawing. *Xenobiotica* 2006; 36: 457-472
- 61 Terry C, Dhawan A, Mitry RR, Lehec SC, Hughes RD. Preincubation of rat and human hepatocytes with cytoprotectants prior to cryopreservation can improve viability and function upon thawing. *Liver Transpl* 2006; 12: 165-177
- 62 Fu T, Guo D, Huang X, O'Gorman MR, Huang L, Crawford SE, Soriano HE. Apoptosis occurs in isolated and banked primary mouse hepatocytes. *Cell Transplant* 2001; 10: 59-66
- 63 Wesche-Soldato DE, Chung CS, Gregory SH, Salazar-Mather TP, Ayala CA, Ayala A. CD8+ T cells promote inflammation and apoptosis in the liver after sepsis: role of Fas-FasL. *Am J Pathol* 2007; 171: 87-96
- 64 张晓华, 袁柏思, 朱人敏. Fas/FasL在急性胰腺炎肝损伤中的作用. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 1661-1665
- 65 Chen J, Delannoy M, Odwin S, He P, Trush MA, Yager JD. Enhanced mitochondrial gene transcript, ATP, bcl-2 protein levels, and altered glutathione distribution in ethinyl estradiol-treated cultured female rat hepatocytes. *Toxicol Sci* 2003; 75: 271-278
- 66 Guha M, Kumar S, Choubey V, Maity P, Bandyopadhyay U. Apoptosis in liver during malaria: role of oxidative stress and implication of mitochondrial pathway. *FASEB J* 2006; 20: 1224-1226
- 67 Fu T, Blei AT, Takamura N, Lin T, Guo D, Li H, O'Gorman MR, Soriano HE. Hypothermia inhibits Fas-mediated apoptosis of primary mouse hepatocytes in culture. *Cell Transplant* 2004; 13: 667-676
- 68 Matsushita T, Yagi T, Hardin JA, Cragun JD, Crow FW, Bergen HR 3rd, Gores GJ, Nyberg SL. Apoptotic cell death and function of cryopreserved porcine hepatocytes in a bioartificial liver. *Cell Transplant* 2003; 12: 109-121
- 69 Fujita R, Hui T, Chelly M, Demetriou AA. The effect of antioxidants and a caspase inhibitor on cryopreserved rat hepatocytes. *Cell Transplant* 2005; 14: 391-396
- 70 John M, Martin J, Krisiti K. Activation of Mitochondrial-Associated Apoptosis Contributes to Cryopreservation Failure. *Cell Preserv Technol* 2007; 53: 155-164

编辑 曹丽鸥 电编 吴鹏朕

缺血后处理对肝脏缺血再灌注的保护机制研究进展

林杰, 曾仲

林杰, 曾仲, 昆明医学院第一附属医院器官移植中心 云南省昆明市 650032

云南省自然科学基金资助项目, No. 2007C137M

作者贡献分布: 本文综述由林杰完成; 曾仲审核。

通讯作者: 曾仲, 副教授, 650032, 云南省昆明市, 昆明医学院第一附属医院器官移植中心, zong@medmail.com.cn

电话: 0871-5359202

收稿日期: 2010-03-21 修回日期: 2010-05-16

接受日期: 2010-05-25 在线出版日期: 2010-06-18

Advances in research on the protective mechanisms of ischemic postconditioning against hepatic ischemia-reperfusion injury

Jie Lin, Zhong Zeng

Jie Lin, Zhong Zeng, Organ Transplantation Center, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical College, Kunming 650032, Yunnan Province, China.

Supported by: the Natural Science Foundation of Yunnan Province, No. 2007C137M

Correspondence to: Associate Professor Zhong Zeng, Organ Transplantation Center, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical College, Kunming 650032, Yunnan Province, China. zong@medmail.com.cn

Received: 2010-03-21 Revised: 2010-05-16

Accepted: 2010-05-25 Published online: 2010-06-18

Abstract

Liver transplantation is the only effective treatment for end-stage liver diseases. Ischemia-reperfusion injury remains a major cause of post-transplantation liver dysfunction and even failure. Ischemic postconditioning is defined as rapid intermittent periods of reperfusion and ischemia in the early phase of reperfusion after long ischemia of the tissues and organs. Many investigations have demonstrated that ischemic postconditioning has a protective effect against hepatic ischemia-reperfusion injury. Ischemic postconditioning exerts protective effects through many possible mechanisms such as oxygen free radicals, calcium overload, polymorphonuclear neutrophils, cytokines, cell apoptosis and mitochondria.

Key Words: Ischemic postconditioning; Liver; Ischemia-reperfusion injury

Lin J, Zeng Z. Advances in research on the protective mechanisms of ischemic postconditioning against hepatic ischemia-reperfusion injury. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(17): 1799-1803

摘要

肝脏移植是治疗终末期肝病的唯一有效手段, 缺血再灌注损伤是移植肝功能受损乃至丧失的主要因素之一。缺血后处理是在组织器官长时间缺血后再灌注早期, 对组织器官进行数次短暂的再灌注/阻断的处理方法。众多研究显示, 缺血后处理对肝脏缺血再灌注损伤有保护作用。其发挥作用的可能机制, 主要是通过氧自由基、钙超载、中性粒细胞、细胞因子、细胞凋亡、线粒体等几个方面的作用来实现。

关键词: 缺血后处理; 肝脏; 缺血再灌注损伤

林杰, 曾仲. 缺血后处理对肝脏缺血再灌注的保护机制研究进展. *世界华人消化杂志* 2010; 18(17): 1799-1803

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1799.asp>

0 引言

Jennings于1960年首先提出缺血再灌注损伤(ischemia reperfusion injury, IRI)的概念: 缺血器官、组织重新获得血液供应, 不仅不能使组织、器官功能恢复, 反而加重了功能代谢障碍及结构破坏, 这种现象称之为IRI。如何减轻移植器官的IRI并提高器官移植患者的术后生存时限已成为学者研究的目的。1986年Murry等^[1]首先提出缺血预处理(ischemic preconditioning, IPC)概念, 即一次或多次短暂重复心肌缺血再灌注, 能提高心肌对此后发生较长时间缺血的耐受性, 减轻组织器官的再灌注损伤。近年来学者研究发现组织器官缺血后再灌注之前给予短暂的再灌注也能保护组织器官, 并且出现与IPC相似的保护作用, 遂提出了缺血后处理(ischemic postconditioning, IPO)的概念^[2]。但是组织器官损伤一旦形成, IPC失去了治疗的最佳时间, 而IPO是缺血后的措施, 在治疗IRI上正好弥补IPC的不

■背景资料

1986年Murry等首先提出缺血预处理(IPC)概念, 即一次或多次短暂重复心肌缺血再灌注, 能提高心肌对此后发生较长时间缺血的耐受性, 减轻组织器官的再灌注损伤。近年来学者研究发现组织器官缺血后再灌注之前给予短暂的再灌注也能保护组织器官, 并且出现与IPC相似的保护作用, 遂提出了缺血后处理(IPO)的概念。但是组织器官损伤一旦形成, IPC失去了治疗的最佳时间, 而IPO是缺血后的措施, 在治疗IRI上正好弥补IPC的不足, 所以在临床上有更大的应用价值。

■同行评议者

何裕隆, 教授, 中山大学附属第一医院胃肠胰脾外科

■ 研发前沿

IPO作为当前抗HIRI研究的热点,其保护HIRI的某些机制尚未完全明了,最终明确其起保护作用的机制,使之能够应用于临床,还有待于进一步研究。

足,所以在临床上有更大的应用价值。

1 IPO概念的提出

Zhao等^[2]在2003年首先在心脏缺血再灌注研究中证明在心肌较长时间缺血后,开始再灌注前,对心脏进行3个短周期的再灌注30 s/阻断30 s处理,然后全面恢复心脏的再灌注,能对再灌注心脏产生抗损伤作用,从而得出一种新的外科干预措施,即IPO。孙凯等用IPO方式对肝脏缺血再灌注损伤(hepatic ischemia reperfusion injury, HIRI)的大鼠研究证实IPO有保护作用^[3-6]。薛聪龙等^[7]对于IPO与IPC对大鼠肝脏保护作用的比较研究得出, IPO与IPC一样对肝脏都有保护作用,并且两者的保护作用相似,无明显性差异。在抗HIRI的方法中, IPO是一种在时机选择上不同于IPC的处理方式,他对于减轻HIRI在肝脏器官移植临床应用中有更好的可预知性和可操作性。

2 IPO的处理的时机、时间、循环次数

Vinten-Johansen等认为, IPO的保护作用是反复短暂的再灌注在组织器官恢复血流的最初几分钟干涉才发挥效应也最为关键^[8-10]。大鼠肝脏IPO的处理时间和循环次数究竟为多少,才能最大限度的保护肝脏,目前文献报道不一。根据我们既往研究认为(待发表),“再灌注/阻断”时间是IPO的一个关键性因素,6次循环“再灌注60 s/阻断60 s”的IPO方式对肝脏具有明显的保护作用,时间太短和太长都不利于HIRI的恢复,只有恰当的“再灌注/阻断”时间才能发挥IPO的保护作用。但也有学者认为^[11],6次循环“再灌注10 s/阻断10 s”IPO对肝脏的保护作用较好。上述IPO方式结果的差异可能是由于试验条件不同而引起的。关于IPO的循环次数亦存在争议^[7,12],但不同循环次数的IPO方式对保护HIRI的效果是否一样,目前尚无比较研究。

3 IPO对HIRI保护作用的机制

IPO的确切机制目前仍在研究探讨之中, IPO的保护机制可能与以下几个方面有关。

3.1 氧自由基 组织器官的IRI主要是一种氧化应激反应^[13],氧自由基在HIRI时发挥重要作用可能是HIRI组织中最早出现和最重要的成分之一^[14],大量的氧自由基的产生是HIRI的主要直接原因^[15]。在生理情况下,身体内不断产生氧自由基,而又不不断将其清除以维持在一个动态平衡状态。HIRI时,由于细胞缺血、缺氧可使ATP

生成减少, Ca^{2+} 进入线粒体增多,使线粒体功能受损,细胞色素氧化酶功能失调、呼吸链功能障碍及超氧化物歧化酶生成减少,从而氧自由基生成增多^[16];而在再灌注初的几分钟内突然获得氧,将会增加ATP的合成,但同时也加剧了细胞内 Ca^{2+} 超载和中性粒细胞呼吸爆发,产生大量氧自由基,从而导致HIRI^[17]。此外,内皮细胞和Kupffer细胞及多形核白细胞受缺血、缺氧刺激,在活化时出现“呼吸爆发”,通过细胞膜上的NADPH氧化酶亦可释放大量的氧自由基^[18]。氧自由基对肝细胞损伤机制主要有:(1)氧自由基对细胞膜双层磷脂结构中的重要脂类进行氧化作用,改变膜的流动性和通透性并生成多种毒性很强的脂质过氧化物,从而直接损伤细胞膜,导致细胞破坏释放细胞内容物,从而进一步增加氧自由基的产生;(2)氧自由基能引起血小板、粒细胞在微血管中黏附、聚集,造成微血管障碍;(3)氧自由基可直接氧化肝实质细胞核内DNA双链结构,引起DNA突变而造成肝脏结构和功能损伤;(4)氧自由基还可引发一系列复杂的生物活性分子的产生和反应,如吞噬细胞激活、内毒素的释放等而造成对肝细胞的损伤^[19]。研究表明^[20],抑制氧自由基的堆积,维持活性氧清除系统的平衡是IPO的重要保护机制。Yang等^[21]报道再灌注开始1 min即有大量氧自由基的爆发产生,在4、5 min达到高峰。IPO通过反复短暂的缺血和再灌注,减少再灌注区氧自由基生成底物的供给,减少了氧自由基生成,同时清除自由基的酶也被大量冲走,使氧自由基的产生/清除趋于平衡。孙凯等^[3]以大鼠为模型建立肝脏缺血再灌注模型进行IPO实验,发现IPO后组织超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)有所升高,而脂质过氧化物产物丙二醛(malonic dialdehyde, MDA)明显降低, IPO组细胞凋亡指数较缺血再灌注组显著降低,肝组织病理形态学损伤亦明显减轻。其对肝脏的保护作用是通过抑制再灌注后氧自由基的过量生成,从而改善肝脏微循环^[22,23],进一步证明IPO通过缓解再灌注初期氧自由基的大量产生,抑制细胞膜发生脂质过氧化和细胞凋亡,从而保护再灌注器官。

3.2 钙超载 正常生理条件下,细胞内外 Ca^{2+} 浓度存在着较大的梯度,细胞内低的 Ca^{2+} 浓度是维持细胞正常生理机能的前提,缺血/再灌注初期产生大量氧自由基, Ca^{2+} 通透性增加,大量流入胞内引起钙超载, Ca^{2+} 浓度的升高又激活磷脂酶和

蛋白水解酶,促进氧自由基大量生成,使线粒体内ATP的合成减少,严重影响细胞能量供应并可使细胞内 Ca^{2+} 进一步滞留,加重再灌注器官的损伤,最终引起细胞坏死、凋亡^[24]。因此,缺血/再灌注过程中自由基的生成引发 Ca^{2+} 超载, Ca^{2+} 超载又促进自由基生成,两者之间相互促进形成了一个恶性的循环。将培养的小鼠心肌细胞缺氧3 h后再复氧,则培养液中的活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)、MDA的浓度和心肌细胞质内、线粒体内的 Ca^{2+} 浓度立即上升,如对复氧后的心肌细胞进行处理(低氧5 min, 3个循环),则与未处理相比,ROS、MDA浓度和细胞内、线粒体内的 Ca^{2+} 浓度,IPO组均明显下降^[25]。说明IPO可通过抑制氧自由基的爆发而抑制细胞内 Ca^{2+} 超载。

3.3 中性粒细胞 中性粒细胞(polymorphonuclear neutrophil, PMN)的激活、黏附、脱颗粒作用是器官缺血再灌注损伤的重要因素之一^[26]。PMN在HIRI的早期,由于肝微循环血流速度减慢,肝血窦淤血及白细胞数量增加,引起PMN聚集、黏附、活化,增加了与肝血窦内皮细胞表面的黏附。肝窦是PMN外侵的主要地方,一旦外侵入肝实质,PMN通过淋巴细胞相关抗原与肝细胞上的细胞间黏附分子结合发生作用,引起长时间的蛋白酶的释放和氧化应激,造成肝脏的损伤^[27]。在缺血缺氧及致炎因子的作用下,内皮细胞表面的黏附分子表达明显升高,使得肝窦内皮细胞和PMN的结合更加紧密,从而使PMN进一步越过内皮细胞,转入肝脏实质,产生炎症反应,加重HIRI。Zhao等^[2]发现,与缺血/再灌注组相比,IPO组缺血冠状动脉内皮细胞与PMN的黏附能力、髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)活性和P-选择素(黏附分子)的表达均明显降低。褚薇薇等^[28]在大鼠肠黏膜IRI研究中也发现,IPO能降低MPO活性,进一步说明IPO可以抑制再灌注时PMN的激活、黏附、脱颗粒作用而减轻组织器官的IRI。

3.4 细胞因子 研究表明有多种细胞因子参与HIRI的病理生理过程。这些细胞因子在肝内以自分泌、旁分泌和类似激素方式而发挥生物学效应,他们既可单个形式也可通过彼此间网络状的协同作用形式而引起肝脏损伤。包括有肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor - α , TNF- α)、白介素1(interleukin-1, IL-1)、白介素6(interleukin-6, IL-6)、白介素10(interleukin-10, IL-10)、血小板激活因子(platelet activating

factor, PAF)等细胞因子。其中TNF- α 及IL-1是目前研究最活跃的两个细胞因子。TNF- α 在HIRI中起着起始激发的作用,并与HIRI伤程度高度相关^[29],TNF- α 不仅可直接导致肝窦内皮细胞肿胀,而且能显著地增加肝窦内皮细胞表面黏附分子表达,提高PMN与肝窦内皮细胞相互作用的能力,致肝脏微循环障碍^[30]。此外,TNF- α 尚可激活黏附于肝窦内的PMN释放氧自由基而造成肝脏损伤^[31]。IL-1不仅能促使Kupffer细胞产生TNF- α ,上调PMN释放氧自由基的能力,还能与TNF- α 协同作用于内皮细胞,诱导其合成凝血酶及纤维蛋白酶,从而破坏内皮细胞的骨架作用^[32],加重HIRI。王楠等认为IPO能够减少再灌注后氧自由基的产生并提高肝脏的抗氧化能力,同时抑制了肝脏Kupffer细胞产生和释放TNF- α ,减少了氧自由基和细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecular-1, ICAM-1)等多种活性因子的释放,减少PMN的聚集,从而减轻移植后的HIRI^[5,33]。程江霞等^[34]研究认为IPO抑制了早期TNF- α 再灌注的升高,IPO首先通过抑制TNF- α 的上升,进一步抑制了IL-6和IL-1的增高,从而抑制了促炎症细胞因子之间相互作用,形成许多正反馈环,进一步抑制了“炎症级联反应”的发生,从而减轻IRI达到对再灌注器官的保护作用。

3.5 细胞凋亡和线粒体结构 肝缺血再灌注早期肝脏细胞死亡主要发生在肝窦内皮细胞,且以细胞凋亡为主。近年来研究表明,细胞凋亡在HIRI的病理过程中起着重要作用^[35,36],HIRI后细胞凋亡是一个多因素、多环节、多途径的径的复杂过程,而这其中氧自由基的爆发性形成是关键因素。有研究认为,IPO通过多次循环复灌、复停减少了突然再灌注时活性氧自由基的爆发性产生,保护线粒体超微结构^[22],降低了PMN和内皮细胞的交互作用^[2],或通过刺激机体内抗氧化剂和自由基清除剂的释放等途径而发挥保护作用。此外缺血再灌注后线粒体膜通透性转换孔道(mitochondrial permeability transition pore, MPTP)开放而引发的线粒体膜通透性转换(mitochondrial permeability transition, MPT)作用可能是细胞凋亡过程中的关键环节^[36-38],MPT的发生,造成线粒体基质蛋白的渗透压升高,从而导致基质水肿、线粒体外膜损伤和线粒体双膜间隙中的细胞色素C(cytochrome C, CytC)和凋亡诱导因子(apoptosis-inducing factor, AIF)释放到胞质,活化半胱氨酸蛋白酶-3(caspase-3),引起

■ 相关报道

Argaud等在兔缺血模型中证实,IPO可抑制缺血区心肌MPTP的开放,缩小心肌梗死面积,而缺血后给予MPTP特异性阻断剂具有和IPO相似的结果,提示IPO是通过抑制MPTP开放产生的心肌保护作用。

同行评价

本文综述了缺血后处理对肝脏缺血再灌注的保护机制研究进展,文章创新性强,具有一定的临床价值。

瀑布式级联反应,诱导细胞凋亡的发生。MPTP具有感受器的功能,钙超载、氧化应激均对MPTP有调控作用。同时大量的研究表明,在依赖线粒体的凋亡途径中,Bcl-2家族蛋白对MPTP的开放和关闭亦起着关键的调节作用。Bcl-2基因是一种原癌基因,在细胞凋亡过程中,Bcl-2基因抑制细胞凋亡,而Bax则可拮抗Bcl-2的功能,促进细胞凋亡的发生^[39]。两者调节线粒体MPTP的开闭决定细胞的存活或死亡与两者在线粒体外膜上的浓度比例密切相关^[40,41],Bcl-2/Bax比值高抑制细胞凋亡,Bcl-2/Bax比值低促进细胞凋亡。Argaud等^[42]在兔缺血模型中证实,IPO可抑制缺血区心肌MPTP的开放,缩小心肌梗死面积,而缺血后给予MPTP特异性阻断剂具有和IPO相似的结果,提示IPO是通过抑制MPTP开放产生的心肌保护作用。IPO减轻肝移植的HIRI机制可能是通过在线粒体途径中提高Bcl-2家族蛋白的表达,增加Bcl-2/Bax的比值,从而抑制MPTP的开放减少Cyt-c等凋亡蛋白的释放,保护线粒体的结构与功能减少肝细胞凋亡并最终减轻移植肝的HIRI。

4 结论

HIRI并非单一的病理生理过程,而是一个多细胞参与、多种介质共同发挥作用的反应过程。其损伤因素远超过机体的自我保护,所以有必要通过外界干预来减少损伤因素。IPO发挥其对HIRI保护作用也并非单一的作用于上述的某一环节,而是多位点、多途径、交互作用的结果。但是,IPO作为当前抗HIRI研究的热点,其保护HIRI的某些机制尚未完全明了,最终明确其起保护作用的机制,使之能够应用于临床,还有待于进一步研究。

5 参考文献

- Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986; 74: 1124-1136
- Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Wang NP, Guyton RA, Vinten-Johansen J. Inhibition of myocardial injury by ischemic preconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 285: H579-H588
- 孙凯,刘志苏,孙权. 缺血后处理对肝脏缺血再灌注损伤的保护作用. *武汉大学学报* 2004; 25: 104-107
- 武步强,褚薇薇,贺国洋,李健,王殿华. 缺血后处理对缺血-再灌注肝脏的抗损伤作用研究. *昆明医学院学报* 2005; 26: 64-67
- 王楠,马庆久,鲁建国,褚延魁,赖大年. 缺血后处理对大鼠移植肝缺血再灌注损伤的保护作用. *中华外科杂志* 2005; 43: 1533-1536

- Liu X, Chen H, Zhan B, Xing B, Zhou J, Zhu H, Chen Z. Attenuation of reperfusion injury by renal ischemic preconditioning: the role of NO. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 359: 628-634
- 薛聪龙,付晓光,齐志敏. 缺血后处理与缺血预处理对大鼠肝脏保护作用比较研究. *辽宁医学院学报* 2007; 28: 23-26
- Vinten-Johansen J. Postconditioning: a mechanical maneuver that triggers biological and molecular cardioprotective responses to reperfusion. *Heart Fail Rev* 2007; 12: 235-244
- Kin H, Zhao ZQ, Sun HY, Wang NP, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Guyton RA, Vinten-Johansen J. Postconditioning attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by inhibiting events in the early minutes of reperfusion. *Cardiovasc Res* 2004; 62: 74-85
- Cohen MV, Yang XM, Downey JM. The pH hypothesis of postconditioning: staccato reperfusion reintroduces oxygen and perpetuates myocardial acidosis. *Circulation* 2007; 115: 1895-1903
- 王楠,马庆久,褚延魁,鲁建国,何显力,杜锡林. 缺血后处理对大鼠移植肝细胞凋亡的影响. *外科理论与实践* 2005; 10: 535-538
- Crisostomo PR, Wairiuko GM, Wang M, Tsai BM, Morrell ED, Meldrum DR. Preconditioning versus postconditioning: mechanisms and therapeutic potentials. *J Am Coll Surg* 2006; 202: 797-812
- Kotani T, Kobata A, Nakamura E, Amagase K, Takeuchi K. Roles of cyclooxygenase-2 and prostacyclin/IP receptors in mucosal defense against ischemia/reperfusion injury in mouse stomach. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 316: 547-555
- Brass CA, Roberts TG. Hepatic free radical production after cold storage: Kupffer cell-dependent and -independent mechanisms in rats. *Gastroenterology* 1995; 108: 1167-1175
- Romanque U P, Uribe M M, Videla LA. [Molecular mechanisms in liver ischemic-reperfusion injury and ischemic preconditioning] *Rev Med Chil* 2005; 133: 469-476
- Khandoga A, Biberthaler P, Enders G, Teupser D, Axmann S, Luchting B, Hutter J, Messmer K, Krombach F. P-selectin mediates platelet-endothelial cell interactions and reperfusion injury in the mouse liver in vivo. *Shock* 2002; 18: 529-535
- Zatta AJ, Kin H, Lee G, Wang N, Jiang R, Lust R, Reeves JG, Mykytenko J, Guyton RA, Zhao ZQ, Vinten-Johansen J. Infarct-sparing effect of myocardial postconditioning is dependent on protein kinase C signalling. *Cardiovasc Res* 2006; 70: 315-324
- Shirasugi N, Wakabayashi G, Shimazu M, Oshima A, Shito M, Kawachi S, Karahashi T, Kumamoto Y, Yoshida M, Kitajima M. Up-regulation of oxygen-derived free radicals by interleukin-1 in hepatic ischemia/reperfusion injury. *Transplantation* 1997; 64: 1398-1403
- 张群华,芮晓晖,蔡端,孙鹏,张延龄. 金纳多对非协调性异种大鼠肝移植缺血再灌注损伤的防治作用. *中华医学杂志* 2000; 80: 706-708
- Tsutsumi YM, Yokoyama T, Horikawa Y, Roth DM, Patel HH. Reactive oxygen species trigger ischemic and pharmacological preconditioning: in vivo and in vitro characterization. *Life Sci* 2007; 81: 1223-1227
- Yang XM, Proctor JB, Cui L, Krieg T, Downey JM, Cohen MV. Multiple, brief coronary occlusions

- during early reperfusion protect rabbit hearts by targeting cell signaling pathways. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44: 1103-1110
- 22 Sun K, Liu ZS, Sun Q. Role of mitochondria in cell apoptosis during hepatic ischemia-reperfusion injury and protective effect of ischemic preconditioning. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1934-1938
 - 23 Kin H, Zhao ZQ, Sun HY, Wang NP, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Guyton RA, Vinten-Johansen J. Postconditioning attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by inhibiting events in the early minutes of reperfusion. *Cardiovasc Res* 2004; 62: 74-85
 - 24 陶凌, 李源, 高峰, 王跃民, 龚卫琴. 缺血后处理对急性心肌缺血再灌注兔心脏的保护作用. 第四军医大学学报 2000; 21: 116-118
 - 25 Laskey WK. Brief repetitive balloon occlusions enhance reperfusion during percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction: a pilot study. *Catheter Cardiovasc Interv* 2005; 65: 361-367
 - 26 Derin N, Izgut-Uysal VN, Agac A, Aliciguzel Y, Demir N. L-carnitine protects gastric mucosa by decreasing ischemia-reperfusion induced lipid peroxidation. *J Physiol Pharmacol* 2004; 55: 595-606
 - 27 Rentsch M, Post S, Palma P, Lang G, Menger MD, Messmer K. Anti-ICAM-1 blockade reduces postsinusoidal WBC adherence following cold ischemia and reperfusion, but does not improve early graft function in rat liver transplantation. *J Hepatol* 2000; 32: 821-828
 - 28 褚薇薇, 武步强, 沙焕臣, 王殿华. 缺血后处理对缺血-再灌注大鼠肠黏膜的抗损伤作用. 西安交通大学学报(医学版) 2007; 28: 149-151
 - 29 康俊生, 杨甲梅, 吴孟超. 原位肝移植后肿瘤坏死因子 α 与供肝及肺损伤关系的实验研究. 中华外科杂志 1999; 37: 22-24
 - 30 Menger MD, Richter S, Yamauchi J, Vollmar B. Role of microcirculation in hepatic ischemia/reperfusion injury. *Hepatogastroenterology* 1999; 46 Suppl 2: 1452-1457
 - 31 Shibuya H, Ohkohchi N, Tsukamoto S, Satomi S. Tumor necrosis factor-induced, superoxide-mediated neutrophil accumulation in cold ischemic/reperfused rat liver. *Hepatology* 1997; 26: 113-120
 - 32 Shito M, Wakabayashi G, Ueda M, Shimazu M, Shirasugi N, Endo M, Mukai M, Kitajima M. Interleukin 1 receptor blockade reduces tumor necrosis factor production, tissue injury, and mortality after hepatic ischemia-reperfusion in the rat. *Transplantation* 1997; 63: 143-148
 - 33 Jiang Y, Gu XP, Qiu YD, Sun XM, Chen LL, Zhang LH, Ding YT. Ischemic preconditioning decreases C-X-C chemokine expression and neutrophil accumulation early after liver transplantation in rats. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2025-2029
 - 34 程江霞, 彭晓红, 秦汉, 缪希莉. 缺血后处理对大鼠心肌缺血再灌注时血清TNF- α 、IL-1和IL-6浓度的影响. 武汉大学学报(医学版) 2008; 29: 576-578
 - 35 Tsuchihashi S, Ke B, Kaldas F, Flynn E, Busuttill RW, Briscoe DM, Kupiec-Weglinski JW. Vascular endothelial growth factor antagonist modulates leukocyte trafficking and protects mouse livers against ischemia/reperfusion injury. *Am J Pathol* 2006; 168: 695-705
 - 36 Gujral JS, Bucci TJ, Farhood A, Jaeschke H. Mechanism of cell death during warm hepatic ischemia-reperfusion in rats: apoptosis or necrosis? *Hepatology* 2001; 33: 397-405
 - 37 Kim JS, He L, Lemasters JJ. Mitochondrial permeability transition: a common pathway to necrosis and apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 304: 463-470
 - 38 Yang J, Liu X, Bhalla K, Kim CN, Ibrado AM, Cai J, Peng TL, Jones DP, Wang X. Prevention of apoptosis by Bcl-2: release of cytochrome c from mitochondria blocked. *Science* 1997; 275: 1129-1132
 - 39 Amstad PA, Liu H, Ichimiya M, Berezesky IK, Trump BF, Buhimschi IA, Gutierrez PL. BCL-2 is involved in preventing oxidant-induced cell death and in decreasing oxygen radical production. *Redox Rep* 2001; 6: 351-362
 - 40 Selzner M, Rüdiger HA, Selzner N, Thomas DW, Sindram D, Clavien PA. Transgenic mice overexpressing human Bcl-2 are resistant to hepatic ischemia and reperfusion. *J Hepatol* 2002; 36: 218-225
 - 41 Imahashi K, Schneider MD, Steenbergen C, Murphy E. Transgenic expression of Bcl-2 modulates energy metabolism, prevents cytosolic acidification during ischemia, and reduces ischemia/reperfusion injury. *Circ Res* 2004; 95: 734-741
 - 42 Argaud L, Gateau-Roesch O, Raissy O, Loufouat J, Robert D, Ovize M. Postconditioning inhibits mitochondrial permeability transition. *Circulation* 2005; 111: 194-197

编辑 曹丽鸥 电编 吴鹏联

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

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

表皮生长因子受体靶向治疗结直肠癌的临床进展

王玉, 方明治, 金黑鹰

■背景资料

近年来,建立在分子生物学基础上的靶向治疗,以其高效性和低毒性的特点成为研究热点并取得了实质性的疗效,而EGFR是关注最为广泛、研究最为深入、也是最有前途的治疗靶点之一。

王玉, 南京中医药大学 江苏省南京市 210029
方明治, 南京中医药大学第三附属医院肿瘤康复科 江苏省南京市 210029
金黑鹰, 南京中医药大学第三附属医院全国肛肠医疗中心 江苏省南京市 210029
作者贡献分布: 王玉与方明治、金黑鹰对此文所作贡献均等。
通讯作者: 金黑鹰, 副主任医师, 210029, 江苏省南京市, 南京中医药大学第三附属医院全国肛肠医疗中心。
jinheiying@yahoo.com.cn
电话: 025-52276251
收稿日期: 2010-03-07 修回日期: 2010-05-10
接受日期: 2010-05-18 在线出版日期: 2010-06-18

Recent advances in epidermal growth factor receptor-targeted therapy of colorectal cancer

Yu Wang, Ming-Zhi Fang, Hei-Ying Jin

Yu Wang, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Ming-Zhi Fang, Department of Oncology, the Third Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Hei-Ying Jin, National Traditional Chinese Medical Center for Colorectal Diseases, the Third Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Hei-Ying Jin, National Traditional Chinese Medical Center for Colorectal Diseases, the Third Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. jinheiying@yahoo.com.cn
Received: 2010-03-07 Revised: 2010-05-10
Accepted: 2010-05-18 Published online: 2010-06-18

Abstract

Targeted therapy has evolved recently as an important treatment modality for cancer, and the most extensively studied pathways for targeted therapy are those related to the drugs of epidermal growth factor receptor (EGFR). Much attention has been paid to the advantages and disadvantages of these drugs in clinical application. This paper provides a literature review of the recent advances in EGFR-targeted therapy of colorectal cancer.

Key Words: Epidermal growth factor receptor; Targeted therapy; Colorectal cancer

Wang Y, Fang MZ, Jin HY. Recent advances in epidermal

growth factor receptor-targeted therapy of colorectal cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2010; 18(17): 1804-1809

摘要

当今,靶向治疗成为肿瘤治疗模式里越来越重要的因子,而靶向治疗中研究最多的是关于表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)靶向治疗药物。随着临床的深入研究,EGFR分子靶向药物的临床应用利弊也成为关注的焦点。此文就EGFR在结直肠癌靶向治疗中的研究进展作一综述。

关键词: 表皮生长因子受体; 靶向治疗; 结直肠癌

王玉, 方明治, 金黑鹰. 表皮生长因子受体靶向治疗结直肠癌的临床进展. 世界华人消化杂志 2010; 18(17): 1804-1809
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1804.asp>

0 引言

结直肠癌是常见的恶性肿瘤之一,在全世界发病率居第3位,每年全球大约有100万的新发病例,有50万人死于结直肠癌。在我国,大肠癌的发病率位于全部恶性肿瘤的第4位,且其发病率上升更为迅速。大肠癌的治疗是以手术为主,辅以化疗、放疗的综合治疗。近年来在结直肠癌分子靶向治疗方面取得了重要的进展,其表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)靶向治疗也得到了深入研究,现就这方面进展综述如下。

1 靶向EGFR作用机制及药物临床进展

1.1 EGFR传导通路 EGFR是c-(erbB)-1原癌基因编码的170 kDa的跨膜糖蛋白,属于ErbB2酪氨酸蛋白激酶家族,由542个氨基酸残基构成的细胞基质酪氨酸激酶(TK)结构域,和23个氨基酸残基组成的跨膜区,及621个胞外配体结合部分组成。是人类表皮因子家族(HER)之一^[1]。其结构分为:细胞外配体结合区、疏水的跨膜区及含酪氨酸激酶的细胞内区。

EGFR具有配体依赖性的酪氨酸激酶活

■同行评议者

王石林, 主任医师, 中国人民解放军空军总医院普通外科

性, 内源性配体表表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)和转化生长因子- α (transforming growth factor- α , TGF- α)及双向调节因子、B纤维素等都可激活EGFR^[2]。当这些配体与EGFR细胞外区结合后, 在胞外区域形成受体同源二聚体或异源二聚体, 通过跨膜区促进胞内区域二聚化, 激活胞内区域酪氨酸激酶活性, 并进一步激活下游的Ras-Raf-MAPK^[3]和PI3K-AKT等信号通路, 启动下游细胞信号分子完成细胞信号从膜外向膜内的转导过程。

EGFR有两条重要的下游通路, 即Ras-Raf-MAPK和PI3K-AKT^[4]。Ras-Raf-MAPK激酶途径是EGFR下游的主要信号转导通路, 可引起细胞的增殖、转化和迁移等。Ras激活后启动下游多个磷酸化过程, 激活MAPKs(MAP激酶)、ERK1和ERK2(胞外信号调节蛋白激酶)。ERK1和ERK2^[5]调节与细胞增殖、存活及转化有关的分子的转录。另一条PI3K-AKT通路, 主要影响细胞的生存、凋亡、侵袭和迁移等。Akt信号的转导促进不同的转录过程, 介导不同的细胞效应, 如细胞分化、生存或死亡、运动、侵袭、黏附和细胞修复。此外, 应激激活蛋白激酶通路包括PKC、JAK/STAT^[6]也参与了EGFR的信号转导, 这些通路最终将信号传递到细胞核内引起包括细胞分裂、增殖、生存、凋亡、迁移、侵袭、黏附等一系列生物反应(图1)。

EGFR抑制剂的抗肿瘤机制^[8]主要为: 单克隆抗体在胞外区可通过抑制内源性配体与EGFR的结合, 阻断与受体相关酶的磷酸化, 使受体失去活性, 阻断EGFR介导的细胞信号转导通路, 从而起到抑制肿瘤细胞生长和存活的作用, 或通过诱导凋亡和提高其他药物的细胞毒作用等发挥直接抗肿瘤作用。其次还具有激发补体介导的细胞杀伤效应(CDC)和抗体依赖的细胞杀伤效应(ADCC)发挥间接抗肿瘤作用。当前EGFR抑制剂主要有两类: 一类是针对EGFR受体胞外区的单克隆抗体; 另一类是抑制EGFR胞内区酪氨酸激酶的小分子化合物。

1.2 西妥昔单抗 西妥昔单抗(cetuximab, C-225; 商品名: Erbitux, 爱必妥)是一种人-鼠嵌合型IgG1单克隆抗体^[9], 由小鼠股静脉内抗表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)的抗体与人体重链和轻链恒定区的免疫球蛋白G1组成, 可以通过与受体胞外区结合, 竞争性的阻断受体的相关酶的磷酸, 从而干扰肿瘤生长、侵袭和转移, 达到抗癌目的。

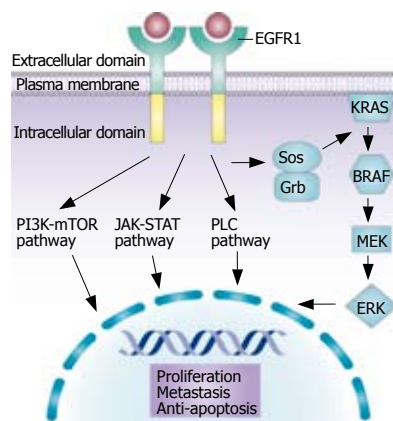


图1 EGFR信号转导通路示意图。

■ 研发前沿

当今, 靶向治疗成为肿瘤治疗模式里越来越重要的因子, 而靶向治疗中研究最多的是关于表皮生长因子受体(EGFR)靶向治疗药物。

1.2.1 西妥昔单抗一线治疗晚期CRC疗效: 2006年ASCO会议报道的CALGB 80203试验^[10], 纳入238例初治的晚期大肠癌患者, 随机分成4组: FOLFOX(LV+5-FU+OXA)组、FOLFOX+西妥昔单抗组、FOLFIRI(LV+5-FU+Iri)组和FOLFIRI+西妥昔单抗组。结果显示, 各组的有效率(response rate, RR)分别为40%、60%、36%和44%, 表明西妥昔单抗联合化疗组的有效率较单用化疗组高, 分别为38%和52%($P = 0.029$), 证实了西妥昔单抗一线治疗晚期大肠癌的作用。目前, 已有多项II期临床试验显示西妥昔单抗无论联合伊立替康(innotecan, Iri, CPT-11)还是奥沙利铂(Oxaliplatin, OXA)为基础的化疗方案一线治疗晚期大肠癌均有较高疗效。西妥昔单抗联合IFL(Iri+5-FU+LV)方案、AIO(LV+5-FU)方案和FUFOX(5-FU+LV+OXA)方案一线治疗晚期大肠癌的总有效率(overall response rate, ORR)分别为44%^[11]、67%^[12]、56%^[13]。此外, CELIM研究^[14]表明西妥昔单抗联合FOLFIRI和FOLFOX, 可使肝转移瘤的切除率分别为13%和21%。这为不可手术的晚期大肠癌转变成可手术的大肠癌、提高治愈率提供了一条新的途径。最近, Kohne等^[15]对OPUS试验进行了Meta分析, 337例患者中93%(315例)获得KRAS基因型评价, 其中KRAS野生型179例(57%), 突变型136例(43%)。此外在KRAS野生型患者中175例确定了BRAF基因状态, 其中154例(94%)为野生型, 164例(94%)为突变型。结果显示: FOLFOX4+西妥昔单抗组与单用FOLFOX4方案组的总缓解率(CR+PR)分别为57.3%和34.0%($P = 0.0027$), 优势比(odds ratio, OR) = 2.5512, 疾病无进展时间(progression free survival, PFS)也显著延长(中位PFS: 8.3 mo vs 7.2 mo, 危险比(hazard ration, HR)

■相关报道

荷兰To1开展的CAIRO2研究和美国Hecht等开展的PACCE研究均表明,靶向EGFR的西妥昔单抗或帕尼单抗+贝伐单抗+化疗(三药联合)治疗的主要研究终点PFS显著短于贝伐单抗+化疗(两药联合),并且不良反应更大。

= 0.567, $P = 0.0064$), 总生存期(overall survival, OS)较单用FOLFOX4有延长趋势(22.8 mo vs 18.5 mo, $P = 0.3854$), 且肿瘤最佳缩小比例平均高11.6%。与此同时, 对BRAF突变型患者的分析显示: 联合组比单纯化疗组的PFS延长(中位PFS: 7.1 mo vs 1.7 mo, $P = 0.3255$), 且OS有显著差异(中位OS: 20.7 mo vs 4.4 mo, $P = 0.0167$)。此试验初期结果显示, 对KRAS突变型患者, 西妥昔单抗联合FOLFOX4和单用FOLFOX4, PFS分别为5.5 mo和8.6 mo($P = 0.019$), 有效率为33%和49%($P = 0.166$), 且KRAS野生型与突变型的有效率相差近2倍。以上结果表明: FOLFOX联合西妥昔单抗对KRAS野生型患者能获得良好的疗效, 而BRAF基因突变者也能从西妥昔单抗中获益。但对于KRAS突变者, 西妥昔单抗不仅无益, 可能有害。这使得西妥昔单抗的使用更具有选择性和针对性。此外, Van Cutsem^[16]也公布了CRYSTAL试验的最新进展。CRYSTAL试验共入组了1 198例患者, 其1 063例(89%)检测了KRAS表达状态(666例为野生型, 397例为突变型); 研究显示西妥昔单抗联合FOLFIRI方案与单纯FOLFIRI的OS分别为23.5 mo和20.0 mo(HR = 0.796, $P = 0.0012$), 且PFS为9.9 mo和8.4 mo(HR = 0.696, $P < 0.0001$)。KRAS野生型患者肿瘤最佳缩小比例较单纯FOLFIRI组平均提高13.9%。此外, 该研究也进一步分析了BRAF基因状态对KRAS野生型患者疗效的预测性。入组的患者中有1 000例确定了BRAF的表达状态, 其中60例(6%)患者BRAF为突变型, 且KRAS野生型患者中BRAF野生型占85%(566例), 突变型占25%(59例)。结果显示KRAS野生型患者中BRAF野生型的预后好于突变型, 但BRAF突变患者仍可从西妥昔单抗治疗中获益。说明BRAF基因状态并非西妥昔单抗临床用药的预测因子, 而是其治疗的预后因素之一。此观点和OPUS研究结果相一致。这两项研究都进一步表明只有KRAS野生型患者才能从西妥昔单抗联合FOLFOX或FOLFIRI方案治疗中获得良好的疗效, 而KRAS突变型患者却无效^[17], 也更坚定了检测KRAS基因在转移性结直肠癌(metastatic colorectal cancer, mCRC)治疗中的关键性作用。

1.2.2 西妥昔单抗二线治疗晚期CRC疗效: Cunningham等^[18]发表在新英格兰杂志上的BOND-1研究是西妥昔单抗二线治疗CRC的代表性临床试验, 报道对329例EGFR表达阳性、伊立替康为基础方案化疗失败的mCRC患者

按2:1的比例随机分为西妥昔单抗+伊立替康联合治疗组($n = 218$), 和西妥昔单抗单药治疗组($n = 111$)。结果两组的部分缓解率(partial remission, PR)分别为22.9%和10.8%, 疾病稳定率(stable disease, SD)为32.6%和21.6%, 疾病进展时间(time to progression, TTP)为4.1 mo和1.5 mo($P < 0.001$), 中位生存期为8.6 mo和6.9 mo, 但无统计学意义。结果提示: 西妥昔单抗联合伊立替康用于晚期mCRC患者的治疗, 可以增强伊立替康的抗肿瘤作用, 减少其耐药性的发生。据此, 2004-02美国FDA批准西妥昔单抗单用或联合伊立替康作为二线方案治疗晚期大肠癌患者。此外, III期临床EPIC^[19]研究入组了1 298例奥沙利铂一线治疗失败、EGFR阳性的mCRC患者。将其随机分为西妥昔单抗联合伊立替康组和伊立替康单药治疗组。结果显示, 西妥昔单抗联合伊立替康作为mCRC的二线治疗可以显著延长PFS(4 mo vs 2.6 mo, $P < 0.01$), 提高PR(16.4% vs 4.2%, $P < 0.01$), 且其治疗反应率为单药治疗的4倍, 但平均生存期却未得到延长。虽然临床试验观察到EGFR的阳性率越高, 抗EGFR治疗的效果越好, 但关于BOND和EPIC试验的详细临床研究并不能证明EGFR的表达水平与治疗反应有明确联系, 且后来由EVEREST^[20]等大量试验证实, EGFR表达阳性与否对西妥昔单抗疗效预测并无意义, 也不能作为接受或排除西妥昔单抗治疗的根据, 而KRAS状态与疗效的相关性更强, 是西妥昔单抗疗效预测的独立指标。据此2010年NCCN《指南》指出: 所有转移性结肠癌患者都应检测KRAS基因状态, 突变患者不应接受含EGFR单抗方案治疗。

1.2.3 西妥昔单抗三线治疗晚期CRC疗效: MABEL试验^[21]采纳了1 147例伊立替康治疗失败的晚期结直肠癌患者, 分别采用3个治疗方案: 西妥昔单抗联合伊立替康, 伊立替康用量为A组125 mg/m²每周; B组: 180 mg/m²每2周; C组: 350 mg/m²每3周。结果显示各方案的PFS相似, 在第12周时PFS为61%; 中位生存期为9.2m。该试验还发现西妥昔单抗用药前加入皮质激素及抗组织胺药可增加安全性而不影响抗肿瘤效率^[22]。

1.3 帕尼单抗 帕尼单抗(panitumumab, ABX-EGF, Vectibix)是一个完全人源化的IgG2单克隆抗体^[23]。与西妥昔单抗相比, 帕尼单抗与EGFR具有更高亲和性, 可同时阻断EGF和TGF- α 与之结合, 且半衰期更长, 免疫原性低, 治疗前不需预处理。

1.3.1 帕尼单抗一线治疗晚期CRC疗效: 在帕尼

单抗的一线治疗方面, Berlin^[24]等比较了帕尼单抗+IFL($n = 19$)和帕尼单抗+FOLFIRI($n = 24$)一线治疗mCRC, 结果显示, 帕尼单抗+IFL组除RR(46% vs 42%)外, 疾病控制率(disease control rate, DCR)(74% vs 79%), 中位PFS(5.6 mo vs 10.9 mo)及中位OS(17 mo vs 22.5 mo), 均低于帕尼单抗+FOLFIRI组, 且3、4级腹泻的发生率明显高于帕尼单抗+FOLFIRI组(58% vs 25%), 说明帕尼单抗联合FOLFIRI方案相对具有优势. 最近报道的PRIME试验^[25]将1 183例mCRC患者随机分成两组, 分别接受FOLFIRI+帕尼单抗的联合治疗和FOLFIRI单纯支持治疗. 其中1 096例(93%)检测了KRAS基因表达, 且656(60%)例为野生型KRAS, 440(40%)例为突变型. 结果联合治疗组与单纯支持组中KRAS野生型患者的PFS分别为9.6 mo vs 8.0 mo($HR = 0.80$; $P = 0.02$), RR为55% vs 48%, 而两组的KRAS突变型患者中位PFS为7.3 mo vs 8.8 mo($HR = 1.29$; $P = 0.02$), 但联合治疗组与支持治疗组的突变型KRAS患者之间的PFS、OS和RR对比无差异.

1.3.2 帕尼单抗二线治疗晚期CRC疗效: Amado等^[26]报道了一组III期临床随机对照研究, 对427例化疗已失败的mCRC患者分别行单纯最佳支持治疗(BSC)和帕尼单抗联合最佳支持治疗, 并检测其KRAS状态. 其中野生型KRAS占57%, 突变型KRAS占43%, 单纯治疗组中野生型和突变型KRAS的mPFS均为7.3 wk, 而联合治疗组的mPFS分别为12.4 wk和7.4 wk. 两种治疗有效率(PR)为0%和17%, SD为12%和34%, 无明显差异. 但联合分析时野生型KRAS的OS长于突变型KRAS, 且野生型的结直肠癌症状和生活质量均优于突变型. 研究提示: 只有野生型KRAS才能从帕尼单抗靶向治疗中获益. 此结论与西妥昔单抗治疗一致^[27,28]. 此外, Peters等^[29]也报道了III期临床研究的最新进展, 此试验共收入1 186例既往化疗(包括5-FU、OXA和Iri)失败的晚期大肠癌患者, 随机分成两组, 分别接受帕尼单抗+FOLFIRI的联合治疗和FOLFIRI单纯支持治疗. 其中1 083(91%)例患者检测了KRAS基因表达, 这其中的597(55%)例为野生型KRAS, 486(45%)例为突变型. 结果显示联合治疗组与单纯支持组相比, 显著延长KRAS野生型患者的PFS(5.9 mo vs 3.9 mo)($HR = 0.73$, $P = 0.004$)和中位OS(14.5 mo vs 12.5 mo)($HR = 0.85$; $P = 0.12$)且RR也显著提高(35% vs 10%). 然而联合治疗组与支持治疗组的突变型KRAS患者之间

的PFS、OS和RR对比无差异. 这进一步说明了帕尼单抗联合二线化疗可显著降低KRAS野生型患者的死亡风险和疾病进展风险, 并能提高其总缓解率.

1.4 吉非替尼 吉非替尼(gefitinib, Iressa)是一种合成的低相对分子质量苯胺喹唑啉化合物, 为针对EGFR酪氨酸激酶的口服小分子抑制剂, 能选择性且可逆性抑制EGFR酪氨酸激酶磷酸化和EGF刺激的细胞增殖.

有学者认为: 吉非替尼在临床及生物学上对mCRC者无效, 但其与多种化疗药物如5-FU、Iri、OXA、Capecitabine的联合治疗却卓有成效. Fisher等^[30]报道了一项吉非替尼联合FOLFOX4一线治疗mCRC的II期临床试验, 45例mCRC IV期且从未接受过化疗的患者, 第一周期予以FOLFOX4, 此后的每个周期行FOLFOX4联合口服吉非替尼连续14 d. 结果显示中位OS为20.5 mo, 中位TTP为9.3 mo, 然而3-4级腹泻达67%, 神经毒性占60%, 且由吉非替尼引起的典型性的2级痤疮样皮疹为60%. 这说明吉非替尼联合FOLFOX4一线治疗mCRC虽然增加了RR, 但与单用FOLFOX4相比, 其毒性反应也大大增加.

1.5 埃罗替尼 埃罗替尼(Erlotinib, OSI-774, Tarceva)属于喹唑啉家族复合物, 是一种高特异性、可逆的表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂. 他通过抑制EGFR(HER1)自身磷酸化, 从而抑制了下游信号传导与细胞增殖.

Keilholz等在2005年的ASCO会议上报道了埃罗替尼作为二、三线治疗转移性直肠癌的研究, 初步结果8%患者取得PR, 33%患者疾病SD. 另有Townslley等^[31]进行的转移性结直肠癌的第二阶段研究中, 给予38例转移性肠癌患者每天口服埃罗替尼150 mg, 结果显示19例(61%)有疾病发展(PD), 12例(39%)病情稳定(SD). 中位数时间为123 d.

此外埃罗替尼与多种化疗药物联用能产生更高的缓解率, 但埃罗替尼联合其他化疗药也显示出了更高的毒性. Meyerhardt等^[32]的一项关于贝伐单抗联合埃罗替尼一线治疗研究, 对既往未曾治疗的35名mCRC患者予以FOLFOX方案联合贝伐单抗和埃罗替尼进行治疗, 结果显示只有1例证实完全缓解, 其余由于毒性反应过大终止治疗. Messersmith等将埃罗替尼与FOLFIRI方案联合, 实验也因毒性太大最终被迫停止.

2 EGFR与其他靶向药物的联合

尽管早期的BOND-2^[33]研究及其他少数临床试

■应用要点
靶向治疗已成为肿瘤治疗的又一大热点. 相对于手术、放射治疗、化学治疗三大方法更具有特异性, 且与化学治疗比较, 具有非细胞毒性和靶向性, 为肿瘤的治疗提供了另一种可能的有效途径.

■同行评价

文章的科学性、创新性和可读性能较好地反映我国或国际胃肠病学临床和基础研究的先进水平。

验曾提示,西妥昔单抗和贝伐单抗的联合应用可能进一步提高疗效。但荷兰ToI开展的CAIRO2^[34]研究和美国Hecht等开展的PACCE^[35]研究均表明,靶向EGFR的西妥昔单抗或帕尼单抗+贝伐单抗+化疗(三药联合)治疗的主要研究终点PFS显著短于贝伐单抗+化疗(两药联合),并且不良反应更大。多靶点药物的临床研究已经表明,药物的靶点越多,不良反应越大。两项研究中均是三药组的PFS和OS比两药组短,说明三药联合并不优于两药联合。这也就否定了两种有效的单克隆抗体(即西妥昔单抗和贝伐单抗)同时加用于化疗的所谓“豪华方案”的疗效性,这在2010年NCCN《指南》中已有明确反映。

虽然我们对EGFR和VEGF的信号转导通路有了一定程度的了解,但是上述贝伐单抗联合西妥昔单抗或帕尼单抗的临床研究提示我们,这些信号转导通路中还有很多“未知”有待我们去揭示。

3 结论

随着肿瘤靶向药物的开发及应用,越来越多的靶向药物涌入临床,这在为临床肿瘤医生提供更有效的治疗手段外,也为之提出了新的问题:肿瘤的发生发展存在着多靶点、多环节调控过程,因此是否多靶点抑制就意味着治疗更有效呢?如何选择适合不同靶向治疗的患者、怎样克服靶向药物的耐药性,靶向治疗药物与化疗药物怎样组合才能达到最佳疗效,如何利用临床和分子指标选择患者和预测疗效等等问题,都要求我们通过临床及实验,不断深入了解靶向药物来一个个攻克。相信靶向治疗时代的到来必将使肿瘤治疗迎来崭新的明天。

4 参考文献

- Marshall JL. Vascular Endothelial Growth Factor plus Epidermal Growth Factor Receptor Dual Targeted Therapy in Metastatic Colorectal Cancer: Synergy or Antagonism? *J Oncol* 2009; 2009: 937305
- 魏学明, 顾国利, 任力, 熊梅, 王石林, 李德昌. 大肠癌EGFR、HER-2、VEGF表达特点及其对分子靶向治疗的指导意义. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1836-1841
- Ciardello F, Tortora G. EGFR antagonists in cancer treatment. *N Engl J Med* 2008; 358: 1160-1174
- Halilovic E, Solit DB. Therapeutic strategies for inhibiting oncogenic BRAF signaling. *Curr Opin Pharmacol* 2008; 8: 419-426
- Messersmith WA, Ahnen DJ. Targeting EGFR in colorectal cancer. *N Engl J Med* 2008; 359: 1834-1836
- Zhu Z. Targeted cancer therapies based on antibodies directed against epidermal growth factor receptor: status and perspectives. *Acta Pharmacol*

- Sin* 2007; 28: 1476-1493
- Walther A, Johnstone E, Swanton C, Midgley R, Tomlinson I, Kerr D. Genetic prognostic and predictive markers in colorectal cancer. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 489-499
- Ng K, Zhu AX. Targeting the epidermal growth factor receptor in metastatic colorectal cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2008; 65: 8-20
- Zhang W, Gordon M, Lenz HJ. Novel approaches to treatment of advanced colorectal cancer with anti-EGFR monoclonal antibodies. *Ann Med* 2006; 38: 545-551
- Venook A, Niedzwiecki D, Hollis D, Sutherland S, Goldberg R, Alberts S, Benson A, Wade J, Schilsky R, Mayer R. Phase III study of irinotecan/5FU/LV (FOLFIRI) or oxaliplatin/5FU/LV (FOLFOX) ± cetuximab for patients (pts) with untreated metastatic adenocarcinoma of the colon or rectum (MCRC): CALGB 80203 preliminary results. *J Clin Oncol* 2006; 24: Abstracts 3509
- 郁宝铭. 结直肠癌分子靶向治疗药物研究现状. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 3705-3712
- Folprecht G, Lutz MP, Schöffski P, Seufferlein T, Nolting A, Pollert P, Köhne CH. Cetuximab and irinotecan/5-fluorouracil/folinic acid is a safe combination for the first-line treatment of patients with epidermal growth factor receptor expressing metastatic colorectal carcinoma. *Ann Oncol* 2006; 17: 450-456
- Arnold D, Höhler T, Ditttrich C, Lordick F, Seufferlein T, Riemann J, Wöll E, Herrmann T, Zube A, Schmoll HJ. Cetuximab in combination with weekly 5-fluorouracil/folinic acid and oxaliplatin (FUFOX) in untreated patients with advanced colorectal cancer: a phase Ib/II study of the AIO GI Group. *Ann Oncol* 2008; 19: 1442-1449
- Folprecht G, Gruenberger T, Bechstein WO, Raab HR, Lordick F, Hartmann JT, Lang H, Frilling A, Stoecklmaier J, Weitz J, Konopke R, Stroszczyński C, Liersch T, Ockert D, Herrmann T, Goekkurt E, Parisi F, Köhne CH. Tumour response and secondary resectability of colorectal liver metastases following neoadjuvant chemotherapy with cetuximab: the CELIM randomised phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2010; 11: 38-47
- Kohne C, Rougier P, Stroh C, Schlichting M, Bokemeyer C, Van Cutsem E. Cetuximab with chemotherapy (CT) as first-line treatment for metastatic colorectal cancer (mCRC): A meta-analysis of the CRYSTAL and OPUS studies according to KRAS and BRAF mutation status. 2010 GI Cancers Symposium 2010, Abstract 406
- Van Cutsem E, Köhne CH, Hitre E, Zaluski J, Chang Chien CR, Makhson A, D'Haens G, Pinter T, Lim R, Bodoky G, Roh JK, Folprecht G, Ruff P, Stroh C, Tejpar S, Schlichting M, Nippgen J, Rougier P. Cetuximab and chemotherapy as initial treatment for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2009; 360: 1408-1417
- Karapetis CS, Khambata-Ford S, Jonker DJ, O'Callaghan CJ, Tu D, Tebbutt NC, Simes RJ, Chalchal H, Shapiro JD, Robitaille S, Price TJ, Shepherd L, Au HJ, Langer C, Moore MJ, Zalcberg JR. K-ras mutations and benefit from cetuximab in advanced colorectal cancer. *N Engl J Med* 2008; 359: 1757-1765
- Cunningham D, Humblet Y, Siena S, Khayat D, Bleiberg H, Santoro A, Bets D, Mueser M, Harstrick

- A, Verslype C, Chau I, Van Cutsem E. Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004; 351: 337-345
- 19 Sobrero AF, Maurel J, Fehrenbacher L, Scheithauer W, Abubakr YA, Lutz MP, Vega-Villegas ME, Eng C, Steinhauer EU, Prausova J, Lenz HJ, Borg C, Middleton G, Kröning H, Luppi G, Kisker O, Zube A, Langer C, Kopit J, Burris HA 3rd. EPIC: phase III trial of cetuximab plus irinotecan after fluoropyrimidine and oxaliplatin failure in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26: 2311-2319
- 20 Tejpar S, Peeters M, Humblet Y, Vermorken JB, De Hertogh G, De Roock W, Nippgen J, von Heydebreck A, Stroh C, Van Cutsem E. Relationship of efficacy with KRAS status (wild type versus mutant) in patients with irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer (mCRC), treated with irinotecan (q2w) and escalating doses of cetuximab (q1w): The EVEREST experience (preliminary data). *J Clin Oncol* 2008; 26: Abstract 4001
- 21 Wilke H, Glynne-Jones R, Thaler J, Adenis A, Preusser P, Aguilar EA, Aapro MS, Esser R, Loos AH, Siena S. Cetuximab plus irinotecan in heavily pretreated metastatic colorectal cancer progressing on irinotecan: MABEL Study. *J Clin Oncol* 2008; 26: 5335-5543
- 22 Siena S, Glynne-Jones R, Adenis A, Thaler J, Preusser P, Aguilar EA, Aapro MS, Loos AH, Esser R, Wilke H. Reduced incidence of infusion-related reactions in metastatic colorectal cancer during treatment with cetuximab plus irinotecan with combined corticosteroid and antihistamine premedication. *Cancer* 2010; 116: 1827-1837
- 23 Giusti RM, Shastri KA, Cohen MH, Keegan P, Pazdur R. FDA drug approval summary: panitumumab (Vectibix). *Oncologist* 2007; 12: 577-583
- 24 Berlin J, Posey J, Tchekmedyian S, Hu E, Chan D, Malik I, Yang L, Amado RG, Hecht JR. Panitumumab with irinotecan/leucovorin/5-fluorouracil for first-line treatment of metastatic colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer* 2007; 6: 427-432
- 25 Siena S, Cassidy J, Tabernero J, Burkes RL, Barugel ME, Humblet Y, Cunningham D, Xu F, Gansert JL, Douillard J. Randomized phase III study of panitumumab (pmab) with FOLFOX4 compared to FOLFOX4 alone as first-line treatment (tx) for metastatic colorectal cancer (mCRC): PRIME trial. 2010 GI Cancers Symposium 2010: Abst 283
- 26 Amado RG, Wolf M, Peeters M, Van Cutsem E, Siena S, Freeman DJ, Juan T, Sikorski R, Suggs S, Radinsky R, Patterson SD, Chang DD. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26: 1626-1634
- 27 De Rosck W, De Schutter J, De Hertogh G, Janssens M, Biesmans B, Personeni N, Geboes K, Verslype C, Van Cutsem E, Tejpar S. KRAS mutations preclude tumor shrinkage of colorectal cancer treated with cetuximab. *J Clin Oncol*(Meeting Abstracts) 2007; 25: 18S Abst 4132
- 28 Finocchiaro G, Cappuzzo F, Jänne PA, Bencardino K, Carnaghi C, Franklin WA, Roncalli M, Crinò L, Santoro A, Varella-Garcia M. EGFR, HER2 and Kras as predictive factors for cetuximab sensitivity in colorectal cancer. *J Clin Oncol*(Meeting Abstracts) 2007; 25: 18S Abst 4021
- 29 Peeters M, Price TJ, Hotko YS, Cervantes-Ruiperez A, Ducreux M, Andre T, A. Strickland A, Wilson G, Tian Y, Gansert JL. Randomized phase III study of panitumumab (pmab) with FOLFIRI versus FOLFIRI alone as second-line treatment (tx) in patients (pts) with metastatic colorectal cancer (mCRC): Patient-reported outcomes (PRO). 2010 GI Cancers Symposium 2010: Abst 282
- 30 Fisher GA, Kuo T, Ramsey M, Schwartz E, Rouse RV, Cho CD, Halsey J, Sikic BI. A phase II study of gefitinib, 5-fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin in previously untreated patients with metastatic colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 7074-7079
- 31 Townsley CA, Major P, Siu LL, Dancey J, Chen E, Pond GR, Nicklee T, Ho J, Hedley D, Tsao M, Moore MJ, Oza AM. Phase II study of erlotinib (OSI-774) in patients with metastatic colorectal cancer. *Br J Cancer* 2006; 94: 1136-1143
- 32 Meyerhardt JA, Stuart K, Fuchs CS, Zhu AX, Earle CC, Bhargava P, Blaszkowsky L, Enzinger P, Mayer RJ, Battu S, Lawrence C, Ryan DP. Phase II study of FOLFOX, bevacizumab and erlotinib as first-line therapy for patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol* 2007; 18: 1185-1189
- 33 Saltz LB, Lenz HJ, Kindler HL, Hochster HS, Wadler S, Hoff PM, Kemeny NE, Hollywood EM, Gonen M, Quinones M, Morse M, Chen HX. Randomized phase II trial of cetuximab, bevacizumab, and irinotecan compared with cetuximab and bevacizumab alone in irinotecan-refractory colorectal cancer: the BOND-2 study. *J Clin Oncol* 2007; 25: 4557-4561
- 34 Tol J, Koopman M, Rodenburg CJ, Cats A, Creemers GJ, Schrama JG, Erdkamp FL, Vos AH, Mol L, Antonini NF, Punt CJ. A randomised phase III study on capecitabine, oxaliplatin and bevacizumab with or without cetuximab in first-line advanced colorectal cancer, the CAIRO2 study of the Dutch Colorectal Cancer Group (DCCG). An interim analysis of toxicity. *Ann Oncol* 2008; 19: 734-738
- 35 Hecht JR, Mitchell E, Chidiac T, Scroggin C, Hagenstad C, Spigel D, Marshall J, Cohn A, McCollum D, Stella P, Deeter R, Shahin S, Amado RG. A randomized phase IIIB trial of chemotherapy, bevacizumab, and panitumumab compared with chemotherapy and bevacizumab alone for metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27: 672-680

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

肿瘤-睾丸抗原SPANX-C基因mRNA在肝细胞癌中的表达及HLA-A2限制性CTL表位的预测

赵力, 牟东成, 彭吉润, 冷希圣

■背景资料

免疫治疗能够对肿瘤细胞进行特异性杀伤而可能成为肝癌理想的治疗手段, 而肿瘤细胞表达肿瘤特异性抗原是诱发肿瘤特异性免疫应答的前提。CT抗原可作为靶点对肿瘤进行特异性的免疫治疗而不会对正常组织造成免疫损伤。目前以CT抗原肽为主组成的疫苗是肿瘤抗原疫苗应用的热点。

赵力, 牟东成, 彭吉润, 冷希圣, 北京大学人民医院肝胆外科中心 北京市 100044

赵力, 牟东成, 中国中医科学院望京医院 北京市 100102

国家自然科学基金资助项目, No. 30200271

作者贡献分布: 赵力与牟东成对此文所作贡献均等; 此课题由彭吉润与冷希圣设计; 研究过程由赵力与牟东成操作完成; 研究所用试剂及分析工具由冷希圣提供; 数据分析由赵力、牟东成及彭吉润完成; 本论文写作由赵力与牟东成完成。

通讯作者: 冷希圣, 教授, 主任医师, 博士生导师, 100044, 北京市, 北京大学人民医院肝胆外科中心。

lengxs2003@yahoo.com.cn

电话: 010-88326700 传真: 010-68318386

收稿日期: 2010-03-02 修回日期: 2010-04-29

接受日期: 2010-05-10 在线出版日期: 2010-06-18

Expression of cancer-testis antigen SPANX-C mRNA in human hepatocellular carcinoma and prediction of HLA-A2-restricted CTL epitopes of SPANX-C

Li Zhao, Dong-Cheng Mou, Ji-Run Peng, Xi-Sheng Leng

Li Zhao, Dong-Cheng Mou, Ji-Run Peng, Xi-Sheng Leng, Center of Hepatobiliary Surgery, Peking University People's Hospital, Beijing 100044, China

Li Zhao, Dong-Cheng Mou, Department of Surgery, Wangjing Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100102, China.

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30200271

Correspondence to: Professor Xi-Sheng Leng, Center of Hepatobiliary Surgery, Peking University People's Hospital, Beijing 100044, China. lengxs2003@yahoo.com.cn

Received: 2010-03-02 Revised: 2010-04-29

Accepted: 2010-05-10 Published online: 2010-06-18

Abstract

AIM: To investigate the expression of SPANX-C (sperm protein associated with the nucleus mapped to the X chromosome-C) gene in hepatocellular carcinoma (HCC) and to predict the HLA-A2-restricted cytotoxic T lymphocyte (CTL) epitopes of SPANX-C to find new targets for specific immunotherapy of HCC.

METHODS: The expression of SPANX-C mRNA was characterized by RT-PCR in tumor tissue

and adjacent liver tissue specimens from 115 HCC patients and liver tissue specimens from 20 non-HCC patients (10 with liver cirrhosis and 10 without liver disease). The positive PCR products (297 bp) obtained from 5 tumor tissue specimens were randomly selected for sequencing to confirm the detecting results. HLA-A2-restricted CTL epitopes of SPANX-C were predicted by peptide supermotif prediction method in combination with quantitative motif method.

RESULTS: Seventy (60.9%) of 115 tumor tissue specimen from HCC patients expressed SPANX-C mRNA. In contrast, SPANX-C mRNA was not detected in tumor-adjacent tissue and liver tissue from non-HCC patients. There was no discernable correlation between SPANX-C expression and tumor stage, differentiation degree or serum α -fetoprotein level (all $P > 0.05$). Five CTL epitope candidates (nonamers) derived from the antigen SPANX-C were found by peptide supermotif prediction, of them, SPANX-C₅₁₋₅₉ (LVVRYRRNV) may have stronger binding potential with HLA-A2 molecule.

CONCLUSION: SPANX-C mRNA is highly expressed in HCC tumor tissue in Chinese patients. SPANX-C may provide potential HLA-A2-restricted CTL epitopes as specific targets for immunotherapy of HCC.

Key Words: Cancer-testis antigen; Sperm protein associated with the nucleus mapped to the X chromosome-C; Hepatocellular carcinoma; CTL epitope; Reverse transcription-polymerase chain reaction

Zhao L, Mou DC, Peng JR, Leng XS. Expression of cancer-testis antigen SPANX-C mRNA in human hepatocellular carcinoma and prediction of HLA-A2-restricted CTL epitopes of SPANX-C. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(17): 1810-1814

摘要

目的: 检测肿瘤-睾丸抗原SPANX-C基因在肝细胞癌(HCC)中的表达, 预测SPANX-C/HLA-A2限制性CTL表位。为HCC的免疫治疗

■同行评议者

陈立波, 教授, 华中科技大学同济医学院附属协和医院肝胆外科中心

寻找新的靶位。

方法: 用逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)方法对HCC患者癌组织、相应癌旁组织和对照组织(肝硬化和正常肝组织)中的SPANX-C基因mRNA进行检测,随机选取RT-PCR阳性扩增产物进行序列测定;用超基序法和量化基序法联合预测SPANX-C/HLA-A2限制性CTL表位。

结果: 在所检测的115例HCC组织中有70例(60.9%)表达SPANX-C基因mRNA,癌旁组织和20例对照肝组织均不表达。SPANX-C基因的表达与肿瘤分期、肿瘤分化程度、血清甲胎蛋白(AFP)水平等临床指标无相关性($P>0.05$)。用基序预测法筛选出5个HLA-A2限制性CTL表位(9肽),其中SPANX-C₅₁₋₅₉(LVVRYRRNV)与HLA-A2分子具有较高结合力。

结论: SPANX-C基因mRNA在HCC组织中呈高频率特异性表达,并存在HLA-A2限制性CTL表位,有望用于HCC的免疫治疗。

关键词: 肿瘤-睾丸抗原; SPANX-C; 肝细胞癌; 细胞毒T淋巴细胞表位; 逆转录聚合酶链反应

赵力, 牟东成, 彭吉润, 冷希圣. 肿瘤-睾丸抗原SPANX-C基因mRNA在肝细胞癌中的表达及HLA-A2限制性CTL表位的预测. 世界华人消化杂志 2010; 18(17): 1810-1814
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1810.asp>

0 引言

人类肿瘤抗原研究一直是肿瘤免疫研究的热点之一。一个理想的用于免疫治疗的肿瘤抗原,必须是特异地、稳定地表达于肿瘤细胞内,而不存在于正常组织中。在众多肿瘤抗原中,最吸引人的是肿瘤-睾丸抗原(cancer-testis antigen),简称CT抗原,CT抗原仅在睾丸组织中表达或在极少数正常组织中弱表达,而在人类多种组织学来源的肿瘤组织中表达增强。睾丸组织因为缺乏人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)分子,其表达的CT抗原不会引起机体免疫反应。而表达于肿瘤组织的CT抗原因含有相应的肿瘤抗原表位,故能引起针对肿瘤的特异性免疫反应。由于这种表达特点,使CT抗原成为制备肿瘤多肽疫苗、诱导抗肿瘤细胞免疫应答的理想抗原^[1,2]。SPANX-C(sperm protein associated with the nucleus mapped to the X chromosome-C)是从黑色素瘤细胞株中发现的一种CT抗原基因^[3]。为了探讨将该基因编码的多肽抗原用于肝癌免疫治疗

的可能性,我们对SPANX-C基因mRNA在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)患者肝癌组织中的表达情况进行了检测,并采用超基序法和量化基序法,对SPANX-C基因编码的、能被HLA-A2分子呈递的细胞毒T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)表位进行了预测。

1 材料和方法

1.1 材料 北京大学人民医院肝胆外科中心手术治疗的HCC患者115例,平均年龄47.6岁±8.4岁,其中男98例,女17例。106例患者HbsAg阳性,其中6例合并有HCV感染。血清甲胎球蛋白(α -fetoprotein, α -FP)正常($<20 \mu\text{g/L}$)或轻度升高($<40 \mu\text{g/L}$)者38例,其余77例均 $\geq 40 \mu\text{g/L}$ 。肿瘤分化程度为高、中、低者分别为20例、67例、28例;肿瘤TNM分期为I期者14例,II期32例,III期13例,IV期56例^[4]。手术中切取癌和癌旁组织各1份,经液氮速冻后保存于-80℃冰箱备用;所有癌和癌旁组织均经常规病理检查证实。另取10例肝硬化患者的肝组织和10例非肝病患者的正常肝活检组织作为研究对照。以正常睾丸组织作为阳性参照。引物由上海基康生物技术有限公司设计并合成,TRIzol及RT-PCR试剂盒购于Gibco公司。

1.2 方法

1.2.1 总RNA提取及cDNA合成: 取液氮中保存的标本约50-100 mg,加入TRIzol 1 mL裂解。参照说明书要求提取总RNA。取总RNA 2.5 μg ,加入Oligo(dT)15及Superscript II逆转录酶,按照说明书要求合成cDNA。

1.2.2 cDNA的PCR扩增(50 μL 的反应体系): 取稀释5倍后的cDNA 5 μL ,加入10 $\mu\text{mol/L}$ 的外引物(5'-CTGCCCCAGACATTGAAGAA-3'和5'-TCCATGAATTCCTCCTCCTC-3')^[3]各1 μL ,1 μL 的10 mmol/L dNTPs,2.5 U Taq多聚酶以及PCR缓冲液等。PCR反应按照以下条件进行:94℃预变性5 min,然后按94℃,45 s;57℃,60 s;72℃,90 s的条件进行25个循环的扩增,在72℃延伸8 min。扩增片段长度为297 bp。扩增内参照 β 2-微球蛋白cDNA,以鉴定cDNA样品的质量^[5]。引物序列是:5'-CTC GCG CTA CTC TCT CTT TCT GG -3'和5'-GCT TAC ATG TCT CGA TCC CAC TTA-3'(扩增片段为335 bp)。反应条件为预变性3 min,然后按94℃,45 s;55℃,45 s;72℃,45 s的条件进行28个循环的扩增,在72℃延伸8 min。

1.2.3 扩增产物进行图像: 按文献报道的方法对

■研发前沿

CT抗原被认为是最有希望作为免疫治疗靶点的一类抗原。但CT抗原在肿瘤免疫治疗中的应用受抗原异质性表达以及HLA类型的限制等问题的制约,因此寻找在肿瘤组织中高频率特异性表达的CT抗原作为研制多价疫苗的备选抗原一直是CT抗原研究的热点之一。

■相关报道

SPANX-C在睾丸组织中的正常表达参与精细胞有丝分裂周期的调控,促精细胞发育成熟。但如同绝大多数CT抗原基因一样,该基因在肿瘤中的作用尚不清楚。Zendman等发现在转移侵袭力高的黑色素瘤细胞株中SPANX-C的表达较高。Goydos等发现SPANX-C基因的表达与黑色素瘤患者的临床分期有关,表达率随分期进展降低。

■创新盘点

本文用逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)方法对HCC患者癌组织、相应癌旁组织和对照组织(肝硬化和正常肝组织)中的SPANX-C基因mRNA进行检测,用超基序法和量化基序法联合预测SPANX-C/HLA-A2限制性CTL表位,对肝癌免疫治疗具有潜在的应用价值。

扩增产物进行图像分析^[5]。

1.2.4 SPANX-C基因cDNA的序列测定: 随机选择5例SPANX-C呈阳性表达RT-PCR产物, 直接进行DNA序列测定(ABI PRISM® 3700 DNA Analyzer)(上海基康生物技术有限公司)。

1.2.5 CTL表位预测: 登录GenBank, 获取SPANX-C基因编码的一级氨基酸序列。首先按照超基序法扫描SPANX-C的氨基酸序列, 预选能与HLA-A2结合的9肽CTL表位, 即这些9肽的第二位氨基酸残基为V、I、M、L、T中的一种, 同时其第九位氨基酸残基为I、L、V、M、T中的一种^[6]。随后, 利用量化基序法对预选的表位进行量化处理, 即利用九肽矩阵计算每一个多肽与HLA-A2分子的结合系数, 以寻求结合最好的表位; 当结合系数大于或等于5, 可以确定为与HLA-A2分子结合稳定^[7]。

统计学处理 应用SPSS10.0软件进行 χ^2 检验, $P < 0.05$ 认为差异有显著性。

2 结果

2.1 SPANX-C基因在HCC中高度特异表达 在115例HCC患者的癌组织中, SPANX-C基因mRNA呈阳性表达者为70例(60.9%), PCR产物电泳显示为297 bp, 与阳性对照大小一致(图1), 癌旁组织、肝硬化组织以及正常肝活检组织均未发现有SPANX-C基因的表达。测序结果表明所得的RT-PCR产物与从GenBank检索的SPANX-C(AJ238277)扩增范围序列一致, 证实所得到的阳性RT-PCR产物确为SPANX-C基因的cDNA扩增片段。

2.2 与临床指标的关系 肝癌组织中SPANX-C基因的表达与患者的年龄、性别、肿瘤TNM分期、分化程度、血清 α -FP水平、HBV感染状况无显著相关性($P > 0.05$)。值得注意的是, 38例AFP正常($< 20 \mu\text{g/L}$)或轻度升高($< 40 \mu\text{g/L}$)的HCC患者中, 25例(65.8%)表达SPANX-C基因。

2.3 超基序法预测结果 预选出5个符合P2(V, I, M, L, T)、P9(I, L, V, M, T)的SPANX-C/HLA-A2限制性CTL表位, 分别为: (1)EVNETMPET(20-28); (2)KMKTSESST(41-49); (3)KTSESSTIL(43-51); (4)LVVRYRRNV(51-59); (5)SVPCESENV(13-21)。

2.4 量化基序法结果 利用九肽结合系数运算, 我们发现1个结合系数大于5的HLA-A2限制性CTL表位, 即LVVRYRRNV(51-59), 结合系数是21.03。

3 讨论

选择合适的肿瘤抗原并把他们作为肿瘤疫苗的

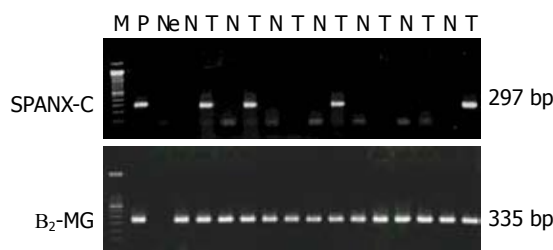


图1 部分HCC患者肝癌组织中CTp11基因RT-PCR产物的电泳图。M: DNA maker; P: 阳性对照; Ne: 空白对照; N: 癌旁组织; T: 肝癌组织。

候选靶标, 一直是肿瘤免疫治疗的一个重要方向^[8]。近年来, 肿瘤特异性抗原方面的研究工作进展迅速, 这些抗原按照表达方式或结构特点可以分为以下几类: CT抗原, 自身免疫原性分化抗原, 突变基因产物, 过度表达的自体抗原, 剪接变异抗原以及病毒抗原等^[9]。其中, CT抗原被认为是肿瘤特异性的共享抗原, 也是最有希望作为免疫治疗靶点的一类抗原^[10]。CT抗原首先于黑色素瘤中发现^[11], 是一大类包含多个基因家族的肿瘤特异性抗原, 目前至少已有70个家族, 140多种基因^[12]。并且新的CT抗原仍在不断被发现^[13-15]。

SPANX-C属于SPANX(CT11)基因家族的成员, 为组织限制性表达CT基因。该基因最初被命名为CTp11(cancer-testis-associated protein of 11 kDa), 是Zendman等^[3]利用差异显示技术从黑色素瘤细胞株1F6m中发现一种CT抗原基因, 该基因位于Xq26.3-Xq27.1上, 全长408 bp, 编码蛋白的相对分子质量为11 kDa, 由97个氨基酸残基组成, 已证实SPANX-C在膀胱癌、乳腺癌、结肠癌、黑色素瘤、非小细胞肺癌等多种肿瘤中表达^[10]。该基因在睾丸组织中的正常表达参与精细胞有丝分裂周期的调控, 促精细胞发育成熟^[16]。但如同绝大多数CT抗原基因一样, 该基因在肿瘤中的作用尚不清楚。

目前, 关于SPANX-C基因在HCC中的表达情况国内外其他单位尚未见报道。本研究结果显示, SPANX-C基因mRNA在HCC患者的肝癌组织中表达率高达60.9%, 而在癌旁组织、肝硬化和非肝病患者的正常肝活检组织中均不表达, 因此具有高度的特异性。由于该基因在肝癌组织中具有如此高的特异性表达率, 因此, SPANX-C基因编码的抗原有可能作为潜在的攻击靶位, 用于肝癌的免疫治疗。

CT抗原之所以能诱导抗肿瘤细胞免疫应答, 是由于在这些抗原的氨基酸序列中, 具有能

被特定的HLA分子呈递的抗原多肽(表位). 当肿瘤抗原多肽在抗原呈递细胞(antigen-presenting cell, APC)的作用下, 以HLA-多肽分子复合物的形式被呈递于APC细胞的表面时, 可被特异的CD8⁺ T淋巴细胞识别, 而使后者激活, 成为对肿瘤有特异性杀伤能力的CTL. 由于在我国HCC患者中HLA-A2的表达率高达53.5%^[17], 因此预测能被HLA-A2分子呈递的限制性表位具有现实意义. 超基序法和量化基序法是预测HLA-A2限制性表位的两种基本方法, 我们通过超基序法预选出5个SPANX-C/HLA-A2限制性CTL表位(9肽), 通过量化基序法进一步从中筛选出SPANX-C₅₁₋₅₉(LVVRYRRNV)的结合系数高达21.03, 因而在理论上与HLA-A2分子具有较高结合力, 有可能作为多肽疫苗, 用于肝癌的免疫治疗.

目前已有一些CT抗原(包括MAGE-1^[18]、MAGE-3^[19]与NY-ESO-1^[20,21]等)应用于肿瘤免疫治疗并展示出了良好的前景, 但CT抗原在肿瘤免疫治疗中的应用受HLA类型的限制以及抗原异质性表达问题的制约, 因此寻找在肿瘤组织中高频率特异性表达的CT抗原作为研制多价疫苗的备选抗原一直是CT抗原研究的热点之一. 我们的研究显示SPANX-C基因mRNA在HCC组织中呈高频率特异性表达, 并存在HLA-A2限制性CTL表位, 理论上是HCC的免疫治疗的理想靶位, 发展基于SPANX-C抗原的免疫治疗, 有望应用于半数以上的HCC患者, 若联合应用其他CT抗原(包括MAGE-1、MAGE-3与NY-ESO-1等)研制多价疫苗, 将有利于机体免疫系统针对不同的抗原表位的刺激产生有效的、广谱的保护性免疫反应, 可能会解决肿瘤抗原异质性和抗原丢失性变体等问题.

我们的研究还发现SPANX-C基因的表达与患者的年龄、性别无关, 提示不同年龄、不同性别的患者肝癌组织中的SPANX-C基因表达没有特异性. Zendman等^[3]发现在转移侵袭力高的黑色素瘤细胞株中SPANX-C的表达较高. Goydos等^[22]发现SPANX-C基因的表达与黑色素瘤患者的临床分期有关, 表达率随分期进展降低. 而我们研究并未发现SPANX-C的表达与HCC患者的临床指标如肿瘤TNM分期、肿瘤分化程度的相关性, 提示SPANX-C的表达可能与HCC进展情况与恶性程度无关.

本研究并未发现SPANX-C的表达与HCC患者血清 α -FP水平具有相关性, 但在 α -FP阴性

或轻度升高的HCC患者中, 有65.8%可检测到SPANX-C基因的表达, 提示在 α -FP阴性的HCC患者中, 将SPANX-C基因mRNA作为肿瘤标志物, 也许还有助于提高 α -FP阴性肝癌的诊断水平.

4 参考文献

- 1 Caballero OL, Chen YT. Cancer/testis (CT) antigens: potential targets for immunotherapy. *Cancer Sci* 2009; 100: 2014-2021
- 2 Simpson AJ, Caballero OL, Jungbluth A, Chen YT, Old LJ. Cancer/testis antigens, gametogenesis and cancer. *Nat Rev Cancer* 2005; 5: 615-625
- 3 Zendman AJ, Cornelissen IM, Weidle UH, Ruiter DJ, van Muijen GN. CTp11, a novel member of the family of human cancer/testis antigens. *Cancer Res* 1999; 59: 6223-6229
- 4 Greene FL. TNM staging for malignancies of the digestive tract: 2003 changes and beyond. *Semin Surg Oncol* 2003; 21: 23-29
- 5 Mou DC, Cai SL, Peng JR, Wang Y, Chen HS, Pang XW, Leng XS, Chen WF. Evaluation of MAGE-1 and MAGE-3 as tumour-specific markers to detect blood dissemination of hepatocellular carcinoma cells. *Br J Cancer* 2002; 86: 110-116
- 6 Parker KC, Bednarek MA, Coligan JE. Scheme for ranking potential HLA-A2 binding peptides based on independent binding of individual peptide side-chains. *J Immunol* 1994; 152: 163-175
- 7 Falk K, Rötzschke O, Stevanović S, Jung G, Rammensee HG. Allele-specific motifs revealed by sequencing of self-peptides eluted from MHC molecules. *Nature* 1991; 351: 290-296
- 8 Old LJ. Cancer vaccines: an overview. *Cancer Immun* 2008; 8 Suppl 1: 1
- 9 Jäger D, Jäger E, Knuth A. Immune responses to tumour antigens: implications for antigen specific immunotherapy of cancer. *J Clin Pathol* 2001; 54: 669-674
- 10 Scanlan MJ, Simpson AJ, Old LJ. The cancer/testis genes: review, standardization, and commentary. *Cancer Immun* 2004; 4: 1
- 11 van der Bruggen P, Traversari C, Chomez P, Lurquin C, De Plaen E, Van den Eynde B, Knuth A, Boon T. A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. *Science* 1991; 254: 1643-1647
- 12 Ghafouri-Fard S, Modarressi MH. Cancer-testis antigens: potential targets for cancer immunotherapy. *Arch Iran Med* 2009; 12: 395-404
- 13 Ajiro M, Katagiri T, Ueda K, Nakagawa H, Fukukawa C, Lin ML, Park JH, Nishidate T, Daigo Y, Nakamura Y. Involvement of RQCD1 overexpression, a novel cancer-testis antigen, in the Akt pathway in breast cancer cells. *Int J Oncol* 2009; 35: 673-681
- 14 Lin ML, Fukukawa C, Park JH, Naito K, Kijima K, Shimo A, Ajiro M, Nishidate T, Nakamura Y, Katagiri T. Involvement of G-patch domain containing 2 overexpression in breast carcinogenesis. *Cancer Sci* 2009; 100: 1443-1450
- 15 Bettoni F, Filho FC, Grosso DM, Galante PA, Parmigiani RB, Geraldo MV, Henrique-Silva F, Oba-Shinjo SM, Marie SK, Soares FA, Brentani HP, Simpson AJ, de Souza SJ, Camargo AA. Identification of FAM46D as a novel cancer/testis antigen using EST data and serological analysis.

■应用要点

SPANX-C基因mRNA在HCC组织中呈高频率特异性表达, 并存在HLA-A2限制性CTL表位, 有望用于HCC的免疫治疗.

■同行评价

本文初步研究了肝癌组织中SPANX-C的表达,发现其具有较高的肿瘤特异性,可能是肝癌免疫治疗的潜在靶点,具有一定的学术价值。

- 16 Zendman AJ, Zschocke J, van Kraats AA, de Wit NJ, Kurpisz M, Weidle UH, Ruiter DJ, Weiss EH, van Muijen GN. The human SPANX multigene family: genomic organization, alignment and expression in male germ cells and tumor cell lines. *Gene* 2003; 309: 125-133
- 17 Peng JR, Chen HS, Mou DC, Cao J, Cong X, Qin LL, Wei L, Leng XS, Wang Y, Chen WF. Expression of cancer/testis (CT) antigens in Chinese hepatocellular carcinoma and its correlation with clinical parameters. *Cancer Lett* 2005; 219: 223-232
- 18 Ge W, Hu PZ, Huang Y, Wang XM, Zhang XM, Sun YJ, Li ZS, Si SY, Sui YF. The antitumor immune responses induced by nanoemulsion-encapsulated MAGE1-HSP70/SEA complex protein vaccine following different administration routes. *Oncol Rep* 2009; 22: 915-920
- 19 Wieckowski EU, Visus C, Szajnik M, Szczepanski MJ, Storkus WJ, Whiteside TL. Tumor-derived microvesicles promote regulatory T cell expansion and induce apoptosis in tumor-reactive activated CD8+ T lymphocytes. *J Immunol* 2009; 183: 3720-3730
- 20 Gnjjatic S, Nishikawa H, Jungbluth AA, Güre AO, Ritter G, Jäger E, Knuth A, Chen YT, Old LJ. NY-ESO-1: review of an immunogenic tumor antigen. *Adv Cancer Res* 2006; 95: 1-30
- 21 Ries J, Mollaoglu N, Vairaktaris E, Neukam FW, Nkenke E. Diagnostic and therapeutic relevance of NY-ESO-1 expression in oral squamous cell carcinoma. *Anticancer Res* 2009; 29: 5125-5130
- 22 Goydos JS, Patel M, Shih W. NY-ESO-1 and CTp11 expression may correlate with stage of progression in melanoma. *J Surg Res* 2001; 98: 76-80

编辑 曹丽鸥 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 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, 国内统一刊号CN 14-1260/R, Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology)》,是一本由来自国内23个省、市、自治区、特别行政区的496位胃肠病学和肝病学专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志,旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章,使其成为一种公众资源,同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文,了解其领域的所有的关键的进展,更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务,为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

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

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

《世界华人消化杂志》的目标是出版高质量的胃肠病学和肝病学领域的专家评论及临床实践和基础研究相结合具有实践意义的文章,为内科学、外科学、感染病学、中医药学、肿瘤学、中西医结合学、影像学、内镜学、介入治疗学、病理学、基础研究等医生和研究人员提供转换平台,更新知识,为患者康复服务。

光动力治疗Barrett's食管的系统评价

何继东, 王一平, 欧阳晓波

何继东, 欧阳晓波, 雅安市第二人民医院消化内科 四川省雅安市 625000

王一平, 四川大学华西医院消化科 四川省成都市 610041

国家自然科学基金资助项目, No. 30271667

作者贡献分布: 何继东与欧阳晓波负责文献检索、文献质量评价、提取资料及论文撰写; 王一平负责论文审阅及修改。

通讯作者: 何继东, 625000, 四川省雅安市, 雅安市第二人民医院消化内科。hjdshare@sina.com

电话: 0835-2623269

收稿日期: 2010-02-08 修回日期: 2010-04-23

接受日期: 2010-05-10 在线出版日期: 2010-06-18

Photodynamic therapy for Barrett's esophagus: a systematic review

Ji-Dong He, Yi-Ping Wang, Xiao-Bo Ouyang

Ji-Dong He, Xiao-Bo Ouyang, Department of Gastroenterology, the Second People's Hospital of Yaan, Yaan 625000, Sichuan Province, China

Yi-Ping Wang, Department of Gastroenterology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Correspondence to: Ji-Dong He, Department of Gastroenterology, the Second People's Hospital of Yaan, Yaan 625000, Sichuan Province, China. hjdshare@sina.com

Received: 2010-02-08 Revised: 2010-04-23

Accepted: 2010-05-10 Published online: 2010-06-18

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy and safety of photodynamic therapy (PDT) for Barrett's esophagus (BE).

METHODS: We searched Cochrane Clinical Trial Register (Issue 4, 2009), Medline or PubMed (1978-2010), EMBASE (1978-2010), OVID database (1978-2010), Chinese Biological Medicine database (CBMDisc) (1978-2010), CNKI (1979-2010), Chinese VIP database (1989-2010) and Wanfang database (1978-2010). We also manually searched the bibliographies of retrieved articles and four kinds of important journals to identify randomized controlled trials of PDT for BE. A systematic review was conducted using the method recommended by the Cochrane collaboration.

RESULTS: Ten randomized controlled trials involving 731 patients were included in this systematic review. Three trials reported that PDT

could provide safe and effective ablation of low-grade dysplastic epithelium, and proposed that PDT could be used for the treatment of BE at 4-5 h after ALA ingestion and low-dose PDT appeared to be a safe protocol for BE. Three trials showed that PDT in combination with omeprazole was an effective therapy for ablating HGD in patients with BE and in reducing the incidence of esophageal adenocarcinoma. Three trials reported that APC and PDT were equally effective in eradicating Barrett's mucosa, with PDT being the more expensive treatment. However, PDT is more effective in eradicating dysplasia. One trial showed that oral prednisone after PDT did not reduce the incidence of esophageal strictures.

CONCLUSION: PDT is an effective therapy for ablating HGD in patients with BE and in reducing the incidence of esophageal adenocarcinoma. Low-dose PDT is better tolerated in patients with BE.

Key Words: Photodynamic therapy; Barrett's esophagus; Meta-analysis; Systematic review; Randomized controlled trial

He JD, Wang YP, Ouyang XB. Photodynamic therapy for Barrett's esophagus: a systematic review. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(17): 1815-1819

摘要

目的: 系统评价光动力治疗Barrett's食管的的有效性和安全性。

方法: 计算机全面检索Cochrane图书馆临床对照试验数据库(2009年第4期)、Medline或PubMed(1978-2010)、EMbase(1978-2010)、Ovid(1978-2010)、中国生物医学文献数据库(1978-2010)、维普中刊数据库(1989-2010)、中国期刊全文数据库(1979-2010)、万方学位论文数据库(1978-2010)。手工检索《中华消化杂志》等4种相关中文期刊、相关会议论文集及所有检索到文献的参考文献。纳入光动力治疗Barrett's食管的所有随机对照试验(RCT), 按Cochrane协作网推荐的方法进行系统评价。

结果: 共纳入10个RCT(包括731例患者), 3个

■背景资料

近年来, 随着内镜技术的发展, 内镜下治疗BE的方法逐渐出现并日趋成熟, 取得了较好的临床疗效。其中光动力治疗是利用生物合成的光敏剂在肿瘤或某些组织中高浓度聚集, 再以特定波长的光照射光敏物质聚集的肿瘤或组织, 引起肿瘤组织不可逆损伤的一种微创治疗方法。

■同行评议者

施诚仁, 教授, 上海交通大学医学院附属新华医院小儿外科; 潘秀珍, 教授, 福建省立医院消化内科

■研究前沿

如何消除BE而达到预防食管腺癌的发生,减少患病率和死亡率是临床亟待解决的重要课题。而目前BE的治疗缺乏完善的方案,各种治疗方案均有利弊,其有效性和安全性还缺乏循证医学的证据。

RCT结果显示, PDT治疗对消除轻度不典型增生安全有效($P<0.05$), 建议注射5-ALA后4-5 h给予PDT治疗, 认为低剂量PDT更为安全; 3个RCT结果显示, PDT+奥美拉唑在消除Barrett's食管的重度不典型增生及减少腺癌发生上是有效的($P<0.05$); 3个RCT结果显示; PDT治疗Barrett's食管不典型增生效果优于APC治疗, 但成本更高; 1个RCT结果显示, PDT术后口服强的松不能减少食管狭窄的发生率。

结论: 基于目前的证据, 我们认为, PDT治疗Barrett's食管的不典型增生、减少腺癌发生安全有效, 推荐低剂量PDT治疗。但上述结果解释应慎重, 有待进一步研究的证据。

关键词: 光动力治疗; Barrett's食管; Meta分析; 系统评价; 随机对照试验

何继东, 王一平, 欧阳晓波. 光动力治疗Barrett's食管的系统评价. 世界华人消化杂志 2010; 18(17): 1815-1819
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1815.asp>

0 引言

Barrett's食管(Barrett esophagus, BE)是食管远端正常鳞状上皮被柱状上皮取代的一种病理现象。目前, 有关BE的定义在全世界范围内仍没有达到共识, 美国胃肠病学会的指南中将BE定义为内镜下可见食管远端出现任何长度的柱状上皮并经活检证实存在肠上皮化生^[1]。而我国三亚胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)共识的定义为当内镜检查发现食管远端有明显的柱状上皮化生并经病理组织学证实, 即可诊断为BE, 但同时强调必须详细注明组织学类型及是否存在肠上皮化生^[2]。近20年来, 随着GERD发病率的逐年增高, BE也呈上升趋势, 流行病学显示, 2%-5%的BE可发展为食管腺癌^[3]。由于BE发病率呈明显上升的趋势以及其与食管腺癌的密切相关, 因而日益受到重视。BE的早期诊治可有效地阻止其发展为腺癌。随着内镜技术的发展, 内镜介入治疗BE收到较为理想的效果, 其方法主要包括内镜下黏膜切除术、激光、电凝、热探头、氩离子凝固治疗(argon plasma coagulation, APC)、光动力治疗(photodynamic therapy, PDT)等, 近几年来国外的研究显示, 光动力治疗对伴有异型增生或食管早癌的BE有较好的治疗效果, 显示出良好的应用前景。本研究按照Cochrane系统评价方法, 对光动力治疗BE的临床有效性和安全性进行评价, 以期为临床应用和

进一步研究提供最佳证据。

1 材料和方法

1.1 材料 计算机检索Cochrane图书馆临床对照试验(2009年第4期)、MEDLINE或PubMed数据库(1978-2010年)、EMbase光盘数据库(1978-2010年)、ISI数据库(2000-2010年)、中国生物医学文献数据库(CBM Disc)(1978-2010年)、维普中刊数据库(1989-2010年)、中国期刊全文数据库(1994-2010年)英文检索词包括: Barrett's Esophagus、Esophageal Adenocarcinoma、Dysplasia、BE、Photodynamic Therapy、PDT、Endoscopic therapy。中文检索词包括: Barrett食管、不典型增生、食管腺癌、光动力治疗、光动力疗法、内镜下治疗。手工检索《中华消化杂志》(1978-2010)、《中华消化内镜杂志》(1978-2010)、《临床内科杂志》(1978-2010)、《胃肠病学与肝病杂志》(1978-2010)。查阅所获资料的参考文献索引, 手检相关文献。最初检索到相关文章29篇, 其中计算机检索24篇, 手检5篇。阅读题目及摘要后, 排除综述类文章及信件, 筛选得到治疗性临床试验18篇, 其中可能符合纳入标准的文章14篇。仔细查阅全文后, 最后共10个试验^[5-14], 包括731例患者符合纳入标准进入本系统评价。所有试验^[5-14]均以全文形式发表。均为国外研究^[5-14], 所纳入的试验均有明确的诊断标准及排除标准。

1.2 方法

1.2.1 研究类型: 不分文种, 凡是有关光动力治疗BE的临床随机对照试验(RCT)的全文及摘要均予以纳入。

1.2.2 纳入标准: 临床试验纳入患者的年龄(18岁以上)、性别不限, 所有接受光动力治疗的BE患者无论病情轻重及累及部位均被纳入。

1.2.3 排除标准: 不能耐受反复上消化道内镜检查者; 严重心肺疾病患者; 对试验药物过敏者; 怀孕或哺乳者。

1.2.4 干预措施: 凡是评价光动力治疗BE的试验均被纳入, 光动力治疗开始的时间、疗程、剂量、剂型、给药途径不限。对照组可采用安慰剂、空白或其他治疗方法。试验组和对照组可同时接受相同剂量、疗程的其他治疗。

1.2.5 疗效评价指标: (1)主要指标: BE消融率、BE节段缩短率、食管腺癌发生率、不良反应发生率; (2)次要指标: 所需治疗的次数、生活质量改善。

1.2.6 资料提取和质量评价: 由两名评价员独立

进行文献质量评价, 按照设计好的表格提取资料并交叉核对, 如遇分歧通过讨论或根据第三位研究人员的意见解决. 纳入文献的方法学质量评价采用Cochrane系统评价员手册4.2.2推荐的方法来进行, 文献质量评价内容主要包括: (1) 随机分配方法; (2) 分配方法的隐藏; (3) 盲法; (4) 是否描述退出及失访的发生情况; (5) 是否进行了意向治疗(intention to treat, ITT)分析^[4].

统计学处理 采用Cochrane协作组提供的RevMan4.2软件. 各临床试验的异质性检验采用卡方检验, 若无异质性, 选择固定效应模型进行Meta分析, 否则选择随机效应模型或进行定性的系统评价. 计数资料计算Peto OR或OR及其95%CI. 对于计量资料, 计算加权均数差值(WMD)及其95%CI, 否则计算标准化均数差值(SMD)及其95%CI. 各个疗效判定指标的分析均遵循意向治疗分析的原则. 将各种处理后Meta分析的结果进行比较, 观察有无统计学差异, 若无统计学差异, 则报道合并的Meta分析结果. 若有足够的试验, 则可分别排除分配隐藏不充分和不清楚的试验, 未采用盲法评价疗效的试验或以摘要形式发表的试验进行敏感性分析. 采用漏斗图分析是否存在发表偏倚. 若各临床试验提供的数据不能进行Meta分析, 则只对其进行描述性的定性分析.

2 结果

2.1 纳入试验的方法学质量 纳入的10个试验均表明为随机分组, 其中9个试验^[5-10,11-14]具体描述了随机序列产生的方法; 有5个试验^[5-7,9,10]采用了盲法; 6个试验^[5,6,8-10,14]对随机分配方案进行了充分的隐藏. 10个试验^[5-14]明确指出两组基线情况具有可比性, 并有详细的资料. 10个试验均报道了受试者退出失访的情况, 并对具体原因进行了详细说明, 其中仅1个试验^[10]对疗效指标采用了ITT分析. 10个试验的特点见表1.

2.2 光动力治疗BE 2个RCT(包括62例患者)提供了光动力治疗与安慰剂比较的资料, 2个试验^[5,6]均报道随机方法并使用盲法, 对分配方案进行隐藏, 2篇^[5,6]试验报道了失访退出的情况, 但未进行ITT分析. 结果显示, PDT治疗对消除轻度不典型增生是安全有效的($P<0.05$), 注射5-ALA后4 h原卟啉离子交换达高峰, 建议注射5-ALA后4-5 h给予ALA-PDT治疗, 同时建议接受PDT治疗后24-36 h避免光照. 1个RCT(包括25例患者)提供了不同剂量5-ALA-PDT治疗有效性和安全性的资

料, 该试验^[7]报道随机方法并使用盲法, 结果显示, 低剂量组(30 mg/kg)和高剂量组(60 mg/kg)比较, 所有患者内镜下Barrett上皮面积减少, 有不同程度的鳞状上皮再生, 但两组间内镜下表现无明显差异($P>0.05$), 在不良反应发生率上, 高剂量组更高($P<0.05$), 研究认为低剂量PDT更为安全.

2.3 光动力治疗与其他治疗方法联用治疗BE 3个RCT^[8-10](包括452例患者)提供了光动力治疗与PPI联合治疗BE的有效性和安全性, 但由于试验间的异质性, 仅做描述性分析. 1个随机双盲对照试验^[8](包括36例患者)提供了奥美拉唑联合PDT治疗BE疗效的资料, 结果显示, 奥美拉唑治疗后随机分配到PDT组和安慰剂组, PDT组所有患者不典型增生消失, 有16例患者治疗区域Barrett上皮面积平均减少30%. 而安慰剂组12例患者仍有不典型增生, 仅2例患者Barrett上皮面积减少了10%($P<0.05$). 1个多中心随机双盲的对照试验^[9](包括208例患者)提供了奥美拉唑联合吡非鲁胺(POR)为光敏剂的PDT治疗BE伴重度不典型增生疗效的资料, 结果显示, 奥美拉唑+(POR)PDT组与奥美拉唑组比较, 重度不典型增生消退率分别为77%(106/138)和39%(27/70)($P<0.0001$), 腺癌发生率分别为13%(18/138)和28%(20/70)($P<0.006$), 不良反应发生率分别为94%和13%. 该研究认为, (POR)PDT+奥美拉唑是消除BE的重度不典型增生, 减少腺癌发生率的有效治疗方法. 随后该试验发表了随访5年的研究结果证实^[10], (POR)PDT+奥美拉唑消除BE的重度不典型增生, 减少腺癌发生的有效性.

2.4 光动力治疗与氩离子凝固治疗的比较 3个RCT^[12-14](包括124例患者)提供了光动力治疗与氩离子凝固治疗治疗BE的有效性和安全性及成本效益分析的资料, 但由于试验间的异质性, 仅做描述性分析. 1个随机双盲对照试验^[12](包括68例患者)提供了PDT与APC治疗BE疗效的资料, 结果显示, PDT组和APC组Barrett上皮面积平均减少率分别为50%和97%($P<0.05$), 随访12 mo, 两组分别有21%和24%的患者发现仍有Barrett上皮($P>0.05$). 1个随机双盲对照试验^[14](包括40例患者)提供了PDT联合APC与APC治疗BE疗效的资料, 结果显示, 治疗6 wk后, PDT100+APC组、PDT20+100+APC组和APC组, Barrett上皮面积减少率分别为51%、86%和93%($P<0.05$), 组织学完全清除率分别为8%、33%和36%($P<0.05$); 治疗12 mo后, 组织学完全清除率分别为82%、

■相关报道

近几年来国外的研究显示, 光动力治疗对伴有异型增生或食管早癌的BE有较好的治疗效果, 显示出良好的应用前景.

■同行评价

本文选题尚可, 设计合理, 结论客观, 具有较好的参考价值。

表 1 纳入随机对照试验的质量评估及研究特点

作者	年份	样本量	干预措施		基线情况	随机方法	盲法	分配隐藏	退出失访情况
			试验组	对照组					
Ackroyd等 ^[5]	1999	34	PDT (ALA 30 mg/kg)	安慰剂	可比	计算机随机	双盲	充分	报告清楚
Hinnen等 ^[6]	2002	26	PDT (ALA 60 mg/kg)	安慰剂	可比	随机数字表	双盲	充分	报告清楚
Kelty等 ^[7]	2004	25	PDT (ALA 30 mg/kg)	PDT (ALA 60 mg/kg)	可比	随机数字表	双盲	不清楚	报告清楚
Ackroyd等 ^[8]	2000	36	PDT (ALA 30 mg/kg) +Omeprazole	Omeprazole	可比	计算机随机	不清楚	充分	报告清楚
Overholt等 ^[9]	2005	208	PDT (POR) +Omeprazole	Omeprazole	可比	计算机随机	单盲	充分	报告清楚
Overholt等 ^[10]	2007	208	PDT(PHO) +Omeprazole	Omeprazole	可比	计算机随机	双盲	充分	报告清楚
Panjehpour等 ^[11]	2000	60	PDT	PDT +oral steroids	可比	不清楚	不清楚	不清楚	报告清楚
Kelty等 ^[12]	2004	68	PDT (ALA 30 mg/kg)	APC(65 wk)	可比	随机数字表	不清楚	不清楚	报告清楚
Ragunath等 ^[13]	2005	26	PDT	APC	可比	随机数字表	不清楚	不清楚	报告清楚
Hage等 ^[14]	2004	40	PDT+APC	APC	可比	随机数字表	不清楚	充分	报告清楚

90%和67%($P>0.05$), 无不典型增生发生. 在不良反应方面, PDT治疗后疼痛、恶心、呕吐等不良反应明显增加($P<0.05$). 1个随机双盲对照试验^[13](包括26例患者)提供了PDT与APC治疗BE疗效和成本效益分析的资料, 结果显示, 治疗4 mo后, PDT组和APC组比较, Barrett上皮清除率分别为57%和65%($P>0.05$), 不典型增生清除率分别为77%和62%($P=0.03$); 治疗12 mo后, Barrett上皮清除率分别为60%和56%($P>0.05$), 不典型增生清除率分别为77%和67%($P>0.05$); 成本分析显示, 使Barrett上皮每减少一个百分点, PDT治疗比APC治疗多花266英镑, 使不典型增生每减少一个百分点, PDT治疗比APC治疗多花146英镑. 该研究认为, PDT治疗BE不典型增生效果优于APC治疗, 但成本更高.

2.5 光动力治疗与激素联用治疗BE 1个随机对照试验^[11](包括60例患者)提供了PDT联合口服强的松治疗BE疗效和安全性的资料, 结果显示, PDT+口服强的松组与PDT组比较, 食管狭窄发生率分别为29%和16%, 差异无统计学意义. 该研究认为, PDT术后口服强的松不能减少食管狭窄的发生率.

3 讨论

BE是食管腺癌的主要危险因素, 有研究显示BE患者发生食管癌和食管腺癌的风险是普通人群的10和30倍以上^[15]. 那么如何消除BE而达到预防食管腺癌的发生, 减少患病率和死亡率是临床亟待解决的重要课题. 而目前BE的治疗缺乏

完善的方案, 各种治疗方案均有利弊. 其有效性和安全性还缺乏循证医学的证据.

近年来, 随着内镜技术的发展, 内镜下治疗BE的方法逐渐出现并日趋成熟, 取得了较好的临床疗效. 其中光动力治疗是利用生物合成的光敏剂在肿瘤或某些组织中高浓度聚集, 再以特定波长的光照射光敏物质聚集的肿瘤或组织, 引起肿瘤组织不可逆损伤的一种微创治疗方法. 目前常用的光敏剂有5-氨基乙酰丙酸(5-aminolevulinic acid, 5-ALA)、 δ -氨基乙酰丙酸(delta-aminolevulinic acid, delta-ALA), 卟菲尔钠(porphimersodium)等. 国内外的临床试验显示, PDT对息肉、不典型增生、良性肿瘤及恶性肿瘤均有一定的作用^[16,17]. 同时PDT应用于BE的治疗也取得了较好的临床疗效, 但是各研究间的结论并不一致, 而且大部分研究的样本量较小, 不能提供足够的检验效能. 因此有必要对其进行系统的评价.

本研究在全世界范围内共收集到10个(包括1 146例患者)已完成的光动力治疗BE的RCT, 试验纳入患者符合临床公认的BE的诊断标准, 因而具有代表性.

2个RCT评价了光动力治疗与安慰剂比较治疗BE的有效性和安全性, 结果提示, PDT治疗对消除轻度不典型增生是安全有效的, 同时建议注射5-ALA后4-5 h给予ALA-PDT治疗, 建议接受PDT治疗后24-36 h避免光照. 以减少光过敏等不良反应的发生, 1个RCT(包括25例患者)评价了不同剂量5-ALA-PDT治疗BE的有效性和安全

性, 认为低剂量PDT更为安全. 但上述试验中, 样本量均较小, 说明结果仍存在一定的局限性, 应谨慎对待.

3个RCT(包括62例患者)评价了光动力治疗与PPI联合治疗BE的有效性和安全性, 结果提示, 在重度不典型增生消退率、腺癌发生率及Barrett上皮面积平均减少上, 光动力治疗与PPI联合治疗组均优于单独PPI治疗, 但不良反应发生率更高, 主要表现为房颤、心衰、光过敏、带状疱疹、多形红斑、一过性肝功能异常、恶心呕吐等. 上述试验, 均具有较高的方法学质量, 提示PORPDT+奥美拉唑是消除BE的重度不典型增生、减少腺癌发生率的有效治疗方法.

3个RCT评价了光动力治疗与氩离子凝固治疗治疗BE的有效性和安全性及成本效益分析. 结果提示, 光动力治疗与氩离子凝固治疗均有较好的疗效, 光动力治疗不良反应发生率更高, 在清除不典型增生效果上优于APC治疗, 但费用更高. 上述试验仅一个试验对分配方案进行了隐藏, 样本量均较小, 有待高质量、大样本随机对照试验的证据.

总之, 因所发表的临床研究方法学质量良莠不齐, 存在多种方法学局限性, 故应谨慎看待以上结果. 今后有必要进一步开展大样本、高质量的临床随机对照试验, 为光动力治疗BE提供更可靠的证据. 今后的研究应注意采用严格的随机分配方法、保证充分的分配隐藏、并采用盲法评价疗效, 控制患者的失访和退出达到最低限度, 采用统一的疗效判定标准、最好能结合经济学评价.

4 参考文献

- 1 Wang KK, Sampliner RE. Updated guidelines 2008 for the diagnosis, surveillance and therapy of Barrett's esophagus. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 788-797
- 2 林三仁, 许国铭, 胡品津, 周丽雅, 陈旻湖, 柯美云, 袁耀宗, 房殿春, 萧树东. 中国胃食管反流病共识意见 2006年10月三亚. *胃肠病学* 2007; 12: 233-239
- 3 Toruner M, Soykan I, Ensari A, Kuzu I, Yurdaydin C, Ozden A. Barrett's esophagus: prevalence and its relationship with dyspeptic symptoms. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19: 535-540
- 4 Higgins JPT, Green S, editors. Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions 4.2.4 [updated March 2005]. In: The Cochrane Library, Issue 2, 2005
- 5 Ackroyd R, Brown N, Vernon D, Roberts D, Stephenson T, Marcus S, Stoddard C, Reed M. 5-Aminolevulinic acid photosensitization of dysplastic Barrett's esophagus: a pharmacokinetic study. *Photochem Photobiol* 1999; 70: 656-662
- 6 Hinnen P, de Rooij FW, Hop WC, Edixhoven A, van Dekken H, Wilson JH, Siersema PD. Timing of 5-aminolevulinic acid-induced photodynamic therapy for the treatment of patients with Barrett's oesophagus. *J Photochem Photobiol B* 2002; 68: 8-14
- 7 Kelty CJ, Ackroyd R, Brown NJ, Brown SB, Reed MW. Comparison of high- vs low-dose 5-aminolevulinic acid for photodynamic therapy of Barrett's esophagus. *Surg Endosc* 2004; 18: 452-458
- 8 Ackroyd R, Brown NJ, Davis MF, Stephenson TJ, Marcus SL, Stoddard CJ, Johnson AG, Reed MW. Photodynamic therapy for dysplastic Barrett's oesophagus: a prospective, double blind, randomised, placebo controlled trial. *Gut* 2000; 47: 612-617
- 9 Overholt BF, Lightdale CJ, Wang KK, Canto MI, Burdick S, Haggitt RC, Bronner MP, Taylor SL, Grace MG, Depot M. Photodynamic therapy with porfimer sodium for ablation of high-grade dysplasia in Barrett's esophagus: international, partially blinded, randomized phase III trial. *Gastrointest Endosc* 2005; 62: 488-498
- 10 Overholt BF, Wang KK, Burdick JS, Lightdale CJ, Kimmey M, Nava HR, Sivak MV Jr, Nishioka N, Barr H, Marcon N, Pedrosa M, Bronner MP, Grace M, Depot M. Five-year efficacy and safety of photodynamic therapy with Photofrin in Barrett's high-grade dysplasia. *Gastrointest Endosc* 2007; 66: 460-468
- 11 Panjehpour M, Overholt BF, Haydek JM, Lee SG. Results of photodynamic therapy for ablation of dysplasia and early cancer in Barrett's esophagus and effect of oral steroids on stricture formation. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 2177-2184
- 12 Kelty CJ, Ackroyd R, Brown NJ, Stephenson TJ, Stoddard CJ, Reed MW. Endoscopic ablation of Barrett's oesophagus: a randomized-controlled trial of photodynamic therapy vs. argon plasma coagulation. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20: 1289-1296
- 13 Ragunath K, Krasner N, Raman VS, Haqqani MT, Phillips CJ, Cheung I. Endoscopic ablation of dysplastic Barrett's oesophagus comparing argon plasma coagulation and photodynamic therapy: a randomized prospective trial assessing efficacy and cost-effectiveness. *Scand J Gastroenterol* 2005; 40: 750-758
- 14 Hage M, Siersema PD, van Dekken H, Steyerberg EW, Haringsma J, van de Vrie W, Grool TE, van Veen RL, Sterenberg HJ, Kuipers EJ. 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy versus argon plasma coagulation for ablation of Barrett's oesophagus: a randomised trial. *Gut* 2004; 53: 785-790
- 15 Bagajevs A, Zindzius V. [Barrett's esophagus: a review] *Medicina (Kaunas)* 2004; 40 Suppl 1: 183-189
- 16 Hahn SM, Fraker DL, Mick R, Metz J, Busch TM, Smith D, Zhu T, Rodriguez C, Dimofte A, Spitz F, Putt M, Rubin SC, Menon C, Wang HW, Shin D, Yodh A, Glatstein E. A phase II trial of intraperitoneal photodynamic therapy for patients with peritoneal carcinomatosis and sarcomatosis. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 2517-2525
- 17 Qiang YG, Zhang XP, Li J, Huang Z. Photodynamic therapy for malignant and non-malignant diseases: clinical investigation and application. *Chin Med J (Engl)* 2006; 119: 845-857

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

慢性丙型肝炎患者脂类代谢与丙型肝炎病毒复制以及肝脏病理的关系

李蕴铷, 凌伟, 陈凤新, 范小玲

■背景资料

丙型肝炎病毒感染是一种波及全球范围的慢性病毒性传染病, 由于他和代谢综合征的关系密切, 因此有学者认为他也是一种代谢性疾病。基础和临床研究提示HCV感染和脂类代谢密切相关, 脂类代谢的紊乱可影响HCV的致病性, 也可影响干扰素抗HCV的疗效。

李蕴铷, 凌伟, 陈凤欣, 范小玲, 北京地坛医院 北京市 100015

作者贡献分布: 凌伟与陈凤欣贡献相等。范小玲负责本文的构思立题及文章审核; 李蕴铷负责资料收集统计分析, 整理书写; 凌伟与陈凤欣负责资料收集。

通讯作者: 范小玲, 主任医师, 教授, 100011, 北京市, 北京地坛医院。fanxl2001@163.com

电话: 010-84322327

收稿日期: 2010-03-07 修回日期: 2010-05-07

接受日期: 2010-05-18 在线出版日期: 2010-06-18

Correlation of plasma lipid levels with serum hepatitis C virus RNA load and liver histopathological changes in patients with chronic hepatitis C

Yun-Ru Li, Wei Ling, Feng-Xin Chen, Xiao-Ling Fan

Yun-Ru Li, Wei Ling, Feng-Xin Chen, Xiao-Ling Fan, Beijing Ditan Hospital, Beijing 100011, China

Correspondence to: Professor Xiao-Ling Fan, Beijing Ditan Hospital, Beijing 100011, China. fanxl2001@163.com

Received: 2010-03-07 Revised: 2010-05-07

Accepted: 2010-05-18 Published online: 2010-06-18

Abstract

AIM: To investigate the relationship among plasma lipid levels, serum hepatitis C virus (HCV) RNA load, and liver histopathological changes in patients with chronic hepatitis C (CHC).

METHODS: Seventy-five CHC patients were included in the study. Serum HCV RNA levels were measured by fluorescent quantitative polymerase chain. The levels of plasma TG, CHO, LDL, HDL, ApoA, and ApoB were measured using a biochemical autoanalyzer. A liver biopsy was performed in 62 patients, and liver histopathological changes in these patients were evaluated by HE staining under a light microscope and scored according to the grade of hepatic necroinflammatory activity and the stage of liver fibrosis and liver steatosis.

RESULTS: Significant differences were noted

in the levels of LDL and ApoB among the three groups (HCV RNA: $< 10^5$ copies/mL, 10^5 - 10^7 copies/mL, and $> 10^7$ copies/mL). The levels of plasma LDL and ApoB were negatively correlated with HCV RNA load ($r = -0.305, -0.417; P = 0.011, 0.001$). Approximately 67.7% of CHC patients had liver steatosis. There were significant differences in HCV RNA load among the three groups. HCV RNA load was positively correlated with the degree of liver steatosis.

CONCLUSION: The levels of plasma LDL and ApoB are associated with HCV load but not with the degree of liver injury and fibrosis in patients with chronic hepatitis C.

Key Words: Hepatitis C virus; Chronic hepatitis C; Lipid; Metabolism; Histopathology

Li YR, Ling W, Chen FX, Fan XL. Correlation of plasma lipid levels with serum hepatitis C virus RNA load and liver histopathological changes in patients with chronic hepatitis C. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(17): 1820-1823

摘要

目的: 探讨慢性丙型肝炎患者脂类代谢与病毒复制状态以及肝脏病理损伤程度的关系。

方法: 以75例慢性丙型肝炎(CHC)患者为研究对象, 应用FQ-PCR方法检查患者血清HCV RNA载量; 应用全自动生物化学分析仪检测患者外周血三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白(LDL)、高密度脂蛋白(HDL)、载脂蛋白A(ApoA)、载脂蛋白B(ApoB)水平; 肝脏病理行HE染色, 对炎症、纤维化和脂肪变进行分级。分析脂类代谢指标和HCV RNA载量、肝功能指标以及肝脏病理分级的关系。

结果: 不同HCV复制状态的CHC患者之间的血浆TG、CHO、HDL、ApoA水平的差异无显著性, 但血浆LDL、ApoB水平在三组间比较差异有显著性($P = 0.037$ 和 0.027), 表现为HCV RNA载量越高, LDL和ApoB水平越低;

■同行评议者

张明辉, 副主任医师, 河北医科大学第一医院肝病中心

相关分析显示HCV RNA载量和LDL、ApoB之间呈负相关($r = -0.305, -0.417, P = 0.011, 0.001$); 67.7% CHC患者有不同程度的肝脂肪变性, 不同程度肝脂肪变的CHC患者之间只有HCV RNA载量有显著性差异, 肝脂肪变越高, HCV RNA载量越高, 其他指标在各组间差异无显著性。

结论: 外周血LDL、ApoB水平和肝脂肪变程度与HCV复制密切相关, 但未发现与肝脏损伤程度和肝纤维程度相关性。

关键词: 丙型肝炎病毒; 慢性丙型肝炎; 脂类; 代谢; 组织病理学

李蕴钊, 凌伟, 陈凤新, 范小玲. 慢性丙型肝炎患者脂类代谢与丙型肝炎病毒复制以及肝脏病理的关系. 世界华人消化杂志 2010; 18(17): 1820-1823

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1820.asp>

0 引言

丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染是一种波及全球范围的慢性病毒性传染病, 患病率约为3.0%, 可导致肝脏慢性炎症坏死和纤维化, 部分患者可发展为肝硬化甚至肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC). 由于他和代谢综合征的关系密切, 因此有学者认为他也是一种代谢性疾病^[1]. 基础研究认为HCV颗粒结合于脂蛋白受体是HCV进出肝细胞重要环节, 而且HCV的结构蛋白会影响脂类代谢相关基因的表达^[2,3]. 在临床中亦可见到慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)患者大多伴有不同程度的代谢综合征, 包括脂类代谢、糖类代谢等的紊乱, 特别是胰岛素抵抗; 反过来, 这些代谢紊乱又会加重HCV的致病性, 同时也给干扰素抗HCV的治疗带来一定的困难^[4,5]. 但是, 就目前的研究而言, HCV感染和脂类代谢的关系尚待进一步探讨. 本研究以具有肝组织学检查的CHC患者为研究对象, 探讨脂类代谢与病毒复制状态以及肝脏病理损伤程度的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2007-06/2009-12的CHC患者75例, 其中男38例, 女37例, 年龄12-66(平均45.36±13.25)岁. 62例完成肝组织学检查. 诊断符合2004年由中华医学会肝脏病学分会公布的《丙型肝炎防治指南》^[6].

1.2 方法

1.2.1 HCV RNA载量的检测: 按照实时荧光定

量聚合酶链反应(FQ-PCR)操作步骤检测, 采用罗氏公司的Cobas Amplicor HCV Monitor Test version 2.0(v2.0)试剂, 我们把HCV RNA载量分为3组, 分别为高病毒复制($>10^7$ copies/mL)、中病毒复制(10^5 - 10^7 copies/mL)和低病毒复制组($<10^5$ copies/mL).

1.2.2 血脂检测: 检测的指标包括三酰甘油(glycerin triglyceride, TG)、胆固醇(cholesterol, CHO)、低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)、高密度脂蛋白(high-density lipoprotein, HDL)、载脂蛋白A(apolipoprotein A, ApoA)、载脂蛋白B(apolipoprotein B, ApoB). 采用HITACHI-7180型全自动生物化学分析仪检测。

1.2.3 肝脏病理检查: 获取肝穿标本后立即用40 g/L甲醛溶液固定, 常规脱水, 石蜡包埋切片后, 做HE染色, 病理诊断参照2000年西安中华传染病与寄生虫病学术会议修订的病毒性肝炎诊断标准的组织病理学诊断标准进行分级和分期^[7], 具体由北京地坛医院病理科协助完成. 肝脂肪变根据脂肪变情况分为3级: 0级为无脂肪变; 1级为0%-30%脂肪变; 2级为>30%脂肪变。

统计学处理 采用SPSS11.5统计软件进行数据的统计分析. 实验数据采用mean±SD表示, 多组间均数比较采用单因素方差分析; 相关性检验用Pearson相关分析; $P<0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 不同HCV复制状态的CHC患者的血脂变化 75例CHC患者检测了血脂水平, 结果显示, 不同HCV复制状态的CHC患者之间的血浆TG、CHO、HDL、ApoA水平的差异无显著性, 但血浆LDL、ApoB在三组间比较差异有显著性(P 值分别为0.037和0.027), 表现为HCV RNA载量越高, LDL和ApoB水平越低(表1)。

2.2 相关性分析 将HCV RNA载量和肝损伤指标(ALT、AST)以及血脂指标之间做直线相关分析, 结果显示: HCV RNA载量和LDL、ApoB之间呈负相关($r = -0.305, -0.417, P = 0.011, 0.001$)。

2.3 不同程度肝脂肪变患者HCV复制水平、肝功能损伤和血脂水平的变化 42/62(67.7%)CHC患者有不同程度的肝脂肪变性. 不同肝脂肪变程度的CHC患者之间只有HCV RNA载量有显著性差异, 肝脂肪变程度越高, HCV RNA载量越高, 其他指标在各组间差异无显著性(表2)。

3 讨论

越来越多的研究发现CHC与代谢性疾病, 如糖

■研发前沿

基础研究表明脂蛋白受体是HCV出入肝细胞重要环节, 临床研究发现丙肝病毒感染可导致脂代谢紊乱, 反之, 脂代谢紊乱又会加重HCV的致病性, 同时也给干扰素抗丙肝病毒的治疗带来一定的影响. 脂代谢紊乱和HCV感染关系日渐成为慢性丙型肝炎研究的热点。

■相关报道

国内外报道均认为慢性HCV感染会导致脂类代谢的紊乱, 大多认为和HCV复制水平成正相关, 但也有相反的报道, 另外发生哪一类脂代谢紊乱亦有争议. 比较一致的观点认为肝脂肪变的程度和HCV的复制水平密切相关。

■创新盘点

本文就慢性丙型肝炎的HCV复制水平与脂代谢的关系进行了临床研究,认为HCV复制水平与外周血LDL、ApoB水平呈正相关;同时探讨了HCV复制水平与肝脂肪变的关系,结果提示慢性HCV感染者HCV复制水平越高,肝脂肪变程度也越高,二者成正相关。

表 1 不同HCV复制状态的CHC患者的血脂变化

HCV RNA (copies/mL)	<i>n</i>	ALT (U/L)	AST (U/L)	TG (mmol/L)	CHO (mmol/L)	LDL (mmol/L)	HDL (mmol/L)	ApoA (g/L)	ApoB (g/L)
<10 ⁵	17	109.65 ± 40.07	73.92 ± 27.74	1.57 ± 0.22	3.95 ± 0.21	2.55 ± 0.19	1.23 ± 0.13	1.00 ± 0.86	0.82 ± 0.06
10 ⁵ –10 ⁷	43	90.18 ± 14.37	57.07 ± 6.53	1.71 ± 0.35	3.78 ± 0.16	2.04 ± 0.14	1.30 ± 0.07	1.06 ± 0.40	0.66 ± 0.37
>10 ⁷	15	84.91 ± 19.32	104.09 ± 37.93	1.69 ± 0.42	3.57 ± 0.29	1.84 ± 0.15	1.29 ± 0.10	1.16 ± 0.11	0.64 ± 0.45
<i>P</i> 值		0.784	0.234	0.969	0.548	0.037	0.873	0.574	0.027

表 2 不同肝脂肪变程度患者HCV复制水平、肝功损伤和血脂水平的变化

肝脂肪变程度	<i>n</i>	HCV RNA Log值	ALT	AST	TG	CHO	LDL	HDL
0	20	5.28 ± 0.33	109.85 ± 30.55	83.96 ± 30.03	1.38 ± 0.30	3.56 ± 0.30	1.98 ± 0.17	1.42 ± 0.11
1	35	5.99 ± 0.30	90.13 ± 18.40	65.86 ± 13.92	2.04 ± 0.43	3.84 ± 0.18	1.89 ± 0.15	1.24 ± 0.08
2	7	6.19 ± 0.77	61.52 ± 19.54	49.40 ± 13.21	1.43 ± 2.13	3.91 ± 0.32	2.50 ± 0.35	1.11 ± 0.11
<i>P</i> 值		0.039	0.413	0.617	0.49	0.387	0.583	0.656

尿病和脂肪肝关系密切,特别是近年来随着代谢综合征概念的提出,CHC与代谢综合征关系的研究正逐渐深入,脂类代谢作为代谢综合征的重要环节,与CHC关系的研究也成为研究的热点之一。

目前,HCV感染与脂类代谢的基础研究较多,主要包括两个方面,一是HCV颗粒进入或分泌出肝细胞必须借助于LDL受体,在这一过程中许多脂类物质,如CHO、LDL和脂蛋白等都可能影响到HCV进入肝细胞^[8];其次是HCV核心蛋白通过基因调控的方式影响脂类蛋白基因的转录和表达,从而干扰TG、胆固醇的代谢,诱发肝脂肪变^[9]。

临床研究亦发现,CHC脂类代谢的紊乱相当常见,国外一项统计显示慢性HCV感染者中70.5%存在不同程度和不同形式的高脂血症,在这些高脂血症中61.3%的呈现HCV RNA阳性,25.4%呈现抗HCV阳性而HCV RNA阴性,提示高脂血症的发生率与HCV病毒复制有关^[10]。但具体到与哪一类血脂异常,以及同病毒复制的关系如何却报道不一,在一宗病例对照研究中,HCV感染者的血CHO、LDL水平较未感染者降低,在获得抗病毒应答的患者中血CHO、LDL水平较无应答者升高,提示CHC患者的HCV复制状态影响到CHO、LDL水平的下降^[11]。但台湾一项研究显示HCV RNA载量与TG、LDL、CHO呈正相关,HCV复制越活跃,TG、CHO、

LDL水平越高,同期另一篇来自台湾研究却显示HCV RNA载量与低TG、低CHO水平相关^[12,13]。

我们的研究结果显示,HCV RNA载量与血TG、CHO水平无明显相关性,但和血LDL、ApoB水平呈负相关,这可能与LDL、ApoB参与HCV进入肝细胞有一定的关系,如前所述,HCV颗粒与LDL受体结合是HCV进入肝细胞一个重要的环节,LDL可与HCV颗粒竞争性的结合LDL受体,同时LDL能够特异性的结合ApoB或ApoE,当LDL和ApoB水平较低,HCV在和LDL受体结合中占优势,促进HCV进入到肝细胞内,加速HCV复制,其他学者的研究也证实这一点,Serfaty等对肝脂肪变性的慢性HCV患者和其他三组对照患者的血清中β脂蛋白水平进行多元相关性分析显示,CHC患者普遍发生低β脂蛋白血症,低载脂蛋白β浓度对于脂肪变性程度成为一个独立因素^[14]。

肝脂肪变是CHC一个重要的病理学特征,Castera等对于558例CHC患者进行分析,发现54%CHC合并脂肪肝,其中重度脂肪肝者为10%^[15],我们的研究显示脂肪肝发生率为67.7%,并且与HCV RNA载量呈正比,提示肝脂肪变与HCV病毒复制密切相关。大量的HCV在肝细胞内复制,产生的大量的结构蛋白如核心蛋白致使ApoB蛋白合成下降,极低密度脂蛋白组装能力下降,最终导致TG分泌减少,导致TG在肝细胞内沉积,形成肝脂肪变。值得注意的是肝脂肪

■应用要点

本研究进一步探讨了慢性丙型肝炎患者HCV复制水平与脂类代谢的关系,对慢性HCV感染发病机制有了更深的理解,同时也为在干扰素抗HCV治疗中将脂代谢因素作为预测指标以及纠正脂代谢紊乱提高病毒学应答提供了一定的理论依据。

变的程度和肝内炎症的程度并不成正比, 亦未发现和肝纤维化的相关性。

总之, HCV感染和脂类代谢之间的关系复杂, 二者可以相互影响, 但二者确切的关系及其机制的研究才刚刚开始, 许多环节需要进行更深的探讨。探明HCV感染与脂类代谢的关系, 对于提高干扰素抗HCV的应答率有一定的临床意义, 目前已有研究认为改善脂类代谢紊乱可提高干扰素抗病毒疗效, 但是还有待于更多的临床进一步证实。

4 参考文献

- 1 Moriya K, Miyoshi H, Tsutsumi T, Shinzawa S, Fujie H, Shintani Y, Yotsuyanagi H, Moriishi K, Matsuura Y, Suzuki T, Miyamura T, Koike K. Tacrolimus ameliorates metabolic disturbance and oxidative stress caused by hepatitis C virus core protein: analysis using mouse model and cultured cells. *Am J Pathol* 2009; 175: 1515-1524
- 2 Monazahian M, Kippenberger S, Müller A, Seitz H, Böhme I, Grethe S, Thomssen R. Binding of human lipoproteins (low, very low, high density lipoproteins) to recombinant envelope proteins of hepatitis C virus. *Med Microbiol Immunol* 2000; 188: 177-184
- 3 Perlemuter G, Sabile A, Letteron P, Vona G, Topilco A, Chrétien Y, Koike K, Pessayre D, Chapman J, Barba G, Bréchet C. Hepatitis C virus core protein inhibits microsomal triglyceride transfer protein activity and very low density lipoprotein secretion: a model of viral-related steatosis. *FASEB J* 2002; 16: 185-194
- 4 Romero-Gómez M, Fernández-Rodríguez CM, Andrade RJ, Diago M, Alonso S, Planas R, Solá R, Pons JA, Salmerón J, Barcena R, Perez R, Carmona I, Durán S. Effect of sustained virological response to treatment on the incidence of abnormal glucose values in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2008; 48: 721-727
- 5 Romero-Gómez M, Del Mar Viloria M, Andrade RJ, Salmerón J, Diago M, Fernández-Rodríguez CM, Corpas R, Cruz M, Grande L, Vázquez L, Muñoz-De-Rueda P, López-Serrano P, Gila A, Gutiérrez ML, Pérez C, Ruiz-Extremera A, Suárez E, Castillo J. Insulin resistance impairs sustained response rate to peginterferon plus ribavirin in chronic hepatitis C patients. *Gastroenterology* 2005; 128: 636-641
- 6 中华医学会肝病学分会, 中华医学会传染病与寄生虫病学分会. 丙型肝炎防治指南. 中华内科杂志 2004; 43: 551-555
- 7 中华医学会传染病与寄生虫病学分会, 肝病学分会联合修订. 病毒性肝炎防治方案. 中华肝脏病杂志 2000; 8: 324-326
- 8 Burlone ME, Budkowska A. Hepatitis C virus cell entry: role of lipoproteins and cellular receptors. *J Gen Virol* 2009; 90: 1055-1070
- 9 Negro F, Sanyal AJ. Hepatitis C virus, steatosis and lipid abnormalities: clinical and pathogenic data. *Liver Int* 2009; 29 Suppl 2: 26-37
- 10 Murthy GD, Vu K, Venugopal S. Prevalence and treatment of hyperlipidemia in patients with chronic hepatitis C infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2009; 21: 902-907
- 11 Corey KE, Kane E, Munroe C, Barlow LL, Zheng H, Chung RT. Hepatitis C virus infection and its clearance alter circulating lipids: implications for long-term follow-up. *Hepatology* 2009; 50: 1030-1037
- 12 Hsu CS, Liu CH, Liu CJ, Wang CC, Chen CL, Lai MY, Chen PJ, Chen DS, Kao JH. Association of lipid profiles with hepatitis C viral load in chronic hepatitis C patients with genotype 1 or 2 infection. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 598-604
- 13 Dai CY, Chuang WL, Ho CK, Hsieh MY, Huang JF, Lee LP, Hou NJ, Lin ZY, Chen SC, Hsieh MY, Wang LY, Tsai JF, Chang WY, Yu ML. Associations between hepatitis C viremia and low serum triglyceride and cholesterol levels: a community-based study. *J Hepatol* 2008; 49: 9-16
- 14 Serfaty L, Andreani T, Giral P, Carbonell N, Chazouillères O, Poupon R. Hepatitis C virus induced hypobetalipoproteinemia: a possible mechanism for steatosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2001; 34: 428-434
- 15 Castéra L, Hézode C, Roudot-Thoraval F, Lonjon I, Zafrani ES, Pawlotsky JM, Dhumeaux D. Effect of antiviral treatment on evolution of liver steatosis in patients with chronic hepatitis C: indirect evidence of a role of hepatitis C virus genotype 3 in steatosis. *Gut* 2004; 53: 420-424

■同行评价

此类文章较少, 适合基层临床医生知识结构, 有助于普及乙型肝炎感染的临床知识。

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被收录情况

本刊讯 《世界华人消化杂志》被国际权威检索系统美国《化学文摘》(Chemical Abstracts, CA)、荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBase/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》收录。国内为中国科技论文统计与分析(科技部列选为中国科技论文统计源期刊)、《中文核心期刊要目总览》2008年版内科学类的核心期刊、中国学术期刊文摘、中国生物医学文献光盘数据库、中文科技资料目录医药卫生、解放军医学图书馆CMCC系统、中国医学文摘外科学分册(英文版)、中国医学文摘内科学分册(英文版)收录。(编辑部主任: 李军亮 2010-01-08)

应用精细肝脏外科理念治疗原发性肝癌53例

许戈良, 英卫东, 李建生, 马金良, 刘文斌, 葛勇胜, 余继海, 王伟

■背景资料

随着微创观念的提出及微创技术在肝脏外科临床实践中的应用与日趋成熟, 肝切除已从传统模式逐渐步入发展中的“精细阶段”。

许戈良, 英卫东, 李建生, 马金良, 刘文斌, 葛勇胜, 余继海, 王伟, 安徽医科大学附属医院肝脏外科 安徽省合肥市 230001

安徽省“115”产业创新团队-肝细胞癌转移复发研究团队基金资助项目

安徽省卫生厅临床医学应用技术基金资助项目, No. 2008A014

安徽省卫生厅临床医学重点学科新技术引进基金资助项目, No. 2008N004

作者贡献分布: 许戈良、英卫东、李建生、马金良及刘文斌对此文所作贡献均等; 此课题由许戈良、英卫东、马金良及刘文斌设计; 研究过程由许戈良、英卫东、李建生、马金良、刘文斌、葛勇胜、余继海及王伟操作完成; 数据分析由刘文斌完成; 本论文写作由许戈良与刘文斌完成。

通讯作者: 许戈良, 教授, 博士生导师, 230001, 安徽省合肥市庐江路17号, 安徽医科大学附属医院肝脏外科。

xugeliang2007@163.com

电话: 0551-2283916 传真: 0551-2282121

收稿日期: 2010-03-09 修回日期: 2010-05-03

接受日期: 2010-05-18 在线出版日期: 2010-06-18

Treatment of primary liver cancer by precise liver surgery: an analysis of 53 cases

Ge-Liang Xu, Wei-Dong Jia, Jian-Sheng Li, Jin-Liang Ma, Wen-Bin Liu, Yong-Sheng Ge, Ji-Hai Yu, Wei Wang

Ge-Liang Xu, Wei-Dong Jia, Jian-Sheng Li, Jin-Liang Ma, Wen-Bin Liu, Yong-Sheng Ge, Ji-Hai Yu, Wei Wang, Department of Hepatic Surgery, Affiliated Provincial Hospital, Anhui Medical University, Hefei 230001, Anhui Province, China

Supported by: the 115 Industrial Innovation Group of Anhui Province; the Clinical Medicine Applications Technology Project of the Health Department of Anhui Provincial, No. 2008A014; the Clinical Medicine Key Subject New Technology Importing Project of the Health Department of Anhui Provincial, No. 2008N004

Correspondence to: Professor Ge-Liang Xu, Department of General Surgery, Affiliated Provincial Hospital, Anhui Medical University, 17 Lujiang Road, Hefei 230001, Anhui Province, China. xugeliang2007@163.com

Received: 2010-03-09 Revised: 2010-05-03

Accepted: 2010-05-18 Published online: 2010-06-18

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy of precise liver surgery in the treatment of primary liver cancer (PLC).

METHODS: The clinical data of 125 PLC patients who underwent hepatectomy at our hos-

pital from August 2008 to November 2009 were retrospectively analyzed. Precise hepatectomy was performed in 53 patients and traditional hepatectomy in 72 patients. The operative time, operative blood loss, blood transfusion rate, margin-positive rate, hospital stay, hospitalization expense, postoperative liver function, postoperative complications, recurrence rate, and survival rate were compared between the two groups of patients.

RESULTS: Compared with the traditional hepatectomy group, the precise hepatectomy group had lower levels of postoperative alanine aminotransferase and postoperative total bilirubin, shorter hospital stay, less postoperative complications, longer operative time, lower margin-positive rate and lower tumor recurrence rate ($454.8 \text{ U/L} \pm 127.4 \text{ U/L}$ vs $714.6 \text{ U/L} \pm 216.4 \text{ U/L}$, $P < 0.05$; $25.3 \mu\text{mol/L} \pm 8.0 \mu\text{mol/L}$ vs $33.0 \mu\text{mol/L} \pm 10.0 \mu\text{mol/L}$, $P < 0.05$; $12.2 \text{ d} \pm 2.1 \text{ d}$ vs $14.7 \text{ d} \pm 3.5 \text{ d}$, $P < 0.05$; 9.4% vs 23.6% , $P < 0.05$; $233.2 \text{ min} \pm 90.2 \text{ min}$ vs $138.4 \text{ min} \pm 42.0 \text{ min}$, $P < 0.05$; 1.9% vs 13.9% , $P < 0.05$; 8.3% vs 40.9% , $P < 0.05$). No significant difference was found in operative blood loss, blood transfusion rate, hospitalization expense and one-year survival rate between the two groups (all $P > 0.05$).

CONCLUSION: Precise liver surgery is more safe and effective than traditional liver surgery in the treatment of PLC.

Key Words: Primary liver cancer; Precise liver surgery; Precise hepatectomy

Xu GL, Jia WD, Li JS, Ma JL, Liu WB, Ge YS, Yu JH, Wang W. Treatment of primary liver cancer by precise liver surgery: an analysis of 53 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(17): 1824-1828

摘要

目的: 评价应用精细肝脏外科理念治疗原发性肝癌的价值。

方法: 回顾性分析我院2008-08/2009-11行肝切除的125例原发性肝癌患者临床资料, 其中

■同行评议者

周伟平, 教授, 中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院肝外三科

采用精细肝切除术(精细肝切除组)53例, 传统肝切除术(传统肝切除组)72例. 比较两组手术时间、术中出血量及输血率、切缘癌残留率、住院时间、住院费用、术后肝功能、并发症发生率, 以及术后1年肿瘤复发率和1年生存率.

结果: 精细肝切除组与传统肝切除组相比, 手术时间延长($233.2 \text{ min} \pm 90.2 \text{ min}$ vs $138.4 \text{ min} \pm 42.0 \text{ min}$, $P < 0.05$), 术中出血量和输血例数、住院费用均无显著差异($P > 0.05$). 但切缘癌残留率低(1.9% vs 13.9% , $P < 0.05$), 住院时间短($12.2 \text{ d} \pm 2.1 \text{ d}$ vs $14.7 \text{ d} \pm 3.5 \text{ d}$, $P < 0.05$), 术后丙氨酸氨基转移酶($454.8 \text{ U/L} \pm 127.4 \text{ U/L}$ vs $714.6 \text{ U/L} \pm 216.4 \text{ U/L}$, $P < 0.05$)、总胆红素水平低($25.3 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 8.0 \text{ } \mu\text{mol/L}$ vs $33.0 \text{ } \mu\text{mol/L} \pm 10.0 \text{ } \mu\text{mol/L}$, $P < 0.05$), 术后并发症发生率低(9.4% vs 23.6% , $P < 0.05$). 34例随访1年以上, 术后1年肿瘤复发率低(8.3% vs 40.9% , $P < 0.05$), 1年生存率未显示明显差异($P > 0.05$).

结论: 应用精细肝脏外科理念治疗原发性肝癌安全有效, 相比传统的肝切除具有明显的优势.

关键词: 原发性肝癌; 精细肝脏外科; 精细肝切除

许戈良, 英卫东, 李建生, 马金良, 刘文斌, 葛勇胜, 余继海, 王伟. 应用精细肝脏外科理念治疗原发性肝癌53例. 世界华人消化杂志 2010; 18(17): 1824-1828
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1824.asp>

0 引言

随着肝移植特别是活体肝移植技术的出现以及腔镜外科的发展, 肝脏外科逐渐出现新的发展趋势-精细肝脏外科. 这一趋势的最大特点就是术前手术规划、术中精确解剖、精细止血和精心维护肝脏组织^[1]. 我们在国内较早的提出精细肝脏外科概念之后便将这一理念应用于临床. 现将2008-08/2009-11在我院肝脏外科行肝切除的125例原发性肝癌患者的临床资料报道如下, 以探讨应用精细肝脏外科理念治疗原发性肝癌的临床经验与价值.

1 材料和方法

1.1 材料 本组125例均为原发性肝癌, 其中采用精细肝切除(精细肝切除组)治疗53例, 采用传统肝切除(传统肝切除组)治疗72例. 精细肝切除组: 术前常规行肝脏超声检查, 排除潜在的微小转移灶, 术前螺旋CT行肝脏三维重建, 并对全肝体积、肿瘤体积、预切肝体积、剩余肝

体积等进行定量分析, 在计算机辅助下进行手术规划, 以选择合适的肝切除方案. 术前肝切除安全限量评估: 联合Child-Pugh分级、门静脉高压征象和ICGR15对伴有慢性肝病患者的安全肝切除限量做出预测^[2-4]. Child-Pugh B级、Child-Pugh A级伴有门静脉高压征象患者行亚肝段或不规则局部肝切除. 对于无门静脉高压征象的Child-Pugh A级患者, 如ICGR15 $<10\%$, 则肝切除后预留肝体积不少于40%-50%标准肝体积; 当 $10\% < \text{ICGR15} < 20\%$ 时, 预留肝体积不少于60%-70%标准肝体积; 当 $20\% < \text{ICGR15} < 30\%$ 时, 预留肝体积不少于70%-80%标准肝体积. 传统肝切除组: 术前行二维超声、CT或MRI等影像学检查, 不进行CT三维重建及计算机手术规划.

1.2 方法

1.2.1 精细肝切除组: 取平卧位, 常规取右侧肋缘下反“L”形切口. 术中采用B超探查肿瘤的位置、数目、大小以及肿瘤和血管的关系, 确定拟切除的肝叶或肝段. 常规预置第一肝门阻断带备用, 不阻断入肝血流, 部分患者在术中出血控制不满意时行第一肝门阻断. 解剖性半肝切除患者常规做选择性出、入肝血流阻断. 根据术前CT三维重建及对肝脏、肿瘤体积等指标的分析 and 手术规划, 术中结合B超, 以电刀做标记确定肝切除线. 离断肝实质以超声吸引刀(cavitron ultrasonic surgical aspirator, CUSA, SoNocA 300型, 德国Soring公司)为主, 少数患者配合采用钳夹法断肝. CUSA分离肝实质时, 逐渐由浅层向肝实质深部进行操作. 一般所遇见的细小血管和胆管由助手使用单极电凝止血, 术者继续手术. 1 mm以上管道即予丝线结扎, 遇到更大的管道则先将输出功率调低, 然后使刀头移动方向与管道方向平行, 将管道周围的肝实质游离, 显露出该管道并将其结扎剪断, 重复上述操作直至切下病肝. 钳夹法则采用蚊式血管钳, 先将肝组织夹碎, 直视下将充分显露的肝内血管、胆管逐一钳夹切断, 直至病肝切除. 肝断面不予缝合, 热盐水纱布垫敷3-5 min. 小针0号线“8”或“U”形缝合大的出血点及胆漏, 小的渗血处用电刀或氩气凝血器处理. 术后强调采取加速康复外科的理念与方法, 包括早期进食、早期活动、早停输液及减少各种不必要医疗措施.

1.2.2 传统肝切除组: 常规采用右侧肋缘下切口或反“L”形切口, 术中不采用B超探查肿瘤. 一般距离肿瘤边界1-2 cm用电刀预先标记肝切除

■研发前沿

精细肝脏外科理念是在最近三年被提出的外科新理念, 体现在肝切除的术前、术中和术后各个阶段, 正受到越来越多外科同行的关注.

■相关报道

初步的研究表明, 在肝占位性病变、肝内胆管结石、胆囊癌及Caroli病等的治疗以及活体肝移植中应用精细肝切除具有重要的临床价值.

■创新盘点

本文对采用精细肝切除与采用传统肝切除治疗病例在术前评估、手术规划及术中操作等方面的差别进行总结,并比较两组手术及随访资料,以评价应用精细肝脏外科理念治疗原发性肝癌的价值。

线,沿切除线以钳夹法断肝为主,少数患者采用CUSA或CUSA与钳夹法相结合断肝。钳夹法采用蚊式血管钳夹碎肝实质,直视下将充分显露的肝内血管、胆管逐一钳夹切断,直至病肝切除。CUSA使用方法同前。常规行Pringle入肝血流阻断,阻断时每隔15-20 min释放阻断带5 min再继续阻断。松解阻断带期间作相应的止血,包括电凝小出血点,缝扎断面出血。解剖性半肝切除患者常规做选择性出、入肝血流阻断。对于高龄、肝硬化严重、肝功能不全,估计对肝脏缺血耐受性较差,且估计肿瘤可以在不阻断入肝血流的情况下顺利切除者,谨慎地在不阻断入肝血流情况下行肝切除术。肝断面用肝针对拢缝合,于创面处放置腹腔引流。术后不采取加速康复外科的理念与方法。

1.2.3 指标观察与随访:手术时间、术中出血量、输血率、住院时间、住院费用、术前ALT及TB、术后第1、3、5 d ALT和TB、并发症发生率、切除标本的切缘(≥ 1 cm)癌残留率等指标。出院后6 mo内1 mo随访1次,6 mo后2-3 mo随访1次。随访采用门诊复查、电话和信件相结合的方式,随访时间截止至2009-12。随访内容包括一般情况、AFP、肝功能、腹部B超和胸片,必要时行CT或MRI等检查。

统计学处理 采用SPSS13.0软件包进行统计学分析,计量资料结果以mean \pm SD表示,计量资料间比较用两样本 t 检验,分类资料比较用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组病例基本临床资料 两组病例的年龄、性别、肝硬化情况、肿块直径、术后病理、术前生化指标、ICGR15及Child-Pugh分级等资料比较均无统计学意义,说明两组具有可比性(表1)。

2.2 手术方式与肝门阻断 精细肝切除组中解剖性肝叶或肝段切除45例,其中左、右半肝切除术18例,肝叶及联合肝段切除16例,肝段切除术11例。亚肝段或不规则局部肝切除8例。44例由CUSA断肝,9例行钳夹法或CUSA配合钳夹法断肝。7例(13.2%)行Pringle入肝血流阻断。传统肝切除组中解剖性肝叶或肝段切除10例,其中半肝切除2例,肝叶及肝段切除8例。另62例行不规则肝切除。12例使用CUSA或CUSA与钳夹法相结合断肝。57例(79.2%)行Pringle入肝血流阻断。精细肝切除组肝门阻断比例明显小于传统肝切除组($P<0.001$,表2)。

表 1 两组病例基本临床资料

	精细肝切除组 ($n=53$)	传统肝切除组 ($n=72$)	P 值
年龄(岁)	53.7 \pm 6.4	56.5 \pm 8.2	NS
男/女(n)	43/10	59/13	NS
肝硬化	42(79.2%)	61(84.7%)	NS
肿块直径(mm)	76.5 \pm 14.7	73.9 \pm 14.8	NS
HCC/ICC(n)	47/6	65/7	NS
术前ALT(U/L)	42.3 \pm 5.6	47.8 \pm 10.1	NS
术前TB(μ mol/L)	17.7 \pm 3.2	17.5 \pm 4.6	NS
术前ICGR15(%)	9.7 \pm 2.2	10.9 \pm 3.1	NS
Child分级			
A级	44(83.0%)	54(75.0%)	NS
B级	9(17.0%)	18(25.0%)	
HBsAg(+)或HCV(+)	43(81.1%)	60(83.3%)	NS

HCC: 肝细胞癌; ICC: 肝内胆管细胞癌; ICGR15: 胆管青绿15 min滞留率; ALT: 丙氨酸氨基转移酶; TB: 总胆红素; NS: 无意义。

2.3 术中情况 平均手术时间精细肝切除组为233.2 min \pm 90.2 min,传统肝切除组为138.4 min \pm 42.0 min,精细肝切除组时间比钳夹组长($P<0.01$)。术中出血量精细肝切除组为552.0 mL \pm 169.1 mL,传统肝切除组为469.1 mL \pm 127.5 mL,两组相比较无显著差异($P>0.05$)。精细肝切除组输血率为30.2%(16/53),传统肝切除组输血率为26.4%(19/72),两组相比无显著差异($P>0.05$)。精细肝切除组切缘癌残留率1.9%(1/53),明显低于传统肝切除组切缘癌残留率13.9%(10/72)($P<0.05$,表2)。

2.4 术后肝功能 两组病例术后常规检测第1、3、5 d ALT和TB,峰值在1-3 d出现,取其峰值比较。术后精细肝切除组ALT低于传统肝切除组(454.8 U/L \pm 127.4 U/L vs 714.6 U/L \pm 216.4 U/L, $P<0.05$)。术后精细肝切除组TB也低于传统肝切除组(25.3 μ mol/L \pm 8.0 μ mol/L vs 33.0 μ mol/L \pm 10.0 μ mol/L, $P<0.05$,表2)。

2.5 住院时间与住院花费 精细肝切除组与传统肝切除组平均住院时间分别是12.2 d \pm 2.1 d、14.7 d \pm 3.5 d,精细肝切除组住院时间明显较传统肝切除组短($P<0.05$);平均住院费用分别为23170.2元 \pm 6953.4元、20128.4元 \pm 5738.6元,两组比较无显著差异($P<0.05$,表2)。

2.6 术后并发症及随访 精细肝切除组术后5例(9.4%)发生并发症,传统肝切除组术后17例(23.6%)发生并发症,精细肝切除组术后并发症少于传统肝切除组($P<0.05$)。精细肝切除组无死

■应用要点

随着肝脏外科技术的提高及微创观念的变化,精细肝切除将为更多的同行所接受,并将带来良好的临床疗效。

表 2 两组病例手术及随访资料

	精细肝切除组 (n = 53)	传统肝切除组 (n = 72)	P值
手术时间(min)	233.2 ± 90.2	138.4 ± 42.0	0.003
住院时间(d)	12.2 ± 2.1	14.7 ± 3.5	0.029
住院费用(元)	23 170.2 ± 6 953.4	20 128.4 ± 5 738.6	0.411
肝门阻断	7(13.2%)	57(79.2%)	<0.001
出血量(mL)	552.0 ± 169.1	469.1 ± 127.5	0.376
输血率	30.2%(16/53)	26.4%(19/72)	0.640
术后ALT峰值 (U/L)	454.8 ± 127.4	714.6 ± 216.4	0.027
术后TB峰值 (μmol/L)	25.3 ± 8.0	33.0 ± 10.0	0.032
切缘癌残留率	1.9%(1/53)	13.9%(10/72)	0.046
肿瘤复发率	8.3%(1/12)	40.9%(9/22)	0.046
1年生存率	91.7%(11/12)	81.8%(18/22)	0.789

亡, 传统肝切除组1例死于术中大出血(表3)。两组共34例术后随访时间在1年以上, 其中精细肝切除组12例, 传统肝切除组22例。精细肝切除组有1例在1年内复发并死亡, 复发率为8.3%(1/12), 1年生存率为91.7%(11/12)。传统肝切除组有9例在1年内复发, 复发率为40.9%(9/22), 其中4例在1年内死亡, 1年生存率为81.8%(18/22)。精细肝切除组术后1年肿瘤复发率低于传统肝切除组 ($P < 0.05$), 而1年生存率无明显差别 ($P > 0.05$, 表2)。

3 讨论

原发性肝癌(简称肝癌)是我国常见的恶性肿瘤之一, 外科治疗是目前最有效的治疗方式。至今, 肝切除术后转移复发仍然是影响肝癌治疗效果及预后的主要因素之一。在我国, 约85%的肝癌患者合并有肝硬变或慢性肝炎, 肝切除的手术难度大、风险高。传统的肝切除方法在肝癌的手术安全性和效果方面虽然取得了不俗的成绩, 然而如何使肝切除手术更加安全和有效仍然是一个有待完善且具有挑战性的问题。随着生物医学、人文医学和循证医学的兴起以及科技的进步, 肝切除正从传统模式逐渐进入发展中的“精准阶段”^[1,5]。

2007-07, 范上达院士在国际上率先介绍了以肝中静脉为标志进行精确肝切除的新技术^[6]。在2008-04举行的中日肝胆胰疾病研讨会上, 董家鸿教授又提出“精准肝切除”的概念^[7]。精细肝切除概念的提出正受到越来越多外科同行的关注。最近, 董家鸿教授与姜洪池教授又对精准肝

表 3 术后并发症发生率及死亡情况

结果	精细肝切除组 (n = 53)	传统肝切除组 (n = 72)	P值
并发症发生率	9.4%(5/53)	23.6%(17/72)	0.04
肺部感染	2	4	
胸腔积液	4	11	
切口感染	1	2	
膈下脓肿	0	1	
上消化道出血	0	1	
肝功能衰竭	1	3	
泌尿道感染	1	2	
胆漏	0	1	
术中死亡	0	1	

切除的产生背景、理论基础、技术支撑、外科策略、手术规划、重要意义等进行详细阐述^[5,8,9], 使人们对精细肝切除的认识进入到一个更高的层次。精确肝切除、精细肝切除与精准肝切除是对同一概念的不同称谓。迄今, 关于精细肝切除的名称与内涵还没有完全一致的意见^[10]。

精细外科理念在肝脏外科的演绎突出体现为精细肝切除, 精细肝切除是针对不同病情的个体病例, 在高精度和高效率标准的要求下, 一系列现代科学理论和技术与传统外科方法在肝脏外科中的综合优化应用。其理念和技术涵盖以手术为核心内容的外科治疗全过程, 包括术前评估、手术规划、术中操作和术后管理^[5,8]。

术前精确的评估为肝癌病灶可切除性的判断、手术适应证的选择和手术方案的设计提供了重要依据。我们利用相关影像技术获取肿瘤大小、部位、与血管关系、血管侵犯程度以及卫星灶的情况, 并进行三维重建和模拟肝切除, 优化肝切除手术方案, 使术者术中能从容应对所遇到的复杂解剖关系及血管变异等情况。我们将Child-Pugh分级与ICGR15相结合术前对肝脏储备功能进行评估, 并综合影像学结果进行分析, 确定每个患者适当的肝切除范围。我们体会到, 术前精确可靠的评估和手术规划保证了肝切除术的精确性、安全性和有效性。精细肝切除组手术过程与方式同术前规划基本一致, 无1例出现大出血; 传统肝切除组术中1例发生大出血, 经抢救无效死亡, 显示出传统肝切除具有一定的粗糙性和盲目性。

肝癌较易侵犯所在肝段门静脉分支并在肝段内转移扩散, 解剖性肝段切除范围能够包括可能已经被侵犯的门静脉分支。因此, 在精细肝

■名词解释

精细肝切除: 针对不同病情的个体病例, 在高精度和高效率标准的要求下, 一系列现代科学理论和技术与传统外科方法在肝脏外科中的综合优化应用。其理念和技术涵盖以手术为核心内容的外科治疗全过程, 包括术前评估、手术规划、术中操作和术后管理。

■同行评价

本研究选题实用,对临床医师有很好的参考价值。

切除组我们选择以解剖性肝段/叶切除为主,共行解剖性肝叶/肝段切除45例。此法不仅符合肝癌根治原则,也有助于减少切肝时出血,减少残肝断面并发症发生率。在精细肝切除组,我们首选CUSA离断肝实质,结合电凝、结扎等处理显露的管道,少数患者配合采用钳夹法断肝,尤其在肝门部和重要管道的行程附近均采用CUSA分离肝实质。本组显示CUSA切肝解剖精细、视野清晰、安全性高,但费时较多,尤其在肝硬化的患者。因此,精细肝切除组手术时间明显较传统肝切除组长。

研究表明,肝癌肝切除术中出血和输血与预后明显相关,出血和输血可增加肿瘤复发的频率^[11]。减少和控制术中出血是精细肝切除首要任务和基本技术问题^[5]。我们在行精细肝切除时仅预置肝门阻断带而不行Pringle入肝血流阻断,只在7例(13.2%)患者术中因出血较多而改行Pringle入肝血流阻断以确保手术的安全。结果显示,精细肝切除组术中出血量与输血率虽较传统肝切除组稍高,但并无统计学差别。

应用精细肝脏外科理念治疗肝癌可获得精确的肝切面,不仅使得肝切缘满足要求,且避免了不必要的肝组织及血管、胆管损伤,最大程度保护有功能的肝组织。本组选择的肝切缘均在1 cm以上,显示精细肝切除较传统肝切除标本切缘癌残留率更低。随访结果中,精细肝切除组1年肿瘤复发率较低,表明精细肝切除在肝癌的根治性方面更具有优势。不过,可能由于随访时间较短,本研究1年生存率未显示出明显提高。精细肝切除在肝癌根治性方面的远期疗效还有待进一步随访。精细肝切除组术后ALT、TB均较传统肝切除组低,术后并发症发生率较低,住

院时间短,表明尽管手术时间延长,但精细肝切除组的残余肝组织受损程度仍较传统肝切除组轻。两组平均住院费用未显示出明显差别,表明精细肝切除并未增加患者的经济负担。

应用精细肝脏外科理念治疗原发性肝癌,体现了以最小创伤侵袭和最大肝脏保护获取最佳康复效果的微创化外科准则,是未来肝脏外科的发展趋势和努力方向。

4 参考文献

- 1 许戈良. 精细肝脏外科的发展. 国际外科学杂志 2008; 35: 73-75
- 2 Clavien PA, Petrowsky H, DeOliveira ML, Graf R. Strategies for safer liver surgery and partial liver transplantation. *N Engl J Med* 2007; 356: 1545-1559
- 3 杨洁, 李建生, 葵卫东, 许戈良, 马金良, 余继海. 吗啡青绿排泄实验评估肝储备功能的临床研究. 实用肝脏病杂志 2009; 12: 38-40
- 4 Makuuchi M, Kosuge T, Takayama T, Yamazaki S, Kakazu T, Miyagawa S, Kawasaki S. Surgery for small liver cancers. *Semin Surg Oncol* 1993; 9: 298-304
- 5 姜洪池, 孙备, 王刚. 浅谈微创观念指导下的精准肝切除. 中华外科杂志 2009; 47: 1606-1609
- 6 Fan ST. Precise hepatectomy guided by the middle hepatic vein. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2007; 6: 430-434
- 7 王继荣, 刘泉. 董家鸿教授倡导“精准肝切除理念”. 中国医药指南 2008; 6: 46
- 8 董家鸿, 黄志强. 精准肝切除-21世纪肝脏外科新理念. 中华外科杂志 2009; 47: 1601-1605
- 9 董家鸿, 杨世忠, 段伟东, 纪文斌, 蔡守旺, 王敬, 史宪杰, 姜凯, 夏红天, 何蕾, 张文智, 黄晓强, 黄志强. 精准肝脏外科技术在复杂肝脏占位性病变切除中的应用. 中华外科杂志 2009; 47: 1610-1615
- 10 徐庆祥, 丁义涛. 精确肝切除的临床应用. 中华肝胆外科杂志 2009; 15: 166-169
- 11 Nagino M, Kamiya J, Arai T, Nishio H, Ebata T, Nimura Y. "Anatomic" right hepatic trisectionectomy (extended right hepatectomy) with caudate lobectomy for hilar cholangiocarcinoma. *Ann Surg* 2006; 243: 28-32

编辑 曹丽鸥 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

汤姆森-路透公布 2009 年 *WJG* 影响因子 2.092

本刊讯 根据2010-06-18汤姆森-路透发布的2009年度期刊引证报告, *World Journal of Gastroenterology*(*WJG*)(中文刊名《世界胃肠病学杂志》)影响因子为2.092, 论文总被引次数12 740次, 特征因子0.05832, 分别位于65种国际胃肠病学期刊的第33位, 8位和5位。

与2008年的影响因子(2.081), 总被引次数(10 822次), 特征因子(0.05006)相比, *WJG*在2009年国际胃肠病学期刊中的排名分别增加了7个百分点, 4个百分点和3个百分点。(WJG编辑部主任: 程剑侠 2010-06-18)

标准残肝体积对肝脏储备功能的评价

陈熙, 杜正贵, 李波, 魏永刚, 严律南, 文天夫

陈熙, 杜正贵, 李波, 魏永刚, 严律南, 文天夫, 四川大学华西附属第一医院肝脏及血管外科 四川省成都市 610041

作者贡献分布: 此课题由李波设计; 研究过程主要由陈熙与杜正贵共同完成; 论文写作由陈熙完成; 魏永刚、严律南及文天夫进行论文修改。

通讯作者: 李波, 610041, 四川省成都市, 四川大学华西附属第一医院肝脏及血管外科. cdlibo@medmail.com.cn

电话: 028-85422469

收稿日期: 2010-03-05 修回日期: 2010-04-29

接受日期: 2010-05-10 在线出版日期: 2010-06-18

Value of measurement of standard remnant liver volume in the evaluation of liver reserve function

Xi Chen, Zheng-Gui Du, Bo Li, Yong-Gang Wei, Lv-Nan Yan, Tian-Fu Wen

Xi Chen, Zheng-Gui Du, Bo Li, Yong-Gang Wei, Lv-Nan Yan, Tian-Fu Wen, Department of Hepatic and Vascular Surgery, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Correspondence to: Bo Li, Department of Hepatic and Vascular Surgery, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. cdlibo@medmail.com.cn

Received: 2010-03-05 Revised: 2010-04-29

Accepted: 2010-05-10 Published online: 2010-06-18

Abstract

AIM: To investigate the relationship between the size of standard remnant liver volume (SRLV) and liver insufficiency after liver resection.

METHODS: Seventy-five patients with hepatocellular carcinoma who underwent liver resection from March 2007 to February 2008 at West China Hospital were included in our study. All the patients received CT examination to estimate the total liver volume before operation. The volume of resected liver during the operation was estimated by drainage. The standard remnant liver volume was expressed as the difference between the total liver volume and the resected liver volume divided by the body surface area of patients. The patients were divided into two groups based on the level of liver function compensation after hepatectomy to compare the differences in standard remnant liver volume. Then the patients were divided into two groups

according to standard remnant liver volume to compare the incidence of moderate and severe liver insufficiency.

RESULTS: Mild, moderate and severe liver insufficiency was noted in 60, 12 and 3 patients, respectively. The average standard remnant liver volume was significantly higher in patients with mild liver insufficiency than in those with moderate or severe liver insufficiency ($545 \text{ mL/m}^2 \pm 93 \text{ mL/m}^2$ vs $398 \text{ mL/m}^2 \pm 82 \text{ mL/m}^2$). According to the standard remnant liver volume, the patients were divided into two groups: group A ($\leq 416 \text{ mL/m}^2$) and group B ($> 416 \text{ mL/m}^2$). The incidence of moderate and severe liver insufficiency was significantly higher in the group A than in the group B (68.8% vs 6.8%).

CONCLUSION: Standard remnant liver volume (SRLV) is an effective parameter to evaluate hepatic function reserve in patients undergoing hepatectomy and can be used to predict and avoid liver dysfunction after hepatectomy.

Key Words: Standard remnant liver volume; Liver resection; Liver insufficiency

Chen X, Du ZG, Li B, Wei YG, Yan LN, Wen TF. Value of measurement of standard remnant liver volume in the evaluation of liver reserve function. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(17): 1829-1833

摘要

目的: 探讨肝脏切除术后标准残肝体积 (standard remnant liver volume, SRLV) 大小与患者术后肝功能代偿不全的关系。

方法: 对我院2007-03/2008-02收治的75例因肝癌行肝切除术的患者进行研究, 术前采用CT测定患者的全肝体积, 术中被切除的肝脏组织的体积由排水法测定, 全肝体积与术中切除肝脏组织体积之差除以患者的体表面积即为标准残肝体积。根据术后患者肝功能代偿状况进行分组, 比较不同组间标准残肝体积均数的差异; 并根据标准残肝体积再分组, 比较组间术后发生肝功能中、重度代偿不全发生率的差异。

■背景资料

原发性肝癌的首选治疗方案是外科手术切除, 肝切除量的多少与术后患者发生肝功能衰竭有关, 近年来随着各种影像检查技术飞速发展, 螺旋CT, 磁共振(MR), 超声不断更新换代, 为临床提供了更好的测量肝脏残余体积的手段。

■同行评议者

陈光, 教授, 吉林大学第一医院消化器官外科

■研发前沿

利用影像学手段测量出肝切除术后残余肝脏的体积,并在残余肝脏体积与患者术后发生肝功能不全之间找到联系为治疗方案的选择及预测术后发生肝功能不全,成为当今国内外学者研究热点。

结果: 术后肝功能轻度代偿不全组60例,中度代偿不全组12例,重度代偿不全组3例(因重度代偿不全组例数过少,纳入中度代偿不全组进行统计分析)。术后肝功能轻度代偿不全组标准残肝体积均值为 $545 \pm 93 \text{ mL/m}^2$,而术后肝功能中、重度代偿不全组仅为 $398 \pm 82 \text{ mL/m}^2$,两者间比较有统计学差异($P < 0.001$),术后发生肝功能中、重度代偿不全患者标准残肝体积较小。按标准残肝体积 416 mL/m^2 为界将所有患者分为两组, A组 $\text{SRLV} \leq 416 \text{ mL/m}^2$, 而B组 $\text{SRLV} > 416 \text{ mL/m}^2$, 两组术后肝功能中、重度代偿不全发生率分别为68.8%和6.8%, 组间差异有显著性意义($P < 0.001$), $\text{SRLV} \leq 416 \text{ mL/m}^2$ 术后肝功能中、重度代偿不全发生率较高。

结论: 标准残肝体积是评估肝切除术患者肝脏储备功能的有效且简便的方法,对预测患者术后发生肝功能损害的程度及避免患者术后发生肝功能衰竭有重要的临床指导作用。

关键词: 标准残肝体积; 肝切除术; 肝功不全

陈熙, 杜正贵, 李波, 魏永刚, 严律南, 文天夫. 标准残肝体积对肝脏储备功能的评价. 世界华人消化杂志 2010; 18(17): 1829-1833

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1829.asp>

0 引言

随着CT成像设备、扫描和重建技术的不断进步,精确测量肝脏体积以及预计残留肝体积已成为可能。最开初肝脏体积测定用于活体肝移植供体术前评估,目前已可以通过多排螺旋CT对活体肝移植供体肝脏进行术前CT体积测量,通过公式较为精确的计算出对应的移植肝质量,为供体的选择和制定恰当的手术方案提供重要依据^[1],随之这种技术被广泛用于评价肝叶切除时患者的耐受性,因为肝体积大小可以反映肝脏实质细胞容量的变化,从而与肝功能储备有关。在国内外,肝脏体积已被视为与Child-Pugh分级同等重要的评价患者肝脏储备功能指标^[2,3]。肝实质切除率与术后肝功能不全的关系已有文献报道,肝切除量的多少与术后肝功能衰竭有关^[4]。然而由于不同个体间身高体重存在较明显的差异,相同的残肝体积在不同的个体表现出的肝脏储备功能亦有所不同,而以体表面积标准化的残肝体积缩小了个体间的差异,使个体间的比较成为可能。因此,本研究旨在采用标准残肝体积对四川大学华西医院收治的75例因肝癌行肝切除术患者的肝脏储备功能进行评价。

1 材料和方法

1.1 材料 选取四川大学华西医院普外科2007-03/2008-02因肝癌行肝切除术的患者75例,其中男66例,女9例,年龄31-62(平均50.4)岁。肝脏切除术的手术方式取决于肿瘤位置和肿瘤侵犯的范围,以及其他临床、生化指标如ICG试验、血总胆红素、腹水等。手术方式:肿瘤局部切除23例,左半肝切除6例,左外叶切除12例,右半肝切除18例,右前叶切除8例,右后叶切除7例,尾状叶切除1例。所有患者术后标本均行病理检查证实为肝细胞肝癌,并且发现59例患者术后合并结节性肝硬化,肝硬化合并率为78.7%。纳入标准:接受术前吲哚菁绿排泄试验和肝癌切除术的原发性肝细胞癌患者。排除标准:(1)胆管细胞癌或肝脏转移癌;(2)梗阻性黄疸;(3)未接受肝癌切除手术治疗;(4)术前接受放化疗或介入治疗者;(5)术前未接受吲哚菁绿排泄试验。

1.2 方法

1.2.1 术前肝功能检查: 所有患者术前均行常规肝功能检查,依据检查结果进行Child-Pugh评分并分级。

1.2.2 测定患者体质量, 身高, 计算患者体表面积: 计算公式根据参考文献^[5]为: 体表面积(m^2) = $0.0061 \times \text{身高}(\text{cm}) + 0.0128 \times \text{体质量}(\text{kg}) - 0.1529$ 。

1.2.3 CT检查及术前肝脏体积测定: 所有患者均于术前行CT检查,并测定其术前肝脏总体积。

1.2.4 术中切除肝脏组织体积测量: 术中切除的肝脏组织包括肿瘤和肿瘤周围的肝脏组织,可采用排水法测量其总体积并记录,精确度达到10 mL。同时计算患者残留肝体积(患者术前CT测得全肝体积与术中切除肝脏组织体积之差),并与计算所得患者体表面积相除而得到患者的标准残肝体积。标准残肝体积计算公式为: 标准残肝体积 = 残肝体积/患者体表面积 = (CT测全肝体积-实测肝切除体积)/患者体表面积。

1.2.5 术后肝功能恢复判断标准: 肝功能损害判断标准参照文献^[6]。

统计学处理 试验数据中的计量资料均以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示,两组间均数比较采用 t 检验,如数据不呈正态分布或方差不齐,则采用秩和检验;计数资料率的比较采用 χ^2 检验;采用相关检验处理相关分析,检验水准 $P < 0.05$ 。所有统计分析均用SPSS13.0统计软件与MedCalc 7.5统计软件完成。

2 结果

2.1 术后不同肝功能代偿组间全肝体积和标准

■相关报道

Wigmore等采用CT三维成像技术不仅测量出肝脏解剖学体积,而且还计算出实质肝脏切除率及剩余肝脏体积,后两者均为正确估计肝切除量提供了一种有效的方法。Shoup等利用三维体积CT在术前测量患者的全肝体积以及肿瘤体积进而得到残肝体积,并将残肝体积与术后结果进行相关性分析后,发现约90%的术后残肝体积小于25%全肝体积的患者都发生了肝功能不全。

表 1 不同肝功能代偿组间各项体积指标 (mean ± SD)

	代偿不全组		P值
	轻度	中、重度	
术前全肝体积	1 269 ± 266	1 427 ± 379	0.063
标准残肝体积	545 ± 93	398 ± 82	<0.010

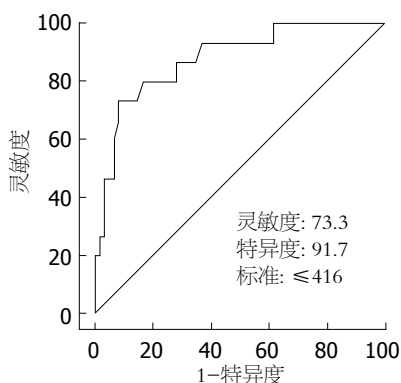


图 1 标准残肝体积与术后肝功能不全的ROC相关性曲线。

残肝体积的比较 行肝脏切除术患者术后肝功能轻度代偿不全组、中度肝功能代偿不全组、重度肝功能代偿不全组分别为60例、12例、3例。因重度肝功能代偿不全组例数过少，并入中度肝功能代偿不全组进行统计比较。轻度代偿不全组($n = 60$)与中、重度肝功能代偿不全组($n = 15$), 两组间各项指标均数比较, 术前全肝体积测定无统计学差异, 而标准残肝体积却有统计学差异, 在中、重度代偿不全组患者切除体积大于轻度代偿不全组, 而术后残肝体积和标准残肝体积均小于轻度代偿不全组(表1)。

2.2 不同组间肝功能不全发生率结果 由MedCalc 7.5统计软件的受试者操作曲线分析计算出患者术后发生中、重度肝功能代偿不全时的标准残肝体积的临界值为416 mL/m²(图1), 按此标准将所有患者分为两组, A组(SRLV 416 mL/m²)共有16例, 其中5例术后表现为肝功能轻度代偿不全, 11例术后发生中、重度代偿不全, 中、重度代偿不全发生率为68.8%。B组(SRLV>416 mL/m²)共有59例, 其中55例术后表现为肝功能轻度代偿不全, 4例术后发生中、重度代偿不全, 中、重度代偿不全发生率为6.8%。两组间比较有统计学差异($P<0.001$), 标准残肝体积 416 mL/m²组术后肝功能中、重度代偿不全发生率较高(表2, 图2)。

3 讨论

一般情况下, 肝脏体积与肝脏的储备功能具有

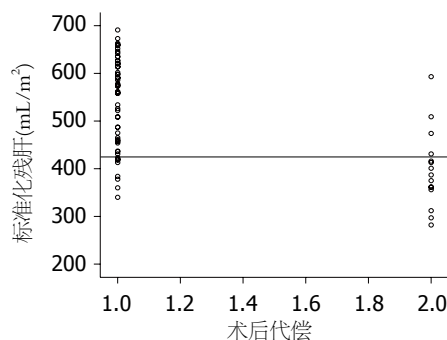


图 2 不同标准残肝体积肝功能不全发生情况散点图。1.0: 肝功能轻度代偿不全组; 2.0: 肝功能中、重度代偿不全组。

很强的相关性, 可以用于评估肝脏患者手术风险和指导选择治疗方式^[2,6], 在国外已被视为与Child分级同等重要的评价肝脏储备功能的指标^[3]。近年来随着各种影像检查技术飞速发展, 螺旋CT, 磁共振(MR), 超声不断更新换代, 为临床提供了更好的测量肝脏体积的手段。Wigmore等^[7]采用CT三维成像技术不仅测量出肝脏解剖学体积, 而且还计算出实质肝脏切除率及剩余肝脏体积, 后两者均为正确估计肝切除量提供了一种有效的方法。

肝脏切除术后发生肝功能代偿不全甚至肝功能衰竭主要与术后残肝体积大小相关。肝切除术前通过测定全肝体积并预计术后残肝体积对患者手术的安全性和切除范围的估计有重要意义。Gruttadauria等^[8]通过由公式求得的全肝体积减去根据肝段切除数量估计的手术切除量再减去肝脏脂肪变组织的体积, 计算得到有效肝脏组织体积, 他发现有效肝脏组织体积与术后早期死亡率及并发症率有密切关系, 从而证明了肝脏储备功能与有效肝脏组织体积间的联系, 对决定肝脏切除范围起到了一定指导作用。目前临床上可通过多种软件重建肝脏的三维模型, 不仅可直观地显示肿块在肝脏中的位置以及和各主要血管胆道的关系, 而且可通过虚拟切除精确地估计残肝体积, 已成为肝脏外科手术不可缺少的工具^[7,9]。

国外对于残余肝体积的研究大多排除了肝炎肝硬化患者, 手术切除范围较广, 得出的结论为残肝体积 25%的患者中, 术后严重并发症增加^[10]。Schindl等^[11]得出的残肝分数(relative residual volume, %RLV)临界值为26.6%。Shoup等^[12]利用三维体积CT在术前测量患者的全肝体积以及肿瘤体积进而得到残肝体积, 并将残肝体积与术后结果进行相关性分析后, 发现约90%

■创新盘点

由于我国与国外肝癌发病原因不同, 造成我国肝癌患者大多伴有不同程度的肝硬化, 而肝硬化患者相同的肝体积其肝脏储备功能差于无肝硬化患者的, 故不能简单的套用国外关于残余肝体积临界值的研究结果。本研究将肝硬化这一因素考虑其中, 更符合我国实际情况。

■应用要点

标准残肝体积是评估肝切除术患者肝脏储备功能的有效且简便的方法,对患者治疗方案的选择及预测术后发生肝功能损害的程度,避免发生肝功能衰竭有重要的临床指导作用。

表 2 根据标准残肝体积进行分组组间肝功能

分组	轻度代偿不全组	中、重度代偿不全组	中、重度代偿不全发生率(%)	总计
A组($\leq 416 \text{ mL/m}^2$)	5	11	68.8	16
B组($> 416 \text{ mL/m}^2$)	55	4	6.8 ^b	59
总计	60	15	20.0	75

^b $P < 0.001$ vs A组。

的术后残肝体积小于25%全肝体积的患者都发生了肝功能不全。国内潘华峰等^[13]用CT检查测量肝脏体积和残肝体积来评估肝切除的安全性,并与Child肝功能分级进行对比,认为CT检查可更有效的预测肝癌手术切除的安全性。

Shirabe等^[4]观察了80例肝切除患者,发现标准残肝体积(standard remnant liver volume, SRLV)是术后肝衰竭的重要因素,标准残肝体积 $< 250 \text{ mL/m}^2$ 者术后肝衰竭发生率为38%(7/20),而 $> 250 \text{ mL/m}^2$ 者肝衰竭发生率为0。在我国,肝癌伴肝硬化率高,我国1949-1979年500例尸检肝癌的肝硬化合并率为84.6%^[14],第二军医大学报告1 102例手术切除的肝癌中,合并肝硬化者占85.2%^[15],伴有肝硬化时肝脏的再生能力明显降低,所以我们不能简单的利用国外关于标准残肝体积临界值的研究结果。

本研究发现术后肝功能轻度代偿不全组与中、重度代偿不全组术前经CT测量的全肝体积组间比较差异无显著性意义($P > 0.05$)。而术中切除体积、术后残肝体积以及标准残肝体积组间比较均有显著性差异($P < 0.05$),在中、重度代偿不全组患者术中切除体积大于轻度代偿不全组,而术后残肝体积和标准残肝体积均小于轻度代偿不全组,这与国外的研究结果一致,表明切除体积、术后残肝体积以及标准残肝体积均是影响术后肝功能代偿的因素。然而术中切除体积受肿瘤大小影响较大,术后残肝体积因未考虑个体间的差异,此二者均不及SRLV理想。

本研究中由MedCalc 7.5统计软件的受试者操作曲线分析计算出术后发生中、重度肝功能代偿不全时标准残肝体积的临界值为 416 mL/m^2 ,以此为界进行分组,发现组间中、重度肝功能代偿不全发生率差有显著性差异($P < 0.001$),标准残肝体积 416 mL/m^2 术后肝功能中、重度代偿不全发生率较高。该临界值大于Shirabe所确定的 250 mL/m^2 主要有以下两方面原因:一是研究确定的标准不一样,Shirabe是以术后是否发生肝衰为研究标准,本研究则是以术后是否发生

肝功能中、重度代偿不全为研究标准;另一个原因是在我国大部分肝癌患者均伴有明显肝硬化,而肝硬化患者相同的肝体积其肝脏储备功能差于无肝硬化患者。

我们可于术前通过CT三维重建测量患者的全肝体积,通过虚拟切除精确地估计切除体积和残肝体积,从而计算出患者术后标准残肝体积,若此标准残肝体积 416 mL/m^2 ,则患者术后发生肝功能中、重度代偿不全的风险较大,手术方案需慎重考虑,以保证患者安全。由此我们认为标准残肝体积是评估肝切除术患者肝脏储备功能的有效且简便的方法,对预测患者术后发生肝功能损害的程度及避免患者术后发生肝功能衰竭有重要的临床指导作用。

4 参考文献

- 袁元, 宋彬, 吴蕊, 徐隽, 李迎春. 活体肝移植供体术前肝脏CT测量体积与术中脏质量的关系研究. 四川大学学报(医学版) 2007; 38: 526-528
- 黎一鸣, 吕凡, 吉鸿, 白芝兰, 雷团结. 肝体积变化与病肝储备功能的关系研究. 中华普通外科杂志 2003; 18: 79-81
- Schiano TD, Bodian C, Schwartz ME, Glajchen N, Min AD. Accuracy and significance of computed tomographic scan assessment of hepatic volume in patients undergoing liver transplantation. *Transplantation* 2000; 69: 545-550
- Shirabe K, Shimada M, Gion T, Hasegawa H, Takenaka K, Utsunomiya T, Sugimachi K. Postoperative liver failure after major hepatic resection for hepatocellular carcinoma in the modern era with special reference to remnant liver volume. *J Am Coll Surg* 1999; 188: 304-309
- 姚泰. 生理学. 第6版. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 204
- 潘华峰, 陈孝平, 邹明丽, 周义成. CT检查预测肝癌手术切除安全性的价值. 肝胆外科杂志 2000; 8: 185-188
- Wigmore SJ, Redhead DN, Yan XJ, Casey J, Madhavan K, Dejong CH, Currie EJ, Garden OJ. Virtual hepatic resection using three-dimensional reconstruction of helical computed tomography angioportograms. *Ann Surg* 2001; 233: 221-226
- Gruttadauria S, Vasta F, Minervini MI, Piazza T, Arcadipane A, Marcos A, Gridelli B. Significance of the effective remnant liver volume in major hepatectomies. *Am Surg* 2005; 71: 235-240
- Rau HG, Schauer R, Helmberger T, Holzknecht N, von Rückmann B, Meyer L, Buttler E, Kessler M,

- Zahlmann G, Schuhmann D, Schildberg FW. Impact of virtual reality imaging on hepatic liver tumor resection: calculation of risk. *Langenbecks Arch Surg* 2000; 385: 162-170
- 10 Vauthey JN, Chaoui A, Do KA, Bilimoria MM, Fenstermacher MJ, Charnsangavej C, Hicks M, Alsasser G, Lauwers G, Hawkins IF, Caridi J. Standardized measurement of the future liver remnant prior to extended liver resection: methodology and clinical associations. *Surgery* 2000; 127: 512-519
- 11 Schindl MJ, Redhead DN, Fearon KC, Garden OJ, Wigmore SJ. The value of residual liver volume as a predictor of hepatic dysfunction and infection after major liver resection. *Gut* 2005; 54: 289-296
- 12 Shoup M, Gonen M, D'Angelica M, Jarnagin WR, DeMatteo RP, Schwartz LH, Tuorto S, Blumgart LH, Fong Y. Volumetric analysis predicts hepatic dysfunction in patients undergoing major liver resection. *J Gastrointest Surg* 2003; 7: 325-330
- 13 潘华锋, 陈孝平, 李开艳, 田芳, 周义成. CT和彩色多普勒检查预测肝癌手术切除安全性的价值. *中华实验外科杂志* 2000; 17: 221-222
- 14 陈孝平, 陈汉. 肝胆外科学. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 451
- 15 吴孟超, 陈汉, 张晓华, 姚晓平, 杨甲梅. 外科治疗原发性肝癌1102例. *第二军医大学学报* 1993; 14: 201-204

■同行评价

本研究设计合理, 论据充分, 有临床实际意义.

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

本刊讯 本刊正文标题层次为 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空 1 格写标题; 2 级标题后空 1 格接正文. 以下逐条陈述: (1) 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系. (2) 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可. (3) 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论. (4) 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾. 图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图 1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: … 曲线图可按 ●、○、■、□、▲、△ 顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$; 第 3 套为^e $P < 0.05$, ^f $P < 0.01$. P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P < 0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个数、小数点、±、- 应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达. 黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小 $7.5\text{ cm} \times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴. (5) 志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

壶腹周围憩室与内镜后复发性胆管结石的关系

丁国乾, 秦鸣放, 王震宇, 邹富胜

■背景资料

EST后胆管结石的复发率是4%-24%, 胆管结石的复发是内镜后一个重要的并发症, 反复发作给患者带来了巨大痛苦及经济负担, 因此明确结石复发与壶腹周围憩室的关系十分必要。

丁国乾, 天津医科大学研究生院 天津市 300100
秦鸣放, 王震宇, 邹富胜, 天津市南开医院微创外科 天津市 300100
作者贡献分布: 此文资料总结及论文撰写由丁国乾完成; 内镜操作由秦鸣放、王震宇及邹富胜完成; 秦鸣放负责全文理论指导。
通讯作者: 丁国乾, 300100, 天津市, 天津医科大学研究生院。
dingguoqian@126.com
电话: 022-27435268
收稿日期: 2010-02-24 修回日期: 2010-04-17
接受日期: 2010-04-20 在线出版日期: 2010-06-18

Relationship between perampullary diverticulum and recurrent bile duct stones after endoscopic surgery

Guo-Qian Ding, Ming-Fang Qin, Zhen-Yu Wang, Fu-Sheng Zou

Guo-Qian Ding, Postgraduate School of Tianjin Medical University, Tianjin 300100, China
Ming-Fang Qin, Zhen-Yu Wang, Fu-Sheng Zou, Department of Minimally Invasive Surgery, Tianjin Nankai Hospital, Tianjin 300100, China
Correspondence to: Guo-Qian Ding, Postgraduate School of Tianjin Medical University, Tianjin 300100, China. dingguoqian@126.com
Received: 2010-02-24 Revised: 2010-04-17
Accepted: 2010-04-20 Published online: 2010-06-18

Abstract

AIM: To study the relationship between perampullary diverticulum and recurrent bile duct stones after endoscopic surgery.

METHODS: One hundred and eighty-five patients with perampullary diverticula were divided into two groups: 96 with peripapillary diverticula and 89 with direct opening of biliary duct into the diverticula. Ninety-five patients with non-diverticular disease were used as controls. After 8 years of follow-up, the recurrence rates of bile duct stones were compared among the three groups of patients.

RESULTS: The recurrence rates of bile duct stones at 8 years after endoscopic surgery were 26.32% in patients with perampullary diverticula, 34.83% in patients with direct opening of biliary duct into the diverticula, and 9.47% in

controls. Significant differences were noted in the recurrence rates of bile duct stones between controls and the two groups of patients with perampullary diverticula ($\chi^2 = 8.78, 17.15, P < 0.05$) though there was no statistical difference between the latter two groups ($\chi^2 = 1.71, P > 0.05$).

CONCLUSION: Perampullary diverticula is closely related to the recurrence of bile duct stones after endoscopic surgery. There is no obvious relationship between the location of diverticula and the recurrence of bile duct stones. Perampullary diverticulum may be an important risk factor for recurrent bile duct stones.

Key Words: Perampullary diverticula; Duodenoscope; Recurrent bile duct stones; Endoscopic sphincterotomy

Ding GQ, Qin MF, Wang ZY, Zou FS. Relationship between perampullary diverticulum and recurrent bile duct stones after endoscopic surgery. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(17): 1834-1837

摘要

目的: 探讨壶腹周围憩室与内镜后复发性胆管结石的关系。

方法: 选择1998-06/2002-01因胆管结石(此前均行腹腔镜胆囊切除)行十二指肠乳头括约肌切开(endoscopic sphincterotomy, EST)的患者1236例, 将其中内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)确诊的185例壶腹周围憩室患者根据临床分型分为乳头旁型($n = 96$)和胆胰管直接开口于憩室型($n = 89$), 随机抽取95例无憩室患者设为对照组, 通过8年后随访比较胆管结石复发情况。

结果: 十二指肠乳头旁憩室组8年胆管结石复发率26.32%, 直接开口于憩室组是34.83%, 对照组是9.47%, 经卡方检验乳头旁憩室组与对照组差异显著($\chi^2 = 8.78, P < 0.05$), 直接开口于憩室组与对照组差异显著($\chi^2 = 17.15, P < 0.05$), 而乳头旁憩室组与直接开口组无统计学意义($\chi^2 = 1.71, P > 0.05$)。

■同行评议者

陈进宏, 副主任医师, 复旦大学附属华山医院外科

结论: 壶腹周围憩室与内镜后胆管结石的复发关系密切, 而于憩室的位置无明显关系, 壶腹周围憩室可能是复发性胆管结石的一个重要风险因素。

关键词: 壶腹周围憩室; 十二指肠镜; 复发性胆管结石; 十二指肠乳头括约肌切开术

丁国乾, 秦鸣放, 王震宇, 邹富胜. 壶腹周围憩室与内镜后复发性胆管结石的关系. 世界华人消化杂志 2010; 18(17): 1834-1837

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1834.asp>

0 引言

壶腹周围憩室(peripapillary diverticula, PAD)也称十二指肠乳头周围憩室, 是起源于壶腹邻近或包括Vaters壶腹的十二指肠黏膜向腔外的突出。以往对本病的认识不深, 随着影像学技术, 特别是近几年十二指肠镜技术的迅速发展, 以及老龄人口的增多, 生活节奏的加快, 饮食习惯的改变, 十二指肠憩室的发病率呈上升趋势^[1], 不同的检查手段, 发现率各异, 一般为2%-22%^[2], PAD的发生与胆道系统疾病关系再度引起重视。现结合我院资料就PAD与内镜后复发性胆管结石两者关系进行探讨, 报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选择1998-06/2002-01我院内镜中心患者1236例(此前均行腹腔镜胆囊切除), 将内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)确诊为壶腹周围憩室的185例(14.97%, 185/1 236)作为研究组, 根据临床分型将其分为乳头旁组96例和胆胰管直接开口于憩室组89例, 并随机将同期行胆管结石十二指肠镜取石而无PAD的患者95例作为对照组, 乳头旁型组96例患者中, 男42例(43.75%), 女54例(56.25%), 年龄28-90(平均年龄64.23)岁; 直接开口于憩室组89例患者中, 男40例(44.94%), 女49例(55.06%), 年龄27-86(平均年龄65.08)岁; 对照组95例, 其中男46例(48.42%), 女49例(51.58%), 年龄29-88(平均年龄62.85)岁, 三组一般情况见表1。为减少混杂因素, 三组所选择患者均B超或磁共振胆胰管成像(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)证实为胆管结石且第1次内镜取石, 之前均行腹腔镜胆囊切除术, 所有患者均排除合并肝内胆管结石及全身性易引起结石形成的系统疾病(如溶血性贫血等)。

1.2 方法

1.2.1 操作: 患者取左侧卧位, 插入内镜至十二指肠降部, 提拉法寻找十二指肠乳头并调整好乳头位置找到十二指肠乳头, 通过监视器直视下观察十二指肠乳头及周围情况: 乳头及开口形状、有无胆汁流出及颜色、有无憩室、有无结石嵌顿。经内镜逆行性胆管插管成功后, 先行诊断性ERCP, 在X线下以明确胆总管结石的存在及结石的位置、大小和数量, 然后行十二指肠乳头括约肌切开(endoscopic sphincterotomy, EST), 综合乳头情况及结石的特点, 选择性行乳头切开术, 常用的切开方法有电针开窗、拉式切开刀退刀切开、推进刀推进切开等。乳头切开均为中到大切开, 无论是结石引起嵌顿, 还是缩窄性Vater乳头炎, 其乳头切开长度均较为充分, 如果切开长度小, 在取石过程中将加大结石对切开缘摩擦的机会, 结石直径小于1.0 cm时直接用网篮或气囊从胆管内把结石取出, 以减少结石嵌顿、胆道感染发生的危险性。插入网篮于胆管内, 并抖动网篮将结石网入网篮内, 在网篮完全张开的情形下拉出胆管。对于泥沙样结石可应用气囊取石, 将气囊置于结石上方, 充气后边下拉边适当注入造影剂, 将结石带出乳头外, 气囊造影可明确有无残余结石, 可行多次取石。当EST后, 胆管内结石较大, 直径大于1.0 cm临床评估难以用普通取石网篮及气囊取石时, 则用机械碎石器碎石治疗, 最后插入气囊对胆道结石彻底清理, 并确认结石已取净。所有操作者均为相对固定、有经验的医生和护士。

1.2.2 随访: 术后定期随访观察, 1年及以上经B超、MRCP、及十二指肠镜检查证实再次发作胆管结石者记为内镜后胆管结石复发。除4例(周围憩室组1例, 直接开口于憩室组1例, 对照组2例)失访外, 对其余的三组病例均进行了完整的随访。

2 结果

乳头旁憩室组内镜后8年胆管结石的复发率是26.32%(25/95), 胆、胰管直接开口于憩室组复发率是34.83%(31/88), 对照组复发率是9.47%(9/93)。乳头旁憩室组与对照组差异显著($\chi^2 = 8.78, P < 0.05$), 直接开口于憩室组与对照组差异显著($\chi^2 = 17.15, P < 0.05$), 而乳头旁憩室组与直接开口于憩室组无统计学意义($\chi^2 = 1.71, P > 0.05$, 表2)。

■创新盘点

国内尚缺少关于十二指肠乳头括约肌切开术并发病的大宗病例研究报道, 特别是缺乏十二指肠乳头括约肌切开后远期胆总管结石复发的随访研究。本研究通过十二指肠乳头括约肌切开术大宗病例的分析研究, 探讨ERCP术后胆总管复发结石的发生与壶腹周围憩室的关系。

■应用要点

探讨内镜后复发性胆管结石与壶腹周围憩室的可能关系,对其危险因素采取相应的预防措施,减少胆管结石的再发。明确复发性胆管结石与壶腹周围憩室的关系,就能够指导、应用于临床,有利于临床适应证的选择和后续预防与治疗。

表 1 各组患者一般资料

分组	乳头旁组 (n = 96)	直接开口憩室组 (n = 89)	对照组 (n = 95)	P值
年龄(岁)	64.81 ± 15.39	66.74 ± 15.66	65.32 ± 15.89	>0.05
性别(n, %)				
男	42(43.75)	40(44.94)	46(48.42)	>0.05
女	54(56.25)	49(55.06)	49(51.58)	>0.05

3 讨论

壶腹周围憩室最早于1710年被描述,1934年Lemmel首先发现PAD与胆胰疾病的关系,并使用“乳头综合征”描述这种关系。壶腹周围憩室的病因学尚不十分清楚,多数学者认为此症的发生可能与该处肠壁生长发育过程中出现的某些薄弱点有关,加之老年人年龄增大,肠壁肌层发生退变,肠内压力变化及周围粘连牵引,胆石嵌顿等因素的影响,促发肠薄弱点向外突出形成憩室。此外,肠腔外病变如炎症性粘连造成的牵拉、肠外脂肪垂过多、肥胖、便秘和局部血供不足亦是憩室形成的相关因素,最近有学者提出新的假说,认为随着年龄的增长,迷走神经发生退行性改变,导致肠道平滑肌功能失调和憩室的形成,并提出可以通过电生理和使用药物的途径提高患者迷走神经的活动性,达到阻止憩室形成和治疗的目的^[3]。壶腹周围憩室多发于年龄较大的患者,张克俭等^[4]报道不同年龄组的憩室发生率有别,82例患者中40岁以下者仅占11%,而60岁以上者高达50%,可见年龄因素的确与憩室的发生关系密切,本文的185例壶腹憩室患者中,亦多见于老年患者,平均年龄为64.66岁。

壶腹周围憩室临床症状缺乏特异性,诊断主要依靠影像学检查^[5]。临床上多因肠胃其他疾病行上消化道造影或因胆胰疾病行ERCP检查时被查出。少数患者可有上腹部胀痛不适伴恶心、嗝气,饱食后加重,若憩室颈部狭小,其内食糜不易排空细菌过度生长,局部血运欠佳时,可产生憩室的感染、出血、穿孔等并发症。临床上以出血最为常见,往往以上消化道出血就诊,为上消化道出血病因之一,穿孔较为少见。壶腹周围憩室常可引起消化道并发症的发生,如胆道结石和感染、急慢性胰腺炎、胃十二指肠溃疡等,表明其与胰腺和胆道病变的关系密切^[6]。

壶腹周围憩室导致胆总管末端解剖异常,给内镜下治疗胆总管结石带来困难,乳头周围

表 2 各组患者胆管结石复发率

分组	复发(n)	未复发(n)	总计(n)	复发率(%)
乳头旁憩室组	25	72	95	26.32
无憩室组	9	84	93	9.47
直接开口组	31	57	88	34.83

憩室是造成插管困难或失败的原因之一。乳头开口不在憩室内,一般不影响插管,如果乳头开口位于憩室内,插管时容易使导管滑入憩室,调整旋钮对准乳头口,将导管插入乳头口后再调整抬举器,使导管调在合适的角度再继续插管容易成功。十二指肠乳头旁憩室曾被认为是EST的危险因素,尤其当十二指肠乳头位于憩室边缘或位于较大的憩室内时,这是因为憩室与胆总管共壁部分组织结构薄弱,行EST时容易发生穿孔。然而我们认为憩室的位置对内镜治疗胆管结石的影响是有限的,只要熟悉胆总管末端与乳头旁憩室的解剖关系,明确适当的切开指征,熟练地掌握EST及取石的操作技巧,就能减少并发症的发生^[7],原因在于EST切开的长度取决于胆管在肠腔内隆起的大小,只要切开方向随着胆总管十二指肠壁的方向而不断调整,使其始终沿着胆总管壁段的方向,且不超过乳头口部侧隆起,穿孔是可以避免的。但对于憩室内乳头或憩室位于乳头上、左侧或左上方,尤其位于左上缘者仍应谨慎切开,因为EST的方向正是朝着乳头左上方向,而乳头上、左侧或左上方的憩室可能是导致穿孔的因素。

壶腹周围憩室与内镜后复发性胆管结石关系密切,其可能的解释是:可能与十二指肠乳头旁憩室易引起乳头及周围炎症有关。由于炎症的长期刺激,Oddi括约肌功能受到影响,其紧张力、收缩力、节律明显减弱,胆道内压力也相应改变,使胆汁排空受阻和/或胆肠反流,易致细菌繁殖,导致胆道感染,引起结石复发^[8]。有研究认为乳头位于憩室深部或内侧边缘,以至于内镜下不能看到乳头开口,此类患者比乳头位于憩室外侧或无乳头旁憩室的患者复发率高^[9]。

Back等^[10]、Cecilia等^[11]通过对大宗病例回顾性分析发现复发性胆管结石的风险因素之一是壶腹憩室, Lee等^[12]、Ohashi等^[13]、Bove等^[14]许多作者亦认为壶腹周围憩室是内镜后复发性胆管结石复发的独立危险因素。马升高等^[15]对100例胆管结石患者进行尸检,发现41例并发十二指肠憩室,也说明二者之间存在一定的内在联

系. 本文通过回顾分析发现, 十二指肠乳头旁憩室组的内镜后胆管结石8年复发率26.32%, 直接开口于憩室组是34.83%, 对照组是9.47%, 经统计分析两组与对照无憩室组相比均有显著性差异, 而两组相比则无统计学意义, 说明内镜后胆管结石的复发与壶腹周围憩室关系密切, 而与憩室的位置无明显关系.

内镜后胆管结石的复发由多种因素所形成, 只有阻断了胆管结石形成的因素, 才是预防胆管结石复发和降低结石复发率的关键^[16]. 而壶腹周围憩室只是众多因素之一, 目前对于内镜后胆管结石的复发原因还不十分明确, 由于本文病例较少、随访时间较短, 且存在一定的混杂因素, 应进一步行大样本、多中心、长期的研究.

4 参考文献

- 1 朱燕辉, 黄丽霞, 阳生光. 十二指肠憩室致病因素及手术术式的探讨. 实用医学杂志 2008; 24: 3369-3370
- 2 臧金锋, 陈曦, 曹赣, 高军业. 十二指肠乳头旁憩室切除在胆道手术中的应用. 世界华人消化杂志 2008; 16: 2673-2675
- 3 Yun AJ, Bazar KA, Lee PY. A new mechanism for diverticular diseases: aging-related vagal withdrawal. *Med Hypotheses* 2005; 64: 252-255
- 4 张克俭, 董恩钰, 戴希真. 老年十二指肠乳头旁憩室特殊性分析. 中国误诊学杂志 2002; 2: 661-662
- 5 傅家庆, 孙占国, 韩福刚, 陈东, 唐光才, 杨述根, 武艳君, 李登维. 壶腹周围憩室的MRI诊断(附27例与钡餐检查对照). 中国临床医学影像杂志 2008; 19: 65-68
- 6 曹关义, 高光. 十二指肠乳头旁憩室伴胆道结石的治疗. 中国医师进修杂志 2007; 30: 57-58
- 7 罗珉, 李培明, 李克, 张威浩. 内镜下十二指肠乳头括约肌切开术治疗十二指肠乳头旁憩室合并胆总管结石的临床研究. 中国内镜杂志 2007; 13: 157-162
- 8 钱东, 秦鸣放. 胆总管复发结石的病因研究进展. 中国中西医结合外科杂志 2005; 11: 170-171
- 9 Yi SY. Recurrence of biliary symptoms after endoscopic sphincterotomy for choledocholithiasis in patients with gall bladder stones. *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15: 661-664
- 10 Baek YH, Kim HJ, Park JH, Park DI, Cho YK, Sohn CI, Jeon WK, Kim BI. [Risk factors for recurrent bile duct stones after endoscopic clearance of common bile duct stones] *Korean J Gastroenterol* 2009; 54: 36-41
- 11 Strömberg C, Nilsson M, Leijonmarck CE. Stone clearance and risk factors for failure in laparoscopic transcystic exploration of the common bile duct. *Surg Endosc* 2008; 22: 1194-1199
- 12 Lee KM, Paik CN, Chung WC, Kim JD, Lee CR, Yang JM. Risk factors for cholecystectomy in patients with gallbladder stones after endoscopic clearance of common bile duct stones. *Surg Endosc* 2009; 23: 1713-1719
- 13 Ohashi A, Tamada K, Wada S, Hatanaka H, Tomiyama T, Tano S, Nakazawa K, Sugano K. Risk factors for recurrent bile duct stones after endoscopic papillary balloon dilation: long-term follow-up study. *Dig Endosc* 2009; 21: 73-77
- 14 Bove A, Bongarzone G, Palone G, Di Renzo RM, Calisesi EM, Corradetti L, Di Nicola M, Corbellini L. Why is there recurrence after transcystic laparoscopic bile duct clearance? Risk factor analysis. *Surg Endosc* 2009; 23: 1470-1475
- 15 马升高, 朱启槐, 胡滨. 十二指肠憩室与胆石病. 现代预防医学 2007; 34: 3796-3800
- 16 张莉, 秦鸣放. 十二指肠乳头旁憩室对ERCP诊治的影响. 中国中西医结合外科杂志 2009; 15: 391-392

■同行评价

本文分析了作者单位大宗病例, 认为壶腹周围憩室与内镜术后胆管结石的复发关系密切, 论据较充分, 具有一定说服力.

编辑 曹丽鸥 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

2009年《世界华人消化杂志》编委审稿总结

本刊讯 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*)编辑委员会共计400人, 全部为副教授及副主任医师以上. *WCJD*编委会审稿费结算工作于每年01-05开始. 本次统计为2008-01-01/2009-12-31编委审稿费费用, 共计40 850, 数据以稿件审回日期为准. *WCJD*共计审稿1 418篇, 其中送审专家377位, 共计送审次数2 094次, 成功审回次数1 634, 成功率78.03%. 其中审稿次数排前三位的为: 西安交通大学医学院第二附属医院感染科党双锁教授和福建医科大学附属医院消化内科王小众教授并列第一位, 各17篇; 南京医科大学附属南京第一医院肿瘤中心曹秀峰教授第二位, 16篇; 中国医科大学附属第一医院消化内科王炳元教授和苏州大学附属第一医院消化科陈卫昌教授并列第三位, 各15篇.

*WCJD*编辑部感谢各位编委2009年对*WCJD*工作的支持, 同时希望各位编委更加积极主动的配合我们今后的工作. 审稿费已经通过邮局汇款, 如有审稿费未收到或者审稿稿件有误差, 请各位编委与编辑部联系, 联系电话: 010-85381892, 联系人: 李军亮. (编辑部主任: 李军亮 2010-04-20)

经结肠镜高频电圈套器联合尼龙绳套扎和/或钛夹钳夹治疗大肠宽蒂和大息肉156例

王萍, 吴杰, 黄晓东, 孙圣斌, 张姮, 郑丹, 宋敏, 刘文敏

■背景资料

近些年来, 随着结肠镜发现大肠息肉的例数越来越多, 采用内镜下治疗大肠息肉的技术也日益成熟, 对于既往内镜治疗的禁区-宽蒂、大息肉, 本院自2001年以来, 采用经结肠镜尼龙绳套扎和/或钛夹钳夹后, 再予高频电圈套器摘除, 疗效满意。

王萍, 吴杰, 黄晓东, 孙圣斌, 张姮, 郑丹, 宋敏, 刘文敏, 武汉市中心医院消化内科 湖北省武汉市 430014

作者贡献分布: 王萍与吴杰对此文所作贡献均等; 此课题由王萍与吴杰设计; 研究过程由王萍与吴杰操作完成; 黄晓东、孙圣斌、张姮、郑丹、宋敏及刘文敏参与操作及数据总结; 本论文写作由王萍完成。

通讯作者: 吴杰, 主任医师, 教授, 430014, 湖北省武汉市, 武汉市中心医院消化内科. wujie988@sina.com

电话: 027-82811507

收稿日期: 2009-12-13 修回日期: 2010-05-05

接受日期: 2010-05-10 在线出版日期: 2010-06-18

Treatment of large colorectal polyps with wide peduncle by nylon endoloop ligation and/or clamping with titanium clips in combination with colonoscopy-assisted high-frequency electric snare: an analysis of 156 cases

Ping Wang, Jie Wu, Xiao-Dong Huang, Sheng-Bin Sun, Heng Zhang, Dan Zheng, Min Song, Wen-Min Liu

Ping Wang, Jie Wu, Xiao-Dong Huang, Sheng-Bin Sun, Heng Zhang, Dan Zheng, Min Song, Wen-Min Liu, Department of Gastroenterology, the Central Hospital of Wuhan, Wuhan 430014, Hubei Province, China

Correspondence to: Professor Wu Jie, Department of Gastroenterology, the Central Hospital of Wuhan, Wuhan 430014, Hubei Province, China. wujie988@sina.com

Received: 2009-12-13 Revised: 2010-05-05

Accepted: 2010-05-10 Published online: 2010-06-18

Abstract

AIM: To assess the efficacy and safety of nylon endoloop ligation and/or clamping with titanium clips in combination with colonoscopy-assisted high-frequency electric snare in the treatment of colorectal polyps.

METHODS: Patients with colorectal polyps with wide peduncle underwent a nylon endoloop snare first, followed by treatment by colonoscopy-assisted high-frequency electric snare. For patients with polyps larger than 2 cm, clamping with titanium clips in combination with electrocoagulation and electrocision was performed.

RESULTS: A total of 788 cases of colorectal polyps, including 67 with wide peduncle and 89 larger than 2 cm, were treated by colonoscopy. Of these cases, 102 (65.38%) were resected totally, 54 (34.62%) were excised in stages. Two patients (1.28%) suffered from immediate bleeding and underwent hemocoagulase treatment, electric coagulation and (or) clamping with titanium clips. No perforation occurred.

CONCLUSION: Nylon endoloop ligation and/or clamping with titanium clips in combination with colonoscopy-assisted high-frequency electric snare is effective and safe in the treatment of large colorectal polyps with wide peduncle

Key Words: Colonoscopy; High-frequency electricity; Snare; Loop ligation; Colorectal polyp

Wang P, Wu J, Huang XD, Sun SB, Zhang H, Zheng D, Song M, Liu WM. Treatment of large colorectal polyps with wide peduncle by nylon endoloop ligation and/or clamping with titanium clips in combination with colonoscopy-assisted high-frequency electric snare: an analysis of 156 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(17): 1838-1841

摘要

目的: 评价结肠镜下高频电圈套器联合尼龙绳套扎和/或钛夹钳夹摘除大肠宽蒂、大息肉的疗效及安全性。

方法: 结肠镜下宽蒂息肉先予尼龙绳套扎其息肉根部, 再予高频电圈套器凝切; 大息肉(直径大于2.0 cm者)先予钛夹2-3枚在息肉根部钳夹, 然后再用高频电圈套器分块凝切。

结果: 结肠镜治疗大肠息肉788例、其中宽蒂、大息肉156例(宽蒂67例、大息肉89例), 经予上述方法进行内镜下摘除, 一次性切除息肉102枚(65.38%), 分次切除54枚(34.62%), 均获满意疗效, 其中即刻出血2例(1.28%), 立即给予内镜下血凝酶喷洒、电凝和/或钛夹, 即时止血, 无迟发出血。全部病例无1例穿孔。

结论: 经结肠镜高频电圈套器摘除消化系宽

■同行评议者

何超, 教授, 浙江大学医学院附属邵逸夫医院肛肠外科

蒂、大息肉前给予尼龙绳套扎和/或钛夹钳夹息肉根部,明显减少了出血、穿孔等并发症,突破了以往内镜治疗息肉关于大小、宽蒂等禁区,避免了手术引起的创伤,安全可靠,值得推荐。

关键词: 结肠镜; 高频电; 圈套器; 套扎; 大肠息肉

王萍, 吴杰, 黄晓东, 孙圣斌, 张姮, 郑丹, 宋敏, 刘文敏. 经结肠镜高频电圈套器联合尼龙绳套扎和/或钛夹钳夹治疗大肠宽蒂和大息肉156例. 世界华人消化杂志 2010; 18(17): 1838-1841
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1838.asp>

0 引言

近些年来,随着结肠镜发现大肠息肉的例数越来越多,采用内镜下治疗大肠息肉的技术也日益成熟,对于既往内镜治疗的禁区-宽蒂、大息肉,我院自2001年以来,采用经结肠镜尼龙绳套扎和/或钛夹钳夹后,再予高频电圈套器摘除,疗效满意,现总结如下。

1 材料和方法

1.1 材料 收集我院自2001年以来,应用经结肠镜尼龙绳套扎和/或钛夹钳夹+高频电圈套器摘除的大肠宽蒂、大息肉共156例,占同期结肠镜治疗大肠息肉(788例)的19.79%,其中男89例,女67例,男女之比为1.33:1。年龄25-83(平均年龄51.86)岁,其中60岁以上38例,占24.36%。156例中便血或黏液血便67例(42.95%),腹泻71例(45.51%),便秘54例(34.62%),消瘦18例(11.54%),大肠癌术后随访查出息肉7例(4.49%)。共检出息肉患者788例,息肉1 429枚,宽蒂、大息肉156例(共156枚),其中宽蒂67枚(4.69%),直径大于2.0 cm的89枚(6.23%)。156例息肉部位:直肠56枚(35.90%)、乙状结肠41枚(26.28%)、降结肠29枚(18.59%)、横结肠10枚(6.41%)、升结肠12枚(7.69%)、回盲部8枚(5.13%)。应用Olympus CF-240型电子肠镜, OlympusUES-10高频发生器, SD型电圈套器, OlympusHX-20U-1尼龙圈套扎器和MAJ-254(直径30 mm)尼龙圈套, HX250R21金属夹推送器和MD2850钛夹。

1.2 方法

1.2.1 术前准备: 了解患者用药情况,若有服阿司匹林、NSAIDs类及抗血小板凝集药物者,应停用7-10 d后行息肉摘除。常规查凝血常规,排除有出血危险的患者。治疗前一晚及治疗当日早晨分次口服福净清(成分为聚乙二醇和电解质)共3包清洁肠道,每包2 000 mL温开水冲服,1-2 h

内服完。患者术前最后一次排便应为清水样便,必要时可给予灌肠清洁肠道。

1.2.2 治疗: 内镜直视下发现息肉后,对宽蒂息肉先予尼龙绳套扎,经钳道插入尼龙圈推送器,伸出原先安置上的尼龙圈,套住息肉根部,确定圈套位置合适后,渐收紧,至线圈结扎上部息肉发绀即可,此时轻轻推动推送器操作部游离尼龙线圈,拔出推送器,再经钳道插入电圈套器,在尼龙线圈上方约0.5 cm处套住息肉,启动电凝电切摘除息肉;大于2.0 cm的息肉先予钛夹在息肉根部钳夹,将预装好钛夹的推送器推送管经内镜钳道推送至镜头前端,张开钛夹后,通过推送器上的旋转装置调整钛夹开口方向使其对准大息肉尽量靠近蒂基处即行钳夹,完全夹稳后,即在推送器手柄上加压使钛夹断离推送管。一般每枚大息肉使用2-3枚金属夹作交叉钳夹即可完全阻断蒂中血流,若钳夹结扎有效,即可见瘤体颜色逐渐变紫,表明蒂柄内血管血流已被阻断,此时即可用电圈套器于金属夹上端套取息肉并收紧后行电凝电切术。上述2种方法切除息肉后均观察30-60 s,创面无出血后退镜。用三抓钳回收息肉送病理。

2 结果

2.1 疗效 本组一次性切除息肉102枚(65.38%),分次切除54枚(34.62%),其中即刻出血2例(1.28%),立即给予内镜下血凝酶喷洒、电凝和/或钛夹,即时止血,无迟发出血。全部病例无一例穿孔。而同期788例1 429枚息肉中,迟发出血3例(0.21%),经卧床、静滴止血药物治疗2 d内止血。

2.2 病检 本组全部病例(100%)行病理学检查,其中腺瘤性息肉89例(57.05%),炎性息肉32例(20.51%),增生性息肉29例(18.59%),家族性多发性腺瘤病5例(3.21%),息肉恶变1例(0.64%),该例经追加剖腹手术治疗,随访1-5年未见复发及转移(图1)。

2.3 随访 90%者息肉切除术后半年、1年、2年常规复查肠镜,所有复查患者原部位未发现息肉。4例(2.56%)其他部位再生息肉,均较小,再次电切除。而同期788例1429枚息肉中,19例(2.41%)其他部位再生息肉,均较小,再次电切除。

3 讨论

大肠息肉临床上多见,本组大肠息肉发病的性别比例、病变部位及病理结果与文献报道基本一致^[1],其男女比例约1.33:1,以左半结肠为多(80.77%),又以乙状结肠、直肠为多(62.18%),

■ 相关报道

对结肠宽蒂大息肉,因基底较宽或有滋养血管,发生出血或穿孔的可能性较大,一般认为不宜行单纯内镜下电凝切除,国内文献报道出血或穿孔并发症的发生率为11.0%-16.1%。

■应用要点

由于腺瘤性息肉与大肠癌关系密切,目前对大肠息肉的治疗原则一般认为见之即切除,内镜下高频电凝切除法是治疗消化系息肉较成熟的方法,对于细长蒂息肉的切除疗效尤为满意。术后对切除的息肉作全瘤活检,对早期大肠癌的发现很有意义。

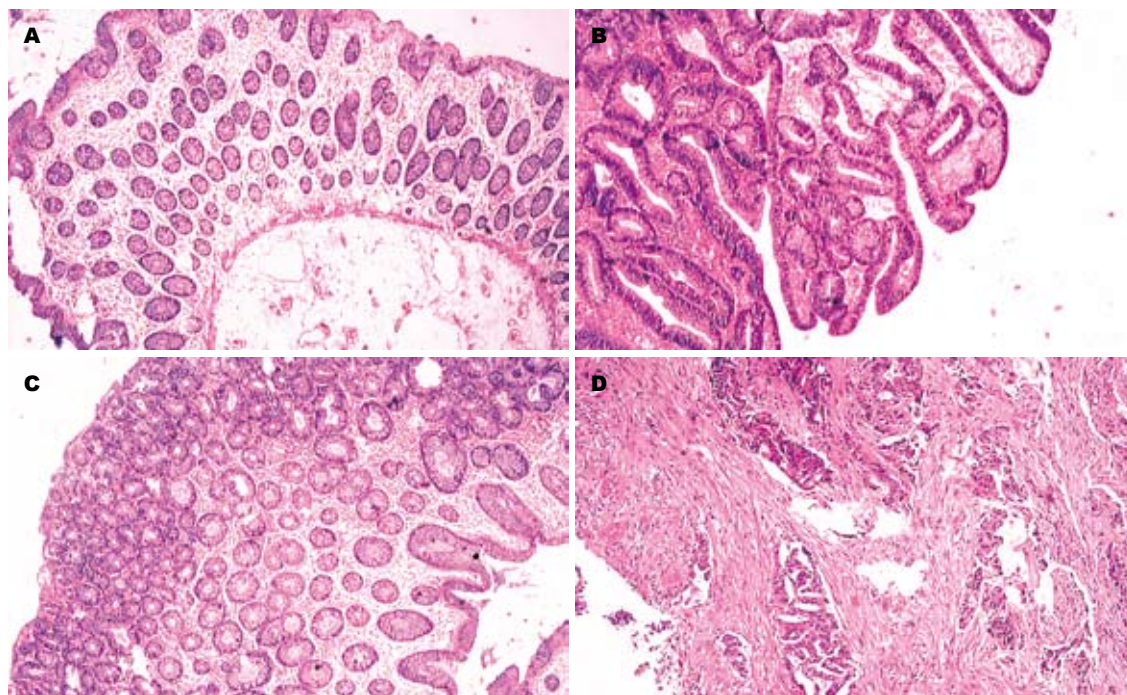


图1 患者病理检查结果. A: 炎症性息肉; B: 绒毛管状腺瘤; C: 管状腺瘤; D: 管状腺瘤。

腺瘤性息肉占57.05%。由于腺瘤性息肉与大肠癌关系密切,目前对大肠息肉的治疗原则一般认为见之即切除,内镜下高频电凝切除法是治疗消化系息肉较成熟的方法,对于细长蒂息肉的切除疗效尤为满意。术后对切除的息肉作全瘤活检,对早期大肠癌的发现很有意义。本组1例恶变息肉均为内镜摘除后病理确诊,追加外科学手术治疗,疗效良好。

虽然内镜下高频电凝切除法是治疗消化系息肉较成熟的方法,但对结肠宽蒂大息肉,因基底较宽或有滋养血管,发生出血或穿孔的可能性较大,一般认为不宜行单纯内镜下电凝切除^[2],国内文献报道出血或穿孔并发症的发生率为11.0%-16.1%^[3]。本组156枚宽蒂、大息肉摘除中,即刻出血2例(1.28%);全部病例无1例穿孔。本组出血或穿孔等并发症的发生远远低于文献报道,推测与术者根据息肉的大小以及蒂的宽细而选择不同的内镜下治疗方法有关,尤其是宽蒂大息肉选择尼龙绳套扎和/或钛夹钳夹+凝切法摘除之,该方法因阻断了息肉的滋养血管,电凝切除时创面渗血或出血的发生得以避免;另外,线圈套是在尼龙圈套或钛夹上方0.5 cm处电凝电切,尼龙绳圈及钛夹起到了一定的阻隔作用,因而避免了因电凝切过深,造成肠穿孔的可能。

本组2例即刻出血的原因是圈套时发生的

机械切割,故我们认为操作者在操作中应视不同情况而应用不同的体位、不同的镜身角度使视野充分暴露,圈套器套住息肉的蒂部以后,应防止过分用力牵拉而导致断裂出血;另外应按先电凝、后切割的原则,对亚蒂或大息肉可采用先电凝,然后边切边凝,直至息肉脱落;因圈套器与残端粘连牵拉以致出血的情况也应注意,防止的办法是每切一个息肉后,要把圈套器上附着的炭化组织刷洗掉,以减少粘连机会。同期788例息肉治疗者,迟发出血3例中,其中2例系因宽蒂息肉尚未开展尼龙绳套扎+凝切法,单纯予凝切法后出血;另1例息肉小于1 cm并不大,患者术后无不适,照常活动、上班,故我们认为行内镜下息肉电凝切除术,无论息肉大小均应做到术后尽量减少活动,进半流饮食1 wk,并适当服泻剂保持大便通畅。

我们以为,对于结肠镜发现的大肠宽蒂、大息肉,可根据术者经验,选用经结肠镜高频电圈套器联合尼龙绳套扎和/或钛夹钳夹治疗,该方法摘除大肠宽蒂、大息肉创伤小、疗效好、并发症低,且能当时回收标本送病检、早期发现息肉癌变,一样可作为大肠息肉的首选治疗方法,替代手术治疗。

4 参考文献

- 1 王蔚虹,刘芳勋,王静,胡伏莲.非甾体抗炎药与结直肠息肉的关系:系统回顾与Meta分析.世界华人消化

- 杂志 2008; 16: 2724-2733
- 2 Silvestri GA, Hoffman BJ, Bhutani MS, Hawes RH, Coppage L, Sanders-Cliette A, Reed CE. Endoscopic ultrasound with fine-needle aspiration in the diagnosis and staging of lung cancer. *Ann Thorac Surg* 1996; 61: 1441-1445; discussion 1445-1446
- 3 张阳德. 内镜学. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 225
- 4 徐富星. 内镜诊治消化道息肉的进展. *中华消化内镜杂志* 1999; 16: 133-134
- 5 李卫, 陈键, 黄秀芳. 高频电摘除大肠息肉651例报告. *中华消化内镜杂志* 2001; 18: 362
- 6 孙爱武, 张奕茵, 鲁志诚, 赵振刚, 封月圆, 董雅婷. 内镜下尼龙圈套扎法治疗消化道息肉. *中国内镜杂志* 2000; 6: 13-15
- 7 张轶群, 姚礼庆, 徐美东, 周平红, 高卫东. 结直肠大息肉的内镜下治疗. *中华消化内镜杂志* 2005; 22: 60-62
- 8 于皆平, 黄节安. 胃肠道息肉及息肉病诊治的有关进展. *中国实用内科杂志(临床版)* 2000; 20: 67-70
- 9 Stevenson GW, Wilson JA, Wilkinson J, Norman G, Goodacre RL. Pain following colonoscopy: elimination with carbon dioxide. *Gastrointest Endosc* 1992; 38: 564-567
- 10 沈志祥. 消化系统疾病诊断与治疗学. 北京: 科学技术文献出版社, 2004: 363
- 11 于皆平, 雷享朗. 纤维结肠镜临床应用技术. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1990: 268
- 12 成宏伟, 吴云林, 钟捷, 诸琦. 金属钛夹在消化道息肉切除中的应用. *外科理论与实践* 1999; 4: 244
- 13 韩宇晶, 赖卓胜, 李明松, 刘思德, 姜泊. 放大内镜及实体显微镜对结肠肿瘤性病变检查的意义. *解放军医学杂志* 2004; 29: 938-940
- 14 Hara AK, Johnson CD, Reed JE, Ahlquist DA, Nelson H, Ehman RL, McCollough CH, Ilstrup DM. Detection of colorectal polyps by computed tomographic colography: feasibility of a novel technique. *Gastroenterology* 1996; 110: 284-290
- 15 王娜娜, 潘文胜, 沈虹, 陈丽荣, 张颀军, 武良琴, 徐翔. 大肠息肉内镜下治疗的临床研究. *实用肿瘤杂志* 2009; 24: 280-282

■同行评价

本文目的明确, 研究样本数较大, 讨论条理分明, 结论对临床治疗大肠息肉有一定的参考价值.

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》标点符号用法

本刊讯 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.

胃气囊肿症1例

肖洪斌

■背景资料

目前有肠气囊肿症(PCI)的报道,胃气囊肿症却未见有文献提及,本人在内镜操作中发现了该罕见病例,特此报道,希望能填补此病症研究之空白。

肖洪斌, 中国人民解放军达州陆军医院消化内科 四川省达州市 635000

通讯作者: 肖洪斌, 635000, 四川省达州市, 中国人民解放军达州陆军医院消化内科. xiaohongbin358@163.com
电话: 0818-8151027

收稿日期: 2010-03-23 修回日期: 2010-05-24

接受日期: 2010-06-02 在线出版日期: 2010-06-18

Diagnosis and treatment of air cyst in stomach: a report of one case

Hong-Bin Xiao

Hong-Bin Xiao, Department of Gastroenterology, Dazhou Military Hospital of Chinese PLA, Dazhou 635000, Sichuan Province, China

Correspondence to: Hong-Bin Xiao, Department of Gastroenterology, Dazhou Military Hospital of Chinese PLA, Dazhou 635000, Sichuan Province, China. xiaohongbin358@163.com

Received: 2010-03-23 Revised: 2010-05-24

Accepted: 2010-06-02 Published online: 2010-06-18

Abstract

Air cyst in stomach is a quite rare cystic disease. This paper reports a case of air cyst in stomach and discusses its diagnosis and treatment.

Key Words: Stomach; Air cyst; Diagnosis; Treatment

Xiao HB. Diagnosis and treatment of air cyst in stomach: a report of one case. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(17): 1842-1843

摘要

胃气囊肿症在胃肠道气囊肿症中是一种极其罕见的病症,本文首次报道了此病症,并就其诊断及治疗进行了探讨。

关键词: 胃; 气囊肿; 诊断; 治疗

肖洪斌. 胃气囊肿症1例. 世界华人消化杂志 2010; 18(17): 1842-1843

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1842.asp>

■同行评议者

傅春彬, 主任医师, 吉化集团公司总医院一院消化内科

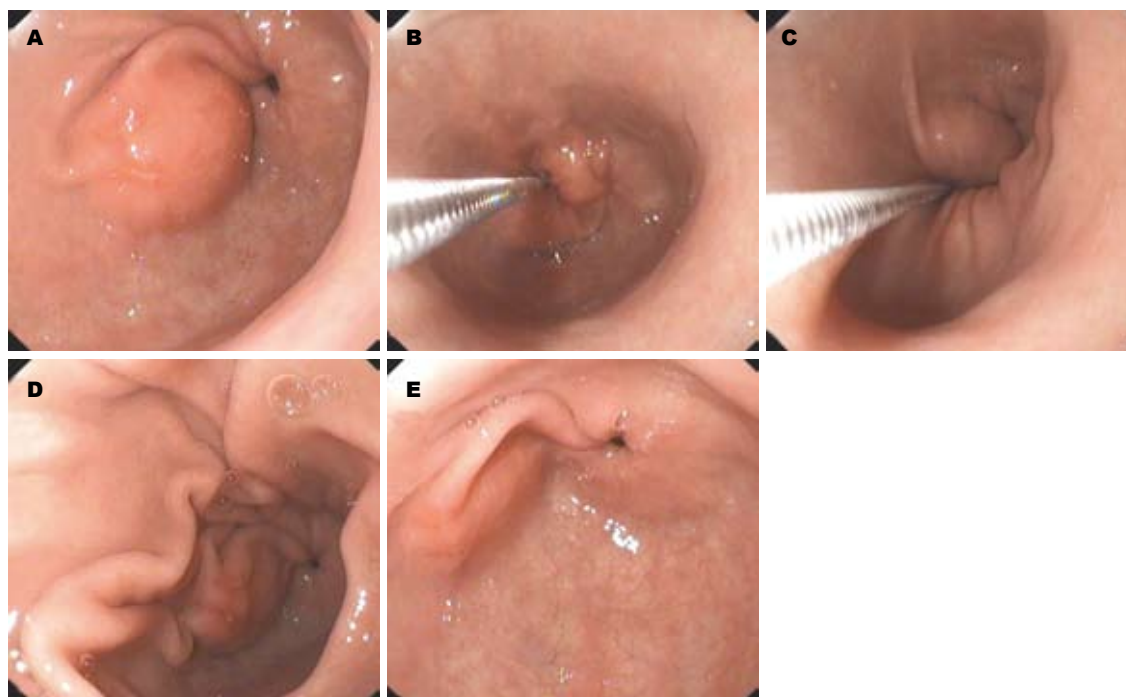
0 引言

目前有肠气囊肿症(pneumatosis cystoids intesti-

nalis, PCI)的报道,胃气囊肿(air cyst in stomach, ACS)却未见有文献提及,因此本案例的报道有划时代的意义。依据PCI的定义,我们想ACS应是指胃黏膜或浆膜下的充满气体的囊肿。其病因不明,临床极为少见,漏诊和误诊率高^[2]。我院胃镜中心近年来(1999-2010年)做了胃镜检查约有86 800例,仅检出1例ACS。

1 病例报告

女, 63岁,因上腹饱胀不适、嗝气、反酸烧心半年余到我院就诊。患者6 mo前不明原因的出現上腹饱胀不适、嗝气、反酸烧心等症状,上述症状与进食、饥饿、情绪等无明显关联,同时不伴有头昏头痛、咳嗽咯痰、胸痛心悸、腹痛腹泻、恶心呕吐等症状。先后到多家三级甲等医院救治未见明显好转或缓解,故到我院门诊就诊,门诊胃镜检查,诊断为“胃窦息肉”,故门诊以胃窦息肉收入我科室住院治疗。查体:发育正常,营养中等,步入病房,神智清楚。全身皮肤黏膜及巩膜无黄染,全身浅表淋巴结未扪及肿大。心肺未见异常,腹部平坦,肝脾未触及,上腹剑突下轻压痛,脊柱四肢未见异常。辅助检查:胸片:(1)慢性支气管炎;(2)主动脉粥样硬化;超声诊断:(1)胆囊壁稍毛糙;(2)肝、胰腺、脾脏、双肾、输尿管、膀胱、子宫及附件未见异常;胃镜诊断:(1)胃窦息肉;(2)慢性胃窦炎;心电图:(1)窦性心律;(2)偶发房性早搏;(3)电轴正常;血常规:WBC: $5.3 \times 10^9/L$; RBC: $4.0 \times 10^{12}/L$; 其余血液检查示肝功、肾功、电解质、血脂、血糖、凝血三项及肿瘤标记物均正常。病例诊断:胃窦黏膜显示慢性炎症。在完善以上相关检查后第3天,经家属及患者同意后准备在内镜下进行“胃窦息肉”切除术,家属签署手术同意书后,积极准备麻醉、内镜、电刀。内镜下见胃窦近幽门前壁有一个大小约 $4.0\text{ cm} \times 4.0\text{ cm} \times 1.0\text{ cm}$ 大小的圆形隆起物,基底较宽,无蒂,不透明,表面光滑,颜色与周围黏膜无明显区别,很象息肉。活检钳触压时,隆起物有弹性,稍用力便可压缩,比真正息肉质地软。内镜下用无菌注射针



■同行评价
胃气囊肿症是一种罕见的疾病, 具有参考价值。

图1 胃气囊肿症治疗前后对比。A: 胃气囊肿症治疗前后对比; B: 活检钳触之明显凹陷; C: 用无菌注射针抽气; D: 用无菌注射针抽气后明显塌陷; E: 高压氧后复查隆起物消失。

刺破囊壁用空针抽吸有气体抽出, 随之隆起物塌陷消失。受李楠等报道的“结肠气囊肿症的内镜诊治与分析五例”的启发^[1], 该胃窦息肉并非真正息肉而是ACS, 于是在手术后便联合高压氧治疗(2.5个大气压, 每日1次, 每次2 h, 连续7-10 d), 氧疗结束后胃镜复查, 病灶完全消失, 患者症状明显好转。

2 讨论

ACS到目前还未见有人报道, 应是消化系罕见的一种疾病, 其发病原因不清楚。对PCI发病原因较为广泛接受的理论是机械学说、感染学说和营养失衡学说, 但任何一种学说均不能解释所有的PCI的发生原因和机制^[3]。PCI可能的病因为基础病变引起肠腔压力升高、黏膜受损导致肠腔内产气细菌进入肠壁形成气囊肿^[3]。国内文献报道PCI的检出高原地区较其他地区高^[4]。因为到目前为止还未见有教科书或文献报道ACS, 故认为其发病原因和机制应该与PCI相通与否还要等待进一步的研究考证。对ACS的诊断较为困难, 由于临床极为少见, 目前又无特异的临床表现及诊断标准, X线造影不敏感^[5], 最好方法便是胃镜、活检加无菌穿刺针穿刺检查为金标准。对其治疗以内镜治疗加内科保守治疗和高压氧极为有效。学者认为PCI是肠道内气体(H_2)产气增多^[6](细菌或食物分解)加之肠道狭窄等原因, 使压力增

加, 气体从黏膜微小破损处进入肠壁, 而给予高浓度、高流量氧气或进入高压氧舱治疗, 一方面高浓度氧可弥散入气囊泡中以置换囊泡中非氧气体, 一方面可以控制厌氧性产气荚膜菌感染。我们使用的氧浓度为70%氧分压为26.6-45.5 kPa, 持续4-5 d。为了避免氧对肺和中枢神经系统的毒性作用, 我们主要采用高压氧舱治疗, 压力为2.5个大气压, 每天2 h, 持续5-10 d, 同时内镜下治疗相结合。

总之, ACS是一种新型少见的病症, 又无特殊的临床症状和诊断标准, 对于其诊断、治疗也无什么独特方法。故建议仿照PCI的方法, 行之有效。注意与胃息肉的鉴别。

3 参考文献

- 1 李楠, 朱建华, 沙立娜, 黄俊, 陈伟. 结肠气囊肿症的内镜诊治与分析五例. 中华消化内镜杂志 2010; 27: 93-94
- 2 黄志刚, 陈锡美, 张东伟. 肠气囊肿症二例与文献复习. 中华消化内镜杂志 2006; 26: 847-848
- 3 Braumann C, Menenakos C, Jacobi CA. Pneumatosis intestinalis—a pitfall for surgeons? *Scand J Surg* 2005; 94: 47-50
- 4 杨永耿, 杜娟, 李英存, 兰生梅. 高原地区结肠气囊肿症临床分析. 高原医学杂志 2007; 21: 245
- 5 赵殿辉, 万卫平, 陆青云, 许建国, 陈民强. 结肠气囊肿症1例. 中国医学影像学技术 2008, 24: 39
- 6 俞同福, 孔繁福, 虞梅玲, 华一兵, 杨树平. 肠气囊肿症1例的CT诊断价值. 南京医科大学学报(自然科学版) 2007; 27: 104

编辑 李军亮 电编 吴鹏联

《世界华人消化杂志》投稿须知

《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核心期刊、中文核心期刊要目总览收录的学术类期刊。

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(ISSN 1009-3079, CN 14-1260/R)》是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊。OA最大的优点是面向全国本领域专家及公众开放无需注册, 免费获取PDF等格式的全文, 切实破除了传统性期刊阻碍科学研究成果快速传播的障碍。OA是一项真正意义上的公益性科学传播工具, 编委、作者和读者利益的最大化的目标, 努力推进本学科的繁荣和发展。

《世界华人消化杂志》定价56.00元, 全年2016.00元, 邮发代号82-262, 由世界华人消化杂志编辑部出版。《世界华人消化杂志》主要报道胃肠病学、肝胆病学、胰腺病学、内镜介入与消化外科等多学科的评论及基础研究和临床实践等各类文章, 具体内容涉及: 食管疾病, 如反流性食管炎、Barret's食管、食管静脉曲张和食管癌等; 胃部疾病, 胃食管反流性疾病、胃炎、胃动力障碍、胃出血、胃癌和幽门螺杆菌感染等; 肠道疾病, 如肠道出血、肠穿孔、肠梗阻、肠道炎症(如IBD/CD等)、肠道感染、大肠癌和大肠腺瘤等; 肝胆部疾病如病毒性肝炎、肝硬化、脂肪肝、肝纤维化、肝衰竭、胆石病、胆汁郁积、梗阻性黄疸、肝癌、胆囊癌、胆管癌和门静脉高压等; 胰腺疾病, 如胰腺炎和胰腺癌等; 全身性疾病涉及消化系统, 如自身免疫性及瘀胆性疾病、腹腔疾病、消化不良和代谢性疾病等; 以及与以上疾病相关的基因及基因组学、微生物及分子生物学、病因学、流行病学、免疫学、临床内外科诊断与治疗(如影像、化疗、移植、营养等); 除以上外, 本刊也报道诊断与筛选、内窥镜检查法、影像及先进技术。

《世界华人消化杂志》被国际检索系统美国《化学文摘》(Chemical Abstracts, CA)、荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBase/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》收录。国内为中国科技论文统计与分析期刊(科技部列选为中国科技论文统计源期刊)、《中文核心期刊要目总览》(2008年版)内科学类的核心期刊、《中国学术期刊评价研究

报告-RCCS权威、核心期刊排行榜与指南》和中国知识资源总库收录。2008年度《世界华人消化杂志》总被引频次为2480, 位居内科学类41种期刊的第6位; 影响因子为0.547, 位居内科医学类41种期刊的第17位。《世界华人消化杂志》即年指标0.059, 他引率0.79, 地区分布数29, 基金论文比0.340, 国际论文比0.00, 学科影响指标0.59, 综合评价总分49.5, 位居内科学类41种期刊的第8位。

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, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标. 静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P^H, *H. pylori*不能写成HP, $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T_{1/2}, Vmax不能Vmax, μ 不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数K; 一些统计学符号(如样本数n, 均数mean, 标准差SD, F检验, t检验和概率P, 相关系数r); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如N, O, P, S, d, l)如n-(normal, 正), N-(nitrogen, 氮), o-(ortho, 邻), O-(oxygen, 氧, 习惯不译), d-(dextro, 右旋), p-(para, 对), 例如n-butyl acetate(醋酸正丁酯), N-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), o-cresol(邻甲酚), 3-O-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), d-amphetamine(右旋苯丙胺), l-dopa(左旋多巴), p-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写in vitro, in vivo, in situ; Ibid, et al, po, vs; 用外文字母代表的物理量, 如m(质量), V(体积), F(力), p(压力), W(功), v(速度), Q(热量), E(电场强度), S(面积), t(时间), z(酶活性, kat), t(摄氏温度, °C), D(吸收剂量, Gy), A(放射性活度, Bq), ρ (密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L), ϕ (体积分数, mL/L), w(质量分数, mg/g), b(质量摩尔浓度, mol/g), l(长度), b(宽度), h(高度), d(厚度), R(半径), D(直径), T_{\max} , C_{\max} , Vd, $T_{1/2}$ CI等. 基因符号通常用小写斜体, 如ras, c-myc; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家

标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如30 kD改为 M_r 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即 A_r (A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、-及-后列出. 在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d. 3.56 ± 0.27 pg/ml应为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用 1×10^{12} /L, WBC数用 1×10^9 /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字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO₂, 50 mL/L CO₂; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6} ; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

《世界华人消化杂志》为中国科技论文统计源核心期刊(2009年)和中文核心期刊要目总览(北京大学图书馆, 2008年版)收录的学术期刊.

《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: 010-85381901, 传真: 010-85381893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

2.5 统计学符号 (1) t 检验用小写 t ; (2) F 检验用英文大写 F ; (3)卡方检验用希文小写 χ^2 ; (4)样本的相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (6)样本数用英文小写 n ; (7)概率用英文斜体大写 P . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 \pm 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$, 平均数 \pm 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$. 统计学显著性用 $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP < 0.05$, $^dP < 0.01$; 第三套为 $^eP < 0.05$, $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1000-1500 kg, 3.5 mmol/L \pm 0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3614.5 g \pm 420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg \pm 0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm \pm 0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48 \rightarrow 23.5 \rightarrow 24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 ≤ 100 , 百分数到个位; $101 \leq$ 分母 ≤ 1000 , 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1486800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号

分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、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

大学医学院附属医院仁济医院,上海市消化疾病研究所。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象。应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度。研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准。如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 P , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材

料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$; 第3套为^e $P<0.05$, ^f $P<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。黑白图请附黑白照片, 并考入磁盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片。彩色图片大小 $7.5\text{ cm}\times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴。

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

《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。北京报刊发行局发行, 邮发代号: 82-262。

2010年,《世界华人消化杂志》将坚持开放获取(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。

角加方括号注明角码。文中如列作者姓名,则需在“Pang等”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在论述的句末右上角注角码号。如马连生^[1]报告……,潘伯荣等^[2-5]认为……;PCR方法敏感性高^[6-7]。文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊:序号,作者(列出全体作者),文题,刊名,年,卷,起页-止页, PMID和DOI编号;书籍:序号,作者(列出全部),书名,卷次,版次,出版地,出版社,年,起页-止页。

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接,包括首次提交的稿件,同行评议人报告,作者给审稿人回信和作者修回稿,以PDF格式上传。读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见,指出问题与不足;作者也可以随时修改完善自己发表的论文,使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程。

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcgy.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 d。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。接受后的稿件作者需缴纳稿件处理费及发表费,文章发表后可获得1本样刊及10套单行本(稿酬)。

6 修回稿须知

6.1 修回稿信件 来稿包括所有作者签名的作者投稿函。内容包括:(1)保证无重复发表或一稿多投;(2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突;(3)所有作者均审读过该文并同意发表,所有作者均符合作者条件,所有作者均同意该文代表其真实研究成果,保证文责自负;(4)列出通讯作者的姓名、职称、地址、电话、传真和电子邮件;通讯作者应负责与其他作者联系,修改并最终审核复核稿;(5)列出作者贡献分布;(6)来稿应附有作者工作单位的推荐信,保证无泄密,如果是几个单位合作的论文,则需要提供所有参与单位的推荐信;(7)愿将印刷版和电子版出版权转让给本刊编辑部。

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后,认为内容需要修改、补充或删除时,本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见寄回给作者修改,而作者必须于15 d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寄回编辑部,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:010-8538-1892

传真:010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

2010年国内国际会议预告

2010-06-17/21

2010年全国肝脏疾病临床学术大会暨欧洲肝病学会日

会议地点: 厦门市

联系方式: zhgz@vip.163.com

2010-07-15/17

2010年中国医师协会内分泌代谢科医师分会年会

会议地点: 广州市

联系方式: Endocri_hy@dmed-bj.com

2010-07-15/18

第四届地坛国际感染病会议(DICID)

会议地点: 北京市

联系方式: info@bjditan.org

2010-08-18/21

第二十一届世界癌症大会

会议地点: 深圳市

联系方式: bgs@caca.sina.net

2010-08-19/22

第二十二次全国中西医结合消化学术会议

会议地点: 苏州市

联系方式: szzyy88@163.com

2010-09-01

中华医学会第十次全国消化系疾病学术会议

会议地点: 成都市

联系方式: <http://www.csgd.org.cn/2010/>

2010-09-01

第二次肝纤维化、肝硬化学术会议

会议地点: 太原市

联系方式: lijuyi@cma.org.cn

2010-09-08/12

第九届全国介入放射学学术大会

会议地点: 广州市

联系方式: csir2010@163.com

2010-09-09/11

中华医学会第十一次全国感染病学术会议

会议地点: 重庆市

联系方式: infectioncma@163.com

2010-09-10/12

第四届国际肝病学会年会

会议地点: 加拿大, 蒙特利尔

联系方式: info@ilca-online.org

2010-09-16/19

第十三届全国临床肿瘤学大会暨2010年CSCO学术年会

会议地点: 北京市

联系方式: <http://reg.cSCO.org.cn/reg2010/>

2010-09-21/25

肝脏疾病病理基础及治疗进展

会议地点: 西安市

联系方式: 029-85323924

2010-10-12/16

无创性肝纤维化诊断及常见肝病新进展学习班

会议地点: 南京市

联系方式: 025-80864021

2010-10-23/27

第十八届欧盟胃肠病周

会议地点: 西班牙, 巴塞罗那

联系方式: <http://uegw10.uegf.org/>

2010-10-28/30

中华医学会第十次全国消化系疾病学术会议

会议地点: 成都市

yjliu@cma.org.cn

2010-11-17/20

中华医学会糖尿病学分会第十四次全国学术会议

会议地点: 苏州市

联系方式: fredfeng@cma.org.cn

2010-11-17/21

消化及消化内镜前沿理论和技术学习班

会议地点: 南京市

联系方式: 025-80004616

2010-11-18/21

第十四届全国胆道外科学术会议暨2010中国国际肝胆外科论坛

会议地点: 上海市

联系方式: ncbs_cifhbs@126.com

2010-12-02/06

第九届广东省消化内镜学术年会

会议地点: 广州市

联系方式: 020-61641541

2010-12-26/30

肝胆疾病-肝功能衰竭治疗新理念

会议地点: 南京市

联系方式: 025-83106666-66866

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

陈光 教授
吉林大学第一医院消化器官外科

陈洪 副教授
东南大学附属中大医院消化科

陈进宏 副主任医师
复旦大学附属华山医院外科

陈立波 教授
华中科技大学同济医学院附属协和医院肝胆外科中心

仇毓东 副教授
南京大学医学院附属鼓楼医院肝胆外科

董蕾 教授
西安交通大学第二附属医院消化内科

杜祥 教授
复旦大学附属肿瘤医院病理科

樊晓明 主任医师
复旦大学附属金山医院消化科

房林 副教授
同济大学附属上海市第十人民医院普外科

傅春彬 主任医师
吉化集团公司总医院一院消化内科

何超 教授
浙江大学医学院附属邵逸夫医院肛肠外科

何裕隆 教授
中山大学附属第一医院胃肠胰腺外科

黄志勇 教授
华中科技大学同济医院普外科

姜卫东 副教授
安徽省立医院肝脏外科

李华 副教授
中山大学附属第三医院肝胆外科

李健丁 教授
山西医科大学第一医院放射科CT室

李淑德 主任医师
中国人民解放军第二军医大学长海医院消化内科

李涛 副主任医师
北京大学人民医院肝胆外科

刘丽江 教授
江汉大学医学院病理学

潘秀珍 教授
福建省立医院消化内科

施诚仁 教授
上海交通大学医学院附属新华医院小儿外科

邵升 副教授
哈尔滨医科大学附属二院肝胆外科

唐世刚 教授
大连大学附属中山医院消化内科

王炳元 教授
中国医科大学附属第一医院消化内科

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

王石林 主任医师
中国人民解放军空军总医院普通外科

王志刚 副主任医师
上海市第六人民医院普外科

魏继福 副研究员
江苏省人民医院中心实验室

张明辉 副主任医师
河北医科大学第一医院肝病中心

周伟平 教授
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院肝外三科