ISSN 1009-3079
CN 14-1260/R

世界华人消化杂志

世界华人消化杂志®

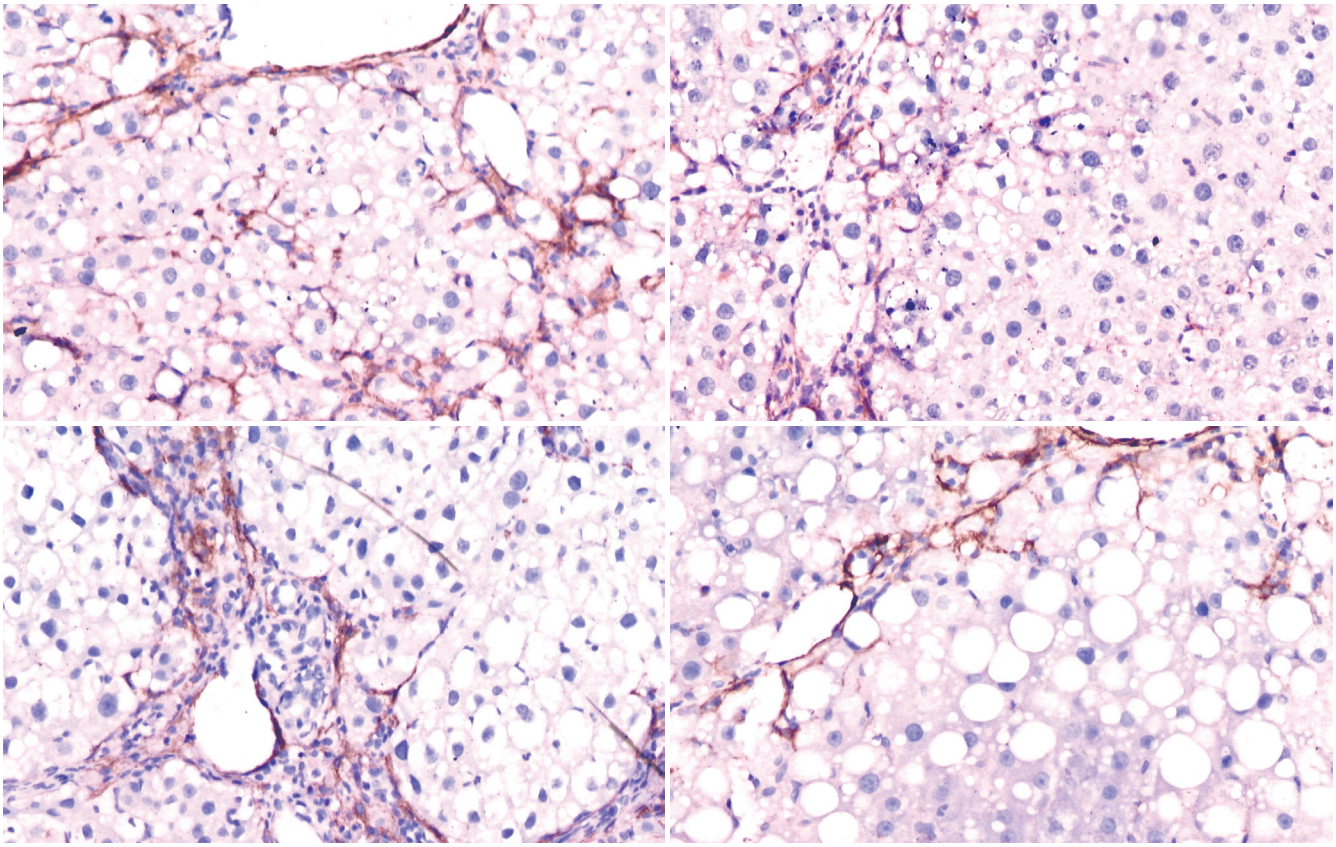
WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2009 年 6 月 28 日　第 17 卷　第 18 期　(Volume 17 Number 18)

www.wjgnet.com

二零零九年六月二十八日　第十七卷　第十八期



18 / 2009

ISSN 1009-3079

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
杨思凤教授
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
苌新明教授
陈洪副教授
陈其奎教授
陈卫昌教授
陈贻胜教授
程斌副教授
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
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
刘海林主任医师
刘占举教授
陆伦根教授
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
王承党副教授
王晓艳副教授
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
周国雄主任医师
朱春兰主任医师
邹晓平主任医师

消化外科学

别平教授
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
陈立波副教授
陈凛教授
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
龚建平教授
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
英卫东副主任医师
蒋龙元副教授
李国威教授
李华副教授
李华山主任医师
李靖副教授
李奇林教授
李胜研究员
李涛副主任医师
李文岗副教授
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
刘作金副教授
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
邰升副教授
汤恢焕教授
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

世界华人消化杂志®

编辑委员会

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
陈耀凯副教授
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
刘杞教授
刘正稳教授
貌盼勇研究员
宁琴教授
钱林学主任医师
秦波教授
石统东副教授
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
张绪清副教授
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

消化中医药学

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

曹秀峰主任医师
曹志成院士
陈公琰主任医师
李瑗教授
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
扬业发教授
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
彭曦副研究员
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
田颖刚副研究员
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
阴赪宏研究员
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
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
阎晓初副教授
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 ●　2009 年 6 月 28 日　第 17 卷　第 18 期　(总第278期)

述　评

1803 干扰素治疗慢性乙型肝炎的分子机制研究进展
刘汉屈, 秦波

基础研究

1809 胃癌耐药细胞株OCUM-2M/VP16的建立及其耐药机制
邱红, 丁方勇, 熊慧华, 张明生, 李瑞超, 陈元

1815 槲皮素对胃肠运动的影响及其机制
黄伟锋, 欧阳守, 林燕飞, 张慧

1821 白屈菜红碱对肝纤维化大鼠肝脏TGF-β1和α-SMA表达的影响
李映菊, 汪煜华, 刘映霞

1827 仓鼠胰腺癌细胞株移植性肝癌模型的建立及其生物学特性
毛庭枝, 周巧灵, 梁荣感, 戴支凯, 罗伟生, 肖胜军, 徐庆

1832 介入途径下中药白芨提取物作为基因递送载体的可行性
夏向文, 李欣, 冯敢生, 郑传胜, 梁惠民, 柳曦, 熊斌

临床研究

1836 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
魏学明, 顾国利, 任力, 熊梅, 王石林, 李德昌

文献综述

1842 肿瘤标志物在食管鳞状细胞癌中的研究与应用
王皓, 钟理, 王建飞, 张小刚

1849 氯吡格雷对胃肠道的损害及其防治
孙沂, 樊宏伟, 张振玉

1855 RegⅣ与消化系肿瘤研究进展
高雅玲, 任建林

研究快报

1860 NHE-1与肝星状细胞增殖的关系及姜黄素对其的影响
胡泰洪, 黄利华, 杨玲, 朱清静, 朱锐, 蒋跃明

1864 色满类化合物HEF-19对家兔离体肠管平滑肌的舒张作用
韦元元, 付守廷, 胡春, 朱岚, 王冰, 汪慧慧

临床经验

1868 腹腔镜下应用补片治疗食管裂孔疝3例
许东, 吴硕东, 苏洋, 李兰瑛

1871 肾周脂肪囊厚度在脂肪肝诊断中的应用价值
桑亮, 王学梅, 王炳元, 欧国成, 刘艳君

1875 急性戊型肝炎临床分析221例
黄云丽, 李卓, 郝娃, 谢玉兰, 陈新月

1879 超声造影对高强度聚焦超声治疗肝细胞癌的疗效评价
林玲, 桂永忠, 梁郑, 陈健, 卢强, 闽敏

1883 NDRG1在原发性肝细胞癌及胎肝中的表达及意义
陈金培, 杨耀湘

1888 双途径化疗联合伽玛刀治疗局部晚期胰腺癌12例
夏念信, 邱宝安, 温居一, 祝建勇, 刘澎

1894 幽门螺杆菌感染与特发性血小板减少性紫癜关系的荟萃分析
谭勇, 施瑞华, 赵福军

病例报告	1901 胃良性病变行全胃切除2例 黄恺, 傅红, 师英强, 周烨, 杜春燕 1905 直肠腺类癌临床诊治2例 夏翠锋, 李云峰, 李强
致　　谢	1908 致谢世界华人消化杂志编委
消　　息	1808 《世界华人消化杂志》正文要求 1814 《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》 1820 第九次全国消化系疾病学术会议征文通知 1826 第九届全国消化系恶性病变介入诊疗研讨会暨内镜/介入新技术论坛征文通知 1831 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 1841 《世界华人消化杂志》数字用法标准 1848 2009年广东省中西医结合、中医脾胃消化病学术会议暨国家级继续教育项目消化病进展研讨班征文通知 1854 《世界华人消化杂志》栏目设置 1859 汤姆森-路透公布2008年*WJG*影响因子2.081 1863 《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》 1867 2007年内科学类期刊总被引频次和影响因子排序 1870 《世界华人消化杂志》参考文献要求 1874 《世界华人消化杂志》计量单位标准 1878 《世界华人消化杂志》投稿方式 1882 《世界华人消化杂志》中文摘要要求 1893 《世界华人消化杂志》英文摘要要求 1907 *World Journal of Gastroenterology*成功通过评审被PMC收录 1904 中国科技期刊引证报告(核心版)发布《世界华人消化杂志》2007年影响因子0.568
封面故事	李映菊, 汪煜华, 刘映霞. 白屈菜红碱对肝纤维化大鼠肝脏TGF-β1和α-SMA表达的影响. 世界华人消化杂志 2009; 17(18): 1821-1826 http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1821.asp
本期责任人	编务 刘晓芳; 送审编辑 李军亮; 组版编辑 何基才; 责任编辑 李军亮; 英文编辑 张海宁, 张晓枚; 审核编辑 张海宁; 形式规范 马连生

世界華人消化雜志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平　题写封面刊名
陈可冀　题写版权刊名

(旬刊)

创　刊 1993-01-15
改　刊 1998-01-25
出　版 2009-06-28
原刊名 新消化病学杂志

名誉总编辑 潘伯荣
总　编　辑 马连生
常务副总编辑 张海宁
编辑部主任 张海宁
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

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
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
印刷 北京科信印刷厂
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)
订购 全国各地邮电局
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

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.

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

特别声明

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

2009年版权归世界华人消化杂志所有

中国标准连续出版物号	邮发代号	国外代号	国内定价	广告经营许可证
ISSN 1009-3079 **CN** 14-1260/**R**	82-262	**M** 4481	每期24.00元　全年864.00元	1401004000050

World Chinese Journal of Digestology

June 2009 Contents in Brief Volume 17 Number 18

EDITORIAL

1803 Advance in molecular mechanism of interferon to treat chronic hepatitis B
Liu HQ, Qin B

BASIC RESEARCH

1809 Establishment of VP16-resistant gastric cell line and its multi-drug resistance mechanism
Qiu H, Ding FY, Xiong HH, Zhang MS, Li RC, Chen Y

1815 Effect of quercetin on gastrointestinal motility and its mechanism
Huang WF, Ouyang S, Lin YF, Zhang H

1821 Effects of chelerythine on hepatic TGF-β1 and α-SMA expression in rats with hepatic fibrosis
Li YJ, Wang YH, Liu YX

1827 Establishment of an implanted liver tumor model of hamster with the pancreatic cancer cell line pGHAM-I of hamster and its biologic characteristics
Mao TZ, Zhou QL, Liang RG, Dai ZK, Luo WS, Xiao SJ, Xu Q

1832 Feasibility of a polysaccharide isolated from *Bletilla striata* used as a gene vector administered through an interventional pathway
Xia XW, Li X, Feng GS, Zheng CS, Liang HM, Liu X, Xiong B

CLINICAL RESEARCH

1836 Expression of EGFR, HER-2, VEGF in tumour tissues and their directive significance for the molecular targeting therapy of colorectal carcinoma
Wei XM, Gu GL, Ren L, Xiong M, Wang SL, Li DC

REVIEW

1842 Research and application of tumor markers in esophageal squamous cell carcinoma
Wang H, Zhong L, Wang JF, Zhang XG

1849 Clopidogrel induced gastrointestinal damage and its prevention
Sun Y, Fan HW, Zhang ZY

1855 Advances in RegIV and alimentary system neoplasms
Gao YL, Ren JL

RAPID COMMUNICATION

1860 Influence of curcumin on NHE-1 mRNA and hepatic stem cell proliferation and their correlations
Hu TH, Huang LH, Yang L, Zhu QJ, Zhu R, Jiang YM

1864 Relaxant effect of a chromane HEF-19 on intestinal smooth muscles isolated from rabbits
Wei YY, Fu ST, Hu C, Zhu L, Wang B, Wang HH

CLINICAL PRACTICE

1868 Laparoscopic repair of paraesophageal hernia with patch application: an analysis of 3 cases
Xu D, Wu SD, Su Y, Li LY

1871 Value of fatty renal capsule thickness in diagnosis of fatty liver disease
Sang L, Wang XM, Wang BY, Ou GC, Liu YJ

1875 A clinical analysis of 221 patients with acute hepatitis E
Huang YL, Li Z, Hao W, Xie YL, Chen XY

1879 Contrast-enhanced ultrasound in assessment of the therapeutic efficacy of high intensity focused ultrasound in treating hepatocellular carcinoma
Lin L, Gui YZ, Liang Z, Chen J, Lu Q, Min M

1883 Expression of NDRG1 in primary hepatocellular carcinoma and fetal liver and its significance
Chen JP, Yang YX

1888 Therapeutic effect of two-pathway chemotherapy in combination with gamma-ray stereotactic radiotherapy on local advanced pancreatic cancer: an analysis of 12 cases
Xia NX, Qiu BA, Wen JY, Zhu JY, Liu P

1894 Relationship between *Helicobacter pylori* infection and idiopathic thrombocytopenic purpura: a meta-analysis
Tan Y, Shi RH, Zhao FJ

CASE REPORT

1901 Total gastrectomy for benign diseases: a two-case report and literature review
Huang K, Fu H, Shi YQ, Zhou Y, Du CY

1905 Treatment of rectal adenocarcinoid: a two-case analysis
Xia CF, Li YF, Li Q

ACKNOWLEDGMENT

1908 Acknowledgments to reviewers of World Chinese Journal of Digestology

COVER

Li YJ, Wang YH, Liu YX. Effects of chelerythine on hepatic TGF-β1 and α-SMA expression in rats with hepatic fibrosis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(18): 1821-1826
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1821.asp

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Xiao-Fang Liu* Review Editor: *Jun-Liang Li* Electronic Page Editor: *Ji-Cai He*
Editor-in-Charge: *Jun-Liang Li* English Language Editor: *Hai-Ning Zhang, Xiao-Mei Zhang*
Proof Editor: *Hai-Ning Zhang* Layout Editor: *Lian-Sheng Ma*

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 28, 2009

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: wcjd@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: wcjd@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: Hai-Ning Zhang

SUBSCRIPTION
RMB 24 Yuan for each issue
RMB 864 Yuan for one year

CSSN
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

COPYRIGHT
© 2009 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 © 2009 by Editorial Department of *World Chinese Journal of Digestology*

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年6月28日; 17(18): 1803-1808
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

述评 EDITORIAL

干扰素治疗慢性乙型肝炎的分子机制研究进展

刘汉屈, 秦 波

刘汉屈, 秦波, 重庆医科大学附属第一医院感染科 重庆市 400010
秦波, 主任医师, 教授, 擅长各种感染性疾病尤其是病毒性肝炎、酒精性肝炎、药物性肝炎、脂肪肝和肝硬化等肝病的诊断和治疗.
作者贡献分布: 本文综述由刘汉屈完成; 秦波审校.
通讯作者: 秦波, 教授, 400010, 重庆市, 重庆医科大学附属第一医院感染科. cqqinbo@126.com
电话: 023-89012056
收稿日期: 2009-04-28 修回日期: 2009-06-05
接受日期: 2009-06-08 在线出版日期: 2009-06-28

Advance in molecular mechanism of interferon to treat chronic hepatitis B

Han-Qu Liu, Bo Qin

Han-Qu Liu, Bo Qin, Department of Infectious Disease, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China
Correspondence to: Professor Bo Qin, Department of Infectious Disease, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China. cqqinbo@126.com
Received: 2009-04-28 Revised: 2009-06-05
Accepted: 2009-06-08 Published online: 2009-06-28

Abstract
The antiviral efficacy of interferon-α (IFN-α) therapy for chronic hepatitis B (CHB) is not only related to DNA load and genetype of HBV before treatment, gene mutation of HBV and polymorphism of type II HLA in the host, but also depends on the immunity of CHB patients. Researchers pay more and more attention to the mutant strain of virus and phenotypes of genes. However, the mechanism of interferon to resist HBV and the escape mechanism of HBV against the IFN therapy have not been clarified yet. This paper reviews the mechanism of IFN therapy and the influencing factors at molecular and genetic levels.

Key Words: Interferon; Chronic hepatitis B; Therapy; Gene

Liu HQ, Qin B. Advance in molecular mechanism of interferon to treat chronic hepatitis B. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(18): 1803-1808

摘要
IFN-α治疗慢性乙型肝炎的反应不仅与治疗前HBV DNA载量、HBV基因型、HBV基因组的点突变以及宿主Ⅱ类HLA基因的多态性等因素有关, 而且也与患者免疫状况有关, 病毒突变株及基因表型日益受到关注. IFN抗HBV的作用机制及HBV逃逸IFN治疗的机制尚未完全明确. 本文从基因、蛋白质和细胞等方面对相关影响因素及机制进行综述.

关键词: 干扰素; 慢性乙型肝炎; 治疗; 基因

刘汉屈, 秦波. 干扰素治疗慢性乙型肝炎的分子机制研究进展. 世界华人消化杂志 2009; 17(18): 1803-1808
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1803.asp

0 引言
据统计, 全球约有4亿人感染乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV), 每年近100万人死于HBV感染. 应用有效的抗病毒药物对于最大限度长期抑制HBV, 减少和防止肝功能失代偿、肝硬化、肝癌等并发症的发生具有重要意义. 目前, 慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)的抗病毒治疗包括IFN-α治疗和核苷(酸)类似物治疗[1]. IFN-α作为首选抗HBV药物之一, 主要是通过诱导细胞产生抗病毒蛋白和免疫调节来达到抗病毒的作用, JAK-STAT途径是经典的IFN信号转导途径[2]. Robeck *et al*[3]研究表明, Janus激酶在IFN抗HBV中起主要作用. Zhang *et al*[4]亦研究发现, JAK-STAT信号转导途径在介导IFN-α抗HBV效应中起主要作用, 且ISGF3(包括STAT1、STAT2、IRF-9)可能是一个关键的因子.

与核苷类似物相比, IFN-α治疗应答持续更久, 但是IFN-α治疗CHB有效率仍然较低, 仅为30%-50%[5], 许多因素决定着IFN-α抗病毒疗效. 国内外许多研究表明, 感染HBV的临床表现与宿主及病毒有关, IFN治疗的反应不仅与治疗前HBV DNA载量、HBV基因型、HBV病毒基因组的点突变以及宿主Ⅱ类HLA基因的多态性等因素有关, 而且也与CHB患者免疫状况如肝炎

■背景资料
据统计, 全球约有4亿人感染乙型肝炎病毒(HBV), 每年近100万人死于HBV感染. 应用有效的抗病毒药物对于最大限度长期抑制HBV, 减少和防止肝功能失代偿、肝硬化、肝癌等并发症的发生具有重要意义. 目前, 慢性乙型肝炎(CHB)的抗病毒治疗包括IFN-α治疗和核苷(酸)类似物治疗. 与核苷类似物相比, IFN-α治疗应答持续更久, 但是IFN-α治疗CHB有效率仍然较低, 仅为30%-50%, 许多因素决定着IFN-α抗病毒疗效.

■同行评议者
唐霓, 副研究员, 重庆医科大学病毒性肝炎研究所国家级重点实验室; 曹洁, 副教授, 中国人民解放军第二军医大学微生物学教研室

■研发前沿
全球CHB发病率及病死率高，IFN-α抗HBV治疗应答持续更久，疗程固定，但治疗应答率仍较低，IFN抗HBV的作用机制及引起IFN治疗无应答的内在机制尚未完全明确.

活动程度、抗原递呈细胞功能状态、CTL功能及数量乃至遗传背景等有关[6-7]，病毒突变株及基因表型日益受到关注. IFN抗HBV的作用机制及引起IFN治疗无应答的内在机制尚未完全明确，本文以下从基因水平、蛋白质水平和细胞水平等方面对相关影响因素及机制进行概述，为探索IFN治疗无应答的分子机制，寻找预测IFN治疗疗效的指标以及寻求新的治疗方法提供一定的思路.

1 基因水平

1.1 宿主Ⅱ类HLA基因的多态性及HBV基因型

宿主Ⅱ类HLA基因的多态性可能影响HBV感染的易感性及对IFN治疗的应答，与其他HLA-DRB1等位基因比较，HLA-DRB1*14等位基因对IFN治疗的高应答率有关，HLA-DQB1*07可能与IFN治疗的低应答率有关[8].

目前发现HBV有8种基因型，呈地域性分布. 研究表明HBV基因型对慢性HBV感染的自然病程、临床结局、抗病毒治疗等具有影响. Halfon *et al*[9]，Kao *et al*[10]提出：HBV基因型与IFN疗效存在相关性，A基因型与B基因型对于扰素的应答率分别较D基因型与C基因型均更高，感染A和B型HBV的患者应用IFN-α的治疗效果要显著好于感染C和D型HBV的患者.

1.2 肝细胞及病毒基因谱变化

1.2.1 细胞基因谱：在IFN治疗无应答相关基因的研究方面，国内外学者发现HBV感染的细胞系在基因谱的表达上存在差异[11]. Xiong *et al*[12]研究表明IFN-α/γ不同程度的调节了许多与激酶和信号转导、转录调节、抗原提呈和加工相关的基因，发现一些IFN差别调节基因，如MyD88、Diubiquitin抑制HBV的基因表达，而MyD88已证明可抑制HBV的复制. Wieland *et al*[13]研究鉴别了29种与抑制HBV复制紧密相关的基因，发现Ⅰ型、Ⅱ型IFN极强的诱导了免疫保护、泛素样蛋白的多重组件及许多GTP结合蛋白，包括具有抗病毒活性的GTP酶、化学增活素、信号分子、与抗原加工相关的多种基因等，并提出一个或更多相对较小亚型的基因成员可能介导了IFN的抗病毒活性，且IFN的抗病毒效能呈蛋白酶体依赖. 这些差别基因的发现是抗HBV治疗的一个潜在新靶点.

1.2.2 病毒基因突变体：Xu *et al*[14]和Lampertico *et al*[15]研究发现HBV前C区突变的存在是IFN治疗是否应答的一个决定因素，前C区突变体与IFN的持续应答及未经IFN治疗的HBV携带者血清由HBeAg自行转换成HBeAb有关. Wang *et al*用野生型HBV及含有前C区突变体的HBV转染Huh7细胞研究发现，前C区突变的HBV存在IFN-α治疗抵抗，C区双突变的HBV具有较野生型HBV更强的病毒复制能力及对IFN-α的更低的治疗应答率[16-17]. HBV基因组C区在转录水平调节HBeAg分泌，C区的基因突变与HbeAg阴性的CHB有关，HbeAg阴性的CHB对IFN治疗的持续应答率较低. 王卫峰 *et al*[18]体外研究IFN-α-2b作用下HBV突变机制，发现在rhlIFN-α-2b高剂量条件选择下，能检测到HepG2.2.15 HBV前C/C基因插入或缺失突变株，突变株与优势株相比基因序列同源性平均在97%以上.

1.2.3 单个核甘酸多态性：King *et al*[19]收集IFN治疗CHB有应答者46例和无应答者36例，对IFN信号传导途径中的22个单个核甘酸多态性(single nucleotides polymorphism, SNP)进行分析，发现真核细胞翻译启始因子2(eIF-2α)调节区SNP杂合子(A/G)在IFN应答组占22%，而IFN无应答组仅占2%，而MxA 88为G/T杂合子在IFN应答组中占43%，而无应答组为19%，杂合子率有应答组高于无应答组. 目前国内一些单位开始利用SNP分型来预测IFN的疗效，但是其预测IFN疗效的阴性预测值和阳性预测值有待进一步评定.

2 蛋白质分子水平

2.1 MxA蛋白

MxA蛋白是Ⅰ型IFN(IFN-α/γ)诱导产生的分布于细胞质中的蛋白质，具有广谱的抗病毒活性. 多种研究证明GTP酶的活性在MxA蛋白抗RNA病毒中起关键作用，最近研究表明MxA能够抑制HBV的复制. Gordien *et al*研究发现，经IFN-α刺激后，MxA应答在CHB患者中明显低于健康对照，而且HBV DNA滴度高的患者MxA的应答更弱；HBcAg在胞质中的表达能够导致IFN抵抗，其能够直接与MxA启动子区第2和第3个ISRE直接结合，抑制MxA的表达，这也是HBV逃避IFN-α诱导的免疫清除方式[20-21]. 通过研究MxA对HBV复制的直接抑制作用，发现MxA能够抑制HBsAg和HBcAg的表达，并且提示MxA对HBV复制的抑制是通过减少HBV RNA从细胞核至细胞质的转运实现的，目前MxA对HBV转录后调控的具体机制尚不明确. 而Yu *et al*[22]研究发现，GTP酶的缺失突变体(K83A、T103A、L612K)能下调细胞外HBsAg和HBeAg，并且其在HepG2细胞中降低细胞内外

■相关报道
国内外许多研究表明，感染HBV的临床表现与宿主及病毒有关，IFN治疗的反应不仅与治疗前HBV DNA载量、HBV基因型、HBV病毒基因组的点突变以及宿主Ⅱ类HLA基因的多态性等因素有关，而且也与CHB患者免疫状况如肝炎活动程度、抗原递呈细胞功能状态、CTL功能及数量乃至遗传背景等有关，病毒突变株及基因表型日益受到关注.

HBV DNA的表达水平于野生型MxA相似, 提出GTP酶的活性在MxA抑制HBV的复制中是非必须的, 且或许MxA对HBV在细胞核复制周期中仅有极少的影响.

2.2 Toll样受体 Toll样受体(toll-like receptors, TLRs)在先天性免疫反应中起着关键作用. Isogawa *et al*[23]给转基因小鼠静脉单一注射了TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR7、TLR9的特殊配体, 发现除TLR2外的所有这些配体均以IFN-α/γ依赖的方式在肝脏中非细胞损伤的抑制HBV的复制, 提出TLRs的激活为HBV慢性感染的治疗提供了新的有力的治疗策略. Xia *et al*[24]在肝细胞模型中发现TLRs的激活明显的诱导了IFN-α/γ抗病毒细胞因子的产生, 并抑制了HBV的复制, 指出TLRs在肝细胞中的表达可能与肝脏组织的局部免疫状态及病毒性肝炎的预后有关. Wu *et al*[25-26]研究发现鼠类肝脏非实质细胞中激活的TLRs能抑制HBV的复制, 亦通过类似的细胞实验证实HBV能够抵抗肝脏组织中TLRs所诱导的抗HBV效能, 这对研究HBV与机体免疫系统间的相互作用有重要意义.

2.3 髓样分化因子(MyD88) IFN-α诱导的髓样分化因子(MyD88)是TLRs介导的信号级联放大途径中的一个重要的组件. Xiong *et al*[27]研究发现表达MyD88细胞的HBV蛋白和HBV复制中间体水平降低, 同时细胞中总的及胞质的HBV RNAs明显降低, 而核因子NF-κB活性有所增强. 该研究表明被IFN-α经由MyD88蛋白表达而抑制的HBV复制包括核因子NF-κB信号通路的激活及病毒转录的负性调节, 存在一种新的IFN-α抗HBV机制. Wu *et al*[28]实验研究提出HBV多聚酶(HBV-polymerase)通过一种剂量依赖方式抑制MyD88启动子活性, 其中HBV多聚酶的末端蛋白(TP)区域对该抑制活动起关键作用. HBV多聚酶蛋白表达区域含有STAT1结合位点, HBV多聚蛋白抑制IFN-α诱导的STAT1核转位, 但没有导致STAT1的降解及干扰他的磷酸化. 此外, HBV多聚酶可以抑制ISRE启动子的转录活性和IFN刺激基因(ISGs)如STAT1和ISG15的表达. HBV多聚酶是IFN信号的主要抑制器, 他能通过阻断Stat1核转运抑制MyD88启动子的活性从而抑制IFN诱导的MyD88的表达.

2.4 蛋白质磷酸酶2A(PP2A) 从HBV对IFN诱导信号转导途径的干扰作用来说, Christen *et al*[17]发现HBV可引起蛋白质磷酸酶2A(protein phosphatase 2A, PP2A)的表达明显增强. PP2A是一种异源三聚体蛋白质磷酸酶, 在所有的细胞表型中均表达, 且在HBV转基因小鼠及CHB患者的肝脏组织中表达水平较高. PP2A也具有丝氨酸/苏氨酸磷酸化酶的活性, 参与细胞周期调控及细胞增殖等多种细胞活动过程. HBV感染可引起PP2A超表达使STAT1第31位精氨酸残基甲基化过程受损, 而非或低甲基化的STAT1与PIAS1(STAT1的抑制剂)亲和力较高. 所以PP2A的超表达导致STAT1与PIAS1结合, 从而抑制STAT1与ISGs的结合, 使HBV复制得以继续. 另外, HCV的非结构蛋白3(nonstructural protein 3, NS3)也可增强PP2A的活性, 从而抑制IFN诱导的信号转导途径[29].

Pan *et al*[30]研究表明: NS5A在HCV复制及抑制宿主免疫反应中起关键作用, NS5A增强了HBV-S蛋白及HBV-E蛋白的表达, 提出HCV NS5A在HCV与HBV同时感染时增强了HBV的复制及对IFN的抵抗.

2.5 UBP43与ISG15蛋白 UBP43具有UBP(ubiquitin specific protease)酶家族的特征, 是目前所知唯一的ISG15去结合酶. 研究发现, ISG15以及蛋白质的ISG15共价修饰对刺激细胞增殖、增强细胞毒作用、促进白细胞趋化作用等先天免疫功能以及在IFN调控的过程中有着重要的作用. 用IFN刺激UBP43缺失细胞, 可以观察到STAT1磷酸化增强, 但并没有观察到他自身ISG15共价修饰水平的增加. JAK1及STAT1的ISG15共价修饰有可能与UBP43缺失细胞中IFN信号的增强没有直接关系. Kim *et al*[31]研究发现, 尽管在ISG15激活酶E1(UBE1L)中ISG15结合缺失, 但并不影响HBV的复制, 而HBV在UBP43表达降低时能更快清除, 提出HBV的复制不受ISG15的影响, 但在UBP43表达降低时HBV水平明显降低. 因此, 调整UBP43的水平在治疗对IFN敏感的HBV的感染方面是一个潜在的治疗策略.

2.6 胞嘧啶脱氨酶(APOBEC3s) 细胞固有免疫成分APOBEC3(apolipoprotein B mRNA-editing enzyme catalytic polypeptide-like protein 3)是近年发现的具有抗病毒活性的一个蛋白家族. Turelli *et al*[32]首先报道了hA3G对Huh7细胞中的HBV复制有抑制作用, Turelli的结论被Bonvin *et al*[33]后来的研究者证实. 胞嘧啶脱氨酶APOBEC3能够作用于逆转录病毒细胞内复制过程中, 使其胞嘧啶脱氨形成尿嘧啶, 导致不成熟逆转录病毒cDNA降解, 或者产生没有功能的高突变前病毒. CHB患者HBV序列中存在G-A超突变, 提

■**创新盘点**
本文从基因水平、蛋白质水平和细胞水平对IFN治疗CHB的分子机制研究进展进行综述, 重点突出分子机制.

■应用要点
本文为探索IFN治疗无应答的分子机制, 寻找预测IFN治疗疗效的指标以及寻求新的治疗方法提供一定的思路.

示APOBEC3参与HBV产生负链cDNA的过程. IFN能够诱导APOBEC3 A3G, A3F, A3BL的表达, **他们能在细胞质内与HBV直接结合, 抑制病**毒复制, 导致HBV G-A超突变的发生[34]. 然而, Turelli *et al*[35]和Jost *et al*[36]最近研究发现通过结合RNA干扰及人免疫缺陷病毒转染敲除APOBEC3并不能取消IFN对HBV的抑制, 提出APOBEC3在IFN抗HBV中是非必需因子. APOBEC3蛋白对人体内HBV变异有无影响以及如何利用**他们治疗乙型肝炎都是进一步深入研究探讨的**方向.

3 细胞水平

3.1 树突状细胞 树突状细胞(dendritic cells, DCs)在免疫反应起着关键作用, 最近研究显示: DCs与CHB的发展在一定程度上相关, 并且更多的研究关注于DCs与CHB之间的联系.

Yu *et al*[37]学者研究发现, CD1αDCs在体内能被IFN-α诱导, 并且HLA-DR、CD80和ICAM-1等相关免疫分子在一定程度上增加,这或许是IFN-α治疗CHB的一个重要免疫相关分子机制.

HBV复制过程中产生dsRNA可以与TLR3结合, 然后激活其下游信号传导途径, 通过IFN调节因子(IRF)3、7的协同激活, 在转录水平对IFN-β的表达进行调节, 启动抗病毒免疫. 安宝燕 *et al*[38]研究发现CHB患者IRF3表达异常, 阻断了抗病毒的信号传导, 引起IFN分泌异常, 单核细胞来源的树突状细胞(monocyet dendritic cell, MoDC)不能分化成熟、抗原递呈功能受损, 从而不能有效的诱导天然免疫、激活特异性抗病毒免疫反应, 使HBV感染后出现免疫耐受或者免疫清除障碍, 最终导致HBV持续感染.

Zhang *et al*[39]对儿童CHB患者接受普通IFN治疗后外周血pDCs数量及功能进行了研究, 结果认为: pDCs可能参与到IFN清除HBV的过程, 治疗过程中pDCs数量和功能的恢复, 是疗效较好的标志, 可以作为一项预测因素.

3.2 T淋巴细胞 Th1型细胞因子在IFN疗效中起重要的作用. Rico *et al*[40]报道IFN治疗有应答的患者其外周血和肝脏HBcAg、HBeAg特异性增殖Th细胞的数量明显高于IFN治疗无应答者. 无应答者HBV反应细胞产生以Th2为主的免疫反应, 肝脏内淋巴细胞在IFN有应答者表现为HBV抗原刺激后IFN-γ和IL-12增加, 而无应答者表现相反, 并伴有IL-10的升高.

Genel *et al*[41]调查了40例HBeAg阳性的CHB患者, 分析治疗前临床特征、组织学活动指数和免疫学参数对IFN-α治疗应答的预测价值, 发现由外周血$CD8^+$升高引起的CD4/CD8降低与治疗应答有显著相关性. Tang *et al*[42]发现IFN治疗有应答组, 肝内$CD8^+$ T细胞和$CD8^+$ IFN-γ^+ T细胞明显高于IFN治疗无应答组, CD8 GrB^+ T细胞较无应答组轻微升高治疗前肝组织内$CD8^+$ T淋巴细胞计数高是IFN-α治疗应答率高的预测因素.

4 结论

IFN治疗CHB的疗效由宿主与病毒相互间的作用决定. CHB患者肝脏病变的状态反映了宿主本身清除病毒的反应和病毒对机体造成的间接或直接的损伤; IFN强烈诱导IFN抗病毒蛋白的表达和特异性免疫反应增强, 两者可以抑制HBV的复制. 患者的遗传背景的差异可以导致抗病毒蛋白和免疫应答的不同. 此外, HBV表达的病毒蛋白可以抑制IFN的治疗性作用, 逃避宿主清除的压力. 目前对IFN抗HBV的作用机制虽有一些研究报告, 但IFN治疗乙型肝炎患者表现为持续性的抗病毒免疫反应及无应答的具体机制还有待从细胞因子、基因表达谱等方面作进一步研究阐明.

5 参考文献

1 Lok AS, McMahon BJ. [AASLD Practice Guidelines. Chronic hepatitis B: update of therapeutic guidelines] *Rom J Gastroenterol* 2004; 13: 150-154
2 Brierley MM, Fish EN. Stats: multifaceted regulators of transcription. *J Interferon Cytokine Res* 2005; 25: 733-744
3 Robek MD, Boyd BS, Wieland SF, Chisari FV. Signal transduction pathways that inhibit hepatitis B virus replication. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 1743-1747
4 Zhang Q, Wang Y, Wei L, Jiang D, Wang JH, Rao HY, Zhu L, Chen H, Fei R, Cong X. Role of ISGF3 in modulating the anti-hepatitis B virus activity of interferon-alpha in vitro. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 1747-1761
5 Lau DT, Everhart J, Kleiner DE, Park Y, Vergalla J, Schmid P, Hoofnagle JH. Long-term follow-up of patients with chronic hepatitis B treated with interferon alfa. *Gastroenterology* 1997; 113: 1660-1667
6 Simon K, Rotter K, Zalewska M, Gładysz A. HBV-DNA level in blood serum as a predictor of good response to therapy with interferon-alpha-2b of patients with chronic hepatitis B. *Med Sci Monit* 2000; 6: 971-975
7 Xing TJ, Luo KX, Hou JL. Preliminary identification and analysis of point mutations correlated with response to interferon-alpha in hepatitis B virus post-transcriptional regulatory elements. *Chin Med J* (Engl) 2005; 118: 56-61
8 Han YN, Yang JL, Zheng SG, Tang Q, Zhu W.

Relationship of human leukocyte antigen class II genes with the susceptibility to hepatitis B virus infection and the response to interferon in HBV-infected patients. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 5721-5724
9 Halfon P, Bourlière M, Pol S, Benhamou Y, Ouzan D, Rotily M, Khiri H, Renou C, Pénaranda G, Saadoun D, Thibault V, Serpaggi J, Varastet M, Tainturier MH, Poynard T, Cacoub P. Multicentre study of hepatitis B virus genotypes in France: correlation with liver fibrosis and hepatitis B e antigen status. *J Viral Hepat* 2006; 13: 329-335
10 Kao JH. Hepatitis B virus genotypes and hepatocellular carcinoma in Taiwan. *Intervirology* 2003; 46: 400-407
11 Wang X, Yuan ZH, Zheng LJ, Yu F, Xiong W, Liu JX, Hu GX, Li Y. Gene expression profiles in an hepatitis B virus transfected hepatoblastoma cell line and differentially regulated gene expression by interferon-alpha. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1740-1745
12 Xiong W, Wang X, Liu XY, Xiang L, Zheng LJ, Liu JX, Yuan ZH. Analysis of gene expression in hepatitis B virus transfected cell line induced by interferon. *Shengwu Huaxue Yu Shengwu Wuli Xuebao* (Shanghai) 2003; 35: 1053-1060
13 Wieland SF, Vega RG, Müller R, Evans CF, Hilbush B, Guidotti LG, Sutcliffe JG, Schultz PG, Chisari FV. Searching for interferon-induced genes that inhibit hepatitis B virus replication in transgenic mouse hepatocytes. *J Virol* 2003; 77: 1227-1236
14 Xu J, Brown D, Harrison T, Lin Y, Dusheiko G. Absence of hepatitis B virus precore mutants in patients with chronic hepatitis B responding to interferon-alpha. *Hepatology* 1992; 15: 1002-1006
15 Lampertico P, Manzin A, Rumi MG, Paolucci S, Del Ninno E, Clementi M, Colombo M. Hepatitis B virus precore mutants in HBeAg carriers with chronic hepatitis treated with interferon. *J Viral Hepat* 1995; 2: 251-256
16 Wang Y, Wei L, Jiang D, Cong X, Fei R, Chen H, Xiao J, Wang Y. In vitro resistance to interferon-alpha of hepatitis B virus with basic core promoter double mutation. *Antiviral Res* 2007; 75: 139-145
17 Christen V, Duong F, Bernsmeier C, Sun D, Nassal M, Heim MH. Inhibition of alpha interferon signaling by hepatitis B virus. *J Virol* 2007; 81: 159-165
18 王卫峰, 周晓东. 干扰素作用下乙型肝炎病毒的变异机制. 世界华人消化杂志 2005; 13: 724-728
19 King JK, Yeh SH, Lin MW, Liu CJ, Lai MY, Kao JH, Chen DS, Chen PJ. Genetic polymorphisms in interferon pathway and response to interferon treatment in hepatitis B patients: A pilot study. *Hepatology* 2002; 36: 1416-1424
20 Gordien E, Rosmorduc O, Peltekian C, Garreau F, Bréchot C, Kremsdorf D. Inhibition of hepatitis B virus replication by the interferon-inducible MxA protein. *J Virol* 2001; 75: 2684-2691
21 Peltekian C, Gordien E, Garreau F, Meas-Yedid V, Soussan P, Willams V, Chaix ML, Olivo-Marin JC, Bréchot C, Kremsdorf D. Human MxA protein participates to the interferon-related inhibition of hepatitis B virus replication in female transgenic mice. *J Hepatol* 2005; 43: 965-972
22 Yu Z, Wang Z, Chen J, Li H, Lin Z, Zhang F, Zhou Y, Hou J. GTPase activity is not essential for the interferon-inducible MxA protein to inhibit the replication of hepatitis B virus. *Arch Virol* 2008; 153: 1677-1684
23 Isogawa M, Robek MD, Furuichi Y, Chisari FV. Toll-like receptor signaling inhibits hepatitis B virus replication in vivo. *J Virol* 2005; 79: 7269-7272
24 Xia C, Lu M, Zhang Z, Meng Z, Zhang Z, Shi C. TLRs antiviral effect on hepatitis B virus in HepG2 cells. *J Appl Microbiol* 2008; 105: 1720-1727
25 Wu J, Lu M, Meng Z, Trippler M, Broering R, Szczeponek A, Krux F, Dittmer U, Roggendorf M, Gerken G, Schlaak JF. Toll-like receptor-mediated control of HBV replication by nonparenchymal liver cells in mice. *Hepatology* 2007; 46: 1769-1778
26 Wu J, Meng Z, Jiang M, Pei R, Trippler M, Broering R, Bucchi A, Sowa JP, Dittmer U, Yang D, Roggendorf M, Gerken G, Lu M, Schlaak JF. Hepatitis B virus suppresses toll-like receptor-mediated innate immune responses in murine parenchymal and nonparenchymal liver cells. *Hepatology* 2009; 49: 1132-1140
27 Xiong W, Wang X, Liu X, Xiang L, Zheng L, Yuan Z. Interferon-inducible MyD88 protein inhibits hepatitis B virus replication. *Virology* 2004; 319: 306-314
28 Wu M, Xu Y, Lin S, Zhang X, Xiang L, Yuan Z. Hepatitis B virus polymerase inhibits the interferon-inducible MyD88 promoter by blocking nuclear translocation of Stat1. *J Gen Virol* 2007; 88: 3260-3269
29 Duong FH, Christen V, Berke JM, Penna SH, Moradpour D, Heim MH. Upregulation of protein phosphatase 2Ac by hepatitis C virus modulates NS3 helicase activity through inhibition of protein arginine methyltransferase 1. *J Virol* 2005; 79: 15342-15350
30 Pan Y, Wei W, Kang L, Wang Z, Fang J, Zhu Y, Wu J. NS5A protein of HCV enhances HBV replication and resistance to interferon response. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 359: 70-75
31 Kim JH, Luo JK, Zhang DE. The level of hepatitis B virus replication is not affected by protein ISG15 modification but is reduced by inhibition of UBP43 (USP18) expression. *J Immunol* 2008; 181: 6467-6472
32 Turelli P, Mangeat B, Jost S, Vianin S, Trono D. Inhibition of hepatitis B virus replication by APOBEC3G. *Science* 2004; 303: 1829
33 Bonvin M, Achermann F, Greeve I, Stroka D, Keogh A, Inderbitzin D, Candinas D, Sommer P, Wain-Hobson S, Vartanian JP, Greeve J. APOBEC-mediated interference with hepadnavirus production. *Hepatology* 2005; 42: 301-309
34 Bonvin M, Achermann F, Greeve I, Stroka D, Keogh A, Inderbitzin D, Candinas D, Sommer P, Wain-Hobson S, Vartanian JP, Greeve J. Interferon-inducible expression of APOBEC3 editing enzymes in human hepatocytes and inhibition of hepatitis B virus replication. *Hepatology* 2006; 43: 1364-1374
35 Turelli P, Liagre-Quazzola A, Mangeat B, Verp S, Jost S, Trono D. APOBEC3-independent interferon-induced viral clearance in hepatitis B virus transgenic mice. *J Virol* 2008; 82: 6585-6590
36 Jost S, Turelli P, Mangeat B, Protzer U, Trono D. Induction of antiviral cytidine deaminases does not explain the inhibition of hepatitis B virus replication by interferons. *J Virol* 2007; 81: 10588-10596
37 Yu YS, Tang ZH, Han JC, Xi M, Feng J, Zang GQ. Expression of ICAM-1, HLA-DR, and CD80 on peripheral circulating CD1 alpha DCs induced in vivo by IFN-alpha in patients with chronic hepatitis

■**名词解释**
干扰素治疗无应答：CHB患者接受IFN-α标准治疗3 mo后HBV DNA滴度仅轻度降低和/或不伴有HBeAg阴转及ALT的改善.

■同行评价
目前IFN抗HBV的作用机制及HBV逃逸IFN治疗的机制尚未完全明确, 本文从分子及基因水平对其机制进行综述, 内容较新颖, 文章层次分明, 能反应该领域的最新进展.

B. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 1447-1451
38 安宝燕, 谢青, 王晖, 贾妮娜, 沈怀诚, 蔡伟, 俞红, 郭清. 干扰素调节因子3在慢性乙型肝炎患者外周血树突状细胞中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2008; 16: 1873-1879
39 Zhang Z, Zhang H, Chen D, Yao J, Fu J, Jin L, Wang FS. Response to interferon-alpha treatment correlates with recovery of blood plasmacytoid dendritic cells in children with chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2007; 47: 751-759
40 Rico MA, Quiroga JA, Subirá D, Castañón S, Esteban JM, Pardo M, Carreño V. Hepatitis B virus-specific T-cell proliferation and cytokine secretion in chronic hepatitis B e antibody-positive patients treated with ribavirin and interferon alpha. *Hepatology* 2001; 33: 295-300
41 Genel F, Unal F, Ozgenc F, Aksu G, Aydogdu S, Kutukculer N, Yagci RV. Decreased ratio of CD4/CD8 lymphocytes might be predictive for successful interferon alpha and lamivudine combined therapy in childhood chronic hepatitis B infection: A preliminary study. *J Gastroenterol Hepatol* 2003; 18: 645-650
42 Tang TJ, Kwekkeboom J, Mancham S, Binda RS, de Man RA, Schalm SW, Kusters JG, Janssen HL. Intrahepatic CD8+ T-lymphocyte response is important for therapy-induced viral clearance in chronic hepatitis B infection. *J Hepatol* 2005; 43: 45-52

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009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/(mol/L), p/kPa, V/mL, t/℃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 cm×4.5 cm, 必须使用双面胶条黏 贴在正文内, 不能使用浆糊黏贴. (5)致谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐. (常务副总编辑: 张海宁 2009-06-28)

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年6月28日; 17(18): 1809-1814
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

基础研究 BASIC RESEARCH

胃癌耐药细胞株OCUM-2M/VP16的建立及其耐药机制

邱 红, 丁方勇, 熊慧华, 张明生, 李瑞超, 陈 元

邱红, 熊慧华, 张明生, 陈元, 华中科技大学同济医学院附属同济医院肿瘤科 湖北省武汉市 430030
丁方勇, 武汉市急救中心 湖北省武汉市 430022
李瑞超, 华中科技大学同济医学院附属同济医院综合科 湖北省武汉市 430030
邱红, 硕士, 主治医师, 从事肿瘤放化疗的综合治疗, 研究方向为胃癌化疗耐药机制及逆转.
国家自然科学基金资助项目, No. 30801369
日中医学协会笹川医学奖学金资助项目, No. 2007-2008[30]
作者贡献分布: 邱红与陈元对此研究贡献均等; 此实验由邱红与陈元设计及完成; 研究经费由张明生提供; 数据统计分析由丁方勇与李瑞超完成; 本论文写作由邱红与熊慧华完成.
通讯作者: 陈元, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院肿瘤科. chenyuan008@163.com
电话: 027-83663341
收稿日期: 2009-04-14 修回日期: 2009-05-22
接受日期: 2009-05-25 在线出版日期: 2009-06-28

Establishment of VP16-resistant gastric cell line and its multi-drug resistance mechanism

Hong Qiu, Fang-Yong Ding, Hui-Hua Xiong, Ming-Sheng Zhang, Rui-Chao Li, Yuan Chen

Hong Qiu, Hui-Hua Xiong, Ming-Sheng Zhang, Yuan Chen, Department of Oncology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China
Fang-Yong Ding, Wuhan Medical Emergency Center, Wuhan 430022, Hubei Province, China
Rui-Chao Li, Department of Oncology Comprehensive Medicine, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30801369; and the Japan-China Sasagawa Medical Scholarship, No. 2007-2008[30]
Correspondence to: Yuan Chen, Department of Oncology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China. chenyuan008@163.com
Received: 2009-04-14 Revised: 2009-05-22
Accepted: 2009-05-25 Published online: 2009-06-28

Abstract

AIM: To establish the VP16 resistant gastric cell line and to explore its potential multi-drug resistant mechanism.

METHODS: We used the drug concentration step-elevation method to establish VP16 resistant sub-line of gastric cell line OCUM-2M. Growth curves of cells were delineated and cell doubling times of cells were calculated using cell-counting methods. IC_{50} of chemotherapy drugs in two cell lines were determined by MTT methods. Cell cycle distributions were tested by FCM analysis. mRNA expression levels of caspase-3, P53, DAPK-1, DAPK-2, DAPK-3, Bcl-2, ERCC-1, MDR-1, and MRP were determined by RT-PCR.

RESULTS: OCUM-2M was a successful drug-resistant cell line, and the resistance index to VP16 was 40.53. The cell doubling time of OCUM-2M/VP16 was 30.29 ± 2.55 h, while that of parental cell line OCUM-2M was 22.96 ± 0.96 h ($P < 0.01$). The cross-drug-resistance of Sn38, oxaliplatin, and gemcitabine in OCUM-2M/VP16 was observed, while chemo-sensitivity of 5-FU and paclitaxol in OCUM-2M/VP16 remained the same with OCUM-2M. In OCUM-2M/VP16, the mean expression levels of apoptosis related genes, DAPK-2, DAPK-3 and Bcl-2 were respectively 0.24, 0.45, and 0.44, which were lower than OCUM-2M (0.61, 0.79 and 0.81). The expression levels of drug-resistance related genes ERCC-1 and MDR-1 in OCUM-2M/VP16 were respectively 0.84 and 0.41, which were higher than OCUM-2M (0.53 and 0.20, $P < 0.01$). The expression levels of caspase-3, P53, DAPK-1 and MRP had no significant change in the two cell lines.

CONCLUSION: OCUM-2M/VP16 is a successful VP16-resistant gastric cell line with cross-resistance ability, and the expression level changes of apoptosis and drug resistance related genes might contribute to drug-resistance in OCUM-2M/VP16.

Key Words: Etoposide; Gastric cancer; Multi-drug resistance; Apoptosis

Qiu H, Ding FY, Xiong HH, Zhang MS, Li RC, Chen Y. Establishment of VP16-resistant gastric cell line and its multi-drug resistance mechanism. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(18): 1809-1814

摘要

目的: 建立耐VP16的胃癌耐药细胞株, 并初步

■背景资料
目前已经建立的肿瘤耐药细胞株主要对5-FU、PTX、OXA、ADM等耐药, 而对VP16耐药的细胞株相对研究较少. VP16抗瘤谱广, 目前在临床上仍有较广泛应用, 此研究的实施不仅对胃癌, 对于其他肿瘤也有一定临床指导意义.

■同行评议者
王健生, 教授, 西安交通大学医学院第一附属医院肿瘤外科

■研发前沿
多药耐药一直是化疗疗效提高的瓶颈, 肿瘤细胞耐药机制涉及了多方面因素. 周期分布改变、耐药相关基因高表达、抑制凋亡等多种机制都参与了多药耐药的产生, 针对这些机制的措施有可能逆转肿瘤耐药, 提高化疗疗效.

探讨细胞发生VP16耐药的可能机制.

方法: 采用药物浓度梯度递增法诱导建立OCUM-2M/VP16耐药株. 细胞计数法绘制细胞生长曲线, 计算细胞倍增时间. MTT法检测细胞对6种化疗药物的IC_{50}. 流式细胞仪分析细胞周期分布. 逆转录多聚酶链反应检测caspase-3, P53, DAPK-1, DAPK-2, DAPK-3, Bcl-2, ERCC-1, MDR-1及MRP基因mRNA的表达.

结果: OCUM-2M/VP16成功实现了对VP16的耐药, 耐药指数为40.53; 其增殖速率及细胞倍增时间明显低于OCUM-2M(细胞倍增时间: 22.96±0.96 h *vs* 30.29±2.55 h, $P<0.01$). OCUM-2M/VP16对Sn38、奥沙利铂及吉西他滨发生了交叉耐药, 但对5-FU及紫杉醇敏感性与亲代类似. OCUM-2M/VP16凋亡相关基因DAPK-2, DAPK-3和Bcl-2表达下调(OCUM-2M表达值为: 0.61、0.79及0.81, OCUM-2M/VP16为, 0.24、0.45、0.44, $P<0.01$), 耐药相关基因 ERCC-1和MDR-1表达上调(OCUM-2M为0.53及0.20, OCUM-2M/VP16则为0.84及0.41, $P<0.01$). caspase-3, P53, DAPK-1及MRP表达无变化.

结论: 成功构建胃癌耐药细胞株OCUM-2M/VP16, 该细胞株具有交叉耐药特性, 耐药机制涉及凋亡、耐药等多个基因表达变化.

关键词: 鬼臼乙叉甙; 胃癌; 多药耐药; 凋亡

邱红, 丁方勇, 熊慧华, 张明生, 李瑞超, 陈元. 胃癌耐药细胞株OCUM-2M/VP16的建立及其耐药机制. 世界华人消化杂志 2009; 17(18): 1809-1814
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1809.asp

0 引言

鬼臼乙叉甙(etoposid, VP16)是DNA拓扑异构酶-Ⅱ抑制剂, 具有广谱抗肿瘤效应. 由VP16及5-FU联合组成的ELF方案是Preusser和Wilke针对年龄>65岁或不适合使用阿霉素类药物治疗的转移性胃癌患者设计的, 一般认为ELF方案比较温和、不良反应轻[1]、费用相对低廉, 在其基础上添加其他化疗药物组成新联合方案也经常被用于晚期胃癌的治疗[2]. 但是对于接受ELF方案一线化疗的胃癌患者, 治疗失败后如何选择二线化疗方案, 现有胃癌治疗指南中并没有给出针对性指导意见. 查阅相关文献, 目前国内外关于胃癌耐VP16的基础研究鲜有报道. 我们通过梯度浓度递增方法建立耐VP16的胃癌细胞亚株, 并分析其交叉耐药特性及基因表达, 为胃癌二线治疗方案选择及胃癌VP16耐药逆转提供前期基础研究资料.

1 材料和方法

1.1 材料 本实验所用OCUM-2M细胞为日本大阪市立大学八代正和惠赠. 该细胞系及所建立的耐药子代细胞系OCUM-2M/VP16均在37℃、50 mL/L CO_2、饱和湿度状态下培养. 所用培养基为DMEM(Nikken Biomedical Laboratory, Kyoto, Japan), 培养基中含有100 mL/L胎牛血清(ICN Biomedical, Costa Mesa, CA, USA)、100 IU/mL青霉素(ICN Biomedical, Costa Mesa, CA, USA)及0.5 mmol/L丙酮酸钠(Cambrex, Walkersville, MD, USA). 本研究共使用6种化疗药物, 5-氟尿嘧啶(5-FU, Kyowa Hakko, Tokyo, Japan), 紫杉醇(PTX, Bristol-Myers, Wallingford, Connecticut), 奥沙利铂(OXA, Yakult, Tokyo, Japan), Sn38(伊力替康体内活性代谢产物, Yakult), 吉西他滨(GEM, Eli Lilly, Kobe, Japan)及鬼臼乙叉甙(VP16, Biovision, Mountain View, CA, USA). 5-FU、Sn38用PBS稀释, OXA、PTX及GEM用蒸馏水稀释, VP16用DMSO溶解. 所有药物原液保存于-20℃冰箱中, 使用前溶解, 用培养基配成所需药物浓度.

1.2 方法

1.2.1 OCUM-2M/VP16的建立: 采用浓度递增方法诱导耐药建立子细胞株. 预实验检测亲代细胞VP16的IC_{50}为1.6 μmol/L, 选择0.032 μmol/L(即亲代细胞IC_{50}的1/50, 在此浓度下大部分OCUM-2M细胞能继续存活, 属相对安全浓度)作为起始浓度, 每48 h更换药物, 去除死亡细胞后传代培养. 观察没有明显死亡细胞后, 选择对数生长期细胞传代, 并增加25%-50%药物浓度共培养. 最终细胞稳定存活于5 μmol/L浓度VP16后, 进行连续传代培养, 没有观察到明显死亡细胞后定义所得细胞亚株为VP16耐药细胞株OCUM-2M/VP16. 为保证耐药性持续存在, 该亚株培养时均给予5 μmol/L VP16. 进行下述实验检测前, 给予4 wk药物洗脱期培养.

1.2.2 细胞计数法绘制细胞生长曲线: 取对数生长期OCUM-2M及OCUM-2M/VP16, 分别计数, 2.0×10^4个细胞接种于24孔板培养. 每12 h取3孔, 台盼蓝区分活性细胞, 采用Coulter细胞计数仪(Industrial D; Coulter Electronics, Luton, UK)计算活细胞数目. 连续计数8次(共96 h), 绘制细

表 1 基因引物序列及扩增产物大小

基因		序列	扩增产物大小(bp)
GAPDH	上游引物	ACCTGACCTGCCGTCTAGAA	247
	下游引物	TCCACCACCCTGTTGCTGTA	
caspase-3	上游引物	GGCATTGAGACAGACAGTGGTG	152
	下游引物	GCACAAAGCGACTGGATGAACC	
P53	上游引物	AGCGATGGTCTGGCCCCTCCT	120
	下游引物	CTCAGGCGGCTCATAGGGCAC	
DAPK-1	上游引物	TCTACCAGCCACGGGACTTC	134
	下游引物	GCTGGCCTGTGAGTAGACGT	
DAPK-2	上游引物	GCATCGTGTCCCTGTGCAAC	121
	下游引物	GCTTTCCTCCTGGCGATGTC	
DAPK-3	上游引物	CCCAACCCACGAATCAAGCTC	236
	下游引物	GCTGAGATGTTGGTGAGCGTC	
Bcl-2	上游引物	GAGTACCTGAACCGGCACCT	162
	下游引物	CAGGGTGATGCAAGCTCCCA	
ERCC-1	上游引物	GTGGCCAAGCCCTTATTCCGATCT	480
	下游引物	TGCAGTCGGCCAGGATACACATCT	
MDR-1	上游引物	GCCATAGCTCGTGCCCTTGT	212
	下游引物	CCATGCTCCTTGACTCTGCC	
MRP	上游引物	GGGCTTCTCTGTCTCTGCTG	285
	下游引物	ATGCCCACCTTCTCTCCTGC	

■相关报道
Matsubara *et al* 对晚期胃癌的研究也证实高表达ERCC-1是不良预后预测因子, 有研究认为ERCC-1 mRNA高表达的患者应当考虑FOLFOX以外的化疗方案.

胞生长曲线. 细胞倍增时间计算方法: 细胞繁殖代数 = $\log_2$(计数时间点细胞总数/接种细胞总数), 细胞倍增时间(h) = 计数时间点的细胞培养时间(h)/细胞繁殖代数.

1.2.3 MTT法检测化疗药物IC_{50}: 对数生长期细胞1×10^4接种于96孔板, 6种化疗药物按照不同浓度稀释加入培养孔(对于DMSO稀释的VP16, 控制DMSO浓度在1/1000以下, 确保对细胞无害). 每种药物浓度设6复孔. 培养72 h后, 加入5 g/L的3-(4, 5-二甲基-2-噻唑)-2, 5-二苯基溴化四唑(MTT, Sigma), 继续37℃培养3 h. 2000 r/min离心10 min, 吸去上清, 加入100 μL DMSO, 振荡床轻微振荡3 min, 采用自动酶标仪(PM2004; Wako, Osaka, Japan)检测各孔570 nm波长吸光度. 细胞增殖率 = 用药组平均吸光度/对照组平均吸光度×100%, 计算IC_{50}. 耐药指数 = 子代细胞IC_{50}/亲代细胞IC_{50}.

1.2.4 FCM仪检测亲代及耐药子代细胞周期: 对数生长期细胞1×10^5接种于100 mm培养皿, 常规条件培养72 h后胰酶消化收获细胞. 按照Cycle Test Plus DNA reagent试剂盒(Becton Dickinson, Mountain View, CA, USA)要求处置细胞, 加入核糖核酸酶A室温下放置10 min, 加入PI染色剂避光冰浴30 min, 1 h内上流式细胞仪(Becton Dickinson)分析细胞周期, 采用Modofit软件(Becton Dickinson)分析周期分布.

1.2.5 RT-PCR检测部分凋亡及耐药相关基因: 对数生长期细胞1×10^5接种于100 mm培养皿, 常规条件培养72 h胰酶消化收获细胞. 用TRIzol (Invitrogen, Carlsbad, CA)提取细胞总RNA, 用DNAse(Invitrogen)去除DNA影响, 20 μg总RNA用鼠白血病病毒逆转录酶(Invitrogen)制备cDNA, 用表1所示引物进行PCR扩增. PCR循环条件为: 94℃预变性10 min, 94℃变性30 s, 59℃退火30 s, 72℃延伸1 min, 72℃终末延伸7 min, 35个周期. 20 g/L琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物. 以内参基因(GAPDH)及目的基因灰度代表基因mRNA表达丰度.

统计学处理 使用SPSS12.0进行相关统计学分析, 均值比较采用*t*-test检验. *P*值小于0.05认为有统计学意义.

2 结果

2.1 亲代细胞及子代耐药细胞增殖速度的差异 细胞计数显示60、72、84及96 h时间点, OCUM-2M细胞数明显多于耐药株OCUM-2M/VP16, 即子株增殖速度明显低于亲代. OCUM-2M细胞倍增时间为22.96 h, OCUM-2M/VP16细胞倍增时间为30.29 h, 具有显著性差异(图1).

2.2 化疗药物IC_{50}比较 OCUM-2M及OCUM-2M/

■**创新盘点**
本文分析了不同化疗药物对耐药株的敏感性, 并从细胞倍增时间、周期分布、凋亡及耐药基因表达等多个基因对细胞耐药机制进行了较为广泛的探索, 再次证实耐药的产生可能是多个因素综合作用的结果.

表 2 化疗药物IC_{50}比较 (mean ± SD)

	5-FU(μmol/L)	Taxol(nmol/L)	Sn38(nmol/L)	Gem(nmol/L)	Oxa(μmol/L)	VP16(μmol/L)
OCUM-2M	13.0 ± 3.7	2.6 ± 0.1	31.3 ± 7.7	6.5 ± 0.6	1.4 ± 0.2	1.4 ± 0.3
OCUM-2M/VP16	17.0 ± 3.0	2.6 ± 0.2	105.2 ± 15.6[b]	405.7 ± 55.2[b]	6.3 ± 0.9[b]	55.1 ± 8.4[b]
RI	1.31	1.00	3.37	62.3	4.51	40.53

RI: 耐药指数(resistance index); [b]P<0.01 *vs* OCUM-2M.

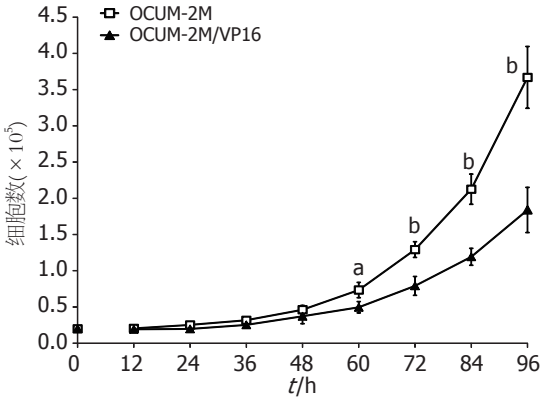


图 1 OCUM-2M及OCUM-2M/VP16细胞生长曲线. 曲线代表3次实验数据平均值及标准差. [a]P<0.05, [b]P<0.01 *vs* OCUM-2M/VP16.

表 3 细胞周期分析结果 (mean ± SD, %)

	G_0/G_1	S	G_2/M
OCUM-2M	46.72 ± 3.17	42.80 ± 3.22	10.48 ± 1.20
OCUM-2M/VP16	51.35 ± 2.90	45.12 ± 3.33	3.53 ± 1.54[b]

[b]P<0.01 *vs* OCUM-2M.

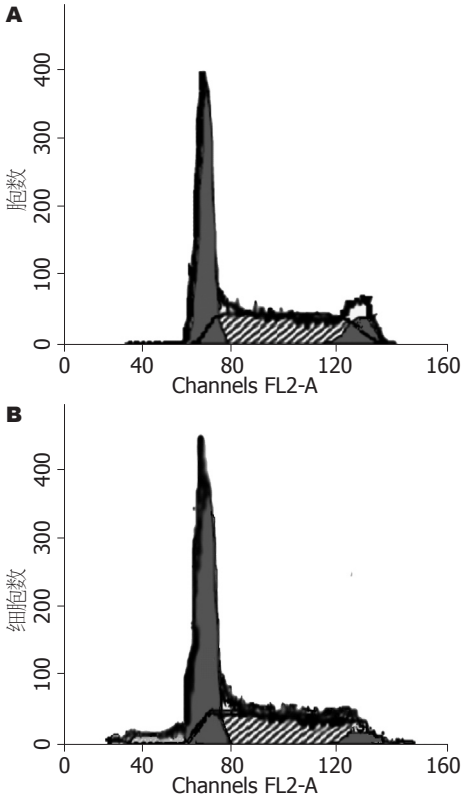


图 2 OCUM-2M及OCUM-2M/VP16周期流式图. A: OCUM-2M; B: OCUM-2M/VP16.

VP16对各种化疗药物的IC_{50}见表2. 耐药系数RI大于3, 认为存在交叉耐药. 与亲代细胞相比, OCUM-2M/VP16不仅对VP16耐药, 对伊立替康体内活性代谢产物Sn38、吉西他滨、奥沙利铂也耐药, 统计学显示两种细胞株的IC_{50}有显著性差异. OCUM-2M/VP16的5-FU及紫杉醇IC_{50}与亲代细胞OCUM-2M类似, 没有显著性差异.

2.3 细胞周期分布比较 如图2及表3所示, 2种细胞株G_2/M期细胞比例具有显著性差异, OCUM-2M/VP16的G_2/M期细胞数少于OCUM-2M.

2.4 部分凋亡及耐药相关基因mRNA表达差异 2种细胞株MRP、caspase-3、P53及DAPK-1没有明显差异. 子代耐药株DAPK-2、DAPK-3及Bcl-2表达明显低于亲代细胞(0.24 *vs* 0.61, 0.45 *vs* 0.79, 0.44 *vs* 0.81, 均P<0.01). OCUM-2M/VP16的ERCC-1及MDR-1表达增加(0.84 *vs* 0.53, 0.41 *vs* 0.20, 均P<0.01, 图3-4).

3 讨论

多药耐药是限制肿瘤化疗疗效提高的主要因素, 目前建立耐药细胞株常用方法有耐药基因转染导入法及梯度浓度诱导方法, 后者与癌细胞获得性耐药的产生情况类似, 被广泛用于建立多种耐药肿瘤细胞株. VP-16是一种半合成鬼臼脂毒衍生物, 具有广谱抗肿瘤效应. 本研究通过梯度浓度诱导方法成功建立胃癌细胞OCUM-2M的VP16耐药子株, 子代耐VP16指数达40.53.

对亲代及子代耐药株各种化疗药物IC_{50}检测显示, 子株产生VP16耐药后, 对奥沙利铂、Sn38(伊立替康体内活性代谢产物)、吉西他滨产生交叉耐药(RI>3, 统计学分析显示有显著性

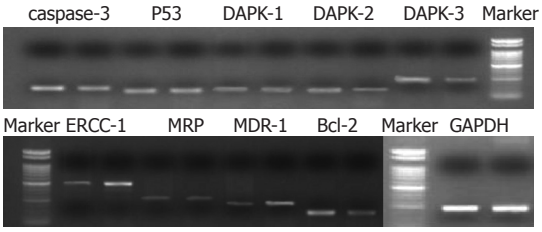


图 3 OCUM-2M及OCUM-2M/VP16基因mRNA表达. 各基因左边条带为OCUM-2M, 右边为OCUM-2M/VP16. Marker: 50-ladder.

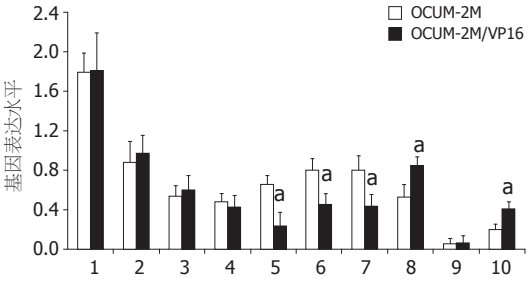


图 4 OCUM-2M及OCUM-2M/VP16基因灰度比较. 1: GAPDH; 2: caspase-3; 3: P53; 4: DAPK-1; 5: DAPK-2; 6: DAPK-3; 7: Bcl-2; 8: ERCC-1; 9: MRP; 10: MDR-1; $^aP<0.05$ *vs* OCUM-2M.

差异). 奥沙利铂、伊立替康作为临床上使用较多的晚期胃癌化疗方案, 有研究[3]认为与其他方案相比, 有效率提高并不显著. 目前也有研究尝试吉西他滨与奥沙利铂联用治疗胃癌, 显示有一定疗效[4], 但本研究对IC_{50}的检测结果并不支持选择这3种药物作为胃癌发生VP16耐药后的解救治疗, 这种交叉耐药的产生可能也部分解释晚期胃癌二线化疗方案未能提高疗效的原因. 虽然吉西他滨与5-FU抗肿瘤机制类似, 但OCUM-2M/VP16仍然保留与亲代细胞相似的5-FU敏感性, 提示胃癌细胞VP16耐药后, 5-FU及其类似物卡培他滨和S-1仍有可能作为治疗选择. Nagata *et al*研究认为晚期胃癌紫杉醇联合给药每周方案有效率高, 耐受性好[5]. 虽然紫杉醇与VP16都通过抑制拓扑异构酶Ⅱ活性来发挥抗肿瘤效果, 但我们数据显示子代细胞对紫杉醇敏感性几乎没有发生任何变化, 因此我们认为VP16耐药的胃癌解救治疗紫杉醇是较佳选择. OCUM-2M/VP16没有产生5-FU及紫杉醇交叉耐药的分子机制值得进一步分析.

OCUM-2M为细胞株惠赠者八代正和成功建立和传代的胃癌细胞系, 增殖速度较快[6](本研究检测其细胞倍增时间: 22.96±0.96 h), 而子代耐药细胞系OCUM-2M/VP16倍增时间明显延长(30.29±2.55 h), 提示胃癌细胞发生VP16耐药后增殖明显延缓. 细胞周期分析显示, 子代耐药细胞株G_2/M期细胞比例显著低于亲代细胞. VP16为拓扑异构酶Ⅱ抑制剂, 对癌细胞S期末期及G_2期细胞有较强杀伤作用, 属于周期特异性药物[4]. OCUM-2M/VP16细胞周期分布改变可能是细胞产生VP16耐药的部分机制, 这也提示诱导细胞S期及G_2/M期阻滞的药物有可能逆转VP16耐药.

我们检测了亲代及子代细胞部分凋亡相关基因的表达情况. 虽然OCUM-2M为P53野生型[6], 但耐药子代细胞P53表达没有明显变化, 且caspase-3也没有明显表达上调或下降, 说明这2种凋亡相关基因可能没有参与胃癌细胞VP16耐药的产生. 死亡相关蛋白激酶(death-associated protein kinase, DAPK)含有3个家族成员, 其低表达常常与肿瘤发生密切相关, 其中DAPK-1和DAPK-2与药物诱导的细胞凋亡密切相关, 而DAPK-3主要诱导细胞发生凋亡相关形态学变化[7]. 子代耐药株OCUM-2M/VP16细胞DAPK-1的mRNA表达与亲代相比无明显变化, 但DAPK-2及DAPK-3表达下调. DAPK家族表达的差异可以部分解释OCUM-2M/VP16的耐药机制, 即通过避免凋亡的发生而提高VP16耐受性. Bcl-2是抗凋亡基因, 具有高度保守性, 其高表达可以使肿瘤细胞避免凋亡产生[8], 然而OCUM-2M/VP16与亲代细胞相比, 其Bcl-2表达下降. 此种现象虽然不能解释VP16耐药, 但从反面说明VP16耐药发生过程是多因素参与的, Bcl-2表达下调原因值得深入研究.

切除交叉互补修复基因(ERCC-1)近年来研究较多, 目前认为ERCC-1高表达与肺癌铂类制剂耐药密切相关, 是化疗敏感性独立预测指标[9]. Matsubara *et al*[10]对晚期胃癌的研究也证实高表达ERCC-1是不良预后预测因子, 有研究认为ERCC-1 mRNA高表达的患者应当考虑FOLFOX以外的化疗方案[11]. OCUM-2M/VP16细胞ERCC-1的mRNA表达高于亲代细胞, 可能与奥沙利铂的交叉耐药性密切相关, 提示胃癌在ELF方案治疗后的二线解救治疗方案选择铂类制剂可能无明显效果. 亲代细胞OCUM-2M中多药耐药蛋白(MRP)及多药耐药基因(MDR-1)的mRNA均属于低丰度表达, 子代耐药株MDR-1表达增加可能也是OCUM-2M/VP16发生Sn38等交叉耐药的部分机制之一.

总之, 我们在本研究中利用药物浓度梯度递增成功诱导建立耐VP16的胃癌子细胞株

■应用要点

目前常用建立耐药细胞株的方法有耐药基因导入法及药物诱导方法, 后者与临床耐药产生机制类似, 本研究采用此方法建立的细胞株被证实诱导了多药耐药的产生, 可用于多药耐药的后续研究.

■同行评价
本研究工作量较大，数据丰富，内容详实，实验设计合理，结果明确，讨论重点突出，具有较好的学术价值.

OCUM-2M/VP16, 该细胞株增殖速率较亲代明显降低, G_2/M期细胞比例减少. 与亲代细胞相比, OCUM-2M/VP16对奥沙利铂、Sn38、吉西他滨有交叉耐药, 但保留与亲代细胞类似的5-FU及紫杉醇敏感性. DAPK家族基因低表达、ERCC-1及MDR-1基因高表达可能与该子株多药耐药密切相关. 在下一步研究中, 我们将利用OCUM-2M/VP16子株进行VP16逆转耐药相关研究, 为胃癌二线治疗方案选择提供进一步实验基础.

4 参考文献

1 Wilke H, Preusser P, Stahl M, Harstrick A, Meyer HJ, Achterrath W, Schmoll HJ, Seeber S. Etoposide, folinic acid, and 5-fluorouracil in carboplatin-pretreated patients with advanced gastric cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 1991; 29: 83-84

2 Mathe G, Schwarzenberg L. Bone marrow transplantation (1958-1978) : conditioning and graft-versus-host disease, indications in aplasias and leukemias. *Pathol Biol* (Paris) 1979; 27: 337-343

3 Brell JM, Krishnamurthi SS, Javle M, Saltzman J, Wollner I, Pelley R, Dowlati A, Kantharaj BN, Schluchter MD, Rath L, Ivy SP, Remick SC. A multi-center phase II study of oxaliplatin, irinotecan, and capecitabine in advanced gastric/gastroesophageal junction carcinoma. *Cancer Chemother Pharmacol* 2009; 63: 851-857

4 Correale P, Fulfaro F, Marsili S, Cicero G, Bajardi E, Intrivici C, Vuolo G, Carli AF, Caraglia M, Del Prete S, Greco E, Gebbia N, Francini G. Gemcitabine (GEM) plus oxaliplatin, folinic acid, and 5-fluorouracil (FOLFOX-4) in patients with advanced gastric cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 2005; 56: 563-568

5 Nagata N, Kimura M, Hirabayashi N, Tuburaya A, Murata T, Kondo K, Fukuda Y, Kobayashi M, Miyashita Y, Nakao A, Sakamoto J. Phase II study of weekly paclitaxel and cisplatin combination therapy for advanced or recurrent gastric cancer. *Hepatogastroenterology* 2008; 55: 1846-1850

6 Yashiro M, Chung YS, Nishimura S, Inoue T, Sowa M. Establishment of two new scirrhous gastric cancer cell lines: analysis of factors associated with disseminated metastasis. *Br J Cancer* 1995; 72: 1200-1210

7 Kögel D, Prehn JH, Scheidtmann KH. The DAP kinase family of pro-apoptotic proteins: novel players in the apoptotic game. *Bioessays* 2001; 23: 352-358

8 Yip KW, Reed JC. Bcl-2 family proteins and cancer. *Oncogene* 2008; 27: 6398-6406

9 Felip E, Rosell R. Testing for excision repair cross-complementing 1 in patients with non-small-cell lung cancer for chemotherapy response. *Expert Rev Mol Diagn* 2007; 7: 261-268

10 Matsubara J, Nishina T, Yamada Y, Moriwaki T, Shimoda T, Kajiwara T, Nakajima TE, Kato K, Hamaguchi T, Shimada Y, Okayama Y, Oka T, Shirao K. Impacts of excision repair cross-complementing gene 1 (ERCC1), dihydropyrimidine dehydrogenase, and epidermal growth factor receptor on the outcomes of patients with advanced gastric cancer. *Br J Cancer* 2008; 98: 832-839

11 Wei J, Zou Z, Qian X, Ding Y, Xie L, Sanchez JJ, Zhao Y, Feng J, Ling Y, Liu Y, Yu L, Rosell R, Liu B. ERCC1 mRNA levels and survival of advanced gastric cancer patients treated with a modified FOLFOX regimen. *Br J Cancer* 2008; 98: 1398-1402

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009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. (科学编辑: 李军亮 2009-06-28)

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年6月28日; 17(18): 1815-1820
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

基础研究 BASIC RESEARCH

槲皮素对胃肠运动的影响及其机制

黄伟锋, 欧阳守, 林燕飞, 张 慧

黄伟锋, 欧阳守, 林燕飞, 张慧, 厦门市医药研究所 福建省厦门市 361003
黄伟锋, 2008年华中科技大学同济医学院硕士, 主要从事于消化系统疾病的研究.
厦卫科教中医(2006)363号基金资助项目, No. WZK21
厦卫科教中医(2007)480号基金资助项目, No. 3502z20077077
闽卫函(2007)584号基金资助项目, No. 2007-1-45
作者贡献分布: 此课题由黄伟锋、欧阳守及林燕飞设计; 由黄伟锋、林燕飞及张慧操作完成; 相关分析工具由黄伟锋提供; 数据分析由黄伟锋与林燕飞等完成; 本论文写作主要由黄伟锋完成; 由欧阳守指导课题完成.
通讯作者: 欧阳守, 研究员, 361003, 福建省厦门市同安路2号, 厦门市医药研究所. xmmri@xmu.edu.cn
电话: 0592-2043066 传真: 0592-2043066
收稿日期: 2009-03-28 修回日期: 2009-05-05
接受日期: 2009-05-11 在线出版日期: 2009-06-28

Effect of quercetin on gastrointestinal motility and its mechanism

Wei-Feng Huang, Shou Ouyang, Yan-Fei Lin, Hui Zhang

Wei-Feng Huang, Shou Ouyang, Yan-Fei Lin, Hui Zhang, Xiamen Medical Research Institute, Xiamen 361003, Fujian Province, China
Supported by: the Health Bureau Foundation of Xiamen, No. WZK21; the Health Bureau Foundation of Xiamen, No. 3502z20077077; and the Health Department Foundation of Fujian, No. 2007-1-45
Correspondence to: Shou Ouyang, Xiamen Medical Research Institute, Xiamen 361003, Fujian Province, China. xmmri@xmu.edu.cn
Received: 2009-03-28 Revised: 2009-05-05
Accepted: 2009-05-11 Published online: 2009-06-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of quercetin on the contractility of colon muscle *in vitro*, gastric emptying and intestinal propulsion function of mouse *in vivo*, then to discuss the pharmacological mechanism of quercetin on the gastrointestinal movement.

METHODS: Kun-ming mice were randomly divided into normal control group, quercetin (low dose, middle dose, high dose) groups, atropine group, neostigmine group, atropine and quercetin group, and neostigmine and quercetin group. Dextran blue -2000 was used as a marker to investigate the effects of the quercetin on gastric emptying and motility of small intestine in mice. Colon muscle strips from the distal segment of mice colon, which were taken at 1 cm from the anus approximately, were used to take contractile tension recording.

RESULTS: There is no significant difference between the low-dose group and the control group, but gastric emptying was significantly inhibited in the high-dose group compared with the control group (gastric residue: 27.10% ± 3.25% *vs* 12.79% ± 3.30%, $P < 0.01$). The quercetin inhibited the activity of the small intestine, the control group of Dextran blue -2000 mainly was concentrated in the posterior segment of small intestine meanwhile the quercetin group mainly in the preceding. Quercetin strengthened the inhibitory effect of atropine on small intestine, but the role of its inhibition did not affect gastric emptying (gastric residue: 28.35% ± 17.36% *vs* 26.64% ± 14.91%, $P > 0.05$). It antagonized gastric emptying (gastric residue: 10.28% ± 4.84% *vs* 1.86% ± 1.01%, $P < 0.01$) and inhibited hyperfunction of the small intestine induced by neostigmine. *In vitro* quercetin relaxed the distal colon section of mice in a dose-dependent (0.25-50 μmol/L) manner, the effect of quercetin was not via NO pathway or PKC pathway.

CONCLUSION: These results indicate that quercetin can relax gastrointestinal smooth muscle and inhibit its movement.

Key Words: Quercetin; Atropin; Neostigmine; Gastric emptying; Intestinal propulsion; Colon smooth muscle

Huang WF, Ouyang S, Lin YF, Zhang H. Effect of quercetin on gastrointestinal motility and its mechanism. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(18): 1815-1820

摘要

目的: 研究槲皮素对小鼠离体结肠收缩活动以及胃排空、肠推进的影响, 探讨槲皮素作用于胃肠道的药理学机制.

方法: 将昆明小鼠随机分为对照组、槲皮素组(低、中、高剂量)、阿托品组、新斯的明

■背景资料
槲皮素是一种具有多种生物活性黄酮类化合物, 其生物活性有抗氧化、清除体内自由基、抑制恶性肿瘤生长和转移、扩张动脉、改善脑循环和抗血小板活化因子、增强心肌收缩力、舒张肠平滑肌、降低血压等生物学活性.

■同行评议者
管冬元, 副教授, 上海中医药大学基础医学院实验中医学教研室

■研发前沿
目前人们研究最多的是槲皮素在心血管中的保护作用, 以及其抗肿瘤、清除自由基等作用. 然而, 目前关于槲皮素对胃肠道功能影响方面的研究报道甚少.

组、阿托品加槲皮素组以及新斯的明加槲皮素组. 采用紫外分光光度计测量葡聚糖蓝-2000在小鼠胃内色素残留率及小肠各肠段色素残留率, 观察槲皮素对小鼠胃排空及小肠推进功能的影响. 采用TSD125C型张力传感器及MP150放大器测量结肠平滑肌收缩与舒张的幅度.

结果: 槲皮素能够抑制正常小鼠胃排空及小肠推进, 高剂量槲皮素组胃残留量与对照组比较差异显著(27.10%±3.25% *vs* 12.79%±3.30%, $P<0.01$), 对照组葡聚糖蓝-2000主要集中在小肠后段, 槲皮素组葡聚糖蓝-2000主要集中在小肠前段. 槲皮素可加强阿托品对小肠推进抑制作用, 但对阿托品抑制胃排空的作用没有影响(胃残留量: 28.35%±17.36% *vs* 26.64%±14.91%, $P>0.05$); 他能够拮抗新斯的明引起的胃排空(胃残留量: 10.28%±4.84% *vs* 1.86%±1.01%, $P<0.01$)及推进小肠亢进. 槲皮素对小鼠离体结肠具有舒张作用, 且随着槲皮素的浓度升高, 槲皮素(0.25-50 μmol/L)舒张作用增强. 槲皮素的舒张作用与NO途径及PKC途径无关.

结论: 槲皮素具有舒张胃肠平滑肌的作用.

关键词: 槲皮素; 阿托品; 新斯的明; 胃排空; 肠推进; 结肠平滑肌

黄伟锋, 欧阳守, 林燕飞, 张慧. 槲皮素对胃肠运动的影响及其机制. 世界华人消化杂志 2009; 17(18): 1815–1820
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1815.asp

0 引言

槲皮素是一种具有多种生物活性黄酮类化合物, 是黄酮类化合物的主要成分, 化学命名为3, 3', 4', 5, 7-五羟基黄酮, 具有很高药用价值. 植物界中约有100种中草药含有槲皮素, 广泛分布于多种植物花、果实、叶中, 如中药槐米干燥花蕾、地耳草(田基黄)、银杏叶、番石榴叶、贯叶连翘、菟丝子、洋葱、槐花、地锦草、刺五加、满山红等. 人们每天的食物中大约含有黄酮类化合物23 mg, 其中槲皮素占60%-75%. 槲皮素具有抗氧化、抗炎、抗过敏、抗菌、抗病毒, 清除体内自由基、抑制恶性肿瘤生长和转移等多方面药理作用, 同时具有扩张动脉、改善脑循环和抗血小板活化因子、祛痰止咳、降低毛细血管通透性和脆性等多种生物活性, 能提高免疫能力、降低胆固醇、增强心肌收缩力、舒张肠平滑肌、降低血压、免疫抑制和抗过敏, 是近年来国内外学者研究的热门课题[1].

1 材料和方法

1.1 材料 昆明种小鼠, 厦门大学医学院抗癌中心提供. 槲皮素(quercetin)、一氧化氮合成酶抑制剂(*N*-nitro-*L*-arginine methyl ester, *L*-NAME)、PKC抑制剂(chelerythrine)为Sigma公司; 硫酸阿托品注射液(atropine)、甲硫酸新斯的明注射液(neostigmine)、羧甲基纤维素钠(sodium carboxymethyl cellulose, CMC-Na)为国产分析纯; 葡聚糖蓝-2000(dextran blue -2000, DB)为Pharmacia公司生产; 其他试剂均为国产分析纯.

1.2 方法

1.2.1 槲皮素对正常小鼠胃排空和小肠推进的影响: 小鼠40只, 雌雄不限, 随机分为4组, 实验前禁食24 h. 分别ig羧甲基纤维素钠溶液、槲皮素10 mg/kg(低剂量, LG)、槲皮素50 mg/kg(中剂量, MG)和槲皮素100 mg/kg(高剂量, HG). 给药30 min后各组均ig 2%葡聚糖蓝-2000 0.4 mL, 20 min后分别颈椎脱臼法处死, 取贲门至直肠末端胃肠. 自幽门括约肌处取胃, 沿胃大弯剪开, 将胃中残留物充分溶于3.0 mL去离子水中, 以12 000 r/min离心5 min, 取上清液进行测定. 将2%葡聚糖蓝-2000溶液0.4 mL溶于3.0 mL去离子水中, 并以同法离心, 作为基准溶液. 各溶液分别于分光光度计620 nm处测吸光度值(A值)为胃内色素(葡聚糖蓝-2000)残留量[2]. 胃内色素残留率(%) = A(胃内葡聚糖蓝-2000)/A(基准葡聚糖蓝-2000)×100%. 胃排空百分率(%) = 1-胃内色素残留率.

取出小肠分离肠系膜, 剪取幽门至回盲部的肠管, 置于托盘上. 轻轻将小肠拉成直线, 按5等分结扎小肠, 随即依次剪断[3], 分别放在刻度离心管内, 并依次清洗其内容物于3 mL去离子水中. 12 000 r/min离心5 min, 取上清液于620 nm波长处测量其A值, 算出小肠各段相对百分率(指小肠各段葡聚糖蓝-2000的残留量占整个小肠葡聚糖蓝-2000总量的百分比). 小肠推进相对百分率(%) = A(小肠某段葡聚糖蓝-2000)/A(小肠各段葡聚糖蓝-2000之和)×100%.

1.2.2 槲皮素对阿托品、新斯的明所致小鼠胃排空和小肠推进作用的影响: 取小鼠40只, 雌雄不限, 随机分为4组, 实验前禁食24 h. 分槲皮素和羧甲基纤维素钠2大组, 其中又各分阿托品组(或新斯的明组)、生理盐水组2小组. 槲皮素组ig槲皮素50 mg/kg, 30 min后分别sc阿托品2 mg/kg(或

表 1 槲皮素对正常小鼠小肠推进的影响 (mean ± SD, %)

分组	n	相对百分率				
		第1段	第2段	第3段	第4段	第5段
对照组	10	14.85 ± 8.32	23.91 ± 12.51	45.97 ± 15.28	13.50 ± 12.13	1.77 ± 1.45
槲皮素						
低剂量组	10	17.44 ± 8.29	18.13 ± 11.93	58.65 ± 15.97	4.70 ± 4.69	1.09 ± 0.84
中剂量组	9	20.11 ± 8.16	25.99 ± 12.53	49.43 ± 12.08	2.73 ± 1.36[a]	1.74 ± 1.22
高剂量组	9	16.28 ± 6.56	19.66 ± 6.44	58.92 ± 7.72[a]	4.05 ± 4.39[a]	1.09 ± 1.09

[a]P<0.05 *vs* 对照组.

■相关报道
Duarte *et al*认为槲皮素舒张主动脉环平滑肌是通过抑制蛋白激酶C实现的, 但本课题组实验结果发现, 蛋白激酶C的抑制剂不能加强槲皮素舒张结肠平滑肌的作用.

新斯的明0.08 mg/kg)或生理盐水, 30 min后, ig葡聚糖蓝-2000水溶液0.4 mL/只, 20 min后, 颈椎脱臼法处死. 羧甲基纤维素钠组按10 mL/kg剂量ig 0.5%羧甲基纤维素钠, 其余操作同槲皮素组. 按1.2.1方法分别测定胃内葡聚糖蓝-2000残留率和小肠推进率.

1.2.3 槲皮素对小鼠离体结肠运动的影响: ♂小鼠, 体质量25 g左右. 实验前禁食18 h, 采用颈椎脱臼法处死小鼠, 迅速打开腹腔, 在距肛门括约肌约1 cm处取0.8-1 cm的末端结肠, 迅速放入充以950 mL/L O_2和50 mL/L CO_2的混合气体的Krebs溶液中. 取上述结肠标本, 剥除黏膜后, 上下端用手术线结扎, 将结肠肌条置于盛有20 mL的Krebs溶液的(pH7.3-7.4, 持续供应970 mL/L O_2和30 mL/L CO_2的混合气体, 每秒1-2个气泡, 温度37℃)恒温灌流肌槽中, 下端固定于浴槽底部钩上, 上端连于换能器与MP150放大器连接. 离体肌条在500 mg的前负荷孵育1 h, 每20 min更换一次新鲜的Krebs液, 调节肌条张力使肌条处于最适初长度, 肌条自发活动稳定后开始记录. 给药采用分离加入法, 即给药10 min后用新鲜的Krebs液多次冲洗, 待肌条稳定后再加入另一种药. 肌条收缩活动的测量采用TSD125C型张力传感器将机械收缩转换为电信号, 输出的信号经MP150WSW十六导生物信号采集分析系统(美国Biopac公司)放大, 由Acqknowledge3.7软件系统记录.

统计学处理 计量数据用mean±SD表示, 实验数据组与组之间的比较, 根据资料的性质采用方差分析或t检验的方法, P<0.05为有统计学意义.

2 结果

2.1 槲皮素对小鼠胃排空的影响 低剂量组与对照组胃残留量比较无差异(14.96%±3.36% *vs* 12.79%±3.30%, P>0.05), 槲皮素中、高剂量组与对照组比较显著抑制了胃排空(胃残留量: 25.92%±4.00%, 27.10%±3.25% *vs* 12.79%±3.30%, 均P<0.01). 槲皮素中、高剂量组与低剂量组比较, 对胃排空的抑制有显著性差异(胃残留量: 25.92%±4.00%, 27.10%±3.25% *vs* 14.96%±3.36%, P<0.01).

阿托品可显著抑制胃排空(胃残留量: 26.64%±14.91% *vs* 5.93%±3.82%, P<0.01), 槲皮素组胃残留率为14.44%±9.39%, 明显高于对照组(5.93%±3.82%, P<0.05), 但低于阿托品组(P<0.05); 说明槲皮素对小鼠胃排空有抑制, 但较阿托品弱. 阿托品加槲皮素组胃残留率为28.35%±17.36%, 与阿托品组比较无显著差异. 新斯的明能显著加快胃的排空(胃残留量: 1.86%±1.01% *vs* 5.93%±3.82%, P<0.01), 槲皮素可拮抗新斯的明的作用(胃残留量: 10.28%±4.84% *vs* 1.86%±1.01%, P<0.01), 减缓胃排空的速度.

2.2 槲皮素对小肠推进的影响 槲皮素中、高剂量组能显著减慢葡聚糖蓝-2000在小肠中的推进速度, 从第1段到第3段相对百分率明显高于对照组, 葡聚糖蓝-2000主要集中在第3段, 分别占小肠葡聚糖蓝-2000总量的49.43%±12.08%和58.92%±7.72%, 而在第4段、第5段浓度较低. 中剂量组相对百分率第4段明显低于对照组(P<0.05), 高剂量组也有同样的变化趋势, 其相对百分率在第3段明显高于对照组(P<0.05), 而在第四段则正好相反(P<0.05, 表1).

阿托品能显著降低葡聚糖蓝-2000在小肠中的推进速度, 从第1段到第2段葡聚糖蓝-2000相对百分率明显高于对照组(P<0.01, P<0.05), 占小肠葡聚糖蓝-2000总量的61.71%, 而在第3段葡聚糖蓝-2000相对百分率明显低于对照组(P<0.01). 槲皮素能显著抑制葡聚糖蓝-2000在小肠中的推进速度(P<0.01), 葡聚糖蓝-2000主要集中在第2

■应用要点
目前, 槲皮素已经被证实具有抗肿瘤活性、抗氧化和清除自由基、细胞免疫调节、心血管保护、降压等多方面的生物活性, 并且不良反应小, 具有广泛的应用前景和开发价值.

表 2 槲皮素对阿托品模型小鼠小肠推进影响 (mean ± SD, %)

分组	*n*	相对百分率				
		第1段	第2段	第3段	第4段	第5段
对照组	10	13.16 ± 4.68	16.60 ± 46.60	64.47 ± 11.00	4.82 ± 6.67	0.94 ± 0.42
阿托品组	10	30.55 ± 9.92[b]	31.16 ± 20.10[a]	34.27 ± 22.20[b]	1.72 ± 1.05	2.30 ± 2.75
槲皮素组	9	13.58 ± 13.41[d]	79.34 ± 5.45[bd]	5.24 ± 7.20[bd]	1.01 ± 0.45	0.84 ± 0.83
阿托品+槲皮素组	10	26.11 ± 10.96	66.80 ± 12.71[d]	4.36 ± 6.84[d]	1.68 ± 1.52	1.04 ± 1.16

[a]$P<0.05$, [b]$P<0.01$ *vs* 对照组; [d]$P<0.01$ *vs* 阿托品组.

表 3 槲皮素对新斯的明模型小鼠小肠推进影响 ($n = 10$, mean ± SD, %)

分组	相对百分率				
	第1段	第2段	第3段	第4段	第5段
对照组	13.16 ± 4.68	16.60 ± 46.60	64.47 ± 11.00	4.82 ± 6.67	0.94 ± 0.42
新斯的明组	4.34 ± 1.76[b]	8.70 ± 4.97	40.24 ± 14.61[b]	44.79 ± 17.46[b]	1.95 ± 2.04
槲皮素组	13.58 ± 13.41	79.34 ± 5.45[b]	5.24 ± 7.20[b]	1.01 ± 0.45	0.84 ± 0.83
新斯的明+槲皮素组	7.50 ± 5.73[a]	21.94 ± 12.31[d]	44.51 ± 15.75[b]	24.40 ± 15.42[bc]	1.66 ± 0.96

[a]$P<0.05$, [b]$P<0.01$ *vs* 对照组; [c]$P<0.05$, [d]$P<0.01$ *vs* 新斯的明组.

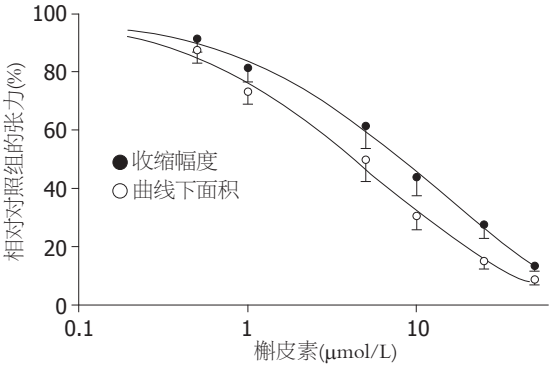


图 1 槲皮素抑制豚鼠结肠平滑肌收缩的量效曲线.

表 4 L-NAME和白屈菜碱对槲皮素舒张结肠平滑肌作用的影响 (%)

分组	*n*	曲线下面积	收缩幅度
槲皮素组	9	16.26 ± 1.44	17.78 ± 1.89
N-硝基-*L*-精氨酸甲酯组	9	120.45 ± 8.75[a]	124.47 ± 9.17[a]
N-硝基-*L*-精氨酸甲酯+槲皮素组	9	17.38 ± 3.32	20.51 ± 2.43
白屈菜碱	5	92.23 ± 6.65	90.85 ± 8.34
白屈菜碱+槲皮素组	5	15.49 ± 1.96	16.15 ± 1.80

槲皮素: 10 μmol/L, 白屈菜碱: 10 μmol/L, *N*-硝基-*L*-精氨酸甲酯: 100 μmol/L; [a]$P<0.05$ *vs* 对照组.

段, 占小肠葡聚糖蓝-2000总量的79.34%, 槲皮素能够加强阿托品对小肠运动抑制效应(表2).

新斯的明可明显加快葡聚糖蓝-2000在小肠中的推进, 葡聚糖蓝-2000主要集中在第3和第4段, 占小肠葡聚糖蓝-2000总量的85.01%. 而对照组主要分布在第3段, 槲皮素组主要分布在第2段. 新斯的明能加速葡聚糖蓝-2000往下端推进, 槲皮素能拮抗这一加快的速度, 使之趋于正常水平, 与新斯的明组比第2段和第4段具有显著性意义($P<0.01$, $P<0.05$, 表3).

2.3 槲皮素对小鼠离体结肠平滑肌收缩性的影响 槲皮素可以浓度依赖性地(0.5-50 μmol/L)抑制小鼠末端结肠的收缩, 表现为振幅减弱, 紧张性下降(图1). 用Hill方程拟合, 槲皮素对结肠平滑肌收缩幅度(Amplitude)和曲线下面积积分(Integral)的IC_{50}分别为12.03±4.36 μmol/L($n = 8$), 5.06±1.52 μmol/L($n = 7$). 为了探讨槲皮素舒张结肠的机制, 本实验分别研究了一氧化氮(NO)和蛋白激酶C两个信号通路途径, 结果显示用100 μmol/L L-NAME预孵结肠平滑肌肌条, 对槲皮素舒张结肠平滑肌的作用没有影响($P>0.05$); 同样在加入槲皮素的基础上, 再加入10 μmol/L蛋白激酶C抑制剂(chelerythrine)不能加强槲皮素舒张平滑肌的作用($P>0.05$, 表4).

3 讨论

有关胃肠道运动功能的研究方法很多, 其中胃排空及肠推进实验是反映胃肠运动综合功能的

一项重要指标, 以往大都采用放射性物质在胃肠道内的分布或某种有色物质在胃肠内的推进距离进行观测对比. 考虑到前者需要有关同位素的测试条件, 后者虽简便但难以确切定量, 为此, 本实验将以往的葡聚糖蓝-2000的定性实验改为定量实验[4]. 本法改良的实用价值: 有色标志物如碳末、葡聚糖蓝-2000的推进实验通常以该物质的前端到达胃肠的距离或出现于粪便的时间作为观测指标, 方法简便且常用, 但基本上属于定性实验. 我们的前期实验证实, 仅以推进距离难以确切地反映胃肠实际的推进功能, 但若结合标志物在胃肠内不同部位的含量来分析则较为全面.

灌注葡聚糖蓝-2000后动物解剖时间的选择: 通常在灌注葡聚糖蓝-2000 10 min后, 葡聚糖推至小肠第1段, 第2段内量很少; 灌注30 min后, 有的动物其肠内的葡聚糖蓝-2000已被推达肠末端, 有的甚至与末端粪便混杂; 而灌注20 min后, 大多数动物内的葡聚糖蓝-2000被推到第3、4段, 因此选择此时进行不同处理后动物的对比, 容易显示差异.

从实验结果看, 槲皮素能够抑制正常小鼠胃排空及小肠推进. 阿托品为M受体阻断剂, 能明显抑制胃肠运动, 槲皮素可加强阿托品对小鼠小肠推进抑制作用, 但对阿托品抑制小鼠胃排空的作用没有影响, 说明槲皮素抑制小鼠胃排空可能是通过胆碱能受体起作用, 而抑制小肠推进不止通过胆碱能受体唯一途径. 新斯的明为胆碱酯酶抑制剂, 使乙酰胆碱在体内浓度增加, 表现为乙酰胆碱的M样和N样作用, 兴奋胃肠道平滑肌, 使胃排空加快, 肠推进增强, 从而使葡聚糖蓝-2000主要集中在第3、4段, 而槲皮素则能够拮抗新斯的明引起的小鼠胃排空、小肠推进亢进. 该结果进一步说明槲皮素能够拮抗乙酰胆碱的作用而舒张胃肠平滑肌.

实验结果证明槲皮素对小鼠离体结肠具有舒张作用, 且随着槲皮素的浓度升高, 槲皮素(0.25-50 μmol/L)舒张作用增强. 有报道认为, 槲皮素在体内是依靠内皮依赖性和非内皮依赖性两种途径舒张血管平滑肌的[5-6], 所以我们研究了NO这个途径是否参与了槲皮素舒张结肠平滑肌的作用, 但实验结果显示槲皮素舒张结肠平滑肌是非内皮依赖性的. Duarte *et al*[7-8]认为槲皮素舒张主动脉环平滑肌是通过抑制蛋白激酶C实现的, 但我们的实验结果发现, 蛋白激酶C的抑制剂不能加强槲皮素舒张结肠平滑肌的作用. 槲皮素舒张胃肠道平滑肌的机制值得进一步的研究.

ig槲皮素后不同时间段的作用比较: 在1.2.1实验中, 中剂量组(50 mg/kg)ig槲皮素后间隔30 min ig葡聚糖蓝-2000, 20min后处死. 在1.2.2实验中, 槲皮素生理盐水组(50 mg/kg)ig槲皮素30 min后ip生理盐水, ip生理盐水30 min后ig葡聚糖蓝-2000, 再20 min后处死. 比较两组各肠段相对百分率, 第2、3、4肠段有显著差异($P<0.01$, $P<0.01$, $P<0.01$), 其中槲皮素生理盐水组第2肠段相对百分率为79.34%±5.45%, 远高于1.2.1实验中剂量组的25.99%±12.53%, 而第3、4肠段分布低于后者. 这说明, ig槲皮素80 min后, 其小肠的抑制效应远大于ig槲皮素50 min后的作用.

胃肠道运动是消化系生理功能的重要组成部分, 其功能紊乱也是引起消化系症状的重要因素之一. 运用中药治疗胃肠运动障碍性疾病已逐渐得到重视, 中药对胃肠运动影响的机制复杂而广泛, 涉及胃肠运动的多个调节环节和因素, 并且这些环节和因素之间还可能存在着相互的作用. 近年来人们就中药对胃肠动力的影响及其调节机制作了一些积极和有益的探索, 提出了“胃肠动力中药”这一概念[9-12]. 在胃肠动力方面, 日益深入的基础研究将为找到安全、有效、经济的治疗胃肠动力障碍性疾病中药打下基础.

目前, 槲皮素已经被证实具有抗肿瘤活性、抗氧化和清除自由基[13]、细胞免疫调节[14]、心血管保护[15]、降压[16]等多方面的生物活性, 并且不良反应小, 具有广泛的应用前景和开发价值. 本实验证实了槲皮素对胃肠道的抑制作用, 但其机制需要进一步的探讨和研究, 这将为开发槲皮素的新应用提供有价值的资料.

■**同行评价**
本文对槲皮素抑制胃肠道的作用进行了初步研究, 其研究思路清晰, 设计合理, 对进一步阐明槲皮素的作用与可能存在的新用途做了有益的探索, 具有较强的创新性.

4 参考文献

1 李强, 李力更, 史清文. 槲皮素等黄酮类衍生物的合成及其生物活性. 河北医科大学学报 2008; 29: 150-152
2 李岩, 麻树人, 田代真一. 五苓散对小鼠胃排空及小肠推进功能的影响. 中华消化杂志 1997; 17: 9
3 刘蓉, 唐方. 紫苏梗对大鼠离体结肠肌条收缩运动的影响. 天津中医药 2007; 24: 144-145
4 李永渝, 裴德恺, 高静涛, 王冬梅. 胃排空、肠推进实验方法的改进–酚红定量测定法. 中国药理学通报 1985; 1: 58-60
5 Chen CK, Pace-Asciak CR. Vasorelaxing activity of resveratrol and quercetin in isolated rat aorta. *Gen Pharmacol* 1996; 27: 363-366
6 Chan EC, Pannangpetch P, Woodman OL. Relaxation to flavones and flavonols in rat isolated thoracic aorta: mechanism of action and structure-activity relationships. *J Cardiovasc Pharmacol* 2000;

35: 326-333
7 Duarte J, Pérez Vizcaíno F, Utrilla P, Jiménez J, Tamargo J, Zarzuelo A. Vasodilatory effects of flavonoids in rat aortic smooth muscle. Structure-activity relationships. *Gen Pharmacol* 1993; 24: 857-862
8 Duarte J, Pérez-Vizcaíno F, Zarzuelo A, Jiménez J, Tamargo J. Vasodilator effects of quercetin in isolated rat vascular smooth muscle. *Eur J Pharmacol* 1993; 239: 1-7
9 庞龙, 周德端. 中药对胃肠运动的调节作用. 世界华人消化杂志 1998; 6: 535-536
10 赵荣莱. 调节胃肠运动中药的研究. 北京中医 1999; 18: 15-16
11 司春峰, 魏睦新. 中药胃肠动力实验方法概论. 浙江中西医结合杂志 2004; 14: 129-131
12 朱金照, 冷恩仁, 桂先勇, 陈东风. 白术、藿香等中药对胃排空、肠推进影响的实验研究. 中国中医基础医学杂志 2000; 6: 21-23
13 王崇道, 强亦忠, 劳勤华, 邵源. 槲皮素抗氧化和清除自由基的作用. 苏州医学院学报 1999; 19: 767-768
14 王亚平, 丁献义, 彭慧敏, 郭臧珍, 左吉亮, 马克强. 槲皮素对细胞免疫功能的调节. 河北医科大学学报 1998; 19: 143-145
15 陈辉, 刘应才. 槲皮素的心血管保护作用. 国际心血管病杂志 2007; 34: 57-60
16 李家富, 章茂顺, 王家良, 符宗胤, 廖晓阳. 槲皮素对家兔主动脉血管平滑肌细胞胞内游离钙浓度的影响. 高血压杂志 2000; 8: 55-57
17 Fusi F, Saponara S, Pessina F, Gorelli B, Sgaragli G. Effects of quercetin and rutin on vascular preparations: a comparison between mechanical and electrophysiological phenomena. *Eur J Nutr* 2003; 42: 10-17

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

第九次全国消化系疾病学术会议征文通知

本刊讯 中华医学会消化病学分会定于2009-12-04/06在广州市召开第九次全国消化系疾病学术会议. 现将会议的征文内容及有关事项通知如下:

1 征文内容

与消化系统疾病有关的流行病学、基础及临床研究. (1)功能性胃肠疾病及动力障碍性胃肠病(包括胃食管反流病); (2)幽门螺杆菌及其相关疾病; (3)胰腺疾病; (4)肝胆疾病; (5)胃肠道肿瘤; (6)炎症性肠病; (7)胃肠激素; (8)消化疾病介入治疗; (9)青年委员会专场(全部用英文交流).

2 征文要求

(1)报送的论文要求800字左右的中文摘要一份, 摘要内容包括: 目的、方法、结果、结论, 注明作者姓名、单位及邮编, 论文文责自负. 投青年会专场的论文必须附相应的英文摘要, 第一作者年龄须在45周岁以下(1964-11后出生). (2)凡已在全国性学术会议上或全国公开发行的刊物上发表过的论文不予受理. (3)通过本次会议专用网站报送电子文稿及报名注册, 会议不接受书面投稿. 要求作者本人通过会议网站上传稿件并留下联系方式, 会议网址: http://www.csgd.org.cn. (4)截稿日期: 2009-09-15.

希望各地委员积极、认真组织所在地区医生踊跃投稿并参会.

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年6月28日; 17(18): 1821-1826
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

基础研究 BASIC RESEARCH

白屈菜红碱对肝纤维化大鼠肝脏TGF-β1和α-SMA表达的影响

李映菊, 汪煜华, 刘映霞

李映菊, 南华大学附属第一医院感染科 湖南省衡阳市 421001
汪煜华, 南华大学药学系 湖南省衡阳市 421001
刘映霞, 深圳市东湖医院 广东省深圳市 518021
李映菊, 主治医师, 硕士, 主要从事肝病防治的研究.
作者贡献分布: 此课题由李映菊、汪煜华及刘映霞设计; 研究过程及数据分析由李映菊与汪煜华完成; 论文写作由李映菊完成.
通讯作者: 李映菊, 主治医师, 421001, 湖南省衡阳市, 南华大学附属第一医院感染科. yjj_li@yahoo.com.cn
电话: 0734-8279052
收稿日期: 2009-04-27 修回日期: 2009-06-05
接受日期: 2009-06-08 在线出版日期: 2009-06-28

Effects of chelerythine on hepatic TGF-β1 and α-SMA expression in rats with hepatic fibrosis

Ying-Ju Li, Yu-Hua Wang, Ying-Xia Liu

Ying-Ju Li, Department of Infections, the First Affiliated Hospital of University of South China, Hengyang 421001, Hunan Province, China
Yu-Hua Wang, Department of Pharmacy, University of South China, Hengyang 421001, Hunan Province, China
Ying-Xia Liu, Department of Infections, Shenzhen Donghu Hospital, Shenzhen 518021, Guangdong Province, China
Correspondence to: Ying-Ju Li, Department of Infections, the First Affiliated Hospital of University of South China, Hengyang 421001, Hunan Province, China. yjj_li@yahoo.com.cn
Received: 2009-04-27 Revised: 2009-06-05
Accepted: 2009-06-08 Published online: 2009-06-28

Abstract

AIM: To study the effects of chelerythine on TGF-β1 and α-SMA expression of CCl_4 -induced hepatic fibrosis in rats.

METHODS: Models of hepatic fibrosis were established by hypodermic injection of tetrachloride, in combination with the control of nutrition and the drinking of 100 mL/L alcohol to rats. According to histological sections, hepatic fibrosis in rats emerged at the end of the fourth week. Subsequently different doses of chelerythine were used of hepatic fibrosis in rats. In addition, normal control group, fibrotic model group, γ-interform group in experiment was arranged. At the end of the eighth week, all the rats were executed. Transforming growth factor-β1 (TGF-β1) and α-smooth muscle actin (α-SMA) in liver were examined with the immunohistochemistrical technique.

RESULTS: The expression of TGF-β1 and α-SMA in liver of rats in fibrotic model group induced by CCl_4 were ameliorated significantly compared with the model group (TGF-β1: 6.08 ± 2.35, 4.31 ± 2.10, 4.7 ± 1.70 *vs* 9.33 ± 3.08; α-SMA: 3.75 ± 1.76, 3.23 ± 1.42, 3.20 ± 1.17 *vs* 6.67 ± 2.29, all $P < 0.01$). The expression of TGF-β1 and α-SMA in liver was not obviously different between all chelerythine groups and γ-INF group (4.23 ± 2.24, 3.38 ± 1.39, both $P > 0.05$).

CONCLUSION: Chelerythine can decrease the expression of TGF-β1 as well as α-SMA CCl_4 -induced hepatic fibrosis in rats.

Key Words: Chelerythine; Rat; Hepatic fibrosis; Transforming growth factor-β1; α-smooth muscle actin

Li YJ, Wang YH, Liu YX. Effects of chelerythine on hepatic TGF-β1 and α-SMA expression in rats with hepatic fibrosis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(18): 1821-1826

摘要

目的: 探讨白屈菜红碱对四氯化碳诱导肝纤维化大鼠肝脏组织转化生长因β1(TGF-β1)和α-平滑肌肌动蛋白(α-SMA)表达的影响.

方法: 用四氯化碳皮下注射, 同时联合营养控制和饮用100 mL/L乙醇复合法制备SD大鼠肝纤维化模型, 在实验第4周末, 肝纤维化模型建立(2期肝纤维化形成), 然后用低、中、高剂量白屈菜红碱(0.2、0.6、2.0 g/L)治疗, 同时实验设立病理模型组、空白对照和阳性对照(INF-γ)组. 给药8 wk后, 采用免疫组织化学检测各组大鼠肝脏组织TGF-β1和α-SMA的表达.

结果: 各剂量白屈菜红碱组肝脏TGF-β1和

■**背景资料**
慢性肝病, 尤其是肝硬化严重危害人类健康. 我国是慢性肝病的高发区域, 病毒性肝炎、酒精性肝病和血吸虫病是引起我国慢性肝病的三大主要原因, 其发病慢性乙型肝炎排在首位. 肝纤维化是慢性肝病向肝硬化发展的中心环节, 肝纤维化可以逆转, 而肝硬化已不可逆转. 因此, 如何有效地防治肝纤维化, 阻断其进展, 已经成为国内外研究的热点.

■**同行评议者**
党双锁, 教授, 西安交通大学第二医院感染科

■研发前沿
目前, 临床虽然已有一些治疗肝纤维化的中西药物, 但疗效还不够理想, 而且有些药物不良反应较大, 费用较高, 所以国内外的研究者都在努力寻找疗效确切、价格低廉、不良反应小的防治肝纤维化药物, 以便能阻止和逆转肝纤维化的进程, 最终治愈大多数慢性肝病.

α-SMA表达明显低于病理模型组(TGF-β1: 6.08±2.35, 4.31±2.10, 4.7±1.70 *vs* 9.33±3.08; α-SMA: 3.75±1.76, 3.23±1.42, 3.20±1.17 *vs* 6.67±2.29, 均P<0.01), 而与INF-γ组比较无明显差异(4.23±2.24, 3.38±1.39, 均P>0.05).

结论: 白屈菜红碱能降低四氯化碳诱导的肝纤维化大鼠模型肝脏组织TGF-β1和α-SMA.

关键词: 白屈菜红碱; 大鼠; 肝纤维化; 转化生长因β1; α-平滑肌肌动蛋白

李映菊, 汪煜华, 刘映霞. 白屈菜红碱对肝纤维化大鼠肝脏TGF-β1和α-SMA表达的影响. 世界华人消化杂志 2009; 17(18): 1821-1826
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1821.asp

0 引言

白屈菜红碱(chelerythine)是从民间中草药博落回提取的活性生物碱, 为异喹啉衍生物碱. 近年有研究者发现白屈菜红碱可通过下调转化生长因子β1(transforming growth factor-β1, TGF-β1)引起的血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达而抑制腹腔间皮细胞产生的纤维化[1]. 本研究旨在观察白屈菜红碱对大鼠肝纤维化动物模型肝脏表达TGF-β1和α-平滑肌肌动蛋白(alpha-smooth muscle actin, α-SMA)表达的影响.

1 材料和方法

1.1 材料 白屈菜红碱购自Alomone公司. 注射用重组人IFN-γ由上海克隆生物高技术有限公司提供, 临用前用1 mL注射用水溶解后作肌肉注射. TGF-β1一抗, 兔抗人、兔、鼠TGF-β1多克隆抗体(1∶100稀释, 批号BA0290)为博士德(生物有限)公司产品. 中杉公司EDTA抗原修复液(pH9.0), 高温修复. 基因公司(DakoCytomation)鼠抗人平滑肌肌动蛋白(SMA) mAb, 批号M0851, 1∶200稀释. 迈新公司柠檬酸一盐修复液(pH7.2), 高温修复. 显微照相系统和IX70倒置显微镜为日本Olympus公司生产.

1.2 方法

1.2.1 分组及处理: ♂SD大鼠100只, 体质量200±20 g, 清洁级, 由本校生命科学院动物中心提供. 实验前先适应性喂养2 wk, 大鼠可在半屏蔽系统中自由获取水和食物. 随机分出10只SD大鼠作为正常对照组(A组, n = 10), 余90只用作肝纤维化动物模型的制备. 动物模型制备: 将CCl_4与纯花生油以4∶6配成400 mL/L油剂, 第1次按0.5 mL/100 g皮下注射, 以后按0.3 mL/100 g皮下注射, 每周2次. 自实验第2周开始, 采取营养控制和加入酒精摄入以加快肝纤维化动物模型的形成(以玉米面为饲料, 加0.5%胆固醇的高脂低蛋白食物, 以100 mL/L乙醇为唯一饮料). 从第2周开始, 每周末处死5只大鼠, 取肝脏组织作肝纤维化病理学检查, 按照2000年西安会议《病毒性肝炎防治方案》肝纤维化分期标准来判断肝纤维化程度[2]. 以后继续应用CCl_4与纯花生油油剂联合营养控制和乙醇摄入喂养动物, 直到实验的第12周. 在实验第4周末, 大鼠肝纤维化模型建成(即2期肝纤维化形成), 将剩余75只SD大鼠, 按照随机表编号分为病理模型组模型组(B组, n = 15)、IFN-γ组(C组, n = 15)、白屈菜红碱小、中、大剂量组(D组、E组、F组, n = 15). IFN-γ组10万U/(kg·d), 肌注, 连用8 wk; 后3组分别用浓度为2.0、0.6、0.2 g/L白屈菜红碱按0.1 mL/(100 g·d)腹腔注射, 连用8 wk; 模型对照组、正常对照组以同等剂量的, 生理盐水腹腔注射, 连续治疗8 wk. 治疗期间继续使用CCl_4维持大鼠肝纤维化程度直到实验结束. 治疗8 wk后麻醉SD大鼠, 解剖取肝脏, 观察药物肝纤维化大鼠肝脏TGF-β1和α-SMA的表达的影响.

1.2.2 实验结束时取材和处理: 实验第12周末, 麻醉SD大鼠, 解剖取肝脏, 取每只大鼠肝左叶的相同部位, 大小约5 mm×5 mm×5 mm, 40 g/L甲醛溶液固定, 常规石蜡包埋, 连续切片, 厚3 μm, 用免疫组织化学肝脏检查TGF-β1和α-SMA的表达.

1.2.3 α-SMA免疫组织化学染色: 切片置60℃烘箱过夜; 二甲苯脱蜡, 酒精梯度水化; PBS(pH7.4)冲洗3次, 每次5 min; 入0.01 mol/L柠檬酸修复液10 min, 保持温度92-95℃; PBS(pH7.4)冲洗3次, 每次5 min; 入30 mL/L H_2O_2 15 min; PBS(pH7.4)冲洗3次, 每次5 min; 滴加100 mL/L羊血清于37℃孵育30 min; 加一抗(1∶100), 于4℃冰箱过夜; 次日, PBS(pH7.4)冲洗3次, 每次5 min; 加二抗于37℃孵育30 min, PBS(pH7.4)冲洗3次, 每次5 min; 滴加SABC液37℃孵育15 min, PBS(pH7.4)冲洗3次, 每次5 min; DAB显色2 min; 自来水终止反应5 min; 苏木素复染核, 1%盐酸-乙醇分色, 梯度酒精脱水; 二甲苯透明、中性树胶封片.

1.2.4 TGF-β1免疫组化染色: (1)脱蜡: 切片常规二甲苯脱蜡3次, 每次10 min; (2)水化: 1000、900、800 mL/L乙醇各5 min; (3)抗原修复: 将切片浸入0.01 mol/L柠檬酸修复液(pH6.0), 微波炉

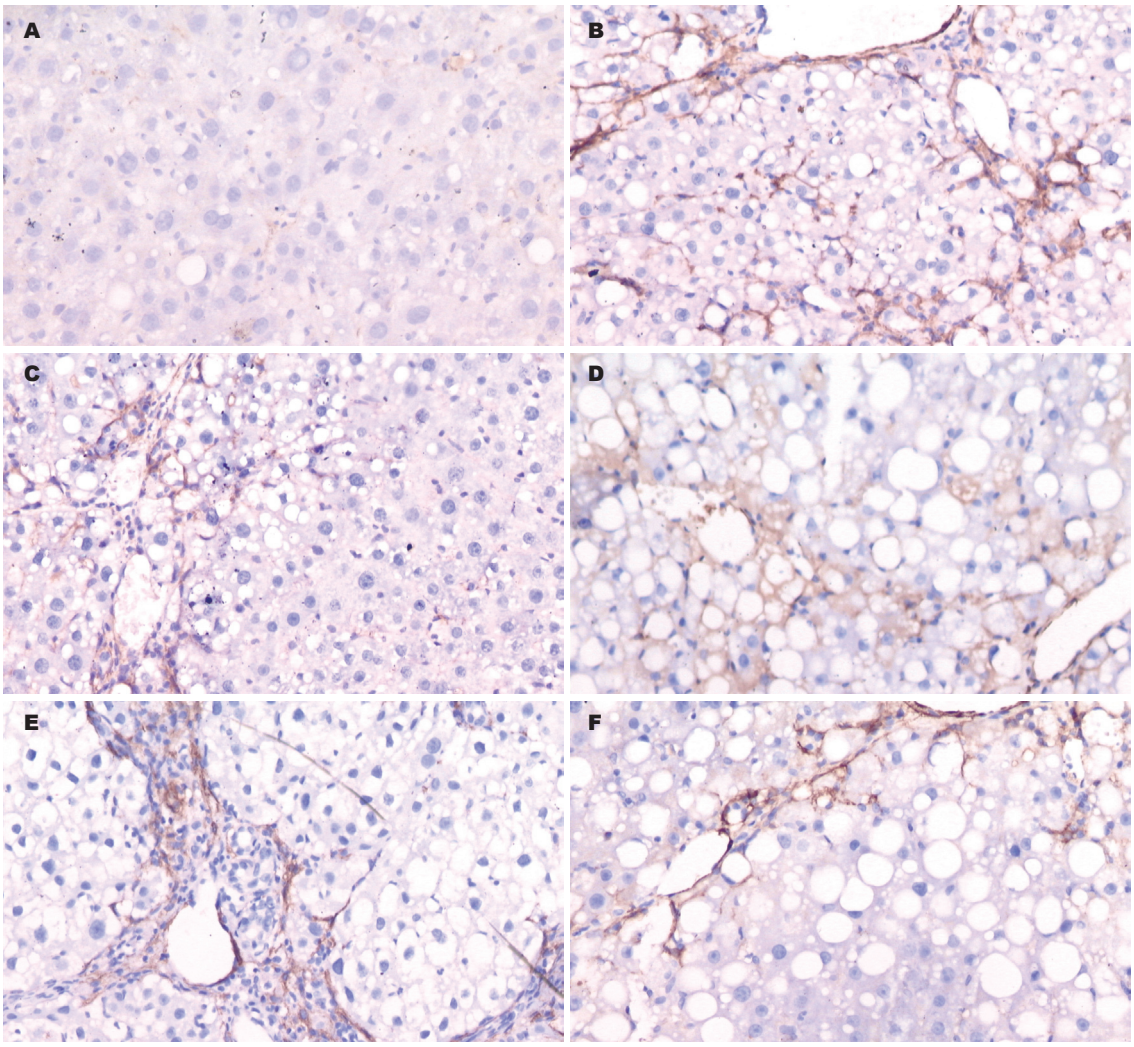


图 1 实验第12周肝脏组织α-SMA的表达(×200). A: 正常组; B: 病理模型组; C: IFN-γ组; D: 白屈菜红碱小剂量组; E: 白屈菜红碱中剂量组; F: 白屈菜红碱大剂量组.

■相关报道
有研究者发现白屈菜红碱可通过下调TGF-β引起的VEGF的表达而抑制腹腔间皮细胞产生的纤维化, 且本课题组前期实验已证实白屈菜红碱明显减轻CCl_4诱导的肝纤维化大鼠模型的纤维化.

加热至沸腾后断电, 间隔5 min后, 反复1次; 冷却后0.01 mol/L PBS(pH7.4)洗涤5 min×3; (4)灭活内源性过氧化物酶: 30 mL/L H_2O_2室温15 min, 灭活内源性过氧化物酶, PBS洗5 min×3; (5)封闭: 滴加100 g/L山羊血清封闭液, 室温30 min, 甩去多余液体, 不洗; (6)孵育一抗: 滴加兔抗鼠TGF-β1一抗(1∶100), 4℃过夜, PBS洗5 min×3; (7)孵育二抗: 滴加生物素化羊抗兔IgG, 37℃孵育30 min, PBS洗5 min×3; (8)SABC: 滴加试剂SABC, 37℃孵育15 min, PBS洗5 min×4; (9)DAB显色, 显微镜观察, 流水漂洗终止反应, 苏木素复染核; (10)1%盐酸-乙醇分色, 梯度酒精脱水、二甲苯透明、中性树胶封片. PBS缓冲液替代一抗作阴性对照, 博士德公司提供切片作阳性组织对照. TGF-β1阳性细胞为细胞质染成棕黄色.

1.2.5 免疫组织化学评定标准: α-SMA、TGF-β1每张切片均由2位病理科主任医师分别观察5个显色较好的高倍镜视野, 分别记录显色程度和显色范围. 显色程度分弱、中、强, 用(+)、(++)、(+++)记录; 显色范围占高倍视野<1/4时记录为(+), -2/4为(++), -3/4为(+++), >3/4为(++++). 然后按以下公式计算, 显色指数 = 显色程度×显色范围(+, ++, +++, ++++分别按1, 2, 3, 4分计算). 2位医师的检查结果取均数为每一种蛋白表达的最终显色指数.

统计学处理 实验数据采用SPSS13.0统计软件处理, 计量资料采用用方差分析和LSD检验. 以$P<0.05$确定差异有统计学意义.

2 结果

在实验12 wk结束, 正常对照组10只均存活, 模型组死亡6只, IFN-γ组死亡2只, 白屈菜红碱大、中、小剂量组分别死亡3、2、5只. 大鼠肝组织α-SMA. TGF-β1蛋白表达以细胞胞质为主, 着色为黄色或棕黄色. 病理模型组和各给药组大

■应用要点
白屈菜红碱能降低四氯化碳诱导的肝纤维化大鼠模型肝脏组织TGF-β1和α-SMA.

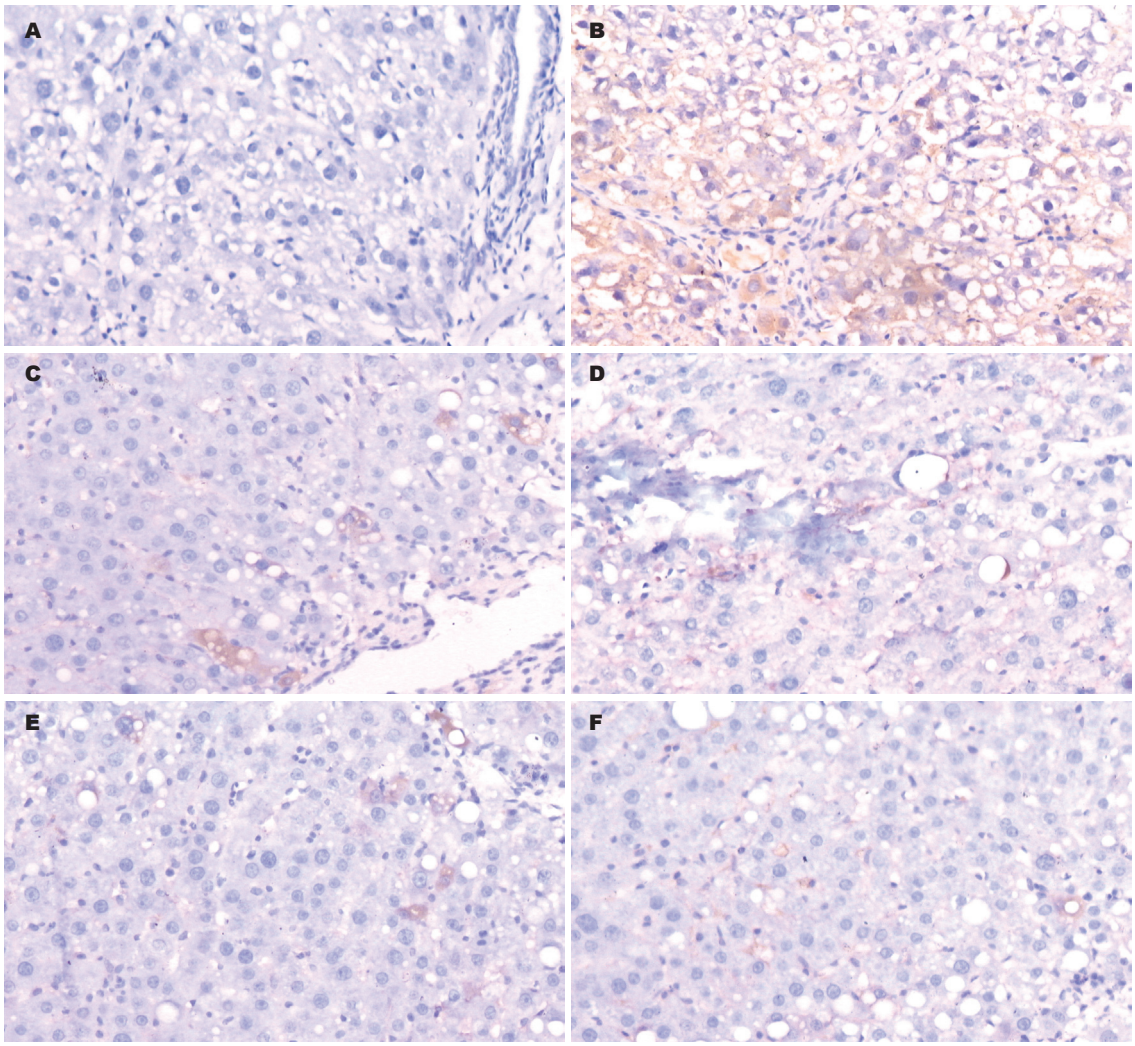


图 2 实验第12周肝脏组织TGF-β1的表达(×200). A: 正常组; B: 病理模型组; C: IFN-γ组; D: 白屈菜红碱小剂量组; E: 白屈菜红碱中剂量组; F: 白屈菜红碱大剂量组.

鼠肝组织α-SMA的表达较正常对照组明显升高($P<0.01$), 白屈菜红碱大中小剂量组和IFN-γ组α-SMA计分较模型组显著降低($P<0.01$), 白屈菜红碱各剂量组与IFN-γ组无显著性差异($P>0.05$), 白屈菜红碱各剂量组之间亦无显著性差异($P>0.05$). 各给药组大鼠和病理模型组肝组织TGF-β1的表达较正常对照组明显升高 ($P<0.01$), 白屈菜红碱大中小剂量组和IFN-γ组计分较模型组显著降低($P<0.01$), 白屈菜红碱各剂量组与IFN-γ组无显著性差异($P>0.05$), 白屈菜红碱各剂量组之间亦无显著性差异($P>0.05$, 表1, 图1-2).

表 1 肝组织TGF-β1和α-SMA的表达 (mean ± SD, 显色指数)

分组	n	TGF-β1	α-SMA
正常对照组	10	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
病理模型组	9	9.33 ± 3.08	6.67 ± 2.29
IFN-γ组	13	4.23 ± 2.24[b]	3.38 ± 1.39[b]
白屈菜红碱			
小剂量组	12	6.08 ± 2.35[b]	3.75 ± 1.76[b]
中剂量组	13	4.31 ± 2.10[b]	3.23 ± 1.42[b]
大剂量组	10	4.70 ± 1.70[b]	3.20 ± 1.17[b]

[b]$P<0.01$ *vs* 正常组, 模型组.

3 讨论

肝纤维化其实质是肝内以胶原为主的肝脏细胞外基质(extracellular matrix, ECM)各成分合成增多, 降解相对不足, 致使ECM在肝内过多沉积. 肝纤维化进一步发展可引起肝小叶结构改建、假小叶及结节形成导致肝硬化, 甚至少数还可以发展为肝癌, 严重威胁人类健康. 目前认为ECM累积所形成的肝纤维化通过有效的治疗是可以逆转的, 但若没有得到及时有效的治疗, 则最终发展为不可逆转的肝硬化[3]. 因此, 如何有效地防治肝纤维化, 阻断其进展, 已经成为国内外研究的热点.

随着医学分子生物学技术的运用, 对肝纤维化发生机制进行了广泛探讨, 其形成的细胞和分子机制研究取得了很大进展, 并有了不少新认识[4-12]. 目前已清楚, 肝脏纤维化过程中ECM的聚集不是静止的, 而是一个动态的过程. 目前公认的肝纤维化形成机制是从肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)的瀑布样激活效应开始的. "三步激活模式"于1995年由德国Gressner *et al*[13]提出, 现已被广泛接受并已列入Oxford Text Book of Clinical Hepatology. HSCs是肝纤维化时细胞外基质产生的主要来源细胞, 肝星状细胞活化激活在肝纤维化的发生、发展中起关键的作用, 各种细胞因子通过自分泌和/或旁分泌机制实现对HSCs的调控. 因此, HSCs活化是肝纤维化形成的关键. 任何病因致肝损伤后, HSCs从含VitA丰富的静止状态经过激活过程, 转变成具增生活性的、产生纤维的具收缩特性的肌成纤维细胞, 并表达α-SMA, 合成大量ECM, 因此, α-SMA被认为是HSCs活化的标志[14]. 细胞因子在肝纤维化发展及消退的各个阶段起重要作用. TGF-β被认为是最强的肝纤维化促进剂, TGF-β在肝纤维化的HSC的"早期启动"及"激活的持久化"均起重要作用, 是肝损伤后全面促进肝纤维化中的一个关键细胞因子[15]. 目前一些学者认为抗肝纤维化的治疗主要要针对HSCs和TGF-β[16].

目前, 临床虽然已有一些治疗肝纤维化的中西药物, 但疗效还不够理想, 而且有些药物不良反应较大, 费用较高, 所以国内外的研究者都在努力寻找疗效确切、价格低廉、不良反应小的防治肝纤维化药物, 以便能阻止和逆转肝纤维化的进程, 最终治愈大多数慢性肝病. 我国天然药物资源丰富, 以成为众多药物开发的重要源头. 自植物药中分离提取有活性、低毒的单体药物, 可能会给抗纤维化治疗提供新的希望. 白屈菜红碱(chelerythine)是从民间中草药博落回提取的活性生物碱. 近年有研究者发现白屈菜红碱可通过下调TGF-β引起的VEGF的表达而抑制腹腔间皮细胞产生的纤维化[1]. 但目前白屈菜红碱抗纤维化作用在整体动物的研究尚未见报道. 我们前期实验已证实白屈菜红碱明显减轻CCl_4诱导的肝纤维化大鼠模型的纤维化. 本实验通过CCl_4联合营养控制和饮用100 mL/L乙醇复合法制备SD大鼠肝纤维化模型[17-18], 在2期肝纤维化形成后, 用白屈菜红碱干预治疗. 实验显示肝脏组织细胞因子TGF-β1和α-SMA表达在白屈菜红碱生物碱大、中、小剂量组中改善非常明显, 与模型组比较有显著差异($P<0.01$). 而TGF-β1是肝纤维化最关键的细胞因子, α-SMA是HSCs活化的标志, 肝脏细胞因子TGF-β1和α-SMA在实验中的改变, 提示白屈菜红碱抗CCl_4诱导的大鼠肝纤维化, 有可能是通过细胞因子介导或是作用HSCs起作用.

白屈菜红碱是蛋白激酶C的抑制剂[19], 而蛋白激酶C是细胞因子发挥作用的一个重要的信号通路; 白屈菜红碱还可以通过多种途径促进细胞凋亡[20]. 是否白屈菜红碱生物碱是通过下调TGF-β来起到抗肝纤维化作用, 或/和是通过引起HSC凋亡, 或有其他靶点同时存在有待于进一步验证.

■同行评价
本实验设计合理, 结果可靠, 研究结果对于了解白屈菜红碱的抗纤维化作用有意义.

4 参考文献

1 Szeto CC, Lai KB, Chow KM, Szeto CY, Wong TY, Li PK. Differential effects of transforming growth factor-beta on the synthesis of connective tissue growth factor and vascular endothelial growth factor by peritoneal mesothelial cell. *Nephron Exp Nephrol* 2005; 99: e95-e104

2 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案. 中华肝脏病杂志 2000; 8: 324-332

3 Okazaki I, Watanabe T, Hozawa S, Niioka M, Arai M, Maruyama K. Reversibility of hepatic fibrosis: from the first report of collagenase in the liver to the possibility of gene therapy for recovery. *Keio J Med* 2001; 50: 58-65

4 Friedman SL. Seminars in medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. The cellular basis of hepatic fibrosis. Mechanisms and treatment strategies. *N Engl J Med* 1993; 328: 1828-1835

5 Olaso E, Friedman SL. Molecular regulation of hepatic fibrogenesis. *J Hepatol* 1998; 29: 836-847

6 Friedman SL, Maher JJ, Bissell DM. Mechanisms and therapy of hepatic fibrosis: report of the AASLD Single Topic Basic Research Conference. *Hepatology* 2000; 32: 1403-1408

7 Friedman SL. Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. *J Biol Chem* 2000; 275: 2247-2250

8 李伟平, 任浩洋, 张宝阳, 虞朝辉, 厉有名. VEGF在大鼠慢性酒精性肝损伤中的表达. 世界华人消化杂志 2006; 14: 1766-1770

9 Gressner OA, Weiskirchen R, Gressner AM. Biomarkers of hepatic fibrosis, fibrogenesis and genetic pre-disposition pending between fiction and reality. *J Cell Mol Med* 2007; 11: 1031-1051

10 Parsons CJ, Takashima M, Rippe RA. Molecular mechanisms of hepatic fibrogenesis. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22 Suppl 1: S79-S84

11 哈明昊, 饶慧瑛, 刘峰, 潘孝本, 封波, 陈红松, 魏来. 乙型肝炎病毒促进CTGF和TGF-β1在肝星状细胞中的表达. 世界华人消化杂志 2008; 16: 924-928

12 强晖, 徐红娟, 周国雄, 黄介飞, 黄华, 张弘. 细胞外信号调节激酶与胶原在肝纤维化过程中的表达及相关性. 世界华人消化杂志 2009; 17: 770-774

13 Gressner AM. Transdifferentiation of hepatic stellate cells (Ito cells) to myofibroblasts: a key event in hepatic fibrogenesis. *Kidney Int Suppl* 1996; 54: S39-S45

14 王欣欣, 郎振为, 孙琳, 王泰龄, 赵景民, 张世杰.

α-SMA在慢性乙型病毒性肝炎肝组织中的表达. 临床肝胆病杂志 2005; 21: 76-78
15 Inuzuka S, Ueno T, Torimura T, Tamaki S, Sugawara H, Sakata R, Kusaba N, Sata M, Tanikawa K. The significance of colocalization of plasminogen activator inhibitor-1 and vitronectin in hepatic fibrosis. *Scand J Gastroenterol* 1997; 32: 1052-1060
16 Gressner AM, Weiskirchen R. Modern pathogenetic concepts of liver fibrosis suggest stellate cells and TGF-beta as major players and therapeutic targets. *J Cell Mol Med* 2006; 10: 76-99
17 Pinzani M, Rombouts K, Colagrande S. Fibrosis in chronic liver diseases: diagnosis and management. *J Hepatol* 2005; 42 Suppl: S22-S36
18 Goldani HA, Matte US, Ramos AR, Costa TG, Winkelmann LV, Meurer L, Vieira SM, Kieling CO, Silveira TR. The role of food restriction on CCl4-induced cirrhosis model in rats. *Exp Toxicol Pathol* 2007; 58: 331-337
19 Kim J, Lin J, Adam RM, Lamb C, Shively SB, Freeman MR. An oxidative stress mechanism mediates chelerythrine-induced heparin-binding EGF-like growth factor ectodomain shedding. *J Cell Biochem* 2005; 94: 39-49
20 Adhami VM, Aziz MH, Reagan-Shaw SR, Nihal M, Mukhtar H, Ahmad N. Sanguinarine causes cell cycle blockade and apoptosis of human prostate carcinoma cells via modulation of cyclin kinase inhibitor-cyclin-cyclin-dependent kinase machinery. *Mol Cancer Ther* 2004; 3: 933-940

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

第九届全国消化系恶性病变介入诊疗研讨会暨内镜/介入新技术论坛征文通知

本刊讯 为满足临床一线医师对消化系病变介入新技术研究、探讨和交流的欲望, 进一步提升国内消化系疾病尤其是消化系恶性病变介入诊治的技术水平, 上海同仁医院联合河南省人民医院以及河南省新乡医学院第一附属医院, 定于2009-11-06/11在河南省新乡市主办第九届全国消化系恶性病变介入诊疗研讨会暨内镜/介入新技术论坛. 本次会议由河南省抗癌协会、河南省消化内镜学会、河南省医学会介入治疗专业分会具体承办, 《中华放射学杂志》、《中华消化内镜学杂志》、《世界胃肠病学杂志》、《介入放射学杂志》、《微创医学杂志》以及《医学信息内外科学杂志》共同参与协办. 会议将着重介绍消化系病变内镜治疗、介入放射学治疗、肿瘤内外科治疗的新理论、新技术和新方法, 为各相关交叉学科之间的相互交流和研讨搭建一个平台. 本次会议拟安排相关学科的著名专家围绕食管、胆管、胃肠道等消化系管腔内支架治疗应用技术和发生的问题以及消化系病变、门静脉高压、胆道结石等疾病的消化内镜、介入放射、内外科治疗新进展等热点课题进行精彩演讲及深入研讨. 会议还将邀请美国、德国和韩国专家介绍相关领域的技术进展并安排内容丰富的手术演示. 参会者将授予国家级一类继续医学教育学分10分.

1 征文内容

(1)消化系恶性病变内镜治疗、介入放射治疗、外科治疗、肿瘤化学治疗、生物治疗及免疫治疗等; (2)消化系良性病变, 如: 门静脉高压、胆管结石、消化系出血等的内镜及介入新技术应用; (3)消化系疾病诊治边沿交叉学科与消化介入诊治新技术相关的论著、文献综述、临床经验、个案报告等各类稿件.

2 投稿要求

(1)专题讲座由组委会约稿, 也可自荐, 需全文; (2)论著需1000字以内的标准论文摘要, 包括目的、方法、结果与结论四要素. 经验交流、短篇报道等全文限1000字以内; (3)所有稿件内容应科学、创新、实用、数据准确, 书写规范, 稿件应是未发表过的论文. 优秀论文将安排在国家级杂志上发表. (4)所有稿件一律要求电脑打印(Word格式), 邮寄者需附软盘, 特别鼓励用E-mail投稿(以附件Word格式); (5)截稿日期: 2009-09-31.

3 联系方式

杨瑞民, 453100, 河南省卫辉市健康路88号, 新乡医学院第一附属医院介入科. y-rmin@163.com, 电传: 0373-4402942, 手机: 13903805978

梁宝松, 450003, 河南省郑州市纬五路7号, 河南省人民医院内镜科. lbaosong@hotmail.com, 电话: 0371-65063502

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年6月28日; 17(18): 1827-1831
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

基础研究 BASIC RESEARCH

仓鼠胰腺癌细胞株移植性肝癌模型的建立及其生物学特性

毛庭枝, 周巧灵, 梁荣感, 戴支凯, 罗伟生, 肖胜军, 徐 庆

毛庭枝, 桂林医学院组织胚胎学教研室 广西壮族自治区桂林市 541004
周巧灵, 梁荣感, 戴支凯, 徐庆, 桂林医学院药理学教研室 广西壮族自治区桂林市 541004
罗伟生, 桂林医学院附属医院消化内科 广西壮族自治区桂林市 541004
肖胜军, 桂林医学院病理学教研室 广西壮族自治区桂林市 541004
毛庭枝, 硕士, 副教授, 主要从事呼吸、消化系统组织学研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 30760281
广西壮族自治区教育厅科研基金资助项目, No. 200810MS141
作者贡献分布: 本研究由徐庆与毛庭枝设计; 实验操作由毛庭枝、周巧灵、梁荣感、戴支凯、罗伟生、肖胜军及徐庆完成; 数据分析由毛庭枝、周巧灵及戴支凯完成; 本论文写作由毛庭枝与徐庆完成.
通讯作者: 徐庆, 教授, 541004, 广西壮族自治区桂林市环城北二路109号, 桂林医学院药理学教研室. xq5895801@163.com
电话: 0773-5899925 传真: 0773-5899925
收稿日期: 2009-04-22 修回日期: 2009-05-28
接受日期: 2009-06-08 在线出版日期: 2009-06-28

Establishment of an implanted liver tumor model of hamster with the pancreatic cancer cell line pGHAM-l of hamster and its biologic characteristics

Ting-Zhi Mao, Qiao-Ling Zhou, Rong-Gan Liang, Zhi-Kai Dai, Wei-Sheng Luo, Sheng-Jun Xiao, Qing Xu

Ting-Zhi Mao, Department of Histology and Embryology, Guilin Medical College, Guilin 541004, Guangxi Zhuang Autonomous District, China
Qiao-Ling Zhou, Rong-Gan Liang, Zhi-Kai Dai, Qing Xu, Department of Pharmacology, Guilin Medical College, Guilin 541004, Guangxi Zhuang Autonomous District, China
Wei-Sheng Luo, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Guilin Medical College, Guilin 541004, Guangxi Zhuang Autonomous District, China
Sheng-Jun Xiao, Department of Pathology, Guilin Medical College, Guilin 541004, Guangxi Zhuang Autonomous District, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30760281; and the Guangxi Education Department Granted Scientific Research Projects, No. 200810MS141
Correspondence to: Professor Qing Xu, Department of Pharmacology, Guilin Medical College, 109 Huancheng Road North No.2, Guilin 541004, Guangxi Zhuang Autonomous District China. xq5895801@163.com
Received: 2009-04-22 Revised: 2009-05-28
Accepted: 2009-06-08 Published online: 2009-06-28

Abstract

AIM: To establish a liver cancer model with an implanted pancreatic cancer cell line pGHAM-l on hamster and to analyze its biologic characteristics.

METHODS: Cell suspension of the cultured pancreatic cancer cell line pGHAM-1 of hamster in 4×10^{10} cells/L was prepared and, each hamster was subcutaneously inoculated with 0.5 mL of the cell suspension. After the tumor was formed, hamster was then inoculated with the tumor cell. The size of the liver tumor was examined by B-ultrasound for each the hamster at the 20th, 30th, and 40th day after inoculation, respectively. At the 40th day after inoculation, the animals were sacrificed, and the growth of tumor, metastasis, ascites volume were observed, then the liver of the hamster was removed out and the tumor was measured with a venire caliper. The tumor was observed directly with dissection of the hamster liver. It was made that the histopathology examination of the slices was stained by HE and the immunohistochemical assay of vascular endothelial cell growth factor (VEGF) and tumor metastasis associated protein (nm23-H1).

RESULTS: Hamster liver cancer model induce by implanting pancreatic cancer cell pGHAM-1 was 100% successful. B-ultrasound examinations showed that the tumor volume was 84.1 ± 21.9 mm^3, 413.7 ± 208.4 mm^3, 2187.3 ± 1882.8 mm^3 at the 20th, 30th, and 40th day after inoculation respectively. There were very significant differences ($P < 0.01$) when compared later tumor volume with ten days before. Tumor volume measured directly was 2948.0 ± 2188 mm^3 when the animals were anatomized at the 40th day after inoculation, and there was no significant difference ($P > 0.05$) when compared it with that examined by B-ultrasound examinations at the 40th day. Bloody ascites was observed in some hamsters. The satellite nodules of the pancreatic cancer were not observed. The histopathological examination of the slices stained by HE indicated a poorly differentiated pancreatic cancer. The results of the immunohistochemistry assay showed a low expression of VEGF and nm23-H1 protein.

CONCLUSION: The method for creating a liver

■背景资料
理想的肝癌动物模型是抗肝癌药物开发、肝癌发生发展机制研究、肝癌介入治疗及诊断研究的必备工具. 现已有裸鼠人肝癌组织移植模型、大鼠walker-256肝癌模型、小鼠移植性肝癌模型等, 但尚未见到仓鼠移植性肝癌模型的报道.

■同行评议者
高润平, 教授, 吉林大学第一医院肝病科

■相关报道
2005年, 有学者利用胰腺癌细胞株(pGHAM-1)在仓鼠胰腺成功地建立了仓鼠胰腺癌原位模型, 但不是移植性肝癌模型.

cancer model of hamster induced by implanting pGHAM-1 pancreatic cancer cell is simple, easy to replication, and is an ideal model for liver cancer study.

Key Words: pGHAM-1; Hamster; Liver tumor model; Pancreatic cancer cell line

Mao TZ, Zhou QL, Liang RG, Dai ZK, Luo WS, Xiao SJ, Xu Q. Establishment of an implanted liver tumor model of hamster with the pancreatic cancer cell line pGHAM-l of hamster and its biologic characteristics. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(18): 1827-1831

摘要

目的: 建立仓鼠胰腺癌细胞株(pGHAM-1)移植性肝癌模型, 并研究其生物学特性.

方法: 将pGHAM-1培养后配成4×10^{10}/L, 取0.5 mL接种于仓鼠皮下, 成瘤后, 接种于仓鼠肝脏. 分别于第20、30、40天用B超仪检测肝脏肿瘤大小. 于接种后第40天处死动物, 观察肿瘤的生长、转移及腹水量. 解剖取出肝脏, 用游标卡尺测量肿瘤大小, 切开肝脏直接观察肿瘤, 再进行HE染色的组织病理学检查, 免疫组织化学检测血管内皮细胞生长因子(VEGF)及肿瘤转移相关蛋白(nm23-H1)的表达.

结果: pGHAM-1种植性肝癌模型成功率达100%. B超仪检测仓鼠肝脏, 第20、30、40天肿瘤体积分别为84.1±21.9 mm^3, 413.7±208.4 mm^3, 2187.3±1882.8 mm^3, 与10 d前者相比, 有非常显著性差异($P<0.01$); 接种后第40天处死动物, 解剖观察肿瘤, 直接测量肿瘤体积为2948.0±2188 mm^3, 其大小与第40天B超仪测量结果无显著性差异($P>0.05$). 部分仓鼠可见血性腹水; 肝内未见肿瘤卫星结节; HE染色组织病理学检查为低分化胰腺癌; 免疫组织化学检测结果显示VEGF及nm23-H1蛋白低表达.

结论: pGHAM-1种植性肝癌模型建立方法简便, 易复制, 是理想的肝癌研究模型.

关键词: pGHAM–1; 仓鼠; 肝癌模型; 胰腺癌细胞株

毛庭枝, 周巧灵, 梁荣感, 戴支凯, 罗伟生, 肖胜军, 徐庆. 仓鼠胰腺癌细胞株移植性肝癌模型的建立. 世界华人消化杂志 2009; 17(18): 1827–1831
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1827.asp

■创新盘点
本研究首次采用仓鼠胰腺癌细胞株(pGHAM-1)接种于仓鼠皮下, 成瘤后将其部分接种于同种异体仓鼠幼鼠的肝脏形成移植性肝肿瘤模型.

0 引言

肝癌是发病率较高的恶性肿瘤之一, 有关肝癌的研究也是许多研究人员关注的课题. 理想的肝癌动物模型是抗肝癌药物开发、肝癌发生发展机制研究、肝癌介入治疗及诊断研究的必备工具. 现有的鼠移植性肝癌动物模型包括裸鼠人肝癌组织移植模型[1]、大鼠walker-256肝癌模型[2]、小鼠移植性肝癌模型[3]等. 目前尚未见到仓鼠移植性肝癌模型的报道, 我们建立了仓鼠胰腺癌细胞株(pGHAM-1)移植性肝癌模型, 现将结果报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 SPF级叙利亚仓鼠(Syrian Hamster) ♂12只, 3 wk, 纯近交系, 体质量60-80 g, 由上海斯莱克实验动物有限公司提供(合格证号: 2003-0003); 仓鼠胰腺癌细胞株(pGHAM-1)由西安交通大学第一附属医院提供; DMEM培养液, 胎牛血清为美国Gibco公司产品; 青霉素、链霉素为Sigma公司产品; 抗大鼠血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)多克隆抗体(即用型), 批号: 090100, 抗大鼠nm23-H1多克隆抗体(即用型), 批号: 090100, 均为武汉博士德生物技术有限公司产品; 二抗为快捷型酶标羊抗鼠/兔IgG聚合物, 批号: 807283335020, 福州迈新生物技术有限公司产品; 凝血酶, 批号: 105035, 上海太阳生物有限公司产品; MEDISON SA-8000CSE B型超声诊断仪, 中国上海麦迪逊医疗器械有限公司; KD-TS I生物组织自动脱水机, KD-BM Ⅱ电脑生物组织包埋机, 浙江省金华市科迪仪器设备有限公司; Shandon Finesse® 325石蜡切片机, 英国Shandon(珊顿)公司.

1.2 方法

1.2.1 仓鼠胰腺癌细胞株(pGHAM-1)移植性肝癌模型制作: 将仓鼠胰腺癌细胞株(pGHAM-1)培养后配成4×10^{10}/L, 取0.5 mL接种于仓鼠皮下4 wk后成瘤; 分离、取出鱼肉状瘤组织, 切成1.0 mm^3大小备用; 仓鼠适应性饲养3 d, 10 g/L戊巴比妥钠100 mg/kg腹腔注射麻醉, 腹部祛毛、消毒, 在剑突下沿腹正中线做1.5 cm切口; 用手指挤压仓鼠腹腔, 挤出一叶肝脏, 用手术刀片于肝脏接种部位以30度做一切斜口: 0.5 cm(宽)×0.5 cm(深); 消毒棉签蘸10 g/L凝血酶止血; 用镊子将1.0 mm^3大小的瘤组织植入切口, 消毒棉签轻压切口止血固定, 常规缝合关腹. 全程均为无菌操作.

1.2.2 B超仪检测与大体解剖观察: 分别于接种手

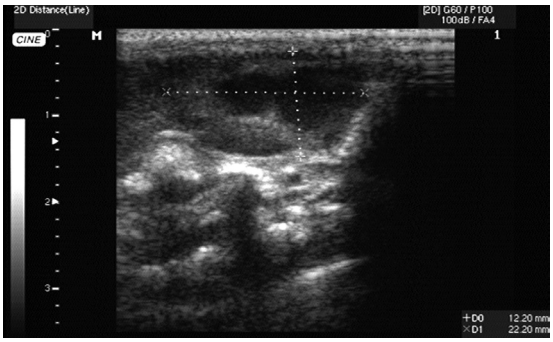


图 1 第40天仓鼠肝肿瘤病灶B超.

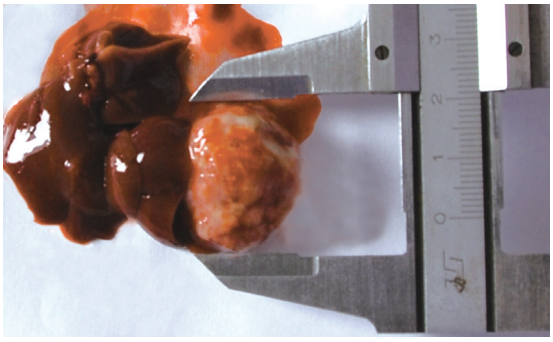


图 2 第40天仓鼠肝肿瘤直接测量.

图 3 仓鼠肝肿瘤病理解剖图.

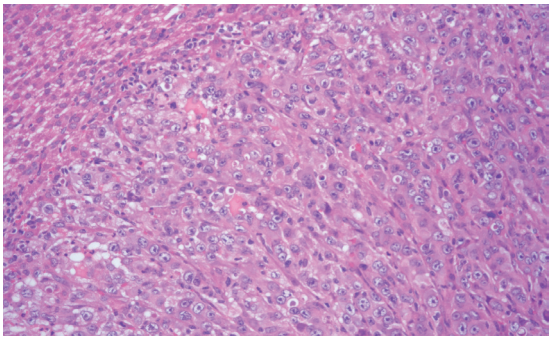


图 4 仓鼠肝肿瘤病理组织切片(HE × 200).

■应用要点

建立仓鼠胰腺癌细胞株移植性肝癌模型成功的关键是: (1)动物的选择. 应选择3-4 wk, 体质量60-80 g的仓鼠. (2)瘤源组织的选择. 选择鱼肉状瘤组织, 其肿瘤干细胞较多易成瘤, 应避免坏死组织.

术后第20、30、40天, 将仓鼠以10 g/L戊巴比妥钠100 mg/kg经腹腔注射麻醉后, 用B型超声诊断仪(简称: B超仪, HL5-9ED探头, 7 MHz检测频率)检测肝脏肿瘤生长情况[4]; 于接种后第40天处死动物, 解剖取出肝脏, 用游标卡尺测量肿瘤大小. 根据公式$V = ab^2/2$计算肿瘤体积[V = 肿瘤体积, a = 瘤体最长径, b = 瘤体最短径][3]. 肉眼观察肿瘤的转移与腹水产生情况.

1.2.3 病理学观察: 将处死动物解剖取出肝脏, 取材用100 g/L中性甲醛固定, 病理解剖检查肿瘤外观及内部切面; 用石蜡包埋切片, HE染色, 进行组织病理学观察.

1.2.4 VEGF及肿瘤转移相关蛋白nm23-H1的免疫组织化学检测: 免疫组化测定采用迈新Maxvision快捷型检测法. 切片常规脱蜡、水化, 高温柠檬酸盐修复, 去除内源性过氧化物酶, 以山羊血清封闭10 min, 加入稀释的一抗, 4℃过夜; 依次滴加快捷型酶标羊抗鼠/兔IgG聚合物, DAB显色、苏木精轻度复染, 脱水、透明、封片; 在高倍镜(×400)下计数阳性细胞数目及染色强度比较. 蛋白表达阳性判断标准参照文献进行[5].

2 结果

2.1 B超检测与大体解剖观察 B超检查: 12只荷瘤仓鼠肝内均为1个肝肿瘤病灶. 病灶表现为实质性低回声, 与正常肝实质边界清楚, 形态不规则, 回声不均匀, 光点增粗. 病灶区随时间推移明显增大. 接种后第20、30、40天, B超检测肝脏肿瘤体积分别为84.1±21.9 mm^3, 413.7±208.4 mm^3, 2187.3±1882.8 mm^3. 测量所得肿瘤体积, 后者与10 d前相比, 有非常显著性差异(P<0.01). 第30天, 有2只荷瘤仓鼠的肿瘤内出现小液化灶, 第40天有3只荷瘤仓鼠的肿瘤内出现液化灶且面积增大(图1). 大体解剖观察发现: B超检查显示肿瘤内出现液化灶的3只荷瘤仓鼠伴有血性腹水; 直接测量肿瘤(图2)体积为2948.0±2188 mm^3, 其大小与第40天B超测量结果无显著性差异(P>0.05).

2.2 病理学检查 病理解剖检查: 肿瘤外观呈扁卵圆形或近似圆形, 境界清楚; 切开肿瘤, 3只仓鼠肝肿瘤中可见液化坏死灶, 肿瘤周围肝组织未见卫星结节(图3). HE染色的组织切片镜下所见: 为低分化胰腺癌, 肿瘤组织呈条索状或小梁状排列, 肿瘤组织与正常组织交界处有少量淋巴细胞浸润, 肿瘤组织中血管生成罕见(图4).

2.3 VEGF及肿瘤转移相关蛋白nm23-H1的表达 免疫组织化学检测VEGF和nm23, 肿瘤及瘤旁组织均呈阴性表达(图5).

■名词解释
nm23蛋白：由nm23基因控制产生的蛋白. 1988年美国Steeg应用差别筛选技术首先分离鉴定了nm23基因并证明与肿瘤的转移抑制相关. 目前临床研究最多的是nm23H1基因和nm23H2基因.

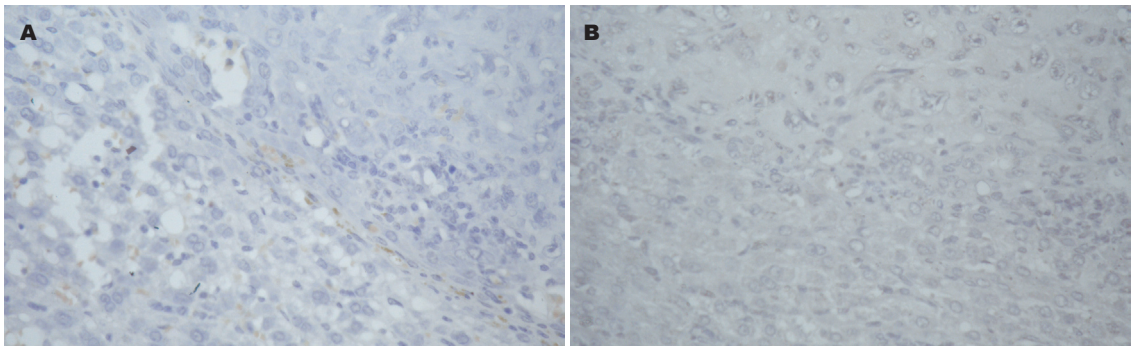


图 5 仓鼠肝肿瘤组织VEGF和nm23-H1的表达(免疫组织化学×400). A: VEGF; B: nm23-H1.

3 讨论

仓鼠(叙利亚金色仓鼠)在形态学、生物学以及免疫学等方面与人有相似之处[6-7], 可用于制作人类心血管疾病[8]、病毒感染[9]、原虫感染[10]、肿瘤[11]等多种疾病的整体动物模型. 金色仓鼠对移植瘤接受性强, 对可以诱发肿瘤的病毒很易感也很敏感, 还可以成功移植某些同源正常组织细胞或肿瘤组织细胞等[12]. 国内学者白纪刚 *et al*[7]应用仓鼠pGHAM-1细胞株建立了仓鼠移植性胰腺癌模型, 我们在此基础上建立仓鼠移植性肝癌模型, 并研究了该模型的生长规律与VEGF、肿瘤转移相关蛋白表达等生物学特性. 通过B超仪定期检测所得数据分析, 可见肿瘤从第20天开始, 每10 d分别以4.9和5.3倍的速度生长. B超检查还发现, 在第30天只有2只荷瘤仓鼠的肿瘤内出现较小液化灶, 而到第40天有3只荷瘤仓鼠的肿瘤内出现液化灶且面积增大. 高爱社 *et al*[13]对VEGF在肝癌中的表达进行了研究, 发现其在转移组中的表达明显高于未转移组, 在癌组织中的表达明显高于正常肝组织, 从而证实VEGF在肝癌生长和转移复发中起着重要作用. 鲁林源 *et al*[14]的研究, 发现VEGF的表达与胰腺癌生长浸润有关. 本实验的VEGF免疫组织化学结果呈阴性表达, 提示该肝癌模型肿瘤转移性可能较小. nm23-H1的免疫组织化学结果呈阴性表达, 可能是因为nm23-H1基因并非在所有肿瘤中都发挥转移抑制作用[15]. 陈峰 *et al*[16]在研究胰腺癌nm23-H1的实验发现nm23-H1基因蛋白的阳性表达与淋巴结转移及浆膜受侵具有明显相关性($P<0.05$). 潘小季 *et al*[17]的研究结果, 表明nm23-H1的表达与胰腺癌的分化程度有关, 分化愈好, 阳性率愈低. 李淑德 *et al*[18]究结果显示, 胰腺癌组织nm23-H1蛋白表达与肿瘤组织学分级及淋巴结或肝脏转移呈正相关, 即肿瘤分化程度越差, nm23-H1蛋白表达越强; 伴淋巴结或肝脏转移的胰腺癌, 其nm23-H1蛋白表达较不伴转移者为强, 他们认为nm23-H1基因在胰腺癌可能不显示肿瘤转移抑制基因功能. 建立该模型成功的关键与下列几个因素有关: (1)动物的选择. 根据我们预实验结果提示, 应选择3-4 wk, 体质量60-80 g的仓鼠. 动物太小, 不利于手术操作; 动物太大, 由于免疫功能与排异反应较强, 成瘤率偏低. (2)瘤源组织的选择. 胰腺癌细胞株(pGHAM1)培养后用不含血清的培养基配成4×10^{10}/L, 取0.5 mL接种于仓鼠皮下4 wk成瘤; 无菌操作, 分离、取出鱼肉状瘤组织, 避免选择坏死组织. 在鱼肉状瘤组织中, 肿瘤干细胞较多易成瘤[19]. 该模型原位成瘤率高, 简便, 为肝癌的治疗研究提供了一个新的平台.

4 参考文献

1 郜永顺, 陈孝平, 张志伟, 张万广, 李开艳, 吴在德. 裸鼠肝内种植人肝癌组织的肿瘤特征. 世界华人消化杂志 2004; 12: 563-566
2 喻钢, 王建. Walker-256肿瘤对荷瘤大鼠Th1/Th2平衡的影响. 实用癌症杂志 2008; 23: 221-223
3 张煜, 徐涵文, 张太平, 张鹤云. 注射法制作ICR小鼠肝癌模型及其改进. 细胞生物学杂志 2007; 29: 434-438
4 刘向荣, 何泽耘. 原发性肝癌B超检查结果分析. 中国超声医学杂志 2000; 16: 356-358
5 宋红, 包素珍, 郑小伟, 王颖, 张勇军. 血管内皮细胞生长因子在Lewis肺癌组织中表达的意义及十全大补汤对其干预作用. 中华中医药杂志 2008; 23: 684-687
6 van der Weyden L, Bradley A. Mouse chromosome engineering for modeling human disease. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2006; 7: 247-276
7 白纪刚, 吕毅, 王浩华. 仓鼠胰腺癌原位模型的建立及生物学特性. 第四军医大学学报 2005; 26: 2216-2218
8 Escobales N, Crespo MJ. Early pathophysiological alterations in experimental cardiomyopathy: the Syrian cardiomyopathic hamster. *P R Health Sci J* 2008; 27: 307-314
9 Schaecher SR, Stabenow J, Oberle C, Schriewer J, Buller RM, Sagartz JE, Pekosz A. An immunosuppressed Syrian golden hamster model for SARS-CoV infection. *Virology* 2008; 380: 312-321
10 Dolabella SS, Coelho PM, Borçari IT, Mello NA, Andrade Zde A, Silva EF. Morbidity due to

Schistosoma mansoni--Entamoeba histolytica coinfection in hamsters (Mesocricetus auratus). *Rev Soc Bras Med Trop* 2007; 40: 170-174
11 Lee CY, Hsu YC, Wang JY, Chen CC, Chiu JH. Chemopreventive effect of selenium and Chinese medicinal herbs on N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine-induced hepatocellular carcinoma in Syrian hamsters. *Liver Int* 2008; 28: 841-855
12 刘文泰. 李丽华. 免疫耐受叙利亚仓鼠人胃癌异种移植模型的免疫耐受检测. 中国免疫学杂志 2004; 20: 67-69
13 高爱社, 李瑞琴, 李建国. CD44v6和VEGF在肝细胞肝癌中的表达及意义. 广东医学 2008; 29: 803-805
14 鲁林源, 艾开兴, 黄新余, 陈巍, 张惠箴. S100A4、VEGF的表达与胰腺癌预后的关系. 肿瘤 2008; 28: 326-329
15 李梅, 王芳, 费继敏. nm23基因与肿瘤侵袭转移的相关性研究. 实用癌症杂志 2006; 21: 90-92
16 陈峰, 周平, 郑泽霖. 胰腺癌nm23-H_1基因蛋白表达的临床意义. 中国普通外科杂志 1999; 8: 233-234
17 潘小季, 孙维佳, 欧阳建怡. 胰腺癌中DPC_4/$Smad_4$、nm23-H_1/NDPK的表达及其意义. 中国医师杂志 2005; 7: 454-456
18 李淑德, 许国铭, 倪灿荣, 蔡建明, 李兆申. 人胰腺癌组织nm23基因表达. 第二军医大学学报 1997; 18: 421-423
19 童莉, 潘波. 肿瘤干细胞与肿瘤的研究进展. 西南军医 2008; 10: 123-124

■**同行评价**
本研究设计合理, 实验结果可靠, 对转移性肝癌的发生学和诊断学研究及抗癌药物研制具有实际意义.

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009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学领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助.

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

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

《世界华人消化杂志》的目标是出版高质量的胃肠病学和肝病学领域的专家评论及临床实践和基础研究相结合具有实践意义的文章, 为内科学、外科学、感染病学、中医药学、肿瘤学、中西医结合学、影像学、内镜学、介入治疗学、病理学、基础研究等医生和研究人员提供转换平台, 更新知识, 为患者康复服务. (常务副总编辑: 张海宁 2009-06-28)

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年6月28日; 17(18): 1832-1835
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

基础研究 BASIC RESEARCH

介入途径下中药白芨提取物作为基因递送载体的可行性

夏向文, 李 欣, 冯敢生, 郑传胜, 梁惠民, 柳 曦, 熊 斌

■背景资料
采用合适的递送载体及恰当的途径将基因安全高效地转入靶细胞内是基因治疗成败的关键. 本课题组对我国传统中药白芨的系列研究证实白芨提取物可作为优良的基质材料和载体, 利用白芨提取物制备的白芨载药微球, 具有良好的缓释作用, 其悬浮性、分散性及生物相容性好. 本研究在前期研究的基础上拟进一步发挥白芨多糖的药物载体的作用, 开发一种新的适合于介入途径给药的基于白芨多糖的基因递送载体.

夏向文, 李欣, 冯敢生, 郑传胜, 梁惠民, 柳曦, 熊斌, 华中科技大学同济医学院附属协和医院放射科 湖北省武汉市 430022
夏向文, 华中科技大学同济医学院博士, 主要从事肝癌介入治疗的基础与临床研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 30400108
作者贡献分布: 此课题由李欣、冯敢生、郑传胜、梁惠民及柳曦设计; 研究过程由夏向文、李欣、柳曦及熊斌操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由熊斌提供; 数据分析由夏向文、李欣及熊斌完成; 本论文写作由夏向文与李欣完成.
通讯作者: 李欣, 副教授, 430022, 湖北省武汉市解放大道1277号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院放射科. lxwsry@gmail.com
电话: 027-85726432
收稿日期: 2008-08-28 修回日期: 2009-06-01
接受日期: 2009-06-08 在线出版日期: 2009-06-28

Feasibility of a polysaccharide isolated from *Bletilla striata* used as a gene vector administered through an interventional pathway

Xiang-Wen Xia, Xin Li, Gan-Sheng Feng, Chuan-Sheng Zheng, Hui-Min Liang, Xi Liu, Bin Xiong

Xiang-Wen Xia, Xin Li, Gan-Sheng Feng, Chuan-Sheng Zheng, Hui-Min Liang, Xi Liu, Bin Xiong, Department of Radiology, Union Hospital Affiliated to Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30400108
Correspondence to: Professor Xin Li, Department of Radiology, Union Hospital Affiliated to Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, 1277 Jiefang Road, Wuhan 430022, Hubei Province, China. lxwsry@gmail.com
Received: 2008-08-28 Revised: 2009-06-01
Accepted: 2009-06-08 Published online: 2009-06-28

Abstract

AIM: To research into the feasibility of a polysaccharide isolated from *Bletilla striata* as a gene vector administered through an interventional pathway.

METHODS: *Bletilla striata* polysaccharide (BSP) was isolated from a Chinese medicinal herb *Bletilla striata*, from which we prepared the cationic BSP (BSP^+) by reductive amination. We further tested the ability of the BSP^+ to incorporate and protect plasmid DNA, and the ability of the BSP^+/pDNA complex to transfect into HepG2 cells. Then, we investigated the transfected effect of the BSP^+/pDNA complex *in vivo* using green fluorescence protein (GFP) gene as a reporter gene administered through the hepatic artery.

RESULTS: The synthesized cationic *Bletilla striata* polysaccharide (BSP^+) incorporated and protected plasmid DNA to avoid enzymolysis by DNase. The transfection ratio was lower in the liposome group than in BSP^+ group (28.87% ± 3.27% *vs* 36.64% ± 6.87%, $P < 0.05$). The BSP^+/pDNA complex was transfected into HepG2 cells *in vitro* and host cell *in vivo*.

CONCLUSION: The BSP^+/pDNA complex could target transfect into liver cell *in vivo* when administered through the hepatic artery using the interventional method, which could produce a marked effect as a new-type polycation gene vector in gene therapy.

Key Words: Interventional; *Bletilla striata* polysaccharide; Gene vector; Reductive amination; Transfection

Xia XW, Li X, Feng GS, Zheng CS, Liang HM, Liu X, Xiong B. Feasibility of a polysaccharide isolated from *Bletilla striata* used as a gene vector administered through an interventional pathway. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(18): 1832-1835

摘要

目的: 探讨经介入途径中药白芨提取物作为基因递送载体的可行性.

方法: 从中药白芨中提取其有效成分-白芨多糖, 采用胺化还原法制备阳离子型白芨多糖, 体外实验检测该阳离子型多糖对质粒DNA的结合与保护作用, 以及阳离子白芨多糖载基因复合物对肝癌细胞系HepG2的转染, 进一步通过介入途径经肝动脉给予该复合物, 以GFP作为报告基因检测复合物在体内对活体兔肝细胞的转染.

结果: 所制备的阳离子型白芨多糖载基因复合物可以结合并保护质粒DNA免受DNA酶的降解; 体外实验证实该复合物可以转染入体

■同行评议者
程英升, 教授, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心

外培养肝癌细胞, 以阳离子白芨多糖作为转染载体时转染效率要低于脂质体组, 差异具有统计学意义(28.87%±3.27% *vs* 36.64%±6.87%, $P<0.05$). 采用介入方法经肝动脉给药时复合物能靶向转染入活体兔肝细胞内并实现表达.

结论: 采用介入途径经肝动脉给药时阳离子白芨多糖载基因复合物可以实现活体肝细胞靶向转染, 有望作为一种新型的多聚阳离子型的基因载体在基因治疗中发挥作用.

关键词: 介入; 白芨多糖; 基因载体; 胺化还原法; 转染

夏向文, 李欣, 冯敢生, 郑传胜, 梁惠民, 柳曦, 熊斌. 介入途径下中药白芨提取物作为基因递送载体的可行性. 世界华人消化杂志 2009; 17(18): 1832-1835

http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1832.asp

0 引言

采用合适的递送载体及恰当的途径将基因安全高效地转入靶细胞内是基因治疗成败的关键[1-2]. 本课题组对我国传统中药白芨的系列研究证实白芨提取物可作为优良的基质材料和载体, 利用白芨提取物制备的白芨载药微球, 具有良好的缓释作用, 其悬浮性、分散性及生物相容性好[3-4]. 本研究在前期研究的基础上拟进一步发挥白芨多糖(*Bletilla striata* polysaccharide)的药物载体的作用, 开发一种新的适合于介入途径给药的基于白芨多糖的基因递送载体. 本文报道了可用于负载基因的阳离子型白芨多糖作为基因载体的可行性研究.

1 材料和方法

1.1 材料 白芨茎块购于武汉市医药公司, 高碘酸钾、硼酸、硼砂、盐酸羟胺、溴酚蓝(天津科密欧公司, 分析纯), 精胺为Sigma公司产品. 增强型绿色荧光蛋白真核表达质粒pEGFP-C1由华中科技大学同济医院何文涛博士惠赠, 本实验室扩增. DMEM高糖培养基及胎牛血清购自Hyclone公司, 脂质体为Invitrogen公司产品; 肝癌细胞系HepG2由武汉协和医院普外科实验室保存. 余试剂均为国产分析纯. RE-5220型减压旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂), 85-1型恒温磁力搅拌器(上海国华仪器厂), 冷冻干燥机(美国Labconco公司). 荧光显微镜为日本Olympus公司产品, 冰冻切片机为德国Leico公司产品. 实验动物为新西兰大白兔, 华中科技大学同济医学院动物实验中心提供[批准文号: SCXK(鄂)2007-0006].

1.2 方法

1.2.1 白芨多糖的分离、纯化及阳离子型白芨多糖的制备: 白芨多糖的分离纯化及阳离子型白芨多糖的制备按文献[5]方法进行. 白芨块茎干制品粉碎、过筛、烘干, 冷凝回流提取粗多糖, 经Sevag法脱蛋白后先后在阴离子交换纤维素DE-52柱和Sephadex G-100柱上层析, 收集多糖洗脱峰, 双蒸水透析后冷冻干燥得纯化白芨多糖. 进一步通过胺化还原法制备阳离子型白芨多糖并鉴定纯度.

1.2.2 凝胶阻滞试验检测阳离子白芨多糖对基因的结合与保护作用: 将阳离子白芨多糖与绿色荧光蛋白真核表达质粒pEGFP-C1溶液以不同的比例混合, 使混合液的N/P比(即多糖中伯胺基与DNA的碱基之比)分别为1∶1, 2∶1, 4∶1, 8∶1, 16∶1, 取裸质粒及不同N/P比的混合溶液各6 μL, 以含0.5 μg/L溴化乙啶的10 g/L琼脂糖进行电泳(100 V, 30 min), 于254 nm紫外灯下观察并拍照. 含阳离子型白芨多糖的复合物在电泳前分别加入130 kU/L DNaseⅠ 1 μL, 37℃反应15 min, 0℃冰浴中放置30 min中止反应, 以检测其对质粒DNA的保护作用.

1.2.3 对体外培养肝癌细胞HepG2的转染: 以含100 mL/L FBS的DMEM高糖培养基常规培养人肝癌细胞HepG2, 每3 d传代1次. 转染前24 h以2.5×10^8/L接种到6孔板中, 待细胞生长到80%汇合度时, 按照脂质体操作说明书转染白芨多糖-质粒DNA复合物(使每孔中质粒pEGFP-C1的量为4 μg), 转染后48 h荧光显微镜下观察绿色荧光蛋白表达情况, 同时以脂质体作为阳性对照.

1.2.4 采用介入方法经肝动脉给药观察复合物对活体兔肝细胞的转染: 选取体质量约2.5 kg的新西兰大白兔, 雌雄不限, 常规消毒铺巾, 剑突下沿腹白线剪开约8 cm左右切口, 暴露肝门部结构, 以动脉夹暂时夹闭肝右动脉血流, 用自制30G穿刺针穿刺肝固有动脉, 经穿刺针向肝左动脉内缓慢注入阳离子型白芨多糖载质粒pEGFP-C1混合物(质粒量为100 μg), 术毕抗生素生理盐水冲洗后关腹. 3 d后取肝左叶不同部位组织做冰冻切片, 荧光显微镜下检测报告基因GFP的表达, 同时以裸质粒pEGFP-C1作阴性对照.

2 结果

2.1 白芨多糖阳离子化及作为基因递送载体的机制 白芨多糖为一种中性的葡配甘露聚糖, 其

■研发前沿
目前用于基因递送的载体包括病毒载体和非病毒载体, 病毒载体虽然具有较高的体内外转染效率, 但其免疫原性引发的安全性问题限制了其临床应用.

■相关报道
研究表明, 所有用于基因递送的聚合物载体都含有伯胺基、仲胺基、叔胺基或者是季胺基, 他们在生理条件下可以形成阳离子聚积体因而能和DNA结合.

■应用要点
采用介入途径经肝动脉给药时阳离子白芨多糖载基因复合物可以实现活体肝细胞靶向转染，有望作为一种新型的多聚阳离子型的基因载体在基因治疗中发挥作用.

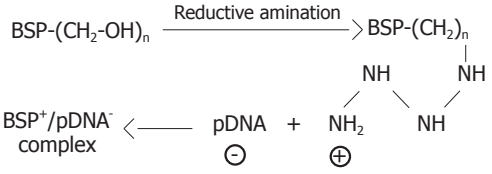


图 1 阳离子型白芨多糖的制备及结合质粒DNA的机制.

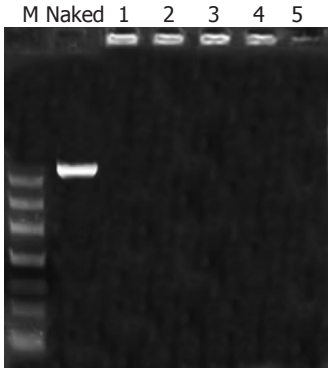


图 2 凝胶阻滞实验检测阳离子白芨多糖对质粒DNA的结合与保护作用. M: Marker, 分子质量分别为200、500、800、1200、2000、3000、4500 bp; Naked: 裸质粒pEGFP-C1, 泳动至4500 bp处; 1-5: pDNA+阳离子型白芨多糖+DNase Ⅰ, N/P比分别为1, 2, 4, 8, 16.

中葡萄糖与甘露糖分子之比为1∶3-1∶1.6, 平均相对分子质量约为99-103 kDa[6-7], 其结构中不含阳离子型基团, 本身并不适合作为基因载体, 本研究采用胺化还原法成功在其糖链上引入了阳离子型的伯胺基团, 赋予了其结合质粒DNA的能力, 其机制如图1所示.

2.2 阳离子型白芨多糖对基因的结合与保护作用 凝胶电泳检测原理: 若载体与pDNA结合, 则形成的复合物可阻碍DNA的泳动. 未与阳离子白芨多糖混合的质粒DNA可正常泳动, 当N/P比为1, 2, 4, 8, 16时, 1-5泳道质粒DNA未被DNA酶降解而全部滞留于加样孔中, 且荧光亮度依次变暗, 至第5泳道加样孔中基本未见荧光, 这是因为随着N/P比的增加pDNA被完全包裹于纳米粒内部, 阻碍了溴化乙啶插入其碱基对中. 实验结果表明, 所制备的这种阳离子型白芨多糖可以结合并保护DNA免受DNA酶的降解(图2).

2.3 体外对培养细胞HepG2的转染 借助于阳离子型白芨多糖和脂质体均可将质粒pEGFP-C1转染入体外培养肝癌细胞HepG2中, 图3示体外培养肝癌细胞内均可见绿色荧光蛋白表达. 以阳离子白芨多糖作为转染载体时转染效率约为28.87%±3.27%, 要低于脂质体组的转染率36.64%±6.87%, 差异具有统计学意义(t检验, $n = 6$, $P<0.05$).

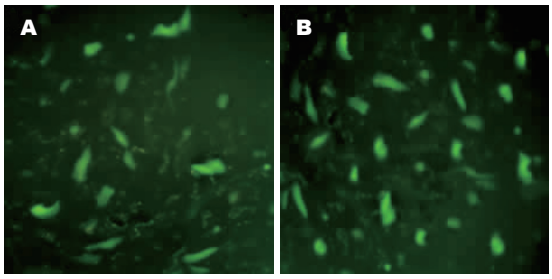


图 3 荧光显微镜观察报告基因GFP在体外培养肝癌细胞HepG2中的表达(×200). A: 阳离子白芨多糖转染组; B: 脂质体阳性对照.

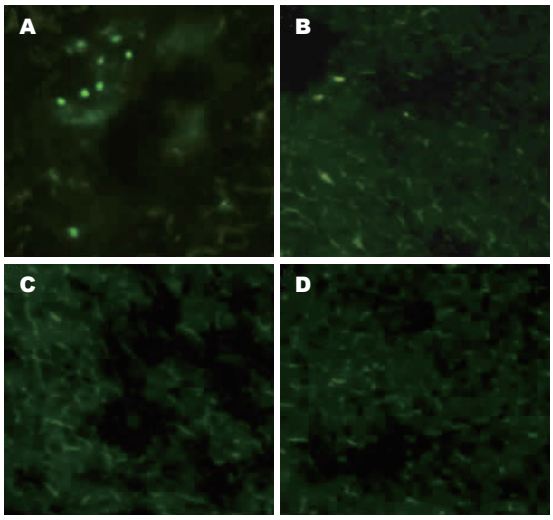


图 4 肝组织冰冻切片, 荧光显微镜观察报告基因GFP的表达(×200). A-B: 边缘处和近肝门部肝组织; C-D: 上述部位的裸质粒对照.

2.4 经肝动脉给药肝组织内靶向转染 分别取不同部位的新鲜肝组织行冰冻切片, 荧光显微镜下观察绿色荧光蛋白的表达, 实验组于各处肝组织中均可见绿色荧光蛋白表达, 裸质粒对照组各处肝组织中均未见绿色荧光表达(图4).

3 讨论

基因治疗的目的是将遗传物质通过不同的方法导入宿主细胞, 赋予或增强宿主某种功能[8]. 载体技术是研究较多的一种方法, 理想的基因载体应可以保护遗传物质免受核酸酶的降解, 在体内外环境下能将DNA导入靶细胞并实现表达, 生物相容性好, 不具有免疫原性及毒性. 目前用于基因递送的载体包括病毒载体和非病毒载体, 病毒载体虽然具有较高的体内外转染效率, 但其免疫原性引发的安全性问题限制了其临床应用. 与病毒载体不同, 天然的或人工合成的聚合物载体并不整合入宿主染色体, 能够将DNA引入非分裂细胞, 不存在感染的风险, 并且比病毒

载体要便宜得多, 这些特点使得他受到了越来越多学者的关注[9]. 其中基于多糖的聚合物基因载体因其生物相容性好, 降解产物无不良反应等优点而更受青睐[10].

研究[11]表明, 所有用于基因递送的聚合物载体都含有伯胺基、仲胺基、叔胺基或者是季胺基, 他们在生理条件下可以形成阳离子聚积体因而能和DNA结合. 本实验中分离纯化得到的白芨多糖不含有阳离子型的基团, 其本身并不适合作为基因载体. 我们通过化学方法在其糖链上修饰上了阳离子型的伯胺基团, 从琼脂糖凝胶电泳结果看, 所合成的阳离子型白芨多糖可以有效地结合并保护质粒DNA, 具备了作为基因转染载体的首要条件.

阳离子聚合物作为基因递送载体的最大优点是无毒、生物相容性好, 然而体内转染效率低这一不足之处限制了他们的广泛应用. 转染效率较低的一个重要原因是宿主吞噬系统的清除及缺乏靶向性, 近来有研究者通过对聚合物进行修饰改性的方法来增加其疏水性或引入配基从而提高其进入靶细胞的能力, 这方面的研究已取得了一定的成效[12-13]. 本课题组另辟蹊径, 充分利用我们在介入治疗的临床和基础研究中的优势, 采用肝动脉插管方法注射白芨多糖载基因复合物, 这一方法的优点是可以有效避免循环系统对复合物的清除, 在肝脏内形成一过性的高浓度, 从而达到初级靶向(组织靶向)的目的. 从实验结果看, 采用介入方法经肝动脉给药时阳离子型白芨多糖携载的报告基因(GFP)在肝组织中成功表达, 而裸质粒组未见绿色荧光, 这表明经肝动脉注射白芨多糖载基因复合物从而实现肝细胞靶向是可行的. 可以预期, 当用适当的功能基因替换报告基因时, 应可取得一定的基因治疗效果, 关于这方面的研究及进一步的分子靶向方面的研究正在进行中.

■**同行评价**
本研究选题新颖, 设计合理, 结果可靠, 具有很好的参考价值.

4 参考文献

1 陈漉, 金宁一, 李霄, 刘立明, 贾鹏, 刘妍, 高鹏, 陆蕴松, 迟宝荣. 含Apoptin基因重组腺病毒的构建及鉴定. 世界华人消化杂志 2008; 16: 3505-3509

2 Saleh M, Wiegmans A, Malone Q, Stylli SS, Kaye AH. Effect of in situ retroviral interleukin-4 transfer on established intracranial tumors. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 438-445

3 黎维勇, 冯敢生, 郑传胜, 曾莹. 5-氟尿嘧啶白及微球家兔肾动脉栓塞后体内药代动力学研究. 同济医科大学学报 2001; 30: 501-503

4 冯敢生, 李欣, 郑传胜, 周承凯, 柳曦, 吴汉平. 中药白芨提取物抑制肿瘤血管生成机制的实验研究. 中华医学杂志 2003; 83: 412-416

5 夏向文, 李欣, 冯敢生, 赵彦兵, 郑传胜. 中药白芨提取物作为基因载体的制备与表征. 中国药学杂志 2008; 28: 112-116

6 Wang C, Sun J, Luo Y, Xue W, Diao H, Dong L, Chen J, Zhang J. A polysaccharide isolated from the medicinal herb Bletilla striata induces endothelial cells proliferation and vascular endothelial growth factor expression in vitro. *Biotechnol Lett* 2006; 28: 539-543

7 芮海云, 吴国荣, 陈景耀, 陆长梅. 白芨中性杂多糖的分离纯化与结构分析. 安徽农业大学学报 2004; 31: 30-33

8 Anderson WF. Human gene therapy. *Science* 1992; 256: 808-813

9 李剑平, 窦科峰, 陈勇, 鱼军, 杨雁灵, 赵青川, 乔庆, 毛海泉. 半乳糖基化壳聚糖肝靶向性基因转导的体内实验. 世界华人消化杂志 2005; 13: 845-851

10 Eliyahu H, Joseph A, Azzam T, Barenholz Y, Domb AJ. Dextran-spermine-based polyplexes--evaluation of transgene expression and of local and systemic toxicity in mice. *Biomaterials* 2006; 27: 1636-1645

11 De Smedt SC, Demeester J, Hennink WE. Cationic polymer based gene delivery systems. *Pharm Res* 2000; 17: 113-126

12 Kim YH, Gihm SH, Park CR, Lee KY, Kim TW, Kwon IC, Chung H, Jeong SY. Structural characteristics of size-controlled self-aggregates of deoxycholic acid-modified chitosan and their application as a DNA delivery carrier. *Bioconjug Chem* 2001; 12: 932-938

13 Mao HQ, Roy K, Troung-Le VL, Janes KA, Lin KY, Wang Y, August JT, Leong KW. Chitosan-DNA nanoparticles as gene carriers: synthesis, characterization and transfection efficiency. *J Control Release* 2001; 70: 399-421

编辑 李军亮 电编 何基才

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年6月28日; 17(18): 1836-1841
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

临床研究 CLINICAL RESEARCH

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

魏学明, 顾国利, 任 力, 熊 梅, 王石林, 李德昌

■背景资料
大肠癌是最常见的消化系恶性肿瘤之一, 虽然临床上对其可采取综合性的治疗措施, 但其发病率和死亡率仍居恶性肿瘤的前列, 且呈逐年上升的趋势. 肿瘤的侵袭、转移仍是大肠癌患者死亡的主要原因. 目前临床上尚缺乏有效预测大肠癌转移和早期诊断的方法.

魏学明, 顾国利, 王石林, 中国人民解放军空军总医院普通外科 北京市 100142
任力, 熊梅, 李德昌, 中国人民解放军空军总医院病理科 北京市 100142
魏学明, 医学学士, 副主任医师, 主要从事胃肠道肿瘤外科的临床和基础研究.
作者贡献分布: 魏学明与顾国利对此文所作贡献均等; 此课题由魏学明、顾国利及任力共同设计; 试验过程由熊梅、李德昌及顾国利完成; 试验结果判定由任力与李德昌完成; 数据统计分析由魏学明、顾国利及任力完成; 本论文写作由魏学明与顾国利完成.
通讯作者: 魏学明, 副主任医师, 100142, 北京市, 中国人民解放军空军总医院普通外科. kzwxm@163.com
电话: 010-66928302
收稿日期: 2009-04-21 修回日期: 2009-05-20
接受日期: 2009-05-25 在线出版日期: 2009-06-28

Expression of EGFR, HER-2, VEGF in tumour tissues and their directive significance for the molecular targeting therapy of colorectal carcinoma

Xue-Ming Wei, Guo-Li Gu, Li Ren, Mei Xiong, Shi-Lin Wang, De-Chang Li

Xue-Ming Wei, Guo-Li Gu, Shi-Lin Wang, Department of General Surgery, the General Hospital of the Chinese PLA Air Force, Beijing 100142, China
Li Ren, Mei Xiong, De-Chang Li, Department of Pathology, the General Hospital of the Chinese PLA Air Force, Beijing 100142, China
Correspondence to: Xue-Ming Wei, Department of General Surgery, the General Hospital of the Chinese PLA Air Force, Beijing 100142, China. kzwxm@163.com
Received: 2009-04-21 Revised: 2009-05-20
Accepted: 2009-05-25 Published online: 2009-06-28

Abstract
AIM: To detect the characteristics of epidermal growth factor receptor (EGFR), human epidermal receptor-2 (HER-2) and vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in colorectal carcinoma (CRC) tumor tissues, and to analyze their directive significance for the molecular targeting therapy of colorectal carcinoma (CRC).

METHODS: Seventy eight patients with CRC were randomly selected, who underwent radical surgery in the department of general surgery at our hospital from May 2005 to March 2009. The SP Immunohistochemical staining was used to detect EGFR, HER-2 and VEGF protein expression in 78 CRC tumor tissue samples. And their corresponding clinical data were analysed retrospectively.

RESULTS: The expression rates of EGFR, HER-2 and VEGF protein in CRC tumour tissue were 38.5% (30/78), 53.8% (42/78) and 41.0% (32/78). Positive rates of EGFR, HER-2 and VEGF protein were closely relevant to the tumour size, knubbly invasive depth and lymph node metastasis; but not to the patient's sex, age, tumor site or histology grade. There was a stable positive relationship among EGFR, HER-2 and VEGF expression in CRC tumour tissue samples. The related coefficients were 0.421, 0.484 and 0.469 respectively (P = 0.019, 0.012 and 0.016).

CONCLUSION: The present study demonstrates that the EGFR, HER-2 and VEGF expression participate in the development, invasion and metastasis process of CRC. Their joint detection can be looked as an important symbol for judging the prognosis of CRC, screening the high-risk metastasis patients and guiding the molecular targeting therapy of colorectal carcinoma.

Key Words: Colorectal carcinoma; Epidermal growth factor receptor; Human epidermal receptor-2; Vascular endothelial growth factor; Immunohistochemistry

Wei XM, Gu GL, Ren L, Xiong M, Wang SL, Li DC. Expression of EGFR, HER-2, VEGF in tumour tissues and their directive significance for the molecular targeting therapy of colorectal carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(18): 1836-1841

摘要
目的: 探讨大肠癌中表皮生长因子受体(EGFR)、人类表皮生长因子受体-2(HER-2)和血管内皮生长因子(VEGF)的表达特点及其

■同行评议者
李增山, 副教授, 中国人民解放军第四军医大学病理教研室

对大肠癌分子靶向治疗的指导意义.

方法: 随机选取2005-05/2009-03中国人民解放军空军总医院普通外科行根治性手术的大肠癌患者78例. 应用免疫组织化学法检测大肠癌肿瘤组织中EGFR、HER-2、VEGF的表达, 并结合其临床病理特点进行回顾性分析.

结果: EGFR、HER-2、VEGF在大肠癌中的阳性表达率依次为38.5%(30/78)、53.8%(42/78)、41.0%(32/78). 三者的表达与性别、年龄、肿瘤部位、分化类型无关, 而与肿瘤的大小、侵袭深度和转移密切相关. EGFR与HER-2及VEGF, HER-2与VEGF在大肠癌肿瘤组织中表达呈正相关(r = 0.421, 0.484, 0.469, P = 0.019, 0.012, 0.016).

结论: EGFR、HER-2、VEGF的表达参与大肠癌的生长、侵袭和转移过程. 三者的联合检测可作为判断大肠癌预后、筛选高危转移患者的有效指标, 同时, 也可用于指导大肠癌的靶向药物治疗.

关键词: 结直肠肿瘤; 表皮生长因子受体; 人表皮生长因子受体-2; 血管内皮生长因子; 免疫组织化学

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(18): 1836-1841
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1836.asp

0 引言

大肠癌是最常见的消化系恶性肿瘤之一, 虽然临床上对其可采取综合性的治疗措施, 但其发病率和死亡率仍居恶性肿瘤的前列, 且呈逐年上升的趋势[1]. 肿瘤的侵袭、转移仍是大肠癌患者死亡的主要原因[2]. 目前临床上尚缺乏有效预测大肠癌转移和早期诊断的方法. 表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)和人表皮生长因子受体-2(human epidemeal receptor-2, HER-2)都属受体酪氨酸激酶家族HER/erbB家族成员. EGFR参与激活重要的细胞信号通路, 介导细胞分化、生存、迁移、侵袭、黏附和细胞损伤修复等[3]. HER-2和EGFR有近50%的同源性, 在结构和功能上均相似, 可接受表皮生长因子样物质的信息, 刺激细胞增殖, 具有酪氨酸激酶的活性[4]. 而血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是迄今所发现的最重要的促血管生成因子[5]. 研究发现[6]: EGFR、HER-2、VEGF的过表达与多种实体瘤的侵袭和转移密切相关. 而且, 针对三者的分子靶向治疗药物已经研制并开始进行临床验证. 目前国内综合研究三者在大肠癌侵袭、转移中作用的报道较少, 本研究采用免疫组织化学方法检测大肠癌肿瘤组织中EGFR、HER-2、VEGF的表达, 旨在进一步探讨EGFR、HER-2、VEGF与大肠癌的临床病理特征的关系, 为大肠癌的诊断及预后判断提供客观的参考指标. 同时, 也有助于为分子靶向药物应用于大肠癌的临床治疗提供指导性的理论参考.

■研发前沿
目前, 针对EGFR的靶向治疗及其药物的研发是临床肿瘤学的热点.

1 材料和方法

1.1 *材料* 随机选取2005-05/2009-03中国人民解放军空军总医院普通外科行根治性手术的大肠癌患者78例; 肿瘤组织标本均经甲醛固定、石蜡包埋, 并经HE染色组织学确诊. 全部患者术前均未行放化疗. 即用型EGFR鼠抗人mAb(产品编号: MAB-0586, 克隆号: H11)、即用型HER-2鼠抗人mAb(产品编号: MAB-0198, 克隆号: CB11)、即用型VEGF鼠抗人mAb(产品编号: MAB-0243, 克隆号: VG1)、即用型SP试剂盒、DAB显色试剂盒均购自福州迈新生物技术开发公司. 试验由LAB Vision Autostainer360自动染色仪系统(福建迈新公司)程控完成、镜下图像以Olympus Dp70图像采集分析仪进行采集、分析.

1.2 *方法* 实验按产品说明书操作. 切片常规脱蜡至水, EGFR经胃酶进行酶消化抗原修复, HER-2经10 mmol/L pH6.0的EDTA缓冲液进行高压加热抗原修复, VEGF经pH9.0的EDTA修复液进行水煮加热抗原修复. 30 mL/L H_2O_2孵育10 min, 蒸馏水冲洗, PBS浸泡5 min, 滴加正常山羊血清工作液孵育20 min; 滴加一抗37℃孵育1 h, PBS冲洗3 min×3次. 滴加二抗37℃孵育1 h, PBS冲洗3 min×3次. DAB显色, PBS冲洗, 苏木素复染, 脱水, 透明, 封片. PBS代替一抗作阴性对照, 正常大肠黏膜上皮表达情况作阳性对照. 在200倍的视野下随机选取10个视野, 记数每个视野中正常黏膜或肿瘤细胞的染色情况, 取平均值. EGFR定位于细胞质和细胞膜, HER-2定位于细胞膜, VEGF定位于细胞质. 依据染色强度和阳性细胞率来计算评分: 细胞膜或胞质呈淡棕色为1分, 棕黄色2分, 棕褐色3分; 阳性细胞数≤25%为1分, 26%-50%为2分, 51%-74%为3分, ≥75%为4分; 染色的评分与阳性细胞数评分相加: 0-1分(-), 2-3分(+), 4-5分(++), 6-7分(+++). 评分

■相关报道
研究显示, 鸟红细胞增多症病毒的HER-2原癌基因产物与EGFR的酶解肽段几乎完全一致. 即使在无配体存在的情况下, 他也可持续激活EGFR的蛋白激酶, 使细胞生长失控, 从而导致肿瘤的发生.

表 1 EGFR、HER-2、VEGF表达与大肠癌临床病理参数之间的关系 (*n*)

因素	EGFR		HER-2		VEGF	
	(–)	(+)–(++)	(–)	(+)–(++)	(–)	(+)–(++)
性别						
男	29	13	20	22	26	16
女	19	17	16	20	20	16
年龄(岁)						
≤45	5	4	3	6	4	5
46–60	6	3	3	6	4	5
>60	37	23	30	30	38	22
肿瘤大小(cm)						
≤5	39	15	32	22	38	16
>5	9	15[b]	4	20[b]	8	16[b]
肿瘤部位						
结肠	15	15	12	18	17	13
直肠	33	15	24	24	29	19
分化						
高、中分化	33	18	21	30	31	20
低分化、黏液腺癌	15	12	15	12	15	12
侵袭深度						
浆膜内	28	8	22	14	27	9
浆膜外	20	22[b]	14	28[a]	19	23[b]
淋巴结转移						
无	36	15	29	22	37	14
有	12	15[a]	7	20[b]	9	18[b]

[a]$P<0.05$, [b]$P<0.01$.

过程由2名高年资病理科医生独立完成.

统计学处理 应用SPSS15.0统计软件包进行统计分析. 计数资料采用2个(或多个)样本率比较的χ^2检验, 积分相关性采用Spearman等级相关分析, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 一般材料 本组共有78例, 男42例, 女36例; 年龄37-89(中位年龄67.35±13.32)岁; 肿瘤大小2.2-15.0(平均5.03±2.85) cm; 部位: 结肠30例, 直肠48例; 分化类型: 高、中分化51例, 低分化、黏液腺癌27例; Dukes分期: A期12例, B期39例, C期15例, D期12例.

2.2 EGFR、HER-2、VEGF在大肠癌肿瘤组织中的表达 EGFR蛋白呈棕黄色细颗粒表达于胞膜和胞质(图1A); 肿瘤间质不染色. HER-2蛋白主要表达于肿瘤细胞间的胞膜, 呈棕褐色颗粒状; 部分胞质着色, 肿瘤间质不染色(图1B). VEGF蛋白主要表达在胞质, 呈棕褐色颗粒状, 肿瘤间质不染色(图1C). 本组EGFR的阳性表达率为38.5%(30/78), HER-2的阳性表达率为53.8%(42/78), VEGF的阳性表达率为41.0%(32/78).

2.3 EGFR、HER-2、VEGF表达与大肠癌临床病理特点之间的关系 三者的表达与性别、年龄、肿瘤部位、分化类型无关. 而与肿瘤的大小、侵袭深度和转移密切相关. 即: EGFR、HER-2、VEGF的表达与大肠癌的Dukes分期密切相关.随着肿瘤的增大、侵袭深度加深、出现淋巴结转移, EGFR、HER-2、VEGF的表达阳性率出现有统计学意义的升高(表1).

2.4 EGFR、HER-2、VEGF在大肠癌肿瘤组织中表达的相关性 EGFR、HER-2、VEGF在大肠癌肿瘤组织中表达呈正相关. 其中EGFR和HER-2的相关系数为0.421($P = 0.019$); EGFR和VEGF的相关系数为0.484($P = 0.012$); HER-2和VEGF的相关系数为 0.469($P = 0.016$).

3 讨论

EGFR是原癌基因HER-1的产物; 作为HER/erbB的重要成员, EGFR参与激活Ras/Raf/MEK/ERK/MAPK通路、PI3K/PDK1/Akt(PKB)通路、

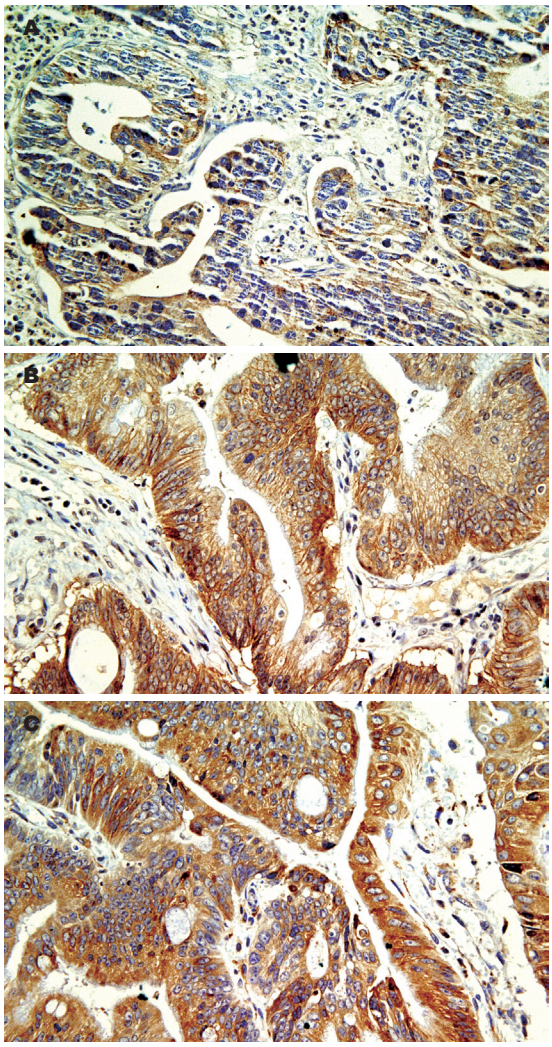


图 1 大肠癌肿瘤组织EGFR、HER-2、VEGF表达(SP × 400). A: EGFR; B: HER-2; C: VEGF.

PLC-γ通路、JAK/STAT通路等重要的细胞信号通路[7], 从而介导细胞分化、生存、迁移、侵袭、黏附和细胞损伤修复等重要功能; 是生物体正常机制得以实现的基础. 研究发现[8-9], EGFR的过表达参与肿瘤的发生和肿瘤细胞的增殖, 且可通过对细胞骨架的重构、黏附、移动、表达及蛋白脂酶的活化等多种机制参与肿瘤细胞的转移. 本研究显示, EGFR在大肠癌肿瘤组织中的阳性表达率为38.5%, 且其表达随着肿瘤增大、侵袭深度加深、出现淋巴结转移而明显增高. 这说明EGFR参与了大肠癌肿瘤细胞的增殖、侵袭和转移等生物学行为. 因此, 抑制EGFR信号通路将可以抑制大肠癌的增殖、侵袭和转移. 目前, 针对EGFR的靶向治疗及其药物的研发是临床肿瘤学的热点; 依药物作用机制的不同, EGFR靶向药物可分为5类[10-12]: (1)针对EGFR胞外域部分的mAb, 如: 西妥昔单抗(Cetuximab, Erbitux)、Matuzumab(EMD72000)和ABX-EGF, 可封闭配体分子对EGFR的激活; (2)针对EGFR激酶区的小分子激酶活性抑制剂, 如: 吉非替尼(Gefitinib/Iressa/ZD1839)、Erlotinib/Tarceva/OSI-774和AG21478, 作为ATP的类似物竞争结合于EGFR的TK区, 抑制EGFR激酶活性; (3)利用RNAi作用机制, 特异性降解EGFR; (4)能识别EGFR的细胞毒素、细胞杀伤因子、放射性粒子等, 选择性杀死富含EGFR肿瘤细胞; (5)阻碍EGFR的二聚化/寡聚化进而抑制EGFR的激活. 目前, EGFR靶向药物多是用于晚期转移性大肠癌的解救治疗[13-15]. 排除药物价格昂贵、临床认知不一致等因素; 就像乳腺癌的内分泌治疗一样, 能否将其作为EGFR过表达的进展期大肠癌、乃至早期大肠癌的一种重要的治疗措施? 这还需要多中心、多学科的继续探索.

HER-2与EGFR同属HER/erbB的成员, 两者具有约50%的同源性, 在结构和功能上均相似, 主要参与细胞生长分化的调节. 正常情况下HER-2处于非激活状态, 当受到体内外某些因素作用后, 其结构或表达调控失常从而被激活, 具有肿瘤转化活性[16]. 研究显示[17-18], 鸟红细胞增多症病毒的HER-2原癌基因产物与EGFR的酶解肽段几乎完全一致. 即使在无配体存在的情况下, 他也可持续激活EGFR的蛋白激酶, 使细胞生长失控, 从而导致肿瘤的发生. 目前, HER-2及其靶向治疗在临床上用于乳腺癌领域的研究已经为学者熟知, 而其在大肠癌领域的研究鲜见报道. 本研究显示, HER-2在大肠癌肿瘤组织中的阳性表达率为53.8%, 且与大肠癌的生长、侵袭和转移相关. 这说明HER-2在大肠癌的生长、侵袭和转移中起着非常重要的作用. 因此, 从理论上讲, 针对HER-2的靶向药物也可以抑制HER-2过表达的大肠癌的侵袭和转移. 曲妥珠单抗(赫赛汀, Herceptin)应用于HER-2过表达的乳腺癌的靶向治疗已经被公认. 能否将其应用于HER-2过表达的晚期大肠癌、甚至进展期大肠癌的治疗? 从而为大肠癌患者提供一个新的治疗手段, 这值得国内外学者去努力探索.

血管生成是肿瘤细胞增殖、侵袭和转移等生物学行为的基础. VEGF是迄今所发现的最重要的促血管生成因子; 可诱导血管内皮细胞增殖, 促使新生血管的内皮细胞成活, 并且增加血管通透性. 新生血管使肿瘤继续生长, 而肿瘤生长又促使VEGF产量增加[19-20]. 研究显

■**创新盘点**

本研究采用免疫组化方法检测大肠癌肿瘤组织中EGFR、HER-2、VEGF的表达, 探讨EGFR、HER-2、VEGF表达与大肠癌的临床病理特征的关系, 这有助于为大肠癌的诊断及预后判断提供客观的参考指标. 同时, 也为针对EGFR、HER-2、VEGF的分子靶向药物应用于大肠癌的临床治疗提供指导性的理论参考.

■应用要点
联合检测EGFR、HER-2、VEGF在大肠癌肿瘤组织中的表达可作为判断大肠癌预后、筛选高危转移患者的有效指标.

示[21-23], VEGF在大部分人类肿瘤中均有过表达, 并且VEGF及其受体的表达与肿瘤预后有着密切的关联. 本研究显示: VEGF在大肠癌肿瘤组织中的阳性表达率为41.0%, 且随着肿瘤增殖、侵袭加深和出现转移而表达明显增高. 这说明VEGF参与了大肠癌的增殖、侵袭和转移等发展过程. 这与文献报道一致[21-23]. 因此, 针对VEGF及其受体的靶向药物有助于抑制大肠癌的增殖、侵袭和转移. 目前已开始在临床应用的贝伐单抗(avastin)是作用于VEGF的人源化mAb, 通过与VEGF受体的特异性结合来阻断VEGF受体的活化, 从而抑制肿瘤区域血管的形成[24]. 针对VEGF受体的药物有SU11248、索拉非尼(BAY43-9006, Sorafenib)、PTK787/ZK222584(Vatalanib)等[25-27]. 这些药物在临床的广泛应用有助于为大肠癌患者的治疗增添新的选择.

总之, 我们认为: 联合检测EGFR、HER-2、VEGF在大肠癌肿瘤组织中的表达可作为判断大肠癌预后、筛选高危转移患者的有效指标. 因与传统化疗药物作用机制不同和不良反应方面不重叠; 所以, 针对EGFR、HER-2、VEGF的靶向治疗药物有利于为大肠癌患者提供另外一个有效的、综合的、个体化的治疗方案.

对于大肠癌的临床靶向治疗, 我们认为尚需解决以下一些问题: (1)分子生物学指标筛查问题. 目前在临床上和文献中对于EGFR、HER-2、VEGF表达的检测多是采用免疫组化方法; 虽简便易行, 但检测结果易受抗体试剂的质量、操作水平等因素的影响, 且无法定量检测. 这也是造成目前文献报道[28-30]中EGFR、HER-2、VEGF的阳性表达率差异非常大(22%-73.8%)的原因. 能否采用更稳定的筛查方法(如: FISH、定量PCR等)或统一试剂标准(如: 固定厂商、固定克隆系)来预防上述免疫组织化学检测方法的缺陷值得学者探讨. (2)进一步明确大肠癌靶向药物治疗与EGFR、HER-2、VEGF表达之间的关系. 如何依据EGFR、HER-2、VEGF的表达情况来制定统一的标准以作为大肠癌靶向治疗的适应证? 这需要多学科学者的通力协作. (3)确定靶向药物治疗大肠癌的最佳时机和剂量. (4)靶向药物与手术、化疗、放疗的联合应用, 以及多种分子靶向药物的联合应用问题. 随着我们对大肠癌生物学特性的了解不断加深, 靶向药物治疗研究的进一步深入将为大肠癌的治疗开辟崭新领域.

4 参考文献

1 Kim JC, Kim SY, Roh SA, Cho DH, Kim DD, Kim JH, Kim YS. Gene expression profiling: canonical molecular changes and clinicopathological features in sporadic colorectal cancers. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 6662-6672

2 施凉潘, 潘运龙. 结直肠癌血管形成、侵袭和转移的研究进展. 世界华人消化杂志 2008; 16: 62-67

3 Ciardiello F, Tortora G. EGFR antagonists in cancer treatment. *N Engl J Med* 2008; 358: 1160-1174

4 Kavanagh DO, Chambers G, O'Grady L, Barry KM, Waldron RP, Bennani F, Eustace PW, Tobbia I. Is overexpression of HER-2 a predictor of prognosis in colorectal cancer? *BMC Cancer* 2009; 9: 1

5 吴晴, 李兆申. 消化系统肿瘤的分子靶向治疗. 世界华人消化杂志 2008; 16: 3666-3672

6 Rocha-Lima CM, Soares HP, Raez LE, Singal R. EGFR targeting of solid tumors. *Cancer Control* 2007; 14: 295-304

7 刘宝全, 范圣第. EGFR信号转导机制及靶向治疗. 大连民族学院学报 2008; 10: 13-16

8 付建华, 赵曼, 胡国强, 杨达宽, 黄云超. EGFR和E-cadherin与肿瘤的发生发展及其调控机制的研究进展. 实用癌症杂志 2008; 27: 107-109

9 Molinari F, Martin V, Saletti P, De Dosso S, Spitale A, Camponovo A, Bordoni A, Crippa S, Mazzucchelli L, Frattini M. Differing deregulation of EGFR and downstream proteins in primary colorectal cancer and related metastatic sites may be clinically relevant. *Br J Cancer* 2009; 100: 1087-1094

10 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

11 袁慕知, 邹征云, 刘宝瑞. 西妥昔单抗治疗结直肠癌的进展. 现代肿瘤医学 2007; 15: 1033-1036

12 Johnston JB, Navaratnam S, Pitz MW, Maniate JM, Wiechec E, Baust H, Gingerich J, Skliris GP, Murphy LC, Los M. Targeting the EGFR pathway for cancer therapy. *Curr Med Chem* 2006; 13: 3483-3492

13 Buisine MP, Wacrenier A, Mariette C, Leteurtre E, Escande F, Aissi S, Ketele A, Leclercq A, Porchet N, Lesuffleur T. Frequent mutations of the CA simple sequence repeat in intron 1 of EGFR in mismatch repair-deficient colorectal cancers. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 1053-1059

14 Alekshun T, Garrett C. Targeted therapies in the treatment of colorectal cancers. *Cancer Control* 2005; 12: 105-110

15 刘磊. EGFR靶向药物治疗胃肠道肿瘤的新进展. 实用肿瘤学杂志 2008; 24: 382-384

16 Sirica AE. Role of ErbB family receptor tyrosine kinases in intrahepatic cholangiocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 7033-7058

17 Ochs AM, Wong L, Kakani V, Neerukonda S, Gorske J, Rao A, Riggs M, Ward H, Keville L. Expression of vascular endothelial growth factor and HER2/neu in stage II colon cancer and correlation with survival. *Clin Colorectal Cancer* 2004; 4: 262-267

18 Ma WW, Adjei AA. Novel agents on the horizon for cancer therapy. *CA Cancer J Clin* 2009; 59: 111-137

19 欧希龙, 关云艳, 颜芳, 孙为豪, 杨柳, 陈国胜. 血管内皮生长因子165基因对人胃癌细胞凋亡的影响及机制. 世界华人消化杂志 2008; 16: 307-310

20 Al-Moundhri MS, Al-Shukaili A, Al-Nabhani M, Al-Bahrani B, Burney IA, Rizivi A, Ganguly SS. Measurement of circulating levels of VEGF-A, -C, and -D and their receptors, VEGFR-1 and -2 in

gastric adenocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 3879-3883
21 Moehler M, Frings C, Mueller A, Gockel I, Schimanski CC, Biesterfeld S, Galle PR, Holtmann MH. VEGF-D expression correlates with colorectal cancer aggressiveness and is downregulated by cetuximab. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 4156-4167
22 Su JL, Yang PC, Shih JY, Yang CY, Wei LH, Hsieh CY, Chou CH, Jeng YM, Wang MY, Chang KJ, Hung MC, Kuo ML. The VEGF-C/Flt-4 axis promotes invasion and metastasis of cancer cells. *Cancer Cell* 2006; 9: 209-223
23 杜伟, 王杰军, 何金. 大肠癌中EGFR、c-erbB-2及VEGF的表达与临床病理特征的关系. 肿瘤防治研究 2008; 35: 191-193
24 Goldberg RM, Carrato A. Accomplishments in 2007 in the treatment of advanced colorectal cancer. *Gastrointest Cancer Res* 2008; 2: S19-S24
25 Saltz L. Colorectal Cancer Treatment: What's Next? (or: Is There Life After EGFR and VEGF?). *Gastrointest Cancer Res* 2008; 2: S20-S22
26 Xu L, Jain RK. Down-regulation of placenta growth factor by promoter hypermethylation in human lung and colon carcinoma. *Mol Cancer Res* 2007; 5: 873-880
27 Morabito A, De Maio E, Di Maio M, Normanno N, Perrone F. Tyrosine kinase inhibitors of vascular endothelial growth factor receptors in clinical trials: current status and future directions. *Oncologist* 2006; 11: 753-764
28 廖旺军, 石敏, 郑大勇, 郑航, 罗荣城. 结直肠癌原发灶与转移灶中EGFR表达的免疫组化研究. 解放军医学杂志 2008; 30: 80-81
29 冯俊, 吴云飞, 徐惠绵. EGFR、VEGF表达与大肠癌淋巴结及肝转移的相关性. 现代肿瘤医学杂志 2008; 16: 388-390
30 Liang JL, Wan DS, Pan ZZ, Zhou ZW. [Correlations of c-erb-B2, EGFR, and TGF-alpha expression to recurrence of Dukes'A and B colorectal carcinoma] *Ai Zheng* 2007; 26: 647-651

■**同行评价**
本研究设计合理, 方法得当, 论述有据, 有一定的临床指导意义.

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》数字用法标准

本刊讯 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 本刊论文中数字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±0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6 347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的mean±SD应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5±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±0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4±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→23.5→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≤分母≤1 000, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行! (常务副总编辑: 张海宁 2009-06-28)

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年6月28日; 17(18): 1842-1848
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

文献综述 REVIEW

肿瘤标志物在食管鳞状细胞癌中的研究与应用

王 皓, 钟 理, 王建飞, 张小刚

■背景资料
食管癌是发生在食管上皮组织的恶性肿瘤, 居我国恶性肿瘤死亡的第4位, 排在胃癌、肝癌和肺癌之后. 食管癌主要有2种类型, 食管鳞状细胞癌和食管腺癌, 食管鳞状细胞癌较多出现在发展中国家, 严重威胁着人民的健康. 因此, 对于食管鳞状细胞癌的早期准确诊断必不可少, 目前对于食管鳞状细胞癌的诊断中, 肿瘤标志物检测是较为常见且便利的方法.

■同行评议者
施瑞华, 教授, 南京医科大学第一附属医院消化科

王皓, 钟理, 王建飞, 张小刚, 河北大学生命科学学院生物芯片研究室 河北省保定市 071002
钟理, City of Hope National Medical Center, Duarte, California 91010, USA
作者贡献分布: 文献检索、资料分析和论文撰写由王皓完成; 选题和审校由钟理完成; 部分文献由王建飞与张小刚检索提供.
通讯作者: 钟理, 071002, 河北省保定市五四东路180号, 河北大学生命科学学院生物芯片研究室. lzhong@coh.org
电话: 0312-5079364
收稿日期: 2009-04-01 修回日期: 2009-05-22
接受日期: 2009-05-25 在线出版日期: 2009-06-28

Research and application of tumor markers in esophageal squamous cell carcinoma

Hao Wang, Li Zhong, Jian-Fei Wang, Xiao-Gang Zhang

Hao Wang, Li Zhong, Jian-Fei Wang, Xiao-Gang Zhang, Biochip Laboratory, Hebei University College of Life Sciences, Baoding 071002, Hebei Province, China
Li Zhong, City of Hope National Medical Center, Duarte, California 91010, USA
Correspondence to: Li Zhong, Biochip Laboratory, Hebei University College of Life Sciences, 180 Wusi East Road, Baoding 071002, Hebei Province, China. lzhong@coh.org
Received: 2009-04-01 Revised: 2009-05-22
Accepted: 2009-05-25 Published online: 2009-06-28

Abstract
Esophageal squamous cell carcinoma (ESCC), the main type of esophageal cancer, is one of the most common gastrointestinal malignant cancers. Tumor markers detection are easy, economical, fast and non-invasive. Some tumor markers can be expressed before morphological changes occurred in tissues and organs; therefore, they can be used for the diagnosis of disease in the asymptomatic stage, thus making the research into tumor marker discovery even more meaningful. This paper summarizes several known tumor makers' expression detected in ESCC in recent years, and illustrates them from the aspects of genes, proteins, autoimmune antibodies, antigens and prognostic factors.

Key Words: Esophageal squamous cell carcinoma; Tumor marker; Gene expression; Methylation; Autoantibody

Wang H, Zhong L, Wang JF, Zhang XG. Research and application of tumor markers in esophageal squamous cell carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(18): 1842-1848

摘要
食管鳞状细胞癌作为食管癌的主要类型, 是人类最常见的消化系恶性肿瘤之一. 作为诊断手段之一的肿瘤标志物检测, 具有简便、经济、快速、无创的特点, 更重要的是一些标志物在组织器官发生形态学变化之前就有表达, 因此, 肿瘤标志物对食管癌的研究就更有意义. 本文综述近几年来一些发现和检测到的肿瘤标志物在食管鳞状细胞癌中的差异表达, 分别从基因、蛋白、自身免疫抗体、抗原及预测因子角度总结介绍.

关键词: 食管鳞状细胞癌; 肿瘤标志物; 基因表达; 甲基化; 自身免疫抗体

王皓, 钟理, 王建飞, 张小刚. 肿瘤标志物在食管鳞状细胞癌中的研究与应用. 世界华人消化杂志 2009; 17(18): 1842-1848
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1842.asp

0 引言
食管癌是发生在食管上皮组织的恶性肿瘤, 占所有恶性肿瘤的2%, 全世界每年约有34万人死于食管癌. 食管癌是我国常见的恶性肿瘤之一, 居我国恶性肿瘤死亡的第4位, 排在胃癌、肝癌和肺癌之后. 我国是世界食管癌的高发区, 其中发病患者约占全世界发病总数的70%, 严重威胁着人民的健康. 食管癌主要有两种类型, 食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)和食管腺癌, 各自具有独特的病原和病理特征. ESCC是主要的食管癌类型, 在世界范围患者中占95%. 在发达国家中, 较为常见的是食管腺癌, 而ESCC则较多出现在发展中国家. 因此, 对于ESCC的研究远不如对食管腺癌的研究深入, ESCC发生和发展的分子机制目前尚未明了[1]. 目前对于ESCC的诊断中, 肿瘤标志物(tumor marker, TM)检测是较为常见且便利的方法. TM是反映肿瘤存在的化学类物质. 他们或

不存在于正常成人组织而仅见于胚胎组织, 或在肿瘤组织中的含量大大超过在正常组织的含量. 他们的存在或量变可以提示肿瘤的性质, 借以了解肿瘤的组织发生、细胞分化、细胞功能, 以帮助肿瘤的诊断、分类、预后判断以及治疗指导.

1 ESCC中基因差异表达

很多研究表明食管癌的发生与多种癌基因的激活和抑癌基因的失活有关, 基因之间的协同作用必不可少, 特异基因表达量也出现明显差异.

1.1 抑癌基因*p53*的突变 *p53*基因是目前最受关注的抑癌基因之一, 其突变是人类多种肿瘤最常发生的基因改变. 他所编码的P53蛋白(野生型)能够监控的细胞生长, 在G_1期检查DNA损伤点, 监视基因组的完整性. 大多研究[2-3]证实*p53*基因的突变, 缺失及过度表达与食管癌发生、发展有密切关系, 并且与食管上皮的早期癌变相关. 靳玉兰 *et al*[4]研究表明, *p53*在食管癌中异常表达的阳性率在正常黏膜、轻度、中度、重度不典型增生及原位癌组织中分别为4.0%、39.1%、57.5%、52.9%和67.9%, 其中异常表达程度在中度以上者分别占0.0%、0.1%, 24.5%, 39.2%和48.7%. *p53*在正常黏膜中的表达与其在不典型增生及原位癌组织中的表达均有显著性差异(P<0.001).

食管黏膜内*p53*的沉积不但是食管癌早期诊断的标志物之一, 而且其可以诱发体内*p53*抗体的产生. 血清中*p53*抗体可以通过放射免疫法检测并可作为食管癌早期诊断的指标[5-7]. 除此以外,*p53*抗体还可以作为ESCC患者术后早期复发的预测因子[8].

1.2 甲基化 甲基化是最常见的复制后及转录后修饰方式之一, 在基因表达调控、发育调节、基因组、印迹等方面发挥重要作用. 肿瘤细胞DNA总体甲基化水平低于正常细胞, 但某些特定基因(如肿瘤抑制基因)的CpG岛却处于高甲基化状态[9-11].

1.2.1 E-cadherin(CDH1)和integrin α4中CpG岛的过度甲基化: CpG岛的异常甲基化已被广泛认为可以在人类多种癌症中诱导肿瘤抑制基因的转录沉默. 已有报道[12]在食管癌中, CpG岛在20多种肿瘤抑制子基因的启动子区域有过度甲基化现象. *p16*、CDH1、RARb2、DAP kinase、sFRP1和Wif-1基因被启动子区域的CpG岛的异常甲基化抑制活性, 导致ESCC的生成. Lee *et al*[13]利用甲基化特异PCR法检测了几种基因的甲基化: 其中52% *p16*, 25% RARb2, 43% CDH1, 21% integrin α4, 57% sFRP1, 38% DAP kinase和35%的Wif-1检测到过度甲基化. 在癌症第1阶段, CDH1的甲基化与高复发率相关(OR = 5.26, 95%CI: 1.48-18.67, P = 0.01). 在癌症第2阶段, integrin α4的甲基化与高复发率相关(OR = 3.03, 95%CI: 1.09-8.37, P = 0.03).

1.2.2 N-甲基-D-天冬氨酸受体2B(NMDAR2B)启动子甲基化: NMDAR2B是哺乳动物大脑中谷氨酸脂受体及重要的刺激性神经传递素受体. NMDAR2B的一些亚单位表达在骨骼肌、心肌和胰腺中, 如同上基底角质细胞.

NMDAR2B被认为是ESCC中的肿瘤抑制子和癌症特异甲基化基因[14]. NMDAR2B启动子的甲基化在早期ESCC中与不良预后相关. NMDAR2B的高度甲基化的患者比NMDAR2B的未甲基化的患者存活率少5年(P<0.006)[15].

1.3 基因的变量表达

1.3.1 PRL-1及PRL-3 mRNA: Liu *et al*[16]证实PRL-1及PRL-3 mRNA在ESCC中表达比正常食管组织有明显增加(P = 0.001, 0.01), 并且在有淋巴转移的ESCC中表达更高(P = 0.01, P = 0.03). 这表明PRL-1和PRL-3 mRNA有可能成为ESCC转移的预测因子.

1.3.2 hERG1的过量表达: Ding *et al*[17]研究了切除后ESCC标本中hERG1钾通道的表达和其对预后的影响. 结果表明hERG1阳性的患者的存活时间要短于阴性的患者, 存活率同样很低. 在ESCC中, hERG1过表达与术后不良预后相关, 与淋巴转移、浸润深度、分期和其他临床病理特征之间没有显著相关性.

1.3.3 Fas细胞表面受体的表达: Fas细胞表面受体是细胞凋亡的一个主要调解者. 作为一个肿瘤抑制基因, Fas与其配体(FasL)保持着外周血淋巴细胞和许多其他类型细胞的稳定性. Chan *et al*[18]在89.7%的ESCC患者中检测到Fas的表达, 有较高Fas表达量的患者其存活率也较高(P = 0.0317).

1.3.4 肿瘤抑制基因DECⅠ的低表达: DECⅠ位于人类染色体9q32, 在ESCC发展过程中具有十分重要的作用. 有研究[19-20]利用体外细胞群落形成分析和裸鼠体内致瘤分析来评估DECⅠ的肿瘤抑制能力. 结果表明在这两项分析中DECⅠ均可以抑制食管癌细胞的生长. Leung *et al*[21]证实DECⅠ基因表达100%被下调, 但与患者性

■**研发前沿**
目前应用于诊断的方法大多为多肿瘤标志物联合诊断, 单一肿瘤标志物的敏感性和特异性还有待提高.

■相关报道
毛友生 *et al*从食管癌诊断、疗效评价、预后判断以及复发和转移追踪几方面总结了食管癌肿瘤标志物的研究进展, 并指出肿瘤标志物的临床应用价值有待进一步提高. 张双红 *et al*采用色素内镜、超声内镜、肿瘤标志物检测和联合检测等方法, 可明显提高早期食管癌的诊断率, 为早期食管癌临床治疗评估提供充分且科学的依据.

别、年龄、肿瘤分化/定位/阶段、淋巴转移和存活率之间没有明显的统计相关性.

2 组织和血清蛋白的不正常表达

许多研究表明癌症患者体内存在肿瘤相关抗原(tumor-associated antigen, TAAs)和抗体免疫反应. 许多抗原蛋白, 如核抗原Ki67[22-24]、鳞状上皮细胞癌抗原(squamous cell carcinoma, SCC)[25]、癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)[5,26]及细胞角蛋白19片段(cytokeratin fragment Ks19.1、BN19.21, CYFRA21-1)[27-30]等, 他们的变量表达使之作为人群中确立高危个体和选择重点化学预防个体的特异性较强的分子生物学标志.

2.1 人小凹蛋白caveolin阳性反应 人小凹蛋白caveolin是细胞表面穴样内陷(caveolae)中的一种主要膜内在蛋白, 包括caveolin-1, caveolin-2和caveolin-3, 在保持caveolae的完整性、细胞内吞作用、小胞的运输、信号的传导中起一定的作用. Ando *et al*[31]的研究表明, 在ESCC样本中CAV1和CAV2 mRNA表达水平高于正常食管黏膜(P = 0.0024, 0.0136). 但是ESCC临床病理因素与CAV1, CAV2表达之间没有明显的关系. 在免疫染色中, 27.7%的患者对CAV1表现阳性反应, 46.8%的病患者对CAV2表现有阳性反应. 对CAV1和CAV2有阳性反应的患者的存活率明显低于阴性反应患者(P = 0.0105, 0.0424). 这些数据说明CAV1和CAV2的阳性反应可能是一种潜在的有用的ESCC预后标志物.

2.2 细胞周期素蛋白Cyclin D1差异表达 细胞增殖周期失控是恶性肿瘤呈现无限制增殖的重要原因. Cyclin D1作用于决定细胞增殖、分化关键时相的G_1期, 其基因定位、激活方式及生物学功能具有癌基因的特征, 在食管癌、B细胞淋巴瘤、乳腺癌、胃癌、前列腺癌、头颈部鳞癌、甲状腺癌等中均有Cyclin D1基因的扩增或蛋白的过表达, 并且在某些肿瘤中, 与预后有关[32].

Jiang *et al*[33]首次发现人类ESCC中存在着Cyclin D1 mRNA的扩增. 李吉学 *et al*[34]探讨了细胞周期素蛋白及mRNA表达变化与ESCC发生之间的关系. 结果表明癌组织和癌旁组织中均出现不同程度的Cyclin D1蛋白和mRNA表达, 癌旁组织和癌组织Cyclin D1免疫组织化学阳性和mRNA表达阳性率分别为23.1%对38.4%和87.5%对81.3%, 但二者间无显著性差异(P>0.05), 但是, 碘染色阳性癌旁组织Cyclin D1免疫阳性率(28.6%)明显高于碘染色阴性组(3.6%). 马萍 *et al*[35]利用细胞周期调控因子*p27*, Cyclin D1和DNA含量在食管癌中进行联合检测, 结果表明食管癌组织中Cyclin D1和P27蛋白表达阳性率分别为45.8%和33.3%, Cyclin D1表达阳性组的DNA含量显著高于Cyclin D1表达阴性组(P<0.05), 而*p27*表达阳性组的DNA含量和SPF值低于P27蛋白表达阴性组(P<0.05). 这说明Cyclin D1, P27蛋白与食管癌的发生、发展有关, 检测Cyclin D1, *p27*及DNA含量可作为诊断和评估食管癌恶性程度的重要指标.

2.3 着丝粒特异性蛋白(centromere protein-H, CENP-H) 在癌症细胞中经常会观察到多极纺锤体和各种中心体的畸形, 比如中心体多余, 大小形状异常, 提前分裂等, 导致产生非整倍体细胞和染色体不稳定. 近期研究表明[36], CENP-H在大多数直肠癌中被上调, 异常表达的CENP-H诱导染色体的异常分离和二倍体细胞株的非整倍体出现. 另一研究[37]发现CENP-H mRNA表达水平和口腔鳞状细胞癌临床阶段之间有重要关联, 指出在恶劣条件下, 人CENP-H与增强或异常的细胞增殖之间有紧密联系. Guo *et al*[38]研究指出ESCC患者组织和细胞中的CENP-H mRNA表达水平比正常组织中明显升高. 在ESCC不同性别, 阶段和T类别中, CENP-H表达水平有明显不同(P = 0.013, 0.023, 0.019). CENP-H表达较低的患者生存时间更长一些. 多变量分析表明CENP-H的表达是一种独立的食管癌预后标志物.

2.4 抑癌蛋白Dkk1高度激活 Wnt途径信号的异常是导致恶性肿瘤的原因之一[39-40]. 脊椎动物的Dkk蛋白有Dkk1、Dkk2、Dkk3和Dkk4四种形式, 他们有较高同源性, 均抑制Wnt信号, 其中Dkk1作用最强, 在胚胎头颈形成起重要作用. 哺乳动物的Dkk1含266个氨基酸残基, 在不同的肿瘤表达水平不同. 在人类胃肠道肿瘤中, DKK家族基因常常被后天灭活[41-42], Dkk1蛋白减少或缺失. 在ESCC中, DKK1被高度激活, 血清中DKK1含量比健康个体明显增高, 63.0%的ESCC患者出现DKK1阳性反应, 表明DKK1可以作为一种临床中新型的诊断及预测生物标志物, 也应该作为食管癌的治疗靶位[43].

2.5 骨桥蛋白(osteopontin, OPN) OPN是一种具有多种功能分泌型钙结合磷酸化糖蛋白, 他能与骨组织中的羟磷灰石紧密结合, 参与调节骨钙的沉积. 他是一种与肿瘤细胞的转化、浸润和转移有关的蛋白质可以作为一种判断预后及

监测肿瘤复发或转移的指标, 具有较高的临床意义. 伍治强 *et al*[44]观察OPN在食管鳞癌组织、癌旁组织和转移淋巴结的表达状况. 结果表明OPN在食管癌组织、癌旁组织及转移淋巴结中的表达率分别为86.3%、0%和100%.癌组织中OPN主要表达于肿瘤细胞的细胞质中. OPN的表达与肿瘤TNM分期、淋巴结转移状态有关, 而与肿瘤位置、肿瘤直径、浸润深度及病理学分级无关. OPN在癌组织、癌旁组织及转移淋巴结表达强度亦存在显著性差异, 反映了肿瘤的生物学特性.

3 自身免疫抗体

血清中抗体比其他血清来源的蛋白在癌症的诊断中占优势, 因为在肿瘤抗原水平很低, 利用常规蛋白检测方法无法检测到的时候, 免疫系统就能监测到该特异蛋白的存在, 引起免疫反应, 产生大量的抗体, 可能成为癌症检测的非常有前景的标志物.

在ESCC中, 有多种蛋白存在自身免疫反应, 包括P53蛋白[7,45-46], 细胞角蛋白[47], myomegalin[48]和TRIM21[49]. Liu *et al*[50]在36.29%的ESCC患者和8.67%的其他癌症患者血清中检测到CDC25B的自身抗体, 而在正常人血清中没有CDC25B自身抗体的存在.

Fujita *et al*[51]研究表明ESCC患者的血清中热休克蛋白(heat shock protein 70, Hsp70)抗体浓度明显高于胃癌、结肠癌患者或正常人(均$P<0.001$). 而peroxiredoxinⅥ蛋白免疫反应在50% ESCC患者和6.6%正常人血清中存在, 3.3%结肠癌患者血清中发现有peroxiredoxinⅥ蛋白抗体[52].

4 ESCC中的预测因子

4.1 畸胎瘤细胞源性生长因子和血管内皮生长因子的表达 近年来有报道[53-56]表明血管的形成在肿瘤的生长和转移中起到十分关键的作用, 这一复杂的过程受到许多因子影响. Chen *et al*[57]研究了畸胎瘤细胞源性生长因子(PC cell-derived growth factor, PCDGF)和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)在ESCC组织中的表达和他们与ESCC临床病理参数之间的相关性, 阐明了PCDGF和VEGF在ESCC的血管形成过程中的作用. 实验结果表明PCDGF和VEGF在ESCC中比其在正常黏膜中有明显高表达, 与肿瘤浸染深度, 淋巴转移和肿瘤类别、转移等相关. PCDGF和VEGF在ESCC中的表达水平与微脉管密度(microvessel density, MVD)正相关, 同时, PCDGF和VEGF的表达之间具有明显的相关性. 他们通过促进肿瘤血管形成参与了肿瘤的生长, 浸染和转移, 可以作为一个反应ESCC生物学行为和预后的重要的参数.

4.2 Mina53 Mina53作为一种新发现的基因, 他的表达受到致癌基因c-Myc的诱导, 与细胞增殖有关, 并在休眠和分化细胞中被下调. Mina53基因编码一种定位于细胞核中的蛋白. Mina53的表达在细胞增殖过程中加强, 在一些培养的细胞株中可以被RNA干扰技术抑制他的表达[58-59]. Tsuneoka *et al*[60]发现Mina53在83% ESCC患者中有高表达. Mina53高表达的患者存活期较短. 对Mina53抗体进行免疫着色可能是一个有效的预测指示方法.

另外, Han *et al*研究发现[61], 食管癌组织中乙酰肝素激酶(heparanase, Hps)和碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)的表达较正常组织中的表达显著升高, 可能在食管癌的肿瘤血管生成、浸润及转移过程中发挥重要作用. 低氧诱导因子(hypoxia-inducible factor-1, HIF-1)通过调控细胞的增殖状态参与肿瘤细胞的加速再增殖而被认为与食管癌的肿瘤分期、肿瘤侵袭深度、淋巴结转移、远处转移等密切相关[62].

5 结论

ESCC的早期发现、早期诊断、早期治疗是降低患者死亡率提高患者生活质量的关键. 现有大多数分子生物学标志物为ESCC的早期诊断提供了有力的证据和途径. 但由于ESCC发生和发展的分子机制目前尚未明了, 标志物的敏感性和特异性还有待提高, 单一肿瘤标志物还无法进行临床应用. 为达到对此疾病及时而准确的检测, 还需将标志物检测与传统检测方法相结合. 同时, 地理位置、居住环境、饮食习惯、家族史等均是诊断时不可忽略的参考因素.

■应用要点

近些年来, 不少肿瘤标志物已经被用来作为癌症的诊断指标, 其存在或变量表达可以提示肿瘤的性质、种类, 可辅助诊断肿瘤、分析病程、指导治疗、监测复发或转移、判断预后.

6 参考文献

1 Kashyap MK, Marimuthu A, Kishore CJ, Peri S, Keerthikumar S, Prasad TS, Mahmood R, Rao S, Ranganathan P, Sanjeeviah RC, Vijayakumar M, Kumar KV, Montgomery EA, Kumar RV, Pandey A. Genomewide mRNA profiling of esophageal squamous cell carcinoma for identification of cancer biomarkers. *Cancer Biol Ther* 2009; 8: 36-46

2 Robert V, Michel P, Flaman JM, Chiron A, Martin C, Charbonnier F, Paillot B, Frebourg T. High

■同行评价
本文综述了食管癌相关肿瘤标志物研究进展，内容详实，具有一定临床价值.

frequency in esophageal cancers of p53 alterations inactivating the regulation of genes involved in cell cycle and apoptosis. *Carcinogenesis* 2000; 21: 563-565

3 Fujiki T, Haraoka S, Yoshioka S, Ohshima K, Iwashita A, Kikuchi M. p53 Gene mutation and genetic instability in superficial multifocal esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Oncol* 2002; 20: 669-679

4 靳玉兰, 张伟, 刘伯齐, 王洪平, 韩志楷, 韩双廷, 曲平, 李茉, 丁镇伟, 林培中. 食管癌前病变及原位癌组织中Ki67、P53、iNOS的异常表达. 中华肿瘤杂志 2001; 23: 129-131

5 毛友生, 赵晓航, 张德超, 汪良俊. 食管癌肿瘤标志物研究进展. 世界华人消化杂志 2002; 10: 1321-1323

6 Shimada H, Okazumi S, Takeda A, Nabeya Y, Matsubara H, Funami Y, Hayashi H, Gunji Y, Suzuki T, Ochiai T. Presence of serum p53 antibodies is associated with decreased in vitro chemosensitivity in patients with esophageal cancer. *Surg Today* 2001; 31: 591-596

7 Shimada H, Takeda A, Arima M, Okazumi S, Matsubara H, Nabeya Y, Funami Y, Hayashi H, Gunji Y, Suzuki T, Kobayashi S, Ochiai T. Serum p53 antibody is a useful tumor marker in superficial esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer* 2000; 89: 1677-1683

8 Takahashi K, Miyashita M, Nomura T, Makino H, Futami R, Kashiwabara M, Katsuta M, Tajiri T. Serum p53 antibody as a predictor of early recurrence in patients with postoperative esophageal squamous cell carcinoma. *Dis Esophagus* 2007; 20: 117-122

9 Tycko B. Epigenetic gene silencing in cancer. *J Clin Invest* 2000; 105: 401-407

10 Baylin SB, Herman JG, Graff JR, Vertino PM, Issa JP. Alterations in DNA methylation: a fundamental aspect of neoplasia. *Adv Cancer Res* 1998; 72: 141-196

11 Ehrlich M. DNA methylation in cancer: too much, but also too little. *Oncogene* 2002; 21: 5400-5413

12 Wu DL, Sui FY, Jiang XM, Jiang XH. Methylation in esophageal carcinogenesis. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 6933-6940

13 Lee EJ, Lee BB, Han J, Cho EY, Shim YM, Park J, Kim DH. CpG island hypermethylation of E-cadherin (CDH1) and integrin alpha4 is associated with recurrence of early stage esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 2008; 123: 2073-2079

14 Kim MS, Yamashita K, Baek JH, Park HL, Carvalho AL, Osada M, Hoque MO, Upadhyay S, Mori M, Moon C, Sidransky D. N-methyl-D-aspartate receptor type 2B is epigenetically inactivated and exhibits tumor-suppressive activity in human esophageal cancer. *Cancer Res* 2006; 66: 3409-3418

15 Kim MS, Yamashita K, Chae YK, Tokumaru Y, Chang X, Zahurak M, Osada M, Park HL, Chuang A, Califano JA, Sidransky D. A promoter methylation pattern in the N-methyl-D-aspartate receptor 2B gene predicts poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 6658-6665

16 Liu YQ, Li HX, Lou X, Lei JY. Expression of phosphatase of regenerating liver 1 and 3 mRNA in esophageal squamous cell carcinoma. *Arch Pathol Lab Med* 2008; 132: 1307-1312

17 Ding XW, Luo HS, Luo B, Xu DQ, Gao S. Overexpression of hERG1 in resected esophageal squamous cell carcinomas: a marker for poor prognosis. *J Surg Oncol* 2008; 97: 57-62

18 Chan KW, Lee PY, Lam AK, Law S, Wong J, Srivastava G. Clinical relevance of Fas expression in oesophageal squamous cell carcinoma. *J Clin Pathol* 2006; 59: 101-104

19 Yang L, Leung AC, Ko JM, Lo PH, Tang JC, Srivastava G, Oshimura M, Stanbridge EJ, Daigo Y, Nakamura Y, Tang CM, Lau KW, Law S, Lung ML. Tumor suppressive role of a 2.4 Mb 9q33-q34 critical region and DEC1 in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncogene* 2005; 24: 697-705

20 Nishiwaki T, Daigo Y, Kawasoe T, Nakamura Y. Isolation and mutational analysis of a novel human cDNA, DEC1 (deleted in esophageal cancer 1), derived from the tumor suppressor locus in 9q32. *Genes Chromosomes Cancer* 2000; 27: 169-176

21 Leung AC, Wong VC, Yang LC, Chan PL, Daigo Y, Nakamura Y, Qi RZ, Miller LD, Liu ET, Wang LD, Li JL, Law S, Tsao SW, Lung ML. Frequent decreased expression of candidate tumor suppressor gene, DEC1, and its anchorage-independent growth properties and impact on global gene expression in esophageal carcinoma. *Int J Cancer* 2008; 122: 587-594

22 靳玉兰, 张伟, 刘伯齐, 王洪平, 韩志楷, 金玉生, 刘义, 曲平, 丁镇伟, 王立峰, 李茉, 林培中. 食管原位癌及癌前病变组织中Ki67、P53蛋白异常表达的研究. 中华病理学杂志 2000; 29: 222-223

23 van Sandick JW, Baak JP, van Lanschot JJ, Polkowski W, ten Kate FJ, Obertop H, Offerhaus GJ. Computerized quantitative pathology for the grading of dysplasia in surveillance biopsies of Barrett's oesophagus. *J Pathol* 2000; 190: 177-183

24 Hiyama T, Yokozaki H, Kitadai Y, Haruma K, Yasui W, Kajiyama G, Tahara E. Overexpression of human telomerase RNA is an early event in oesophageal carcinogenesis. *Virchows Arch* 1999; 434: 483-487

25 Shimada H, Nabeya Y, Okazumi S, Matsubara H, Shiratori T, Gunji Y, Kobayashi S, Hayashi H, Ochiai T. Prediction of survival with squamous cell carcinoma antigen in patients with resectable esophageal squamous cell carcinoma. *Surgery* 2003; 133: 486-494

26 Bhatnagar J, Heroman W, Murphy M, Austin GE. Immunohistochemical detection of carcinoembryonic antigen in esophageal carcinomas: a comparison with other gastrointestinal neoplasms. *Anticancer Res* 2002; 22: 1849-1857

27 Kawaguchi H, Ohno S, Miyazaki M, Hashimoto K, Egashira A, Saeki H, Watanabe M, Sugimachi K. CYFRA 21-1 determination in patients with esophageal squamous cell carcinoma: clinical utility for detection of recurrences. *Cancer* 2000; 89: 1413-1417

28 Tsuchiya Y, Onda M, Miyashita M, Sasajima K. Serum level of cytokeratin 19 fragment (CYFRA 21-1) indicates tumour stage and prognosis of squamous cell carcinoma of the oesophagus. *Med Oncol* 1999; 16: 31-37

29 Brockmann JG, St Nottberg H, Glodny B, Sprakel B, Senninger N. Analysis of serum CYFRA 21-1 concentrations in patients with esophageal cancer. *Anticancer Res* 2000; 20: 4899-4904

30 Brockmann JG, St Nottberg H, Glodny B, Heinecke A, Senninger NJ. CYFRA 21-1 serum analysis in patients with esophageal cancer. *Clin Cancer Res*

2000; 6: 4249-4252
31 Ando T, Ishiguro H, Kimura M, Mitsui A, Mori Y, Sugito N, Tomoda K, Mori R, Harada K, Katada T, Ogawa R, Fujii Y, Kuwabara Y. The overexpression of caveolin-1 and caveolin-2 correlates with a poor prognosis and tumor progression in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncol Rep* 2007; 18: 601-609
32 Takeuchi H, Ozawa S, Ando N, Shih CH, Koyanagi K, Ueda M, Kitajima M. Altered p16/MTS1/CDKN2 and cyclin D1/PRAD-1 gene expression is associated with the prognosis of squamous cell carcinoma of the esophagus. *Clin Cancer Res* 1997; 3: 2229-2236
33 Jiang W, Kahn SM, Tomita N, Zhang YJ, Lu SH, Weinstein IB. Amplification and expression of the human cyclin D gene in esophageal cancer. *Cancer Res* 1992; 52: 2980-2983
34 李吉学, 何欣, 王立东, 秦艳茹, 王启鸣, 李燕杰, 高姗姗. 河南食管癌高发区居民食管癌和癌旁组织细胞周期素D1蛋白和mRNA的表达. 河南医学研究 2003; 12: 197-200
35 马萍, 王晓华, 尹元琴, 姜又红, 隋承光, 孟凡东. 细胞周期调控因子p27、Cyclin D1和DNA含量在食管癌中联合检测的意义. 中国现代医学杂志 2006; 16: 2096-2098, 2101
36 Tomonaga T, Matsushita K, Ishibashi M, Nezu M, Shimada H, Ochiai T, Yoda K, Nomura F. Centromere protein H is up-regulated in primary human colorectal cancer and its overexpression induces aneuploidy. *Cancer Res* 2005; 65: 4683-4689
37 Shigeishi H, Higashikawa K, Ono S, Mizuta K, Ninomiya Y, Yoneda S, Taki M, Kamata N. Increased expression of CENP-H gene in human oral squamous cell carcinomas harboring high-proliferative activity. *Oncol Rep* 2006; 16: 1071-1075
38 Guo XZ, Zhang G, Wang JY, Liu WL, Wang F, Dong JQ, Xu LH, Cao JY, Song LB, Zeng MS. Prognostic relevance of Centromere protein H expression in esophageal carcinoma. *BMC Cancer* 2008; 8: 233
39 Bafico A, Liu G, Goldin L, Harris V, Aaronson SA. An autocrine mechanism for constitutive Wnt pathway activation in human cancer cells. *Cancer Cell* 2004; 6: 497-506
40 Hadjihannas MV, Brückner M, Jerchow B, Birchmeier W, Dietmaier W, Behrens J. Aberrant Wnt/beta-catenin signaling can induce chromosomal instability in colon cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 10747-10752
41 Aguilera O, Fraga MF, Ballestar E, Paz MF, Herranz M, Espada J, García JM, Muñoz A, Esteller M, González-Sancho JM. Epigenetic inactivation of the Wnt antagonist DICKKOPF-1 (DKK-1) gene in human colorectal cancer. *Oncogene* 2006; 25: 4116-4121
42 Sato H, Suzuki H, Toyota M, Nojima M, Maruyama R, Sasaki S, Takagi H, Sogabe Y, Sasaki Y, Idogawa M, Sonoda T, Mori M, Imai K, Tokino T, Shinomura Y. Frequent epigenetic inactivation of DICKKOPF family genes in human gastrointestinal tumors. *Carcinogenesis* 2007; 28: 2459-2466
43 Yamabuki T, Takano A, Hayama S, Ishikawa N, Kato T, Miyamoto M, Ito T, Ito H, Miyagi Y, Nakayama H, Fujita M, Hosokawa M, Tsuchiya E, Kohno N, Kondo S, Nakamura Y, Daigo Y. Dikkopf-1 as a novel serologic and prognostic biomarker for lung and esophageal carcinomas. *Cancer Res* 2007; 67: 2517-2525
44 伍治强, 温剑虎. 骨桥蛋白在食管鳞癌中的表达及其临床意义. 免疫学杂志 2006; 22: 678-680
45 Bergqvist AS, Bergqvist M, Brattstrom D, Hesselius P, Larsson A, Brodin O, Wagenius G. Serum p53 autoantibodies as prognostic marker in patients with oesophageal carcinoma. *Anticancer Res* 2001; 21: 4141-4145
46 Ralhan R, Arora S, Chattopadhyay TK, Shukla NK, Mathur M. Circulating p53 antibodies, p53 gene mutational profile and product accumulation in esophageal squamous-cell carcinoma in India. *Int J Cancer* 2000; 85: 791-795
47 Veale RB, Thornley AL, Scott E, Antoni A, Segal I. Quantitation of autoantibodies to cytokeratins in sera from patients with squamous cell carcinoma of the oesophagus. *Br J Cancer* 1988; 58: 767-772
48 Shimada H, Kuboshima M, Shiratori T, Nabeya Y, Takeuchi A, Takagi H, Nomura F, Takiguchi M, Ochiai T, Hiwasa T. Serum anti-myomegalin antibodies in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Oncol* 2007; 30: 97-103
49 Shimada H, Nakashima K, Ochiai T, Nabeya Y, Takiguchi M, Nomura F, Hiwasa T. Serological identification of tumor antigens of esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Oncol* 2005; 26: 77-86
50 Liu WL, Zhang G, Wang JY, Cao JY, Guo XZ, Xu LH, Li MZ, Song LB, Huang WL, Zeng MS. Proteomics-based identification of autoantibody against CDC25B as a novel serum marker in esophageal squamous cell carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 375: 440-445
51 Fujita Y, Nakanishi T, Miyamoto Y, Hiramatsu M, Mabuchi H, Miyamoto A, Shimizu A, Takubo T, Tanigawa N. Proteomics-based identification of autoantibody against heat shock protein 70 as a diagnostic marker in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Lett* 2008; 263: 280-290
52 Fujita Y, Nakanishi T, Hiramatsu M, Mabuchi H, Miyamoto Y, Miyamoto A, Shimizu A, Tanigawa N. Proteomics-based approach identifying autoantibody against peroxiredoxin VI as a novel serum marker in esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 6415-6420
53 Pulukuri SM, Rao JS. Small interfering RNA directed reversal of urokinase plasminogen activator demethylation inhibits prostate tumor growth and metastasis. *Cancer Res* 2007; 67: 6637-6646
54 Gutierrez M, Giaccone G. Antiangiogenic therapy in nonsmall cell lung cancer. *Curr Opin Oncol* 2008; 20: 176-182
55 Cai SX. Small molecule vascular disrupting agents: potential new drugs for cancer treatment. *Recent Pat Anticancer Drug Discov* 2007; 2: 79-101
56 Liang ZH, Wu PH, Li L, Xue G, Zeng YX, Huang WL. Inhibition of tumor growth in xenografted nude mice with adenovirus-mediated endostatin gene comparison with recombinant endostatin protein. *Chin Med J* (Engl) 2004; 117: 1809-1814
57 Chen XY, Li JS, Liang QP, He DZ, Zhao J. Expression of PC cell-derived growth factor and vascular endothelial growth factor in esophageal squamous cell carcinoma and their clinicopathologic significance. *Chin Med J* (Engl) 2008; 121: 881-886
58 Tsuneoka M, Koda Y, Soejima M, Teye K, Kimura H.

A novel myc target gene, mina53, that is involved in cell proliferation. *J Biol Chem* 2002; 277: 35450-35459
59 Teye K, Tsuneoka M, Arima N, Koda Y, Nakamura Y, Ueta Y, Shirouzu K, Kimura H. Increased expression of a Myc target gene Mina53 in human colon cancer. *Am J Pathol* 2004; 164: 205-216
60 Tsuneoka M, Fujita H, Arima N, Teye K, Okamura T, Inutsuka H, Koda Y, Shirouzu K, Kimura H. Mina53 as a potential prognostic factor for esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 7347-7356
61 Han B, Liu J, Ma MJ, Zhao L. Clinicopathological significance of heparanase and basic fibroblast growth factor expression in human esophageal cancer. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 2188-2192
62 Ishikawa T, Furihata M, Ohtsuki Y, Murakami H, Inoue A, Ogoshi S. Cyclin D1 overexpression related to retinoblastoma protein expression as a prognostic marker in human oesophageal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 1998; 77: 92-97

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

2009年广东省中西医结合、中医脾胃消化病学术会议暨国家级继续教育项目消化病进展研讨班征文通知

本刊讯 由广东省中西医结合学会脾胃消化病专业委员会, 广东省中医药学会消化病专业委员会主办的2009年脾胃消化病学术会议暨国家级继续教育项目消化病进展研讨班将于2009-09-25/27在广东省广州市召开, 现将会议征文有关事项通知如下:

1 征稿内容

中西医结合、中医治疗消化系统疾病的基础理论研究、临床经验总结、诊治的新进展, 名老中医、西医和中西医结合专家个人诊治特色总结.

2 征稿要求

论文资料务必真实可靠, 书写规范, 简明扼要, 每篇以3000字以内为宜, 并附800字左右的摘要1份; 来稿请用电脑打印, 用word软件编入, 并附软盘, 或发送电子邮件, 文稿中请注明作者姓名、单位、通讯地址、邮政编码及联系电话. 截稿日期: 2009-07/30

3 交流方式

专题报告、论文宣读与讨论答疑相结合. 入选论文并参会者给予记Ⅰ类学分6分, 另外将择优编入《现代消化及介入诊疗》杂志. 参加继续教育研讨班者另给予国家级一类学分12分.

4 投稿地址

(1)E-mail: zhangwdcn@163.com; (2)全文、摘要并附软盘寄至广东省广州市广州大道北1838号南方医院消化编辑部罗永华同志(邮编: 510105); 并请注明脾胃消化病学术会议投稿. 无论文者也欢迎参会或报名参加研讨班.

5 联系方式

姚永莉, 510105, 广东省广州市广州大道北1838号, 南方医院消化内科, 电话: 13189096556

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年6月28日; 17(18): 1849-1854
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

文献综述 REVIEW

氯吡格雷对胃肠道的损害及其防治

孙 沂, 樊宏伟, 张振玉

孙沂, 张振玉, 南京医科大学附属南京第一医院消化科 江苏省南京市 210006
樊宏伟, 南京医科大学附属南京第一医院临床药理科 江苏省南京市 210006
作者贡献分布: 本文由孙沂综述, 张振玉与樊宏伟审校.
通讯作者: 张振玉, 主任医师, 210006, 江苏省南京市, 南京医科大学附属南京第一医院消化科. ahwangzhibing776@163.com
电话: 025-52271261
收稿日期: 2009-04-18 修回日期: 2009-05-12
接受日期: 2009-05-18 在线出版日期: 2009-06-28

Clopidogrel induced gastrointestinal damage and its prevention

Yi Sun, Hong-Wei Fan, Zhen-Yu Zhang

Yi Sun, Zhen-Yu Zhang, Department of Gastroenterology, Nanjing First Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing 210006, Jiangsu Province, China
Hong-Wei Fan, Department of Clinical Pharmacology, Nanjing First Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing 210006, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Zhen-Yu Zhang, Department of Gastroenterology, Nanjing First Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing 210006, Jiangsu Province, China. ahwangzhibing776@163.com
Received: 2009-04-18 Revised: 2009-05-12
Accepted: 2009-05-18 Published online: 2009-06-28

Abstract
As a new anti-platelet medicine, it has been more than 10 years since clopidogrel was applied to treat cardiovascular and cerebrovascular diseases. Recently, the increasing incidence and mortality of cardiovascular events in preventing clopidogrel associated gastrointestinal damage with PPI have been attracting wide attention of clinicians. This article reviews the present clinical application of clopidogrel, clopidogrel-induced gastrointestinal damage and its prevention strategy.

Key Words: Clopidogrel; Gastrointestinal damage; Prevention

Sun Y, Fan HW, Zhang ZY. Clopidogrel induced gastrointestinal damage and its prevention. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(18): 1849-1854

摘要
氯吡格雷作为新型抗血小板药物, 其应用于心脑血管疾病的治疗已逾十年. 近来, 随着质子泵抑制剂(PPI)在预防氯吡格雷相关的胃肠道损害中心血管事件发生率和死亡率的升高, 氯吡格雷对胃肠道的损害及其防治引起了临床医师的广泛关注. 本文就氯吡格雷临床应用现状、对胃肠道的损害及其防治策略作一综述.

关键词: 氯吡格雷; 胃肠道损害; 防治

孙沂, 樊宏伟, 张振玉. 氯吡格雷对胃肠道的损害及其防治. 世界华人消化杂志 2009; 17(18): 1849-1854
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1849.asp

■背景资料
最近, 随着质子泵抑制剂(PPI)在预防氯吡格雷相关的胃肠道损害中心血管事件发生率和死亡率的升高, 氯吡格雷对胃肠道的损害及其防治引起了临床医师的广泛关注.

0 引言
抗血小板药物在缺血性心脑血管疾病的治疗中发挥着越来越重要的作用, 已作为心脑血管疾病的一级预防和二级预防药物. 氯吡格雷作为新型噻吩吡啶类药物, 1998-06在美国首次上市, 2001-08在我国上市. 临床上已证实了其在预防动脉粥样硬化血栓事件中的疗效. 最近, 随着质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)在预防氯吡格雷相关的胃肠道损害中心血管事件发生率和死亡率的升高, 氯吡格雷相关的胃肠道并发症及其防治引起了国内外临床医师的共同关注. 本文就氯吡格雷临床应用现状、对胃肠道的损害及其防治策略作一综述.

1 抗血小板作用机制及临床应用现状
1.1 抗血小板 氯吡格雷作为一种新型的噻吩吡啶类衍生物, 具有抗血小板聚集作用及抗血栓形成作用[1]. 其作用机制为, 通过选择性地与血小板表面腺苷酸环化酶偶联的二磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP)受体结合, 阻断ADP对腺苷酸环化酶的抑制作用, 促进血管舒张剂刺激磷蛋白(vasodilator-stimulated phosphoprotein, VASP)的磷酸化, 抑制纤维蛋白原与其血小板受体GPⅡb/Ⅲa结合而发挥作用. 此外, 氯吡格雷还能阻断ADP释放后引起的血小板活化扩增, 从而抑制其他激动剂诱导的血小板聚集. 氯吡格雷对血栓素A_2(thromboxane A

■同行评议者
李旭, 副教授, 广东省广州市南方医院急诊科

■研发前沿
氯吡格雷对人胃肠道黏膜损害的资料报道不多. 氯吡格雷是具有独立的损害胃肠道黏膜作用, 还是仅影响出血黏膜的修复,目前尚不明确. 药物防治氯吡格雷相关的胃肠道损害有待循证医学的进一步证实.

2, TXA_2)、前列环素合成及磷脂酶活性没有影响[2], 因此氯吡格雷对于有阿司匹林抵抗的患者同样有效. 氯吡格雷作为一前体药物, 本身不具有抗血小板活性, 在肝脏内经细胞色素P450(主要是CYP3A4、CYP3A5、CYP2C19)代谢为活性产物后与血小板ADP受体结合, 不可逆地抑制ADP介导的血小板活化和聚集. 除CYP3A4、CYP3A5外, CYP2C19也是氯吡格雷药效学反应的决定因素之一. 有研究[3-5]表明, 不同个体间CYP2C19具有基因多态性, 血小板抑制程度以及氯吡格雷各种代谢物的药物代谢动力学差异非常显著, 即存在个体差异性, 因此CYP2C19生物活性的高低对氯吡格雷的药效有着相当大的影响.

1.2 临床应用 1997年美国FDA批准氯吡格雷用于新发生的中风、心梗或已确诊的周围动脉病(peripheral artery disease, PAD). CAPRIE研究[6], 对于PAD患者, 氯吡格雷疗效优于阿司匹林, 而对心肌梗死及脑梗死患者, 二者疗效无显著性差异. 欧洲心脏协会(European Society of Cardiology, ESC)在其2004年抗栓指南中指出作为一级预防用药, 阿司匹林是唯一有循证医学证据的抗血小板药物, 氯吡格雷目前还没有一级预防适应证, 目前无证据显示氯吡格雷疗效优于阿司匹林, 有待进一步临床试验的评价[7]. 2005年, 有关阿司匹林在动脉硬化性心血管疾病中的临床应用中国专家共识[8]指出对于慢性稳定性心绞痛、既往心肌梗死、外周血管疾病的患者, 对阿司匹林不能耐受或过敏者, 可选用氯吡格雷75 mg/d替代治疗. 对于ST段抬高及非ST段抬高的AMI患者, 不论是否接受PCI介入治疗, 均应联合使用阿司匹林加氯吡格雷. 氯吡格雷300 mg/d负荷量, 继之75 mg/d, 至少1 mo, 对于介入治疗的患者, 建议服用9-12 mo. 择期PCI患者, 建议阿司匹林*po* 100-300 mg/d预处理2-3 d, 若拟行冠状动脉内支架置入术时, 术前6-24 h加用氯吡格雷300 mg; 术后阿司匹林100-300 mg/d继续长期服用, 同时服用氯吡格雷75 mg/d, 置入裸金属支架者至少1 mo, 置入药物洗脱支架者至少6 mo.

2 氯吡格雷对胃肠道的损害及其机制

2.1 氯吡格雷对胃肠道的损害 阿司匹林因抑制前列腺素的生成而导致胃肠道黏膜的损害, 已为临床医师所熟知. 但是氯吡格雷对人胃肠道黏膜损害的资料报道不多. 2007年《美国心脏病学会/美国心脏学会(ACC/AHA)不稳定性心绞痛/非ST段抬高心肌梗死指南》[9]指出, 对于非ST段抬高急性冠状动脉综合征患者, 至少联合服用阿司匹林和氯吡格雷1 mo, 如果出血风险不高, 最好联合服用12 mo. 接受药物支架的患者, 至少不间断双重抗血小板治疗12 mo. 对于不能耐受阿司匹林的急性冠脉综合征患者, 可使用氯吡格雷替换阿司匹林, 以减少胃肠道不良反应(Ⅰ类推荐, A级证据水平). 这一建议的证据主要来自氯吡格雷与阿司匹林预防缺血事件比较研究(CAPRIE). 该研究中氯吡格雷75 mg组与阿司匹林325 mg组患者因胃肠道出血住院率分别为0.7%和1.1%(P = 0.012)[6]. 尽管氯吡格雷组胃肠道出血住院率低于阿司匹林组, 但临床推荐的阿司匹林长期使用剂量为75-150 mg, 并非325 mg. Lanas *et al*[10]的一项纳入2777例上消化道出血患者和5532名正常对照者的研究发现, 使用氯吡格雷75 mg/d者胃肠道出血风险(校正危险比为2.8, 95%CI 1.9-4.2)与使用阿司匹林100 mg/d者出血风险(校正危险比为2.7, 95%CI 2.0-3.6)相当. Chan *et al*[11]的一项前瞻性、随机、双盲临床试验, 入选了服用阿司匹林后发生上消化道事件而*H pylori*阴性患者,溃疡愈合后随机分为2组, 一组患者继续服用阿司匹林并加用埃索美拉唑(20 mg, 每日2次), 另一组换用氯吡格雷, 随访12 mo, 结果显示阿司匹林联合埃索美拉唑组与氯吡格雷组相比, 再发上消化道事件的比率显著降低(0.7% *vs* 8.6%). 之前, 一项设计相似的随机试验也得出了相似的结论: 氯吡格雷组上消化道事件的发生率为13.6%, 而阿司匹林联合奥美拉唑组(20 mg, 每日2次)为0%[12]. 这些研究表明用氯吡格雷代替阿司匹林以减少胃肠道出血的风险并不是一项安全的措施.

2.2 氯吡格雷联合其他抗血栓药物对胃肠道的损害 氯吡格雷和阿司匹林的联合治疗已被推荐为冠状动脉支架术后预防早期支架内血栓形成的治疗方案. Yusuf *et al*[13]研究对12 562例无ST段抬高的急性冠状动脉综合征的患者进行研究, 所有患者在接受包括阿司匹林的标准治疗的同时, 分别接受氯吡格雷和安慰剂, 并对两组患者进行比较. 结果表明, 随访3-12 mo, 平均9 mo后氯吡格雷组的心脏病发作、脑卒中和心血管死亡的危险性较安慰剂组下降19.1%, 严重出血的发生率显著多于安慰剂组(3.7% *vs* 2.7%, P = 0.001), 但危及生命的出血(2.1% *vs* 1.8%, P = 0.13)和出血性中风的患者无明显增多. Diener

et al[14]和Bhatt *et al*[15]研究也证实, 患者接受氯吡格雷和阿司匹林双重抗血小板治疗时的胃肠道并发症发生风险显著高于单药治疗. 氯吡格雷与华法林联用时, 胃肠道并发症发生风险明显增加. 临床中一般不主张二者联用, 仅在极少数获益可能大于风险的患者中可谨慎应用, 且应该同时给予PPI, 国际标准化比值(INR)应控制在2.0-2.5[16].

2.3 氯吡格雷对胃肠道损害的机制 氯吡格雷是具有独立的损害胃肠道黏膜作用, 还是仅影响出血黏膜的修复, 目前尚不明确. 2008年美国心脏学会(American Heart Association, AHA)和美国心脏病学会基金会(American College of Cardiology Foundation, ACCF)联合美国胃肠学会(American College of Gastroenterology, ACG)共同发布的减少抗血小板药物和非甾体类消炎药物(non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)导致胃肠道并发症的专家共识指出, 血小板聚集在伤口愈合中起着很关键的作用, 他通过释放血小板衍生生长因子促进血管生长, 而血管生长对胃肠道黏膜损害的修复起着关键的作用. 动物实验证实, 血小板减少可导致溃疡组织血管生长受抑并使溃疡愈合延迟. 氯吡格雷为ADP受体拮抗剂, 可抑制血小板释放具有促进内皮增生和加速修复溃疡的血管内皮生长因子, 而延迟了胃溃疡的修复. 尽管氯吡格雷和其他抗血管生长的药物可能不是胃十二指肠溃疡的直接原因, 但他们的抗血管生长作用可能抑制了胃糜烂和其他药物或者*H pylori*感染所致的小溃疡的愈合. 在酸存在的情况下, 这可能会导致一些较轻的没有临床症状的胃黏膜损害延迟愈合, 甚至加重成为有明显临床症状的溃疡和出血[16].

3 氯吡格雷相关的胃肠道损害的防治策略

3.1 氯吡格雷与PPI的相互作用 氯吡格雷相关的胃肠道损害的防治已经日益成为临床心血管内科医师和消化内科医师共同感兴趣的问题. PPI作为预防抗血小板药物相关的胃肠道损害首选药物, 已广泛应用于临床. 急性冠脉综合征患者在服用氯吡格雷的同时加用PPI的目的是, 缓解患者消化系不良症状, 或预防抗血小板治疗可能引起的消化系出血. 近来, 氯吡格雷联用PPI所致心血管事件发生率和死亡率的升高引起临床医师的广泛关注. Ho *et al*[17]共纳入8205例出院后服用氯吡格雷的ACS患者, 平均随访时间521 d. 结果显示, 63.9%(5244例)在出院时或随访期间同时服用PPI和氯吡格雷, 36.1%(2691例)仅服用氯吡格雷. 同时服用PPI和氯吡格雷的患者中全因死亡或因ACS再住院率高达29.8%(n = 1561), 而未服用PPI者中仅为20.8%(n = 615). 在氯吡格雷加PPI患者中, 60%口服了奥美拉唑(20 mg, 每日2次), 多因素分析表明, 氯吡格雷联用奥美拉唑与不良转归强相关. 次级终点敏感性分析显示, 同时服用PPI和氯吡格雷的患者中, 因ACS再次住院(14.6% *vs* 6.9%, P<0.001)、血管重建手术(15.5% *vs* 11.9%, P<0.001)和死亡(19.9% *vs* 16.6%, P<0.001)均更常见, 这可能与PPI影响氯吡格雷抗血小板活性导致的高凝状态有关. 既往研究显示, PPI可以通过CYP2C19途径代谢(各种PPI药物通过CYP2C19代谢比例分别为雷贝拉唑10%、兰索拉唑50%、埃索美拉唑73%、奥美拉唑85.5%、泮托拉唑90%), 竞争性抑制CYP2C19活性, 从而改变氯吡格雷的药代动力学. Juurlink *et al*[18]的一项病例对照研究纳入了734例急性心肌梗死再发入院患者和2057例正常对照者, 入院前30 d内服用质子泵抑制剂的患者再发心肌梗死的风险增高(校正危险比为1.27, 95%CI 1.03-1.57), 研究认为在急性心肌梗死接受氯吡格雷治疗的患者中, 同时服用PPI会降低氯吡格雷的效用, 增加再发心梗的危险性. Gilard *et al*[19]观察到在105例联用氯吡格雷和阿司匹林抗血小板治疗的患者中, 合用质子泵抑制剂患者的VASP值明显高于未服PPI的患者(P = 0.007). 而VASP值越高发生血栓的可能性就越大, 即对氯吡格雷的反应性越低. 由于氯吡格雷和质子泵抑制剂都需同工酶CYP2C19代谢, 因此, Gilard *et al*怀疑这两种药物之间存在竞争抑制的关系. Fontana *et al*[20]在研究中也发现质子泵抑制剂与氯吡格雷的反应性有关, 但因为样本量太小没有进行进一步研究. Small *et al*[21]从药代学和药物动力学的角度研究了质子泵抑制剂(兰索拉唑)对氯吡格雷药效的影响, 结果发现兰索拉唑没有影响氯吡格雷代谢初期无活性的羧酸代谢产物的产生, 但氯吡格雷和兰索拉唑合用时血小板聚集抑制率明显低于只给予氯吡格雷(分别为49%和39%, P = 0.046), 提示质子泵抑制剂和氯吡格雷可能是在产生活性代谢产物的细胞色素依赖的代谢途径水平存在相互作用, 这与Gilard *et al*的研究结果相一致.

3.2 氯吡格雷等抗血小板药物相关的胃肠道损害防治的专家共识 2008年ACCF、ACG和AHA

■相关报道
2009-03-04, *JAMA*发表的一项研究显示, ACS患者在接受氯吡格雷的同时, 服用PPI会增加因ACS再次入院的危险. 此前《加拿大医学会杂志》于2009-01-28在线发表了一项类似研究, 结果显示, 氯吡格雷联用PPI增加患者再梗危险.

■应用要点
氯吡格雷代替阿司匹林以减少胃肠道出血的风险不是一项安全的措施. 氯吡格雷联用PPI会导致心血管事件发生率和死亡率的升高. 对需要服用氯吡格雷等抗血小板药物的患者, 应首先评估胃肠道损害风险, 且事先预防, 优于事后补救.

联合发表《降低抗血小板药物和NSAIDs的消化系出血风险专家共识》, 共识建议[16]: (1)所有NSAIDs(包括COX-2抑制剂)与阿司匹林合用时均增加胃肠道溃疡和出血的发生. 即使阿司匹林80 mg长期应用也会增加胃肠道出血的风险. (2)对于溃疡出血复发高危的患者, 不建议氯吡格雷替代阿司匹林, 应该给阿司匹林联合PPI. (3)阿司匹林与抗凝治疗(包括普通肝素、低分子肝素和华法林)联合能够明显增加严重出血的危险, 主要以消化系出血为主. (4)PPI是预防阿司匹林相关的胃肠道损害首选的药物, 优于米索前列醇、H_2-受体拮抗剂. (5)在应用长期抗血小板治疗前, 对于有溃疡病史的患者, 建议检测并根除*H pylori*. (6)发生急性出血性溃疡的患者, 应该根据个体情况、心血管危险和胃肠道出血的危险, 辨别可能发生的血栓和出血, 来决定是否停用阿司匹林. 尚没有证据显示活动性溃疡的患者服用其他抗血小板药物(如氯吡格雷), 能够降低出血的危险. (7)服用双重抗血小板治疗的高危心血管疾病患者可以进行内镜检查, 心脏科和胃肠科应该合作, 以决定何时停用抗血小板治疗.

《重视抗血小板药物消化系并发症的防治中国专家共识讨论会》指出, 氯吡格雷等抗血小板药物相关的胃肠道风险事先预防, 优于事后补救. 有以下几点值得强调[22]: (1)即使小剂量阿司匹林也可增加消化系并发症, 但阿司匹林是冠心病长期治疗的基石, 广泛用于一级和二级预防, 益处远超过风险, 致死性并发症发生率很低. 对于有适应证的患者, 应坚持长期抗血小板治疗, 同时采取适当措施避免胃肠道并发症. (2)阿司匹林肠溶片和泡腾片等剂型, 并不能降低消化性溃疡及出血危险, 为减少消化系并发症, 推荐阿司匹林75-100 mg/d为最佳风险效益比剂量. (3)对长期抗血小板治疗的患者应监测胃肠道并发症, 定期行便潜血检查. (4)消化性溃疡及出血的危险因素包括: 老年, 溃疡或消化系出血史, 联合使用NSAIDs、类固醇或其他抗血小板药物及*H pylori*感染. 对于有*H pylori*感染者, 应予以根除治疗. (5)对溃疡出血复发危险较高的患者, 不建议用氯吡格雷替代阿司匹林, 推荐采用阿司匹林联合PPI预防治疗, 以减少溃疡及出血复发.

3.3 氯吡格雷相关的胃肠道损害的防治策略 对需要服用氯吡格雷等抗血小板药物的患者, 应首先评估胃肠道损害风险. 抗血小板药物的消化系并发症除与药物作用机制有关外, 多数还与患者所存在的消化性溃疡高危因素有关. Ng *et al*[23]的历史性队列研究表明, 如既往有消化性溃疡并出血的患者比无此病者口服氯吡格雷再出血的危险性更大. 此外老年、联合使用NSAIDs、类固醇或其他抗血小板药物以及*H pylori*感染亦是消化性溃疡及出血的危险因素. 对于有*H pylori*感染者, 应予以根除治疗. 对于要接受血管介入支架治疗的出血高风险患者, 最好选择裸金属支架, 因使用这类支架的患者可接受较短期(至少1 mo)的双重抗血小板治疗, 进而避免和减少胃肠道出血. 北美、欧洲和澳大利亚的一项最新的联合研究入组15 595例患有心血管疾病或存在多重危险因素的门诊患者, 给予阿司匹林75-81 mg/d(低剂量组, n = 7180)、100 mg/d(中剂量组, n = 4961)或150-162 mg/d(高剂量组, n = 3454). 各组均有部分患者同时使用氯吡格雷75 mg/d. 结果显示, 在需要同时使用阿司匹林和氯吡格雷治疗的心血管疾病患者中, 阿司匹林用量75-81 mg/d可能是疗效与安全性的较好平衡点[24]. 晚近的诸多研究均显示, PPI因可以通过CYP2C19途径代谢从而竞争性抑制CYP2C19活性, 故与氯吡格雷合用可降低后者的抗血小板作用, 有可能增加ACS患者死亡和再住院风险[17-21]. 但Juurlink *et al*[18]的研究认为泮托拉唑与心肌梗死再发入院无必然联系(校正危险比为1.02, 95%CI 0.70-1.47), 其认为泮托拉唑不抑制CYP2C19活性, 但与泮托拉唑药理机制不符. 氯吡格雷与PPI的相互作用有待进一步研究. 除非患者有明确的近期消化性溃疡和出血病史, 否则不应常规联用PPI. 米索前列醇是被FDA批准用于预防NSAIDs并发症的药物, 但其不良反应较多, 在欧洲使用率低于5%, 其用于防治氯吡格雷相关的胃肠道损害报道不多. 此外可选用H_2受体阻滞剂(H_2RA), 但其疗效较差. Hudson *et al*[25]研究指出, 硫糖铝对阿司匹林等所致急性胃黏膜损伤没有潜在的抗溃疡作用, 但是可以减少非甾体类抗炎药引起的胃内出血. Lü *et al*[26]研究认为替普瑞酮能显著加速胃溃疡白色疤痕期的形成, 提高溃疡的愈合率, 这可能与替普瑞酮明显增加氨基己糖含量有关, 临床上可用于治疗NSAIDs诱发的胃黏膜损害. Dollinger *et al*[27]的一项多中心、随机、双盲、安慰剂对照研究证实达喜治疗NSAIDs胃黏膜损伤有效率约

90%. 瑞巴匹特作为新型抗溃疡药物, 对NSAIDs服用者的胃黏膜有良好的保护作用[28]. 以上药物用于防治氯吡格雷相关的胃肠道损害有待循证医学的进一步证实. 此外, 抗血小板治疗出现上消化道出血以后, 停用抗血小板药物予以内镜止血并使用PPI后何时重新恢复抗血栓治疗尚未达成一致意见. 国内多主张1 wk内. 香港中文大学医学院Sung *et al*的一个尚未发表的双盲随机对照试验将抗血小板治疗出现上消化道出血的患者内镜止血后分为潘托洛克+阿司匹林组和潘托洛克+安慰剂对照组, 结果显示30 d后对照组死亡率增高($P = 0.038$), 研究建议使用PPI的同时应尽快恢复阿司匹林抗血小板治疗, 尽管增加患者再出血率, 但可减少心血管事件的死亡率. 最近, Eisenberg *et al*[29]的一项研究指出在置入药物洗脱支架并接受双重抗血小板治疗的患者, 在接受外科手术时常要中断抗血小板治疗, 如果患者同时停用2种抗血小板药物, 则发生事件的中位数时间为7 d; 如果患者事先停用噻吩吡啶后无不良反应, 之后又停用阿司匹林, 那么从停用阿司匹林至发生事件的中位时间亦为7 d; 如果停用噻吩吡啶而继续服用阿司匹林, 则发生事件的中位时间为122 d. 研究认为在置入药物洗脱支架的患者中, 如能持续阿司匹林治疗, 短期停用噻吩吡啶相对安全.

4 结论

抗血小板药物在预防血栓栓塞性疾病中的广泛应用, 引起了包括心血管内科和消化内科在内的多学科临床医师对氯吡格雷相关的胃肠道损害的关注. 随着氯吡格雷胃肠道并发症发生机制研究的深入, 抗血小板治疗的胃肠道风险将会得到进一步控制.

5 参考文献

1 Cavusoglu E, Cheng J, Bhatt R, Kunamneni PB, Marmur JD, Eng C. Clopidogrel in the management of ischemic heart disease. *Heart Dis* 2003; 5: 144-152

2 Vane JR, Botting RM. The mechanism of action of aspirin. *Thromb Res* 2003; 110: 255-258

3 Mega JL, Close SL, Wiviott SD, Shen L, Hockett RD, Brandt JT, Walker JR, Antman EM, Macias W, Braunwald E, Sabatine MS. Cytochrome p-450 polymorphisms and response to clopidogrel. *N Engl J Med* 2009; 360: 354-362

4 Simon T, Verstuyft C, Mary-Krause M, Quteineh L, Drouet E, Méneveau N, Steg PG, Ferrières J, Danchin N, Becquemont L. Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events. *N Engl J Med* 2009; 360: 363-375

5 Collet JP, Hulot JS, Pena A, Villard E, Esteve JB, Silvain J, Payot L, Brugier D, Cayla G, Beygui F, Bensimon G, Funck-Brentano C, Montalescot G. Cytochrome P450 2C19 polymorphism in young patients treated with clopidogrel after myocardial infarction: a cohort study. *Lancet* 2009; 373: 309-317

6 A randomised, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). CAPRIE Steering Committee. *Lancet* 1996; 348: 1329-1339

7 De Backer G, Ambrosioni E, Borch-Johnsen K, Brotons C, Cifkova R, Dallongeville J, Ebrahim S, Faergeman O, Graham I, Mancia G, Manger Cats V, Orth-Gomér K, Perk J, Pyorälä K, Rodicio JL, Sans S, Sansoy V, Sechtem U, Silber S, Thomsene T, Wood D. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. Third Joint Task Force Of European and other societies on cardiovascular disease prevention in clinical practice (constituted by representatives of eight societies and by invited experts). *Arch Mal Coeur Vaiss* 2004; 97: 1019-1030

8 李小鹰. 阿司匹林在动脉硬化性心血管疾病中的临床应用: 中国专家共识(2005). 中华心血管病杂志 2006; 34: 281-284

9 Patel PD, Arora RR. Practical Implications of ACC/AHA 2007 Guidelines for the Management of Unstable Angina/Non-ST Elevation Myocardial Infarction. *Am J Ther* 2009 May 19. *[Epub ahead of print]*

10 Lanas A, García-Rodríguez LA, Arroyo MT, Gomollón F, Feu F, González-Pérez A, Zapata E, Bástida G, Rodrigo L, Santolaria S, Güell M, de Argila CM, Quintero E, Borda F, Piqué JM. Risk of upper gastrointestinal ulcer bleeding associated with selective cyclo-oxygenase-2 inhibitors, traditional non-aspirin non-steroidal anti-inflammatory drugs, aspirin and combinations. *Gut* 2006; 55: 1731-1738

11 Chan FK, Ching JY, Hung LC, Wong VW, Leung VK, Kung NN, Hui AJ, Wu JC, Leung WK, Lee VW, Lee KK, Lee YT, Lau JY, To KF, Chan HL, Chung SC, Sung JJ. Clopidogrel versus aspirin and esomeprazole to prevent recurrent ulcer bleeding. *N Engl J Med* 2005; 352: 238-244

12 Ng FH, Wong BC, Wong SY, Chen WH, Chang CM. Clopidogrel plus omeprazole compared with aspirin plus omeprazole for aspirin-induced symptomatic peptic ulcers/erosions with low to moderate bleeding/re-bleeding risk -- a single-blind, randomized controlled study. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 19: 359-365

13 Yusuf S, Zhao F, Mehta SR, Chrolavicius S, Tognoni G, Fox KK. Effects of clopidogrel in addition to aspirin in patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation. *N Engl J Med* 2001; 345: 494-502

14 Diener HC, Bogousslavsky J, Brass LM, Cimminiello C, Csiba L, Kaste M, Leys D, Matias-Guiu J, Rupprecht HJ. Aspirin and clopidogrel compared with clopidogrel alone after recent ischaemic stroke or transient ischaemic attack in high-risk patients (MATCH): randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2004; 364: 331-337

15 Bhatt DL, Topol EJ. Clopidogrel added to aspirin versus aspirin alone in secondary prevention and high-risk primary prevention: rationale and design of the Clopidogrel for High Atherothrombotic Risk and Ischemic Stabilization, Management, and

■同行评价

本文内容丰富, 论述有深度, 对心血管和消化科医生有很大的参考价值.

Avoidance (CHARISMA) trial. *Am Heart J* 2004; 148: 263-268
16 Bhatt DL, Scheiman J, Abraham NS, Antman EM, Chan FK, Furberg CD, Johnson DA, Mahaffey KW, Quigley EM, Harrington RA, Bates ER, Bridges CR, Eisenberg MJ, Ferrari VA, Hlatky MA, Kaul S, Lindner JR, Moliterno DJ, Mukherjee D, Schofield RS, Rosenson RS, Stein JH, Weitz HH, Wesley DJ. ACCF/ACG/AHA 2008 expert consensus document on reducing the gastrointestinal risks of antiplatelet therapy and NSAID use: a report of the American College of Cardiology Foundation Task Force on Clinical Expert Consensus Documents. *J Am Coll Cardiol* 2008; 52: 1502-1517
17 Ho PM, Maddox TM, Wang L, Fihn SD, Jesse RL, Peterson ED, Rumsfeld JS. Risk of adverse outcomes associated with concomitant use of clopidogrel and proton pump inhibitors following acute coronary syndrome. *JAMA* 2009; 301: 937-944
18 Juurlink DN, Gomes T, Ko DT, Szmitko PE, Austin PC, Tu JV, Henry DA, Kopp A, Mamdani MM. A population-based study of the drug interaction between proton pump inhibitors and clopidogrel. *CMAJ* 2009; 180: 713-718
19 Gilard M, Arnaud B, Le Gal G, Abgrall JF, Boschat J. Influence of omeprazol on the antiplatelet action of clopidogrel associated to aspirin. *J Thromb Haemost* 2006; 4: 2508-2509
20 Fontana P, Senouf D, Mach F. Biological effect of increased maintenance dose of clopidogrel in cardiovascular outpatients and influence of the cytochrome P450 2C19*2 allele on clopidogrel responsiveness. *Thromb Res* 2008; 121: 463-468
21 Small DS, Farid NA, Payne CD, Weerakkody GJ, Li YG, Brandt JT, Salazar DE, Winters KJ. Effects of the proton pump inhibitor lansoprazole on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of prasugrel and clopidogrel. *J Clin Pharmacol* 2008; 48: 475-484
22 彭强, 苏海. 使用氯吡格雷能“高枕无忧”吗. 中国医学论坛报 2009; 35: C06
23 Ng FH, Wong SY, Chang CM, Chen WH, Kng C, Lanas AI, Wong BC. High incidence of clopidogrel-associated gastrointestinal bleeding in patients with previous peptic ulcer disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 18: 443-449
24 Steinhubl SR, Bhatt DL, Brennan DM, Montalescot G, Hankey GJ, Eikelboom JW, Berger PB, Topol EJ. Aspirin to prevent cardiovascular disease: the association of aspirin dose and clopidogrel with thrombosis and bleeding. *Ann Intern Med* 2009; 150: 379-386
25 Hudson N, Murray FE, Cole AT, Filipowicz B, Hawkey CJ. Effect of sucralfate on aspirin induced mucosal injury and impaired haemostasis in humans. *Gut* 1997; 41: 19-23
26 Lü B, Zhang L, Fan YH, Meng LN, Zhang S. [Protection of gastric mucosa against steroids-induced damage by teprenone] *Zhonghua Yixue Zazhi* 2005; 85: 2749-2753
27 Dollinger HC, Liszkay M. Use of the antacid hydrotalcite to treat gastroduodenal lesions induced by non-steroidal anti-inflammatory drugs: A multicentre, double-blind, placebo-controlled study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1993; 5 (Suppl 3): 133-137
28 Ito M, Tanaka S, Kim S, Kuwai T, Matsutani N, Kamada T, Kitadai Y, Sumii M, Yoshihara M, Haruma K, Chayama K. The specific expression of hypoxia inducible factor-1alpha in human gastric mucosa induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 18 Suppl 1: 90-98
29 Eisenberg MJ, Richard PR, Libersan D, Filion KB. Safety of short-term discontinuation of antiplatelet therapy in patients with drug-eluting stents. *Circulation* 2009; 119: 1634-1642

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009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. (常务副总编辑: 张海宁 2009-06-28)

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年6月28日; 17(18): 1855-1859
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

文献综述 REVIEW

RegⅣ与消化系肿瘤研究进展

高雅玲, 任建林

高雅玲, 任建林, 福建医科大学教学医院(厦门大学附属中山医院消化内科) 福建省厦门市 361004
作者贡献分布: 文献收集与综述写作由高雅玲完成; 由任建林审校.
通讯作者: 任建林, 主任医师, 教授, 361004, 福建省厦门市, 福建医科大学教学医院(厦门大学附属中山医院消化内科).
jianlinr@msn.com
电话: 0592-2993170 传真: 0592-2993170
收稿日期: 2009-04-07 修回日期: 2009-05-14
接受日期: 2009-05-18 在线出版日期: 2009-06-28

Advances in RegIV and alimentary system neoplasms

Ya-Ling Gao, Jian-Lin Ren

Ya-Ling Gao, Jian-Lin Ren, Teaching Hospital of Fujian Medical University (Department of Gastroenterology, Zhongshan Hospital of Xiamen University), Xiamen 361004, Fujian Province, China
Correspondence to: Professor Jian-Lin Ren, Teaching Hospital of Fujian Medical University (Department of Gastroenterology, Zhongshan Hospital of Xiamen University), Xiamen 361004, Fujian Province, China. jianlinr@msn.com
Received: 2009-04-07 Revised: 2009-05-12
Accepted: 2009-05-18 Published online: 2009-06-28

Abstract
RegIV, a novel member of regenerating gene family, is located at 1p12-13.1, encoding a 17-kDa secreted protein, which is constitutively expressed in the epithelium of normal pancreas and gastrointestinal tract, whereas the expression is up-regulated in inflammatory or neoplastic tissues. RegIV is involved in the carcinogenesis, progression, metastasis and drug resistance of alimentary system neoplasms, and is thought to be useful to make a forecast of the prognosis. It may serve as a new important target for the prevention, diagnosis and treatment of gastrointestinal neoplasms.

Key Words: Regenerating islet-derived family, member 4; Alimentary system neoplasms; Regenerating gene

Gao YL, Ren JL. Advances in RegIV and alimentary system neoplasms. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(18): 1855-1859

摘要
再生基因4(regenerating islet-derived family, member 4, RegⅣ)是再生基因家族的新成员, 定位于1p12-13.1, 编码为17 kDa的分泌性蛋白. RegⅣ选择性表达于正常胰腺和胃肠道上皮, 炎症或肿瘤时可见原位或异位高表达. RegⅣ与消化系肿瘤的发生、发展、转移、抗药性及预后密切相关, 其可能成为预防、诊断和治疗整个消化系肿瘤的新的重要靶分子.

关键词: 再生基因4; 消化系肿瘤; 再生基因

高雅玲, 任建林. RegⅣ与消化系肿瘤研究进展. 世界华人消化杂志 2009; 17(18): 1855-1859
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1855.asp

■背景资料
再生基因家族包含多个成员, 在糖尿病、炎症损伤及癌瘤发生中起重要作用; 尤其是RegⅣ在消化系肿瘤中的作用越来越受到人们的关注.

0 引言
再生基因(regenerating gene, Reg)家族是一群主要在肝、胰和胃肠道发挥作用的小分子、多功能的分泌性蛋白, 与组织损伤、炎症、糖尿病和肿瘤的发生密切相关. 2001年Hartupee *et al*从炎症性肠病库中筛选出再生基因4(regenerating islet-derived family, member 4, RegⅣ). 其定位于1p12-13.1, RegⅣ蛋白由158个氨基酸组成. RegⅣ选择性表达于正常胰腺和胃肠道上皮, 炎症或肿瘤时其表达明显增加, 提示RegⅣ与消化系统肿瘤的发生、发展可能关系密切. 本文将对RegⅣ的结构、分布, 与消化系统肿瘤的关系及其可能分子机制的研究进展作一综述.

1 Reg家族概述
Reg家族属于钙依赖性凝集素超家族(calcium-dependent lectin superfamily), 其代表一组小分子、多功能的分泌性蛋白, 这些蛋白质拥有部分共同结构和某些功能特性. 他们行使急性期类似反应物、凝集素、胰腺β细胞和神经细胞的抗凋亡因子或生长因子的作用[1], 在肝、胰、胃和肠道上皮增生或分化中起重要作用, 主要参与组织损伤、炎症、糖尿病和肿瘤的发生[2]. 根据Reg基因编码蛋白的一级结构, Reg家族可分为4个亚型(Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ). 在人类至今发现3个亚型(RegⅠ, RegⅢ, RegⅣ). 所有已知的

■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

■研发前沿
RegⅣ参与胰腺、胃肠道上皮细胞的增殖、分化, 与消化系统肿瘤的发生、发展、浸润、转移、化疗耐药性及预后密切相关, 但其确切作用机制未明, 还需要更多深入的研究.

Reg成员具有相似的基因结构, 编码158-175个氨基酸大小不等的分泌蛋白. Reg家族主要在近端胃肠道呈低水平表达, 但组织损伤时可见原位或异位高表达. 这一家族行使多种生物学功能: RegⅠ能促进胰腺再生, 促进胰腺导管和β细胞有丝分裂, 因而有助于改善糖尿病的疾病状态; 促进胃黏膜和小肠绒毛的增殖和再生、分化[3-4], 并可能与食管癌、胃癌、结肠癌有关. RegⅢ在正常小肠、升结肠、胰腺中表达, 在神经细胞和消化系上皮细胞的再生过程中起作用[5].

2 RegⅣ的结构与分布

2.1 结构 RegⅣ由Hartupee *et al*[6]于2001年在对炎症性肠病库的高流通量序列分析时筛选并鉴定出. 基于基本序列同源性、组织表达模式和外显子-内含子接合基因组结构的相似性, 认定其属于Reg家族. Kämäräinen *et al*[7]在已表达序列标志(EST)数据库中发现RegⅣ, 又称之为再生蛋白样蛋白(reg-like protein, RELP)或胃肠分泌蛋白(gastrointestinal secreted protein, GISP). RegⅣ基因由17 496个碱基对构成, 包含6个外显子和5个内含子. 翻译出的前蛋白产物有158个氨基酸, 包含22个氨基酸的信号肽和一保守的钙依赖性糖识别域(calcium-dependent carbohydrate-recognition domain, CRD), 成熟的分泌性蛋白相对分子质量约17 kDa, 与其他Reg蛋白有43%-47%的同源性. 与其他人类Reg基因不同, 他不在2号染色体, 而是定位于1p12-13.1.

2.2 分布 RegⅣ蛋白选择性表达于小肠上皮神经内分泌细胞和胃黏膜的壁细胞中[7]. 胃小凹上皮细胞为RegⅣ阴性, 而小肠化生的杯状细胞和肠化生基底部的神经内分泌细胞为RegⅣ阳性[8]. 免疫荧光染色显示RegⅣ与嗜铬粒蛋白A共存于十二指肠上皮的神经内分泌细胞中[9]. 在正常小肠、结肠组织, 神经内分泌细胞呈RegⅣ强阳性表达, 而杯状细胞呈弱阳性表达或无表达. 胰腺β细胞RegⅣ表达阳性[10]. 溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD)炎性黏膜的上皮细胞中(分别为腺管上皮和杯状上皮细胞), 胃溃疡的再生上皮边缘和胃窦、食管的化生上皮中RegⅣ的表达增加[7]. 在唾液腺中, RegⅣ表达于涎腺导管上皮和腺泡肌上皮, 但在扁平鳞状上皮无表达[11].

3 RegⅣ与消化系肿瘤

3.1 胃癌

3.1.1 RegⅣ在胃癌中的表达: Oue *et al*[8]发现29.4%的胃癌RegⅣ呈阳性表达, 并与小肠黏蛋白表型和神经内分泌分化有关. RegⅣ的表达与临床特征, 如肿瘤分期、患者预后等未显示明显相关性. 定量RT-PCR分析显示RegⅣ在30.4%的胃癌中呈高水平表达, 而在正常胃、十二指肠、回肠、结肠、胰腺都呈低水平表达[10]. Sentani *et al*[12]对多种组织印戒细胞癌(signet-ring cell carcinoma, SRCC)进行免疫组织化学分析发现RegⅣ染色有助于胃肠道SRCC的诊断.

3.1.2 RegⅣ的血清学检测与化疗耐药: Mitani *et al*[13]应用ELISA法检测胃癌患者血清RegⅣ水平显示: RegⅣ水平在健康人群和慢性活动性胃炎患者中相似. 而在手术前胃癌患者, 甚至是Ⅰ期胃癌的血清浓度却显著升高. 血清RegⅣ的诊断灵敏度(36.1%)高于血清CEA(11.5%)或CA19-9(13.1%). 在36例以低剂量5-FU和顺铂联合化疗的胃癌患者中, 14例RegⅣ阳性表达的患者均未显效或出现疾病进展; 强表达的RegⅣ抑制了5-FU诱导的细胞凋亡, Bcl-2和二氢嘧啶脱氢酶参与了此抑制作用.

3.1.3 RegⅣ与胃癌细胞的生长和腹膜播散: 刘兵 *et al*[14]应用siRNA沉默胃癌细胞中RegⅣ的表达, 发现细胞增殖率受到明显抑制(P = 0.0057), 凋亡率明显增加(P = 0.0231). Miyagawa *et al*[15]通过定量RT-PCR发现RegⅣ在发生腹膜播散的胃癌细胞系中过表达. RegⅣ mRNA在手术切除标本的表达水平比配对正常黏膜表达量高20倍. 发生腹膜播散的胃癌患者腹膜冲洗液中RegⅣ mRNA表达水平显著高于无腹膜播散患者[16]. 且RegⅣ丰度与腹膜壁渗透程度有关, RegⅣ可能参与胃癌腹膜播散, 腹腔灌洗液中RegⅣ是一潜在腹膜播散标志物[15]. RegⅣ的稳定表达显著增加了胃癌动物模型的腹膜转移. 采用多变量分析提示RegⅣ可能是一独立的不良预后预测因子[17]. Kuniyasu *et al*[18]通过过表达和沉默表达RegⅣ的比较分析发现, 过表达RegⅣ导致Bcl-2、Bcl-xL、存活素、磷酸化的AKT和磷酸化的EGFR的水平均升高, 氮氧化物诱导的凋亡减少; 小鼠模型中可见腹膜肿瘤的数目增加.

3.2 结直肠癌

3.2.1 RegⅣ与畸变隐窝病灶: 畸变隐窝病灶(aberrant crypt foci, ACF)是最早可识别的肿瘤发生前结肠病变, 正常结肠黏膜向ACF转变的特性了解将有助于我们解析结肠癌发生机制. Glebov *et al*[19]对ACF病变组织及相应正常黏膜进行对比提示RegⅣ是差异表达的基因之一(P<0.001).

实时RT-PCR检测显示RegⅣ在ACF中过表达, 至少比配对的正常黏膜高2倍. 且ACF基因表达模式在升、降结肠中趋于相似, 失去了原有正常黏膜的基因表达特性.

3.2.2 RegⅣ在结直肠腺瘤中的表达: Zhang *et al*[20]基于抑制差减杂交法(suppression subtractive hybridization, SSH), 确定了RegⅣ是一相对于正常黏膜在结直肠腺瘤中高表达的强候选基因. RegⅣ可能在结直肠腺瘤的分化起始中扮演重要角色, 而他的检测可能在结直肠腺瘤的形成中起到早期诊断的作用. 国内学者发现RegⅣ mRNA水平在结直肠腺瘤中高表达; 经原位杂交方法分析, RegⅣ mRNA水平与结直肠腺瘤的发育不良严重程度相关, 提示RegⅣ的过表达可能是结直肠癌发生的早期事件, RegⅣ过表达的检测可能有益于腺瘤向癌转变的早期诊断[21-23].

Dieckgraefe *et al*以APC基因的一个无意突变小鼠做原始模型研究RegⅣ在结肠癌发生中的作用机制时发现: RegⅣ的表达增加发生在APC二次突变之前, 而腺瘤发生于二次突变之后. 提示Reg Ⅳ在结肠癌前病变区、腺瘤的发展和扩展过程中有重要作用, RegⅣ可能是对癌前病变的一个促进作用[24]. 因此, RegⅣ可能就是人们一直追寻的生物学标志物: 可以判断结肠黏膜是否有转变为腺瘤或腺癌的危险.

3.2.3 RegⅣ与结直肠癌分期、转移及化疗耐药: Oue *et al*[10]发现虽然RegⅣ在结直肠癌(colorectal cancer, CRC)的表达比正常结肠组织高. 36.1%(13/36)结肠直肠腺癌是RegⅣ阳性, 并与肿瘤分期有关. 93.3%(14/15)结肠直肠类癌瘤检测到RegⅣ表达[8]. Yeh *et al*应用RT-QPCR和膜芯片技术研究CRC患者外周血中RegⅣ等6种mRNA标志物的表达, 发现RegⅣ mRNA过表达率为80.0%(64/80), RegⅣ mRNA的过表达与CRC的TNM分期及淋巴结转移密切相关[25]. CRC伴肝转移的RegⅣ表达阳性率明显高于无转移病例(P = 0.0102). RegⅣ阳性表达的CRC比阴性表达的存活率低(P = 0.0117)[26]. ELISA法检测CRC患者术前血清RegⅣ水平显示Ⅳ期CRC伴肝转移患者较0-Ⅲ期患者明显升高. 说明RegⅣ是预后不良的预测因子, 血清RegⅣ浓度可能预测CRC并发肝转移. Violette *et al*[9]应用差异展示PCR法分析发现RegⅣ在CRC耐药细胞中高表达, 在敏感细胞系则是低表达, 提示RegⅣ在CRC中的潜在作用, 而且可能是影响肿瘤患者存活率的预后指标并与肿瘤的耐药性有关.

3.3 胰腺癌 胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)在常见的恶性肿瘤中显示最高的死亡率, 5年生存率只有4%, 而大多数的PDAC患者都是在进展期才被诊断, 此时已经错失了有效的治疗时机. Takehara *et al*[27]报道RegⅣ在PDAC细胞中过表达. RegⅣ蛋白呈时间剂量依赖性促进PDAC细胞的生长, 通过RNA干扰技术可阻断RegⅣ的促生长效应, 同时外源性RegⅣ蛋白促进PK-45P细胞的Akt的磷酸化, 提示RegⅣ的促生长效应可能通过PKB/Akt信号通路来介导, 以抗体中和RegⅣ效应可能是一潜在的治疗PDAC的工具. 早期PDAC患者血清中呈现RegⅣ水平的显著提高, 血清RegⅣ可能是检测早期PDAC的肿瘤标志物. 然而, RegⅣ在CRC[9], GC[10], 炎症性肠病[7], 阑尾黏液囊腺瘤和腹膜假性黏液瘤(pseudomyxoma peritonei, PMP)[28], 前列腺癌[29-30]和唾液腺囊性腺样癌[11]中高表达, 所以血清中RegⅣ水平的升高在诊断中的灵敏度和特异度还要大量基础研究的证实.

Nakata *et al*[31]采用免疫组织化学染色和显微解剖定量RT-PCR检测胰导管内乳头状黏液瘤(intraductal papillary mucinous neoplasms, IPMNs)和IPMN来源的侵袭性导管腺癌中RegⅣ的表达情况, 结果显示34%(43/125)IPMNs是RegⅣ阳性. RegⅣ mRNA水平在肠型IPMNs比在胃型IPMNs和正常胰导管上皮的表达水平都高(P = 0.005, P = 0.004). 相对于腺瘤(8/52), RegⅣ更倾向于在边缘病变(14/28)和癌(21/45)中表达, 且与边缘病变的增殖活性密切相关, 进而推测RegⅣ参与IPMNs的“肠”途径的癌发生机制.

4 RegⅣ在胃肠道肿瘤发生中介导的信号通路

Bishnupuri *et al*[32]在结肠腺癌细胞系HCT116和HT29的培养基中加入纯化的重组人类RegⅣ基因(rhR4), 观察到剂量依赖性的细胞数目的增加, 与EGF的效应相同. 并观察到EGFR Tyr992、Tyr1068以及Akt Thr308、Ser473的快速磷酸化. 采用荧光素酶报告基因测定发现RegⅣ通过EGFR和Akt信号通路, 引起活化剂蛋白-1(activator protein-1, AP-1)转录因子活性的增加. AP-1是由c-Jun和c-Fos蛋白组成的二聚体, 在许多基因的转录活化中起重要作用, 许多癌基因通过AP-1介导产生致癌作用. 同时发现c-Jun、JunB、JunD、FosB的表达数量协同AP-1活性的增加而增加, AP-1与经rhR4处理过的细胞的

■创新盘点

本文比较系统地阐述了RegⅣ与消化系统肿瘤关系的研究现状及进展, 希望能为探索RegⅣ在消化系肿瘤中的发生、发展机制及指导临床应用提供参考.

■应用要点
RegⅣ可能是一潜在的肿瘤标志物，并且可能成为消化系统肿瘤基因靶向治疗的分子靶点.

结合活性的显著增加以及JunB、JunD、FosB抗体超滞留的增加. 而且, rhR4处理后导致Bcl-2、Bcl-xL、存活素和基质溶解因子表达量的增加, 而这些基因与进展期CRC的不良预后密切相关. 总之, 在CRC中, RegⅣ可能通过提高Bcl-2、Bcl-xL、存活素的水平激活EGFR/Akt/AP-1信号通路而提高癌细胞的存活率. 因此, 阻断RegⅣ信号通路可能是人类胃肠道腺癌有效的治疗干预措施.

5 结论

RegⅣ是选择性表达于胰腺和胃肠道上皮的小分子分泌性蛋白, 参与消化系统上皮细胞的增殖、再生和炎性、化生反应, 并与消化系统肿瘤的发生、发展密切相关. 但其在消化系统肿瘤发生、发展中的确切作用机制未明, 要进一步明确从而更好地指导临床应用, 仍需更深入的研究.

6 参考文献

1 Broekaert D, Eyckerman S, Lavens D, Verhee A, Waelput W, Vandekerckhove J, Tavernier J. Comparison of leptin- and interleukin-6-regulated expression of the rPAP gene family: evidence for differential co-regulatory signals. *Eur Cytokine Netw* 2002; 13: 78-85

2 Zhang YW, Ding LS, Lai MD. Reg gene family and human diseases. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2635-2641

3 Bluth MH, Patel SA, Dieckgraefe BK, Okamoto H, Zenilman ME. Pancreatic regenerating protein (reg I) and reg I receptor mRNA are upregulated in rat pancreas after induction of acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 4511-4516

4 Ose T, Kadowaki Y, Fukuhara H, Kazumori H, Ishihara S, Udagawa J, Otani H, Takasawa S, Okamoto H, Kinoshita Y. Reg I-knockout mice reveal its role in regulation of cell growth that is required in generation and maintenance of the villous structure of small intestine. *Oncogene* 2007; 26: 349-359

5 Hervieu V, Christa L, Gouysse G, Bouvier R, Chayvialle JA, Bréchot C, Scoazec JY. HIP/PAP, a member of the reg family, is expressed in glucagon-producing enteropancreatic endocrine cells and tumors. *Hum Pathol* 2006; 37: 1066-1075

6 Hartupee JC, Zhang H, Bonaldo MF, Soares MB, Dieckgraefe BK. Isolation and characterization of a cDNA encoding a novel member of the human regenerating protein family: Reg IV. *Biochim Biophys Acta* 2001; 1518: 287-293

7 Kämäräinen M, Heiskala K, Knuutila S, Heiskala M, Winqvist O, Andersson LC. RELP, a novel human REG-like protein with up-regulated expression in inflammatory and metaplastic gastrointestinal mucosa. *Am J Pathol* 2003; 163: 11-20

8 Oue N, Mitani Y, Aung PP, Sakakura C, Takeshima Y, Kaneko M, Noguchi T, Nakayama H, Yasui W. Expression and localization of Reg IV in human neoplastic and non-neoplastic tissues: Reg IV expression is associated with intestinal and neuroendocrine differentiation in gastric adenocarcinoma. *J Pathol* 2005; 207: 185-198

9 Violette S, Festor E, Pandrea-Vasile I, Mitchell V, Adida C, Dussaulx E, Lacorte JM, Chambaz J, Lacasa M, Lesuffleur T. Reg IV, a new member of the regenerating gene family, is overexpressed in colorectal carcinomas. *Int J Cancer* 2003; 103: 185-193

10 Oue N, Hamai Y, Mitani Y, Matsumura S, Oshimo Y, Aung PP, Kuraoka K, Nakayama H, Yasui W. Gene expression profile of gastric carcinoma: identification of genes and tags potentially involved in invasion, metastasis, and carcinogenesis by serial analysis of gene expression. *Cancer Res* 2004; 64: 2397-2405

11 Sasahira T, Oue N, Kirita T, Luo Y, Bhawal UK, Fujii K, Yasui W, Kuniyasu H. Reg IV expression is associated with cell growth and prognosis of adenoid cystic carcinoma in the salivary gland. *Histopathology* 2008; 53: 667-675

12 Sentani K, Oue N, Tashiro T, Sakamoto N, Nishisaka T, Fukuhara T, Taniyama K, Matsuura H, Arihiro K, Ochiai A, Yasui W. Immunohistochemical staining of Reg IV and claudin-18 is useful in the diagnosis of gastrointestinal signet ring cell carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2008; 32: 1182-1189

13 Mitani Y, Oue N, Matsumura S, Yoshida K, Noguchi T, Ito M, Tanaka S, Kuniyasu H, Kamata N, Yasui W. Reg IV is a serum biomarker for gastric cancer patients and predicts response to 5-fluorouracil-based chemotherapy. *Oncogene* 2007; 26: 4383-4393

14 刘兵, 项明, 于颖彦, 杨秋蒙, 蔡劬, 陈雪华, 李建芳, 刘炳亚, 朱正纲. 体外RNA干扰抑制RegⅣ基因表达对胃癌细胞增殖及凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2009; 17: 549-553

15 Miyagawa K, Sakakura C, Kin S, Nakase Y, Fukuda K, Hagiwara A, Okazaki Y, Hayashizaki Y, Yamagishi H. [Over expression of Reg IV in peritoneal dissemination of gastric cancer] *Gan To Kagaku Ryoho* 2004; 31: 1909-1911

16 Miyagawa K, Sakakura C, Nakashima S, Yoshikawa T, Kin S, Nakase Y, Fukuda K, Hagiwara A, Okazaki Y, Hayashizaki Y, Yamagishi H. [Analysis of Reg IV expression in peritoneal dissemination of gastric cancer using real-time RT-PCR] *Gan To Kagaku Ryoho* 2005; 32: 1707-1708

17 Miyagawa K, Sakakura C, Nakashima S, Yoshikawa T, Fukuda K, Kin S, Nakase Y, Shimomura K, Oue N, Yasui W, Hayasizaki H, Okazaki Y, Yamagishi H, Hagiwara A, Otsuji E. Overexpression of RegIV in peritoneal dissemination of gastric cancer and its potential as A novel marker for the detection of peritoneal micrometastasis. *Anticancer Res* 2008; 28: 1169-1179

18 Kuniyasu H, Oue N, Sasahira T, Yi L, Moriwaka Y, Shimomoto T, Fujii K, Ohmori H, Yasui W. Reg IV enhances peritoneal metastasis in gastric carcinomas. *Cell Prolif* 2009; 42: 110-121

19 Glebov OK, Rodriguez LM, Soballe P, DeNobile J, Cliatt J, Nakahara K, Kirsch IR. Gene expression patterns distinguish colonoscopically isolated human aberrant crypt foci from normal colonic mucosa. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006; 15: 2253-2262

20 Zhang Y, Lai M, Gu X, Luo M, Shao L. Reg IV, a differentially expressed gene in colorectal adenoma.

Chin Med J (Engl) 2003; 116: 918-922
21 Zhang Y, Lai M, Lv B, Gu X, Wang H, Zhu Y, Zhu Y, Shao L, Wang G. Overexpression of Reg IV in colorectal adenoma. *Cancer Lett* 2003; 200: 69-76
22 Lü BJ, Cui J, Xu J, Zhang H, Luo MJ, Zhu YM, Lai MD. [Bioinformatic analysis of adenoma-normal mucosa SSH library of colon] *Yi Chuan* 2006; 28: 385-392
23 Lü B, Xu J, Zhu Y, Zhang H, Lai M. Systemic analysis of the differential gene expression profile in a colonic adenoma-normal SSH library. *Clin Chim Acta* 2007; 378: 42-47
24 Pankova-Kholmyansky I, Arber N. Reg IV can serve for early diagnosis and therapy. *Cancer Biol Ther* 2007; 6: 123-124
25 Yeh CS, Wang JY, Wu CH, Chong IW, Chung FY, Wang YH, Yu YP, Lin SR. Molecular detection of circulating cancer cells in the peripheral blood of patients with colorectal cancer by using membrane array with a multiple mRNA marker panel. *Int J Oncol* 2006; 28: 411-420
26 Oue N, Kuniyasu H, Noguchi T, Sentani K, Ito M, Tanaka S, Setoyama T, Sakakura C, Natsugoe S, Yasui W. Serum concentration of Reg IV in patients with colorectal cancer: overexpression and high serum levels of Reg IV are associated with liver metastasis. *Oncology* 2007; 72: 371-380
27 Takehara A, Eguchi H, Ohigashi H, Ishikawa O, Kasugai T, Hosokawa M, Katagiri T, Nakamura Y, Nakagawa H. Novel tumor marker REG4 detected in serum of patients with resectable pancreatic cancer and feasibility for antibody therapy targeting REG4. *Cancer Sci* 2006; 97: 1191-1197
28 Heiskala K, Giles-Komar J, Heiskala M, Andersson LC. High expression of RELP (Reg IV) in neoplastic goblet cells of appendiceal mucinous cystadenoma and pseudomyxoma peritonei. *Virchows Arch* 2006; 448: 295-300
29 Ohara S, Oue N, Matsubara A, Mita K, Hasegawa Y, Hayashi T, Usui T, Amatya VJ, Takeshima Y, Kuniyasu H, Yasui W. Reg IV is an independent prognostic factor for relapse in patients with clinically localized prostate cancer. *Cancer Sci* 2008; 99: 1570-1577
30 Hayashi T, Matsubara A, Ohara S, Mita K, Hasegawa Y, Usui T, Arihiro K, Norimura S, Sentani K, Oue N, Yasui W. Immunohistochemical analysis of Reg IV in urogenital organs: Frequent expression of Reg IV in prostate cancer and potential utility as serum tumor marker. *Oncol Rep* 2009; 21: 95-100
31 Nakata K, Nagai E, Ohuchida K, Aishima S, Hayashi A, Miyasaka Y, Yu J, Mizumoto K, Tanaka M, Tsuneyoshi M. REG4 is associated with carcinogenesis in the 'intestinal' pathway of intraductal papillary mucinous neoplasms. *Mod Pathol* 2009; 22: 460-468
32 Bishnupuri KS, Luo Q, Murmu N, Houchen CW, Anant S, Dieckgraefe BK. Reg IV activates the epidermal growth factor receptor/Akt/AP-1 signaling pathway in colon adenocarcinomas. *Gastroenterology* 2006; 130: 137-149

■同行评价
本文选题较新，参考文献引用合理，具有重要的理论指导意义.

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

汤姆森－路透公布 2008 年 *WJG* 影响因子 2.081

本刊讯 据汤姆森-路透科技信息集团2009-06-19发布《期刊引证报告》(*Journal Citation Reports*)的统计结果: *World Journal of Gastroenterology*(*WJG*)的总被引次数(TC): 10 822; 影响因子(IF): 2.081; 即年指数: 0.274; 论文数量: 1112; 半衰期: 3.1; 特征因子(EF): 0.05006. 特征因子这个指标是今年期刊引证报告里新加的一个指标. 与影响因子不同的是, 这个指标不仅考察了引文的数量, 而且考虑了施引期刊的影响力, 即: 某期刊如果越多地被高影响力的期刊引用, 则该期刊的影响力也越高. 正如Google考虑超链接的来源, 特征因子也充分考虑引文的来源, 并在计算中赋予不同施引期刊的引文以不同的权重. 特征因子分值的计算基于过去5年中期刊发表的论文在期刊引证报告统计当年的被引用情况. 与影响因子比较, 期刊特征因子分值的优点主要有: (1)特征因子考虑了期刊论文发表后5年的引用时段, 而影响因子只统计了2年的引文时段, 后者不能客观地反映期刊论文的引用高峰年份; (2)特征因子对期刊引证的统计包括自然科学和社会科学, 更为全面、完整; (3)特征因子的计算扣除了期刊的自引; (4)特征因子的计算基于随机的引文链接, 通过特征因子分值可以较为合理地测度科研人员用于阅读不同期刊的时间. 在55种国际胃肠病学和肝病学期刊中, *WJG*的EF, TC和IF分别名列第6, 9, 32位. (*WJG*编辑部主任: 程剑侠 2009-06-20)

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年6月28日; 17(18): 1860-1863
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

研究快报 RAPID COMMUNICATION

NHE-1与肝星状细胞增殖的关系及姜黄素对其的影响

胡泰洪, 黄利华, 杨 玲, 朱清静, 朱 锐, 蒋跃明

■背景资料
国外有报道, NHE-1介导细胞因子及氧应激激活HSCs, 激活NHE能促进细胞的增殖与分化, 反之抑制NHE则抑制细胞的增殖与分化, 并可诱导细胞的凋亡. HSCs的激活最终造成ECM在肝内过量积聚, 是肝纤维化发生的中心环节. NHE可能成为抗肝纤维化的重要靶点. 姜黄素对四氯化碳、D-氨基半乳糖及卡介苗加脂多糖诱导小鼠急性肝损伤有保护作用, 对四氯化碳诱导的大鼠肝纤维化有治疗作用, 可显著抑制HSCs的增殖和分泌ECM, 并诱导其凋亡.

胡泰洪, 黄利华, 蒋跃明, 无锡市传染病医院中西医结合科 江苏省无锡市 214005
杨玲, 朱锐, 华中科技大学同济医学院附属协和医院消化科 湖北省武汉市 430060
朱清静, 武汉市传染病医院中西医结合科 湖北省武汉市 430060
江苏省中医药管理局基金资助项目, No. H05096
作者贡献分布: 胡泰洪与黄利华对本文所作贡献均等; 此课题由胡泰洪与黄利华设计; 研究过程由胡泰洪、朱锐及蒋跃明操作完成; 数据分析由朱清静与杨玲完成; 本文写作由胡泰洪与黄利华完成.
通讯作者: 胡泰洪, 214005, 江苏省无锡市, 无锡市传染病医院中西医结合科. hu-taihong@163.com
收稿日期: 2009-02-03 修回日期: 2009-06-02
接受日期: 2009-06-08 在线出版日期: 2009-06-28

Influence of curcumin on NHE-1 mRNA and hepatic stem cell proliferation and their correlations

Tai-Hong Hu, Li-Hua Huang, Ling Yang, Qing-Jing Zhu, Rui Zhu, Yue-Ming Jiang

Tai-Hong Hu, Li-Hua Huang, Yue-Ming Jiang, Department of Integrated Traditional and Western Medicine on Liver Diseases, Wuxi Hospital for Infectious Diseases, Wuxi 214005, Jiangsu Province, China
Ling Yang, Rui Zhu, Department of Gastroenterology, Affiliated Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China
Qing-Jing Zhu, Department of Integrated Traditional and Western Medicine on Liver Diseases, Wuhan Hospital for Infectious Disease, Wuhan 430060, Hubei Province, China
Supported by: the Administration of Traditional Chinese Medicine Program of Jiangsu Province, No. H05096
Correspondence to: Tai-Hong Hu, Department of Integrated Traditional and Western Medicine on Liver Diseases, Wuxi Hospital for Infectious Diseases, Wuxi 214005, Jiangsu Province, China. hu-taihong@163.com
Received: 2009-02-03 Revised: 2009-06-02
Accepted: 2009-06-08 Published online: 2009-06-28

Abstract

AIM: To study the relationship between the mRNA of NHE-1 and the proliferation of hepatic stellate cells (HSCs) and the influence of curcumin on them.

METHODS: Hepatic stellate cell lines (HSC-T6) were incubated with different concentrations (1, 10, 20 μmol/L) of curcumin for 24 h. The proliferation of hepatic stellate cells was measured by MTT. The content of collagen I was measured by ELISA. The mRNA of NHE-1 was examined by RT-PCR.

RESULTS: Curcumine down-regulated the expression of NHE-1 mRNA (0.6401 ± 0.0063, 0.2391 ± 0.0039, 0.1437 ± 0.0044 *vs* 0.7214 ± 0.0155, all $P < 0.05$), decreased the levels of collagen I (199.40 ± 16.22, 182.37 ± 14.72, 169.91 ± 15.80 ng/mg pro *vs* 216.35 ± 17.19 ng/mg pro, all $P < 0.05$) and lowered the number of proliferating HSCs in a concentration dependent way.

CONCLUSION: These results suggest that curcumine can prevent hepatic fibrosis via inhibiting proliferation and collagen I production of HSCs, which may be partly related to its regulative effect on the expression of NHE mRNA gene.

Key Words: Curcumine; Hepatic stellate cells; Na^+/H^- exchanger; Liver fibrosis

Hu TH, Huang LH, Yang L, Zhu QJ, Zhu R, Jiang YM. Influence of curcumin on NHE-1 mRNA and hepatic stem cell proliferation and their correlations. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(18): 1860-1863

摘要

目的: 研究NHE-1与肝星状细胞增殖的关系及姜黄素对其的影响, 初步探讨肝纤维化的形成机制.

方法: 选择肝星状细胞系作为体外研究对象, 用不同浓度(1、10、20 μmol/L)的姜黄素处理大鼠肝星状细胞; 以MTT比色法测定肝星状细胞的增殖; 酶联免疫吸附法(ELISA)测定Ⅰ型胶原含量, RT-PCR法检测肝星状细胞Na^+/H^-泵(NHE-1 mRNA)的表达.

结果: 各浓度姜黄素可明显下调肝星状细胞NHE-1 mRNA表达(0.6401±0.0063, 0.2391±0.0039, 0.1437±0.0044 *vs* 0.7214±0.0155, $P<0.05$), 降低培养上清液中Ⅰ型胶原的水平(199.40±16.22, 182.37±14.72, 169.91±15.80 ng/mg pro *vs* 216.35±17.19 ng/mg pro,

■同行评议者
徐列明, 教授, 上海中医药大学附属曙光医院(东部)肝二科

$P<0.05$), 抑制肝星状细胞的增殖, 并呈剂量依赖性.

结论: 姜黄素可能通过调控肝星状细胞NHE-1 mRNA的表达来抑制HSC的增殖及Ⅰ型胶原的合成等机制, 从而抑制肝纤维化的形成.

关键词: 姜黄素; 肝星状细胞; Na^+/H^-交换泵; 肝纤维化

胡泰洪, 黄利华, 杨玲, 朱清静, 朱锐, 蒋跃明. NHE-1与肝星状细胞增殖的关系及姜黄素对其的影响. 世界华人消化杂志 2009; 17(18): 1860-1863
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1860.asp

0 引言

肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)是位于Disse间隙的一种间质细胞, 目前认为HSCs的活化、增殖与肝纤维化的发生发展密切相关. HSCs通过自分泌和旁分泌作用产生大量细胞外基质(extracellular matrix, ECM)和活化基质金属蛋白酶抑制剂, 并抑制胶原酶活性, 从而降低ECM降解, 造成ECM过量沉积而形成纤维化. 抑制HSCs活化增殖有助于逆转肝纤维化[1-8].

Na^+/H^-交换泵(Na^+/H^- exchanger, NHE)-人们早已熟知的参与细胞内外Na^+/H^-交换的细胞膜大分子. 已证实有6种形式的NHE, 分别命名为NHE1-6, 其中以NHE-1组织分布最广泛. 新近关于肝纤维化形成机制的研究表明NHE-1在肝纤维化形成中起重要作用, 为抗肝纤维化的研究提供了新靶点. 姜黄素(Curcumin, CUR)是从中药姜黄中提取的一种酚类色素, 具有诱导HSCs凋亡、抑制氧自由基产生、抑制多种蛋白激酶活性、抑制金属蛋白酶分泌等作用, 在体外实中, 姜黄素对CCl_4和D-半乳糖胺诱导的肝细胞毒性也有保护作用[9-15].

我们的前期动物实验证实[16-17]: 姜黄素可通过抑制α-平滑肌肌动蛋白(α-smooth muscle actin, α-SMA)的表达, 抑制ERK-1的促HSCs的增殖作用, 从而产生抗CCl_4诱导的大鼠肝纤维化的作用; NHE-1与肝纤维化存在密切关系. 为进一步研究姜黄素对肝纤维化的作用, 本实验应用肝星状细胞细胞系, 拟观察姜黄素对大鼠肝星状细胞增殖、Ⅰ型胶原分泌及NHE mRNA表达的影响, 从体外探索姜黄素抗肝纤维化的作用机制.

1 材料和方法

1.1 材料 肝星状细胞系HSCs-T6(Friedman教授建立)由上海中医药大学徐列明教授惠赠. DMEM为Gibco公司产品. 小牛血清购自杭州四季青公司. 四甲基偶氮唑蓝(MTT)购自华美生物工程公司. Ⅰ型胶原试剂盒(美国BPB公司). Curcumin 购自Sigma公司, 不溶于水, 易溶于二甲亚砜溶液中, 配好的姜黄素二甲亚砜溶液以30 g/L小牛血清的DMEM培养液调整至姜黄素使用浓度, 二甲亚砜的终浓度要低于0.1%. Taq DNA聚合酶、MMLV逆转录酶、Oligo$(dT)_{15}$、$MgCl_2$(25 mmol/L)购于美国Promega有限公司, Mix dNTP购于Sangon公司, RNA酶抑制剂购于华美生物工程公司, Tripure购于Roche诊断有限公司, 琼脂糖购于上海东海制药厂, DNA Marker DL2000购于大连宝生物工程有限公司. NHE-1上游引物: 5'-CAAGATCCCATCTGCCGTCTCA-3', NHE-1下游引物: 5'-ACTCCTCATTCACCAGGTCCAC-3'(基因序列查自PubMed, M85299, GI: 1280490). β-actin上游引物: 5'-GAAACTACCTTCAACTCCATC-3', β-actin下游引物: 5'-CGAGGCCAGGATGGAGCCGCC-3'. 引物购于上海生工生物工程技术服务有限公司.

1.2 方法

1.2.1 HSCs的培养及传代: HSCs-T6培养于37℃、50 mL/L CO_2的含100 mL/L胎牛血清、100 kU/L青霉素、100 U/L链霉素、1% L-谷氨酰胺的DMEM培养液中, 在倒置显微镜下观察细胞长到亚单层或细胞密度约80%-90%时, 以EDTA 37℃消化2-3 min传代.

1.2.2 细胞增殖试验: 以MTT比色法检测HSCs的增殖. 传一代培养的HSCs以50 g/L小牛血清的DMEM制备为1×10^8/L细胞悬液, 接种于96孔板, 每孔100 μL, 至细胞长至近单层后, 正常对照组换50 g/L小牛血清的DMEM培养液, 其余各组为含不同浓度姜黄素的5%小牛血清的DMEM培养液, 每组设6个复孔, 分组如下, Ⅰ组: HSCs-T6空白对照; Ⅱ组: 含姜黄素浓度为1 μmol/L, Ⅲ组: 含姜黄素浓度为10 μmol/L, Ⅳ组: 含姜黄素浓度为20 μmol/L. 24 h后每孔加0.5% MTT贮存液20 μL继续孵育4 h后, 弃上清并每孔加100 μL二甲基亚砜溶解细胞内结晶, 酶标仪570 nm波长测定吸光度(A)值. 抑制率 = (对照孔A_{570}-实验孔A_{570})/对照品$A_{570}\times100\%$.

1.2.3 ELISA法测定上清液Ⅰ型胶原含量: 将HSCs以1×10^8/L培养于96孔板, 培养48 h, 按上述分组方法采用不同浓度姜黄素的培养液继续培养24 h后, 收集培养上清液. 取出酶标板, 分别加入培养上清和标准品, 每组6孔; 每孔加入50

■**相关报道**
舒建昌 *et al*建立CCl_4肝纤维化模型及HSCs培养, 通过在体实验和离体实验研究姜黄素对HSCs活化、增值及凋亡的影响, 探讨其抗肝纤维化的机制. 杨伟峰 *et al*联用Na^+/H^+交换泵抑制剂阿米洛利与姜黄素对大鼠纤维化形成的影响, 结果预防组可减轻脂质过氧化、抑制细胞外基质的合成和分泌, 二者对肝纤维化均有预防作用.

■应用要点
本实验结果说明姜黄素可明显下调肝星状细胞NHE-1 mRNA表达, 不仅能抑制HSCs的增殖, 而且能抑制HSCs合成Ⅰ型胶原的量, 从而提示姜黄素具有很好的抗肝纤维化作用, 其机制则可能与其能下调HSCs NHE mRNA的表达有关.

μL的酶标记溶液; 25℃孵育反应90 min; 洗液清洗6次; 每孔加入底物A、B液各50 μL; 25℃孵育反应15 min; 每孔加入50 μL终止液, 终止反应; 于酶标仪450 nm波长比色.

1.2.4 细胞中NHE-1 mRNA的表达量: 细胞总mRNA的提取: 药物作用于细胞24 h后, 倒去上清液, 加TRIzol 500 μL吹打后移入离心管中, 按Tripure试剂盒说明提取总RNA, 合成cDNA. RT-PCR: 在EP管中加ddH_2O 8 μL, mRNA 4 μL, 500 mg/L的Oligo(dT)1 μL, 50 U/μL RNsin 0.5 μL, 25 mmol/L dNTP 2 μL, 5×逆转录缓冲液4 μL, 200 U/μL逆转录酶0.5 μL, 置37℃ 60 min后, 95℃ 5 min; PCR: 在EP管中加ddH_2O 13 μL, 10×缓冲液2.5 μL, 25 mmol/L $MgCl_2$ 1.5 μL, 上下游引物各0.2 μL, 25 mmol/L dNTP 2 μL, cDNA 1 μL, 石蜡油8 μL, 置95℃ 6 min后, 再加ddH_2O 5 μL及Taq酶0.5 μL(总反应体积25 μL). 变性温度94℃ 45 s, 退火温度55℃ 45 s, 延伸温度72℃ 1 min, 扩增25个循环; 最后于72℃ 10 min. NHE-1退火温度55℃, 产物为425 bp, β-actin退火温度为48℃, 产物长度为219 bp. 取4 μL加1 μL的溴酚蓝电泳缓冲液电泳观察, 并用MGIAS-1000多媒体凝胶成像分析系统计算吸光度值. 以目的基因与内参照基因(β-actin mRNA)*A*值的比值作为该例标本mRNA的相对表达量.

统计学处理 用统计软件SPSS10.0进行数据统计学处理. 计量资料以mean±SD表示, 组间比较采用单因素方差分析, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 姜黄素对大鼠HSCs增殖的影响 MTT法显示, 不同浓度的姜黄素干预HSCs, 实验组*A*值均低于空白对照组, 10, 20 μmol/L时, 与空白对照组比较有差异(0.087±0.050, 0.051±0.049 *vs* 0.281±0.063, $P<0.05$), 并且随浓度的增加姜黄素的抑制增殖作用增强.

2.2 姜黄素对大鼠HSCsⅠ型胶原水平的影响 空白对照组比较, 姜黄素各剂量组不同程度降低培养上清液中Ⅰ型胶原水平, 呈明显剂量效应关系, 与空白对照组比较差异有统计学意义(199.40±16.22, 182.37±14.72, 169.91±15.80 ng/mg pro *vs* 216.35±17.19 ng/mg pro, $P<0.05$).

2.3 姜黄素对大鼠HSCs NHE-1 mRNA表达的影响 随着姜黄素作用剂量的增加, NHE-1 mRNA表达逐渐减弱(图1), 与空白对照组比较差异有统计学意义(0.6401±0.0063, 0.2391±0.0039, 0.1437±0.0044 *vs* 0.7214±0.0155, $P<0.05$).

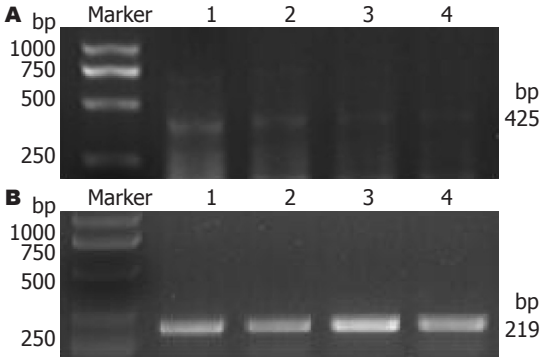


图 1 大鼠HSCs NHE-1 mRNA的表达. A: NHE-1 mRNA; B: β-actin; 1: 空白对照组; 2-4: 分别为姜黄素浓度1, 10, 20 μmol/L组.

3 讨论

HSCs活化是肝纤维化形成的关键, 而增殖是HSCs活化的重要特征之一. 因此, 对HSCs的增殖的抑制是防治肝纤维化的策略之一.

NHE-1与人类疾病的关系是近年才刚刚开始研究的领域, 其与肝纤维化的关系渐渐被人们认识. Benedetti *et al*[18]最近的研究发现NHE对细胞的增殖、分化及凋亡的作用同样是适用于HSCs. HSCs的激活、细胞内pH值升高和NHE的激活密切相关. 现已证实, NHE不但介导多种细胞因子, 而且也介导脂质过氧化激活HSCs, 而且很可能是激活HSCs途径中的先后环节. Svegliati-Baroni *et al*[19]的实验表明氧应激可直接刺激NHE, 他们提出NHE在反应过程中起到中介的作用, 介导各种刺激(细胞因子、生长因子和氧应激等)对HSCs的作用, 促进细胞进入S相. 且提示阿米洛利通过抑制NHE而减弱增殖及胶原合成可作为治疗肝纤维化的一个新手段. Di Sario *et al*[20]利用分离培养的HSCs和肝纤维化大鼠模型评价选择性Na^+-H^+交换抑制剂卡立泊来德的作用, 结果显示: 选择性Na^+-H^+交换抑制剂卡立泊来德可作为肝纤维化治疗策略的一个方向, NHE被抑制后, 不但多种细胞因子不能激活HSCs, 而且脂质过氧化也不能激活HSCs.

杨伟峰 *et al*[21]观察联用NHE抑制剂阿米洛利与抗氧化剂姜黄素对大鼠纤维化形成的影响, 结果预防组可减轻脂质过氧化、抑制细胞外基质的合成和分泌, 二者对肝纤维化均有预防作用. 本实验选择HSCs-T6为研究对象, 通过MTT法评价姜黄素对HSCs的增殖影响, 发现姜黄素

能明显抑制HSCs的增殖, 且抑制程度与其药物浓度有关; 通过ELISA法测定细胞上清的Ⅰ型胶原的含量, 姜黄素各剂量组与空白对照组相比差异具有显著性意义, 提示姜黄素能抑制HSCs合成Ⅰ型胶原; 且姜黄素可明显下调肝星状细胞NHE-1 mRNA表达. 本实验结果说明姜黄素不仅能抑制HSCs的增殖, 而且能抑制HSCs合成Ⅰ型胶原的量, 从而提示姜黄素有很好的抗肝纤维化作用, 其机制则可能与其能下调HSCs NHE mRNA的表达有关.

4 参考文献

1 周光德, 赵景民. 细胞外基质在肝内的代谢与肝纤维化的形成. 世界华人消化杂志 2002; 10: 57-59
2 贾继东, 尹姗姗, 王宝恩. 细胞外基质基因在肝脏的表达与调控. 世界华人消化杂志 2002; 10: 56-57
3 姜慧卿, 张晓岚. 肝纤维化的发生机制. 世界华人消化杂志 2000; 8: 687-689
4 王宝恩. 肝星状细胞与肝纤维化. 中华肝脏病杂志 2000; 8: 197-199
5 Safadi R, Friedman SL. Hepatic fibrosis--role of hepatic stellate cell activation. *MedGenMed* 2002; 4: 27
6 Gäbele E, Brenner DA, Rippe RA. Liver fibrosis: signals leading to the amplification of the fibrogenic hepatic stellate cell. *Front Biosci* 2003; 8: d69-d77
7 黄光存, 张锦生. 肝星状细胞激活的细胞内信号转导. 世界华人消化杂志 2001; 9: 1056-1060
8 杨悦杰, 黄芬. 肝星状细胞及相关细胞因子在肝纤维化形成中的作用. 世界华人消化杂志 2007; 15: 2885-2890
9 刘永刚, 陈厚昌, 蒋毅萍. 姜黄素抗肝纤维化的实验研究. 时珍国医国药 2002; 13: 273-275
10 刘永刚, 陈厚昌, 蒋毅萍. 姜黄素对小鼠实验性肝损伤的保护作用. 中国中药杂志 2003; 28: 75-76
11 Kang HC, Nan JX, Park PH, Kim JY, Lee SH, Woo SW, Zhao YZ, Park EJ, Sohn DH. Curcumin inhibits collagen synthesis and hepatic stellate cell activation in-vivo and in-vitro. *J Pharm Pharmacol* 2002; 54: 119-126
12 舒建昌, 何雅军, 吕霞, 沈雁, 潘洁, 叶国荣. 姜黄素诱导肝星状细胞凋亡的相关分子机制的初步研究. 中华消化杂志 2006; 26: 758-762
13 刘永刚, 刘永忠, 王晓东. 姜黄素抗大鼠肝星状细胞氧应激脂质过氧化作用的研究. 中成药 2004; 26: 829-832
14 尹蓉, 王沁, 富翠芹. 姜黄素对酒精诱导的大鼠脂质过氧化反应的影响. 世界华人消化杂志 2008; 16: 1383-1387
15 Araújo CC, Leon LL. Biological activities of Curcuma longa L. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001; 96: 723-728
16 胡泰洪, 徐敏, 朱锐, 刘建国, 杨玲. 从细胞外信号调节激酶-1 mRNA在肝纤维化大鼠肝组织中的表达来探讨姜黄素的治疗作用. 中西医结合肝病杂志 2008; 18: 289-291
17 胡泰洪, 朱锐, 张波, 黄利华, 刘建国, 张喆, 徐敏, 杨玲. 实验性肝纤维化大鼠肝组织钠氢交换泵-1的表达. 中华肝脏病杂志 2007; 15: 939-940
18 Benedetti A, Di Sario A, Casini A, Ridolfi F, Bendia E, Pigini P, Tonnini C, D'Ambrosio L, Feliciangeli G, Macarri G, Svegliati-Baroni G. Inhibition of the NA(+)/H(+) exchanger reduces rat hepatic stellate cell activity and liver fibrosis: an in vitro and in vivo study. *Gastroenterology* 2001; 120: 545-556
19 Svegliati-Baroni G, Di Sario A, Casini A, Ferretti G, D'Ambrosio L, Ridolfi F, Bolognini L, Salzano R, Orlandi F, Benedetti A. The Na+/H+ exchanger modulates the fibrogenic effect of oxidative stress in rat hepatic stellate cells. *J Hepatol* 1999; 30: 868-875
20 Di Sario A, Bendia E, Taffetani S, Marzioni M, Candelaresi C, Pigini P, Schindler U, Kleemann HW, Trozzi L, Macarri G, Benedetti A. Selective Na+/H+ exchange inhibition by cariporide reduces liver fibrosis in the rat. *Hepatology* 2003; 37: 256-266
21 杨伟峰, 陈厚昌. 联用阿米洛利与姜黄素预防大鼠肝纤维化的实验研究. 胃肠病学和肝病学杂志 2003; 12: 424-426

■同行评价
本研究选题有一定新意, 设计合理, 具有一定的学术价值.

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009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32400余万篇次(2003-2005年), 涉及期刊12400余种. 本版还加大了专家评审力度, 5500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1980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). (常务副总编辑: 张海宁 2009-06-28)

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年6月28日; 17(18): 1864-1867
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

研究快报 RAPID COMMUNICATION

色满类化合物HEF-19对家兔离体肠管平滑肌的舒张作用

韦元元, 付守廷, 胡 春, 朱 岚, 王 冰, 汪慧慧

■背景资料
近年来, 药物对肠管平滑肌的舒张作用的研究比较广泛. 而离体肠管实验以其具有操作简便, 经济易行, 实验条件易控制, 影响因素少, 重现性好, 结果准确可靠等优点被广泛采用去进行药物作用机制的探讨. 神经递质、胃肠道激素和药物通过受体和第二信使系统作用于离子通道, 从而对肠道平滑肌电生理和收缩活性进行调节. 因此, 通过对离子通道的研究而了解肠管平滑肌舒张药物的作用机制已逐渐成为热点.

■同行评议者
许文燮, 教授, 上海交通大学生命科学院生物医学工程系; 陈贻胜, 教授, 福建省立医院消化内科

韦元元, 付守廷, 朱岚, 王冰, 汪慧慧, 沈阳药科大学生命科学与生物制药学院 辽宁省沈阳市 110016
胡春, 沈阳药科大学制药工程学院 辽宁省沈阳市 110016
作者贡献分布: 此课题由付守廷与韦元元设计; 研究过程由韦元元、朱岚、王冰及汪慧慧操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由付守廷与胡春提供; 数据分析由韦元元完成; 本论文写作由韦元元与朱岚完成.
通讯作者: 付守廷, 110016, 辽宁省沈阳市文化路103号, 沈阳药科大学生命科学与生物制药学院. fushout @msn.com
电话: 024-23986331
收稿日期: 2009-03-02 修回日期: 2009-05-11
接受日期: 2009-05-28 在线出版日期: 2009-06-28

Relaxant effect of a chromane HEF-19 on intestinal smooth muscles isolated from rabbits

Yuan-Yuan Wei, Shou-Ting Fu, Chun Hu, Lan Zhu, Bing Wang, Hui-Hui Wang

Yuan-Yuan Wei, Shou-Ting Fu, Lan Zhu, Bing Wang, Hui-Hui Wang, School of the Life Science and Biopharmaceutics, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, Liaoning Province, China
Chun Hu, School of Pharmaceutical Engineering, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, Liaoning Province, China
Correspondence to: Shou-Ting Fu, School of the Life Science and Biopharmaceutics, Shenyang Pharmaceutical University, 103 Wenhua Road, Shenyang 110016, Liaoning Province, China. fushout@msn.com
Received: 2009-03-02 Revised: 2009-05-11
Accepted: 2009-05-28 Published online: 2009-06-28

Abstract

AIM: To study the relaxant effect of a chromane HEF-19 on isolated small intestinal smooth muscle of rabbits and its underlying mechanism.

METHODS: Routine experimental methods using isolated **small intestine smooth muscle** of rabbits, the effect of HEF-19 on automatic contraction of **small intestinal smooth muscle** was investigated. The relaxant effects of glibenclamide (10^{-5} mol/L), Verapamil (10^{-7} mol/L) Phentolamine (10^{-7} mol/L) and Propranolol (10^{-7} mol/L) on HEF-19 with contraction induced by $BaCl_2$ were studied.

RESULTS: HEF-19 significantly attenuated the tension and amplitude of automatic contraction of isolated small intestinal smooth muscle in a dose-dependent manner. The relaxing concentration-response curves of HEF-19 (10^{-6}-10^{-3} mol/L) were significantly different after incubation with glibenclamide (EC_{50}: 4.16 ± 0.22 mol/L *vs* 4.36 ± 0.12 mol/L, $P < 0.05$)and Verapamil (EC_{50}: 3.96 ± 0.24 mol/L *vs* 4.43 ± 0.19 mol/L, $P < 0.05$). Phentolamine and Propranolol had no effect on relaxant effect of HEF-19.

CONCLUSION: HEF-19 relaxes isolated small intestinal smooth muscle of rabbits and the mechanism may be related to K^+-ATP opening and *L*-calcium channel but not related to α- receptor and β- receptor.

Key Words: Rabbit; Intestine; Smooth muscle; Relaxation

Wei YY, Fu ST, Hu C, Zhu L, Wang B, Wang HH. Relaxant effect of a chromane HEF-19 on intestinal smooth muscles isolated from rabbits. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(18): 1864-1867

摘要

目的: 探讨色满类化合物HEF-19对家兔离体小肠平滑肌的舒张作用及其机制.

方法: 采用家兔小肠离体实验法, 观察HEF-19对家兔离体小肠自发活动的影响, 研究$BaCl_2$诱导收缩时格列苯脲(10^{-5} mol/L)、维拉帕米(10^{-7} mol/L)、酚妥拉明(10^{-7} mol/L)和普奈洛尔(10^{-7} mol/L)对HEF-19的舒张作用的影响.

结果: HEF-19可以剂量依赖性地降低家兔离体小肠平滑肌自发性收缩的张力和振幅; 分别加入格列苯脲和维拉帕米孵育后, HEF-19(10^{-6} mol/L-10^{-3} mol/L)的舒张量效曲线均发生明显变化, EC_{50}值分别由4.36±0.12 mol/L和4.43±0.19 mol/L转变为4.16±0.22 mol/L和3.96±0.24 mol/L, 差异具有统计学意义(P<0.05). 酚妥拉明和普奈洛尔对HEF-19的舒张作用没有影响.

结论: HEF-19具有舒张小肠平滑肌的作用并且其作用机制与ATP-敏感性钾通道和*L*型钙通道开放有关.而与α受体和β受体无关.

关键词: 家兔; 肠管; 平滑肌; 舒张作用

韦元元, 付守廷, 胡春, 朱岚, 王冰, 汪慧慧. 色满类化合物HEF-19对家兔离体肠管平滑肌的舒张作用. 世界华人消化杂志 2009; 17(18): 1864-1867
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1864.asp

0 引言

胃肠平滑肌痉挛可引起腹痛、腹泻, 是临床常见的疾病之一. 传统的抗胆碱能药物由于其不良反应在临床应用中受到一定限制, 寻找一种作用强大, 不良反应小的平滑肌舒张药物有着重要的意义. HEF-19是由我校有机实验室研制的色满类化合物, 性质稳定, 易溶于水, 有文献报道其类似化合物具有抗炎活性和抗血小板凝聚活性[1]. 本文发现HEF-19具有明显的肠管平滑肌舒张作用, 就其药效机制作了初步探讨.

1 材料和方法

1.1 材料 健康家兔, 雌雄兼用, 体质量2.0-3.0 kg, 合格证号SCXK20030011, 由沈阳药科大学实验动物中心提供. HEF-19由沈阳药科大学有机教研室提供. 格列苯脲(glibenclamide tablets)为北京太洋药业有限公司生产. 维拉帕米(verapamil)为天津市和平制药厂生产. 甲磺酸酚妥拉明注射液(Phentolamine methanesulfonate, Phen)上海旭东海普药业有限公司生产. 盐酸普奈洛尔片(Propranolol Hydroehloride Tablets)为沈阳东药克达制药有限公司生产, 氯化钡($BaCl_2$)为沈阳市兴东试剂厂产品. 其他普通试剂均为市售分析纯, 实验用Tyrod液: NaCl 136.86 mmol/L、KCl 2.68 mmol/L、$NaHCO_3$ 11.9 mmol/L、$MgCl_2$ 1.05 mmol/L、$KH_2PO_4 \cdot H_2O$ 0.41 mmol/L、$CaCl_2$ 1.8 mmol/L、Gluocses 5.6 mmol/L[2]. RM6240B型多通道生理信号采集处理系统为成都仪器厂生产.

1.2 方法

1.2.1 标本制备: 兔禁食12 h, 自由饮水. 将其击昏后剖开腹腔, 以胃幽门与十二指肠交界处为起点剪取肠管, 将其剪成约1 cm的肠段, 置于盛有Tyrode's液的浴管中, 调节基本张力为1 g左右, 恒温37℃±0.5℃水浴, 通气钩以每秒1-2个气泡的速度持续通混合气(950 mL/L O_2和50 mL/L CO_2). 小肠平滑肌收缩活动及变化信号经张力换能器引至RM6240多道生理信号采集处理系统[3].

1.2.2 HEF-19对家兔离体小肠自发活动的影响: 单剂量加入溶剂和不同浓度的HEF-19(10^{-6}、10^{-5}、10^{-4} mol/L), 以给药前的值为100%, 记录给药后小肠自发活动振幅和张力的百分比[4].

表 1 HEF-19对家兔小肠平滑肌自发活动的影响 (n = 8, mean ± SD, %)

分组	给药后	
	张力	振幅
溶剂	99.82 ± 1.03	101.22 ± 2.67
HEF-19(mol/L)		
10^{-6}	82.75 ± 6.09	86.91 ± 3.66
10^{-5}	54.43 ± 18.32	60.56 ± 8.16
10^{-4}	18.88 ± 20.56	30.65 ± 12.13

1.2.3 阻滞剂对HEF-19舒张作用的影响: 加入$BaCl_2$(8.2×10^{-3} mol/L)收缩稳定后, 累积加入HEF-19(1.0×10^{-6} mol/L-3×10^{-3} mol/L), 得到HEF-19舒张$BaCl_2$收缩的累积量效曲线(实验对照组). 冲洗待标本张力稳定后, 分别加入格列苯脲溶液(10^{-5} mol/L)、维拉帕米(10^{-7} mol/L)、酚妥拉明(10^{-7} mol/L)和普奈洛尔(10^{-7} mol/L)孵育10 min, 再次得到由$BaCl_2$收缩时HEF-19舒张累积量效曲线[5-8], 并求出EC_{50}值.

统计学处理 RM6240多道生理信号采集及处理系统的分析软件计算EC_{50}($pD_2 = -\log EC_{50}$), 采用mean±SD表示. 采用组间t检验.

2 结果

2.1 HEF-19对家兔离体小肠自发活动的影响 HEF-19可抑制家兔离体小肠平滑肌自发性收缩张力和振幅, 并呈现一定的剂量依赖性. HEF-19舒张作用与溶剂组比较具有显著性差异(表1, 图1).

2.2 阻滞剂对HEF-19舒张作用的影响 格列苯脲和维拉帕米孵育后, 由$BaCl_2$引起收缩的HEF-19的舒张量效曲线均右移(图2), EC_{50}值分别由4.36±0.12 mol/L和4.43±0.19 mol/L转变为4.16±0.22 mol/L和3.96±0.24 mol/L. 进行统计学t检验, 有显著差异(P<0.05). 酚妥拉明和普奈洛尔对HEF-19的舒张作用没有影响, EC_{50}值分别由4.44±0.25 mol/L和4.23±0.11 mol/L转变为4.22±0.29 mol/L 和4.27±0.14 mol/L, 统计学无显著差异.

3 讨论

肠壁平滑肌收缩, 细胞外Ca^{2+}内流产生内向电流, 导致平滑肌细胞膜去极化, 从而形成动作电位升支, 同时激活细胞内K^+外流形成外向电流, 使膜逐渐复极化至静息电位[9]. 平滑肌细胞的

■研发前沿
传统的抗胆碱能药物由于其不良反应在临床应用中受到一定限制, 近年来发现了一些非抗胆碱能药物具有良好的解痉止痛效果, 且起效迅速, 不良反应小, 易于被患者接受, 引起普遍重视.

■创新盘点
本文首次报道了色满类化合物对家兔肠管平滑肌的舒张作用, 并通过研究格列苯脲、维拉帕米、酚妥拉明和普奈洛尔对此化合物舒张作用的影响研究了其舒张作用机制可能与ATP敏感性钾通道和L型电压依赖性钙通道有关, 而与α受体和β受体无关.

■同行评价
本文利用药理学方法观察了色满酮类化合物HEF-19对离体家兔小肠自发收缩活动的影响，从新药开发角度具有一定的理论和潜在的临床意义.

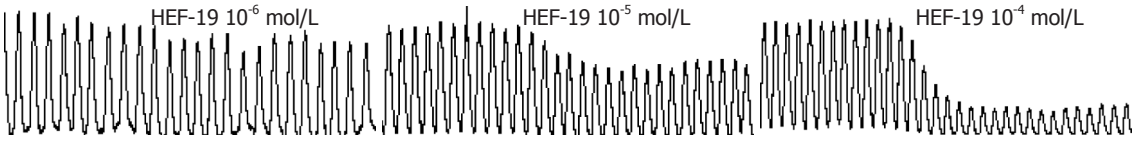


图 1 HEF-19对家兔离体小肠平滑肌自主收缩活动的影响.

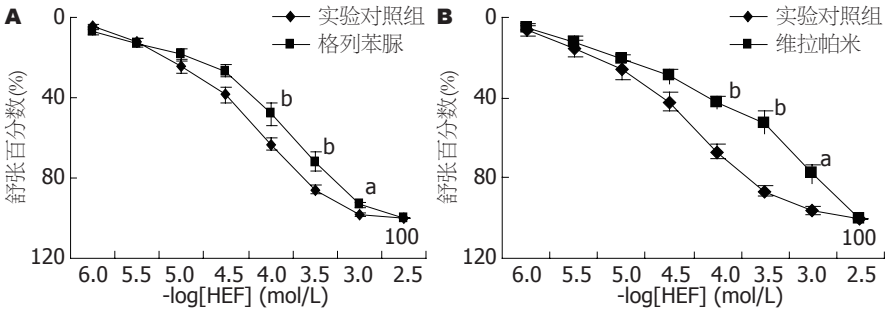


图 2 HEF-19舒张家兔离体小肠平滑肌的累积量效曲线(n = 6). $^aP<0.05$, $^bP<0.01$ *vs* 实验对照组.

松弛与细胞膜超极化有关，可能影响动作电位或减少电压依赖性钙通道(VDCs)开放机率减少Ca^{2+}内流[10]. $BaCl_2$可能通过与钙调蛋白结合，增加Ca^{2+}内流引起小肠平滑肌的收缩.

ATP敏感性钾通道(ATP-sensitive K channels, K_{ATP} channels)是电压非依赖性、配体门控通道[11]存在于平滑肌上，实验所用的格列苯脲是K_{ATP}通道的特异性拮抗药[12]. 加入格列苯脲阻断K_{ATP}通道后，HEF-19舒张$BaCl_2$收缩的量效曲线右移，EC_{50}值降低，HEF-19的舒张作用被抑制. 这说明HEF-19舒张小肠平滑肌的作用同ATP敏感性钾通道开放有关. 有可能通过开放钾通道，使细胞膜超级化，抑制细胞外钙离子内流及细胞内贮钙释放，降低细胞内游离钙离子的浓度，从而降低细胞的兴奋性[13]，缓解肠痉挛.

电压依赖性的钙通道开放使外钙内流和内钙释放增加而使平滑肌收缩[14]. 胃肠平滑肌中主要的钙通道是L型电压依赖性钙通道(L-Ca^{2+}). 他选择性地容许Ca^{2+}跨膜通过,参与平滑肌兴奋收缩偶联[15]. 本实验观察到，HEF-19浓度依赖性地降低小肠自发性收缩的张力和振幅，有研究表明，胞外钙通过L型电压依赖性钙通道进入胞质而参与小肠的自发收缩活动[2]，这提示HEF-19对电压依赖性钙通道可能有阻断作用. 维拉帕米选择性的阻断L-Ca^{2+}后，HEF-19在$BaCl_2$诱导收缩时的平滑肌舒张量效曲线明显右移，这进一步说明HEF-19可能是阻断了L-Ca^{2+}开放，抑制外钙内流及细胞内贮钙释放而舒张由$BaCl_2$收缩的小肠平滑肌[8].

酚妥拉明和普奈洛尔分别为α受体和β受体阻断药，他们不影响HEF-19作用提示HEF-19的作用机制可能与α受体和β受体无关.

总之，HEF-19性质稳定，具有舒张家兔小肠平滑肌的作用，作为平滑肌舒张药物具有良好的开发前景. 本实验初步证明其舒张作用机制与ATP敏感性钾通道和L型电压依赖性钙通道有关，但其是否还有其他作用途径以及其具体作用位点尚需做深入的研究.

4 参考文献

1 李慧媛，张琳琳，张传明，刘晓平，刘玉兰，詹华强，胡春. 4-色满酮芳环Mannich碱类化合物的合成及其抗血小板聚集活性研究. 精细化工中间体 2008; 38: 13-17
2 Grasa L, Rebollar E, Arruebo MP, Plaza MA, Murillo MD. The role of Ca2+ in the contractility of rabbit small intestine in vitro. *J Physiol Pharmacol* 2004; 55: 639-650
3 吕军，陈晓东，王立军，王艳国. 藏茵陈对家兔小肠平滑肌活动的影响. 包头医学院学报 2005; 21: 114-115
4 宋士军，李芳芳，张丽华，吴振州，秦玉珍，连晓东，张翼. 何首乌对家兔小肠平滑肌收缩活动和电活动的影响. 河北医科大学学报 2007; 28: 85-88
5 Bian ZX, Zhang GS, Wong KL, Hu XG, Liu L,Yang Z, Li M. Inhibitory effects of magnolol on distal colon of guinea pig in vitro. *Biol Pharm Bull* 2006; 29: 790-794
6 程艳芹，孙秀梅，张兆旺，李明春. 甘草5种方法提取液对兔离体肠平滑肌的影响. 解放军药学学报 2009; 25: 49-50
7 Gilani AH, Shah AJ, Ghayur MN, Majeed K. Pharmacological basis for the use of turmeric in gastrointestinal and respiratory disorders. *Life Sci* 2005; 76: 3089-3105
8 王九辉，何佟，林连波. 山苦荼提取物对豚鼠离体胆囊肌条的作用及其机制. 中南药学 2004; 2: 131-133
9 陈明锴，罗和生，余保平. 小檗碱对豚鼠结肠平滑肌细胞膜离子通道的影响. 中华消化杂志 2003; 23: 689-690
10 戴芸. 钙离子在胃肠平滑肌收缩机制中的作用. 国外医学·消化系疾病分册 2002; 22: 17-20
11 朱斌，赵金宪，叶铁虎. ATP敏感性钾通道的阻断剂与开放剂研究进展. 中国临床药理学杂志 2005; 21: 70-73
12 陈岗，李利生，张俊民，米卫东. 格列苯脲对丙泊酚、氯胺酮、依托咪酯及咪唑安定致兔离体气管平滑肌

舒张作用的影响. 临床麻醉学杂志 2003; 19: 158-159
13 李在琉, 许文燮. 胃肠平滑肌细胞的离子通道及其调制. 基础医学与临床 2003; 23: 19-20
14 柳蔚, 杨兴海, 周敏, 李从德. 皱皮木瓜总黄酮松弛胃肠平滑肌的效应机制. 世界华人消化杂志 2007; 15: 165-167
15 曾煜, 郭忻. 胃肠离子通道及其影响因素与平滑肌运动的研究进展. 中国药房 2007; 18: 1268-1269

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

2007年内科学类期刊总被引频次和影响因子排序

代码	期刊名称	总被引频次			影响因子		
		数值	学科排名	离均差率	数值	学科排名	离均差率
1170	JOURNAL OF GERIATRIC CARDIOLOGY	19	44	−0.98	0.059	44	−0.89
G275	WORLD JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY	4431	1	3.46	0.745	10	0.38
G803	肝脏	467	28	−0.53	0.537	17	−0.01
G938	国际呼吸杂志	521	25	−0.48	0.386	32	−0.29
G415	国际内分泌代谢杂志	654	20	−0.34	0.520	19	−0.04
G939	国际脑血管病杂志	662	19	−0.33	0.480	22	−0.11
G501	临床肝胆病杂志	497	26	−0.50	0.318	36	−0.41
G291	临床骨科杂志	689	18	−0.31	0.455	25	−0.16
G658	临床荟萃	1169	13	0.18	0.233	40	−0.57
G257	临床内科杂志	651	21	−0.35	0.367	34	−0.32
G855	临床消化病杂志	292	36	−0.71	0.394	30	−0.27
G261	临床心血管病杂志	866	17	−0.13	0.474	24	−0.12
G293	临床血液学杂志	341	34	−0.66	0.347	35	−0.36
G491	岭南心血管病杂志	157	41	−0.84	0.110	43	−0.79
G662	内科急危重症杂志	276	37	−0.72	0.318	36	−0.41
G746	实用肝脏病杂志	297	35	−0.70	1.100	3	1.04
G190	**世界华人消化杂志**	**2353**	**5**	**1.37**	**0.568**	**15**	**0.05**
G800	胃肠病学	376	33	−0.62	0.372	33	−0.31
G326	胃肠病学和肝病学杂志	468	27	−0.53	0.399	29	−0.26
G451	现代消化及介入诊疗	84	43	−0.92	0.230	41	−0.58
G083	心肺血管病杂志	214	40	−0.78	0.206	42	−0.62
G419	心血管病学进展	467	28	−0.53	0.419	27	−0.23
G260	心脏杂志	523	24	−0.47	0.392	31	−0.28
G610	胰腺病学	223	38	−0.78	0.282	38	−0.48
G234	中国动脉硬化杂志	869	16	−0.13	0.521	18	−0.04
G422	中国脑血管病杂志	223	38	−0.78	0.503	21	−0.07
G267	中国实用内科杂志	2121	7	1.13	0.601	13	0.11
G211	中国糖尿病杂志	1284	11	0.29	0.931	7	0.72
G203	中国心脏起搏与心电生理杂志	616	23	−0.38	0.599	14	0.11
G633	中国血液净化	449	31	−0.55	0.478	23	−0.12
G119	中国循环杂志	643	22	−0.35	0.411	28	−0.24
G231	中华肝脏病杂志	2746	4	1.76	1.056	4	0.95
G235	中华高血压杂志	982	15	−0.01	0.757	9	0.40
G639	中华老年多器官疾病杂志	143	42	−0.86	0.235	39	−0.57
G876	中华老年心脑血管病杂志	465	30	−0.53	0.431	26	−0.20
G150	中华老年医学杂志	1010	14	0.02	0.510	20	−0.06
G155	中华内分泌代谢杂志	1548	9	0.56	1.032	5	0.91
G156	中华内科杂志	3238	3	2.26	0.847	8	0.57
G161	中华肾脏病杂志	1477	10	0.49	1.018	6	0.88
G285	中华消化内镜杂志	1271	12	0.28	0.607	12	0.12
G168	中华消化杂志	2249	6	1.26	1.123	2	1.08
G892	中华心率失常学杂志	384	32	−0.61	0.568	15	0.05
G170	中华心血管病杂志	3705	2	2.73	1.217	1	1.25
G172	中华血液学杂志	1632	8	0.64	0.633	11	0.17
	平均值	994			0.541		

以上数据摘自《中国科技期刊引证报告》(2008年版). 科学技术文献出版社, 160-161.

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年6月28日; 17(18): 1868-1870
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

临床经验 CLINICAL PRACTICE

腹腔镜下应用补片治疗食管裂孔疝3例

许 东, 吴硕东, 苏 洋, 李兰瑛

■背景资料
1991年Dallemagne *et al*和Geagea报道了腹腔镜治疗食管裂孔疝及抗反流手术, 效果良好并得到迅速推广. 随着医疗器械的发展, 此技术在本病的治疗中变得更为方便、安全、有效.

许东, 吴硕东, 苏洋, 李兰瑛, 中国医科大学附属盛京医院第一微创、胆道外科 辽宁省沈阳市 110004
作者贡献分布: 许东、吴硕东、苏洋及李兰瑛对此文所作贡献均等; 所涉及到的手术由吴硕东与苏洋完成; 资料收集由李兰瑛完成; 资料整理由许东完成; 本论文写作由许东与李兰瑛完成.
通讯作者: 吴硕东, 教授, 110004, 辽宁省沈阳市, 中国医科大学附属盛京医院第一微创、胆道外科. wushuodong@yahoo.cn
电话: 024-83955058
收稿日期: 2009-03-23 修回日期: 2009-04-25
接受日期: 2009-04-27 在线出版日期: 2009-06-28

Laparoscopic repair of paraesophageal hernia with patch application: an analysis of 3 cases

Dong Xu, Shuo-Dong Wu, Yang Su, Lan-Ying Li

Dong Xu, Shuo-Dong Wu, Yang Su, Lan-Ying Li, Department of the First Minimal-invasive and Biliary Tract Surgery, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China
Correspondence to: Professor Shuo-Dong Wu, Department of the First Minimal-invasive and Biliary Tract Surgery, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. wushuodong@yahoo.cn
Received: 2009-03-23 Revised: 2009-04-25
Accepted: 2009-04-27 Published online: 2009-06-28

Abstract
AIM: To investigate the clinical value of laparoscopic repair of paraesophageal hernia using a patch.

METHODS: Three patients underwent the procedure during July 2007 to May 2008. We analyzed their operation time, blood loss and the complications as well as follow up.

RESULTS: Operations were successful with no conversion to open surgery. The operation time was 155, 120 and 130 min; the blood loss was 50, 50 and 70 mL. Every patient regained bowel activities and resumed fluid diet the day after the procedure, then was discharged after 7 d. Clinical symptoms of 3 patients disappeared within 3 mo and follow ups (6-12 mo) showed no relapse.

CONCLUSION: Laparoscopic repair of paraesophageal hernia with patch application is a safe and effective procedure.

Key Words: Paraesophageal hernia; Patch; Laparoscopic

Xu D, Wu SD, Su Y, Li LY. Laparoscopic repair of paraesophageal hernia with patch application: an analysis of 3 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(18): 1868-1870

摘要
目的: 探讨腹腔镜下应用补片修补食管裂孔疝的临床价值.

方法: 2007-07/2008-05我科行腹腔镜联合补片术治疗食管裂孔疝患者3例. 分析患者手术时间、术中失血量以及术后并发症, 并随访6-12 mo.

结果: 3例患者手术顺利, 无中转开腹或开胸, 手术时间分别为155、120、130 min, 术中失血量分别为50、50、70 mL, 3例患者术后第2天排气并进流质饮食, 术后第7天出院, 术后3 mo内3例患者临床症状完全消失, 随访6-12 mo, 无复发病例.

结论: 腹腔镜下应用补片治疗食管裂孔疝临床疗效显著, 值得推广应用.

关键词: 食管裂孔疝; 补片; 腹腔镜

许东, 吴硕东, 苏洋, 李兰瑛. 腹腔镜下应用补片治疗食管裂孔疝3例. 世界华人消化杂志 2009; 17(18): 1868-1870
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1868.asp

0 引言
食管裂孔疝是指胃贲门部、食管腹段或腹腔内脏经食管裂孔及其旁突入胸腔, 食管裂孔疝以男性多见, 其治疗主要为内科治疗及外科手术治疗. 1991年Dallemagne *et al*[1]和Geagea[2]报道了腹腔镜治疗食管裂孔疝及抗反流手术, 效果良好并得到迅速推广. 随着医疗器械的发展, 此技术在本病的治疗中变得更为方便、安全、有效. 2007-07/2008-05我科腹腔镜下应用补片治疗

■同行评议者
李永翔, 教授, 安徽医科大学第一附属医院普外科

食管裂孔疝3例, 现对其临床疗效报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 2007-07/2008-05我科腹腔镜下应用补片治疗食管裂孔疝患者3例, 其中男1例, 女2例, 年龄分别为45、57、76岁, 患者的临床症状主要表现为严重烧心反酸症状, 胸骨后或剑突下疼痛, 其中恶心、呕吐2例, 夜间睡眠时呛咳2例. 3例患者均通过上消化道造影检查确定诊断. 造影检查提示裂孔缺损长径分别为13、10、18 cm. 3例患者术前行内镜检查提示食管下段黏膜均有炎症表现.

1.2 方法 麻醉采用气管插管全身麻醉, 患者取仰卧“大”字位, 头侧抬高约15度, 术者站在患者两腿之间. 脐窝上部行长约1 cm切口作观察孔; 分别于左锁中线肋缘下5 cm、右锁中线肋缘下5 cm和左上腹部行10、5和5 mm切口作操作孔. 腹内压维持在13 mmHg. 放入腔镜器械, 将肝左外叶拉向右侧, 显露贲门食管穿膈肌裂孔处的右侧缘. 当食管裂孔处明显增大后, 提起胃壁向右侧牵拉, 以超声刀切断贲门左缘的脾胃韧带, 游离显露贲门左缘. 以超声刀沿两侧膈肌脚解剖贲门, 继续向上, 显露下段食管. 将食管后方左右膈肌脚缝合, 关闭膈肌裂孔, 将Bard CruraSoft补片对折, 网状面朝外, 纵向夹住补片, 然后通过10 mm口径的套管插入, 于食管后方包绕食管, 将补片与膈肌脚固定, 检查食管无明显受压改变, 在食管后方将胃底部向右侧翻转270度, 与胃前壁缝合约2 cm长, 完成胃底折叠. 检查无活动出血, 无胃、食管漏, 膈肌裂孔处食管右缘和脾旁分别留置引流管, 经两侧腹壁引出, 排除气腹, 拔除套管针, 切口分别缝合, 以无菌刀口贴封盖切口, 手术结束.

分析患者手术时间、术中失血量以及术后并发症, 并随访半年至1年.

2 结果

3例患者手术过程顺利, 手术时间分别为155、120、130 min, 术中失血量分别为50、50、70 mL, 术中未输血. 3例患者术后均无穿孔、出血等并发症发生. 术后第2天即可进全流食, 可逐渐过渡到普食, 过渡约需2 wk. 患者进食后无食物反流及胸骨后疼痛等症状发生. 术后住院时间为7 d. 3 mo内3例患者临床症状完全消失. 随访半年至1年, 均无复发.

3 讨论

食管裂孔疝根据解剖特性可分为: 滑动型裂孔疝(Ⅰ型), 以胃食管结合部半球形向上移动进入后纵隔为特征; 食管旁型(Ⅱ型), 以胃底向上疝出并处于位置正常的食管胃结合部旁为特征; 此外, 两种类型疝可同时发生, 称为混合型疝(Ⅲ型), 以胃底部和贲门向上移位为特征, 另外还有巨大食管裂孔疝(Ⅳ型). 食管裂孔疝引起的病理生理改变主要包括胃底疝入膈食管裂孔及其伴随的胃食管反流, 以及对膈裂孔部位包绕食管的迷走神经左右干的刺激. 因此, 除了心口、胸骨后灼热或疼痛等胃食管反流相关的表现外, 其症状还可表现为急性上腹剧痛、心律失常和呕血[3].

食管裂孔疝的诊断方法主要有上消化道造影检查、纤维胃镜检查及食管功能检查, 而食管功能检查包括食管测压、标准酸反流检查、酸清除检查、酸液灌注试验及24 h pH监测. 临床上较少采用食管功能检查, 一般依靠上消化道造影及纤维胃镜检查可确定诊断, 且可掌握裂孔缺损程度与食管黏膜情况.

本病的治疗主要分内科治疗及外科治疗. 大多数滑动型食管裂孔疝症状轻微, 轻、中度食管炎多见, 这部分患者应先进行内科治疗. 可服抑酸剂, 调节饮食, 避免腹部压力升高的活动, 睡眠时取高枕位、左侧卧位等措施. 若反流性食管炎已发展到Ⅲ级, 为避免出现食管狭窄, 应考虑手术. 食管旁疝不管有否症状都应及早手术治疗; 混合型裂孔疝及巨大食管裂孔疝也应手术治疗, 以避免并发胃梗阻和绞窄. 早期人们认为食管裂孔疝是引起胃食管反流性疾病(gastroesophageal reflux disease, GERD)的唯一原因, 治疗方案只是针对食管裂孔疝本身, 因此对反流性食管炎的效果常常不佳. 现在已知道, GERD有多种发病原因, 理想的治疗应重置食管位置, 修补膈食管裂孔, 以及通过胃底折叠增强食管下段括约肌. 随着微创技术的发展, 腹腔镜技术在食管裂孔疝的治疗中的应用越来越多. 本研究中腹腔镜下应用补片无张力修补膈食管裂孔并行改良Toupet胃底折叠术. 虽然目前对是否应用补片来完成食管裂孔疝修补术尚无定论, 但大量的资料表明腹腔镜下应用补片手术能降低食管裂孔疝的复发率[3-5]. 术后膈肌脚的张力缝合裂开是其主要原因. 因此, 术中关闭裂孔时, 如发现张力较大或裂孔缺损直径>5 cm, 术中采用无张力补片修补较妥[6]. 我们术中使用的是Bard公司生产的Crurasoft补片, 其优点为: (1)ePTFE(expanded polytetrafluoroethylene)

■研发前沿
早期人们认为食管裂孔疝是引起胃食管反流性疾病(GERD)的唯一原因, 治疗方案只是针对食管裂孔疝本身, 因此对反流性食管炎的效果常常不佳. 现在已知道, GERD有多种发病原因, 理想的治疗应重置食管位置, 修补膈食管裂孔, 以及通过胃底折叠增强食管下段括约肌.

■应用要点
腹腔镜下应用补片治疗食管裂孔疝临床疗效显著, 值得推广应用.

■同行评价
本研究选题新颖，设计合理，实用性强，具有很好的参考价值.

最大限度地抑制了组织的向内生长以及对修补物的黏附. (2)采用无张力修补技术无需重新拉近膈肌脚. (3)ePRFE活瓣为食管提供了一个支架, 可以防止食管与修补物粘连. (4)柔软而有弹性的补片可以适应解剖结构的需要. 从膈肌左脚开始, 采用不可吸收线对补片进行固定. 至少应该每隔1 cm缝一针. 关键的固定点为膈肌脚和膈肌. 应特别注意不要缝到补片的顶点、弓状韧带、迷走神经以及邻近的血管. 腹腔镜胃底折叠术一般以Nissen术式与Toupet术式为多见. Zornig *et al*[7]对200例随机的腹腔镜Nissen术式和Toupet术式进行随访, 二者术后吞咽困难发生率分别为30%和11%, 但同时伴随Toupet术式术后反流较Nissen术式高. Gómez *et al*[8]对241例腹腔镜胃底折叠术进行了横向比较, Toupet术后吞咽困难较低, 但术后抗反流控制率(73%)低于Nissen术式(98.5%). 2种术式各有利弊, 但腹腔镜下Nissen术式难度较Toupet术式要高, 所需要的技术要求高且手术时间要长, 因此笔者采用改良Toupet术式.

本研究中的3例患者手术过程顺利, 无中转开腹病例, 无术中及术后严重并发症发生, 术后恢复良好, 均无胸腔内不适及反流表现. 腹腔镜手术与开胸或开腹手术相比具有创伤小、痛苦少、恢复快等特点, 使得患者术后住院时间减少并降低切口感染、切口不愈合等并发症的发生; 而术中使用补片修补膈食管裂孔降低了复发率. 因此, 腹腔镜下应用补片治疗食管裂孔疝临床疗效显著, 值得推广应用.

4 参考文献

1 Dallemagne B, Weerts JM, Jehaes C, Markiewicz S, Lombard R. Laparoscopic Nissen fundoplication: preliminary report. *Surg Laparosc Endosc* 1991; 1: 138-143

2 Geagea T. Laparoscopic Nissen's fundoplication: preliminary report on ten cases. *Surg Endosc* 1991; 5: 170-173

3 Granderath FA, Carlson MA, Champion JK, Szold A, Basso N, Pointner R, Frantzides CT. Prosthetic closure of the esophageal hiatus in large hiatal hernia repair and laparoscopic antireflux surgery. *Surg Endosc* 2006; 20: 367-379

4 Johnson JM, Carbonell AM, Carmody BJ, Jamal MK, Maher JW, Kellum JM, DeMaria EJ. Laparoscopic mesh hiatoplasty for paraesophageal hernias and fundoplications: a critical analysis of the available literature. *Surg Endosc* 2006; 20: 362-366

5 Gryska PV, Vernon JK. Tension-free repair of hiatal hernia during laparoscopic fundoplication: a ten-year experience. *Hernia* 2005; 9: 150-155

6 Keidar A, Szold A. Laparoscopic repair of paraesophageal hernia with selective use of mesh. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 2003; 13: 149-154

7 Zornig C, Strate U, Fibbe C, Emmermann A, Layer P. Nissen vs Toupet laparoscopic fundoplication. *Surg Endosc* 2002; 16: 758-766

8 Gómez Cárdenas X, Flores Armenta JH, Elizalde Di Martino A, Guarneros Zárate JE, Cervera Servín A, Ochoa Gómez R, Quijano Orvañanos F. [Antireflux surgery, comperative study of three laparascopic techniques] *Rev Gastroenterol Mex* 2005; 70: 402-410

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

本刊讯 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang *et al*”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上角注码号. 如马连生[1]报告……, 潘伯荣 *et al*[2-5]认为……; PCR方法敏感性高[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献, 包括世界华人消化杂志(http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp)和*World Journal of Gastroenterology*(http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp). 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID编号 ; 书籍: 序号, 作者(列出全部),书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页. (常务副总编辑: 张海宁 2009-06-28)

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年6月28日; 17(18): 1871-1874
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

临床经验 CLINICAL PRACTICE

肾周脂肪囊厚度在脂肪肝诊断中的应用价值

桑 亮, 王学梅, 王炳元, 欧国成, 刘艳君

桑亮, 王学梅, 欧国成, 刘艳君, 中国医科大学附属第一医院超声诊断科 辽宁省沈阳市 110001
王炳元, 中国医科大学附属第一医院消化内科 辽宁省沈阳市 110001
作者贡献分布: 此课题立题由王学梅与王炳元完成; 设计由王学梅与桑亮完成; 研究过程由王学梅、刘艳君及桑亮完成; 数据分析及论文撰写由桑亮完成; 实验指导及论文修改由王学梅完成.
通讯作者: 王学梅, 教授, 110001, 辽宁省沈阳市和平区南京北街155号, 中国医科大学附属第一医院超声诊断科.
wxmlmt@yahoo.com.cn
电话: 024-83282098
收稿日期: 2009-04-21 修回日期: 2009-05-22
接受日期: 2009-05-25 在线出版日期: 2009-06-28

Value of fatty renal capsule thickness in diagnosis of fatty liver disease

Liang Sang, Xue-Mei Wang, Bing-Yuan Wang, Guo-Cheng Ou, Yan-Jun Liu

Liang Sang, Xue-Mei Wang, Guo-Cheng Ou, Yan-Jun Liu, Department of Ultrasonography, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China
Bing-Yuan Wang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China
Correspondence to: Dr. Xue-Mei Wang, Department of Ultrasonography, the First Affiliated Hospital of China Medical University, 155 Nanjing North Street, Heping District, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. wxmlmt@yahoo.com.cn
Received: 2009-04-21 Revised: 2009-05-22
Accepted: 2009-05-25 Published online: 2009-06-28

Abstract

AIM: To explore the clinic value of fatty renal capsule thickness in diagnosis of fatty liver disease.

METHODS: Thirty cases with mild and or with moderate to severe degree of fatty liver were collected, and their fatty renal capsule thickness was measured.

RESULTS: The fatty renal capsule thickness had significant differences between the normal group and mild, moderate to severe degree groups ($P < 0.05$), and had no differences between the mild and moderate to severe degree groups ($P > 0.05$). If 1.25, 0.65, 1.05, 0.55 cm were used as the critical value of the fatty renal capsule thickness for ultrasonic diagnosis of fatty liver at the long axis inferior pole, short axis surround of right kidney and left kidney, the sensitivities were 72.7%, 75.0%, 72.7% and 77.3% respectively, the specificities were 93.7%, 87.5%, 93.7% and 87.5% respectively.

CONCLUSION: The fatty renal capsule thickness can be used as the reference index for the ultrasonic diagnosis of fatty liver disease.

Key Words: Fatty liver; Fatty renal capsule; Ultrasonic diagnosis

Sang L, Wang XM, Wang BY, Ou GC, Liu YJ. Value of fatty renal capsule thickness in diagnosis of fatty liver disease. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(18): 1871-1874

摘要

目的: 探讨肾周脂肪囊厚度在脂肪肝诊断中的价值.

方法: 收集正常组与轻度、中重度脂肪肝组研究对象各30例, 超声测量双肾长轴切面下极与短轴切面肾周脂肪囊最厚处厚度.

结果: 肾周脂肪囊厚度在正常组与轻度、中重度脂肪肝组之间的差异存在显著意义($P<0.05$), 而在轻度与中重度脂肪肝组之间的差异无显著意义($P>0.05$); 1.25、0.65、1.05、0.55 cm作为超声诊断脂肪肝时右肾长轴下极与短轴肾周以及左肾长轴下极与短轴肾周脂肪囊厚度的临界值, 其灵敏度分别为72.7%、75.0%、72.7%、77.3%, 特异度分别为93.7%、87.5%、93.7%、87.5%.

结论: 肾周脂肪囊厚度可作为脂肪肝超声诊断的参考指标.

关键词: 脂肪肝; 脂肪囊; 超声诊断

桑亮, 王学梅, 王炳元, 欧国成, 刘艳君. 肾周脂肪囊厚度在脂肪肝诊断中的应用价值. 世界华人消化杂志 2009; 17(18): 1871-1874
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1871.asp

■背景资料
脂肪肝是一种与脂肪代谢有关的病变, 正常肝脏含脂肪约5%, 而脂肪肝患者可高达40%-50%. 目前, 脂肪肝患病率呈上升趋势, 正严重威胁人类的健康, 成为仅次于病毒性肝炎的第2大肝病. 超声检查是最常用的诊断方法, 但是缺乏客观指标. 国内外一些学者针对腹壁皮下脂肪、肠系膜脂肪及腹腔内脏脂肪等对脂肪肝进行了研究, 证明了其与脂肪肝的相关性, 但是也存在探头重压可能导致所测数据误差较大的不足.

■同行评议者
杜雅菊, 主任医师, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科

■研发前沿
随着超声诊断技术的不断深入发展, 单纯的定性诊断已经远远不能满足临床的需要, 超声定量分析技术的研究日益受到医学工程技术人员、超声工作者及临床医生的重视.通过测量肾周脂肪囊厚度对脂肪肝进行超声定量诊断国内尚未见报道.

0 引言

随着人们生活水平的提高, 饮食结构的变化, 脂肪肝患病率呈上升趋势, 正严重威胁人类的健康, 成为仅次于病毒性肝炎的第2大肝病[1-4]. 目前, 超声检查是最常用的诊断方法, 但缺乏客观指标. 超声定量分析技术的研究日益受到重视, 主要包括以下几个方面: 超声组织定征、直方图、血流流速及频谱、内脏周围、皮下及系膜脂肪的厚度测量等[5-8], 然而通过超声测量肾周脂肪囊厚度对脂肪肝进行诊断国内尚未见报道. 此次研究主要通过超声测量肾周脂肪囊厚度, 研究其在脂肪肝诊断中的应用价值.

1 材料和方法

1.1 材料 2008-04-10在我院进行体检或住院患者, 所有受检者均由2位超声科医师共同检查并有腹部CT检查结果, 按照中华肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组2006年制定的脂肪肝诊断指南[9-10]中有关超声和CT诊断标准将受检者分为正常组及轻度、中重度脂肪肝组. 正常组及轻度、中重度脂肪肝组各选取30例, 平均年龄分别为45.3±14.7岁、51.7±9.7岁、48.1±8.0岁.

1.2 方法 应用日本Aloka α10彩色多普勒超声诊断仪, 频率3.5-5 MHz凸阵探头. 多切面进行扫查, 分别选取能够清晰显示肾脏长轴以及短轴同时肾窦最大宽度切面, 于吸气末冻结图像, 测量肾脏长轴下极与短轴肾周脂肪囊最厚处厚度, 各部位分别测量3次取均值.

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件处理各组数据, 计量资料用mean±SD表示, 组间均数的比较采用t检验, 以$P<0.05$为差异有显著意义, 并通过受试者工作特征曲线, 即ROC曲线确定肾周脂肪囊厚度在正常组与脂肪肝组不同部位的临界值.

2 结果

2.1 肾周脂肪囊厚度在正常组与脂肪肝组的比较 右肾长轴下极与短轴肾周以及左肾长轴下极与短轴肾周脂肪囊厚度(图1)在轻度脂肪肝组分别为1.59±0.93 cm、0.98±0.54 cm、1.36±0.68 cm、0.92±0.66 cm; 在中重脂肪肝组分别为1.74±0.56 cm、1.27±0.73 cm、1.62±0.71 cm、1.08±0.64 cm. 两组之间比较各个部位脂肪囊厚度的差异均无显著意义($P>0.05$). 将轻度与中重度脂肪肝组合为1组(表1). 结果表明: (1)右肾长轴下极与短轴肾周以及左肾长轴下极与短轴肾周脂肪囊厚度在正常组与脂肪肝组之间的差异均存在显著意义($P<0.05$); (2)正常组右肾下极、右肾周、左肾下极、左肾周脂肪囊厚度的95%可信区间上限分别为0.79、0.46、0.55、0.46 cm; 脂肪肝组右肾下极、右肾周、左肾下极、左肾周脂肪囊厚度的95%可信区间下限分别为1.13、0.62、0.97、0.50 cm, 不同部位临界值均没有交叉.

2.2 肾周脂肪囊厚度在正常组与脂肪肝组不同部位的临界值 肾周脂肪囊厚度用于超声诊断脂肪肝有显著意义, 且厚度越大脂肪肝的可能性越大; 1.25、0.65、1.05、0.55 cm作为超声诊断脂肪肝时右肾长轴下极与短轴肾周以及左肾长

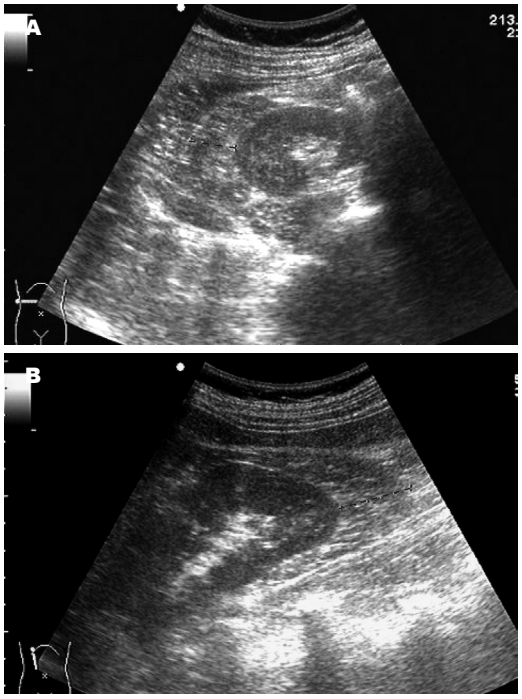


图 1 肾脏短轴肾周及长轴下极脂肪囊厚度测量声像图. A: 肾脏短轴肾周; B: 长轴下极; 虚线长度即为脂肪囊测量厚度.

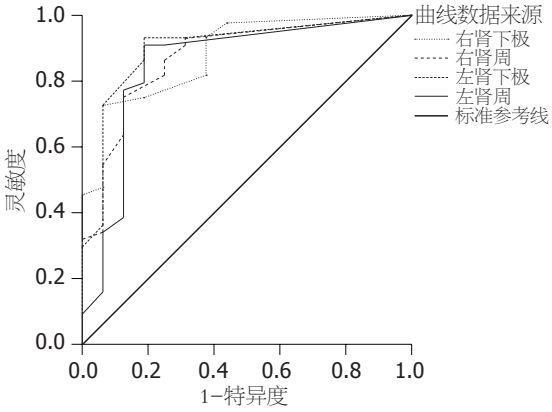


图 2 正常组与脂肪肝组ROC曲线.

■相关报道
Liu *et al*发现肠系膜脂肪厚度可以作为脂肪肝诊断的独立指标, 并且其厚度每增加1 mm脂肪肝的患病率提高1.5倍; Kim *et al*发现脂肪肝的发生与内脏脂肪的厚度存在正相关性.

表 1 不同分组间肾周脂肪囊的厚度 (mean ± SD, cm, 95%CI)

分组	*n*	右肾下极	右肾周	左肾下极	左肾周
正常组	30	0.47 ± 0.17(0.15–0.79)	0.24 ± 0.11(0.02–0.46)	0.28 ± 0.14(0.00–0.55)	0.21 ± 0.13(0.00–0.46)
脂肪肝组	60	1.56 ± 0.18[a](1.13–1.90)	0.92 ± 0.20[a](0.62–1.32)	1.35 ± 0.17[a](0.97–1.69)	0.86 ± 0.14[a](0.50–1.19)

[a]$P<0.05$ *vs* 正常组.

■**应用要点**
由超声测量肾周脂肪囊厚度是一种简单、实用的方法, 肾周脂肪囊厚度可作为脂肪肝超声诊断的参考指标.

表 2 不同部位选定脂肪囊厚度对应脂肪肝诊断的灵敏度与特异度

部位	脂肪囊厚度(cm)	灵敏度(%)	特异度(%)
右肾下极	1.25	72.7	93.7
右肾周	0.65	75.0	87.5
左肾下极	1.05	72.7	93.7
左肾周	0.55	77.3	87.5

轴下极与短轴肾周脂肪囊厚度的临界值, 其灵敏度分别为72.7%、75.0%、72.7%、77.3%; 特异度分别为93.7%、87.5%、93.7%、87.5%(表2, 图2).

3 讨论

脂肪肝是一种与脂肪代谢有关的病变, 正常肝脏含脂肪约5%, 当肝内脂肪含量增加、肝细胞内出现大量脂肪颗粒时, 即称为脂肪肝[11-12], 其与内脏及血管周围或本身脂肪变化有一定相关性. 国外已有学者针对腹壁皮下脂肪与腹腔内脏脂肪对脂肪肝进行了研究. Liu *et al*[6]对291例受检者通过超声进行肠系膜脂肪、皮下脂肪和腹膜前脂肪厚度的测量以及多项生化指标的化验, 对结果进行多元回归对照分析, 发现肠系膜脂肪厚度可以作为脂肪肝诊断的独立指标, 并且其厚度每增加1 mm脂肪肝的患病率提高1.5倍, 而皮下脂肪和腹膜前脂肪厚度与脂肪肝的发生没有明确的相关性. Kim *et al*[13]通过对1898例2型糖尿病患者进行内脏脂肪厚度的测量研究脂肪厚度与脂肪肝的相关性, 发现脂肪肝的发生与内脏脂肪的厚度存在正相关性. 而Illouz *et al*[14]通过研究2型糖尿病脂肪肝患者的脂肪分布, 发现腹部脂肪的分布与脂肪肝存在相关性. 本文针对肾周脂肪囊厚度的研究在正常组右肾下极、右肾周、左肾下极、左肾周脂肪囊厚度(均数)分别为0.47、0.24、0.28、0.21 cm; 脂肪肝组右肾下极、右肾周、左肾下极、左肾周脂肪囊厚度(均数)分别为1.56、0.92、1.35、0.86 cm, 两组之间比较差异具有显著意义($P<0.05$), 即肾周脂肪囊厚度可用于脂肪肝超声诊断的参考指标.

正常组与脂肪肝组肾周脂肪囊厚度的95%可信区间在测量部位均无交叉. 1.25、0.65、1.05、0.55 cm作为超声诊断脂肪肝时右肾长轴下极与短轴肾周以及左肾长轴下极与短轴肾周脂肪囊厚度的临界值时其灵敏度分别为72.7%、75.0%、72.7%、77.3%; 特异度分别为93.7%、87.5%、93.7%、87.5%. 因此1.25、0.65、1.05、0.55 cm作为超声诊断脂肪肝时右肾长轴下极与短轴肾周以及左肾长轴下极与短轴肾周脂肪囊厚度的临界值是可行的, 且厚度越大脂肪肝的可能性越大.

既往研究超声测量腹壁皮下脂肪与腹腔内脏脂肪证明了其与脂肪肝的相关性, 但是也存在探头重压可能导致所测数据误差较大的不足. 本研究选取肾周脂肪囊进行测量, 受探头压力影响小, 加之位于胃肠之后, 从腹侧探入, 基本不受肠内容物、气体的干扰, 是一种更加准确、可行的方法.

总之, 由超声测量肾周脂肪囊厚度是一种简单、实用的方法, 肾周脂肪囊厚度可作为脂肪肝超声诊断的参考指标. 但是其对于脂肪肝的分度未显示出相应价值, 今后可以通过进一步扩大样本量, 提高分组的精确度及采用更加先进的测量技术获得脂肪肝分度的有效指标.

4 参考文献

1 Delgado JS. Evolving trends in nonalcoholic fatty liver disease. *Eur J Intern Med* 2008; 19: 75-82
2 Bugianesi E, Gastaldelli A, Vanni E, Gambino R, Cassader M, Baldi S, Ponti V, Pagano G, Ferrannini E, Rizzetto M. Insulin resistance in non-diabetic patients with non-alcoholic fatty liver disease: sites and mechanisms. *Diabetologia* 2005; 48: 634-642
3 Paschos P, Paletas K. Non alcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome. *Hippokratia* 2009; 13: 9-19
4 Shifflet A, Wu GY. Non-alcoholic steatohepatitis: an overview. *J Formos Med Assoc* 2009; 108: 4-12
5 Badawi AM, Derbala AS, Youssef AM. Fuzzy logic algorithm for quantitative tissue characterization of diffuse liver diseases from ultrasound images. *Int J*

■同行评价
本文研究结果提示，超声测量肾周脂肪厚度可作为脂肪肝超声诊断的参考指标，且方法简便、易行，有一定的临床实用价值.

Med Inform 1999; 55: 135-147
6 Liu KH, Chan YL, Chan JC, Chan WB, Kong WL. Mesenteric fat thickness as an independent determinant of fatty liver. *Int J Obes* (Lond) 2006; 30: 787-793
7 王韧, 陈亚青, 周永昌, 朱浩华. 超声直方图对脂肪肝诊断的初步分析. 临床消化病杂志 2006; 18: 91-92
8 黄婷, 唐佐, 李汉英. 脂肪肝患者肝静脉多普勒频谱变化研究. 海南医学院学报 2005; 11: 506-509
9 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南. 中华肝脏病杂志 2006; 14: 161-163
10 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 酒精性肝病诊疗指南. 中华肝脏病杂志 2006; 14: 164-166
11 Palmentieri B, de Sio I, La Mura V, Masarone M, Vecchione R, Bruno S, Torella R, Persico M. The role of bright liver echo pattern on ultrasound B-mode examination in the diagnosis of liver steatosis. *Dig Liver Dis* 2006; 38: 485-489
12 周永昌, 郭万学. 超声医学. 第4版. 北京: 科学技术文献出版社, 2003: 895-896
13 Kim HJ, Cho MH, Park JS, Nam JS, Kang ES, Ahn CW, Cha BS, Lee EJ, Lim SK, Kim KR, Lee HC, Huh KB. Visceral fat thickness predicts fatty liver in Koreans with type 2 diabetes mellitus. *J Korean Med Sci* 2008; 23: 256-261
14 Illouz F, Roulier V, Rod A, Gallois Y, Pellé CP, Aubé C, Rohmer V, Ritz P, Ducluzeau PH. Distribution of adipose tissue: quantification and relationship with hepatic steatosis and vascular profiles of type 2 diabetic patients with metabolic syndrome. *Diabetes Metab* 2008; 34: 68-74

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009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Ar(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. 如37.6±1.2℃, 45.6±24岁, 56.4±0.5 d. 3.56±0.27 pg/ml应为3.56±0.27 ng/L, 131.6±0.4 mmol/L, t = 28.4±0.2℃. BP用kPa(mmHg), RBC数用×10^{12}/L, WBC数用×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、CO_2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B_1、维生素B_2、维生素B_6、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B_{12}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酒精; 5% CO_2, 50 mL/L CO_2; 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. (常务副总编辑: 张海宁 2009-06-28)

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年6月28日; 17(18): 1875-1878
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

临床经验 CLINICAL PRACTICE

急性戊型肝炎临床分析221例

黄云丽, 李 卓, 郝 娃, 谢玉兰, 陈新月

黄云丽, 李卓, 郝娃, 谢玉兰, 陈新月, 首都医科大学附属北京佑安医院 北京市 100069
国家高技术研究发展计划(863计划)基金资助项目, No. 2006AA02Z453
作者贡献分布: 此课题由黄云丽与李卓设计; 研究过程由黄云丽、李卓、郝娃、谢玉兰及陈新月操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由李卓与郝娃提供; 数据分析由谢玉兰完成; 本论文写作由黄云丽、李卓及陈新月完成.
通讯作者: 陈新月, 主任医师, 教授, 100069, 北京市, 首都医科大学附属北京佑安医院. xychen111@sina.com
收稿日期: 2009-03-27 修回日期: 2009-05-05
接受日期: 2009-05-11 在线出版日期: 2009-06-28

A clinical analysis of 221 patients with acute hepatitis E

Yun-Li Huang, Zhuo Li, Wa Hao, Yu-Lan Xie, Xin-Yue Chen

Yun-Li Huang, Zhuo Li, Wa Hao, Yu-Lan Xie, Xin-Yue Chen, Beijing Youan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100069, China
Supported by: the National High Technology Research and Development Program of China (863 Program), No. 2006AA02Z453
Correspondence to: Professor Xin-Yue Chen, Beijing Youan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100069, China. xychen111@sina.com
Received: 2009-03-27 Revised: 2009-05-05
Accepted: 2009-05-11 Published online: 2009-06-28

Abstract

AIM: To investigate and analyze clinical characteristics of patients with acute hepatitis E infection.

METHODS: Epidemiological data of 221 patients with acute hepatitis E infection were collected. Comparisons were performed to find the differences in disease course, biochemical index and prognosis amongst diverse age groups (below 18-years-old, between 18 and 60, above 60), different status of disease groups (hepatitis E infection only, hepatitis E infection accompanied by hepatitis B infection/alcohol hepatitis), and different antibody groups (anti-HEV-IgG positive, anti-HEV-IgM positive).

RESULTS: 84.8% (188/221) of patients were over 18 years old, and the ratio of male/female was 3.92 : 1. Then the characteristics of occupation distribution were people working outside, 108 patients (48.8%) in this group. In addition, season was another factor that influenced hepatitis E infection, especially from February to May during which there were 67.8% patients infected with hepatitis E. The clinical features were summarized into three points: prolonged disease course, an increased mortality and decreased levels of ALT/ALB were associated with older age. Second, the prevalence of severe liver disease and mortality in the group of hepatitis E infection accompanied by hepatitis B (7.8%, 1.9%) and alcohol hepatitis (6.0%, 3.0%) were higher than those in hepatitis E infection group (2.1%, 0.7%). In addition, there was no significant difference in clinical symptoms and biochemical indexes between anti-HEV-IgG positive and anti-HEV-IgM positive groups.

CONCLUSION: Four epidemiological characteristics, including adult, male, people working outside and winter/spring, are found to be associated with hepatitis E infection. The prognosis of disease in the majority of patients is favorable, old age and coexistence with hepatitis B and alcohol hepatitis can be seen as the factors which affect the prognosis.

Key Words: Acute hepatitis E; Clinical analysis; Hepatitis virus

Huang YL, Li Z, Hao W, Xie YL, Chen XY. A clinical analysis of 221 patients with acute hepatitis E. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(18): 1875-1878

摘要

目的: 观察和分析急性戊型肝炎的临床特点.

方法: 调查急性戊型肝炎患者221例的流行病学资料. 分别比较年龄18岁以下、18-60岁和60岁以上患者组, 单纯急性戊肝组和重叠慢乙型肝炎、酒精肝组以及单项抗-HEV-IgG阳性组与抗-HEV-IgM阳性组病例的病程、生化学指标、预后等方面的差异.

结果: 221例急性戊型肝炎患者中18岁以上者188例, 占84.8%; 男女之比3.92 : 1; 职业分布特点是外出务工者108例, 占48.8%; 2-5月份

■背景资料
近年来, 散发的戊型肝炎病例呈增多趋势, 戊型肝炎的临床经过较甲型肝炎复杂, 本文分析221住院病例的临床资料, 总结临床特点及病原学诊断依据, 以期为治疗和诊断提供参考.

■同行评议者
石统东, 副教授, 重庆医科大学附属第二医院感染病科

■研发前沿
临床很多病例有很典型的戊型肝炎特征, 但无病原学诊断依据, 目前已有HEV-PCR试剂检测, 应对临床诊断戊型肝炎提供帮助.

发病患者数占当年发病患者数的67.8%, 随患病年龄增加, 表现出住院时间延长, 病死率增加, ALT、ALB水平呈下降趋势, 各组比较均有显著差异. 重叠乙型肝炎和酒精肝组的重肝发生率及死亡率分别为7.8%、1.9%和6.0%、3.0%, 明显高于单纯戊肝组的2.1%和0.7%. 抗-HEV-IgG阳性与抗-HEV-IgM阳性病例的临床表现和各项生化学指标比较无显著性差异.

结论: 急性戊型肝炎成年人多发, 外务工者高发, 有冬春发病高峰. 大多数患者预后良好, 老年戊型肝炎及在乙型肝炎、酒精肝基础上重叠戊肝病毒感染可能是影响患者预后的主要因素.

关键词: 急性戊型肝炎; 临床分析; 肝炎病毒

黄云丽, 李卓, 郝娃, 谢玉兰, 陈新月. 急性戊型肝炎临床分析221例. 世界华人消化杂志 2009; 17(18): 1875–1878
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1875.asp

0 引言

甲型肝炎和戊型肝炎均为经粪-口途径传播的病毒性肝炎, 近年来, 随着甲肝疫苗接种的普及, 急性甲型肝炎已很少见. 因目前尚无戊型肝炎疫苗, 在临床中急性病毒性肝炎以戊型肝炎多见, 本文通过总结我院221例急性戊型肝炎病例的临床资料, 就其流行病学及临床特点做分析、报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2005-12-18/2007-06-18在我院诊断为病毒型肝炎急性戊型的住院患者221例, 诊断符合2000年西安全国传染病与寄生虫病学和肝病学术会议修订的诊断标准[1], 其中男176例, 女45例, 年龄52.41±13.73岁. 抗-HEV-IgM阳性136例, 抗-HEV-IgG阳性73例, 双抗体阳性12例; 单纯急性戊型肝炎患者143例, 慢性乙型肝炎、酒精性肝病基础上重叠急性戊型肝炎患者78例.

将病例做不同分组比较各组之间在病程(住院天数)、生化学指标及预后方面的差异. 第1组按年龄分为18岁以下、18-60岁和60岁以上组, 第2组分为单纯急性戊型肝炎组和乙型肝炎重叠感染戊型肝炎组、酒精肝重叠感染戊型肝炎组, 第3组抗-HEV-IgG阳性组与抗-HEV-IgM阳性组. 生化学指标包括丙氨酸转氨酶(ALT)和总胆红素(TB)的最高值、血清白蛋白(ALB)和凝血酶原活动度(PTA)的最低值.

1.2 方法 抗-戊型肝炎病毒(HEV)应用北京万泰生物药业公司生产的抗-HEV-IgM、IgG试剂盒. 肝功能采用全自动生化分析仪测定.

统计学处理 采用SPSS11.5统计软件, 用t检验和χ^2进行统计分析.

2 结果

2.1 流行病学特点 男性发病率为79.6%, 女性为20.3%, 男性发病率明显高于女性为3.92∶1. 患者中年龄18岁以下者占33例(15.1%), 18-60岁133例(59.2%), 60岁以上55例(25.6%). 职业分布特点为外出务工者108人, 占48.8%, 其次为职员, 占27.6%, 再为退休人员, 占17.6%, 其他职业如农民、医务工作者、学生等发患者数较少; 96%以上病例有经常在外就餐史或近期进食生鲜食品史. 2006-01/12共发病174例, 均为散发病例, 其中2-5 mo发患者数较多为118例(67.8%), 似有冬春季发病高峰.

2.2 临床特点

2.2.1 不同年龄组血清生化指标和预后的比较: 病例中97.2%均为急性黄疸型(215例), 无黄疸型少见. 共死亡3例(1.4%), 18-60岁组1例(0.7%), 60岁以上组2例3.6%. 18岁以下组以ALT显著升高伴轻到中度黄疸为主要表现: ALT>1000 U/L, TBIL<171 μmol/L, 住院天数在30 d左右; 60岁以上组患者则黄疸升高明显, 临床表现TBIL与ALT的上升幅度不平行, TBIL>171 μmol/L, 而ALT<1000 U/L, ALT水平明显低于其他两组患者, 住院天数延长, 约为18岁以下组的2倍, 部分患者曾出现腹水. 18-60岁组的各项生化学指标的数值在两者之间. 随着患病年龄增加, 表现为住院天数随之延长, ALT、ALB、水平呈下降趋势, 各组比较均有显著差异; 而TBIL水平呈上升趋势、PTA水平呈下降趋势, 但各组比较无显著性差异, 详见表1.

2.2.2 急性戊型肝炎组与重叠感染组比较: 重叠乙型肝炎、酒精肝组与单纯戊型肝炎组比较病程、ALT、ALB、PTA水平等指标均未见显著性差异, 但TBIL水平升高, 重叠乙型肝炎组4例(7.8%)发生重肝, 1例(1.9%)死亡, 重叠酒精肝组2例(6.0%)发生重肝, 1例(3.0%)死亡, 都明显高于单纯戊型肝炎组. 重叠乙型肝炎组发生重肝比例高于酒精肝组, 但无统计学意义, 详见表2.

2.2.3 单纯抗-HEV-IgG阳性与单纯抗-HEV-IgM阳性病例的生化学指标比较: 73例单纯抗-HEV-IgG阳性者均排除了HAV、HBV、HCV、CMV、EBV感染以及药物性肝炎、自身免疫性

表 1 年龄分组比较结果

	n	住院时间(d)	ALT(U/L)	TB(μmol/L)	ALB(g/L)	PTA(%)	死亡 *n*(%)
<18岁	33	28.9 ± 12.3	1189.3 ± 913.1	116.0 ± 99.37	36.0 ± 3.54	91.8 ± 29.3	0
18–60岁	133	39.7 ± 18.4[a]	1089.8 ± 853.4	159.8 ± 129.6	33.8 ± 4.3[b]	89.5 ± 23.2	1(0.7)
>60岁	55	53.3 ± 45.8[bd]	722.4 ± 668.6[bc]	170.3 ± 151.49	31.7 ± 3.7[bd]	84.9 ± 23.9	2(3.6)

[a]P<0.05, [b]P<0.01 *vs* <18岁组; [c]P<0.05, [d]P<0.01 *vs* 18–60岁组.

表 2 单纯戊型肝炎组与重叠乙型肝炎、酒精肝组比较结果

	n	住院时间(d)	ALT(U/L)	TB(μmol/L)	ALB(g/L)	PTA(%)	重肝 *n*(%)	死亡 *n*(%)
单纯戊型肝炎	143	41.5 ± 19.6	1046.6 ± 822.0	147.8 ± 123.7	33.9 ± 4.6	89.9 ± 24.0	3(2.1)	1(0.7)
重叠乙型肝炎	51	43.1 ± 25.7	1109.3 ± 799.2	190.8 ± 187.3[a]	32.3 ± 4.1	85.2 ± 21.4	4(7.8)[a]	1(1.9)
重叠酒精肝	33	42.6 ± 33.1	1066.4 ± 856.1	185.8 ± 144.2[a]	31.3 ± 3.6	87.4 ± 22.5	2(6.0)[a]	1(3.0)

[a]P<0.05 *vs* 单纯戊型肝炎组.

表 3 抗–HEV–IgG阳性与抗–HEV–IgM阳性病例的生化学指标比较

阳性抗体	*n*	ALT(U/L)	TBIL(μmol/L)	ALB(g/L)	PTA(%)
抗–HEV IgM	136	1025.7 ± 781.6	150.1 ± 115.6	34.5 ± 4.78	89.6 ± 23.6
抗–HEV IgG	73	1100.4 ± 654.1	145.9 ± 120.4	35.1 ± 3.67	88.7 ± 24.7

肝炎, 无近期大量饮酒史, 并具有急性肝炎的临床特征, 其临床表现和各项生化学指标与136例单纯抗-HEV-IgM阳性组比较均无显著性差异(均P>0.1), 表明在急性肝炎患者中如除外其他病毒感染或肝病, 单独抗-HEV-IgG阳性也可作为急性戊型肝炎的诊断依据(表3).

3 讨论

HEV于1983年被Balagan *et al*应用免疫电镜技术发现时称作非甲非乙型肝炎病毒, 1989年东京国际会议正式命名为HEV, 李金 *et al*[2]报道HEV在我国曾引起多次爆发流行. 近年来, 由于接种甲型肝炎疫苗人群的增多, 甲型肝炎发病率明显下降, 临床中HEV导致的急性戊型肝炎的发病呈逐渐增多趋势, 调查显示同期戊型肝炎的发病率为3.1%明显超过了甲型肝炎(1.2%). 人群对戊型肝炎病毒普遍易感, 男性发病率高于女性, 我们的资料显示外出务工者发病率高, 可能与在外就餐次数较多有关. 从发病年龄的分布情况分析, 临床感染者主要是成年人和老年人, 发患者数占84.8%, 而在儿童中未见发病, 庄辉[3]认为戊型肝炎在儿童中多为亚临床感染. 戊型肝炎因水源污染导致流行时有明显的地域性和季节性, 食源性感染则没有, 多为散发. 本组资料显示北京地区戊型肝炎发病为全年散发, 其中2-5 mo发病率较高, 似有冬春发病高峰的特点.

本组病例中97.2%的患者为急性黄疸型肝炎, 提示戊型肝炎造成的肝细胞的坏死或肝内胆汁淤积的程度较重, 因此临床表现为黄疸深、病程较长, 一般在1 mo以上, 临床经过相对复杂, 但绝大多数患者的转归良好. 我们发现, 随着患者年龄的增加存在病情随之加重的现象, 表现为黄疸加深, 并有重症化倾向, 病死率增加, 在60岁以上患者的死亡率为3.6%, 病程可长至2-3 mo, 与刘星 *et al*[4]报道相似. 分析原因, 可能是老年人肝脏的代偿能力较差, 在HEV感染后肝细胞发生炎症时坏死的程度较大而再生、修复的速度慢. 60岁以上患者还表现出在发病初期虽黄疸深而ALT升高幅度与黄疸升高程度不平行的现象, 陆伟明[5]认为这可能与老年人肝脏退行性改变, 肝细胞数目明显减少, 肝脏药物代谢酶活性减低, 蛋白合成能力降低有直接关系, 这也是老年戊型肝炎病情较重、易迁延的重要原因之一. 薛发轩 *et al*[6]认为乙型肝炎重叠HEV感染后重型肝炎的发生率增加, 在本组资料中显示乙型肝炎或酒精性肝病患者发生重叠

■**相关报道**
近年来, 由于接种甲型肝炎疫苗人群的增多, 甲型肝炎发病率明显下降, 临床中HEV导致的急性戊型肝炎的发病呈逐渐增多趋势, 调查显示同期戊型肝炎的发病率为3.1%明显超过了甲型肝炎(1.2%).

■同行评价
本研究样本量尚可, 结果可靠, 有一定的临床参考价值.

戊型肝炎组发生重型肝炎比率和死亡率高均于单纯戊型肝炎组, 提示在原有肝病基础上重叠HEV感染后会增加重型肝炎的发生率和死亡率, 治疗中除应对这样的患者加强治疗外, 还应考虑针对基础肝病的病因治疗, 例如乙型肝炎的抗病毒治疗. 综合以上分析, 认为可能直接影响戊型肝炎预后的主要因素是60岁以上发病和乙型肝炎或酒精性肝病基础上重叠感染. 张文谨 *et al*[7]、姜天俊 *et al*[8]也都将年龄和重叠感染列为判断预后的独立影响因素, 因此在临床工作中对于老年戊型肝炎和重叠感染者应严密观察病情并尽可能采取积极的治疗手段, 包括人工肝治疗, 甚至肝移植. 另外, 老年戊型肝炎患者在早期可因黄疸深而ALT升高幅度不明显, 易被误诊为梗阻性黄疸, 临床医生应对此加以重视, 注意鉴别.

目前, 在国内临床诊断戊型肝炎应用最广泛的是酶联免疫法检测抗-HEV IgG和HEV IgM[3], 但仍缺乏较高的特异性和敏感性, 而抗-HEV IgM大多被认为是现症感染的标志. 我们发现221例患者中85例抗-HEV IgG阳性的急性肝炎患者临床的各项指标与抗-HEV IgM阳性的患者比较无显著差异, 与刘婷 *et al*[9]的报告一致. 李奎 *et al*[10]发现在猕猴感染HEV后血清中抗-HEV IgG的峰值早于ALT的峰值或与其一致; 抗-HEV IgM和抗-HEV IgG在急性戊型肝炎患者血中最早检出时间为发病后2 d, 抗-HEV IgG在发病后2 wk的阳性率为93.9%. 因此我们认为在急性肝炎患者中, 如仅有单项抗-HEV IgG阳性, 其他病原学检查阴性并除外其他病因致病的可能后可作为诊断急性戊型肝炎的病原学依据. 刘婷 *et al*[9]认为仅出现抗-HEV IgG阳性可能与人工合成的HEV抗原与天然HEV的抗原存在差异, 或者在试剂制备时, 为了保持诊断的特异性而降低了敏感性等因素有关.

4 参考文献

1 中华医学会传染病与寄生虫病学会和肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案. 中华肝脏病杂志 2000; 8: 324-326
2 李金, 胡志东, 钟述猷. 戊型肝炎研究新进展. 国外医学・流行病学、传染病学分册 2004; 31: 205-207
3 庄辉. 重视戊型肝炎的研究. 中华肝脏病杂志 2004; 12: 5-6
4 刘星, 倪绍琴. 戊型肝炎120例临床分析. 实用肝脏病学杂志 2007; 10: 182-183
5 陆伟明. 老年戊型肝炎的特点. 胃肠病学和肝病学杂志 2007; 16: 65-68
6 薛发轩, 李智, 严红梅, 李长春, 刘志芬, 汪彤, 梁群. 散发性戊型肝炎78例临床分析. 中西医结合肝病杂志 2007; 17: 52-53
7 张文谨, 范振平, 张海燕, 蔡少平, 高峰, 陈红梅, 罗生强, 王福生. 重型戊型肝炎的早期预测分析. 中华医学杂志 2006; 86: 2144-2145
8 姜天俊, 闫子国, 闫慧颖, 范荣, 赵鹏, 石磊. 戊型肝炎重症化早期预警指标. 肝脏 2007; 12: 74-75
9 刘婷, 柯伟民, 赖菁, 朱睛. 单项抗-HEV-IgG阳性对急性戊型肝炎的临床诊断价值及其血清学特征. 实用肝脏病学杂志 2007; 10: 395-397
10 李奎, 庄辉, 朱万孚, 阮冰, 江家骥, 李盛, 翟琦, 姚桢, 唐荣兰, 陈雅洁. 抗戊型肝炎病毒IgG和IgM抗体对诊断急性戊型肝炎的意义. 中华内科杂志 1999; 38: 733-736

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》投稿方式

本刊讯 本刊只接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail, 印刷版. 在线投稿网址: http://wcjd.wjgnet.com/在线提交未成功, 请通过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 d. 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2本样刊及20套单行本(稿酬). (常务副总编辑: 张海宁 2009-06-28)

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年6月28日; 17(18): 1879-1882
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

临床经验 CLINICAL PRACTICE

超声造影对高强度聚焦超声治疗肝细胞癌的疗效评价

林 玲, 桂永忠, 梁 郑, 陈 健, 卢 强, 闽 敏

林玲, 梁郑, 卢强, 四川大学华西医院超声科 四川省成都市 610041
桂永忠, 陈健, 闽敏, 中国人民解放军452医院海扶刀肿瘤治疗部 四川省成都市 610061
作者贡献分布: 林玲和桂永忠对此文所作贡献均等; 此课题由林玲和桂永忠设计; 研究过程由林玲、桂永忠、梁郑、陈健、卢强及闽 敏操作完成; 数据分析和论文写作由林玲与桂永忠完成.
通讯作者: 桂永忠, 副主任医师, 610061, 四川省成都市, 中国人民解放军452医院海扶刀肿瘤治疗部. gyz2151@163.com
收稿日期: 2009-04-16 修回日期: 2009-05-24
接受日期: 2009-05-25 在线出版日期: 2009-06-28

Contrast-enhanced ultrasound in assessment of the therapeutic efficacy of high intensity focused ultrasound in treating hepatocellular carcinoma

Ling Lin, Yong-Zhong Gui, Zheng Liang, Jian Chen, Qiang Lu, Min Min

Ling Lin, Zheng Liang, Qiang Lu, Department of Ultrasound, West-China Hospital of Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China
Yong-Zhong Gui, Jian Chen, Min Min, Department of HIFU Oncotherapy, the 452nd Hospital of the Chinese PLA, Chengdu 610061, Sichuan Province, China
Correspondence to: Dr. Yong-Zhong Gui, Department of HIFU Oncotherapy, the 452nd Hospital of the Chinese PLA, Chengdu 610061, SichuanProvince, China. gyz2151@163.com
Received: 2009-04-16 Revised: 2009-05-24
Accepted: 2009-05-25 Published online: 2009-06-28

Abstract

AIM: To evaluate the role of contrast-enhanced ultrasonography in assessing the short-term therapeutic response of hepatocellular carcinoma with high intensity focused ultrasound (HIFU).

METHODS: Thirty two patients with hepatocellular carcinoma (HCC) received HIFU treatments including 23 part-covered treatments and 9 full-covered treatments. Contrast-enhanced ultrasound (CEUS) imaging was performed to monitor the response of tumor vessels to HIFU ablation before the treatment and 1-4 d after the treatment separately. Simultaneously, all patients underwent routine US for comparison.

RESULTS: Compared with tumor images in the patients before HIFU which showed multiple blood flow signals, clinical images showed an abrupt interruption, followed by the cessation of blood flow within the tumor vessels after HIFU treatment, demonstrating that homogeneous coagulative necrosis occurred in the treatment area. According to the final diagnosis as gold standard, the accuracy of CEUS for HIFU was much better than the conventional ultrasonography (90.6% *vs* 46.9%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: CEUS can accurately differentiate tumor necrosis and evaluate therapeutic efficacy of HIFU.

Key Words: High intensity focused ultrasound; Contrast-enhanced ultrasound; Hepatocellular carcinoma

Lin L, Gui YZ, Liang Z, Chen J, Lu Q, Min M. Contrast-enhanced ultrasound in assessment of the therapeutic efficacy of high intensity focused ultrasound in treating hepatocellular carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(18): 1879-1882

摘要

目的: 探讨应用超声造影技术评价高强度聚焦超声(HIFU)治疗原发性肝细胞癌(HCC)的有效性.

方法: HIFU治疗HCC患者32例, 分别采取部分覆盖肿瘤治疗23例及完全覆盖肿瘤治疗9例, 于治疗前和治疗后1-4 d行超声造影检查, 通过对比观察HIFU治疗前后肿瘤内血流灌注变化来判断肿瘤是否凝固性坏死.

结果: HIFU治疗前超声造影显示肿瘤内血流灌注丰富; HIFU治疗后, 超声造影显示治疗区无血流灌注, 提示治疗区域发生凝固性坏死. 以最终诊断为金标准, 超声造影对肿瘤灭活诊断的准确性高于常规彩超(90.6% *vs* 46.9%, $P<0.05$).

结论: 超声造影能准确判断HIFU对肿瘤消融范围及程度, 为HCC患者HIFU治疗后的早期疗效评价提供依据.

■背景资料
高强度聚焦超声(HIFU)是近年才开始应用于临床的微创治疗实体肿瘤的新技术, HIFU治疗原发性肝癌的疗效已被大量临床应用所证实, 但关于治疗后效果的评价的新方法报道尚少. 超声造影(CEUS)是现代超声领域研究的热点之一, 他可以敏感地显示肝肿瘤的供血以及微血管灌注情况, 能够为肝脏肿瘤的微创治疗疗效评价提供较为准确的信息.

■同行评议者
孙明军, 教授, 中国医科大学附属第一医院内镜中心; 季国忠, 教授, 南京医科大学第二附属医院消化科

■研发前沿
超声造影(CEUS)是现代超声领域研究的热点之一，尤其是肝脏肿瘤的研究十分活跃，但对于微创治疗疗效评估中的应用，目前的研究仅限于治疗后短期的评估，长期疗效评价仍有待进一步研究.

关键词: 高强度聚焦超声; 超声造影; 肝细胞癌

林玲, 桂永忠, 梁郑, 陈健, 卢强, 闽敏. 超声造影对高强度聚焦超声治疗肝细胞癌的疗效评价. 世界华人消化杂志 2009; 17(18): 1879–1882
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1879.asp

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是我国发病率极高的恶性肿瘤之一，手术是其传统的治疗方法，但对于中晚期肝癌，往往手术困难[1]. 随着科学技术的进步，近年来以微创、介入为发展方向的治疗HCC的新方法不断出现，其中高强度聚焦超声(high intensity focused ultrasound, HIFU)是近几年飞速发展起来的非侵入性局部肿瘤灭活消融新技术，其原理是通过超声波汇聚于靶区引起组织瞬间升温而发生凝固性坏死[2-3]，对其疗效观察的方法有常规彩超、增强CT和MRI、DSA血管造影等. 常规彩超因血流敏感性低而使用受限，超声造影(contrast-enhanced ultrasound, CEUS)则大大提高了病灶内微血管检测的敏感度，在肝脏肿瘤微创治疗疗效评价中的应用受到肯定[4]. 我们利用CEUS对HCC行HIFU治疗后的近期疗效进行观察，发现其可以准确的评价HIFU治疗效果，现将结果报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 2007-04/2008-05我院经HIFU治疗的HCC患者32例，男30例，女2例，年龄36-75(平均年龄55)岁. 肿瘤病灶32个，直径3.5-12.5 cm. 肿瘤TNM分期: Ⅰ期1例，Ⅱ期8例，Ⅲa期17例，Ⅲb期6例. 全部病例均为住院患者，治疗前诊断均经相关检查及病理证实.

1.2 方法 采用Phlilips IU 22超声诊断仪，C5-2宽频凸阵探头，匹配实时造影成像技术. 造影剂采用意大利Bracco公司生产的SonoVue，造影微泡为磷脂微囊六氟化硫，微泡平均直径2.5 μm. 使用方法为经肘静脉快速注入造影剂，实时观察造影全过程并行图像存储. 肿瘤HIFU治疗前后1-4 d，分别行常规超声和超声造影检查，观察病灶数目、大小、回声、彩色多普勒血流(color doppler flow image, CDFI)及超声造影剂灌注情况等，评价疗效.

HIFU治疗后以治疗覆盖区CEUS各期均无增强作为灭活的依据，超声造影以局部有动脉期增强、门脉期及延迟期造影剂逐渐消退，增强表现同治疗前为肿瘤残存; CDFI诊断肿瘤灭活或残存的依据分别为治疗覆盖区无或有多普勒血流信号. 肿瘤灭活或残存的最终诊断依据两种以上影像学(超声、CT、MRI)、肿瘤标志物水平、穿刺活检、临床随访综合判断.

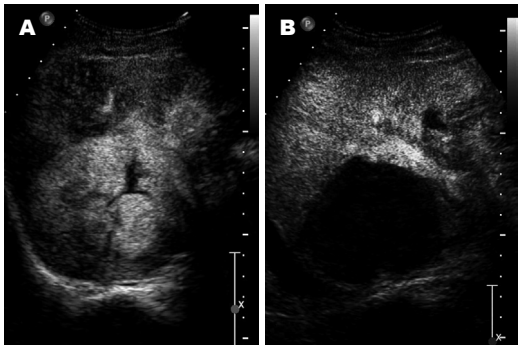


图 1 HIFU治疗前后超声造影. A: HIFU治疗前超声造影肿瘤增强提示血供丰富; B: HIFU治疗后超声造影肿瘤无增强提示完全凝固性坏死.

HIFU治疗使用重庆海扶(HIFU)技术有限公司生产的JC型聚焦超声肿瘤治疗系统. 主要治疗参数为: (1)治疗频率0.8 MHz; (2)焦域平均直径1.3 mm; (3)焦距135 mm; (4)焦域声强5328-16285 W/cm^2. HIFU治疗将32例HCC患者分成2组，第1组: 23例，患者肿瘤较大，TNM分期: Ⅲa期及Ⅲb期，采取部分覆盖肿瘤进行治疗; 第2组: 9例，孤立性肿瘤，TNM分期: Ⅰ期及Ⅱ期，采取完全覆盖肿瘤进行治疗. HIFU治疗时，通过超声探头实时监控定位，确定病灶治疗范围，进行靶区的三维立体扫描治疗，并根据每个层面治疗前后靶区回声变化、由计算机图像处理系统判断HIFU治疗效果，以治疗后靶区回声增强为治疗有效，并从回声变化反馈调节治疗声功率.

统计学处理 采用SPSS11.0统计软件，计量资料做配对t检验，计数资料做组间χ^2检验，以$P<0.05$为差异有显著性意义.

2 结果

2.1 HIFU治疗前超声造影 患者肝脏肿瘤超声造影病灶表现为“快进快出”的特点，即在动脉期肝实质尚未增强时肿瘤病灶已开始增强，与肝动脉同时增强，部分患者病灶增强甚至早于肝内动脉; 病灶在动脉期呈高增强; 门脉期及延迟期病灶内造影剂逐渐消退，消退较周围肝实质快，病灶表现为低增强(图1A).

2.2 HIFU治疗后超声造影 与最终诊断相比，常规彩超对肿瘤灭活诊断的敏感性为42.9%，特异性为54.5%，准确性为46.9%，超声造影对肿瘤

表 1 HIFU治疗后治疗覆盖区超声造影与常规彩超检查结果比较

检查方法	诊断结果	最终诊断		敏感性(%)	特异性(%)	准确性(%)
		灭活	残存			
CDFI	灭活	9	5	42.9	54.5	46.9[a]
	残存	12	6			
CEUS	灭活	19	1	90.5	90.9	90.6[a]
	残存	2	10			

[a]$P<0.05$.

灭活诊断的敏感性为90.5%, 特异性为90.9%, 准确性为90.6%. 超声造影在肿瘤灭活诊断的准确性明显优于常规彩超, 二者差异有统计学意义(90.6% *vs* 46.9%, $P<0.05$)(图1B, 表1).

3 讨论

HIFU是一种通过热消融对实体肿瘤的局部治疗手段, 利用超声波具穿透性和可聚焦性等物理特征, 将体外低能量超声波聚焦于体内深部肿瘤病灶, 焦点区产生的瞬态高温效应和空化效应致使肿瘤组织发生凝固性坏死, 同时破坏肿瘤滋养血管, 使肿瘤血供障碍产生继发性损伤[5-7]. HIFU治疗成功的关键在于肿瘤是否发生凝固性坏死. 因此, 采用适当的影像学方法及时判断肿瘤的坏死状况至关重要.

近年来, 随着新型超声造影剂及造影成像技术的发展, 超声造影在肝肿瘤诊断和介入治疗疗效评价中应用较多, 表明新一代超声造影剂能够对肿瘤微血管灌注进行实时显像[8], 对肿瘤灭活诊断的敏感性和准确性与增强CT高度一致[9-10]. 但目前对HIFU治疗肝细胞癌的疗效评价报道甚少, 本文旨在探讨超声造影在HIFU治疗原发性肝癌疗效评价中的应用价值.

本研究运用新一代超声造影剂SonoVue对32例HCC患者HIFU治疗疗效进行观察, 并与常规彩超进行比较. 治疗前均通过超声造影检查, 肿瘤血供丰富, 造影剂灌注呈“快进快出”, 符合HCC表现. HIFU治疗后, 由于肿瘤组织发生凝固性坏死, 肿瘤血管破坏, 超声造影治疗区域各期均无强化, 提示血供消失, 肿瘤组织已发生凝固性坏死[11]. 对判断肿瘤是否完全灭活提供较为可靠的依据. 本研究中, 与最终诊断相比, 超声造影对肿瘤灭活诊断敏感性为90.5%, 特异性为90.9%, 准确性为90.6%; 常规彩超对肿瘤灭活诊断的敏感性为42.9%, 特异性为54.5%, 准确性为46.9%. 超声造影在肿瘤灭活诊断的准确性明显优于常规彩超, 二者差异有统计学意义($P<0.05$). 因此, 超声造影可以作为HIFU治疗后短期影像学随访手段, 而常规彩超由于血流探测敏感性低不能作为随访手段. 我们的这一临床研究结论与同类研究结果相近似[4,12].

本研究中32例患者, 根据治疗方案的不同分为2组, 第1组23例为中晚期患者, 肿瘤病灶较大, 平均直径8.5±2.5 cm, TNM分期: IIIa期及IIIb期, HIFU治疗为姑息性治疗, 选用部分性覆盖肿瘤进行治疗, 其目的让治疗区域的肿瘤组织凝固性坏死, 达到肿瘤体积缩小, 减缓症状, 为进一步治疗创造机会. HIFU治疗后超声造影提示6例治疗覆盖区有残存. 第2组9例, 为孤立性肿瘤, TNM分期: Ⅰ期及Ⅱ期, 采取完全覆盖肿瘤进行治疗. HIFU治疗后, 超声造影提示5例治疗覆盖区有残存. 针对超声造影增强部位即残存部位, 均再次进行HIFU治疗, 最终使治疗覆盖区完全灭活, 超声造影各期均无增强, 达到了治疗目的. 同时也说明HIFU治疗肝癌病灶局部效果明确, HIFU治疗可造成病灶的凝固性坏死, 其范围和程度取决于病灶为完全或部分性覆盖. HIFU是在体外操作, 可准确、完整地对体内肿瘤进行原位无创切除, 32例肝癌患者HIFU治疗后, 通过临床随访, 患者肝区疼痛缓解、肝癌病灶体积减小、肿瘤标记物下降, 无1例出现重要脏器功能明显异常和严重并发症.

超声造影使得超声诊断水平获得质的飞跃, 为HIFU在肝癌治疗后的疗效评价提供了一种新型有效的方法. 本研究中32例患者共行超声造影43次, 无过敏反应及其他不适发生. 对于CT造影剂过敏者和短期内需多次做造影检查确定疗效者, 超声造影更显其优越性.

目前的研究[13-15]认为, 超声造影可以用于局部治疗后疗效评价及指导穿刺活检及补充治疗, 但仅可作为治疗后短期的疗效评价, 长期疗效评价需进一步研究. 且目前超声造影对0.5 cm以下的肝癌或肝癌卫星灶可能难以显示. 因此, 超声造影对于肝癌HIFU治疗效果的评价仍需进一步的经验积累和长期随访.

■**应用要点**
超声造影(CEUS)技术的应用为肝脏肿瘤HIFU治疗的疗效评估提供了一种新思路和手段.

4 参考文献

1 薛净, 沙卫红, 聂玉强, 李瑜元, 张亚历, 周殿元. 高强度聚焦超声治疗肝细胞癌的疗效及其影响因素. 世界华人消化杂志 2006; 14: 3377-3381
2 Wu F, Wang ZB, Chen WZ, Zou JZ, Bai J, Zhu H, Li KQ, Jin CB, Xie FL, Su HB. Advanced hepatocellular carcinoma: treatment with high-intensity focused ultrasound ablation combined with transcatheter

■同行评价
本研究主要探讨了超声造影技术在HIFU治疗原发性肝癌的疗效评价中的应用价值，提出超声造影为一种新型有效的原发性肝癌HIFU治疗后疗效评估方法，有一定的新意和临床指导价值.

arterial embolization. *Radiology* 2005; 235: 659-667
3 Wang XJ, Yuan SL, Lu YR, Zhang J, Liu BT, Zeng WF, He YM, Fu YR. Growth inhibition of high-intensity focused ultrasound on hepatic cancer in vivo. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 4317-4320
4 王文平, 魏瑞雪, 丁红, 齐青, 黄备建. 肝肿瘤实时超声造影的血流动力学分析. 中华超声影像学杂志 2004; 13: 359-362
5 关利民, 王智彪, 白晋, 伍烽, 文爽, 李崇雁, 杜永洪. 高强度超声对兔肝肿瘤营养血管损伤作用的病理观察. 中国超声医学杂志 2006; 22: 5-7
6 Li CX, Xu GL, Jiang ZY, Li JJ, Luo GY, Shan HB, Zhang R, Li Y. Analysis of clinical effect of high-intensity focused ultrasound on liver cancer. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 2201-2204
7 Wu F, Wang ZB, Chen WZ, Zhu H, Bai J, Zou JZ, Li KQ, Jin CB, Xie FL, Su HB. Extracorporeal high intensity focused ultrasound ablation in the treatment of patients with large hepatocellular carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2004; 11: 1061-1069
8 王洪波, 侯秀娟, 王晓蕾, 王虹, 刘爱武. 实时灰阶超声造影在肝肿瘤诊断中的价值. 世界华人消化杂志 2007; 15: 2726-2729
9 Maruyama H, Yoshikawa M, Yokosuka O. Current role of ultrasound for the management of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 1710-1719
10 胡建群, 叶新华, 范伯强, 林红军, 汪惠宁, 彭小静, 苗毅, 郭峰, 范钦和, 俞同福, 张伟民. 超声造影在肝脏恶性肿瘤射频或微波治疗后近期疗效应用评价. 南京医科大学学报(自然科学版) 2007; 27: 1290-1293
11 王兴华, 董宝玮, 于晓玲. 超声造影评价肝肿瘤血流灌注及其机理的研究进展. 消化外科 2004; 2: 238-240
12 罗葆明, 文艳玲, 智慧, 段红艳, 杨海云, 冯霞. 实时谐波超声造影在肝肿瘤消融治疗中的应用. 中国超声医学杂志 2005; 21: 522-524
13 吕珂, 姜玉新, 蔡胜, 夏宇, 朱庆莉. 反向脉冲谐波超声造影显像评价肝恶性肿瘤介入治疗疗效. 中国医学影像技术 2004; 20: 335-338
14 Lencioni R, Della Pina C, Crocetti L, Bozzi E, Cioni D. Clinical management of focal liver lesions: the key role of real-time contrast-enhanced US. *Eur Radiol* 2007; 17 Suppl 6: F73-F79
15 Maruyama K, Yoshikawa M, Yokosuka O. Contrast-enhanced ultrasonography: a recent application for the diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma. *JNMA J Nepal Med Assoc* 2008; 47: 156-166

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》中文摘要要求

本刊讯 本刊中文摘要必须在350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). (常务副总编辑: 张海宁 2009-06-28)

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年6月28日; 17(18): 1883-1887
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

临床经验 CLINICAL PRACTICE

NDRG1在原发性肝细胞癌及胎肝中的表达及意义

陈金培, 杨耀湘

陈金培, 广东省广州市第一人民医院病理科 广东省广州市 510180
杨耀湘, 广州中医药大学基础医学院 广东省广州市 510405
作者贡献分布: 陈金培对此文作主要贡献; 研究过程由陈金培与杨耀湘操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由陈金培提供; 数据分析由杨耀湘完成; 本论文写作由陈金培与杨耀湘完成.
通讯作者: 陈金培, 主治医师, 510180, 广东省广州市, 广州市第一人民医院病理科. yangyaoxiang@163.com
电话: 020-81045130
收稿日期: 2009-04-05 修回日期: 2009-05-14
接受日期: 2009-05-18 在线出版日期: 2009-06-28

Expression of NDRG1 in primary hepatocellular carcinoma and fetal liver and its significance

Jin-Pei Chen, Yao-Xiang Yang

Jin-Pei Chen, Department of Pathology, Guangzhou First Municipal People's Hospital, Guangzhou 510108, Guangdong Province, China
Yao-Xiang Yang, Department of Pathology, College of Basic Medicine, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China
Correspondence to: Dr. Jin-Pei Chen, Department of Pathology, Guangzhou First Municipal People's Hospital, Guangzhou 510108, Guangdong Province, China. yangyaoxiang@163.com
Received: 2009-04-05 Revised: 2009-05-14
Accepted: 2009-05-18 Published online: 2009-06-28

Abstract

AIM: To investigate the expression of NDRG1 in primary hepatocellular carcinoma (HCC) and fetal liver and its significance.

METHODS: Eighty one surgical resection specimens of hepatocellular carcinoma were obtained during 2002-01 and 2008-12, and all patients did not undergo pre-operative radiotherapy or chemotherapy. Twenty five fetal liver tissue specimens were taken from fetuses at different months (4, 5, 6, 7, 8 mo of the five cases of fetus). Forty three cases of para-carcinoma tissues, 10 cases of liver cirrhosis tissue, 9 cases of normal liver tissue (liver transplantation), and 8 cases of primary cancer metastasis tissue were taken as the controls. The pathological morphological characteristics of liver tissue were observed, and the expression of NDRG1 was detected using immunohistochemical EnVision.

RESULTS: NDRG1 expression in normal liver tissue was strongly positive, and the average optical density value was 0.206 ± 0.056. With the progress of carcinoma, NDRG1 expression was weakened in para-carcinoma tissues, and the average optical density value was 0.176 ± 0.083. It was decreased significantly in the HCC (0.128 ± 0.096), bottomed in metastasis focus (0.059 ± 0.051), and was also lower in fetal liver tissue (0.059 ± 0.074). The overall differences among the groups were statistically significant (F = 33.669, P < 0.05). HCC was not related to the age, sex, history of hepatitis, with or without cirrhosis, carcinoma size, AFP value, HbsAg, with or without lymph node metastasis, or distant metastasis, carcinoma type, Child-Pugh classification, TNM staging , CLIP stages (P > 0.05), but related to the Edmondson classification of carcinoma (F = 2.881, P < 0.05).

CONCLUSION: Low-expression of NDRG1 in HCC is observed and the expression is further decreased with the tumor development and progression. Therefore, NDRG1 exerts an inhibitory effect on HCC, suggesting that the gene is expected to become a molecular marker for the early prediction of HCC metastasis.

Key Words: N-myc downstream regulated gene 1; Hepatocellular carcinoma; Fetal liver; Immunohistochemistry

Chen JP, Yang YX. Expression of NDRG1 in primary hepatocellular carcinoma and fetal liver and its significance. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(18): 1883-1887

摘要

目的: 探讨NDRG1在原发性肝细胞癌(HCC)及胎肝组织中的表达及其意义.

方法: 收集2002-01/2008-12广州市第一人民医院手术切除的肝细胞癌标本81例. 所有患者术前未行放疗和化疗; 25例胎肝组织, 取自不同月份流产或引产的胎儿(4、5、6、7、8 mo胎

■背景资料
NDRG1是新近发现的与细胞分化有关的基因, NDRG1与肿瘤的关系引起人们的关注. 最初的研究发现, NDRG1可能是与细胞分化程度正相关的抑癌基因. 然而最近报道, 认为可以把NDRG1作为一种新的检测癌症的标志物.

■同行评议者
李瑗, 教授, 广西肿瘤研究所

儿各5例); 另选43例癌旁组织, 10例肝硬化组织, 9例正常肝组织(移植肝), 8例原发癌转移灶组织作为对照. 观察肝脏组织病理形态特征, 并用免疫组织化学EnVison法检测NDRG1的表达.

结果: NDRG1在正常肝组织中呈强阳性表达, 平均吸光度值为0.206±0.056, 随着肿瘤的发生, 在癌旁组织中有减弱(0.176±0.083), 在HCC中表达明显减弱(0.128±0.096), 在转移灶中表达最低(0.059±0.051), 而在胎肝组织中表达亦较低(0.059±0.074). 各组总体差异均有统计学意义(F = 33.669, P<0.05). HCC与患者年龄、性别、肝炎病史、肝硬化、肿瘤大小、AFP值、HbsAg、淋巴结转移及有无远处转移、肿瘤分型、Child-Pugh分级、TNM分期、CLIP分期均无关(P>0.05), 但与肿瘤的Edmondson分级有关(F = 2.881, P<0.05).

结论: NDRG1在HCC中低表达, 并且随着肿瘤的发生发展, 表达量逐渐降低. NDRG1可能对HCC起着抑制作用, 提示该基因可望成为早期预测肝癌转移的分子生物学标志物之一.

关键词: NDRG1; 肝细胞癌; 胎肝; 免疫组织化学

陈金培, 杨耀湘. NDRG1在原发性肝细胞癌及胎肝中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2009; 17(18): 1883-1887
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1883.asp

■**研发前沿**
目前, 临床研究领域主要集中在肿瘤的早期发现和寻找新的有效治疗手段. 而新的肿瘤标志物可以为恶性肿瘤的诊断及治疗提供很大的帮助.

■**相关报道**
一些学者发现, 与正常组织相比, 在多种肿瘤细胞株及肿瘤组织, 如乳腺癌、前列腺癌、结肠癌中, NDRG1都呈低表达, 故该基因过表达则可抑制肿瘤细胞的生长. 但Cangul *et al*的研究结果却对上述结论提出了质疑, 他们在实验中观察到, 在多种肿瘤组织, 如肺癌、脑肿瘤、肝癌、前列腺癌、乳腺癌、肾癌和黑色素瘤中, NDRG1蛋白的表达明显增高. 何静 *et al*通过Northern blot和RT-PCR方法检验发现NDRG1基因功能的表达量随婴鼠肝和人胎肝的发育而增高, 至已达分化的成年肝又有所降低.

0 引言

NDRG1是新近发现的与细胞分化有关的基因, 该基因曾被多个学者相继独立发现和分离, 因此其名称也有多种, 后被人类基因组组织(human geneome organization, HUGO)基因命名委员会正式命名为NDRG1(N-myc downstream regulated gene 1). 最初的研究发现, NDRG1在结肠癌、前列腺癌中呈低表达, 在体外诱导分化的结肠癌细胞系高表达, 因而可能是与细胞分化程正相关的抑癌基因[1-2]. 然而最近报道, NDRG1蛋白在正常组织中低表达, 在乳腺癌、肺癌、肾癌、黑色素瘤等多种癌组织中高表达, 认为可以把NDRG1蛋白作为一种新的检测癌症的标志物[3]. 本文应用免疫组织化学染色, 分析NDRG1基因在原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)中的表达特点及其与临床病理之间的关系.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2002-01/2008-12广州市第一人民医院手术切除的肝细胞癌标本81例, 所有患者术前未行放疗和化疗; 25例胎肝组织, 取自不同月份流产或引产的胎儿(4、5、6、7、8 mo胎儿各5例); 另选43例癌旁组织, 10例肝硬化组织, 9例正常肝组织(移植肝), 8例原发癌转移灶组织作为对照. NDRG1为浓缩型羊多克隆抗体, 工作浓度为1∶100, 购自Santa Cruz; 二抗为浓缩型兔抗羊多克隆抗体, 稀释比例为1∶200; 二抗及EnVision试剂盒等均购自Dako公司. 所有标本均经100 g/L甲醛溶液固定12-24 h, 石蜡包埋切片. 进行EnVision法免疫组织化学染色, 其具体步骤按试剂盒说明进行. 用PBS替代一抗作为阴性对照, 以已知阳性切片作阳性对照. 每次试验均设阳性对照及阴性对照. 严格染色质控条件, 所有染色步骤和时间一致.

1.2 方法

1.2.1 收集病例资料: 收集一般性资料, 包括患者性别、年龄、有无肝炎病史、肿瘤大小、AFP值、HbsAg、有无淋巴结转移、有无远处转移、肿瘤的病理学分型、Edmondson分级、Child-Pugh分级、TNM分期、CLIP分期.

1.2.2 免疫组织化学染色结果判定: NDRG1在细胞中的表达呈现棕黄色或黄色颗粒状染色. 在显微镜下观察阳性反应产物的分布, 应用彩色图像分析系统进行定量分析, 以减少人为因素的干扰, 使结果判定更客观. 本实验采用麦克奥迪数码医学图像分析系统, 切片在光镜下按统一放大倍数(×400)进行分析, 每张切片随机摄取10个视野, 输入计算机作为测定视场, 选择平均吸光度(A值), 其代表染色强度, 能较准确地反映阳性产物颜色深浅的平均状况[4].

统计学处理 所有数值均用mean±SD表示, 采用SPSS11.5统计软件包进行分析, 计量资料用方差分析. P<0.05有显著差异.

2 结果

2.1 临床病理学特点 81例HCC患者中男71例, 女10例; 年龄23-77(平均53.8)岁, 中位年龄55岁. 标本均经HE染色证实为HCC, 其中伴肝硬化者52例, 占64.2%; 术前测定血清AFP阳性30例(AFP>400 μg/L为阳性), AFP阴性51例; HBsAg阳性者61例, 阴性者20例; 有肝炎病史者44例, 无肝炎病史者37例; 肿瘤直径小于3 cm者16例, 最大直径小于5 cm者9例, 最大直径大于5 cm者56例; 有淋巴结转移者2例, 无淋巴结转移者79例; 有远处转移者2例, 无远处转移者79例.

表 1 NDRG1表达与HCC临床病理间的关系

项目	*n*	*A*值	*F*值	*P*值
性别				
男	71	0.125±0.096	0.710	0.402
女	10	0.152±0.093		
年龄				
≤40	15	0.105±0.070		
40–60	42	0.132±0.100	0.545	0.582
>60	24	0.135±0.103		
肝炎病史				
有	44	0.127±0.101	0.020	0.888
无	37	0.130±0.091		
肝硬化				
有	52	0.135±0.102	0.925	0.339
无	29	0.113±0.083		
直径(cm)				
<3	16	0.130±0.096		
最大直径≤5	9	0.130±0.089	0.006	0.994
最大直径>5	56	0.127±0.098		
AFP(μg/L)				
<400	51	0.123±0.087	0.337	0.563
>400	30	0.136±0.110		
HbsAg				
+	61	0.122±0.942	0.997	0.321
–	20	0.147±0.100		
淋巴结转移				
有	2	0.043±0.002	1.624	0.206
无	79	0.130±0.096		
远处转移				
有	2	0.180±0.049	0.612	0.436
无	79	0.127±0.096		
分型				
梁索型	44	0.134±0.106		
腺样型	15	0.117±0.100	0.204	0.816
实体型	22	0.124±0.071		
Edmondson分级				
Ⅰ级	2	0.282±0.237		
Ⅱ级	41	0.141±0.100	2.881	0.041
Ⅲ级	29	0.110±0.074		
Ⅳ级	9	0.095±0.080		
Child–Pugh分级				
A级	71	0.126±0.096		
B级	7	0.158±0.102	1.115	0.333
C级	1	0.009		
TNM分期				
Ⅰ期	43	0.125±0.098		
Ⅱ期	6	0.141±0.115		
Ⅲ A期	10	0.142±0.117	0.344	0.884
Ⅲ B期	19	0.122±0.083		
Ⅲ C期	1	0.045		
Ⅳ期	2	0.180±0.049		
CLIP分期				
0分	5	0.119±0.067		
1分	3	0.070±0.085		
2分	34	0.131±0.086	0.281	0.889
3分	31	0.130±0.114		
4分	6	0.125±0.101		

2.2 临床分级、分型及分期 HCC的组织学分级以肿瘤中多数癌细胞为依据, 按照Edmondson四级法分级: Ⅰ级2例, Ⅱ级41例, Ⅲ级29例, Ⅳ级9例(其中Ⅰ级为高分化, Ⅱ、Ⅲ级为中分化, Ⅳ级为低分化); 梁索型44例, 腺样型15例, 实体型22例; TNM分期标准, Ⅰ期者43例, Ⅱ期者6例, ⅢA期者10例, ⅢB期者19例, ⅢC期者1例, Ⅳ期者2例; Child-Pugh分级标准(共79例, 1例无PT值, 1例无TBIL值), A级者71例, B级者7例, C级者1例; CLIP分期标准(共79例, 2例无Chlid值): 0分者5例, 1分者3例, 2分者34例, 3分者31例, 4分者6例.

2.3 NDRG1在HCC中的表达及其与临床病理的关系 NDRG1阳性染色见于细胞质或细胞膜. NDRG1在正常肝组织(图1A)中呈强阳性表达, 平均*A*值为0.206±0.056; 肝硬化组织(图1B)中NDRG1表达有所减弱(0.198±0.074); 随着肿瘤的发生, 在癌旁组织(图1C)中该基因表达进一步减弱, 平均*A*值为0.176±0.083; 在HCC(图1D)中表达明显减弱(0.128±0.096), 而转移灶(图1E)中表达最低(0.059±0.051). 各组总体差异均有统计学意义(F = 33.669; P<0.05).从表1中可见HCC与患者的年龄、性别、肝炎病史、有无肝硬化、肿瘤的大小、AFP值、HbsAg、淋巴结有无转移、有无远处转移、肿瘤的分型、Child-Pugh分级、TNM分期、CLIP分期均无关(P>0.05), 但与肿瘤的Edmondson分级有关(P<0.05).

2.4 NDRG1在胎肝中的表达 NDRG1在不同胎龄胎肝组织中的表达, 平均*A*值为(0.059±0.074)(图1F), 4-8月份, NDRG1的表达量分别为0.054、0.124、0.244、0.082和0.074. NDRG1的表达量随着胎儿发育即胎龄增大而逐渐增加, 至分化末期又有所减少.

3 讨论

目前, 临床研究领域主要集中在肿瘤的早期发现和寻找新的有效治疗手段. 而新的肿瘤标志物可以为恶性肿瘤的诊断及治疗提供很大的帮助. NDRG1是新近发现的与细胞分化相关的基因, 尽管其确切功能还不是十分清楚, 但他在恶性肿瘤中的异常表达引起了许多学者的关注与研究. NDRG1基因是*N-myc*下游调节基因家族的一个成员, 因受*N-myc*的抑制而得名, 该基因定位于人染色体8q24.2, 长约60 kb, 其编码的蛋白质相对分子质量为43000 Da[5], 研究表明, 该基因与细胞的生长发育、分化、肿瘤的发生、

■创新盘点

本文通过观察NDRG1在胎肝、正常肝组织、肝硬化组织、HCC、癌旁组织、原发癌转移灶组织中的表达, 分析肝脏细胞从发育到成熟到癌变过程中NDRG1的表达, 并将HCC按照Edmondson分级、Child-Pugh分级、TNM分期及CLIP分期来研究不同分级、分期的关系.

■应用要点
NDRG1可能对HCC起着抑制作用，提示该基因可望成为早期预测肝癌转移的分子生物学标志物之一.

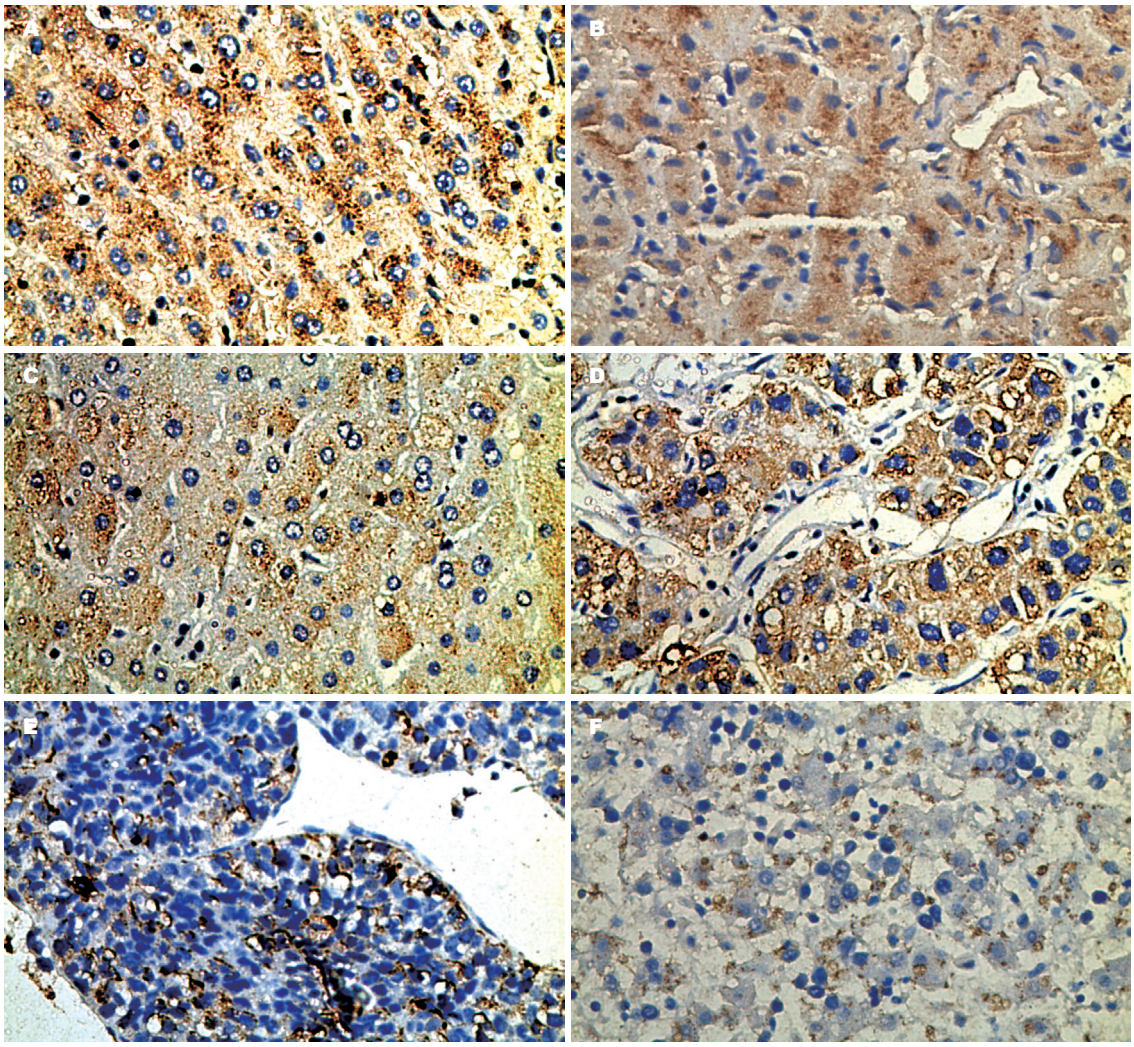


图 1 NDRG1在肝脏组织中的表达(DAB染色×400). A: 正常肝; B: 肝硬化; C: 癌旁; D: HCC; E: 转移灶; F: 胎肝.

转移和预后等[5-6]有关.

NDRG1基因在各种肿瘤组织中的表达争议较大. 一些学者发现, 与正常组织相比, 在多种肿瘤细胞株[7]及肿瘤组织如乳腺癌、前列腺癌、结肠癌中, NDRG1都呈低表达, 故该基因过表达则可抑制肿瘤细胞的生长; Bandyopadhyay *et al*[8]研究结果显示, NDRG1表达与前列腺癌Gleason分级和患者的总生存率呈负相关, 尤其是与前列腺原发肿瘤相比, 有骨转移和淋巴结转移的病例中NDRG1表达明显下降. Wang *et al*[9]也发现, NDRG1的表达与乳腺癌的转移呈负相关, 将由此推断该基因表达的下调也许导致了肿瘤的恶性表型. 关于NDRG1抑制肿瘤生长和转移的分子机制有以下2点推测: (1)NDRG1过表达可以诱导E-钙粘连素和其他细胞分化标志物的表达, 这些细胞表面分子的改变可能改变肿瘤细胞之间的黏附特性, 从而抑制体内、外肿瘤细胞的侵袭能力[1]. (2)NDRG1过表达可以显著减少血管生成因子的表达, 如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinases-9, MMP-9)和白介素-8(interleukin IL-8), 从而抑制血管生成, 而血管生成是肿瘤生长和转移的关键因素. 所以推测NDRG1通过调节肿瘤细胞及其周围组织的血管生成来抑制肿瘤的生长和转移[10].

但Cangul *et al*[2]的研究结果却对上述结论提出了质疑, 他们在实验中观察到, 在多种肿瘤组织, 如肺癌、脑肿瘤、肝癌、前列腺癌、乳腺癌、肾癌和黑色素瘤中, NDRG1蛋白的表达明显增高. 尤其是在脑和肺中NDRG1蛋白仅在肿瘤组织中表达, 而在正常组织中不表达. NDRG1在肿瘤组织中高表达的分子机制可能与肿瘤细胞缺氧有关. 缺氧是实体肿瘤共有的特征, NDRG1能被缺氧诱导表达, 已经是公认缺氧诱导基因. 目前研究发现, 缺氧诱导NDRG1高表达通过以下2条途径: (1)通过HIF-1α依赖的途径,

缺氧造成HIF-1转录因子的活化及表达, 最后诱导缺氧敏感基因NDRG1的表达; (2)通过非HIF-1依赖的途径[11], 实验证实缺氧条件下细胞内Ca^{2+}内流增加也可以诱导NDRG1表达, 其分子机制主要是Ca^{2+}内流增加诱导c-Jun的表达, 活化激活蛋白1(activator protein 1, AP-1)依赖的转录. 所以, HIF-1与c-Jun/AP-1依赖的途径共同参与调节缺氧诱导基因NDRG1在肿瘤组织中的表达.

在我国, 肝癌的发病率居恶性肿瘤的第3位, 约占全世界肝癌病例的42.5%. 该病病程短、进展快、病死率高, 预后极差. 有研究表明NDRG1可能成为HCC新的标志物, 他是肿瘤侵袭性的一个重要的指标, 并可以此来推断患者的预后[12]. 我们用免疫组织化学EnVision法检测了NDRG1在胎肝组织、正常肝组织、肝硬化组织、癌旁组织、HCC及原发转移灶中的表达, 发现他在肝癌组织中的表达量低于正常肝组织、肝硬化组织、癌旁组织的表达量, 说明在肝癌中NDRG1是低表达的, 提示在肝肿瘤的发生发展中, NDRG1表达受到某种程度抑制. 与原发肿瘤相比NDRG1在转移灶中表达最低, 提示该基因可望成为早期预测肝癌转移的分子生物学标志物之一. 这与Cangul *et al*结果相反, 考虑其原因有: (1)标本来源不同, 本实验正常肝组织主要是取自移植肝, 其文献中的正常肝组织主要是癌旁肝组织; (2)免疫组织化学方法不同, 本实验采用的是EnVision两步法, 而Cangul *et al*中采用ABC法. 其原因还有待于进一步的研究.

本文进一步研究了NDRG1在不同胎龄胎肝中的表达, 结果显示NDRG1的表达量随着胎龄的发育而逐渐增加, 至分化末期又有所减少, 这与何静 *et al*[13]的研究结果一致, 表明NDRG1在肝细胞分化的一定阶段可能发挥重要功能. 综上可知NDRG1在恶性肿瘤中的作用及与细胞分化的关系还需要进一步的深入研究, 本文只是对NDRG1在HCC及胎肝中的蛋白表达做了一些基础性的研究, 还有待于在mRNA和DNA水平上探讨对本研究结果进一步证实.

4 参考文献

1 Guan RJ, Ford HL, Fu Y, Li Y, Shaw LM, Pardee AB. Drg-1 as a differentiation-related, putative metastatic suppressor gene in human colon cancer. *Cancer Res* 2000; 60: 749-755

2 Cangul H, Salnikow K, Yee H, Zagzag D, Commes T, Costa M. Enhanced expression of a novel protein in human cancer cells: a potential aid to cancer diagnosis. *Cell Biol Toxicol* 2002; 18: 87-96

3 Wang Z, Wang F, Wang WQ, Gao Q, Wei WL, Yang Y, Wang GY. Correlation of N-myc downstream-regulated gene 1 overexpression with progressive growth of colorectal neoplasm. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 550-554

4 陈俊毅, 颜醒愚, 刘为安, 陈宝琨, 李毅宁. Fhit、Caspase-8基因在膀胱肿瘤组织中的表达及其意义. 江西医学院学报 2006; 46: 107-110

5 王震, 王国英, 王芳. 分化相关基因NDRG1与肿瘤. 中华病理学杂志 2003; 32: 162-164

6 Li J, Kretzner L. The growth-inhibitory Ndrg1 gene is a Myc negative target in human neuroblastomas and other cell types with overexpressed N- or c-myc. *Mol Cell Biochem* 2003; 250: 91-105

7 van Belzen N, Dinjens WN, Diesveld MP, Groen NA, van der Made AC, Nozawa Y, Vlietstra R, Trapman J, Bosman FT. A novel gene which is up-regulated during colon epithelial cell differentiation and down-regulated in colorectal neoplasms. *Lab Invest* 1997; 77: 85-92

8 Bandyopadhyay S, Pai SK, Gross SC, Hirota S, Hosobe S, Miura K, Saito K, Commes T, Hayashi S, Watabe M, Watabe K. The Drg-1 gene suppresses tumor metastasis in prostate cancer. *Cancer Res* 2003; 63: 1731-1736

9 Wang Z, Liu Q, Chen Q, Zhu R, Zhu HG. [Overexpression of NDRG1: relationship with proliferative activity and invasiveness of breast cancer cell line and breast cancer metastasis] *Zhonghua Binglixue Zazhi* 2006; 35: 333-338

10 Salnikow K, Kluz T, Costa M, Piquemal D, Demidenko ZN, Xie K, Blagosklonny MV. The regulation of hypoxic genes by calcium involves c-Jun/AP-1, which cooperates with hypoxia-inducible factor 1 in response to hypoxia. *Mol Cell Biol* 2002; 22: 1734-1741

11 Maruyama Y, Ono M, Kawahara A, Yokoyama T, Basaki Y, Kage M, Aoyagi S, Kinoshita H, Kuwano M. Tumor growth suppression in pancreatic cancer by a putative metastasis suppressor gene Cap43/NDRG1/Drg-1 through modulation of angiogenesis. *Cancer Res* 2006; 66: 6233-6242

12 Chua MS, Sun H, Cheung ST, Mason V, Higgins J, Ross DT, Fan ST, So S. Overexpression of NDRG1 is an indicator of poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *Mod Pathol* 2007; 20: 76-83

13 何静, 周柔丽. NDRG1基因与肝组织分化及癌变的相关性. 北京大学学报(医学版) 2003; 35: 471-475

■同行评价

本研究设计合理, 条理清楚, 结果有一定的意义.

编辑 李军亮 电编 何基才

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年6月28日; 17(18): 1888-1893
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

临床经验 CLINICAL PRACTICE

双途径化疗联合伽玛刀治疗局部晚期胰腺癌12例

夏念信, 邱宝安, 温居一, 祝建勇, 刘 澎

■背景资料
胰腺癌的发病率逐年上升, 大多数患者确诊时已经失去手术机会; 化疗和放疗等非手术模式是局部晚期胰腺癌主要的治疗方法, 效果均不理想. 双途径化疗(区域性动脉灌注联合全身静脉化疗)以及三维立体定向伽玛刀治疗为近年来新兴的治疗方法.

夏念信, 中国人民解放军海军总医院急诊科 北京市 100048
邱宝安, 祝建勇, 刘澎, 中国人民解放军海军总医院肝胆外科 北京市 100048
温居一, 中国人民解放军海军总医院放射肿瘤科 北京市 100048
作者贡献分布: 夏念信与邱宝安共同设计此课题, 对此文所作贡献均等; 研究过程主要由夏念信与温居一完成, 祝建勇与刘澎协助; 论文写作和数据分析由夏念信完成.
通讯作者: 邱宝安, 100048, 北京市阜成路6号, 中国人民解放军海军总医院肝胆外科. luckqiu@medmail.com.cn
电话: 010-66958201
收稿日期: 2009-04-26 修回日期: 2009-05-28
接受日期: 2009-06-08 在线出版日期: 2009-06-28

Therapeutic effect of two-pathway chemotherapy in combination with gamma-ray stereotactic radiotherapy on local advanced pancreatic cancer: an analysis of 12 cases

Nian-Xin Xia, Bao-An Qiu, Ju-Yi Wen, Jian-Yong Zhu, Peng Liu

Nian-Xin Xia, Department of Emergency Medicine, Naval General Hospital of the Chinese PLA, Beijing 100048, China
Bao-An Qiu, Jian-Yong Zhu, Peng Liu, Department of Hepatobiliary Surgery, Naval General Hospital of the Chinese PLA, Beijing 100048, China
Ju-Yi Wen, Department of Radiation Oncology, Naval General Hospital of the Chinese PLA, Beijing 100048, China
Correspondence to: Bao-An Qiu, Department of Hepatobiliary Surgery, Naval General Hospital of the Chinese PLA, Beijing 100048, China. luckqiu@medmail.com.cn
Received: 2009-04-26 Revised: 2009-05-28
Accepted: 2009-06-08 Published online: 2009-06-28

Abstract

AIM: To evaluate the therapeutic effect of two-pathway chemotherapy combined with gamma-ray stereotactic radiotherapy on local advanced pancreatic cancer.

METHODS: From June 2005 to December 2007, 23 patients with local advanced pancreatic cancer were divided into two groups randomly, namely, combined treatment group (n = 12) and control group (n = 11). The combined treatment group received the two-pathway chemotherapy (regional arterial infusion and systemic venous chemotherapy) combined with gamma-ray stereotactic radiotherapy. The control group were only treated with the two-pathway chemotherapy. The curative effect, relief extent of pain, life span and the adverse reaction were compared in the course of treatment between the two groups.

RESULTS: The proportion of CR and PR in the combined treatment group was 75.0%, much higher than 27.3% of the control group. The survival rates at 6 mo and 9 mo were 83.3% and 75.0% in the combined treatment group, similar to 72.7% and 45.5% of the control group. But the 12 months' survival rate of combined treatment group was 50% which was higher than the control group. The average life span of the combined treatment group was 13.1 mo, higher than that of the control group, which was 8.7 mo (P < 0.05). The data of tumor marker CA199 of combined treatment group dropped significantly compared with that of control group (P < 0.05). Abdominal pain in combined treatment group was relieved more than that in control group (P < 0.05). And the adverse effect between two groups had no significant difference (P > 0.05).

CONCLUSION: The therapeutic model of two-pathway chemotherapy combined with gamma-ray stereotactic radiotherapy could be considered one of choice for the patients with local advanced pancreatic cancer.

Key Words: Advanced pancreatic cancer; Two-pathway chemotherapy; Gamma-ray stereotactic radiotherapy

Xia NX, Qiu BA, Wen JY, Zhu JY, Liu P. Therapeutic effect of two-pathway chemotherapy in combination with gamma-ray stereotactic radiotherapy on local advanced pancreatic cancer: an analysis of 12 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(18): 1888-1893

摘要

目的: 探讨双途径化疗联合三维立体定向伽玛刀治疗局部晚期胰腺癌的临床价值.

方法: 2005-06/2007-12我科选择性收治局部晚期胰腺癌患者23例, 均经穿刺病理学检查证实或经CT、MRI、肿瘤标志物(CA199、CEA

■同行评议者
崔云甫, 教授, 哈尔滨医科大学第二附属医院普外一科

等)临床诊断. 患者随机分为2组: 联合治疗组(n = 12)采用双途径化疗(区域动脉灌注和全身静脉化疗)联合三维立体定向伽玛刀治疗; 对照组(n = 11)仅采用双途径化疗. 对比2组患者治疗后疗效、疼痛缓解程度、生存期、不良反应.

结果: 联合治疗组完全缓解和部分缓解率明显高于对照组 (75.0% *vs* 27.3%, P<0.01); 联合治疗组患者的6、9 mo生存率分别为83.3%和75.0%, 与对照组72.7%和45.5%比较, 无统计学差异; 联合治疗组12 mo生存率50.0%(中位生存期13.1 mo)明显高于对照组9.1%(中位生存期8.7 mo)(P<0.05); 联合治疗组肿瘤标志物CA199的表达明显降低(P<0.05); 联合治疗组比对照组能够较大程度改善患者的疼痛症状(P<0.05); 2组治疗模式的不良反应无统计学差异.

结论: 双途径化疗联合三维立体定向伽玛刀是治疗局部晚期胰腺癌的较好方法.

关键词: 晚期胰腺癌; 双途径化疗; 三维立体定向伽玛刀

夏念信, 邱宝安, 温居一, 祝建勇, 刘澎. 双途径化疗联合伽玛刀治疗局部晚期胰腺癌12例. 世界华人消化杂志 2009; 17(18): 1888-1893

http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1888.asp

0 引言

近年来胰腺癌的发病率和病死率呈上升趋势, 据统计我国部分城市发病率达5.5/10万-8.5/10万[1]. 胰腺癌恶性程度高、预后差, 其病死率占消化系肿瘤的第2位, 仅次于结肠癌, 居全部恶性肿瘤的第4位[2]. 由于胰腺的解剖位置深, 早期症状隐袭和非特异性, 80%以上患者确诊时已属中晚期, 手术切除率不足20%. 如果不行干预治疗, 晚期胰腺癌从诊断到死亡的平均时间约为3 mo[3]. 因此放疗及化疗等非手术治疗模式对局部晚期胰腺癌有相当重要的意义[4-5]. 2005-06/2007-12我科选择性收治局部晚期胰腺癌患者23例, 采用双途径化疗联合三维立体定向伽玛刀治疗, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 2005-06/2007-12我科选择性收治局部晚期胰腺癌(依据2002年AJCC胰腺癌分期)患者23例, 其中男16例, 女7例, 平均年龄61±13(48-73)岁, 均经穿刺病理学检查证实或经CT、MRI、肿瘤标志物(CA-199、CEA等)临床诊断. 患者随机分为实验组(n = 12, 采用双途径化疗联合三维立体定向伽玛刀治疗)和对照组(n = 11, 仅采用双途径化疗, 即区域动脉灌注联合全身静脉化疗). 其中胰头癌5例, 胰颈体癌13例, 胰尾癌5例; 伴肝转移12例, 腹膜后局部淋巴结转移16例. 伴梗阻性黄疸3例, 采用微创方法减轻黄疸(PTCD/ERCP下胆管支架植入)至总胆红素≤3 g/L和谷丙转氨酶≤80 U/L时入选本研究. 主要症状为腹部及腰背部疼痛、体质量减轻和腹胀. 患者Karnofski评分≥60, 估计生存期≥3 mo. 血小板>100 000/mm^3, 白细胞>4000/mm^3, 血色素>10 g/dL; 肝功能Child-Pugh A-B级, 凝血机制和肾功能正常; 心电图基本正常. 血清CA-199水平为291±1.2 kU/L, 对胰腺癌的敏感度为81.3%. 两组在年龄、性别、病灶部位、临床症状和实验室检测指标等方面无显著差别, 具有可比性. 此前接受过其他模式抗癌治疗以及继发肺、骨、脑转移患者均剔除在本研究之外.

1.2 方法

1.2.1 双途径化疗: 采用改良Seldinger股动脉穿刺法, 分别行腹腔干动脉和肠系膜上动脉造影, 观察胰腺肿瘤和肝脏转移瘤的多血供染色并确定靶动脉血管; 微导管超选靶血管灌注化疗. 区域动脉灌注化疗方案: GEM 1000 mg/m^2(Gemcitabine, 商品名健择)、卡铂500 mg/m^2、拓喜(羟喜树碱)20 mg/m^2、Avastin 5 mg/kg(Avastin = Bevacizumab, 人源化肿瘤血管表皮生长因子的单克隆抗体); 合并肝内转移者, 除灌注化疗药物外, 部分Avastin与5mL碘化油乳化后栓塞肝微动脉. 全身静脉化疗方案: GEM 1000 mg/m^2、四氢叶酸钙200 mg/m^2, 分别在第8天和第15天. 化疗期间5-HT3受体拮抗剂预防性止吐, 洛赛克预防应激性溃疡. 化疗期间及化疗后2 wk内每周复查血常规2次, 白细胞<3.0×10^9/L或者中性粒细胞<1.5×10^9/L时皮下注射粒细胞集略刺激因子(G-CSF), 血小板<50×10^9/L时予INF-11治疗. 每4-5 wk重复1次为一疗程, 2-3个治疗周期后评价疗效.

1.2.2 三维立体定向伽玛刀治疗方法(gamma-ray stereotactic radiotherapy): 采用设备OUR-QGD型立体定向体部γ射线放射治疗系统. 患者平卧于三维坐标的立体定向体架中, 体架内置负压袋, 抽真空成型固定躯体. 全组均经螺旋CT薄层(3-5 mm)扫描并增强, 获得定位图像; 在γ-TPS治疗规划系统上进行三维图像重建、显示. 计划靶

■相关报道

张明 *et al*报道双途径化疗治疗中晚期胰腺癌能提高患者中位生存期和临床获益率, 优于单纯区域性动脉灌注化疗. 张丽萍 *et al*报道伽玛刀联合热化疗治疗局部晚期胰腺癌近期疗效满意, 能提高患者的生活质量和生存期.

■**创新盘点**
单纯化疗或放疗、放化疗结合、化疗与靶向生物治疗等非手术模式是局部晚期胰腺癌主要的治疗手段. 双途径化疗联合三维立体定向伽玛刀治疗局部晚期胰腺癌, 临床研究报道尚属首次.

体积(planning target volume, PTV)根据肿瘤所在位置、临床靶体积、患者身体状况与治疗目的制定. 放射治疗计划及剂量分布调整: PTV覆盖95%以上CTV, 等剂量曲线为50%-60%. 肿瘤≤5 cm的单次周边剂量3.5-4.5 Gy, 肿瘤>5 cm的单次周边剂量3.0-4.0 Gy. 重复摆位时X轴及Z轴方向不允许与定位值有误差, Y轴方向定位值误差小于2 mm. 治疗总剂量为40-50 Gy, 治疗8-12次, 多数患者为先隔日后连续治疗. 与靶区相邻的器官十二指肠受量: 胰头癌患者在30%左右, 胰体尾癌均小于15%.

1.2.3 *疗效评价标准*: 按照WHO1981年制定的实体瘤疗效标准评价客观疗效: (1)完全缓解(complete remission, CR): 所有可见病灶均消失, 并在至少4 wk后复测确认; (2)部分缓解(partial remission, PR): 各病灶最大双径乘积总和或单径总和缩小≥50%, 并在至少4 wk后复测确认; (3)病情稳定(stable disease, SD): 各病灶最大双径乘积总和或单径总和增大或缩小≤50%, 并在至少4 wk后复测确认; (4)病情进展(progressive disease, PD): 至少其中一个病灶的双径乘积或单径增大>25%, 或出现新病灶. 评定指标包括临床症状、体征以及B超、X线、CT/MRI等检查结果.

1.2.4 *VAS法疼痛评分标准*: 0分表示无痛; 3分以下表示有轻微的疼痛, 患者能忍受; 4-6分表示疼痛并影响睡眠, 尚能忍受; 7-10分表示有逐渐增强的疼痛并难忍.

1.2.5 *肿瘤标志物检测*: 治疗前后分别采集静脉血测CA199数值.

1.2.6 *不良反应观察项目*: 遵循RTOG(the radiation therapy oncology group)标准[6], 观察防、化疗导致的血液毒性、胃肠道反应、肝功能损害、肾功能损害、呃逆以及同时观察血管介入操作的并发症情况等.

统计学处理 采用SPSS10.0统计软件处理, 疗效比较采用秩和检验, VAS法疼痛评分变化、生存率、不良反应的比较均采用χ^2检验.

2 结果

2.1 *两组客观疗效比较* 应用WHO实体瘤疗效评价标准评价客观疗效, 实验组CR+PR(%)明显高于对照组(75.0% *vs* 27.3%, χ^2 = 98.5000, P = 0.0174). 本组胰腺癌合并肝转移CT影像治疗前后的比较显示治疗效果明显(图1). DSA肝动脉造影治疗前后比较显示, 肝脏多血供转移结节化疗后肿瘤明显缩小, 部分消失(图2).

图 1 胰腺癌合并肝转移治疗前后CT影像比较. A: 治疗前: 增强CT显示胰腺颈体部不规则实性肿块, 大小约4 cm×4.5 cm, 无强化, 胰头不大, 肝脏多发强化结节. (外院)肝穿刺病理诊断肝脏转移性腺癌; B: 一个疗程后: 胰腺颈体部不规则实性肿块缩小, 大小约3 cm×3.5 cm, 无强化, 胰头不大, 肝脏多发结节缩小, 部分结节消失; C: 双途径化疗联合三维立体定向伽玛刀治疗后3 mo. 与图A相比, 胰腺颈体部包块基本消失, 局部轻度水肿, 无异常强化. 肝右叶原多发结节基本消失(截止投稿, 患者带瘤存活42 mo余, 无胸腹水, 生活质量高).

2.2 *血清CA199的变化* 23例患者治疗前进行了CA199的测定, 其中19例异常增高(实验组10例, 对照组9例), 4例正常. CA199异常增高的患者经治疗后15例降低(实验组10例, 对照组5例), 4例升高. 两组共11例CA199降低幅度>50%, 其中实验组9例, 对照组2例. 比较两组CA199降低幅度>50%患者的比例, 实验组与对照组比较, 两组间差异有统计学意义(90.0% *vs* 22.2%, P<0.05).

2.3 *VAS法疼痛评分变化的比较* 两组治疗前VAS法疼痛评分统计学无明显差异(P>0.05). 实验组VAS法疼痛评分7.69±0.99分, >3分10例; 对照

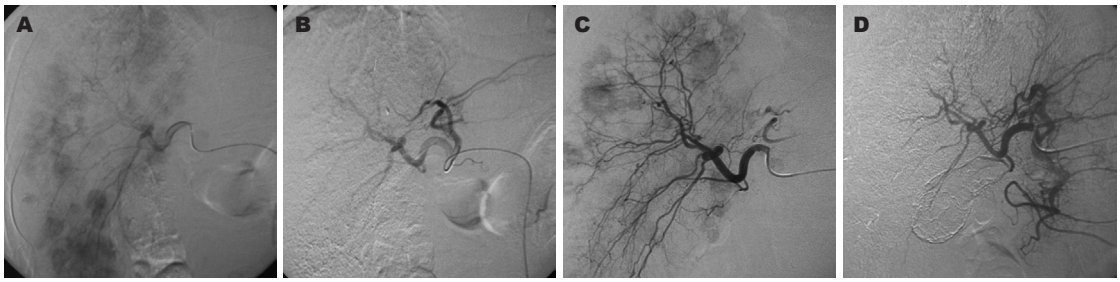


图 2 胰腺癌合并肝多发转移治疗前后DSA肝动脉造影影像比较. A: 治疗前DSA: 肝脏多发转移结节浓染区, 与CT多血供性结节表现一致; B: 同期肝动脉化疗栓塞后, 肝脏多血供转移结节染色基本消失, 仅显示正常肝动脉及分支; C: 化疗一个疗程后: DSA显示肝右下叶未见明显浓染结节, 仅肝脏右上叶有少许浅淡浓染结节; D: 同期肝动脉化疗栓塞后, 肝脏多血供转移结节染色基本消失, 仅显示正常腹腔干动脉、肠系膜上动脉及脾动脉.

■应用要点
双途径化疗联合三维立体定向伽玛刀是治疗局部晚期胰腺癌的较好方法.

表 1 两组患者累积生存率比较

生存期(mo)	试验组(%)	对照组(%)	χ^2值	*P*值
6	83.5	72.7	0.3795	0.5379
9	75.0	45.5	2.1034	0.1470
12	50.0	9.1	4.5365	0.0332

组VAS法评分为7.06±1.32分, >3分9例. 以两组中>3分患者为研究对象, 以VAS法疼痛评分降低50%以上为参考值, 治疗后实验组10例中有8例(80%), 治疗组9例中有3例(33.3%)符合评价标准, 两组比较有显著性差异(P<0.05).

2.4 生存期 两组6、9 mo累积生存率比较无统计学意义(P>0.05), 实验组12 mo累积生存率及中位生存期(13.1 mo *vs* 8.7 mo, χ^2 = 4.5213, P = 0.0312)均高于对照组, 有统计学意义(P<0.05, 表1).

2.5 不良反应 按WHO分级标准, 两组患者均未出现治疗相关的Ⅳ度不良反应及死亡. 主要不良反应(实验组/对照组, 例次)为血液毒性(6/5)、胃肠道反应(10/9)、肝肾功能损坏(3/4)、脱发(7/8)、消化系出血(1/1)等. 实验组2例患者出现持续5 d的低热, 1例患者出现放射性肠炎, 经对症处理后症状缓解, 完成治疗计划. 实验组不良反应与对照组比较无统计学差异(P>0.05). 未发生消化系穿孔、导管断折等动脉介入和Avastin应用相关的并发症.

3 讨论

局部晚期胰腺癌的治疗原则是高姑息, 目的是改善症状、提高生存质量及延长生存期. 局部晚期胰腺癌的治疗目前仍以全身静脉化疗为主, 但疗效欠佳[3]. 双途径化疗(区域性动脉灌注联合全身静脉化疗)以及三维立体定向伽玛刀治疗为近年来新兴的治疗方法. 文献报道[7-8]区域性动脉灌注化疗治疗局部晚期胰腺癌的疗效优于全身静脉化疗, 经腹腔干动脉和/或肠系膜上动脉进行区域性灌注化疗, 高浓度的抗癌药物能够覆盖整个胰腺和/或肝脏. 药物在靶器官产生首过效应, 动脉灌注化疗时导致局部血流缓慢, 可产生肿瘤内的乏氧环境, 从而发挥化疗的增敏作用; 合并肝内转移者同时栓塞肝微动脉, 毁坏了肿瘤生存的微环境, 促进肿瘤的坏死和凋亡. 临床和实验证实肿瘤化疗的疗效与药物的有效浓度和持续时间成正比; 全身静脉化疗作为区域动脉灌注化疗的延续, 维持血中的有效药物浓度, 消灭血液循环及器官中的微小卫星病灶和游离癌细胞[7]. 张明 *et al*[9]报道双途径化疗治疗中晚期胰腺癌能提高患者中位生存期(8.0 mo)和临床获益率(71.4%); 优于单纯区域性动脉灌注化疗.

双途径化疗药物被仔细遴选. 1996年吉西他滨(GEM)被FDA批准为抗胰腺癌一线药物, 并被视为临床研究的“金标准”. GEM作为抗腺癌药物, 具有防止远处转移、消灭微小病灶的作用, 且与放疗有协同作用[10]. 羟喜树碱是细胞毒类抗肿瘤药, 对DNA拓扑异构酶有选择性抑制作用, 阻滞DNA的复制和转录, 同时还有诱导肿瘤细胞分化和凋亡的作用, 是局部灌注治疗的理想药物. 无论在体外或体内, GEM/顺铂协同作用; 2006年Heinemann *et al*[11]和2005年Reni *et al*[17]报道GEM联合顺铂等药物治疗胰腺癌的临床效果优于单一GEM, 而卡铂不良反应小于顺铂. 2005年Kindler *et al*[12]报道GEM联合Avastin治疗中晚期胰腺癌, 提高了临床获益率、疾病无进展时间和中位生存期; 目前国外多中心正进行GEM联合Avastin治疗中晚期胰腺癌的临床研究. 当恶性肿瘤直径超过1-2 mm后, 需要滋生血管来维持肿瘤的供氧和营养[13-14]; 肿瘤核心部分的低氧环境刺激肿瘤自分泌血管生长因子, 血管表皮生长因子(vascular endothelial growth factor,

■同行评价
本文选题前沿, 临床资料可信, 研究设计科学, 可读性较强.

VEGF)被认为是所有血管生长因子中最具有活力的. Avastin抑制了VEGF的生物活性, 不允许任何VEGF的同质异构体与肿瘤上的相关受体衔接. 所有患者动脉灌注化疗同时应用Avastin, 合并肝内转移者则将部分Avastin与碘化油乳化后栓塞供养肿瘤的微动脉血管, 在肿瘤周围形成25 μm间距的“鸿沟”, 破坏肿瘤微环境, 阻止肿瘤滋生营养血管, 促进肿瘤坏死和凋亡. 利用介入技术, 动脉灌注乳化后的Avastin治疗局部晚期胰腺癌文献报道尚属首次.

三维适形放疗技术使胰腺癌的局部控制率得以明显提高[15-16]. 体部伽玛刀是利用能产生γ射线的^{60}Co作为放射源, 根据几何聚焦原理, 将30束γ射线从不同方向和位置通过3种型号(10、30、50 mm)准直器做非共面锥状旋转聚焦照射, 其剂量分布的最大特征使高剂量集中在靶区, 靶外剂量递减十分陡峭, 半影区范围小(20%-80%等剂量线范围在5-10 mm), 具有“刀”的特征, 尤其适用于病灶周围有不能耐受高剂量照射的重要且不敏感的组织和器官. 三维适形放射治疗胰腺癌可使局部肿瘤短期内受到大剂量照射, 致大量肿瘤细胞能在较短时间内坏死, 瘤体迅速缩小, 从而减轻对胆总管、腹膜后神经的压迫, 降低肿瘤张力, 改善黄疸、疼痛等临床症状, 延长生存期. 伽玛刀治疗胰腺癌可使肿瘤区域达到高剂量的照射, 而周围正常组织如胃、十二指肠等受照射剂量低(5%-30%), 损伤轻, 且在整体上缩短了治疗时间. Bai *et al*[18]的临床研究表明, 放疗联合GEM能使66.7%的局部晚期胰腺癌患者疼痛明显缓解, 47.6%的患者KPS评分值提高, 1年生存率为35%, 未见大于Ⅲ度放射毒性, 治疗前后CA199值分别是716 kU/L和255 kU/L, 差异有统计学意义. 张丽萍 *et al*[19]报道伽玛刀联合热化疗治疗局部晚期胰腺癌, 能提高患者的生活质量和生存期.

本研究揭示, 双途径化疗联合三维立体定向伽玛刀治疗局部晚期胰腺癌能提高患者的临床客观疗效($P<0.05$), 明显缓解疼痛($P<0.05$), 降低了肿瘤标志物CA199的表达($P<0.05$), 提高了12 mo累积生存率($P<0.05$)及延长了中位生存期($P<0.05$). 但两组6、9 mo的累积生存率无明显差异($P>0.05$). 两组患者的不良反应经对症治疗均可耐受, 均能完成全部治疗计划. 两组放化疗不良反应无统计学意义($P>0.05$). 此治疗模式的临床研究文献报道尚属首次; 由于本研究样本量有限, 此治疗模式的临床推广还有待于进一步探讨.

双途径化疗联合三维立体定向伽玛刀治疗局部晚期胰腺癌患者近期客观效果满意, 不良反应可耐受, 能提高患者的生存质量及生存期, 是治疗局部晚期胰腺癌的较好方法.

致谢 特别感谢中国人民解放军海军总医院影像中心张燕群教授、郭新红副教授以及放射肿瘤科工作人员对本研究给予的帮助和支持.

4 参考文献

1 赵平. 我国胰腺癌诊治策略的研究. 胰腺病学 2002; 2: 193-195
2 Mulder I, Hoogenveen RT, van Genugten ML, Lankisch PG, Lowenfels AB, de Hollander AE, Bueno-de-Mesquita HB. Smoking cessation would substantially reduce the future incidence of pancreatic cancer in the European Union. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002; 14: 1343-1353
3 张群华, 倪泉兴. 胰腺癌2340例临床病例. 中华医学杂志 2004; 84: 214-218
4 Fryer RA, Galustian C, Dalgelish AG. Recent advances and developments in treatment strategies against pancreatic cancer. *Curr Clin Pharmacol* 2009; 4: 102-112
5 于会明, 刘运芳, 于金明. 三维适形放疗联合吉西他滨治疗局部晚期胰腺癌的临床疗效. 中华放射肿瘤学杂志 2006; 15: 55-56
6 Cox JD, Stetz J, Pajak TF. Toxicity criteria of the Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) and the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995; 31: 1341-1346
7 Aigner KR, Gailhofer S, Kopp S. Regional versus systemic chemotherapy for advanced pancreatic cancer: a randomized study. *Hepatogastroenterology* 1998; 45: 1125-1129
8 傅德良, 倪泉兴, 虞先浚, 张群华, 华宇明, 张延龄, 王莉. 胰腺区域性动脉灌注治疗胰腺癌的实验研究. 中华医学杂志 2002; 82: 371-375
9 张明, 刘合代, 赵其德, 倪裕丰, 黄骞, 梁洪享, 徐菊娣, 丁罡. 中晚期胰腺癌双途径化疗的临床观察. 临床肿瘤学杂志 2008; 13: 654-655
10 谢德荣, 梁汉霖, 杨琼, 郭双双, 江志敏. 吉西他滨固定剂量率输注联合奥沙利铂一线治疗晚期胰腺癌的Meta分析. 癌症 2007; 26: 895-899
11 Heinemann V, Quietzsch D, Gieseler F, Gonnermann M, Schönekäs H, Rost A, Neuhaus H, Haag C, Clemens M, Heinrich B, Vehling-Kaiser U, Fuchs M, Fleckenstein D, Gesierich W, Uthgenannt D, Einsele H, Holstege A, Hinke A, Schalhorn A, Wilkowski R. Randomized phase III trial of gemcitabine plus cisplatin compared with gemcitabine alone in advanced pancreatic cancer. *J Clin Oncol* 2006; 24: 3946-3952
12 Kindler HL, Friberg G, Singh DA, Locker G, Nattam S, Kozloff M, Taber DA, Karrison T, Dachman A, Stadler WM, Vokes EE. Phase II trial of bevacizumab plus gemcitabine in patients with advanced pancreatic cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23: 8033-8040
13 Van Cutsem E, Vervenne WL, Bennouna J, Humblet

Y, Gill S, Van Laethem JL, Verslype C, Scheithauer W, Shang A, Cosaert J, Moore MJ. Phase III trial of bevacizumab in combination with gemcitabine and erlotinib in patients with metastatic pancreatic cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27: 2231-2237
14 Salmon JS, Lockhart AC, Berlin J. Anti-angiogenic treatment of gastrointestinal malignancies. *Cancer Invest* 2005; 23: 712-726
15 黄巍, 赵玲, 刘士新. 三维适形放射治疗中晚期胰腺癌的近期疗效观察. 实用肿瘤学杂志 2007; 21: 35-36
16 Burris HA 3rd, Moore MJ, Andersen J, Green MR, Rothenberg ML, Modiano MR, Cripps MC, Portenoy RK, Storniolo AM, Tarassoff P, Nelson R, Dorr FA, Stephens CD, Von Hoff DD. Improvements in survival and clinical benefit with gemcitabine as first-line therapy for patients with advanced pancreas cancer: a randomized trial. *J Clin Oncol* 1997; 15: 2403-2413
17 Reni M, Cordio S, Milandri C, Passoni P, Bonetto E, Oliani C, Luppi G, Nicoletti R, Galli L, Bordonaro R, Passardi A, Zerbi A, Balzano G, Aldrighetti L, Staudacher C, Villa E, Di Carlo V. Gemcitabine versus cisplatin, epirubicin, fluorouracil, and gemcitabine in advanced pancreatic cancer: a randomised controlled multicentre phase III trial. *Lancet Oncol* 2005; 6: 369-376
18 Bai YR, Wu GH, Guo WJ, Wu XD, Yao Y, Chen Y, Zhou RH, Lu DQ. Intensity modulated radiation therapy and chemotherapy for locally advanced pancreatic cancer: results of feasibility study. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2561-2564
19 张丽萍, 聂青, 康静波, 王斌, 蔡昌兰, 李建国, 齐文杰. 伽玛刀联合热化疗治疗局部晚期胰腺癌的疗效. 癌症 2008; 27: 1204-1207

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》英文摘要要求

本刊讯 本刊英文摘要包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致. 具体格式要求如下: (1)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; (2)作者 署名一般不超过8人. 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”; (3)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; (4)基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801; (5)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; (6)收稿及修回日期 格式如: Received: Revised: . (常务副总编辑: 张海宁 2009-06-28)

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年6月28日; 17(18): 1894-1900
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

临床经验 CLINICAL PRACTICE

幽门螺杆菌感染与特发性血小板减少性紫癜关系的荟萃分析

谭 勇, 施瑞华, 赵福军

■背景资料
慢性ITP病因目前尚不明确，但是*H pylori*与ITP之间的关系逐渐受到关注，国内外一些研究显示，*H pylori*感染可能与部分ITP患者的发病有着密切的关系.

谭勇, 施瑞华, 赵福军, 南京医科大学第一附属医院消化内科 江苏省南京市 210029
作者贡献分布: 此课题由谭勇与施瑞华设计; 研究过程由谭勇完成; 数据分析由谭勇与赵福军完成; 本论文写作由谭勇完成.
通讯作者: 施瑞华, 教授, 主任医师, 210029 江苏省南京市, 南京医科大学第一附属医院消化内科. ruihuashi@126.com
电话: 025-83718836-6032
收稿日期: 2009-04-10 修回日期: 2009-05-16
接受日期: 2009-05-18 在线出版日期: 2009-06-28

Relationship between *Helicobacter pylori* infection and idiopathic thrombocytopenic purpura: a meta-analysis

Yong Tan, Rui-Hua Shi, Fu-Jun Zhao

Yong Tan, Rui-Hua Shi, Fu-Jun Zhao, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Professor Rui-Hua Shi, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. ruihuashi@126.com
Received: 2009-04-10 Revised: 2009-05-16
Accepted: 2009-05-18 Published online: 2009-06-28

Abstract

AIM: To investigate the relationship between *Helicobacter pylori* (*H pylori*) infection and idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP).

METHODS: The databases of PubMed, EMBase and CNKI were searched for published case-control studies on association between *H pylori* infection and ITP. We focused on the difference in the platelet count between the experimental arm (*H pylori*-infected patients who responded to eradication therapy) and each control arm (*H pylori*-infected patients who failed to respond to eradication therapy; *H pylori*-infected patients without eradication therapy and *H pylori*-negative patients). Data were extracted using a standardized form and the meta-analysis was performed.

RESULTS: Twenty-one eligible studies, including 17 studies carried by foreigners, and 4 by Chinese researchers, were included in the meta-analysis. There was a statistically significant difference in platelet count between patients who responded to eradication therapy (WMD 61.70, 95%CI: 47.58-75.81) and *H pylori*-negative patients (WMD 24.24, 95%CI: 8.54-39.93). There was no statistically difference in platelet count between *H pylori*-infected patients who didn't responded to eradication therapy(WMD 11.41, 95%CI: -0.07-22.88) and in *H pylori*-infected patients without eradication therapy (WMD 15.77, 95%CI: -7.99-39.5).

CONCLUSION: The platelet count was significantly increased in ITP patients who responded to *H pylori* eradication therapy. However, *H pylori* infection is not the only factor responsible for ITP.

Key Words: Idiopathic thrombocytopenic purpura; *Helicobacter pylori*; Platelet count; Meta-analysis

Tan Y, Shi RH, Zhao FJ. Relationship between *Helicobacter pylori* infection and idiopathic thrombocytopenic purpura: a meta-analysis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(18): 1894-1900

摘要

目的: 评价特发性血小板减少性紫癜(ITP)与幽门螺杆菌(*H pylori*)感染的相关性.

方法: 检索PubMed、EMBase和CNKI数据库，获取ITP与*H pylori*感染的病例-对照研究，将入选的病例分成4组: *H pylori*阳性并成功清除组; *H pylori*阳性但清除不成功组; *H pylori*阳性未清除治疗组; *H pylori*阴性组. 每组均记录进入实验时各患者的基础血小板计数和随访时的血小板计数，并在组内行荟萃分析.

结果: 检索文献中纳入21篇病例-对照研究，其中国外17篇，国内4篇. 在随访前后，*H pylori*阳性并成功清除组PLT计数有统计学意义(WMD 61.70, 95%CI: 47.58-75.81); *H pylori*阳性但清除不成功组PLT计数无统计学意义(WMD 11.41, 95%CI: -0.07-22.88); *H pylori*

■同行评议者
陈卫昌，教授，苏州大学附属第一医院消化内科

阳性未清除治疗组PLT计数无统计学意义(WMD 15.77, 95%CI: -7.99-39.54); *H pylori*阴性组PLT计数有统计学意义(WMD 24.24, 95%CI: 8.54-39.93).

结论: *H pylori*阳性的ITP患者在成功清除*H pylori*后PLT计数上升, 但*H pylori*感染并不是ITP发生的唯一因素.

关键词: 特发性血小板减少性紫癜; 幽门螺杆菌; 血小板计数; 荟萃分析

谭勇, 施瑞华, 赵福军. 幽门螺杆菌感染与特发性血小板减少性紫癜关系的荟萃分析. 世界华人消化杂志 2009; 17(18): 1894-1900
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1894.asp

0 引言

特发性血小板减少性紫癜(idiopathic thrombocytopenic purpura, ITP)是临床上最常见的一种血小板减少性疾病, 他属于免疫性血小板减少, 是临床上常伴出血倾向的自身免疫性疾病, 其诱因多种多样. 该病的发病机制尚不十分清楚, 通常认为与抗血小板自身抗体的产生有关. 临床上以激素治疗作为主要的治疗方案, 但治疗效果常不佳, 且易复发. 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H pylori*)是胃内一种常见的革兰阴性杆菌, 已经被广泛认为与上消化道疾病有关. 但近年来, *H pylori*与ITP之间的关系逐渐受到关注, 国内外一些研究显示, *H pylori*感染可能与部分ITP患者的发病有着密切的关系[1,3-8]. 因此, 检索已经发表的病例-对照研究进行荟萃分析, 探讨ITP与*H pylori*感染之间的相关性是十分必要的.

1 材料和方法

1.1 材料 通过PubMed、EMBase和CNKI数据库检索1998-01/2008-12文献. 以"*Helicobacter pylori*", "infection", "bacterium", "thrombocytopenia", "ITP", "idiopathic thrombocytopenic purpura", "immune thrombocytopenic purpura", "chronic idiopathic thrombocytopenic purpura", "low platelet count", "platelet", "eradication"、"bacterial eradication", "therapy", "幽门螺杆菌"及"特发性血小板减少性紫癜"为检索词检索PubMed, EMBase和CNKI数据库1998-01/2008-12收录的文献. 文献纳入标准为: (1)设计类型为病例-对照研究; (2)患者为成年人并且已确诊为慢性ITP; (3)进行呼气试验检测*H pylori*; (4)研究必须对患者血小板计数进行报告和随访. 文献语种为中文和英文, 其他语种文献未收集. 部分中英文文献的数据不完整, 通过与作者联系获取完整数据, 如果获取不到完整数据, 则舍弃该文献.

1.2 方法 采用统一的数据提取表提取文献数据, 表格包括以下内容: 第一作者、文献发表时间、文献研究例数、年龄、性别、*H pylori*阳性数及清除成功率、未清除数、*H pylori*阴性数、随访时间以及随访前后的血小板计数等. 根据*H pylori*是否感染分成以下4组: (1)*H pylori*阳性, 行*H pylori*根治治疗且成功清除组; (2) *H pylori*阳性, 行*H pylori*根治治疗但清除不成功组; (3) *H pylori*阳性, 未行*H pylori*根治治疗组; (4)*H pylori*阴性组.

统计学处理 采用Cochrane协作网提供的Review Manager 4.2软件进行统计学分析. 每组均记录进入实验时各患者的基础血小板计数和随访时的血小板计数, 并在组内行荟萃分析.

2 结果

本次荟萃分析共纳入21篇中英文文献[1-21], 共计ITP患者1031例, 其中*H pylori*阳性者651名, 阳性率为63.14%. *H pylori*阳性者使用标准三联方案进行*H pylori*清除治疗, 即质子泵抑制剂(PPI)+2种抗生素每日2次口服7-14 d, 经过治疗, *H pylori*清除率为85.94%(428/498)(表1-2).

荟萃分析结果显示: 在随访前后, *H pylori*阳性并成功清除组PLT计数有统计学意义, 说明*H pylori*阳性的ITP患者在成功清除*H pylori*后PLT计数上升, *H pylori*的感染与ITP的发生存在一定关系, WMD: 61.70, 95% CI: 47.58-75.81(表3); *H pylori*阳性但清除不成功组PLT计数无统计学意义, WMD: 11.41, 95% CI: -0.07-22.88(表4); *H pylori*阳性未清除治疗组PLT计数无统计学意义, WMD: 15.77, 95% CI: -7.99-39.54(表5); *H pylori*阴性组PLT计数有统计学意义, WMD: 24.24, 95% CI: 8.54-39.93(表6). 考虑其原因可能与ITP致病因素的多样性有关.

3 讨论

1998年Gasbarrini *et al*[1]报道了18例ITP患者中, 11例*H pylori*为阳性, 其中8例根除*H pylori*获得成功, 与*H pylori*阴性及除菌失败的病例相比, 这

■研发前沿
*H pylori*感染与ITP发生究竟是否存在联系? 检索已经发表的病例-对照研究进行荟萃分析, 探讨ITP与*H pylori*感染之间的相关性, 是目前研究的热点.

■相关报道

Gasbarrini *et al*报道了18例ITP患者中, 11例*H pylori*为阳性, 其中8例根除*H pylori*获得成功, 与*H pylori*阴性及除菌失败的病例相比, 这8例患者的血小板计数有明显的增加, 抗血小板自身免疫抗体也随之消失. 但是匡跃敏*et al*对42例ITP患者*H pylori*感染情况进行分析, ITP患者*H pylori*感染率为42.9%, 低于我国人群普遍感染率(50%), 在18例*H pylori*阳性患者进行根治治疗后, 发现3例显效患者在3 mo后当强的松减量后, 血小板计数再度减少; 6例良效进步者用药后血小板上升缓慢, 有时会有波动; 9例无效患者用药后血小板计数变化很小.

表 1 *H pylori*阳性患者治疗结果

作者	ITP患者					*H pylori*阳性患者		
						清除治疗		未清除治疗
	n	年龄(岁)	男/女	*H pylori*阳性	*H pylori*阴性	成功	失败	
Gasbarrini *et al*	18	45	5/13	11/18(61.1)	7/18(38.9)	8/11(72.7)	3/11(27.3)	0
Jarque *et al*	56	54	18/38	40/56(71.4)	16/56(28.6)	23/32(71.9)	9/32(28.1)	0
Emilia *et al*	30	50.3	13/17	13/30(43.3)	17/30(56.7)	12/13(92.3)	1/13(7.7)	0
Veneri *et al*	35	55	12/23	25/35(71.4)	10/35(28.6)	15/16(93.7)	1/16(6.3)	0
Kohda *et al*	40	52.7	12/28	25/40(62.5)	15/40(37.5)	19/19(100)	0/19	6/25(24.0)
Hino *et al*	30	54.1	8/22	21/30(70.0)	9/30(30.0)	18/21(85.7)	3/21(14.3)	0
Hashino *et al*	22	49.1	4/18	14/22(63.6)	8/22(36.4)	13/14(92.9)	1/14(7.1)	0
Ando *et al*	61	54.8	12/49	50/61(82.0)	11/61(18.0)	27/29(93.1)	2/29(6.9)	21/50(42.0)
Nomura *et al*	42	–	15/27	28/42(66.7)	14/42(33.3)	12/28(42.9)	16/28(57.1)	0
Takahashi *et al*	20	51.2	5/15	15/20(75.0)	5/20(25.0)	13/15(86.7)	2/15(13.3)	0
Sato *et al*	53	59.5	16/37	39/53(73.6)	14/53(26.4)	27/32(84.4)	5/32(15.6)	7/39(17.9)
Michel *et al*	74	41	24/50	16/74(21.6)	58/74(78.4)	14/15(93.3)	1/15(6.7)	1/16(6.2)
Veneri *et al*	43	52.1	18/25	43/43	0/43	41/43(95.3)	2/43(4.7)	0
Stasi *et al*	137	51	57/80	64/137(46.7)	73/137(53.3)	52/52(100)	0/52	12/64(18.7)
Suzuki *et al*	36	56.8	14/22	25/36(69.4)	11/36(30.6)	11/13(84.6)	2/13(15.4)	12/25(48.0)
Suvajdzić *et al*	54	51	12/42	39/54(72.2)	15/54(27.8)	23/30(76.7)	7/30(23.3)	9/39(23.1)
Asahi *et al*	37	–	14/23	26/37(70.3)	11/37(29.7)	26/26(100)	0/26	0
乔爱国 *et al*	86	47.6	31/55	57/86(66.3)	29/86(33.7)	27/31(87.1)	4/31(12.9)	26/57(45.6)
何晖 *et al*	48	41.2	16/32	33/48(68.8)	15/48(31.2)	8/11(72.7)	3/11(27.3)	22/33(66.7)
王冬梅 *et al*	70	39.7	20/50	45/70(64.3)	25/70(35.7)	23/25(92.0)	2/25(8.0)	20/45(44.4)
谭洁 *et al*	39	40.6	14/25	22/39(56.4)	17/39(43.6)	16/22(72.7)	6/22(27.3)	0

–: 文献未记载.

8例患者的血小板计数有明显的增加, 抗血小板自身免疫抗体也随之消失. 因此得出了*H pylori*感染可能与ITP发生存在一定的联系这一结论.

*H pylori*感染引起ITP发生的机制目前仍不明确, 考虑有以下几种原因: (1)交叉抗原, 自身抗体: *H pylori*感染可使宿主细胞骨架发生改变, 并可嵌入上皮细胞之间, 使宿主细胞抗原性改变, *H pylori*表面的热休克蛋白(HSP 54000)是Cn1260的同源物, 可引起宿主自主免疫性组织损伤, *H pylori*感染引起的慢性免疫性刺激持续作用, 最终产生了抗血小板抗体[22-23]. (2)血小板聚集: *H pylori*通过表达血管假性血友病因子(von willebrand disease, vWF)起作用. 正常情况下, 血小板表面的糖蛋白Ib, 只有在内皮损伤时, 才与内皮下的vWF结合, 而产生聚集. 由于*H pylori*分泌的vWF, 使得血小板产生聚集, 最后使血小板损害、破坏[24]. (3)免疫失调: Lewis抗原: *H pylori*表达Lewis抗原, 血小板可吸附Lewis抗原, 继之产生Lewis抗体. 该抗体通过与抗原结合后可以激活补体系统, 进而导致血小板的破坏增多[25]. 在ITP患者的血小板的洗脱物中存在一种蛋白可以与抗Cag A抗体发生凝集反应, 随治疗的好转ITP患者的血清Cag A抗体水平逐渐下降, 考虑Cag A就是在分子模拟过程中起关键作用的蛋白[10]. (4)HLA: *H pylori*阳性ITP患者与*H pylori*阴性ITP患者的HLA-Ⅱ类等位基因存在差别. *H pylori*阳性患者的HLA-DRB1*11, HLA-DRB1*14和HLA-DQB1*03等位基因表达频率显著高于*H pylori*阴性患者. 提示该基因频率的高低可能与ITP的发生以及对*H pylori*感染的易感性具有某种内在的关系[25]. 但也有学者得出了不同的结论. 究其原因可能与*H pylori*基因型的多样性, 宿主易感性等有关[2,12].

*H pylori*感染与特发性血小板减少性紫癜关系的荟萃分析结果显示, 有*H pylori*感染的ITP患者在成功清除*H pylori*后, PLT计数能够得到上升, 说明*H pylori*感染与ITP发生存在一定联系. 但是无*H pylori*感染的部分ITP患者在随访前后PLT也有上升, 考虑与病程中使用除抗*H pylori*治疗之外的治疗方式(如使用激素, 免疫抑制剂等)有关, 这也说明*H pylori*感染不是导致ITP的唯一因素.

■创新盘点
本研究以荟萃分析为载体，研究ITP与*H pylori*感染之间的相关性.

表 2 患者血小板计数

作者	基础血小板计数($\times 10^9$/L)					随访期末血小板计数($\times 10^9$/L)					随访时间(mo)
	*H pylori*阳性并清除治疗			*H pylori*阳性	*H pylori*	*H pylori*阳性并清除治疗			*H pylori*阳性	*H pylori*	
	合计	成功	失败	未清除治疗	阴性	合计	成功	失败	未清除治疗	阴性	
Gasbarrini *et al*	95.0 ± 28.9	85.0 ± 24.0	102.0 ± 42.0	–	103.0 ± 25.0	139.6 ± 33.8	153.0 ± 30.0	104.0 ± 44.0	–	101.0 ± 28.0	4
Jarque *et al*	58.4 ± 24.5	57.0 ± 22	62.0 ± 31.0	–	58.0 ± 23.0	65.0 ± 31.8	63.0 ± 27.0	70.0 ± 44.0	–	67.0 ± 28.0	24
Emilia *et al*	52.5 ± 25.0	50.2 ± 24.6	80	–	41.7 ± 14.8	127.8 ± 92.2	132.9 ± 94.4	67	–	111.4 ± 27.2	8.3
Veneri *et al*	51.9 ± 27.2	51.7 ± 27.8	55	–	55.7 ± 24.1	139.3 ± 123.6	144.4 ± 125.3	51	–	104.4 ± 37.3	11.7
Kohda *et al*	67.1 ± 54.2	67.1 ± 54.2	–	–	59.9 ± 40.8	120.0 ± 50.0	118.0 ± 50.0	–	–	45.0 ± 20.0	14.8
Hino *et al*	36.8 ± 20.7	40.5 ± 16.3	33.5 ± 24.3	–	31.4 ± 12.0	67.2 ± 53.7	152.3 ± 41.1	25.4 ± 22.3	–	42.3 ± 41.6	15
Hashino *et al*	58.2 ± 30.4	59.1 ± 32.5	47	–	62.6 ± 20.4	98.6 ± 56.5	98.8 ± 58.8	96	–	53.3 ± 26.9	15
Ando *et al*	56.0 ± 24.0	60.9 ± 24.9	26.0 ± 8.5	40.5 ± 16.4	42.0 ± 24.0	92.8 ± 49.5	97.2 ± 48.5	33.5 ± 4.9	47.0 ± 13	55.0 ± 35.0	11
Nomura *et al*	29.0 ± 6.0	27.0 ± 5.0	34.0 ± 6.0	–	31.0 ± 5.0	78.0 ± 11.0	96.0 ± 11.0	55.0 ± 13.0	–	34.0 ± 6.0	–
Takahashi *et al*	39.9 ± 26.7	41.8 ± 28.3	27.5 ± 6.4	–	39.2 ± 42.2	101.1 ± 85.9	110.9 ± 88.4	37.0 ± 12.7	–	35.4 ± 29.3	4
Sato *et al*	54.0 ± 17.5	53.0 ± 20.0	65.0 ± 16.0	59.0 ± 22.0	55.0 ± 22.0	109.8 ± 21.5	121.0 ± 59.0	55.0 ± 13.0	62.0 ± 24.0	56.0 ± 28.0	6
Michel *et al*	32.1 ± 14.9	31.7 ± 14.2	54	–	25.6 ± 17.0	66.3 ± 97.8	64.8 ± 101.3	88	–	101.7 ± 96.6	11.5
Veneri *et al*	54.3 ± 28.7	55.1 ± 26.2	45.9 ± 37.5	–	–	126.1 ± 47.8	130.3 ± 66.7	54.3 ± 33.9	–	–	31.2
Stasi *et al*	42.0 ± 25.0	42.0 ± 25.0	–	–	46.0 ± 23.0	129.4 ± 61.0	129.4 ± 61.0	–	–	–	25
Suzuki *et al*	54.7 ± 26.9	–	–	48.4 ± 22.1	–	114.5 ± 90.5	–	–	48.1 ± 26.0	–	6
Suvajdzić *et al*	63.0 ± 33.5	59.2 ± 34.2	75.3 ± 31.1	86.5 ± 24.1	78.1 ± 32.1	84.1 ± 45.2	86.1 ± 50.4	77.4 ± 28.0	84.8 ± 22.5	78.0 ± 30.7	18
Asahi *et al*	35.2 ± 13.1	35.2 ± 13.1	–	–	31.4 ± 12.6	113.6 ± 61.3	113.6 ± 61.3	–	–	34.1 ± 19.9	13
乔爱国 *et al*	21.76 ± 14.34	–	–	22.88 ± 10.67	20.28 ± 15.14	212.11 ± 98.31	–	–	32.74 ± 27.83	172.88 ± 105.35	3
何晖 *et al*	–	38.86 ± 20.67	–	–	–	–	82.50 ± 21.37	–	–	–	1.5
王冬梅 *et al*	20.80 ± 9.55	–	–	18.75 ± 1.02	–	169.96 ± 82.87	–	–	93.00 ± 31.87	–	6
谭洁 *et al*	–	15.75 ± 9.16	16.83 ± 8.40	–	16.71 ± 8.80	–	101.75 ± 54.04	69.17 ± 28.23	–	66.59 ± 27.38	3

–: 文献未记载.

偏倚是影响荟萃分析正确性的重要因素. 荟萃分析的质量与发表的原文质量有关, 同时荟萃分析时文章的数量也影响分析的质量. 为了最小限度的减小偏倚的影响, 本研究在PubMed查询的同时, 也在EMBase和CNKI等数据库进行了查询. 但是由于语言因素, 数据库内

■应用要点
慢性ITP的病因一直不明确，而部分ITP的发生与*H pylori*感染有关，因此对ITP患者行呼气试验，并清除*H pylori*感染可作为治疗ITP的一种方法.

表 3 *H pylori*阳性患者PLT计数荟萃分析结果(成功清除组)

Study or sub-category	*n*	清除后 (mean ± SD)	清除前 (mean ± SD)	WMD (random) 95%CI	Weight(%)	WMD (random) 95%CI
Gasbarrini *et al*	8	153.00 ± 30.00	85.00 ± 24.00		5.85	68.00 [41.38, 94.62]
Emilia *et al*	12	132.90 ± 94.40	50.20 ± 24.60		3.47	82.70 [27.51, 137.89]
Jarque *et al*	23	63.00 ± 27.00	57.00 ± 22.00		6.87	6.00 [−8.23, 20.23]
Veneri D *et al*	15	144.00 ± 125.30	51.70 ± 27.80		2.88	92.70 [27.75, 157.65]
Kohda *et al*	19	118.00 ± 50.00	67.10 ± 54.20		5.25	50.90 [17.74, 84.06]
Ando *et al*	27	97.20 ± 48.50	60.90 ± 32.50		6.39	36.30 [15.74, 56.86]
Hashino *et al*	13	98.80 ± 58.80	59.10 ± 32.50		4.94	39.70 [3.18, 76.22]
Hino *et al*	18	152.30 ± 41.10	40.50 ± 16.30		6.40	111.80 [91.37, 132.23]
Michel *et al*	14	64.80 ± 101.30	31.70 ± 14.20		3.58	33.10 [−20.48, 86.68]
Nomura *et al*	12	96.00 ± 11.00	27.00 ± 5.00		7.26	69.00 [62.16, 75.84]
Sato *et al*	27	121.00 ± 59.00	53.00 ± 20.00		6.13	68.00 [44.50, 91.50]
Takahashi *et al*	13	110.90 ± 88.40	41.80 ± 28.30		3.80	69.10 [18.64, 119.56]
Stasi *et al*	52	129.40 ± 61.00	42.00 ± 25.00		6.60	87.40 [69.48, 105.32]
Veneri V *et al*	41	130.30 ± 66.70	55.10 ± 26.20		6.27	75.20 [53.26, 97.14]
Suvajdzić *et al*	26	113.60 ± 61.30	35.20 ± 13.10		6.08	78.40 [54.31, 102.49]
Asahi *et al*	23	86.10 ± 50.40	59.20 ± 34.20		6.01	26.90 [2.01, 51.79]
何晖 *et al*	8	82.50 ± 21.37	38.86 ± 20.67		6.38	43.64 [23.04, 64.24]
谭洁 *et al*	16	101.75 ± 54.04	15.75 ± 9.16		5.83	86.00 [59.14, 112.86]
合计(95%CI)	367				100.00	61.70 [47.58, 75.81]

Test for heterogeneity: χ^2 = 121.87, df = 17 (*P*<0.00001), I^2 = 86.1%
Test for overall effect: *Z* = 8.57 (*P*<0.00001)

−100 −50 0 50 100
Favours治疗前 Favours治疗后

表 4 *H pylori*阳性患者PLT计数荟萃分析结果(清除不成功组)

Study or sub-category	*n*	治疗后 (mean ± SD)	治疗前 (mean ± SD)	WMD (random) 95%CI	Weight(%)	WMD (random) 95% CI
Gasbarrini *et al*	3	104.00 ± 44.00	102.00 ± 42.00		2.45	2.00 [−66.83, 70.83]
Jarque *et al*	9	70.90 ± 44.40	62.00 ± 31.00		7.05	8.00 [−27.16, 43.16]
Ando *et al*	2	33.50 ± 4.90	26.00 ± 8.50		16.15	7.50 [−6.10, 21.10]
Hino *et al*	3	25.40 ± 22.30	33.50 ± 24.30		6.51	−8.10 [−45.42, 29.22]
Nomura *et al*	16	55.00 ± 13.00	34.00 ± 6.00		19.38	21.00 [−28.07, 8.07]
Sato *et al*	5	55.00 ± 13.00	65.00 ± 16.00		13.76	−10.00 [−10.21, 29.21]
Takahashi *et al*	2	37.80 ± 12.70	27.50 ± 6.40		12.93	9.50 [−61.66, 78.46]
Veneri *et al*	2	54.30 ± 33.90	45.90 ± 37.50		2.38	8.40 [−28.90, 33.10]
Suvajdzić *et al*	7	77.40 ± 28.00	75.30 ± 31.10		8.28	2.10 [−20.48, 86.68]
谭洁 *et al*	6	69.17 ± 28.23	16.83 ± 8.40		11.11	52.34 [28.77, 75.91]
合计(95%CI)	55				100.00	11.41 [−0.07, 22.88]

Test for heterogeneity: χ^2 = 23.70, df = 9 (*P* = 0.005), I^2 = 62.0%
Test for overall effect: *Z* = 1.95 (*P* = 0.05)

−100 −50 0 50 100
Favours治疗前 Favours治疗后

除中英文外的文献(如日文文献等)均未录入本研究，因此语言偏倚还是存在的.

进行荟萃分析，使用随机对照实验的数据是最理想的. 但是目前随机对照实验进行的很少，因此开展相关实验，探讨*H pylori*感染与ITP发生的内在联系以及ITP发病机制尚需进一步研究.

■同行评价
本文选题较好, 实用性较强, 有较高的参考价值.

表 5 *H pylori*阳性患者PLT计数荟萃分析结果(未清除治疗组)

Study or sub-category	*n*	随访计数 (mean ± SD)	基础计数 (mean ± SD)	WMD (random) 95%CI	Weight(%)	WMD (random) 95%CI
Ando *et al*	21	47.00 ± 13.00	40.50 ± 16.40		17.79	6.50 [−2.45, 15.45]
Sato *et al*	7	62.00 ± 24.00	59.00 ± 22.00		15.36	3.00 [−21.12,27.12]
Suzuki *et al*	12	48.10 ± 26.00	48.40 ± 22.10		16.29	−0.30 [−19.61, 19.01]
Suvajdzić *et al*	9	84.80 ± 22.50	86.50 ± 24.10		15.87	−1.70 [−23.24, 19.84]
乔爱国 *et al*	20	93.00 ± 31.87	18.75 ± 1.02		17.17	74.25 [60.28, 88.22]
王冬梅 *et al*	26	32.74 ± 27.83	22.88 ± 10.67		17.51	9.86 [−1.60, 21.32]
合计(95%CI)	95				100.00	15.77 [−7.99, 39.54]

Test for heterogeneity: χ^2 = 78.52, df = 5 (P<0.00001), I^2 = 93.6%
Test for overall effect: Z = 1.30 (P = 0.19)

−100 −50 0 50 100
Favours治疗前 Favours治疗后

表 6 *H pylori*阴性患者PLT计数荟萃分析结果

Study or sub-category	*n*	随访计数 (mean ± SD)	基础计数 (mean ± SD)	WMD (random) 95%CI	Weight(%)	WMD (random) 95%CI
Gasbarrini *et al*	7	101.00 ± 28.00	103.00 ± 25.00		5.95	−2.00 [−29.81, 25.81]
Emilia *et al*	17	111.40 ± 27.20	41.70 ± 14.80		6.87	69.70 [54.98, 84.42]
Jarque *et al*	16	67.00 ± 28.00	58.00 ± 23.00		6.68	9.00 [−8.75, 26.75]
Veneri D *et al*	10	104.40 ± 37.30	55.70 ± 24.10		5.97	48.70 [21.18, 76.22]
Kohda *et al*	15	45.00 ± 20.00	59.90 ± 40.80		6.32	−14.90 [−37.89, 8.09]
Ando *et al*	11	55.00 ± 35.00	42.00 ± 24.00		6.16	13.00 [−12.08, 38.08]
Hashino *et al*	8	53.30 ± 26.90	62.60 ± 20.40		6.29	−9.30 [−32.69, 14.09]
Hino *et al*	9	42.30 ± 41.60	31.40 ± 12.00		5.91	10.90 [−17.39, 39.19]
Michel *et al*	58	101.70 ± 96.60	25.60 ± 17.00		6.15	76.10 [50.86, 101.34]
Nomura *et al*	14	34.00 ± 6.00	31.00 ± 5.00		7.27	3.00 [−1.09, 7.09]
Sato *et al*	14	56.00 ± 28.00	55.00 ± 22.00		6.63	1.00 [−17.65, 19.65]
Takahashi *et al*	5	35.40 ± 29.30	39.20 ± 42.20		4.56	−3.80 [−48.83, 41.23]
Suvajdzić *et al*	11	34.10 ± 19.90	31.40 ± 12.60		6.91	2.70 [−11.22, 16.62]
Asahi *et al*	15	78.00 ± 30.70	78.10 ± 32.10		6.36	−0.10 [−22.58, 22.38]
乔爱国 *et al*	29	172.88 ± 105.35	20.28 ± 15.14		5.06	152.60 [113.86, 191.34]
谭洁 *et al*	17	66.59 ± 27.38	16.71 ± 8.80		6.93	49.88 [36.21, 63.55]
合计(95%CI)	256				100.00	24.24 [8.54, 39.93]

Test for heterogeneity: χ^2 = 203.37, df = 15 (P<0.00001), I^2 = 92.6%
Test for overall effect: Z = 3.03 (P = 0.002)

−100 −50 0 50 100
Favours治疗前 Favours治疗后

4 参考文献

1 Gasbarrini A, Franceschi F, Tartaglione R, Landolfi R, Pola P, Gasbarrini G. Regression of autoimmune thrombocytopenia after eradication of Helicobacter pylori. *Lancet* 1998; 352: 878

2 Jarque I, Andreu R, Llopis I, De la Rubia J, Gomis F, Senent L, Jiménez C, Martín G, Martínez JA, Sanz GF, Ponce J, Sanz MA. Absence of platelet response after eradication of Helicobacter pylori infection in patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 2001; 115: 1002-1003

3 Emilia G, Longo G, Luppi M, Gandini G, Morselli M, Ferrara L, Amarri S, Cagossi K, Torelli G. Helicobacter pylori eradication can induce platelet recovery in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2001; 97: 812-814

4 Veneri D, Franchini M, Gottardi M, D'Adda M, Ambrosetti A, Krampera M, Zanetti F, Pizzolo G. Efficacy of Helicobacter pylori eradication in raising platelet count in adult patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Haematologica* 2002; 87: 1177-1179

5 Kohda K, Kuga T, Kogawa K, Kanisawa Y, Koike K, Kuroiwa G, Hirayama Y, Sato Y, Niitsu Y. Effect of

Helicobacter pylori eradication on platelet recovery in Japanese patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura and secondary autoimmune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 2002; 118: 584-588

6 Hino M, Yamane T, Park K, Takubo T, Ohta K, Kitagawa S, Higuchi K, Arakawa T. Platelet recovery after eradication of Helicobacter pylori in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Ann Hematol* 2003; 82: 30-32

7 Hashino S, Mori A, Suzuki S, Izumiyama K, Kahata K, Yonezumi M, Chiba K, Kondo T, Ota S, Toyashima N, Kato N, Tanaka J, Imamura M, Asaka M. Platelet recovery in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura after eradication of Helicobacter pylori. *Int J Hematol* 2003; 77: 188-191

8 Ando K, Shimamoto T, Tauchi T, Ito Y, Kuriyama Y, Gotoh A, Miyazawa K, Kimura Y, Kawai T, Ohyashiki K. Can eradication therapy for Helicobacter pylori really improve the thrombocytopenia in idiopathic thrombocytopenic purpura? Our experience and a literature review. *Int J Hematol* 2003; 77: 239-244

9 Nomura S, Inami N, Kanazawa S. The effects of Helicobacter pylori eradication on chemokine production in patients with immune thrombocytopenic purpura. *Eur J Haematol* 2004; 72: 304-305

10 Takahashi T, Yujiri T, Shinohara K, Inoue Y, Sato Y, Fujii Y, Okubo M, Zaitsu Y, Ariyoshi K, Nakamura Y, Nawata R, Oka Y, Shirai M, Tanizawa Y. Molecular mimicry by Helicobacter pylori CagA protein may be involved in the pathogenesis of H. pylori-associated chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 2004; 124: 91-96

11 Sato R, Murakami K, Watanabe K, Okimoto T, Miyajima H, Ogata M, Ohtsuka E, Kodama M, Saburi Y, Fujioka T, Nasu M. Effect of Helicobacter pylori eradication on platelet recovery in patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Arch Intern Med* 2004; 164: 1904-1907

12 Michel M, Cooper N, Jean C, Frissora C, Bussel JB. Does Helicobater pylori initiate or perpetuate immune thrombocytopenic purpura? *Blood* 2004; 103: 890-896

13 Veneri D, Krampera M, Franchini M. High prevalence of sustained remission of idiopathic thrombocytopenic purpura after Helicobacter pylori eradication: a long-term follow-up study. *Platelets* 2005; 16: 117-119

14 Stasi R, Rossi Z, Stipa E, Amadori S, Newland AC, Provan D. Helicobacter pylori eradication in the management of patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Am J Med* 2005; 118: 414-419

15 Suzuki T, Matsushima M, Masui A, Watanabe K, Takagi A, Ogawa Y, Shirai T, Mine T. Effect of Helicobacter pylori eradication in patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura-a randomized controlled trial. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 1265-1270

16 Suvajdzić N, Stanković B, Artiko V, Cvejić T, Bulat V, Bakrac M, Colović M, Obradović V, Atkinson HD. Helicobacter pylori eradication can induce platelet recovery in chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Platelets* 2006; 17: 227-230

17 Asahi A, Kuwana M, Suzuki H, Hibi T, Kawakami Y, Ikeda Y. Effects of a Helicobacter pylori eradication regimen on anti-platelet autoantibody response in infected and uninfected patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Haematologica* 2006; 91: 1436-1437

18 乔爱国, 何思春, 杨丽华, 何吉琼. 根治幽门螺杆菌治疗慢性特发性血小板减少性紫癜的临床探讨. 第三军医大学学报 2007; 29: 1450-1451

19 何晖, 翟明. 特发性血小板减少性紫癜与幽门螺杆菌感染的相关性研究. 中国实用内科杂志 2007; 27: 1633-1634

20 王冬梅, 李英华, 王红芬, 孟真, 李文肖, 刘丽, 耿建林, 王修乾. 幽门螺杆菌感染对特发性血小板减少性紫癜的影响. 临床荟萃 2006; 21: 1409-1410

21 谭洁, 李汉中. 特发性血小板减少性紫癜与幽门螺杆菌感染的临床分析. 中国现代医学杂志 2007; 17: 883-884

22 Cines DB, McKenzie SE, Siegel DL. Mechanisms of action of therapeutics in idiopathic thrombocytopenic purpura. *J Pediatr Hematol Oncol* 2003; 25 Suppl 1: S52-S56

23 Iaquinto G, Todisco A, Giardullo N, D'Onofrio V, Pasquale L, De Luca A, Andriulli A, Perri F, Rega C, De Chiara G, Landi M, Taccone W, Leandro G, Figura N. Antibody response to Helicobacter pylori CagA and heat-shock proteins in determining the risk of gastric cancer development. *Dig Liver Dis* 2000; 32: 378-383

24 Jackson S, Beck PL, Pineo GF, Poon MC. Helicobacter pylori eradication: novel therapy for immune thrombocytopenic purpura? A review of the literature. *Am J Hematol* 2005; 78: 142-150

25 Veneri D, Gottardi M, Guizzardi E, Zanuso C, Krampera M, Franchini M. Idiopathic thrombocytopenic purpura, Helicobacter pylori infection, and HLA class II alleles. *Blood* 2002; 100: 1925-1926; author reply 1926-1927

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年6月28日; 17(18): 1901-1904
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

病例报告 CASE REPORT

胃良性病变行全胃切除2例

黄 恺, 傅 红, 师英强, 周 烨, 杜春燕

黄恺, 傅红, 师英强, 周烨, 杜春燕, 复旦大学附属肿瘤医院腹部外科 复旦大学上海医学院肿瘤学系 上海市 200032
作者贡献分布: 课题设计由傅红与师英强完成; 文章涉及的病例手术操作分别由黄恺、傅红、周烨及杜春燕完成; 资料收集文献检索由黄恺完成; 论文写作由黄恺与傅红完成.
通讯作者: 傅红, 副教授, 200032, 上海市, 复旦大学附属肿瘤医院腹部外科. drfh1805@126.com
电话: 021-64175590-2605 传真: 021-64175242
收稿日期: 2009-04-02 修回日期: 2009-05-16
接受日期: 2009-05-18 在线出版日期: 2009-06-28

Total gastrectomy for benign diseases: a two-case report and literature review

Kai Huang, Hong Fu, Ying-Qiang Shi, Ye Zhou, Chun-Yan Du

Kai Huang, Hong Fu, Ying-Qiang Shi, Ye Zhou, Chun-Yan Du, Department of Abdominal Surgery, Fudan University Cancer Hospital/Institute, Department of Oncology, Fudan University Shanghai Medical College, Shanghai 200032, China
Correspondence to: Fu Hong, Department of Abdominal Surgery, Fudan University Cancer Hospital/Institute, Shanghai 200032, China. drfh1805@126.com
Received: 2009-04-02 Revised: 2009-05-16
Accepted: 2009-05-18 Published online: 2009-06-28

Abstract
Total gastrectomy may be indicated in treating extensive stomach malignancies. It is also the procedure of choice in controlling the intractable ulcer diathesis associated with non-beta islet cell tumors of the pancreas when pancreatic tumor or metastases cannot be controlled medically. Here we report two patients with benign gastric diseases, who were treated for total gastrectomy. In combination with our experiences and relative literatures, the indications of total gastrectomy for benign disease were summarized.

Key Words: Benign disease; Total gastrectomy; Indication

Huang K, Fu H, Shi YQ, Zhou Y, Du CY. Total gastrectomy for benign diseases: a two-case report and literature review. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(18): 1901-1904

摘要
全胃切除术主要用于胃癌的手术治疗, 及伴转移的胰腺非β细胞瘤内科治疗失败的顽固性多发性胃溃疡患者. 本文报道2例胃良性病变患者全胃切除的外科诊治经过, 结合文献及临床医疗实践, 提出胃良性病变全胃切除的手术指征.

关键词: 胃良性病变; 全胃切除; 手术指征

黄恺, 傅红, 师英强, 周烨, 杜春燕. 胃良性病变行全胃切除2例. 世界华人消化杂志 2009; 17(18): 1901-1904
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1901.asp

■背景资料
全胃切除术主要运用于胃癌的手术治疗, 以及伴有转移的胰腺非β细胞瘤内科治疗失败的顽固性胃溃疡患者. 胃良性病变行全胃切除, 国内外研究与报道较少, 对其手术指征较难把握.

0 引言
全胃切除术(total gastrectomy)自1897年Schlatter首次成功施行治疗胃癌, 已逾百年之久, 目前仍系世界各国胃肠与肿瘤外科医师最常用的经典术式之一. 其主要运用于胃恶性病变(主要胃癌)的手术治疗, 及伴有转移的胰腺非β细胞瘤内科治疗失败的顽固多发性胃溃疡患者. 胃良性病变通常以内科保守治疗为主, 但当内科保守治疗无效或急诊情况无法行部分胃切除时, 势必面临全胃切除的抉择. 胃良性病变行全胃切除, 国内外研究与报道较少[1-2], 对其手术指征较难把握. 我科2006-2007年对2例胃良性病变患者行全胃切除, 现予以报告, 并结合国内外文献及临床医疗实践, 对胃良性病变全胃切除的手术指征予以总结.

1 病例报告
病例1: 男, 60岁, 2 mo前曾因消化性溃疡穿孔伴局限性腹膜炎, 在外院保守治疗后好转, 后出现黑便, 间歇性中上腹疼痛1 mo入院. 查体上腹剑下略有压痛, 无腹膜炎体征; 血Hb、生化指标正常范围; 胃镜提示胃底近贲门巨大溃疡伴出血, 病理黏膜慢性炎伴局灶渗出, 部分坏死出血. 术前诊断胃底巨大溃疡伴活动性出血. 决定手术探查, 患者腹腔内粘连广泛, 沿胃体小弯侧从贲门至幽门可及胃壁弥漫增厚, 质硬, 病灶约7 cm×8 cm, 胃体小弯侧病灶与肝左叶粘连紧密无法分离(图1). 削除部分肝组织, 强行分离小弯侧粘连,

■同行评议者
张凤春, 教授, 上海交通大学医学院附属仁济医院肿瘤中心

■相关报道
Gustavsson *et al*总结25年360例全胃切除术中37例胃良性病变的经验，其中病变包括：Zollinger-Ellison综合征19例，胃应急性溃疡出血7例行急诊手术，高位或多发性溃疡4例，胃溃疡穿孔4例，胃平滑肌瘤2例，术后胃瘘1例.

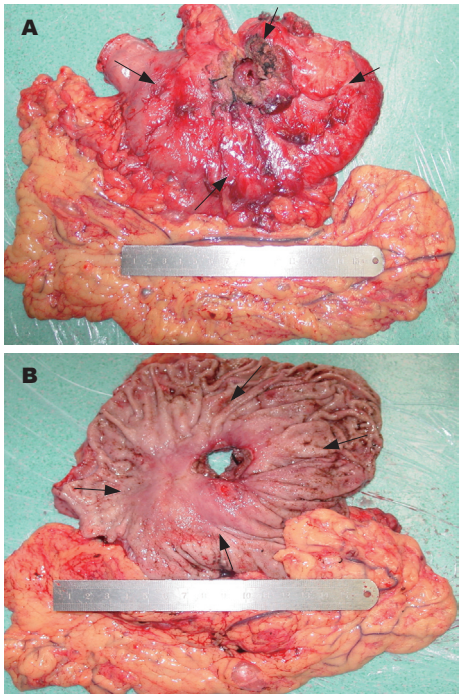


图 1 病例1患者术后大体标本. 胃体小弯后壁8−11 cm巨大慢性陈旧性消化性溃疡伴穿孔，病灶自贲门下1 cm至幽门环. A: 完整全胃切除标本(标记处为溃疡穿透至浆膜面); B: 沿大弯侧剪开后(标记处为溃疡区域).

图 2 病例2上腹部增强CT. 胃体后壁巨大类圆形囊性肿块，囊壁增厚，伴均匀环状强化，大小约8 cm×11 cm×18 cm.

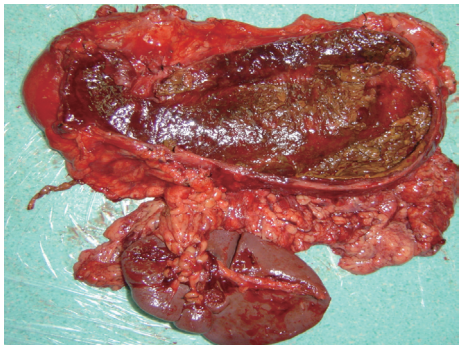


图 3 病例2术后标本. 胃后壁浆膜面巨大假性囊肿.

术中冰冻未见恶性证据. 考虑溃疡病灶巨大，胃壁弥漫增厚改变，若行部分切除，吻合口处定血供不佳.

病例2: 男，49岁，因进食后中上腹隐痛、腹胀，伴贫血消瘦半年入院. 血常规Hb 79 g/L，血生化指标正常，肿瘤标志物仅CA 125升高(325 μg/L). 胃镜报告整个胃后壁不规则挛缩，弥漫脑回样改变. CT提示左上腹胃体后壁巨大类圆形囊性肿块，囊壁增厚，伴均匀环状强化，大小约8 cm×11 cm×18 cm，小部分实性病变，考虑消化系间质瘤可能. 术前诊断为胃后壁巨大囊性肿块，间质瘤可能. 术中探查胃后壁巨大囊性肿块，与胃壁无法分离，与脾蒂及脾脏表面粘连，未见明显肿大淋巴结(图2-3).

2例患者均经腹行全胃切除术，后者合并脾脏切除. 消化系重建均采用结肠前Schlatter式空肠代胃，加braun吻合，手术经过顺利. 术后病理分别为胃体小弯后壁陈旧性慢性消化性溃疡伴穿孔及胃后壁浆膜面巨大假性囊肿. 患者均2 wk后出院，术后恢复良好. 随访18-30 mo，2例患者均健在，Hb与血清总蛋白、白蛋白正常，但体质量均有下降约2-3 kg.

■创新盘点
本文通过作者临床经治的2例胃良性病变行全胃切除的临床经验，结合国内外文献，总结了胃良性病变全胃切除的手术指征，对临床实践有一定指导意义.

2 讨论

随着外科技术的进步及围手术期处理的加强，尤其是各种吻合器械的运用及术后的营养支持，全胃切除的死亡率及术后并发症发生率已与胃大部切除术大致相似. 目前对于胃的恶性病变，全胃切除术的应用指征研究较多，一般适用于：(1)癌肿侵犯2个分区以上；(2)浸润性生长接近胃的一半；(3)癌肿局限于一区，但其他区有癌前病变；(4)多原发胃癌(病灶分别位于胃上、下部者)；(5)侵入整个胃小弯的病变；(6)胃上部癌已有第二站淋巴结转移；(7)胃癌切除术后残留的胃组织血液循环不佳，疑有坏死可能时，以及胃-肠吻合口瘘保守治疗无效，全身情况较好，二次探查残胃无法保留的患者，均应**做全胃切除**[3-5].

而针对胃的良性病变采用全胃切除的手术指征，鉴于临床大宗研究与报道甚少，国内外至今尚缺乏明确论述与治疗规范. 经检索，胃良性病变采用全胃切除，国内外多为个案报道. 1987年Mayo Clinic附属医院的Sven Gustavsson总结25年360例全胃切除术中37例胃良性病变的经验，为迄今为止最大数目的报道. 37例患者中，男20例，女17例，平均年龄56岁，病变包括：Zollinger-Ellison综合征19例，胃应激性溃疡出血7例行急诊手术，高位或多发性溃疡4例，胃溃疡穿孔4例(3例行急诊手术)，胃平滑肌瘤2例，术后

胃瘫1例. 27例行Roux-en-Y食管空肠吻合, 7例行Schlatter空肠代胃加空肠侧-侧吻合, 2例行食管十二指肠端端吻合, 术后并发症发生率22%, 包括2例吻合口瘘, 1例腹腔内脓肿, 1例败血症高热保守治疗后好转, 1例心内膜炎瓣膜置换后好转. 5例术后1-3 mo内死于并发症, 死亡率为14%. 平均随访8.4年, 2例死于其他疾病, 30例患者均健在, 73%疾病控制仅有轻微症状, 但其中15%患者有不同程度体质量减轻; 1/3患者有乏力与腹泻症状; 1/4患者出现铁剂与Vit B_{12}治疗无效的难治性贫血. 作者认为胃良性病变行全胃切除, 可使疾病控制良好, 长期生存率高[1].

其次为1997年美国Oregon Health Sciences University的Clifford教授报道的21例胃良性病变行全胃切除的临床研究. 其中男11例, 女10例, 平均年龄48岁, 病变包括: 8例伴狭窄的严重的吻合口溃疡; 8例严重碱性反流性胃炎或/和食管炎; 2例术后胃瘫; 2例胃-食管吻合口坏死; 1例胃-皮下瘘管. 5例(24%)发生严重术后并发症, 具体包括: 2例腹腔脓肿, 置管引流治愈; 1例术后40天死亡(5%), 是由于吻合口瘘导致严重多发腹腔脓肿, 腹膜炎, 败血症; 1例严重肺炎, 导致呼吸衰竭被迫气管插管短期上呼吸机; 1例伪膜性肠炎最后口服稳可信治愈. 平均随访30 mo, 5例失访, 其余15例患者平均体质量指数变化不大. 该作者认为, 采用Roux-en-Y食管-空肠吻合术, 对于大多数胃良性病变患者的全胃切除, 是一种较好的消化系重建方式[2].

分析比较后可见, 美国两组全胃切除手术后并发症率较高, 死亡率亦不低. 作者本人自2000-2007年, 在复旦大学附属肿瘤医院外科共行全胃切除术约110例, 术后仅1例吻合口瘘, 出现不同程度反流症状者约15%, 内科治疗均控制良好, 无严重反流性食管炎, 无手术死亡. 吻合方式分2种; 空肠系膜长者, 行结肠前Schlatter式空肠代胃, 十二指肠旋韧带远端输入攀40 cm, 行空肠-食管端-侧吻合, 距食管吻合口20 cm处, 加空肠侧-侧吻合术; 系膜短则采用Roux-en-Y食管-空肠吻合术, 作者通常术前置胃管时, 胃管的头部绑1根细鼻饲管, 术中两管分开, 鼻饲管放入空肠输出攀, 胃管则入输入端减压, 排气后拔出胃管, 鼻饲管即开始滴各种流质, 每天1000-2000 mL, 肠内营养则迅速改善全身营养情况, 医疗费用大为降低, 符合我国国情, 2种方法灵活掌握, 术后疗效均不错[1-2,6-7].

其他胃良性病变全胃切除的个案报道主要有: 1979年日本Yosasaki报道1例重度肝硬化伴胃出血患者行全胃切除; 1991年美国McCallum *et al*报道对8例胃溃疡术后难治性胃瘫者行全胃切除; 1999年新加坡Suresh *et al*报道1例大面积烧伤致严重消化系出血行全胃切除; 2001年杨家伟 *et al*报道1例全胃结核患者行全胃切除, 2002年印度Rao *et al*对1例胃扭转致严重贫血患者行全胃切除; 2006年西班牙Carlos *et al*对9例十二指肠转位术后吻合口瘘患者行全胃切除; 2007年美国Franz *et al*对1例Zollinger-Ellison综合征伴胃类癌患者; Caroline *et al*对1例Ménétrier's病(巨大肥厚性胃炎)患者行全胃切除; 2008年美国Malini *et al*对1例胃弹性假黄瘤伴出血患者行全胃切除. 可见胃良性病变的全胃切除至今全世界范围内仍不断有学者报道, 结合国内外文献及作者临床实践, 提出以下胃的良性病症适合全胃切除的手术选择: (1)超过2个分区的胃体严重的较大、较深的溃疡, 或者多发性严重的胃溃疡, 经常出现消化系出血, 甚至发生穿孔, 经内科保守治疗无效者; (2)外伤所致严重的胃挫裂伤, 急诊手术无法修复, 严重胃溃疡穿孔或胃出血无法行部分切除, 而患者整体情况尚允许的患者, 可考虑急诊全胃切除; (3)胃的良性病变但范围广泛, 伴发严重的贫血、低蛋白血症, 而内科长期治疗无效者, 诸如全胃结核、胃体巨大囊实性病变等; (4)Zollinger-Ellison综合征, 伴发胃类癌或保守治疗无效; (5)胃手术后严重并发症, 如复发性碱性反流性胃、食管炎, 食管-胃吻合口坏死、皮下瘘管或狭窄性溃疡, 以及胃术后较长期慢性胃瘫等, 保守治疗无效[1-2,7-15].

全胃切除术往往有较高的术后营养并发症, 鉴于目前国情与较特殊的医疗环境, 胃良性病变行全胃切除仍应慎重. 对于大部分需要外科干预的病灶较大的胃良性疾病, 国内外均缺乏系统深入的研究, 术前应充分告知患者与家属全胃切除术的可能性与必要性, 特别是有时术后有时严重的并发症发生, 以及长期营养不良与体质消瘦的事实, 术前一定要有充分的手术操作技巧与严格地指征选择, 以免造成不必要的困惑与纠纷.

特别要提出的是, 美国外科学界提出并早已实施的对于严重的胃肠手术后胃瘫、严重碱性反流性胃炎或/和食管炎、伴狭窄严重的吻合口溃疡、胃-食管吻合口坏死, 以及胃-皮下瘘管等, 长时间保守治疗失败者, 采用了全胃切除的手术治疗方法, 并获得了较好的疗效, 而国内迄今鲜

■**应用要点**
胃良性病变如累及两分区的巨大穿透性溃疡, 胃浆膜面巨大囊肿, 术后严重胃瘫等等, 伴严重贫血、低蛋白, 长时间保守治疗失败者, 全胃切除往往可获得较好的效果.

■同行评价
本研究内容重要，结合我国的疾病谱，对临床一线的实际操作提出相应的诊治策略，有一定的创新性和实用性.

见介绍. 因此, 我国外科学界与临床外科医师在工作实践中, 应如何掌握指征与遵循所谓的某种“诊治规范”时, 应倍加审慎与灵活掌握.

对于常见病的处理, 诊治规范可在一定程度上提供依据和指引, 但临床面临的许多新的疑难问题的处理, 在较多的情况下, 若要遵循某种“规范”较为困难, 而临床工作中往往需要规范的变化, 才能解决类似问题[16]. 我们应当认真总结国内外经验, 提出相应的诊治策略, 以减少临床一线工作者的难度, 更好地为患者服务.

3 参考文献

1 Gustavsson S, Kelly KA. Total gastrectomy for benign disease. *Surg Clin North Am* 1987; 67: 539-550
2 Farahmand M, Sheppard BC, Deveney CW, Deveney KE, Crass RA. Long-term outcome of completion gastrectomy for nonmalignant disease. *J Gastrointest Surg* 1997; 1: 182-187
3 周建平, 刘祺. 胃癌全胃切除指征及消化道重建术. 中国现代手术学杂志 2002; 6: 159-160
4 Lehnert T, Buhl K. Techniques of reconstruction after total gastrectomy for cancer. *Br J Surg* 2004; 91: 528-539
5 Kim YW, Han HS, Fleischer GD. Hand-assisted laparoscopic total gastrectomy. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 2003; 13: 26-30
6 Dulucq JL, Wintringer P, Perissat J, Mahajna A. Completely laparoscopic total and partial gastrectomy for benign and malignant diseases: a single institute's prospective analysis. *J Am Coll Surg* 2005; 200: 191-197
7 杨家伟. 全胃结核行全胃切除1例. 中国误诊学杂志 2001; 1: 1277
8 佐々木洋, 今岡真義, 松井雄征. 重症肝硬変患者の消化管出血に対する胃全摘出術の一経験. 日消外会誌 1979; 12: 923-926
9 McCallum RW, Polepalle SC, Schirmer B. Completion gastrectomy for refractory gastroparesis following surgery for peptic ulcer disease. Long-term follow-up with subjective and objective parameters. *Dig Dis Sci* 1991; 36: 1556-1561
10 Nathan S, Ang ES, Chia KH, Huang MH, Lee ST. Severe gastrointestinal bleeding resulting in total gastrectomy in a patient with major burns--a case report. *Burns* 1999; 25: 531-536
11 Menon P, Sunil I, Chowdhury SK, Rao KL. Hunt-Lawrence pouch after total gastrectomy: 4 years follow up. *Indian Pediatr* 2003; 40: 249-251
12 Serra C, Baltasar A, Pérez N, Bou R, Bengochea M. Total gastrectomy for complications of the duodenal switch, with reversal. *Obes Surg* 2006; 16: 1082-1086
13 Franz RC, Penzhorn HO. Is total gastrectomy still a viable option in the management of patients with the Zollinger-Ellison syndrome? *S Afr J Surg* 2007; 45: 58-60
14 Sanchez C, Brody F, Pucci E, Bashir S. Laparoscopic total gastrectomy for Ménétrier's disease. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2007; 17: 32-35
15 Sur MD, Nguyen SQ, Labow DM, Scordi-Bello I, Lento PA, Hyun JG. Pseudoxanthoma elasticum: a case of total gastrectomy for gastric hemorrhage. *Am Surg* 2008; 74: 361-362
16 傅红, 黄恺. 美国NCCN软组织肿瘤诊治规范(2007)解读与评述. 中国实用外科杂志 2008; 28: 241-245

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

中国科技期刊引证报告（核心版）发布《世界华人消化杂志》2007年影响因子0.568

本刊讯 2007年《世界华人消化杂志》的总被引频次为2353, 位居全部1723种中国科技论文统计源期刊的第86位, 内科医学类28种期刊的第5位. 2007年《世界华人消化杂志》的影响因子为0.568, 内科医学类28种期刊的第15位. 即年指标0.082, 他引率0.69, 引用刊数372种, 扩散因子15.81, 学科影响指标0.54. (编辑: 程剑侠 2009-06-28)

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2009年6月28日; 17(18): 1905-1907
ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

病例报告 CASE REPORT

直肠腺类癌临床诊治2例

夏翠锋, 李云峰, 李 强

夏翠锋, 李云峰, 李强, 云南省肿瘤医院大肠癌临床研究中心 云南省昆明市 650118
作者贡献分布: 夏翠锋组织论文撰写, 李云峰及李强负责材料的收集与整理.
通讯作者: 夏翠锋, 650118, 云南省昆明市昆州路519号, 云南省肿瘤医院大肠癌临床研究中心.
xiacuifeng20050908@yahoo.com.cn
电话: 0871-8185656-2132
收稿日期: 2009-03-31 修回日期: 2009-05-18
接受日期: 2009-05-25 在线出版日期: 2009-06-28

Treatment of rectal adenocarcinoid: a two-case analysis

Cui-Feng Xia, Yun-Feng Li, Qiang Li

Cui-Feng Xia, Yun-Feng Li, Qiang Li, Colorectal Cancer Research Center, Tumor Hospital of Yunnan Province, Kunming 650118, Yunnan Province, China
Correspondence to: Cui-Feng Xia, Tumor Hospital of Yunnan Province, Colorectal Cancer Research Center, Kunming 650118, Yunnan Province, China. xiacuifeng20050908@yahoo.com.cn
Received: 2009-03-31 Revised: 2009-05-18
Accepted: 2009-05-25 Published online: 2009-06-28

Abstract
Pathogenetic condition of the rectal adenocarcinoid (pit cell carcinoma) whose biologic behavior is between carcinoid and adenocarcinoma develop relatively slowly . After operation treatment, two cases were found with quick recurrence and metastasis, and adjunctive therapy was ineffective for these two cases. These cases are rare seen clinically.

Key Words: Rectal adenocarcinoid; Pit cell carcinoma; Treatment

Xia CF, Li YF, Li Q. Treatment of rectal adenocarcinoid: a two-case analysis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(18): 1905-1907

摘要
直肠腺类癌(隐窝细胞癌), 生物学行为介于类癌与腺癌之间, 病情进展缓慢, 本文报道2例患者经规范治疗后迅速复发及转移, 复发转移后对术后辅助治疗无效, 临床上实属罕见.

关键词: 直肠腺类癌; 隐窝细胞癌; 治疗

夏翠锋, 李云峰, 李强. 直肠腺类癌临床诊治2例. 世界华人消化杂志 2009; 17(18): 1905-1907
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1905.asp

0 引言
类癌是一种来源于神经外胚层APUD细胞的神经内分泌肿瘤[1], 临床上以单一细胞类型为主, 类癌与腺癌两种细胞紧密混杂一起的腺类癌非常罕见. 由于其生物学特性介于腺癌和类癌之间, 故病情进展缓慢[2]. 2例患者均给予规范治疗, 在短期内即发生局部复发和远处转移, 复发后治疗无效, 病情进展迅速, 极其罕见, 现报道如下.

1 病例报告
病例1, 男, 66岁, 因大便性状改变伴大便带血1年入院. 查体: 心肺腹检查无异常; CT: 直肠下段肠壁增厚, 并向腔内突出, 考虑为直肠癌; 纤维结肠镜检查: 距肛门约8 cm可见肿块向腔内突出, 直径约3 cm, 表面溃烂出血; 病理检查: 直肠腺癌. 肿瘤标志物: CEA 12 μg/L, 铁蛋白(Fer)、CA242、CA199、CA125均正常. 确诊后行根治性手术(Dixon's术). 术后病理: 直肠腺类癌, 淋巴结转移($pT_3N_1M_0$)(图1), 免疫组化: Syn(+), CgA(+)(图2). 术后行辅助化疗3周期(奥沙利铂联合卡培他滨), 3 mo后复查CT提示吻合口处肠壁明显增厚, 肠腔狭窄(图3), 肠镜提示吻合口狭窄(图4), 病理: 直肠腺类癌.

病例2, 男, 58岁, 因大便带血6 mo入院. 查体: 心肺腹检查无异常; CT: 直肠肠壁增厚, 肿瘤向腔内突出, 肠周结构模糊, 病变长度约4 cm, 考虑为直肠癌; 纤维结肠镜检查: 距肛门约4 cm可见肿块向腔内生长, 管腔狭窄, 不能进镜; 病理检查: 直肠腺癌. 肿瘤标志物: CEA : 4 μg/L, CA199: 88 U/mL, 铁蛋白(Fer)、CA242、CAl25正常. 确诊后行根治性手术(Mile's). 术后病理: 直肠腺-类混合性癌($pT_3N_2M_0$), 免疫组化: Syn(+), CgA(+).

■背景资料
本文报道的患者均以大便带血为主诊, 术前肠镜检查及病理提示为直肠癌, 术后病理确诊为直肠腺类癌, 术后给予全身化疗, 均在短期内出现复发及转移, 与直肠类癌的预后比较, 并查阅历年文献, 该病例实属罕见.

■同行评议者
蔡开琳, 副教授, 华中科技大学同济医学院附属协和医院普通外科

■应用要点
在直肠类癌的临床诊治中，多数患者以局部切除为主，预后好，但存在有腺类混合性癌，且病情发展快，预后差，在临床中应注意.

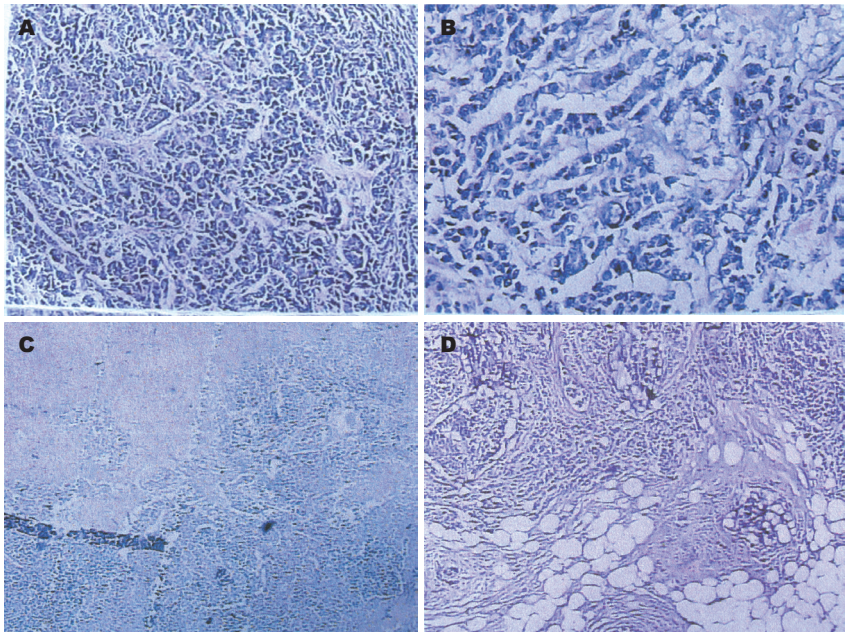


图 1 病例1术后病理图片. A−B: 直肠肿瘤; C−D:转移淋巴结.

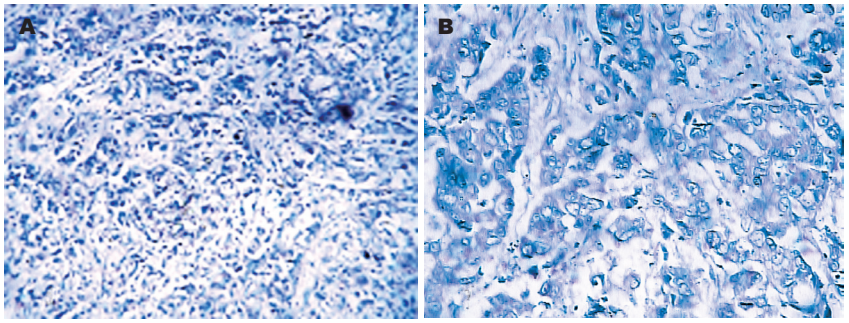


图 2 病例1免疫组织化学图片(20×). A: CgA(+); B: CgA(+).

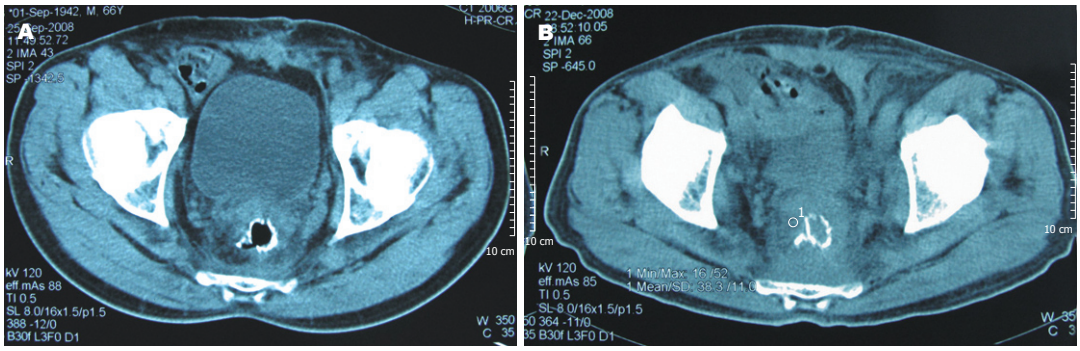


图 3 病例1 CT图像. A: 术后1 mo; B: 术后3 mo.

术后行辅助化疗5周期(奥沙利铂联合卡培他滨)，6 mo后复查CT提示肝脏多发转移，更改化疗方案(伊立替康联合卡培他滨)及行介入治疗无效后死亡.

■名词解释
腺类癌：又称为隐窝细胞癌、杯状细胞类癌、微小腺管状癌，多见于阑尾，镜下癌细胞排列成巢状、条索状、腺泡状或管状，可由3种类型的细胞构成，临床生物学行为介于一般类癌与腺癌之间.

2 讨论

类癌是一种来源于神经外胚层APUD细胞的神经内分泌肿瘤，胃肠道类癌则来源于胃肠黏膜腺体的kultchitsky细胞[1]，由Dberndoufer于1907年首先引用[3]. 肠道类癌最常见于阑尾，其次为

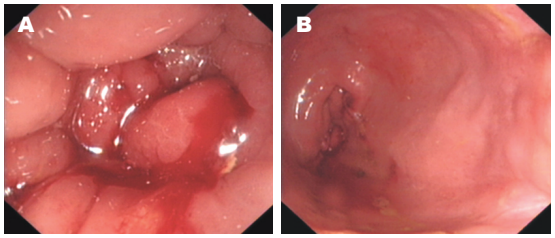


图 4 病例1肠镜. A: 术前; B: 术后3 mo.

小肠，直肠居第3位[2]，据Burke *et al*[8]报道，直肠类癌发病率较低，占所有直肠肿瘤的0.14%，占

直肠恶性肿瘤的0.7%. 但Jetmore *et al*报道170例胃肠道类癌, 其中直肠类癌占55%[2].

查阅1979-2008年文献, 胃肠道、泪腺、多源发性类癌(同时、异时、异位)均有报道, 经治疗后预后佳[4-5]. 而直肠腺类癌(又称隐窝细胞癌)且病情进展迅速的病例实属罕见. 腺类癌生物学行为界于类癌与腺癌之间. 临床上多无症状, 病情进展缓慢, 治疗以手术为主, 手术方式根据肿瘤直径、位置、病理类型及浸润层次来决定[1,6-7]. 本文中2例患者在病理确诊直肠癌后均给予根治性手术, 术后病理及免疫组织化学确诊直肠腺类癌, 术后进行规范化疗(奥沙利铂联合卡培他滨或联合伊立替康), 在3-6 mo即发生吻合口复发及肝转移, 复发后治疗无效, 病情进展迅速. 因此, 在直肠类癌的诊治中, 除警惕多源发性类癌的存在外, 还应注意腺类癌的可能, 特别是手术方式及术后辅助治疗的选择, 以防延误诊治.

■**同行评价**
本文选题较新, 病例罕见, 具有较好的临床参考价值.

3 参考文献

1 邹鸿志, 郁宝铭. 直肠类癌33例的诊治分析. 中华普通外科杂志 2001; 16: 581-583
2 郝希山, 王殿昌. 腹部肿瘤学. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 349
3 余生林, 马维东. 直肠类癌的诊断和治疗. 河北医药 2003; 25: 337
4 郭继荣. 泪腺转移性类癌1例. 临床眼科杂志 2000; 8: 350
5 徐亚伟, 陈美娟. 皮肤恶性T细胞淋巴瘤伴直肠类癌、前列腺癌1例报告. 中国综合临床 2000; 16: 382
6 李凤苍, 张宏中. 直肠类癌的诊断及术式选择(附11例报告). 腹部外科 2000; 13: 309-310
7 刘志, 张新华. 直肠类癌20例临床病理分析. 临床与实验病理学杂志 2007; 23: 416-419
8 Burke M, Shepherd N, Mann CV. Carcinoid tumours of the rectum and anus. *Br J Surg* 1987; 74: 358-361

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

World Journal of Gastroenterology 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*)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 (编辑部主任: 程剑侠 2009-06-28)

• 致谢 •

致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!

蔡开琳 副教授
华中科技大学同济医学院附属协和医院普通外科

曹洁 副教授
中国人民解放军第二军医大学微生物学教研室

陈光 教授
吉林大学第一医院消化器官外科

陈卫昌 教授
苏州大学附属第一医院消化内科

陈贻胜 教授
福建省立医院消化内科

程英升 教授
同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心

崔云甫 教授
哈尔滨医科大学第二附属医院普外一科

党双锁 教授
西安交通大学第二医院感染科

杜雅菊 主任医师
哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科

高润平 教授
吉林大学第一医院肝病科

巩鹏 教授
大连医科大学附属第一医院普外二科

管冬元 副教授
上海中医药大学基础医学院实验中医学教研室

季国忠 教授
南京医科大学第二附属医院消化科

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

李旭 副教授
广东省广州市南方医院急诊科

李永翔 主任医师
安徽医科大学附属第一医院普外科

李瑗 教授
广西肿瘤研究所

李增山 副教授
中国人民解放军第四军医大学病理教研室

梁力建 教授
中山大学附属第一医院肝胆外科

施瑞华 教授
南京医科大学第一附属医院消化科

石统东 副教授
重庆医科大学附属第二医院感染病科

宋振顺 教授
中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

孙诚谊 教授
贵阳医学院附属医院院长办

孙明军 教授
中国医科大学附属第一医院内镜中心

唐霓 副研究员
重庆医科大学病毒性肝炎研究所国家级重点实验室

王健生 教授
西安交通大学医学院第一附属医院肿瘤外科

王文跃 主任医师
中日友好医院普通外科

徐列明 教授
上海中医药大学附属曙光医院(东部)肝二科

许文燮 教授
上海交通大学生命科学院生物医学工程系

张凤春 教授
上海交通大学医学院附属仁济医院肿瘤中心