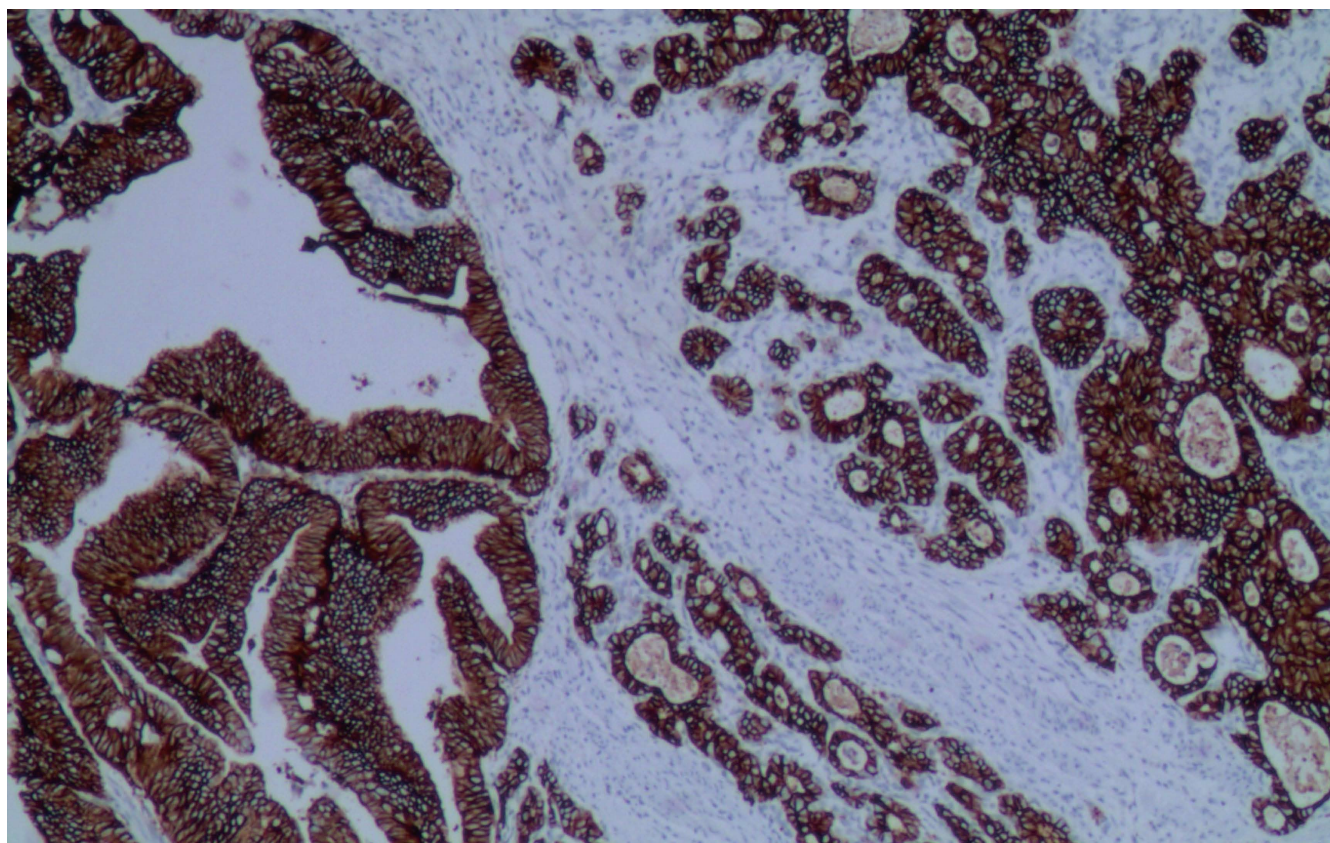


# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

**2014 年 10 月 28 日 第 22 卷 第 30 期 (Volume 22 Number 30)**



**30 / 2014**

ISSN 1009-3079



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

# 世界华人消化杂志®

## 编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

### 总顾问

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

### 名誉主编

潘伯荣教授

### 主编

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

### 编委

#### 消化内科学

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

房静远教授  
冯志杰主任医师  
傅春彬主任医师  
甘华田教授  
高凌副教授  
戈之铮教授  
关玉盘教授  
关晓辉主任医师  
郭晓钟教授  
郝建宇教授  
郝丽萍副教授  
何继满教授  
何松教授

洪天配教授  
黄培林教授  
黄晓东主任医师  
黄颖秋教授  
黄缘教授  
季国忠教授  
江米足教授  
姜春萌教授  
姜慧卿教授  
姜相君主任医师  
金瑞教授  
蓝宇教授  
李淑德教授  
李瑜元教授  
李玉民教授  
廖家智副主任医师

林志辉教授  
刘冰熔教授  
刘凤斌教授  
刘改芳主任医师  
刘海峰主任医师  
刘海林主任医师  
刘亮明副教授  
陆伦根教授  
马红主任医师  
马欣主任医师  
毛恩强教授  
毛高平教授  
孟庆华教授  
缪应雷主任医师  
倪润洲教授  
欧希龙副教授  
潘秀珍教授  
潘阳林副教授  
朴云峰教授

秦成勇教授  
任粉玉教授  
任建林教授  
邵先玉教授  
沈琳主任医师  
沈薇教授  
施瑞华教授  
宋军副教授  
唐世刚教授  
田宇彬教授  
度必光教授  
宛新建副教授

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

#### 消化外科学

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

陈炳官教授  
陈光教授  
陈海龙教授  
陈积圣教授  
陈进宏副主任医师  
陈凇教授  
陈汝福教授  
陈亚军主任医师  
陈钟教授  
程爱国教授  
程树群副教授  
崔云甫教授  
戴朝六教授  
戴冬秋教授  
丁义涛教授  
杜顺达副教授  
房林教授  
傅红副教授  
傅华群教授  
傅思源副教授  
傅晓辉副教授  
傅志仁主任医师  
高毅主任医师  
葛海燕教授  
巩鹏副教授  
谷俊朝主任医师  
顾国利副主任医师  
顾岩教授  
韩天权教授  
郝纯毅主任医师  
郝立强副教授  
何超教授  
何向辉教授  
何晓顺教授  
何裕隆教授  
胡安斌副教授  
黄志勇教授  
季加孚教授  
姜卫东教授  
姜波健教授  
金山主任医师  
康春博副主任医师  
孔静副教授  
黎乐群教授  
李革副教授  
李国威教授  
李华副教授  
李华山主任医师

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



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

### 消化感染病学

白浪副教授  
陈国凤主任医师  
陈红松研究员  
陈建杰教授  
陈志辉副主任医师

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

### 消化中医药学

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

邢建峰副教授  
徐列明教授  
许玲教授  
徐庆教授  
袁红霞研究员  
张声生教授

### 消化肿瘤学

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

### 消化影像学

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

### 消化内镜及介入治疗学

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

吴沛宏教授  
余日胜主任医师  
袁友红副教授  
张火俊副教授

### 消化中西医结合学

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

### 消化基础研究

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

汤静主管药师  
滕旭副教授  
田文静副教授  
汪思应教授  
王钦红教授  
王书奎教授  
魏继福研究员  
文彬研究员  
吴道澄教授  
吴江锋教授  
吴军研究员  
吴俊华副教授  
吴志强副教授  
夏敏教授  
徐健副主任医师  
徐宁志研究员  
许文燮教授  
杨晓明教授  
阴赅宏研究员  
郁卫东副研究员  
喻荣彬教授  
曾柱教授  
张红教授  
张淑坤副研究员  
赵平教授  
赵铁建教授  
周南进研究员  
周素芳教授  
周晓武副主任医师  
朱益民教授  
竺亚斌研究员

### 消化病理学

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

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2014 年 10 月 28 日 第 22 卷 第 30 期 (总第470期)

## 基础 研究

4547 白介素-1 $\beta$  siRNA联合骨髓间充质干细胞协同治疗急性肝衰竭

马虎成, 施晓雷, 丁义涛

4559 两种亚型肠易激综合征中氨基酸神经递质及其受体变化

唐洪梅, 涂星, 柴玉娜, 张庆业, 黄育生, 张棋

4566 盐酸小檗碱对肠易激综合征大鼠内脏高敏感的影响

唐庆林, 钟渊福, 黄东, 李石旦, 何韶辉, 苏军凯, 张鸣青

4573 一种细菌鞭毛蛋白衍生物CZLC331治疗小鼠溃疡性结肠炎的疗效

王寰, 徐阳, 屈亚威, 张成岗, 刘海峰

## 临 床 研 究

4578 结直肠癌中miRNAs差异表达谱的筛查

张媛, 林贞花, 金铁峰, 金仁顺

## 文 献 综 述

4588 Notch信号通路对肝纤维化EMT环节的影响

黄颖而, 许嘉彬, 安海燕

4593 粪菌移植的临床应用新进展

郭文涛, 董丽娜, 王俊平, 刘萍

## 研 究 快 报

4599 人参皂苷Rg1对结肠癌肿瘤在体外和体内的增殖抑制研究

张龙江, 周二付

## 临 床 经 验

4604 ACCF及ACDF手术后患者食管功能障碍及护理干预

付红英, 李登凤, 蒲静

4609 食管鳞状细胞癌组织中S100A11、14-3-3的表达及临床意义

张玉洁, 杜强, 朱丽娟, 张艳, 李晓梅, 蒲红伟, 陈晓

4615 微生态制剂治疗新生儿窒息后喂养不耐受及其对胃动素水平的作用

彭芬, 吴华莉

4619 CTLA-4基因多态性与胃癌易感性的Meta分析

李良庆, 林国彬, 潘敦

4627 胃混合性癌组织中HER2蛋白表达的判读要点

李滢滢, 王苏南, 徐正顺, 王建军, 王仰坤



- 4634 肝淀粉样变性的临床特点及随访  
汤善宏, 曾维政, 吴晓玲, 秦建平, 陈易华, 程双平, 梁燕, 蒋明德
- 4638 慢性乙型肝炎患者Th17/Tc17影响病毒复制和肝细胞损伤  
王娟华, 胡敏涛, 吴杭源, 苏婷婷, 汪铮, 杜合娟, 顾锡炳, 黄利华, 李莹
- 4642 内镜微创保胆取石联合口服牛磺熊去氧胆酸治疗胆囊结石的临床效果  
李春来, 段泽艳, 吴正阳, 王浪
- 4647 肠外免疫营养在急性胰腺炎治疗中作用的随机对照试验荟萃分析  
胡俊, 黄强, 林先盛, 刘臣海, 杨骥, 李瑞阳, 汪超
- 4654 胰十二指肠切除术后并发乳糜瘘的诊治体会  
曹学峰, 管清海, 王西秀, 林绪涛, 欧琨
- 4658 临床路径护理在内镜逆行胰胆管造影和内镜下十二指肠乳头括约肌切开手术中的应用效果  
韩鸿雁
- 4663 早期肠内营养、服用多潘立酮、中药灌肠等综合干预措施对肝胆患者外科术后胃肠功能恢复的治疗方法  
王成虎, 陈君
- 4668 AGI分级标准对胃肠功能障碍评估价值及其在早期EN中的应用效果  
李华, 申亚晖
- 4674 早期肠内营养联合埃索美拉唑对老年人工髋关节置换术后患者消化系并发症的影响  
谢伟
- 4679 早期肠内营养配合护理对策对神经内科重症患者的营养状况及预后的影响  
马丽萍, 仲桂英, 雷占萍, 李南香
- 4683 HSF2和促炎症细胞因子在溃疡性结肠炎中的表达  
夏蜀娴, 缪应雷
- 4691 麦考酚钠肠溶片治疗肾移植后远期吗替麦考酚酯相关慢性腹泻患者的临床疗效  
孟凡航, 郭雪坤, 陈志勇, 赖永通, 黄先恩, 林民专
- 4695 心理社会因素与炎症性肠病患者生存质量的关系  
孙晋洁, 翟晓峰
- 4701 外周血miRNA-17-3p的检测在结肠癌诊断中的临床意义  
郭秀丽, 姚士伟, 朱东, 赵辉, 徐有青
- 4705 内蒙古人群大肠癌的发病趋势和特点  
王虎明, 周松, 王卫
- 4709 红霉素联合西沙比利和吗丁啉治疗2型糖尿病性胃轻瘫的效果比较  
王妍, 刘青志, 于艳燕, 张力, 王坤
- 4714 Tregs在幽门螺杆菌感染中的作用  
袁小刚, 黄艳娟, 胡红松

附 录	I - V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2014年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	4572 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 4618 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 4633 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 4646 《世界华人消化杂志》参考文献要求 4667 《世界华人消化杂志》出版流程 4673 《世界华人消化杂志》修回稿须知 4713 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 4718 《世界华人消化杂志》正文要求
封面故事	李滢滢, 王苏南, 徐正顺, 王建军, 王仰坤. 胃混合性癌组织中HER2蛋白表达的判读要点. 世界华人消化杂志 2014; 22(30): 4627-4633 <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4627.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4627.asp</a> <a href="http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4627">http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4627</a>
本期责任人	编务 李香; 送审编辑 闫晋利, 都珍珍; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 韦元涛; 形式规范 审核编辑部主任 郭鹏; 最终清样审核总编 马连生

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2014-10-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

程英升, 教授, 200233, 上海市, 上海交通大学附属第六人民医院放射科

党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

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

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

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

编辑部

郭鹏, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035 手机: 18311378628

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc

8226 Regency Drive, Pleasanton,

CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

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

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

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

特别声明

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

定价

每期90.67元 全年36期3264.00元

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

# World Chinese Journal of Digestology

## October 2014 Contents in Brief Volume 22 Number 30

<b>BASIC RESEARCH</b>	<p>4547 Synergistic effect of IL-1<math>\beta</math> siRNA combined with mesenchymal stem cells in treatment of acute liver failure in mice <i>Ma HC, Shi XL, Ding YT</i></p> <p>4559 Contents of amino acid neurotransmitters and expression of <math>\gamma</math>-aminobutyric acid receptor in two subtypes of irritable bowel syndrome <i>Tang HM, Tu X, Chai YN, Zhang QY, Huang YS, Zhang Q</i></p> <p>4566 Effect of berberine on visceral hypersensitivity in a rat model of irritable bowel syndrome <i>Tang QL, Zhong YF, Huang D, Li SD, He SH, Su JK, Zhang MQ</i></p> <p>4573 Therapeutic effects of CZLC331, a flagellum protein derivative, on ulcerative colitis in mice <i>Wang H, Xu Y, Qu YW, Zhang CG, Liu HF</i></p>
<b>CLINICAL RESEARCH</b>	<p>4578 MicroRNA expression profile in colorectal cancer <i>Zhang Y, Lin ZH, Jin TF, Jin RS</i></p>
<b>REVIEW</b>	<p>4588 Notch signaling regulates epithelial-mesenchymal transition in hepatic fibrosis <i>Huang YE, Xu JB, An HY</i></p> <p>4593 New advances in clinical application of fecal microbiota transplantation <i>Guo WT, Dong LN, Wang JP, Liu P</i></p>
<b>RAPID COMMUNICATION</b>	<p>4599 <i>In vitro</i> and <i>in vivo</i> inhibitory effects of ginsenoside Rg1 on proliferation of colon cancer cells <i>Zhang LJ, Zhou EF</i></p>
<b>CLINICAL PRACTICE</b>	<p>4604 Esophageal dysfunction after anterior cervical corpectomy and fusion or anterior cervical discectomy and fusion for cervical spondylotic myelopathy: Nursing intervention <i>Fu HY, Li DF, Pu J</i></p> <p>4609 Significance of expression of S100A11 and 14-3-3 proteins in esophageal squamous cell carcinoma <i>Zhang YJ, Du Q, Zhu LJ, Zhang Y, Li XM, Pu HW, Chen X</i></p> <p>4615 Probiotics for treatment of neonatal feeding intolerance after asphyxia: Effect on motilin level <i>Peng F, Wu HL</i></p> <p>4619 A meta-analysis of association between cytotoxic T lymphocyte associated antigen-4 polymorphisms and gastric cancer risk <i>Li LQ, Lin GB, Pan D</i></p> <p>4627 Expression and amplification of HER2 in mixed-type gastric carcinoma <i>Li YY, Wang SN, Xu ZS, Wang JJ, Wang YK</i></p>



- 4634 Hepatic amyloidosis: Clinical characteristics and follow-up  
*Tang SH, Zeng WZ, Wu XL, Qin JP, Chen YH, Cheng SP, Liang Y, Jiang MD*
- 4638 Correlation of Th17/Tc17 ratio with virus load and liver function in patients with chronic hepatitis B  
*Wang JH, Hu MT, Wu HY, Su TT, Wang Z, Du HJ, Gu XB, Huang LH, Li Y*
- 4642 Curative effect of cholecystolithotomy combined with tauroursodeoxycholic acid in treatment of patients with cholecystolithiasis  
*Li CL, Duan ZY, Wu ZY, Wang L*
- 4647 Parenteral immunonutrition in patients with acute pancreatitis: A meta-analysis of randomized controlled trials  
*Hu J, Huang Q, Lin XS, Liu CH, Yang J, Li RY, Wang C*
- 4654 Diagnosis and treatment of chylous fistula after pancreaticoduodenectomy  
*Cao XF, Guan QH, Wang XX, Lin XT, Ou K*
- 4658 Clinical effectiveness of clinical nursing pathway for patients treated by endoscopic retrograde cholangiopancreatography and endoscopic sphincterotomy  
*Han HY*
- 4663 Comprehensive intervention to promote recovery of gastrointestinal function in patients after hepatobiliary surgery  
*Wang CH, Chen J*
- 4668 Value of acute gastrointestinal injury grading system in assessing gastrointestinal dysfunction in critically ill patients: Application in early enteral nutrition  
*Li H, Shen YH*
- 4674 Clinical effects of early enteral nutrition in combination with esomeprazole for digestive complications in elderly patients after artificial hip joint replacement  
*Xie W*
- 4679 Early enteral nutrition with nursing intervention for improvement of nutritional status and prognosis in critically ill patients in gastroenterology department  
*Ma LP, Zhong GY, Lei ZP, Li NX*
- 4683 Expression of heat shock factor 2 and proinflammatory cytokines in ulcerative colitis  
*Xia SX, Miao YL*
- 4691 Conversion to enteric-coated mycophenolate sodium for management of long-term mycophenolate mofetil-related chronic diarrhea in patients after kidney transplantation  
*Meng FH, Guo XK, Chen ZY, Lai YT, Huang XE, Lin MZ*
- 4695 Relationship between psychosocial factors to quality of life in patients with inflammatory bowel disease  
*Sun JJ, Zhai XF*
- 4701 Significance of serum miRNA-17-3p in diagnosis of colon cancer  
*Guo XL, Yao SW, Zhu D, Zhao H, Xu YQ*
- 4705 Trends of incidence and characteristics of colorectal cancer in the population in Inner Mongolia  
*Wang HM, Zhou S, Wang W*
- 4709 Clinical effects of erythromycin combined with cisapride or domperidone in treatment of type 2 diabetic gastroparesis  
*Wang Y, Liu QZ, Yu YY, Zhang L, Wang K*
- 4714 Role of Tregs in *Helicobacter pylori* infection  
*Yuan XG, Huang YJ, Hu HS*

<b>APPENDIX</b>	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2014
<b>ACKNOWLEDGMENT</b>	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
<b>COVER</b>	<i>Li YY, Wang SN, Xu ZS, Wang JJ, Wang YK.</i> Expression and amplification of HER2 in mixed-type gastric carcinoma. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2014; 22(30): 4627-4633 <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4627.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4627.asp</a> <a href="http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4627">http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4627</a>
<b>RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE</b>	Assistant Editor: <i>Xiang Li</i> Review Editor: <i>Jin-Li Yan, Zhen-Zhen Du</i> Electronic Page Editor: <i>Jin-Li Yan</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Yuan-Tao Wei</i> Proof Editor: <i>Peng Guo</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

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

## Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** October 28, 2014

### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

### ISSN

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

### EDITOR-IN-CHIEF

**Ying-Sheng Cheng, Professor**, Department of Radiology, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China

**Shuang-Suo Dang, Professor**, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

**Xue-Liang Jiang, Professor**, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

**Lian-Xin Liu, Professor**, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

**Zhan-Ju Liu, Professor**, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

**Bin Lv, Professor**, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China

**Da-Lie Ma, Professor**, Department of Pathol

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

**Jun-Ping Wang, Professor**, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

**Xiao-Zhong Wang, Professor**, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

**Deng-Fu Yao, Professor**, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

**Zong-Ming Zhang, Professor**, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

### EDITORIAL OFFICE

Peng Guo, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-59080035 18311378628

Fax: +86-10-85381893

E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc

8226 Regency Drive, Pleasanton,

CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

### PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D,

Ocean International Center,

No. 62 Dongsihuan Zhonglu,

Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 90.67 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

### COPYRIGHT

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this Open Access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

### SPECIAL STATEMENT

All articles published in journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, and not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at [www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp](http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp). If you do not have web access please contact the editorial office.

# 白介素-1 $\beta$ siRNA联合骨髓间充质干细胞协同治疗急性肝衰竭

马虎成, 施晓雷, 丁义涛

马虎成, 施晓雷, 丁义涛, 南京大学医学院附属鼓楼医院肝胆外科 江苏省南京市 210008

马虎成, 主要从事终末期肝病的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81170418

江苏省自然科学基金资助项目, No. BK20131084

作者贡献分布: 课题由施晓雷与马虎成设计; 研究过程由马虎成完成; 研究所用试剂与分析工具由丁义涛提供; 数据分析由施晓雷完成; 本论文写作由马虎成、施晓雷及丁义涛完成。

通讯作者: 丁义涛, 教授, 博士生导师, 210008, 南京市鼓楼区中山路321号, 南京大学医学院附属鼓楼医院肝胆外科。

yitaoding@hotmail.com

收稿日期: 2014-07-29 修回日期: 2014-09-10

接受日期: 2014-09-21 在线出版日期: 2014-10-28

## Synergistic effect of IL-1 $\beta$ siRNA combined with mesenchymal stem cells in treatment of acute liver failure in mice

Hu-Cheng Ma, Xiao-Lei Shi, Yi-Tao Ding

Hu-Cheng Ma, Xiao-Lei Shi, Yi-Tao Ding, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81170418; Natural Science Foundation of Jiangsu Province, No. BK20131084

Correspondence to: Yi-Tao Ding, Professor, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School, 321 Zhongshan Road, Gulou District, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China. yitaoding@hotmail.com

Received: 2014-07-29 Revised: 2014-09-10

Accepted: 2014-09-21 Published online: 2014-10-28

## Abstract

**AIM:** To construct an adenovirus vector expressing interleukin (IL)-1 $\beta$  siRNA and assess the synergistic effect of treatment with this vector and mesenchymal stem cells (MSCs) in acute liver failure (ALF) in mice.

**METHODS:** An adenovirus vector expressing IL-1 $\beta$  siRNA adenovirus vector was constructed and its interference ability for IL-1 $\beta$  was tested *in vitro* by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). qPCR assay was employed to determine

the optimal dose and timing administration of IL-1 $\beta$  siRNA. The immunogenicity of adenovirus vector was also detected. Bone marrow MSCs were obtained from Balb/c mice and transfected with GFP by lentivirus. ALF was induced in mice by intraperitoneal infusion of 20% (v/v) CCl<sub>4</sub> dissolved in olive oil at a dose of 8  $\mu$ L/g. One hundred mice were divided randomly into five groups: a normal control group ( $n = 20$ ), an ALF group ( $n = 20$ ), an ALF + IL-1 $\beta$  siRNA group ( $n = 20$ ), an ALF + MSCs group ( $n = 20$ ), and an ALF + IL-1 $\beta$  siRNA + MSCs group ( $n = 20$ ). At different time points after intervention, the mice were sacrificed with an overdose of isoflurane. Liver function, serum levels of inflammatory factors, histopathology, apoptosis and proliferation of hepatocytes, vascular endothelial growth factor (VEGF) and hepatocyte growth factor (HGF) levels were detected. GFP-positive cells in liver tissue were detected by immunohistochemistry and fluorescence microscopy.

**RESULTS:** MSCs obtained from Balb/c mice were positive for CD44, CD90 and CD29, and negative for CD45. *In vitro*, IL-1 $\beta$  siRNA could suppress IL-1 $\beta$  secretion in lipopolysaccharide-stimulated Raw 264.7 cells. *In vivo*, qPCR assay showed that  $1 \times 10^8$  pfu was the optimal dose and 36 h after infusion was the optimal time point. Serum interferon (IFN)- $\gamma$ , tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ , and IL-6 levels exhibited no significant changes after administration of a null adenovirus vector. Compared with the ALF + MSCs group, the level of CXCL1, IL-1 $\beta$ , IL-10, IL-6, alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) significantly changed in the ALF + IL-1 $\beta$  siRNA + MSCs group, but there was no significant difference between the ALF + IL-1 $\beta$  siRNA + MSCs group and ALF + IL-1 $\beta$  siRNA group. Interestingly, the ALF + IL-1 $\beta$  siRNA + MSCs group had better hepatocyte proliferation and reduced hepatocyte apoptosis compared with other groups. Meanwhile, the ALF + IL-1 $\beta$  siRNA + MSCs group secreted more VEGF and HGF than the

## ■背景资料

骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)移植治疗肝脏疾病的有效性已被证实。但是急性肝衰竭体内过激的炎症反应制约了MSC的活性和疗效。为解决这一问题,本研究通过在MSC移植前预先使用白介素(interleukin, IL)-1 $\beta$  siRNA控制急性肝衰竭体内过激炎症反应,提高MSC的活性进而增强MSC移植治疗急性肝衰竭的疗效。

## ■同行评议者

刘亮明, 副教授, 副主任医师, 上海交通大学附属第一人民医院松江分院肝病科



## ■ 研发前沿

MSC具有自我更新、免疫调节和旁分泌的作用,是再生医学领域中最有前景的细胞来源之一。本研究聚焦于炎症微环境对MSC活性的影响。诸多研究已经证实过激的炎症反应会抑制MSC的活性,同时, RNA干扰技术的发展也为控制炎症反应提供了新的方法。本研究期望预先使用IL-1 $\beta$  siRNA控制急性肝衰竭(acute liver failure, ALF)体内过激的炎症反应。在降低肝细胞损伤的同时保护移植的MSC,进而促进MSC发挥组织修复和再生的能力。

other groups. Immunohistochemistry and fluorescence microscopy revealed that the number of surviving MSCs in the ALF + IL-1 $\beta$  siRNA + MSCs group was significantly more than that in the ALF + MSCs group.

**CONCLUSION:** IL-1 $\beta$  siRNA could inhibit the inflammatory response in ALF and enhance the ability of MSCs to promote tissue repair and regeneration by increasing the survival rate of MSCs. Therefore, combination of IL-1 $\beta$  siRNA with MSCs has a better hepatoprotective effect.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Acute liver failure; Interleukin-1 $\beta$ ; RNA interference; Cell transplantation; Mesenchymal stem cells

Ma HC, Shi XL, Ding YT. Synergistic effect of IL-1 $\beta$  siRNA combined with mesenchymal stem cells in treatment of acute liver failure in mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(30): 4547-4558 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4547.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i30.4547>

## 摘要

**目的:** 构建白介素(interleukin, IL)-1 $\beta$  siRNA腺病毒载体并评估其联合骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)移植治疗急性肝衰竭(acute liver failure, ALF)的协同作用。

**方法:** 构建IL-1 $\beta$  siRNA腺病毒载体并体外验证其对IL-1 $\beta$ 的抑制能力;体内实验筛选IL-1 $\beta$  siRNA腺病毒载体的最佳干扰剂量和最佳干扰时间点并检测其免疫源性;分离培养Balb/c小鼠骨髓MSC并进行鉴定,慢病毒稳定转染GFP; 20%(v/v)四氯化碳(CCl<sub>4</sub>)橄榄油溶液8  $\mu$ g/L腹腔注射诱导小鼠ALF模型。100只小鼠随机分为5组:正常对照组( $n = 20$ ); ALF组( $n = 20$ ); ALF+IL-1 $\beta$  siRNA组( $n = 20$ ); ALF+MSC组( $n = 20$ ); ALF+IL-1 $\beta$  siRNA+MSC组( $n = 20$ )。各组小鼠行干预后检测肝功能、生存率、血清炎症因子水平、组织病理学改变、肝细胞凋亡、增殖和肝脏中血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)含量。免疫组织化学和荧光显微镜观察肝脏组织切片中GFP阳性细胞。

**结果:** 分离获取的MSC表达CD45阴性、CD44阳性、CD90阳性和CD29阳性。IL-1 $\beta$  siRNA腺病毒载体在体外能够抑制脂多糖刺激后的

Raw264.7细胞株分泌IL-1 $\beta$ 。qPCR实验显示腺病毒剂量为 $1 \times 10^8$  pfu、注射36 h后体内干扰效率最高。尾静脉注射 $1 \times 10^8$  pfu腺病毒空载体4 h后,血清中干扰素(interferon, IFN)- $\gamma$ 、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- $\alpha$ 和IL-6水平无明显升高。联合治疗组CXCL1、IL-1 $\beta$ 、IL-10、IL-6、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)和谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)水平与单纯MSC组相比具有统计学差异,但与IL-1 $\beta$  siRNA组相比无统计学差异;联合治疗组在促进肝细胞增殖、降低肝细胞凋亡、分泌VEGF和HGF水平上与IL-1 $\beta$  siRNA组或者MSC组相比均具有统计学差异;免疫组织化学及荧光显微镜显示联合治疗组存活MSC数量比MSC组明显增多,具有统计学差异。

**结论:** IL-1 $\beta$  siRNA能够有效降低ALF体内炎症反应,并通过提高移植MSC的存活增强其组织修复与再生的能力。两者联合应用具有更好的肝保护作用。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 急性肝衰竭; 白介素-1 $\beta$ ; RNA干扰; 细胞移植; 间充质干细胞

**核心提示:** 白介素(interleukin, IL)-1 $\beta$  siRNA能够有效地干扰体内IL-1 $\beta$ 的合成,通过降低急性肝衰竭(acute liver failure, ALF)体内过激的炎症反应,不仅减轻肝细胞损伤,同时还能发挥对移植骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)的保护作用,进而增强MSC修复损伤组织的能力。基于此, IL-1 $\beta$  siRNA联合MSC治疗ALF具有协同作用。

马虎成, 施晓雷, 丁义涛. 白介素-1 $\beta$  siRNA联合骨髓间充质干细胞协同治疗急性肝衰竭. *世界华人消化杂志* 2014; 22(30): 4547-4558 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4547.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i30.4547>

## 0 引言

急性肝衰竭(acute liver failure, ALF)是一种以短期剧烈肝功能丧失以及大量肝细胞坏死为特点的临床重症,坏死细胞释放的细胞碎片以及微血管的损伤会导致血管通透性的增加并且强化巨噬细胞和中性粒细胞的渗透作用。更重要的是,坏死细胞引起的吞噬作用会导致一系列促炎因子的级联式释放,包括白介素(interleukin, IL)-1 $\beta$ 、IL-6、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- $\alpha$ 、趋化因子和白三烯<sup>[1]</sup>等。目前有研

究表明: 失控的肝内免疫反应是ALF发生与发展的首要病理机制<sup>[2]</sup>.

骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)已被证实具有免疫调节和修复损伤组织的能力<sup>[3,4]</sup>. 大量基于干细胞移植治疗的研究已在医学领域取得了令人瞩目的成果, 为多种疾病的治疗带来了新的希望. MSC移植也已被用于治疗包括急性肝衰竭在内的各种终末期肝病的实验及临床研究<sup>[5-8]</sup>. 但同时国内外的许多研究也发现了细胞移植疗效不佳的现象, 对这一系列文献的回顾性研究我们发现: 肝衰竭体内过激炎症反应抑制了MSC的活性, 限制其移植治疗ALF的疗效<sup>[9]</sup>. 最近有研究表明, MSC和炎症微环境的相互作用会影响MSC移植的疗效. 如Liu等<sup>[10]</sup>发现炎症性T细胞通过分泌TNF和IFNG, 诱导MSC的凋亡并限制MSC介导的骨组织再生. 而Dang等<sup>[11]</sup>最近发现一些炎症因子如TNF和IFNG会诱导MSC发生细胞自噬进而影响其免疫调节能力. 在其他系统的疾病中, 如急性肺损伤, 炎症因子不仅对肺组织具有不良反应, 同时对于移植的干细胞也具有损伤作用<sup>[12]</sup>. 因此, 提高MSC治疗ALF疗效的首要目标即是降低ALF体内过激的炎症反应.

参与炎症反应的主要细胞因子包括IL-1、IL-6和TNF- $\alpha$ 等, 其中IL-1是激活免疫炎症反应的枢纽. IL-1能够激活T细胞和巨噬细胞, 抑制内皮细胞的增殖并诱导其表达黏附分子, 进而引起炎症细胞的募集和浸润<sup>[13,14]</sup>, 最终导致组织损伤, 特别是肝脏<sup>[15]</sup>. 目前临床上抑制炎症反应的方法主要包括免疫抑制剂和炎症因子受体拮抗剂, 但是免疫抑制剂具有骨髓抑制、肝功能损害和性机能损害等一系列不良反应. 而炎症因子受体拮抗剂也具有有一些不可忽视的缺陷<sup>[16]</sup>, 首先它是一种外源性的药物, 进入机体后会很快被清除; 另外为了维持疗效, 必须反复给予受体拮抗剂, 导致其用量和费用较高, 这在一定程度上限制了IL-1Ra的临床应用前景. 于是, 本研究期望采用RNA干扰技术来达到控制体内炎症水平的目的. 其中小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)是RNAi发挥作用的重要中间效应分子<sup>[17]</sup>, 并且具有设计简便、特异性高和低毒性的优势<sup>[18-20]</sup>, 具有潜在的临床应用价值, 近些年来, siRNA用于治疗急性肝衰竭也取得了一些进展<sup>[21-23]</sup>. 为多种疾病的治疗带来了新的希望.

本研究我们希望利用腺病毒载体将IL-1 $\beta$  siRNA转染至生物体细胞内, 在基因层面上调节

IL-1 $\beta$ 的水平. 此方法不仅能够高效地抑制急性肝衰竭体内IL-1 $\beta$ 水平, 在成本上较IL-1Ra也将更加低廉, 更具有临床可行性. 因此, 本研究设想预先使用IL-1 $\beta$  siRNA抑制ALF体内严重的炎症水平, 改善炎症微环境, 再联合MSC移植, 评价该联合疗法治疗ALF的协同效应.

## 1 材料和方法

1.1 材料 IL-1 $\beta$  siRNA腺病毒载体购自上海Invotrogen公司; GFP转染MSC由上海Invotrogen公司完成; Balb/c小鼠(nu/nu)100只,  $\delta$ , 体质量18-22 g, 由南京大学医学院附属鼓楼医院实验动物中心提供; Raw264.7细胞株购自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源库; 脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)(Lot. No. L4391)、四氯化碳( $\text{CCl}_4$ )购自美国Sigma公司; L-DMEM培养液、特级胎牛血清、胰蛋白酶购自Gibco公司; RT-PCR试剂盒(南京Biouniquer公司); IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-2、IL-6、IL-10、TNF- $\alpha$ 、G-CSF、Eotaxin/CCL11、CXCL1、干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF) ELISA试剂盒(美国R&D公司); 抗小鼠CD45抗体、小鼠CD44抗体、抗小鼠CD90抗体、抗小鼠CD29抗体、Ki-67抗体、抗GFP抗体(Abcam公司); TUNEL细胞凋亡检测试剂盒(瑞士Roche公司).

## 1.2 方法

1.2.1 MSC的获取和鉴定: 我们采用贴壁筛选法分离获取MSC<sup>[24]</sup>. 2%戊巴比妥钠麻醉Balb/c小鼠, 体积分数750 mL/L乙醇全身浸泡消毒10 min. 无菌条件取股骨及胫骨, PBS清洗3次. 剪掉股骨和胫骨的骨髓端, 露出骨髓腔, 用添加青、链霉素的L-DMEM培养基冲出骨髓, 反复吹打; 将冲出的骨髓制成单细胞悬液, 453 g离心5 min, 弃上清, L-DMEM培养基重悬后接种于25  $\text{cm}^2$ 培养瓶中, 置37  $^{\circ}\text{C}$ 、 $\text{CO}_2$ 饱和湿度培养箱中培养. 选择第三代MSC进行表型鉴定: 大约 $1 \times 10^6$ 个细胞装入流式管中1500 r/min离心5 min, 加入1 mL PBS重悬, 加入20  $\mu\text{L}$  FITC标记的抗小鼠CD45抗体和PE标记的抗小鼠CD44抗体. 室温避光孵育20 min, 1500 r/min离心5 min, 1 mL PBS洗3遍. 500  $\mu\text{L}$  PBS重悬, 上流式细胞仪检测. 同样方法检测CD45、CD90双标细胞比例和CD45、CD29双标细胞比例.

1.2.2 IL-1 $\beta$  siRNA干扰Raw264.7细胞株体外实

## ■ 相关报道

有研究显示MSC和炎症微环境的相互作用会影响MSC移植的疗效. 如T细胞通过分泌TNF和IFNG, 诱导MSC的凋亡并限制MSC介导的骨组织再生. 另外在急性肺损伤中, 炎症因子不仅对肺组织具有毒性作用, 同时对于移植的干细胞也具有损伤作用. 因此, 在采用MSC移植治疗炎症相关的疾病时, 需要考虑到炎症本身对MSC的损伤作用.

### ■创新盘点

本研究采用RNA干扰技术构建了IL-1 $\beta$  siRNA, 以此控制ALF体内过激的炎症反应, 并证明了IL-1 $\beta$  siRNA通过提高MSC的存活进而增强MSC移植治疗ALF的疗效的观点。

验: Raw264.7细胞按照 $5 \times 10^5$ /孔的密度接种于六孔板中, 采用含有10%FBS的高糖DMEM培养基, 细胞黏附12 h后加入 $1 \times 10^8$  pfu IL-1 $\beta$  siRNA腺病毒, 12 h后加入LPS, LPS终浓度为2  $\mu$ g/mL, 24 h后收集细胞培养基, ELISA检测IL-1 $\beta$ 的浓度。

1.2.3 qPCR筛选最佳计量和时间点:  $2 \times 10^7$  pfu、 $5 \times 10^7$  pfu、 $1 \times 10^8$  pfu和 $2 \times 10^8$  pfu不同剂量的IL-1 $\beta$  siRNA腺病毒载体尾静脉注射, 36 h后qPCR检测肝脏IL-1 $\beta$ 水平, 筛选最佳计量。随后使用最佳计量尾静脉注射, 注射后不同时间点取小鼠肝脏, qPCR检测IL-1 $\beta$ 相对表达量, 寻找最佳干扰时间点。具体如下: 在EP管中加入10  $\mu$ L DEPC水, 1  $\mu$ L引物, 1  $\mu$ L模板RNA, 1  $\mu$ L dNTP, 短暂离心后65  $^{\circ}$ C水浴5 min, 立刻0  $^{\circ}$ C冰水浴至少1 min。短暂离心后冰上操作: 加入4  $\mu$ L  $5 \times$  First-Strand Buffer, 1  $\mu$ L 0.1M dTT, 1  $\mu$ L RNase Inhibitor, 1  $\mu$ L SSIII逆转录酶, 短暂离心后50  $^{\circ}$ C水浴60 min进行逆转录, 70  $^{\circ}$ C水浴15 min灭活逆转录酶, 立即进行PCR。PCR反应条件为94  $^{\circ}$ C 1 min, 58  $^{\circ}$ C 50 s, 72  $^{\circ}$ C 90 s, 进行40个循环, 然后72  $^{\circ}$ C 10 min完成。目的基因引物序列(5'-3'): Mus musculus IL-1 $\beta$ -F: ATGCCACCTTTTGA-CAGTGATG; Mus musculus IL-1 $\beta$ -R: TGATGT-GCTGCTGCGAGATT。

1.2.4 载体免疫源性检测: 为评估腺病毒载体的是否引起机体非特异性免疫反应, 我们选取健康小鼠尾静脉注射不含IL-1 $\beta$  siRNA的腺病毒空载体, 4 h后ELISA检测血清IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 和IL-6水平。

1.2.5 小鼠急性肝衰竭模型建立和分组: 将CCl $_4$ 按照体积比1:4溶于橄榄油配成体积分数为20%的CCl $_4$ 橄榄油溶液; CCl $_4$ 橄榄油溶液以8  $\mu$ g/L的量腹腔注射诱导小鼠ALF模型。所有小鼠建模后随机分为5组, A组: 正常组( $n = 20$ ); B组: ALF组( $n = 20$ ), 8  $\mu$ L/g剂量腹腔注射CCl $_4$ 橄榄油溶液诱导ALF模型; C组: ALF+MSC组( $n = 20$ ), ALF模型诱导后24 h尾静脉注射MSC的PBS悬液100  $\mu$ L(约含细胞 $1 \times 10^6$ ); D组: ALF+IL-1 $\beta$  siRNA组( $n = 20$ ), ALF模型诱导前36 h尾静脉注射含有IL-1 $\beta$  siRNA的腺病毒液100  $\mu$ L和E组: ALF+MSC+IL-1 $\beta$  siRNA组( $n = 20$ ), ALF模型诱导前36 h尾静脉注射含有IL-1 $\beta$  siRNA的腺病毒液100  $\mu$ L, 诱导后24 h尾静脉注射MSC的PBS悬液100  $\mu$ L(约含细胞 $1 \times 10^6$ )。

1.2.6 炎症因子检测: 为评估IL-1 $\beta$  siRNA腺病毒载体联合MSC对炎症反应的控制作用, 我们在

ALF模型诱导后3 d通过ELISA检测了以下9种细胞因子的浓度: G-CSF/CSF-3、IL-6、Eotaxin/CCL11、IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-10、IL-2、TNF- $\alpha$ 以及CXCL1。

1.2.7 肝功能、组织病理学、生存期、肝细胞增殖、凋亡和生长因子检测: 5组小鼠每组随机抽取10只小鼠进行生存期的比较。余下的每组10只细胞移植后1-5 d和1-3 wk定期抽血检测肝功能并观察组织病理学改变。小鼠在ALF模型建立后第14天处死, 获取肝脏组织, 做石蜡切片并行Ki67和TUNEL免疫组织化学染色, 随机选择5个高倍视野, 计算阳性细胞数(细胞核呈现棕色), 评估肝脏细胞增殖和凋亡情况。为探讨IL-1 $\beta$  siRNA腺病毒载体联合MSC的治疗机制, 我们在ALF模型诱导后2 wk检测了血清中VEGF和HGF含量。

1.2.8 存活MSC检测: 在移植后第2周取肝脏组织制成冰冻切片, 荧光显微镜下观察GFP阳性细胞; 在移植后第2周取肝脏组织制成石蜡切片, 行GFP免疫组织化学染色, 随机选择5个高倍视野, 计算阳性细胞数(细胞核呈现棕色), 评估IL-1 $\beta$  siRNA对MSC的保护作用。

**统计学处理** 实验结果用mean $\pm$ SD表示。采用SPSS19.0统计学软件进行数据处理, 组间比较应用独立样本 $t$ 检验, 生存期分析采用Kaplan-Meier曲线,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

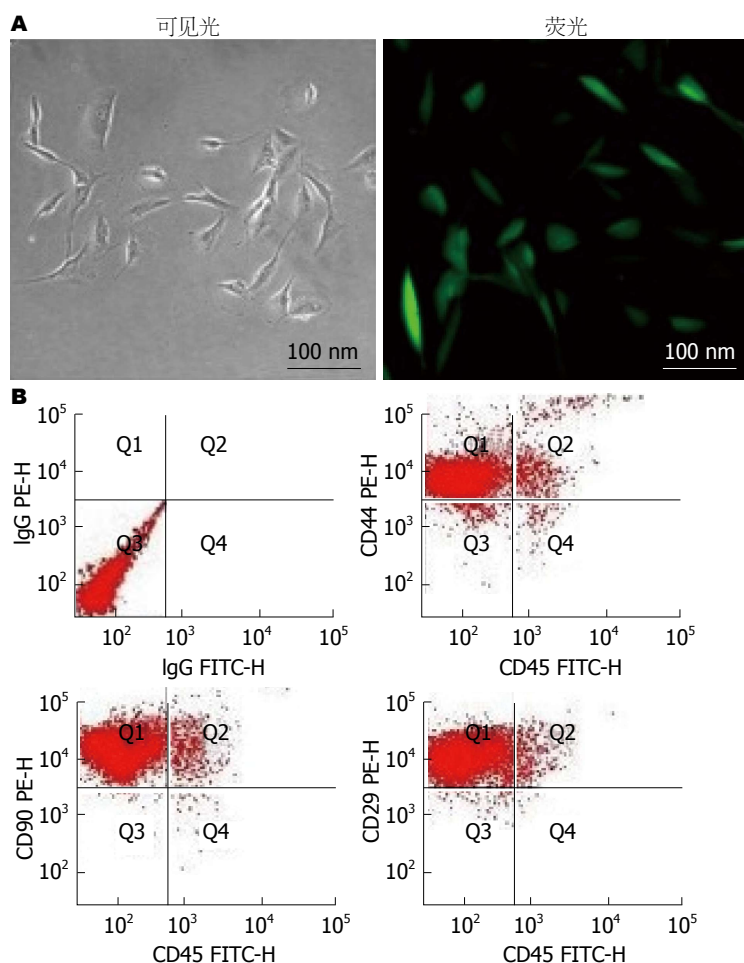
## 2 结果

2.1 MSC的鉴定和转染GFP后的形态 我们分离获取的第三代MSC表达CD44阳性、CD90阳性、CD29阳性、CD45阴性, 光学显微镜下呈现典型梭形形态, 转染GFP后在荧光显微镜下可见绿色荧光(图1)。

2.2 IL-1 $\beta$  siRNA体外具有干扰Raw264.7细胞分泌IL-1 $\beta$ 的能力 我们使用LPS刺激Raw264.7细胞后, 后者能够分泌大量IL-1 $\beta$ ; 而如果预先使用IL-1 $\beta$  siRNA病毒液转染Raw264.7细胞株, 后者在LPS刺激下分泌IL-1 $\beta$ 的能力显著下降, 两者相比具有统计学差异(图2A)。

2.3 IL-1 $\beta$  siRNA腺病毒体内最佳干扰效率的筛选 我们注射不同体积的病毒液来筛选最佳干扰计量。当注射剂量为 $2 \times 10^7$  pfu(20  $\mu$ L病毒液)时, 干扰效率大约为13%, 当剂量增加到 $5 \times 10^7$  pfu(50  $\mu$ L病毒液)时, 干扰效率大约有50%, 继续将剂量增加到 $1 \times 10^8$  pfu(100  $\mu$ L病毒液), 干扰效率增加到约89%, 但是当注射 $2 \times 10^8$  pfu(200  $\mu$ L





# 应用要点

本研究证实了IL-1 $\beta$  siRNA能够控制急性肝衰竭体内炎症反应和提高移植MSC的活性。联合使用IL-1 $\beta$  siRNA和MSC移植或能够成为干细胞移植治疗急性肝衰竭更为有效的一种方法。

图 1 MSC的鉴定和形态学观察. A: 大鼠MSC可见光和荧光图片; B: 流式细胞术检测MSC纯度. MSC: 骨髓间充质干细胞.

病毒液)时, 干扰效率并没有继续增加(图2C). 该结果表明我们构建的IL-1 $\beta$  siRNA腺病毒载体的有效剂量大约为 $1 \times 10^8$ - $2 \times 10^8$  pfu, 基于以上结果, 我们选择 $1 \times 10^8$  pfu(100  $\mu$ L病毒液)作为后续实验的治疗剂量.

我们通过尾静脉注射了 $1 \times 10^8$  pfu的IL-1 $\beta$  siRNA腺病毒载体, 在不同时间点后获取肝脏组织, qPCR检测肝脏中IL-1 $\beta$ 的基因相对表达量, 结果显示注射IL-1 $\beta$  siRNA腺病毒载体36 h后, 干扰效率最高, 大约为76%, 随后干扰效率逐渐降低; 当注射5 d后, 干扰效率降低到40%左右(图2D). 表明IL-1 $\beta$  siRNA腺病毒载体注射后36 h干扰效率最佳. 基于以上结果, 我们选择在ALF诱导前36 h注射IL-1 $\beta$  siRNA腺病毒载体.

**2.4 腺病毒载体的免疫源性** 为评估构建的IL-1 $\beta$  siRNA腺病毒载体是否会引起机体不必要的免疫反应, 我们注射了空载的腺病毒载体(避免IL-1 $\beta$  siRNA的干扰作用), 4 h后通过ELISA检测了血清中IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 和IL-6水平. 结果显示注射空载的腺病毒载体后血清中这些炎症因子的

水平与正常小鼠相比无统计学意义(图2B). 因此我们认为构建的腺病毒载体不引起机体的免疫反应, 具有低的免疫源性, 安全性较好.

**2.5 炎症因子水平** 我们在ALF模型诱导后第3天通过ELISA检测了多个细胞因子(G-CSF/CSF-3、IL-6、Eotaxin/CCL11、IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-10、IL-2、TNF- $\alpha$ 以及CXCL1)在血清中的浓度, 最终我们列出了CXCL1、IL-1 $\beta$ 、IL-10、和IL-6这4因子的水平, 其余因子差异不显著, 故未列出. 结果显示: MSC组CXCL1、IL-6水平与ALF组相比显著降低; IL-1 $\beta$  siRNA组CXCL1、IL-1 $\beta$ 、IL-6水平较ALF组明显降低, 同时CXCL1、IL-1 $\beta$ 水平较MSC组也明显降低, IL-10水平较ALF组明显升高; 而IL-1 $\beta$  siRNA+MSC组CXCL1、IL-1 $\beta$ 、IL-6水平较ALF组和MSC组均明显降低, 同时IL-10水平较ALF组和MSC组明显升高, 但是CXCL1、IL-1 $\beta$ 、IL-10和IL-6水平与IL-1 $\beta$  siRNA组相比无统计学差异(图3).

**2.6 肝功能、病理、生存期、肝细胞增殖、凋亡和生长因子检测** 肝功能检测显示在第7天

## ■同行评价

本文立意新颖, 设计思路清晰, 具有一定指导意义。

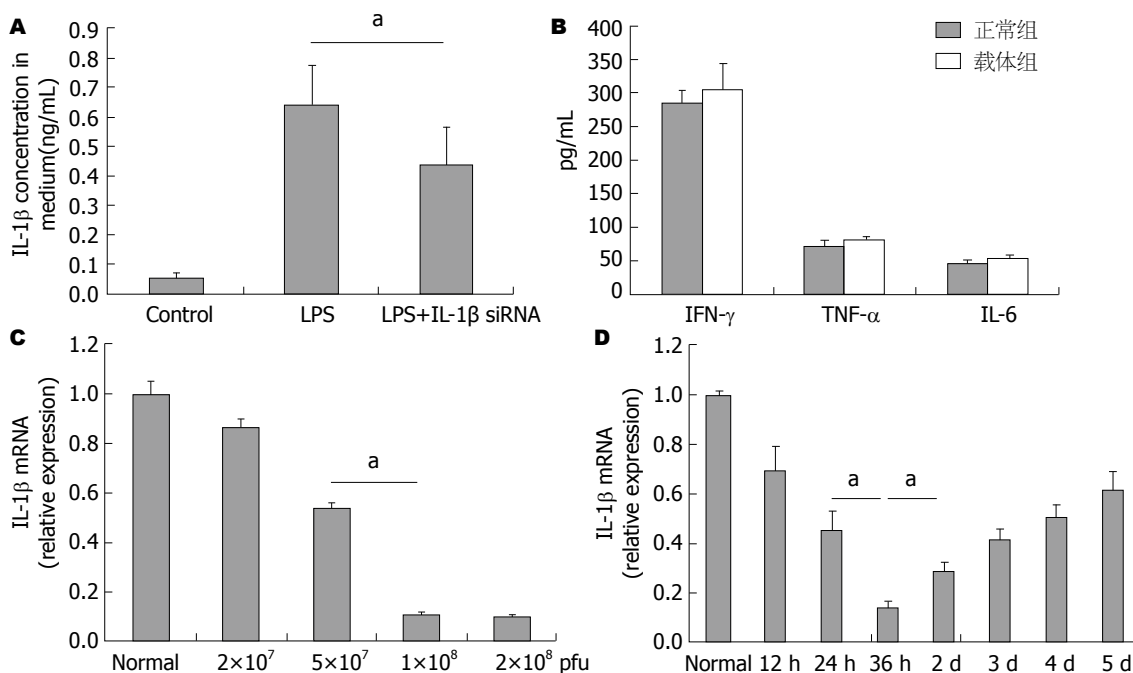


图2 IL-1β siRNA鉴定和筛选实验。A: IL-1β siRNA体外抑制LPS刺激的Raw264.7细胞分泌IL-1β; B: 注射腺病毒空载体后机体非特异免疫因子水平; C: 不同剂量IL-1β siRNA体外干扰效率; D: 不同时间点IL-1β siRNA体外干扰效率; \**P*<0.05。IFN-γ: 干扰素-γ; TNF-α: 肿瘤坏死因子-α; IL: 白介素。

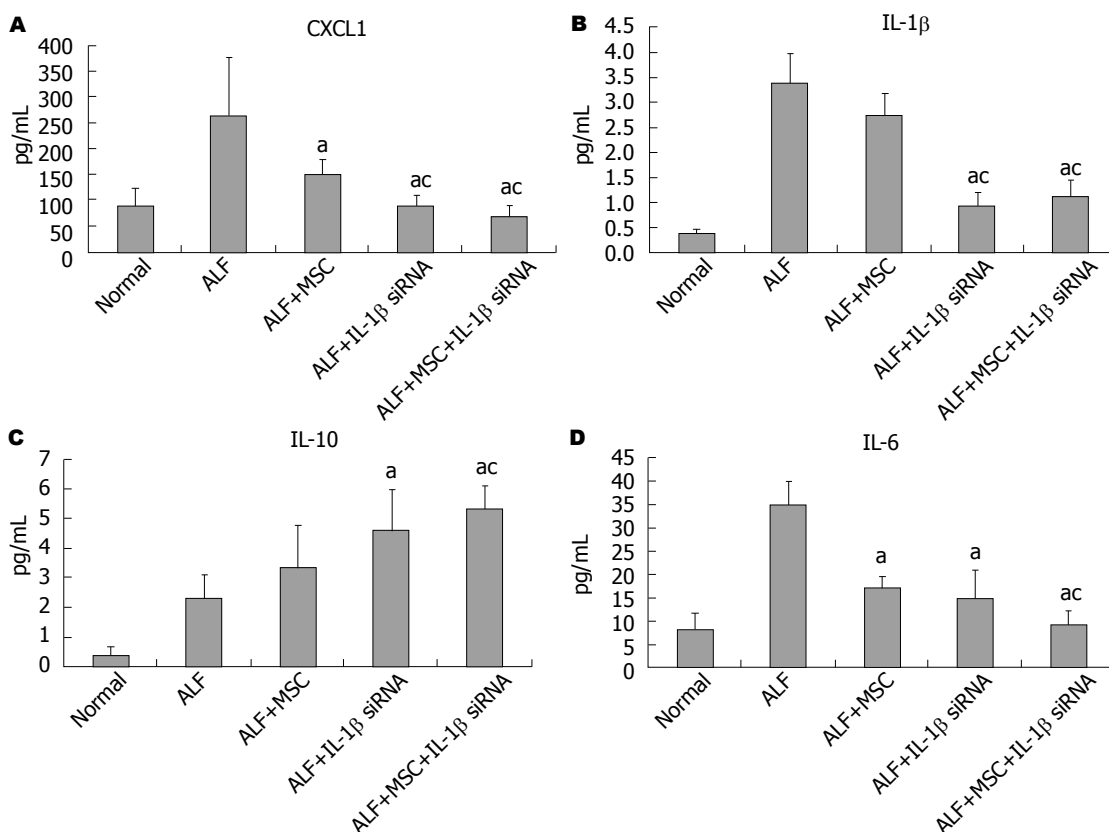
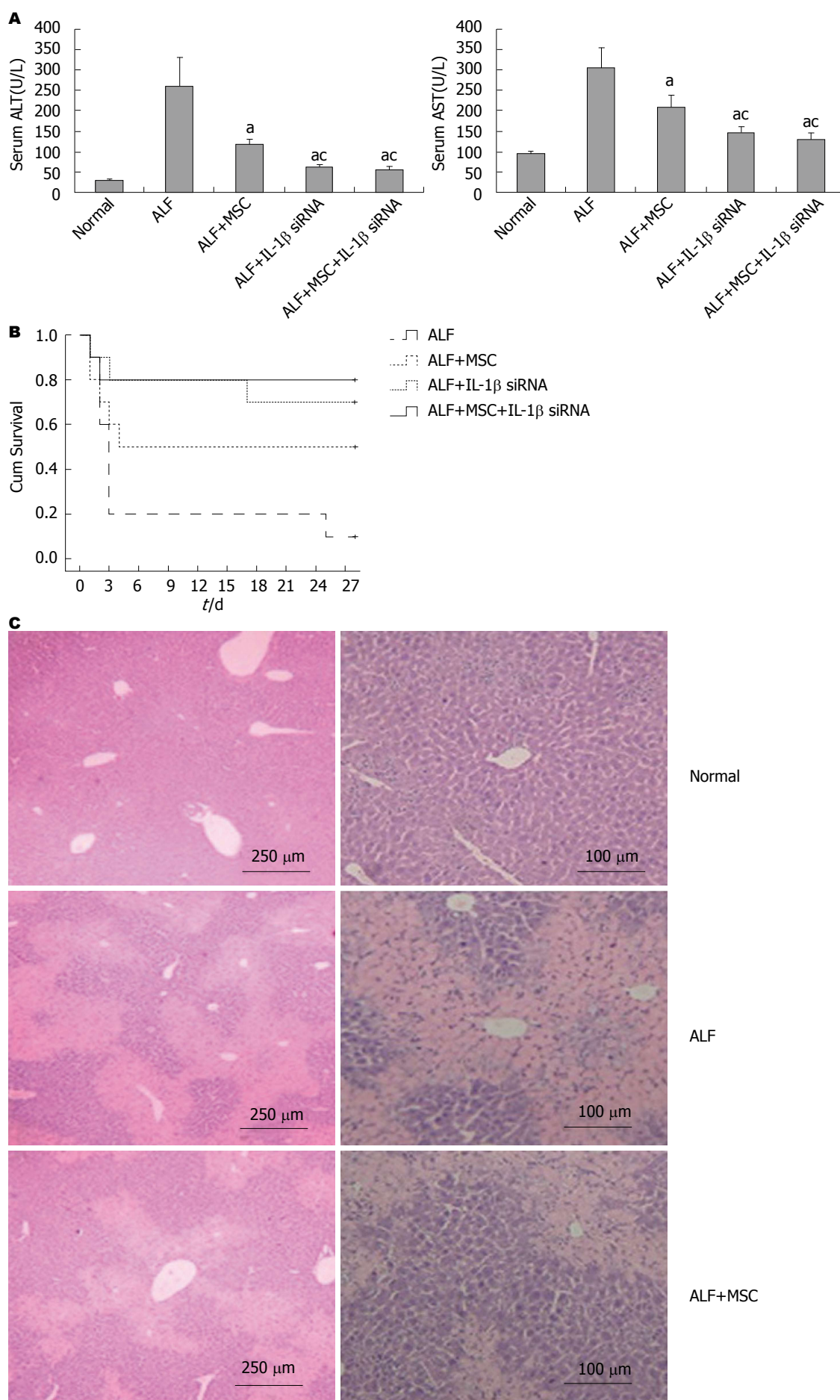


图3 各组小鼠细胞移植后第3天血清中炎症因子水平。A: CXCL1; B: IL-1β; C: IL-10; D: IL-6。\**P*<0.05 vs ALF组, \**P*<0.05 vs ALF+MSC组。MSC: 骨髓间充质干细胞; IL: 白介素; ALF: 急性肝衰竭。

时, 各组谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)水平分别为: ALF组, 263.11 U/L±71.05 U/L; ALF+MSC组, 121.16 U/L±11.93 U/L; ALF+IL-1β siRNA组, 62.92 U/L±7.82 U/L;





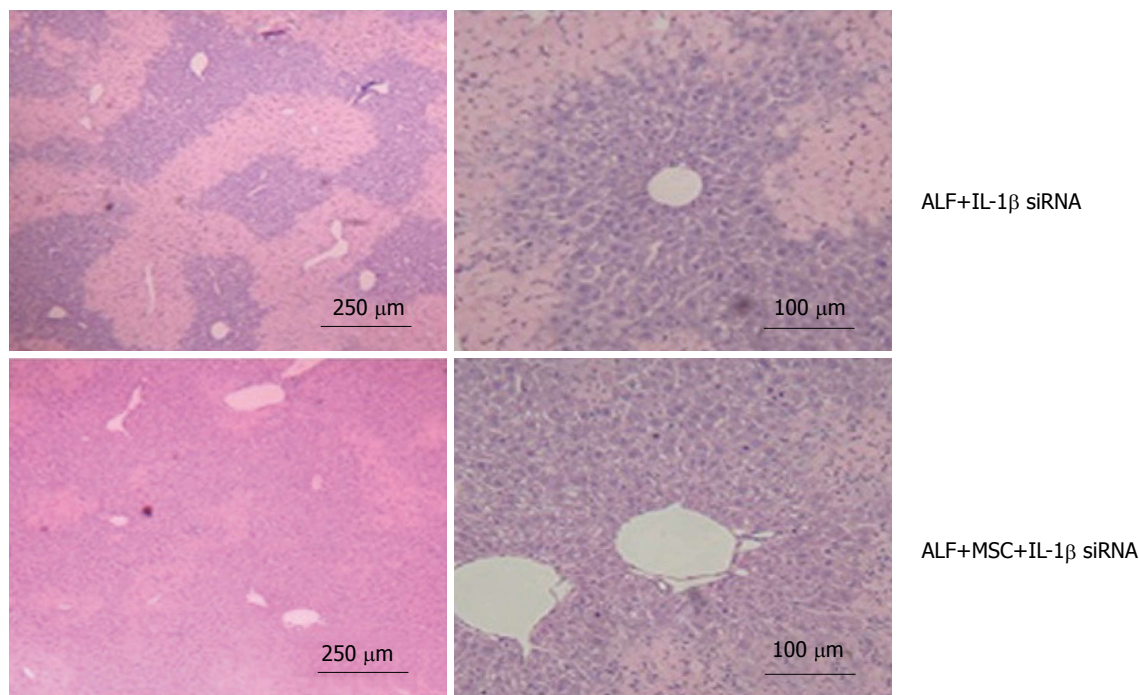


图4 转氨酶、生存曲线和HE病理. A: 各组小鼠细胞移植后1 wk ALT和AST水平; B: 各组小鼠生存曲线; C: 各组小鼠细胞移植后2 wk肝脏组织HE染色情况. \* $P < 0.05$  vs ALF组; † $P < 0.05$  vs ALF+MSC组. MSC: 骨髓间充质干细胞; IL: 白介素; ALF: 急性肝衰竭; ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶.

ALF+MSC+IL-1 $\beta$  siRNA组, 57.34 U/L  $\pm$  8.51 U/L. 而各组谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)水平分别为: ALF组, 304.89 U/L  $\pm$  28.47 U/L; ALF+MSC组, 210.02 U/L  $\pm$  22.43 U/L; ALF+IL-1 $\beta$  siRNA组, 146.34 U/L  $\pm$  11.89 U/L; ALF+MSC+IL-1 $\beta$  siRNA组, 130.56 U/L  $\pm$  16.87 U/L(图4A).

我们从各组小鼠中随机选取10只观察生存期, 观察时间为4 wk(腹腔注射CCl<sub>4</sub>为第0天). 结果显示: ALF组28 d时的存活率仅为10%, MSC组28 d的存活率为50%, IL-1 $\beta$  siRNA组28 d存活率达到70%, 而MSC+IL-1 $\beta$  siRNA组28 d的存活率为80%(图4B).

2 wk时HE染色显示正常肝脏颜色均匀, 具有完整的肝小叶结构; 而急性肝衰竭肝脏呈现出大片坏死, 肝细胞肿胀、充血(浅色区域), 肝小叶结构遭到破坏. MSC组和IL-1 $\beta$  siRNA组均肝细胞坏死区域减少, 而IL-1 $\beta$  siRNA+MSC组坏死区域面积要比MSC组和IL-1 $\beta$  siRNA组少(图4C).

我们通过Ki67染色和TUNEL实验检测肝组织中处于增殖期和凋亡的肝细胞, 结果表明MSC组Ki67+细胞数略高于IL-1 $\beta$  siRNA组, 而凋亡细胞数略低于IL-1 $\beta$  siRNA组, 但两者均无统计学差异(图5A, B); IL-1 $\beta$  siRNA+MSC组Ki67+细胞数明显高于MSC组和IL-1 $\beta$  siRNA组, 凋亡细胞数明显低于MSC组和IL-1 $\beta$  siRNA组(图5C, D).

我们在ALF模型诱导2 wk时通过ELISA检测了各组小鼠血清中HGF和VEGF的浓度, 结果显示ALF+MSC组HGF和VEGF浓度高于ALF组和ALF+IL-1 $\beta$  siRNA组, 两者有统计学差异; 而ALF+IL-1 $\beta$  siRNA+MSC组HGF和VEGF浓度明显高于MSC组, 两者具有统计学差异(图5E, F).

2.7 肝组织中存活MSC数量检测 我们通过荧光显微镜和GFP免疫组织化学染色两种方法观察了肝脏组织中存活的MSC数量. 可见2 wk末时IL-1 $\beta$  siRNA+MSC组移植细胞数较MSC组明显增多, 前者肝小叶实质内可见散在分布的移植细胞, 后者移植细胞沿血管周围分布(图6A, 绿色荧光为阳性细胞, 蓝色为DAPI特染的细胞核); 免疫组织化学显示每高倍镜视野细胞数IL-1 $\beta$  siRNA+MSC组明显高于MSC组(图6B, C), 差异具有统计学意义, 结果同荧光显微镜一致.

### 3 讨论

前言部分我们提到, ALF体内过激的炎症反应不仅会导致肝细胞的大量损伤, 也影响MSC的活性<sup>[9-11]</sup>. 因此降低炎症反应在干细胞移植治疗ALF中至关重要. 本研究采用IL-1 $\beta$  siRNA技术来控制ALF体内的炎症反应. 但是siRNA治疗面临一个亟待解决的问题, 那就是如何将siRNA高效地输送到靶点<sup>[25,26]</sup>. 因为单纯的siRNA在体

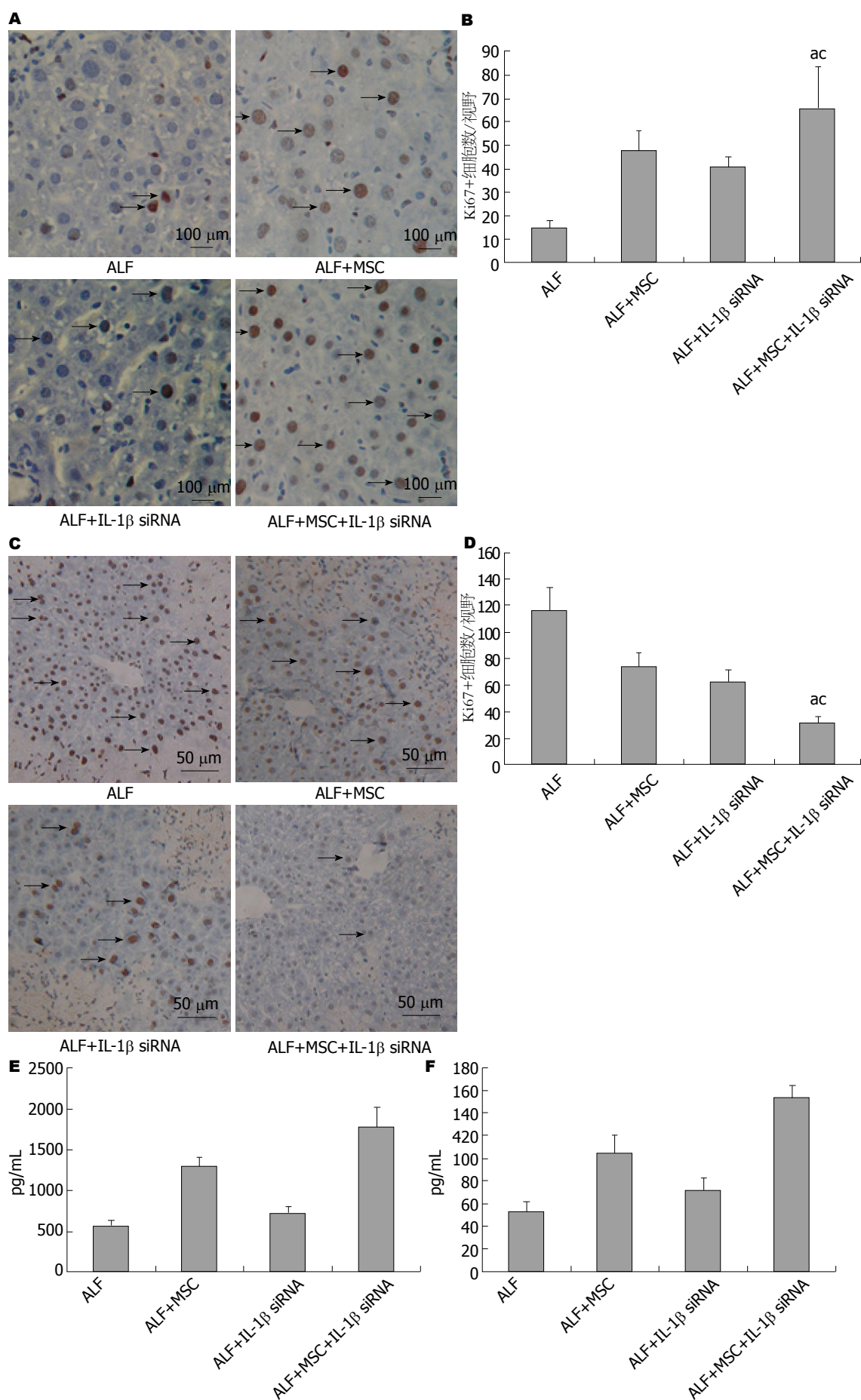


图 5 肝细胞增殖、凋亡和生长因子检测. A: Ki67免疫组织化学实验; B: 各组Ki67阳性细胞数. 数据为组织染色后随机5

个视野的阳性细胞数的平均值(mean  $\pm$  SD); C: TUNEL免疫组织化学实验; D: 各组TUNEL阳性细胞数. 数据为组织染色后随机5个视野的阳性细胞数的平均值(mean  $\pm$  SD); E: 各组小鼠2 wk末时血清HGF水平; F: 各组小鼠2 wk末时血清VEGF水平.  $^*P < 0.05$  vs ALF+MSC组,  $^*P < 0.05$  vs ALF+IL-1 $\beta$  siRNA组. MSC: 骨髓间充质干细胞; IL: 白介素; ALF: 急性肝衰竭; VEGF: 血管内皮生长因子; HGF: 肝细胞生长因子.

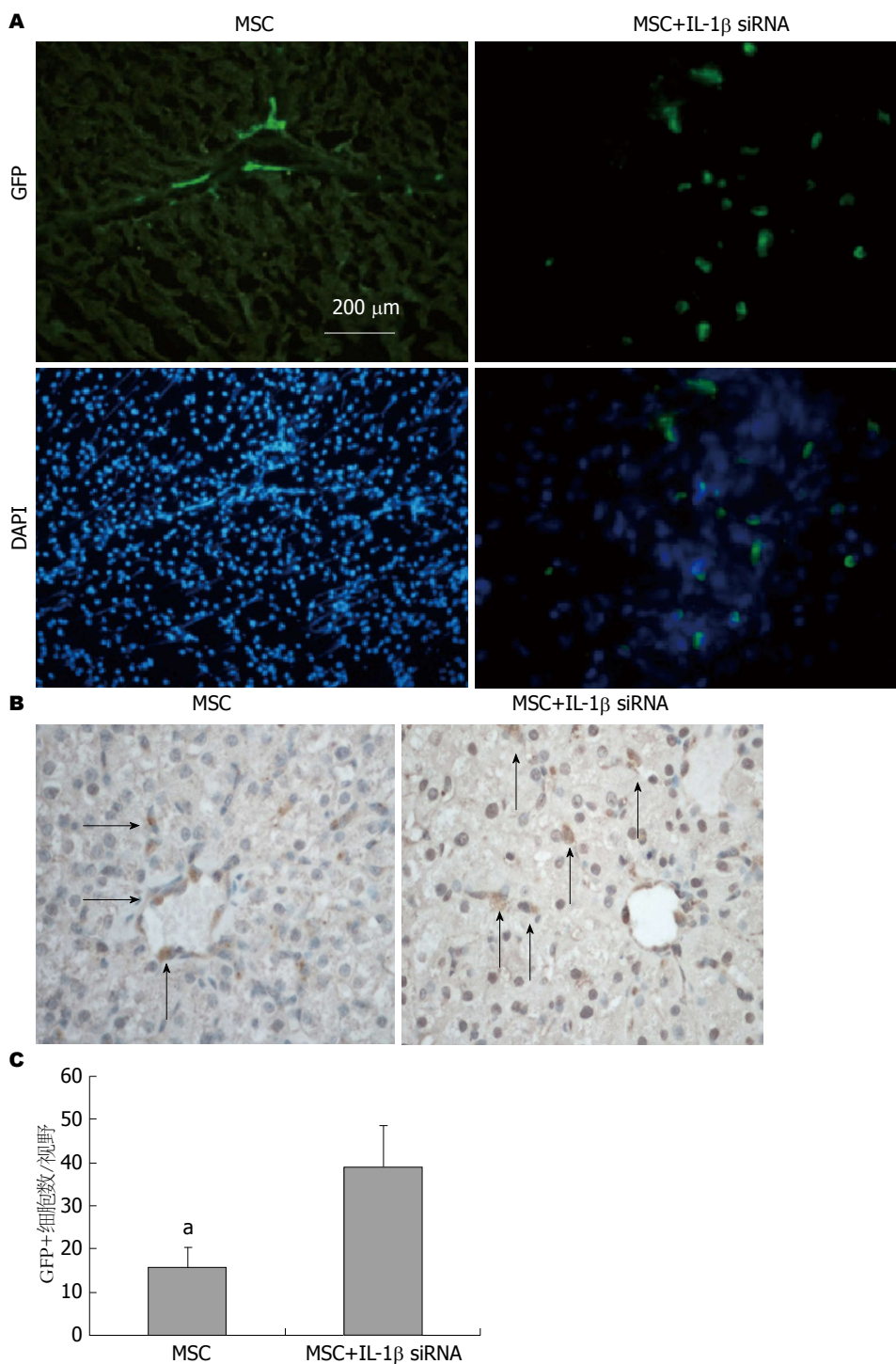


图6 IL-1 $\beta$  siRNA对MSC的保护作用. A: GFP阳性细胞荧光图片; B: GFP阳性细胞免疫组织化学图片; C: 各组GFP阳性细胞数. 数据为组织染色后随机5个视野的阳性细胞数的平均值(mean  $\pm$  SD).  $^*P < 0.05$  vs MSC+IL-1 $\beta$  siRNA组. MSC: 骨髓间充质干细胞; IL: 白介素; GFP: 绿色荧光蛋白.

内极不稳定, 在血清中很快被酶降解, 半衰期短, 并且在细胞内的吸收利用率很低, 所以siRNA的输送必须借助于合适的载体. 目前可用于表达

siRNA的载体主要包括质粒载体、病毒载体和脂质体载体<sup>[27-29]</sup>. 本实验中我们选择腺病毒作为IL-1 $\beta$  siRNA的载体, 由于考虑到逆转录病毒不



能感染非分裂细胞, 而慢病毒对工作人员具有潜在的危害, 因此腺病毒载体较为适合本课题的研究<sup>[30]</sup>. 虽然腺病毒载体目的基因表达时间较短, 但由于ALF炎症最剧烈的时期大约在诱导后1 wk以内(大多数未治疗小鼠在此期间死亡), 往后会慢慢自我恢复, 因此腺病毒载体可以满足控制炎症的目的.

我们在检测炎症因子时发现: IL-1 $\beta$  siRNA+MSC组CXCL1、IL-1 $\beta$ 、IL-6水平较MSC组明显降低, 同时IL-10水平较MSC组明显升高, 但是CXCL1、IL-1 $\beta$ 、IL-10和IL-6水平与IL-1 $\beta$  siRNA组相比无统计学差异. 可见在控制炎症反应方面, 联合治疗组并不优于IL-1 $\beta$  siRNA组. 在转氨酶的检测中我们也发现了类似的情况. MSC+IL-1 $\beta$  siRNA在降低转氨酶方面具有比单纯MSC移植更好的效果, 但是与单纯IL-1 $\beta$  siRNA相比并无明显优势. 其中可能的原因我们认为是由于转氨酶反映的是肝细胞损伤和坏死情况, 而ALF中造成肝细胞损伤的主要原因是急性炎症反应. 由于联合组和单纯IL-1 $\beta$  siRNA组中都有IL-1 $\beta$  siRNA, 炎症反应得到抑制, 而MSC虽然也具有调节炎症反应的作用, 但是该作用与IL-1 $\beta$  siRNA相比可以忽略不计, 因此联合治疗组与单纯IL-1 $\beta$  siRNA在转氨酶水平上无明显差异. 结合以上两点, 似乎联合治疗并无必要, 但我们并不这么认为. 虽然在控制炎症和肝损伤方面, 和联合治疗组相比, 单纯IL-1 $\beta$  siRNA具有相似的效果, 但是在促进肝再生方面, 单纯IL-1 $\beta$  siRNA并无效果.

我们检测了2 wk末各组小鼠血清中HGF和VEGF的浓度, IL-1 $\beta$  siRNA+MSC组这两种因子浓度明显高于MSC组和IL-1 $\beta$  siRNA组, 具有统计学差异; 肝细胞增殖和凋亡检测表明IL-1 $\beta$  siRNA+MSC组在促进肝细胞增殖和抑制肝细胞凋亡作用方面均优于单独应用IL-1 $\beta$  siRNA或MSC. 综合以上结果我们证明: MSC+IL-1 $\beta$  siRNA组在促进肝再生方面效果优于单纯MSC组或者是IL-1 $\beta$  siRNA组. 反映到存活率上, 联合治疗组小鼠4 wk时存活率为80%, 高于MSC组的50%和IL-1 $\beta$  siRNA组的70%. 实际上, 控制炎症和促进肝再生是ALF治疗中两个同等重要的方面, 只有双管齐下才能达到最佳的疗效.

我们还发现了一个现象, 那就是联合IL-1 $\beta$  siRNA后, MSC分泌的生长因子VEGF和HGF水平升高, 我们猜测是因为IL-1 $\beta$  siRNA抑制了ALF体内过激的炎症反应从而提高了存活的MSC数量所致. 为证实这一点, 于是我们利用荧

光显微镜和抗GFP免疫组织化学检测了肝脏组织中存活的MSC数量, 结果和我们预想的一致: IL-1 $\beta$  siRNA+MSC组中移植细胞的数量明显多于MSC组, 说明IL-1 $\beta$  siRNA能够提高MSC在衰竭肝脏组织中的存活率, 促进其更好的发挥肝细胞保护作用.

总之, IL-1 $\beta$  siRNA能够有效地干扰体内IL-1 $\beta$ 的合成, 降低ALF体内过激的炎症反应, 不仅减轻肝细胞损伤, 同时还能发挥对移植MSC的保护作用, 进而增强MSC修复损伤组织的能力. 基于此, IL-1 $\beta$  siRNA联合MSC治疗ALF具有协同作用.

#### 4 参考文献

- 1 Krysko DV, Denecker G, Festjens N, Gabriels S, Parthoens E, D'Herde K, Vandenabeele P. Macrophages use different internalization mechanisms to clear apoptotic and necrotic cells. *Cell Death Differ* 2006; 13: 2011-2022 [PMID: 16628234 DOI: 10.1038/sj.cdd.4401900]
- 2 Leifeld L, Dumoulin FL, Purr I, Janberg K, Trautwein C, Wolff M, Manns MP, Sauerbruch T, Spengler U. Early up-regulation of chemokine expression in fulminant hepatic failure. *J Pathol* 2003; 199: 335-344 [PMID: 12579535 DOI: 10.1002/path.1298]
- 3 Uccelli A, Moretta L, Pistoia V. Mesenchymal stem cells in health and disease. *Nat Rev Immunol* 2008; 8: 726-736 [PMID: 19172693 DOI: 10.1038/nri2395]
- 4 Phinney DG, Prockop DJ. Concise review: mesenchymal stem/multipotent stromal cells: the state of transdifferentiation and modes of tissue repair--current views. *Stem Cells* 2007; 25: 2896-2902 [PMID: 17901396 DOI: 10.1634/stemcells.2007-0637]
- 5 Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD, Mars WM, Sullivan AK, Murase N, Boggs SS, Greenberger JS, Goff JP. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science* 1999; 284: 1168-1170 [PMID: 10325227 DOI: 10.1126/science.284.5417.1168]
- 6 Moore JK, Stutchfield BM, Forbes SJ. Systematic review: the effects of autologous stem cell therapy for patients with liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2014; 39: 673-685 [PMID: 24528093 DOI: 10.1111/apt.12645]
- 7 Levine P, McDaniel K, Francis H, Kennedy L, Alpini G, Meng F. Molecular mechanisms of stem cell therapy in alcoholic liver disease. *Dig Liver Dis* 2014; 46: 391-397 [PMID: 24440312 DOI: 10.1016/j.dld.2013.11.015]
- 8 Salomone F, Barbagallo I, Puzzo L, Piazza C, Li Volti G. Efficacy of adipose tissue-mesenchymal stem cell transplantation in rats with acetaminophen liver injury. *Stem Cell Res* 2013; 11: 1037-1044 [PMID: 23954692 DOI: 10.1016/j.scr.2013.07.003]
- 9 Chan JL, Tang KC, Patel AP, Bonilla LM, Pierobon N, Ponzio NM, Rameshwar P. Antigen-presenting property of mesenchymal stem cells occurs during a narrow window at low levels of interferon-gamma. *Blood* 2006; 107: 4817-4824 [PMID: 16493000 DOI: 10.1182/blood-2006-01-0057]
- 10 Liu Y, Wang L, Kikuri T, Akiyama K, Chen C, Xu X, Yang R, Chen W, Wang S, Shi S. Mesenchymal stem

- cell-based tissue regeneration is governed by recipient T lymphocytes via IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$ . *Nat Med* 2011; 17: 1594-1601 [PMID: 22101767 DOI: 10.1038/nm.2542]
- 11 Dang S, Xu H, Xu C, Cai W, Li Q, Cheng Y, Jin M, Wang RX, Peng Y, Zhang Y, Wu C, He X, Wan B, Zhang Y. Autophagy regulates the therapeutic potential of mesenchymal stem cells in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Autophagy* 2014; 10: 1301-1315 [PMID: 24905997 DOI: 10.4161/auto.28771]
  - 12 Ortiz LA, Dutreil M, Fattman C, Pandey AC, Torres G, Go K, Phinney DG. Interleukin 1 receptor antagonist mediates the antiinflammatory and antifibrotic effect of mesenchymal stem cells during lung injury. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 11002-11007 [PMID: 17569781 DOI: 10.1073/pnas.0704421104]
  - 13 Girard S, Kadhim H, Larouche A, Roy M, Gobeil F, Sébire G. Pro-inflammatory disequilibrium of the IL-1 beta/IL-1ra ratio in an experimental model of perinatal brain damages induced by lipopolysaccharide and hypoxia-ischemia. *Cytokine* 2008; 43: 54-62 [PMID: 18511291 DOI: 10.1016/j.cyto.2008.04.007]
  - 14 Kay J, Calabrese L. The role of interleukin-1 in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2004; 43 Suppl 3: iii2-iii9 [PMID: 15150426 DOI: 10.1093/rheumatology/keh201]
  - 15 Tron K, Novosyadlyy R, Dudas J, Samoylenko A, Kietzmann T, Ramadori G. Upregulation of heme oxygenase-1 gene by turpentine oil-induced localized inflammation: involvement of interleukin-6. *Lab Invest* 2005; 85: 376-387 [PMID: 15640832 DOI: 10.1038/labinvest.3700228]
  - 16 Xiao JQ, Shi XL, Ma HC, Tan JJ, Lin-zhang Q, Ding YT. Administration of IL-1Ra chitosan nanoparticles enhances the therapeutic efficacy of mesenchymal stem cell transplantation in acute liver failure. *Arch Med Res* 2013; 44: 370-379 [PMID: 23916885 DOI: 10.1016/j.arcmed.2013.06.004]
  - 17 Corey DR. Chemical modification: the key to clinical application of RNA interference? *J Clin Invest* 2007; 117: 3615-3622 [PMID: 18060019 DOI: 10.1172/JCI33483]
  - 18 Kawakami S, Hashida M. Targeted delivery systems of small interfering RNA by systemic administration. *Drug Metab Pharmacokinet* 2007; 22: 142-151 [PMID: 17603214 DOI: 10.2133/dmpk.22.142]
  - 19 Akhtar S, Benter I. Toxicogenomics of non-viral drug delivery systems for RNAi: potential impact on siRNA-mediated gene silencing activity and specificity. *Adv Drug Deliv Rev* 2007; 59: 164-182 [PMID: 17481774 DOI: 10.1016/j.addr.2007.03.010]
  - 20 Ryther RC, Flynt AS, Phillips JA, Patton JG. siRNA therapeutics: big potential from small RNAs. *Gene Ther* 2005; 12: 5-11 [PMID: 15496962 DOI: 10.1038/sj.gt.3302356]
  - 21 Song E, Lee SK, Wang J, Ince N, Ouyang N, Min J, Chen J, Shankar P, Lieberman J. RNA interference targeting Fas protects mice from fulminant hepatitis. *Nat Med* 2003; 9: 347-351 [PMID: 12579197 DOI: 10.1038/nm828]
  - 22 Saito Y, Kon S, Fujiwara Y, Nakayama Y, Kurotaki D, Fukuda N, Kimura C, Kanayama M, Ito K, Diao H, Matsui Y, Komatsu Y, Ohtsuka E, Uede T. Osteopontin small interfering RNA protects mice from fulminant hepatitis. *Hum Gene Ther* 2007; 18: 1205-1214 [PMID: 17988193 DOI: 10.1089/hum.2007.069]
  - 23 Sato A, Takagi M, Shimamoto A, Kawakami S, Hashida M. Small interfering RNA delivery to the liver by intravenous administration of galactosylated cationic liposomes in mice. *Biomaterials* 2007; 28: 1434-1442 [PMID: 17141864 DOI: 10.1016/j.biomaterials.2006.11.010]
  - 24 Kitano Y, Radu A, Shaaban A, Flake AW. Selection, enrichment, and culture expansion of murine mesenchymal progenitor cells by retroviral transduction of cycling adherent bone marrow cells. *Exp Hematol* 2000; 28: 1460-1469 [PMID: 11146168]
  - 25 Foged C. siRNA delivery with lipid-based systems: promises and pitfalls. *Curr Top Med Chem* 2012; 12: 97-107 [PMID: 22196274 DOI: 10.2174/156802612798919141]
  - 26 Gooding M, Browne LP, Quinteiro FM, Selwood DL. siRNA delivery: from lipids to cell-penetrating peptides and their mimics. *Chem Biol Drug Des* 2012; 80: 787-809 [PMID: 22974319 DOI: 10.1111/cbdd.12052]
  - 27 Mizuguchi Y, Yokomuro S, Mishima T, Arima Y, Shimizu T, Kawahigashi Y, Kanda T, Yoshida H, Takizawa T, Tajiri T. Short hairpin RNA modulates transforming growth factor beta signaling in life-threatening liver failure in mice. *Gastroenterology* 2005; 129: 1654-1662 [PMID: 16285963]
  - 28 Liu MS, Zhao ZF, Wang L, Zhang GY, Zhang Y, Yang H, Qiao JG, Han DW. [Recombinant adenovirus vector with Fas (CD95)-targeted shRNAs inhibited LPS-inducing Fas overexpression of mouse hepatocytes]. *Zhonghua Ganzhaangbing Zazhi* 2007; 15: 475-476 [PMID: 17594823]
  - 29 Jiang N, Zhang X, Zheng X, Chen D, Siu K, Wang H, Ichim TE, Quan D, McAlister V, Chen G, Min WP. A novel in vivo siRNA delivery system specifically targeting liver cells for protection of ConA-induced fulminant hepatitis. *PLoS One* 2012; 7: e44138 [PMID: 22970170 DOI: 10.1371/journal.pone.0044138]
  - 30 Koppers-Lalic D, Hogenboom MM, Middeldorp JM, Pegtel DM. Virus-modified exosomes for targeted RNA delivery; a new approach in nanomedicine. *Adv Drug Deliv Rev* 2013; 65: 348-356 [PMID: 22820525 DOI: 10.1016/j.addr.2012.07.006]

编辑 田滢 电编 闫晋利



# 两种亚型肠易激综合征中氨基酸神经递质及其受体变化

唐洪梅, 涂星, 柴玉娜, 张庆业, 黄育生, 张棋

唐洪梅, 涂星, 柴玉娜, 张庆业, 广州中医药大学第一附属医院药学部 广东省广州市 510405

涂星, 柴玉娜, 黄育生, 广州中医药大学第一临床医学院 广东省广州市 510405

张棋, 浙江科技学院生物与化学工程学院 浙江省杭州市 310023

唐洪梅, 教授, 主要从事中药制剂与药理机制研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81073160

广东省自然科学基金资助项目, Nos. 1015104701000041,

S2012010010539

**作者贡献分布:** 唐洪梅参与全部研究过程, 完成课题的设计, 提供实验所需经费; 涂星负责建立微透析采样方法及数据处理与分析; 柴玉娜负责氨基酸递质受体蛋白的分析和测定; 黄育生负责氨基酸神经递质的含量测定; 张棋与张庆业完成两种亚型肠易激综合征动物模型的建立和评价; 唐洪梅与涂星完成论文的撰写; 论文修改由唐洪梅与柴玉娜完成。

**通讯作者:** 涂星, 博士研究生, 510405, 广东省广州市白云区机场路16号, 广州中医药大学第一附属医院药学部, 广州中医药大学第一临床医学院. kuangsheng1234@126.com  
电话: 020-36588708

收稿日期: 2014-07-25 修回日期: 2014-09-09

接受日期: 2014-09-15 在线出版日期: 2014-10-28

## Contents of amino acid neurotransmitters and expression of $\gamma$ -aminobutyric acid receptor in two subtypes of irritable bowel syndrome

Hong-Mei Tang, Xing Tu, Yu-Na Chai, Qing-Ye Zhang, Yu-Sheng Huang, Qi Zhang

Hong-Mei Tang, Xing Tu, Yu-Na Chai, Qing-Ye Zhang, Pharmaceutical Department, the First Hospital Affiliated to Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China

Xing Tu, Yu-Na Chai, Yu-Sheng Huang, the First Clinical Medical College of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China  
Qi Zhang, School of Biological and Chemical Engineering, Zhejiang University of Science and Technology, Hangzhou 310023, Zhejiang Province, China

**Supported by:** National Natural Science Foundation of China, No. 81073160; Natural Science Foundation of Guangdong Province, Nos. 1015104701000041 and S2012010010539

**Correspondence to:** Xing Tu, Pharmaceutical Department, the First Hospital Affiliated to Guangzhou University of Chinese Medicine, the First Clinical Medical College of Guangzhou University of Chinese Medicine, 16 Airport Road, Baiyun District, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China. kuangsheng1234@126.com

Received: 2014-07-25 Revised: 2014-09-09

Accepted: 2014-09-15 Published online: 2014-10-28

## Abstract

**AIM:** To explore the feasibility of using *in vivo*

cerebral microdialysis and high performance liquid chromatography (HPLC) to determine the contents of glutamate (Glu), glycine (Gly),  $\gamma$ -aminobutyric acid ( $\gamma$ -GABA) and taurine (Tau), and to observe the protein expression of  $\gamma$ -aminobutyric acid receptor A ( $GABA_A\alpha 1$ ) in irritable bowel syndrome with diarrhea (IBS-D) and irritable bowel syndrome with constipation (IBS-C) to investigate the preliminary pathogenesis of these two subtypes.

**METHODS:** Using *in vitro* relative recovery and *in vivo* relative loss ratio as monitoring indicators, the feasibility of using cerebral microdialysis and HPLC to determine the contents of Glu, Gly, Tau and  $\gamma$ -GABA was first explored. IBS-C was induced by cold water administration and IBS-D by folium sennae combined with restraint. Cerebral microdialysis and HPLC were then used to determine the contents of Glu, Gly, Tau and  $\gamma$ -GABA in the rat brain. Western blot was used to detect the expression of  $GABA_A\alpha 1$  protein in brain tissue.

**RESULTS:** *In vivo* cerebral microdialysis and HPLC were feasible for determining the contents of Glu and  $\gamma$ -GABA; the *in vitro* relative recovery rates were 21.6% and 24.5%, respectively; *in vivo* relative loss rates were 41.8% and 32.5%. Compared with rats in the normal group, the ratio of Glu/ $\gamma$ -GABA in the IBS-C and IBS-D groups significantly increased ( $P < 0.05$ ).  $GABA_A\alpha 1$  protein expression in both IBS-C and IBS-D groups were significantly higher than that in the normal group ( $P < 0.05$ ). In addition,  $GABA_A\alpha 1$  protein expression in the IBS-D group was significantly higher than that in the IBS-C group ( $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** The pathogenesis of IBS-C and IBS-D maybe related with Glu/GABA ratio and  $GABA_A\alpha 1$  in the brain.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Irritable bowel syndrome with diarrhea; Irritable bowel syndrome with constipation; Cerebral microdialysis-High performance liquid

## ■背景资料

中医认为肠易激综合征(irritable bowels syndrome, IBS)属于“肠郁”范畴,主张从肝脾论治IBS,提出便秘主导型肠易激综合征(IBS with constipation, IBS-C)和腹泻主导型肠易激综合征(IBS with diarrhea, IBS-D)均可采用疏肝健脾法进行干预和治疗,现代医学认为脑-肠轴可通过各种神经递质的释放和传递把内脏与中枢神经系统连接起来,从而参与了IBS的发生和发展。

## ■同行评议者

阴赅宏, 研究员, 首都医科大学附属北京友谊医院感染与急救医学



## ■研究前沿

本研究从脑内谷氨酸(glutamate, Glu)、 $\gamma$ -氨基丁酸( $\gamma$ -aminobutyric acid,  $\gamma$ -GABA)含量及其受体蛋白的表达水平,采用脑微透析-高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)法动态测定氨基酸递质含量,Western blot法测定 $\gamma$ -GABA<sub>A</sub>受体 $\alpha 1$ 亚型蛋白的表达量,探讨上述指标与IBS-C、IBS-D的关系,为疏肝健脾法干预两种亚型IBS的靶点提供参考。

chromatography; Amino acid neurotransmitter;  $\gamma$ -aminobutyric acid receptor

Tang HM, Tu X, Chai YN, Zhang QY, Huang YS, Zhang Q. Contents of amino acid neurotransmitters and expression of  $\gamma$ -aminobutyric acid receptor in two subtypes of irritable bowel syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(30): 4559-4565 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4559.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4559>

## 摘要

**目的:** 探讨脑局部微透析-高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)法测定谷氨酸(glutamate, Glu)、甘氨酸(glycine, Gly)、 $\gamma$ -氨基丁酸( $\gamma$ -aminobutyric acid,  $\gamma$ -GABA)、牛磺酸(taurine, Tau)含量的可行性,便秘主导型肠易激综合征(irritable bowels syndrome (IBS) with constipation, IBS-C)和腹泻主导型肠易激综合征(IBS with diarrhea, IBS-D)大鼠脑组织中氨基酸类神经递质含量及 $\gamma$ -氨基丁酸受体A( $\gamma$ -aminobutyric acid receptor A, GABA<sub>A</sub> $\alpha 1$ )蛋白的表达情况,初步探讨IBS-C、IBS-D的共性发病机制。

**方法:** 以体外相对回收率和体内相对损失率为考察指标,分析Glu、Gly、Tau和 $\gamma$ -GABA的脑局部微透析采样可行性,建立荧光高效液相色谱分析方法;采用冰水灌胃法建立IBS-C动物模型,番泻叶灌胃结合束缚刺激法建立IBS-D动物模型,并检测各组大鼠脑内氨基酸类神经递质含量;采用Western blot法测定各组大鼠脑组织中GABA<sub>A</sub> $\alpha 1$ 蛋白的表达情况。

**结果:** 脑局部微透析-HPLC法可用于脑内Glu、 $\gamma$ -GABA的含量测定,体外相对回收率分别约为21.6%、24.5%,体内相对损失率分别约为41.8%、32.5%;与正常组大鼠相比,IBS-C组和IBS-D组大鼠脑内Glu/ $\gamma$ -GABA比值均显著性升高( $P < 0.05$ ),GABA<sub>A</sub> $\alpha 1$ 蛋白表达显著增加( $P < 0.05$ );与IBS-C组大鼠比较,IBS-D组大鼠脑内GABA<sub>A</sub> $\alpha 1$ 受体蛋白表达显著增加( $P < 0.05$ )。

**结论:** IBS-C、IBS-D的发病可能与脑内兴奋性氨基酸Glu和抑制性氨基酸GABA含量比值、GABA<sub>A</sub> $\alpha 1$ 蛋白表达量有关,存在共性基础。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 腹泻型肠易激综合征;便秘型肠易激综合征;脑微透析-高效液相色谱法;氨基酸类神经递质; $\gamma$ -氨基丁酸受体

**核心提示:** 本研究探讨了氨基酸神经递质及其受体在两种亚型肠易激综合征(irritable bowels syndrome, IBS)中的变化,从腹泻主导型肠易激综合征(IBS with diarrhea, IBS-D)、便秘主导型肠易激综合征(IBS with constipation, IBS-C)模型大鼠脑组织谷氨酸(glutamate)/ $\gamma$ -氨基丁酸( $\gamma$ -aminobutyric acid,  $\gamma$ -GABA)含量和GABA<sub>A</sub> $\alpha 1$ 受体蛋白表达均显著升高,揭示了脑-肠轴参与IBS的共性发病机制;且GABA<sub>A</sub> $\alpha 1$ 受体蛋白表达在IBS-D中升高较IBS-C更明显,揭示了脑-肠轴参与IBS-C、IBS-D发病机制的差异性。

唐洪梅, 涂星, 柴玉娜, 张庆业, 黄育生, 张棋. 两种亚型肠易激综合征中氨基酸神经递质及其受体变化. *世界华人消化杂志* 2014; 22(30): 4559-4565 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4559.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4559>

## 0 引言

肠易激综合征(irritable bowels syndrome, IBS)是一种临床最为常见的慢性功能紊乱疾病,该病缺乏可解释症状的形态学改变和生化异常<sup>[1,2]</sup>,根据其临床主要症状分为腹泻主导型肠易激综合征(IBS with diarrhea, IBS-D)、便秘主导型肠易激综合征(IBS with constipation, IBS-C)、腹泻便秘交替型(mixed IBS, IBS-M)和未定型肠易激综合征(unsubtyped IBS, IBS-U),其中以IBS-C、IBS-D较为常见<sup>[2]</sup>。

目前有研究<sup>[3-5]</sup>表明,谷氨酸(glutamate, Glu)、天冬氨酸(aspartic acid, Asp)是兴奋性神经递质,甘氨酸(glycine, Gly)、 $\gamma$ -氨基丁酸( $\gamma$ -aminobutyric acid,  $\gamma$ -GABA)、牛磺酸(taurine, Tau)是抑制性神经递质,且与IBS的发病机制存在一定的关系。 $\gamma$ -GABA作为神经系统内中药的抑制性神经递质,通过 $\gamma$ -GABA受体GABA<sub>A</sub>、GABA<sub>B</sub>、GABA<sub>C</sub>等发挥重要的调节作用<sup>[6,7]</sup>。本课题组前期研究表明<sup>[8,9]</sup>,氨基酸类神经递质在IBS-D的发病中具有一定的调节作用,其含量可用荧光高效液相色谱法进行检测分析。但迄今为止,尚未见系统报道氨基酸类神经递质在IBS两个亚型IBS-C、IBS-D发病中的可能机制,重要抑制性神经递质 $\gamma$ -GABA在IBS-C、IBS-D中表达变化尚不清楚。本研究拟建立IBS-C、IBS-D大鼠模型,应用脑微透析测定IBS大鼠脑组织中氨基酸类神经递质的含量,并采用Western blot法检测GABA<sub>A</sub>受体的表达变化,以探讨氨基酸类神经递质在IBS-C、IBS-D发病中的共性机制。



图1 脑微透析操作与探针. A: 左上为大鼠海马定位; B: 探针植入; C: 清醒大鼠脑微透析; D: 脑同心圆探针.

#### ■ 相关报道

相关文献报道,  $GABA_A$ 受体配体影响生理节律、生育、食欲、食物吸收、运动神经功能、识别和记忆等,  $GABA_A\alpha1$ 受体与镇静和肌肉松弛有密切关系. Sabbatini等证实胃肠道刺激可激活神经元, 从而使脑细胞核中 $GABA_A$ 受体的 $\alpha1$ 和 $\alpha2$ 亚型受体差异表达.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** SPF级SD大鼠, 雌雄不限, 购自广州中医药大学动物中心, [SCXK(粤)2013-0020]. 动物饲养及造模在广州中医药大学第一附属医院实验动物中心屏障动物实验设施进行[SYXK(粤)2013-0092], 饲养温度 $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 湿度55%-75%, 自然光节律, 并按实验动物使用的3R原则给予人道关怀. Glu、Gly、 $\gamma$ -GABA、Tau标准品, 纯度99.99%, 邻苯二甲醛、 $\beta$ -巯基乙醇、TRIzol等均为Sigma公司产品; 抗 $GABA_A\alpha1$ R单克隆抗体(美国Millipore公司);  $\beta$ 肌动蛋白单克隆抗体(美国Santa Cruz公司); 辣根过氧化物酶标记的兔抗羊(北京中杉金桥生物技术有限公司); 甲醇(HPLC级, 天津四有生物医学科技有限公司); 其他试剂均为分析纯. MD-1001微量注射泵、脑探针、血液探针均购自BAS公司; Agilent 1100荧光检测器高效液相系统; 电泳仪、全能凝胶成像分析仪垂直电泳槽、转染电泳槽(BIO-RAD公司)等.

### 1.2 方法

**1.2.1 动物的分组和模型的建立:** 将SD大鼠随机分为IBS-C组、IBS-D组和正常组, 每组20只. 参考本项目前期研究基础<sup>[10]</sup>, 采用番泻叶结合束缚应激法建立IBS-D大鼠模型; 参考文献<sup>[11]</sup>, 采用冰水灌胃法建立IBS-C大鼠模型; 正常组不作任何处理. 根据Bristol粪便分型积分<sup>[12]</sup>对模型进行

评价, 以平均积分 $>6$ 分者为成功的IBS-D大鼠模型, 以平均积分 $<3$ 分者为成功的IBS-C大鼠模型.

**1.2.2 脑微透析探针套管埋植:** 于造模结束后, 随机取成功IBS-C、IBS-D模型大鼠各10只, 正常大鼠15只, 腹腔注射水合氯醛( $0.4\text{ g/kg}$ ), 利用三维立体脑定位仪将脑微透析探针套管定位于海马组织(海马位点<sup>[13]</sup>:  $AP = -5.8$ ,  $L = 5.0$ ,  $H = -3.0$ ). 手术后大鼠恢复7 d, 排除探针套管刺激干扰.

**1.2.3 荧光高效液相色谱检测方法的建立:** 参考文献<sup>[9]</sup>配制混合氨基酸标准液(Glu、Gly、Tau和 $\gamma$ -GABA浓度分别为0.1006、0.1013、0.1005、0.1003 mg/mL)及邻苯二甲醛(o-Phthalaldehyde, OPA)衍生剂, 同法制备标准曲线.

**1.2.4 微透析探针的体外回收率测定:** 将微透析探针置于1:10、1:20、1:50稀释的混合氨基酸标准溶液中, 以 $32\text{ }^{\circ}\text{C}$ 人工脑脊液( $138\text{ mol/L NaCl}$ ,  $11\text{ mmol/L Na}_2\text{HCO}_3$ ,  $5\text{ mmol/L KCl}$ ,  $1\text{ mmol/L CaCl}_2$ ,  $1\text{ mmol/L MgCl}_2$ ,  $1\text{ mmol/L Na}_2\text{HPO}_4$ , pH 7.4)以 $1\text{ }\mu\text{L/min}$ 流速灌流, 每20 min收集1次, 收集7次接收液, 弃去前两次接收液, 剩余接收液参考文献<sup>[9]</sup>以荧光高效液相色谱法检测各组分浓度, 按公式 $RR = C_{\text{dialysate}}/C_{\text{medium}}$ 计算体外相对回收率.

**1.2.5 微透析探针体内损失率的测定:** 取正常组大鼠, 将探针插入可自由活动大鼠的海马脑区(图1), 用人工脑脊液以 $1.0\text{ }\mu\text{L/min}$ 流速灌流1.5 h,

## ■创新盘点

本研究首次从Glu/ $\gamma$ -GABA的含量变化和GABA $\alpha$ 1受体表达角度探讨IBS-C、IBS-D的共性发病机制,并采用在体脑微透析法作为样品采集手段,避免了动物个体差异的干扰。

表1 Glu、Gly、Tau和 $\gamma$ -GABA的标准曲线、线性范围

氨基酸	标准曲线方程	相关系数( <i>r</i> )	线性范围( $\mu$ g/mL)
Glu	$Y = 193.56X + 5.6532$	0.99997	0.0503–10.06
Gly	$Y = 298.82X + 11.9073$	0.99986	0.0506–10.13
Tau	$Y = 221.08X + 3.3768$	0.99991	0.0502–10.05
$\gamma$ -GABA	$Y = 189.33X + 8.1744$	0.99993	0.0501–10.03

Glu: 谷氨酸; Gly: 甘氨酸; Tau: 牛磺酸;  $\gamma$ -GABA:  $\gamma$ -氨基丁酸。

使探针周围组织恢复正常,然后更换1:10、1:20、1:50稀释的混合氨基酸标准液作为灌流液,平衡1.5 h后,每20 min收集1次,收集5次接收液,参考文献[9]以荧光高效液相色谱法检测接收液中Glu和 $\gamma$ -GABA浓度,按公式 $RL = (C_{\text{perfusate}} - C_{\text{dialysate}}) / C_{\text{perfusate}}$ 计算体内相对损失率。

1.2.6 IBS-C、IBS-D及正常大鼠脑内氨基酸含量的测定:分别于造模结束后第1、2、4、6、8、12、16、20、30、40天取各组大鼠1只,于同一时间在可自由活动大鼠的海马脑区植入脑微透析探针,用人工脑脊液以1.0  $\mu$ L/min流速灌流,平衡1.5 h后开始采样,每30 min收集1次,收集5次接收液,以荧光高效液相色谱法检测接收液中Glu和 $\gamma$ -GABA浓度,然后按照体内相对损失率计算海马组织中实际Glu和 $\gamma$ -GABA含量( $C_{\text{实际}} = C_{\text{测得量}} / RL$ )。以氨基酸含量为纵坐标,以观察天数为横坐标,制作曲线,观察并分析IBS-C、IBS-D和正常大鼠脑内氨基酸含量变化差异。

1.2.7 Western blot法检测IBS-C、IBS-D及正常大鼠脑内GABA $\alpha$ 1蛋白表达:于造模结束后第16天,分别取正常大鼠、IBS-C、IBS-D模型大鼠各5只脱颈椎处死,分离出海马组织,并于-80  $^{\circ}$ C液氮中保存。取海马组织约100 mg,加入蛋白裂解液1 mL,冰上超声破碎,高速离心15 min,获得组织蛋白匀浆液,采用二辛可宁酸(bicinchoninic acid, BCA)法测定蛋白浓度。定量后,采用5%浓缩胶和12%分离胶进行浓缩和分离,并转置于聚偏二氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜上(0.06 A恒流,60 min),此后5%脱脂牛奶室温震荡2-3 h。取出PVDF膜,加入一抗(GABA $\alpha$ 1R 1:3000),4  $^{\circ}$ C过夜孵育。TBST常温震荡清洗6 min,加二抗(辣根过氧化物酶标记的兔抗羊IgG 1:2000)室温振荡1 h,用TBST常温震荡清洗6 min。化学发光、显影、定影、曝片、洗片。胶片扫描后,用Quantityone软件将图片上每个特异条带灰度值数字化,以 $\beta$ 肌动蛋白为内标,

计算GABA $\alpha$ 1蛋白的表达。

## 2 结果

2.1 脑微透析-高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)的建立 造模结束后获得IBS-C模型大鼠16只,IBS-D大鼠20只,正常组20只。植入脑微透析探针套管过程无大鼠死亡,如图1。标准曲线结果如表1。由表1可见,Glu、Gly、Tau和 $\gamma$ -GABA的线性关系良好。HPLC图如图2。由图2可见,Glu、Gly、Tau和 $\gamma$ -GABA分离度良好,人工脑脊液对这4种氨基酸无干扰。

2.2 微透析探针的体外回收率测定 由表2可知,Gly和Tau的浓度对微透析探针的相对回收率有较大影响( $P < 0.05$ ),而Glu和 $\gamma$ -GABA的浓度对微透析探针的回收率影响较小( $P > 0.05$ ),故脑局部微透析技术可用于Glu和 $\gamma$ -GABA的脑组织液取样。

2.3 微透析探针体内损失率的测定 由3表可见,Glu和 $\gamma$ -GABA浓度对体内相对损失率基本无影响,可用于在体微透析实验的校正。取Glu和 $\gamma$ -GABA体内相对损失率校正值RL分别为41.8%、32.5%。

2.4 IBS-C、IBS-D及正常大鼠脑内氨基酸含量变化 如图2A、B。结果发现,与正常组比较,IBS-C、IBS-D组大鼠的Glu和 $\gamma$ -GABA含量均显著升高,在造模结束后第16天左右达到峰值,且IBS两亚型之间Glu和 $\gamma$ -GABA含量差异无统计学意义,两者无明显变化规律。故取兴奋性氨基酸Glu和抑制性氨基酸 $\gamma$ -GABA比值作为比较,结果如图2C。由图2C可以看出,从造模结束当天到第40天,与正常组大鼠比较,IBS-C组、IBS-D组大鼠脑内Glu/ $\gamma$ -GABA比值均显著性升高( $P < 0.05$ )。造模结束后20 d左右,IBS-C、IBS-D组大鼠Glu/ $\gamma$ -GABA比值均逐渐向正常水平恢复,提示所建立的动物模型可自我恢复。



表 2 Glu、Gly、Tau和 $\gamma$ -GABA体外相对回收率测定结果 (mean  $\pm$  SD,  $n = 5$ )

分组	体外相对回收率(%)			$F$ 值	$P$ 值
	1 : 10稀释液	1 : 20稀释液	1 : 50稀释液		
Glu	21.686 $\pm$ 0.513	21.656 $\pm$ 1.267	21.628 $\pm$ 2.478	0.002	0.9976
Gly	16.974 $\pm$ 0.638	14.640 $\pm$ 1.370	12.494 $\pm$ 1.102	21.254	0.0001
Tau	26.328 $\pm$ 1.301	24.030 $\pm$ 1.465	19.874 $\pm$ 0.982	33.403	0.0000
$\gamma$ -GABA	24.564 $\pm$ 0.676	24.494 $\pm$ 1.072	24.418 $\pm$ 0.962	0.032	0.9689

Glu: 谷氨酸; Gly: 甘氨酸; Tau: 牛磺酸;  $\gamma$ -GABA:  $\gamma$ -氨基丁酸.

表 3 Glu和 $\gamma$ -GABA体内相对损失率测定结果 (mean  $\pm$  SD,  $n = 5$ )

分组	体内相对损失率(%)			$F$ 值	$P$ 值
	1 : 10稀释液	1 : 20稀释液	1 : 50稀释液		
Glu	41.708 $\pm$ 0.410	41.880 $\pm$ 1.423	41.9380 $\pm$ 0.986	0.163	0.8517
$\gamma$ -GABA	32.542 $\pm$ 0.891	32.694 $\pm$ 1.386	32.8380 $\pm$ 0.170	0.115	0.8924

Glu: 谷氨酸;  $\gamma$ -GABA:  $\gamma$ -氨基丁酸.

2.5 IBS-C、IBS-D及正常大鼠脑内GABA $_A$  $\alpha$ 1蛋白表达 由图3可见, 与正常组大鼠比较, IBS-C组和IBS-D组大鼠脑内GABA $_A$  $\alpha$ 1蛋白表达显著增加( $P < 0.05$ ); 与IBS-C组大鼠比较, IBS-D组大鼠脑内GABA $_A$  $\alpha$ 1蛋白表达显著增加( $P < 0.05$ ).

### 3 讨论

大量临床及流行病学调查表明, 精神心理异常与IBS可互为因果, IBS的患者更具有神经质、情绪易激动、不安、焦虑和抑郁<sup>[13]</sup>等症状. 应激可引起脑内氨基酸水平的改变, 尤其是脑内Glu、 $\gamma$ -GABA与Tau水平的变化<sup>[14,15]</sup>. 海马组织处于边缘系统, 与情绪反应关系十分密切.

脑微透析液为脑细胞间液, 能准确地反映出神经元的外环境, 相比脑组织匀浆而言排除了突触中未释放的神经递质的影响, 更加准确、真实地反映了递质的释放. 微透析取样技术创伤小, 在动物清醒状态下取样, 排除了麻醉对药物代谢、内分泌等过程的干扰, 更加真实地模拟了病理状态. 此外, 脑微透析技术还具有连续时间点取样, 样品无蛋白干扰, 可直接分析, 减少实验动物数量等优点<sup>[16]</sup>.

目前研究证明脑内 $\gamma$ -GABA与Glu有着密切的关系. 本研究采用脑微透析技术采集脑细胞间液, 采用荧光高效液相色谱法检测其中Glu和 $\gamma$ -GABA含量, 发现Glu和 $\gamma$ -GABA水平均有上调, 不能反映此时中枢以兴奋或抑制占优势, 因此

以Glu/ $\gamma$ -GABA值作为评定中枢兴奋或抑制的指标, 结果发现与正常组大鼠相比, IBS-C组大鼠与IBS-D组大鼠海马组织中Glu/ $\gamma$ -GABA值均显著升高. 研究认为 $\gamma$ -GABA能促进或者抑制其他神经递质从而发挥调节胃肠道运动的作用, 而IBS-C时肠道动力功能降低, 而IBS-D时肠道运动加快<sup>[17,18]</sup>, 二者同时表现出腹痛的症状, 结合本实验结果, 推测Glu与 $\gamma$ -GABA的比例失衡, 使得肠道神经功能增强或者减弱, 从而诱发IBS发病的机制.

GABA $_A$ 受体是 $\gamma$ -GABA三种受体中最为重要的一种, 广泛分布于整个神经系统, 富含于海马和大脑皮质中<sup>[19]</sup>, 在控制神经元兴奋性方面发挥重要作用, 其功能障碍与神经和精神紊乱如抑郁症、失眠、焦虑、癫痫等密切相关<sup>[20-23]</sup>, 是配体门控的氯离子通道, 能够增强或者减弱 $\gamma$ -GABA作用于受体的效能. 且据文献报道, GABA $_A$ 受体配体能影响生理节律、生育、食欲、食物吸收、运动神经功能、识别和记忆等, GABA $_A$  $\alpha$ 1受体与镇静和肌肉松弛有密切关系<sup>[20,24]</sup>. Moloney等<sup>[7]</sup>研究发现GABAB受体参与早期母婴分离所导致的内脏敏感性升高机制, 其机理与GABAB受体与疼痛反射有关. Sabbatini等<sup>[25]</sup>证实胃肠道刺激可激活神经元, 从而使脑细胞核中GABA $_A$ 受体的 $\alpha$ 1和 $\alpha$ 2亚型受体差异表达. 本实验通过进一步研究发现, GABA $_A$  $\alpha$ 1在两种亚型IBS中的表达均有升高, 并且在IBS-D

### ■应用要点

研究发现, IBS-C、IBS-D大鼠脑内氨基酸神经递质Glu/ $\gamma$ -GABA含量和GABA $_A$  $\alpha$ 1受体蛋白均显著升高, 提示Glu/ $\gamma$ -GABA含量和GABA $_A$  $\alpha$ 1受体蛋白可能是两种亚型IBS的共性发病机制, 为疏肝健脾法治疗IBS-C、IBS-D提供了合理的证据.

## ■名词解释

肠易激综合征(irritablebowelsyn-drome, IBS): 为一种与胃肠功能改变有关, 以慢性或复发性腹痛、腹泻、排便习惯和大便性状异常为主要症状而又缺乏胃肠道结构或生化异常的综合征。

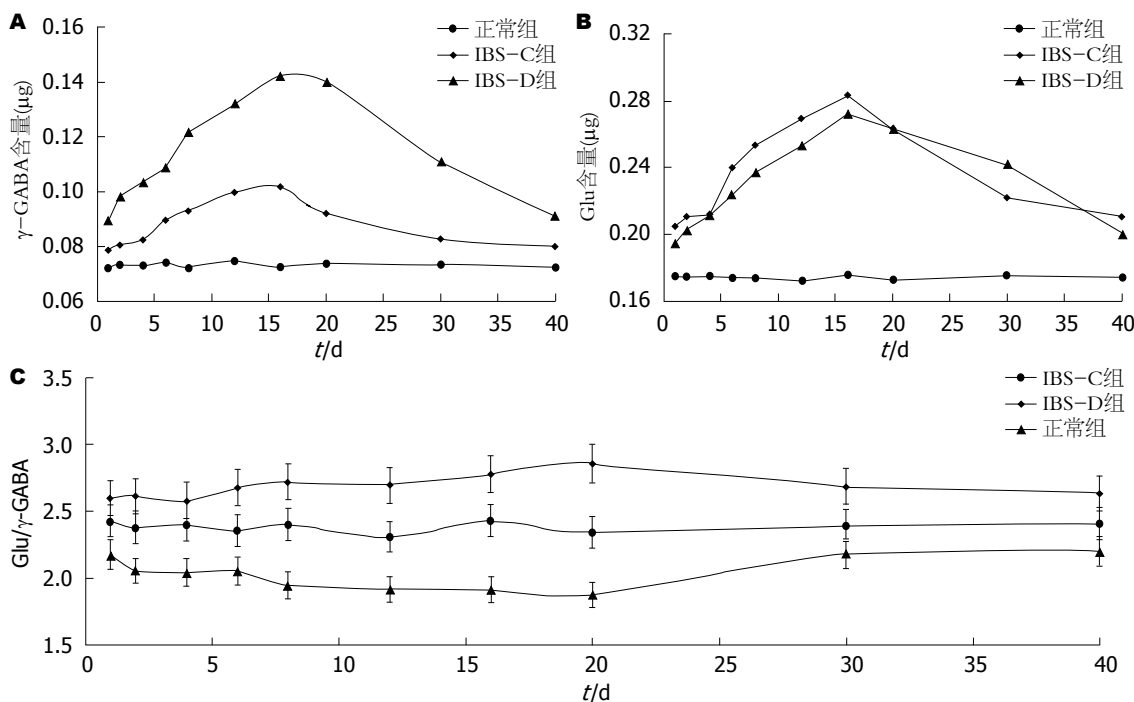


图2 IBS-C、IBS-D和正常组大鼠脑中Glu、 $\gamma$ -GABA含量变化曲线。A:  $\gamma$ -GABA脑内含量变化曲线; B: 脑内Glu含量变化曲线; C: 脑内Glu/ $\gamma$ -GABA变化曲线。IBS-C: 便秘型肠易激综合征; IBS-D: 腹泻型肠易激综合征; Glu: 谷氨酸;  $\gamma$ -GABA:  $\gamma$ -氨基丁酸。

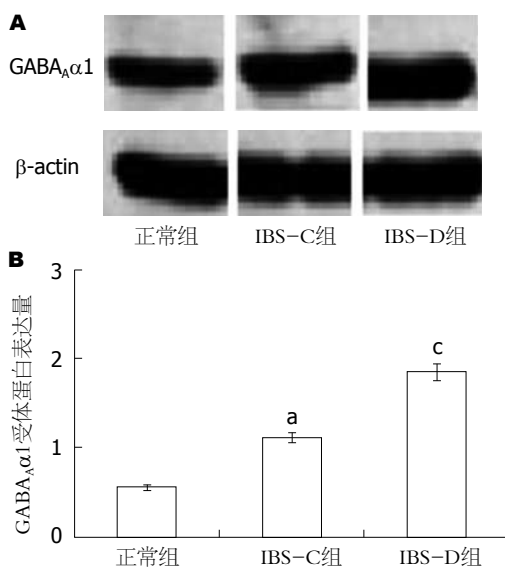


图3 IBS-C、IBS-D及正常大鼠脑内GABA<sub>A</sub> $\alpha$ 1蛋白表达结果。A: Western blot检测GABA<sub>A</sub> $\alpha$ 1蛋白表达结果; B: GABA<sub>A</sub> $\alpha$ 1蛋白的灰度分析结果。<sup>a</sup> $P$ <0.05 vs 正常组; <sup>c</sup> $P$ <0.05 vs IBS-C组。IBS-C: 便秘型肠易激综合征; IBS-D: 腹泻型肠易激综合征; Glu: 谷氨酸; GABA<sub>A</sub> $\alpha$ 1: 氨基酸A $\alpha$ 1亚型受体;  $\beta$ -actin:  $\beta$ -肌动蛋白。

中升高较IBS-C中有明显优势, 提示GABA<sub>A</sub> $\alpha$ 1受体在不同亚型IBS的发病中可能具有重要作用。

中医认为IBS属于“肠郁”范畴, 主张从肝脾论治IBS, 提出IBS-C和IBS-D均可采用疏肝健脾法进行干预和治疗<sup>[26]</sup>, 提示两者之间可能存在着某些共同的物质基础, 其发病上可能存在某

些共性机制。而神经胃肠病学研究发现<sup>[27-29]</sup>, 脑-肠轴在IBS的发病中具有重要地位, 即胃肠道功能受自主神经-肠神经的调控, 而该神经系统通过交感和副交感神经路径与中枢神经连接, 形成一个包含感觉神经元、中间神经元和运动(包括兴奋性和抑制性)神经元的巨大网络, 可通过各种神经递质的释放和传递把内脏与中枢神经系统连接起来。本研究发现IBS-C、IBS-D大鼠脑内氨基酸神经递质Glu/ $\gamma$ -GABA和GABA<sub>A</sub> $\alpha$ 1受体蛋白均显著升高, 提示可能是外界刺激(应激束缚)或饮食习惯改变(灌胃番泻叶、冰水)引起脑内脑内氨基酸神经递质Glu/ $\gamma$ -GABA和GABA<sub>A</sub> $\alpha$ 1受体蛋白的释放或表达改变, 导致脑-肠轴异常, 从而引起肠道功能紊乱。但Glu/ $\gamma$ -GABA和GABA<sub>A</sub> $\alpha$ 1受体蛋白是否是IBS-C和IBS-D的共性发病机制, 是否是疏肝健脾法治疗IBS-C、IBS-D的靶点, 尚有待进一步研究。

## 4 参考文献

- 1 Drossman DA. The functional gastrointestinal disorders and the Rome III process. *Gastroenterology* 2006; 130: 1377-1390 [PMID: 16678553 DOI: 10.1053/j.gastro]
- 2 姚欣, 杨云生, 赵卡冰, 孙刚, 刘英圣, 王巍峰. 罗马Ⅲ标准研究肠易激综合征临床特点及亚型. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 563-566
- 3 Palma-Cerda F, Auger C, Crawford DJ, Hodgson

- AC, Reynolds SJ, Cowell JK, Swift KA, Cais O, Vyklicky L, Corrie JE, Ogden D. New caged neurotransmitter analogs selective for glutamate receptor sub-types based on methoxynitroindoline and nitrophenylethoxycarbonyl caging groups. *Neuropharmacology* 2012; 63: 624-634 [PMID: 22609535 DOI: 10.1016/j.neuropharm]
- 4 Zinellu A, Sotgia S, Deiana L, Carru C. Analysis of neurotransmitter amino acids by CE-LIF detection in biological fluids. *Methods Mol Biol* 2013; 919: 35-42 [PMID: 22976088 DOI: 10.1007/978-1-62703-029-8\_4]
- 5 Xiong G, Zhang L, Mojsilovic-Petrovic J, Arroyo E, Elkind J, Kundu S, Johnson B, Smith CJ, Cohen NA, Grady SM, Cohen AS. GABA and glutamate are not colocalized in mossy fiber terminals of developing rodent hippocampus. *Brain Res* 2012; 1474: 40-49 [PMID: 22842523 DOI: 10.1016/j.brainres.2012.07.042]
- 6 王晓亚, 王增贤, 王怀经, 李振中. 音乐对大鼠海马 GABA 受体表达的作用. *中国行为医学科学* 2006; 15: 17-19
- 7 Moloney RD, O'Leary OF, Felice D, Bettler B, Dinan TG, Cryan JF. Early-life stress induces visceral hypersensitivity in mice. *Neurosci Lett* 2012; 512: 99-102 [PMID: 22326388 DOI: 10.1016/j.neulet.2012.01.066]
- 8 唐洪梅. 肠激安胶囊制剂学及干预腹泻型肠易激综合征机理研究. 广州: 广州中医药大学, 2007
- 9 涂星, 邵红利, 卢映, 吴俊洪. 荧光高效液相色谱法测定三种失眠模型大鼠脑组织氨基酸类神经递质的含量. *中国实验动物学报* 2013; 21: 74-77
- 10 唐洪梅, 廖小红, 房财富, 黄樱华, 何嘉伦, 李得堂. 肝郁脾虚型大鼠肠易激综合征模型的建立及评价. *中国实验方剂学杂志* 2012; 18: 138-140
- 11 朱军, 赵克, 李致富, 王伟栋, 丁健华, 尹淑慧, 赵勇. 冰水灌胃应激建立便秘表现肠功能紊乱大鼠模型. *胃肠病学* 2010; 15: 738-740
- 12 O'Donnell LJ, Virjee J, Heaton KW. Detection of pseudodiarrhoea by simple clinical assessment of intestinal transit rate. *BMJ* 1990; 300: 439-440 [PMID: 2107897]
- 13 李延青, 杨云生, 陈建. 肠易激综合征. 第1版. 北京: 中国医药科技出版社, 2005: 5
- 14 刘海静, 何新芳, 陈兴华. 针刺对抑郁模型大鼠行为学及海马氨基酸类神经递质的影响. *医学研究杂志* 2010; 39: 79-81
- 15 张东明, 张佳民, 马万云. 急性力竭运动对大鼠下丘脑氨基酸神经递质的影响. *高等学校化学学报* 2002; 23: 230-233
- 16 宋文婷, 徐立, 刘建勋. 微透析技术在医药领域中的应用. *中国中药杂志* 2009; 34: 247-250
- 17 赵菊辉, 董蕾, 郝筱倩. 多种胃肠激素对肠易激综合征患者小肠运动功能的研究. *南方医科大学学报* 2007; 27: 1492-1495
- 18 Posserud I, Ersryd A, Simrén M. Functional findings in irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2830-2838 [PMID: 16718806]
- 19 小川纪雄原. 脑受体. 北京: 北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社, 1997: 322-324
- 20 袁莲芳, 陈果, 贾宏阁, 高影, 刘利宁, 李毓新, 师建国. GABA 受体研究现状. *现代临床医学* 2014; 40: 89-92
- 21 Seifi M, Brown JF, Mills J, Bhandari P, Belelli D, Lambert JJ, Rudolph U, Swinny JD. Molecular and functional diversity of GABA-A receptors in the enteric nervous system of the mouse colon. *J Neurosci* 2014; 34: 10361-10378 [PMID: 25080596 DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0441-14.2014]
- 22 Loddenkemper T, Talos DM, Cleary RT, Joseph A, Sánchez Fernández I, Alexopoulos A, Kotagal P, Najm I, Jensen FE. Subunit composition of glutamate and gamma-aminobutyric acid receptors in status epilepticus. *Epilepsy Res* 2014; 108: 605-615 [PMID: 24613745 DOI: 10.1016/j.eplepsyres.2014.01.015]
- 23 Matsuura K, Nakamura-Hirota T, Takano M, Otani M, Kadoyama K, Matsuyama S. Proteomic analysis of time-dependent changes in proteins expressed in mouse hippocampus during synaptic plasticity induced by GABA receptor blockade. *Neurosci Lett* 2013; 555: 18-23 [PMID: 23932890 DOI: 10.1016/j.neulet.2013]
- 24 Heldt SA, Ressler KJ. Amygdala-specific reduction of alpha1-GABA receptors disrupts the anticonvulsant, locomotor, and sedative, but not anxiolytic, effects of benzodiazepines in mice. *J Neurosci* 2010; 30: 7139-7151 [PMID: 20505082 DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0693-10.2010]
- 25 Sabbatini M, Molinari C, Grossini E, Piffanelli V, Mary DA, Vacca G, Cannas M. GABA receptors expression pattern in rat brain following low pressure distension of the stomach. *Neuroscience* 2008; 152: 449-458 [PMID: 18280049 DOI: 10.1016/j.neuroscience.2008.01.008]
- 26 周福生, 程宏辉. 治疗肠易激综合征的中医理论研究和临床经验传承. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 2225-2229
- 27 王敬东. 脑-肠互动在肠易激综合征发病中的作用. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 3299-3301
- 28 Alonso C, Vicario M, Pigrau M, Lobo B, Santos J. Intestinal barrier function and the brain-gut axis. *Adv Exp Med Biol* 2014; 817: 73-113 [PMID: 24997030 DOI: 10.1007/978-1-4939-0897-4\_4]
- 29 Julio-Pieper M, O'Connor RM, Dinan TG, Cryan JF. Regulation of the brain-gut axis by group III metabotropic glutamate receptors. *Eur J Pharmacol* 2013; 698: 19-30 [PMID: 23123053 DOI: 10.1016/j.ejphar.2012.10.027]

## ■同行评价

本文具有一定的  
创新性.

编辑 韦元涛 电编 闫晋利





# 盐酸小檗碱对肠易激综合征大鼠内脏高敏感的影响

唐庆林, 钟渊福, 黄东, 李石旦, 何韶辉, 苏军凯, 张鸣青

## ■背景资料

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是临床上最为常见的功能性肠道疾病,给患者带来生活和工作上的极大不便及精神压力,严重影响其生活质量。IBS发病机制非常复杂,内脏高敏感性(visceral hypersensitivity, VH)是其重要发病机制。

唐庆林, 钟渊福, 黄东, 李石旦, 何韶辉, 苏军凯, 张鸣青, 中国人民解放军第一七五医院(厦门大学附属东南医院)消化内科 福建省漳州市 363000

唐庆林, 主要从事消化疾病的基础与临床研究。

南京军区医药卫生科研基金资助项目, No. 12MA069

漳州市自然科学基金资助项目, No. ZZ2013J29

作者贡献分布: 此课题由张鸣青指导; 唐庆林进行文献检索及实验设计; 实验操作及数据采集由唐庆林、钟渊福、李石旦及何韶辉共同完成; 数据分析由唐庆林、黄东及苏军凯完成; 实验指导及论文修改由张鸣青完成。

通讯作者: 张鸣青, 主任医师, 硕士生导师, 363000, 福建省漳州市漳华中路269号, 中国人民解放军第一七五医院(厦门大学附属东南医院)消化内科。zhangmingqing20@163.com

电话: 0596-2975536

收稿日期: 2014-08-04 修回日期: 2014-08-29

接受日期: 2014-09-10 在线出版日期: 2014-10-28

## Effect of berberine on visceral hypersensitivity in a rat model of irritable bowel syndrome

Qing-Lin Tang, Yuan-Fu Zhong, Dong Huang, Shi-Dan Li, Shao-Hui He, Jun-Kai Su, Ming-Qing Zhang

Qing-Lin Tang, Yuan-Fu Zhong, Dong Huang, Shi-Dan Li, Shao-Hui He, Jun-Kai Su, Ming-Qing Zhang, Department of Gastroenterology, the 175<sup>th</sup> Hospital of PLA, Affiliated Southeast Hospital of Xiamen University, Zhangzhou 363000, Fujian Province, China

Supported by: Medical and Health Foundation of Nanjing Military Command, No. 12MA069; and Natural Science Foundation of Zhangzhou, No. ZZ2013J29

Correspondence to: Ming-Qing Zhang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the 175<sup>th</sup> Hospital of PLA, Affiliated Southeast Hospital of Xiamen University, 269 Zhanghua Central Road, Zhangzhou 363000, Fujian Province, China. zhangmingqing20@163.com

Received: 2014-08-04 Revised: 2014-08-29

Accepted: 2014-09-10 Published online: 2014-10-28

## Abstract

**AIM:** To evaluate the effect of berberine (BBR) on visceral hypersensitivity in a rat model of irritable bowel syndrome (IBS) and explore the underlying mechanism.

**METHODS:** IBS was induced in rats by maternal separation. After berberine intervention, visceral sensitivity was evaluated using the score of abdominal withdrawal reflex (AWR). Defecation parameters were evaluated by restraint stress procedure. The levels of 5-hydroxytryptamine

(5-HT) in the colon and interleukin-6 (IL-6) in plasma were determined by ELISA.

**RESULTS:** Compared with normal control rats, the score of AWR, defecation parameters, and levels of 5-HT and IL-6 were significantly increased in rats treated with normal saline, pinaverium or BBR ( $P < 0.05$ ); however, these indexes were significantly lower in the pinaverium and BBR groups than in the normal saline group ( $P < 0.05$ ), and in the BBR group than in the pinaverium group ( $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** BBR has a protective effect on visceral hypersensitivity in rats with IBS via mechanisms possibly related to IL-6 and 5-HT.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Irritable bowel syndrome; Visceral hypersensitivity; Berberine

Tang QL, Zhong YF, Huang D, Li SD, He SH, Su JK, Zhang MQ. Effect of berberine on visceral hypersensitivity in a rat model of irritable bowel syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(30): 4566-4572 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4566.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i30.4566>

## 摘要

**目的:** 评价盐酸小檗碱(berberine, BBR)对肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)大鼠内脏高敏感的影响, 探讨其机制。

**方法:** 采用母婴分离方法建立IBS大鼠模型, 应用BBR干预处理, 用腹部回缩反应评分评价内脏敏感性; 通过束缚应激实验(restraint stress procedure, RSP)评价排便, 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血浆白介素-6(interleukin-6, IL-6)、结肠5-羟色胺(5-hydroxy tryptamine, 5-HT)水平。

**结果:** 与对照组比较, 生理盐水组、匹维溴铵组、BBR组AWR评分升高, 束缚应激后排便增加, 结肠5-HT、血浆IL-6水平升高, 组间比

## ■同行评议者

白爱平, 副教授, 江西省南昌大学第一附属医院消化病研究所

较差异有统计学意义( $P<0.05$ ); 与生理盐水组比较, 匹维溴铵组、BBR组AWR评分降低, 束缚应激后排便减少, 结肠5-HT、血浆IL-6水平下降, 组间比较差异有统计学意义( $P<0.05$ ); 与匹维溴铵组比较, BBR组AWR评分降低, 束缚应激后排便减少, 结肠5-HT、血浆IL-6水平下降, 组间比较差异有统计学意义( $P<0.05$ ).

**结论:** BBR能影响IBS大鼠的内脏高敏感性, 其机制可能与IL-6、5-HT有关.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 肠易激综合征; 内脏敏感性; 盐酸小檗碱

**核心提示:** 盐酸小檗碱(berberine, BBR)治疗胃肠道疾病有数千年的历史, 但其治疗肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)的作用机制尚不清楚, 本研究主要通过大鼠模型来探讨BBR治疗IBS的机制. 通过研究, 我们发现BBR能够影响IBS大鼠内脏高敏感性(visceral hypersensitivity), 降低结肠5-羟色胺(5-hydroxy tryptamine)、血浆白介素-6(interleukin-6)高表达.

唐庆林, 钟渊福, 黄东, 李石旦, 何韶辉, 苏军凯, 张鸣青. 盐酸小檗碱对肠易激综合征大鼠内脏高敏感的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(30): 4566-4572 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4566.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i30.4566>

## 0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种以腹痛或腹部不适伴排便习惯改变和/或粪便性状改变的功能性肠病, 临床缺乏能解释症状的形态学和生化学异常<sup>[1,2]</sup>. IBS的病因和发病机制相当复杂, 内脏高敏感性(visceral hypersensitivity, VH)是其重要病理生理特征之一. 临床实践和研究表明, 盐酸小檗碱(berberine, BBR)能够改善IBS症状<sup>[3]</sup>, 但机制尚无十分清楚, 因此, 本研究以母婴分离方法建立IBS大鼠模型, 通过行为学、病理学、免疫学等方法, 研究BBR影响模型大鼠, 有助于进一步揭示VH相关机制, 为临床上使用BBR提供理论依据.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 新生期SD大鼠, 清洁级, 出生后即进入实验, 建立新生儿母婴分离大鼠模型, 60 d后大鼠成年, 体质量约270-310 g, 实验动物由厦门大学实验动物中心提供. 试剂: 盐酸小檗碱(美国Sigma公司); 匹维溴铵(美国雅培制药公司); 白

介素-6(interleukin-6, IL-6)试剂盒(美国Cusabio公司); 5-羟色胺(5-hydroxy tryptamine, 5-HT)试剂盒(美国Cusabio公司).

### 1.2 方法

**1.2.1 模型建立:** 用母婴分离方法建立大鼠模型<sup>[4]</sup>, 实验方案得到厦门大学附属东南医院伦理委员会的批准. 出生后第2-21天, 每天将新生期大鼠与哺乳期母鼠分离3 h, 早上9:00始, 将哺乳期母鼠从笼中拎出, 将新生大鼠从笼中移出, 放至于另一个单独的笼中, 将此笼转移到隔壁房间中, 3 h后, 将新生鼠放回最初笼中, 母子鼠团聚. 饲养环境: 每周半量换鼠笼垫料, 新生鼠出生后第22天断奶, 30 d分笼. 自由饮水、饮食, 室温控制( $22\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), 湿度65%-70%, 光照周期12/12 h. IBS大鼠成年后(出生后约60 d)分为4组: 对照组(control group)、生理盐水组(saline group)、BBR组(BBR group)、匹维溴铵组(pinaverium group), 每组8只, 对照组不予特殊处理, 其余组每天分别予生理盐水3 mL灌胃、BBR(100 mg/kg)悬浊液约3 mL灌胃、匹维溴铵(150 mg/kg)悬浊液约3 mL灌胃, 1次/d, 第7天评价模型并取材.

**1.2.2 直结肠扩张实验(colorectal distension, CRD):** 实验第6天禁食24 h, 禁水12 h; 第7天, 4组大鼠分别于清醒状态下放入大鼠固定器( $5\text{ cm}\times 5\text{ cm}\times 20\text{ cm}$ )中, 参考文献<sup>[5]</sup>的方法, 将8 F导尿管(Eurom edical公司, 导管直径2.7 mm, 球囊最大容量3 mL)经肛门缓慢插入, 气囊末端距肛门约2 cm并固定. 待30 min后大鼠适应, 经外口气囊内先后注入37  $^{\circ}\text{C}$ 生理盐水(0.1、0.2、0.3、0.4、0.6、0.8和1.0 mL)扩张, 按腹部回撤反应(abnormal withdrawal reflex, AWR)标准<sup>[5]</sup>评分, 1次/4 min, 30 s/次, 每一个评分重复3次, 取平均值. 实验后测定导尿管气囊容量与直肠压力值. 将三通一端接电子压力计, 另一段接导尿管气囊外口, 导尿管气囊端放置于37  $^{\circ}\text{C}$ 温水中, 经三通另一接口先后注入空气(0.1、0.2、0.3、0.4、0.6、0.8和1.0 mL)扩张, 1次/4 min, 30 s/次, 每一个评分重复3次, 读取压力值, 取平均值.

**1.2.3 束缚应激实验(restraint stress procedure, RSP):** 按参考文献方法<sup>[4]</sup>, 实验第7天, 将每只大鼠分别放在大鼠固定器内, 限制其活动(不限制呼吸)约3 h, 期间大鼠的粪便分为硬便、软便、不成形便, 分别计数.

**1.2.4 血浆IL-6检测:** 实验结束后, 各组大鼠心脏取血, 10 min分离血浆, ELISA法检测大鼠血浆

### ■ 研发前沿

IBS的主要症状是腹痛或腹部不适伴排便习惯改变和/或粪便性状改变. 大量临床实践表明, 盐酸小檗碱(berberine, BBR)能够改善IBS症状, 本研究为进一步阐明其作用机制, 为临床治疗提供新的依据.

## ■相关报道

BBR又名黄连素,在我国应用历史悠久,属异喹啉生物碱,常用其盐酸盐和硫酸盐。临床上用来治疗急慢性胃肠炎等胃肠道疾病历史悠久,疗效肯定。由于其不良反应小,价格低廉,长期以来作为广谱抗菌药被广泛应用于各类感染性疾病的治疗。近年来研究表明,BBR具有多种药理作用,具有很大的研究开发价值。

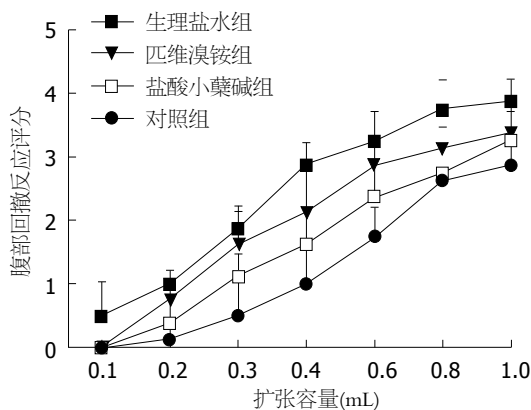


图1 各组大鼠腹部回缩反应评分比较。

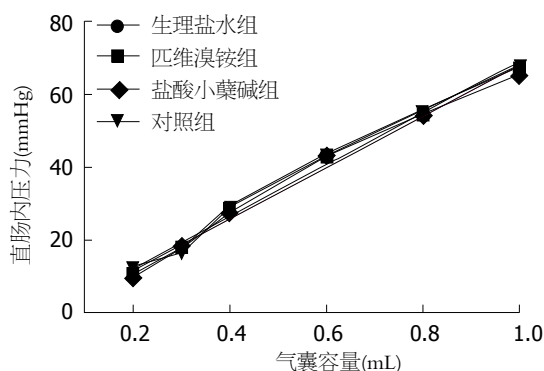


图2 各组导管腔内气囊容量与直肠内压力的关系。

IL-6水平。方法:从冰箱取出试剂盒后平衡至室温(20℃-25℃),取出反应板并配制工作液;加入50 μL标准品及50 μL待检测血清分别置于相应反应板孔中,每孔加入酶结合物50 μL,再加入抗体50 μL,轻轻混匀30 s,封住板孔,置入恒温水箱中37℃温育60 min后取出,手工洗板,弃去孔内液体。洗涤液注满各孔,静置10 s甩干,重复3次后拍干,洗板机洗板,选择洗涤3次程序,洗板后拍干。每孔加入各50 μL显色剂A液、显色剂B液,振荡混匀30 s,37℃暗处温育15 min,每孔加入50 μL终止液。将酶标仪波长调至450 nm,30 min内读取A值。以A值为纵坐标,以标准品浓度为横坐标,绘制标准曲线。根据血清样品A值在标准曲线上查出其浓度并记录。

1.2.5 标本采集、HE染色:实验结束后,取各组大鼠结肠(距肛门约6 cm)1 cm肠段,分别行常规HE染色。

1.2.6 结肠5-HT水平检测:实验结束后,取各组大鼠结肠(距肛门约5 cm)1 cm肠段,于冷PBS中洗涤2遍,用剪刀剪碎,各加入400 μL冰预冷裂解缓冲液,玻璃匀浆器匀浆5-10 min,充分裂解。离心:4℃,13000 r/min,10 min。将上清分装,存于

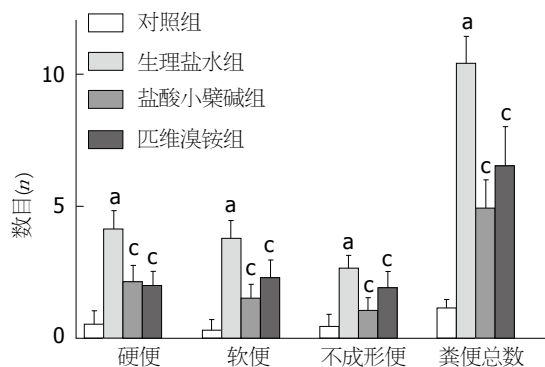


图3 各组大鼠排便情况分析比较。<sup>a</sup> $P<0.05$  vs 对照组; <sup>c</sup> $P<0.05$  vs 生理盐水组。

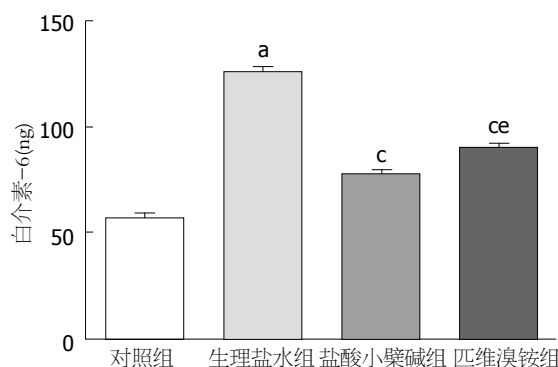


图4 各组大鼠血清IL-6表达。<sup>a</sup> $P<0.05$  vs 对照组; <sup>c</sup> $P<0.05$  vs 生理盐水组; <sup>ce</sup> $P<0.05$  vs 盐酸小檗碱组。

-80℃备检。按照ELISA法操作,检测5-HT水平。

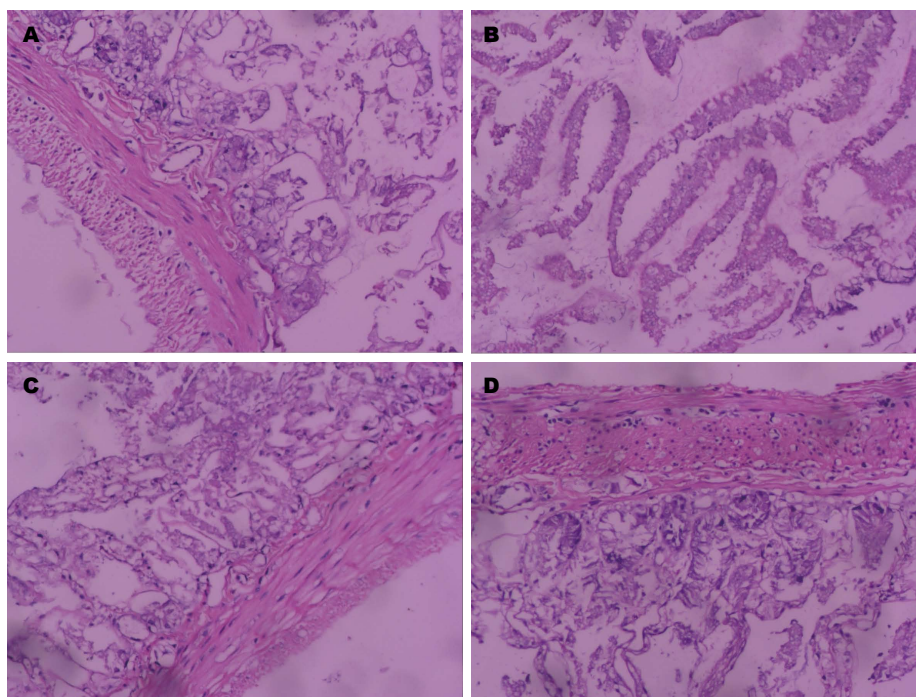
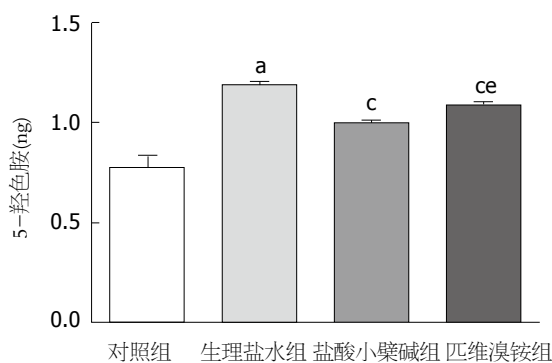
**统计学处理** 数据表达用mean±SD表示,以SPSS13.0统计软件进行统计分析。各组间AWR评分、排便计数的比较采用重复测量方差分析;气囊容量和压力值的关系采用直线回归分析;粪便总数、5-HT、IL-6水平的比较采用单因素方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 CRD情况 AWR评分如图1所示:当直肠扩张容量刺激为0.2-1.0 mL时,与对照组相比,生理盐水组、BBR组、匹维溴铵组AWR评分显著升高,组间比较差异有统计学意义( $P<0.05$ );与生理盐水组比较,BBR组、匹维溴铵组AWR评分降低,组间比较差异有统计学意义( $P<0.05$ );BBR组与匹维溴铵组比较,AWR评分降低,两组比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。如图2所示,压力值与气囊容量直线相关,各组结果如下:对照组, $r=0.9781$ , $P<0.001$ ;生理盐水组, $r=0.9846$ , $P<0.001$ ;BBR组, $r=0.9843$ , $P<0.001$ ;匹维溴铵组, $r=0.9849$ , $P<0.001$ 。

2.2 RSP情况 如图3所示:束缚应激刺激后,生理



图 5 各组大鼠结肠HE染色( $\times 100$ ).图 6 各组大鼠结肠5-羟色胺表达。<sup>a</sup> $P<0.05$  vs 对照组; <sup>c</sup> $P<0.05$  vs 生理盐水组; <sup>ce</sup> $P<0.05$  vs 盐酸小檗碱组。

盐水组排便多于对照组、BBR组、匹维溴铵组, 组间比较差异有统计学意义( $P<0.05$ ); BBR组较匹维溴铵组排便减少, 两组比较差异有统计学意义( $P<0.05$ ).

**2.3 血浆IL-6检测** 如图4所示: 生理盐水组血浆IL-6水平高于对照组、BBR组、匹维溴铵组, 组间比较差异有统计学意义( $P<0.05$ ); 匹维溴铵组血浆IL-6水平高于BBR组, 两组比较差异有统计学意义( $P<0.05$ ).

**2.4 HE染色情况** 如图5所示, 4组肠黏膜外观无充血、水肿、出血, 显微镜下各组大鼠结肠黏膜结构完整, 隐窝完好, 上皮完整, 各层组织完整, 未见溃疡等组织病理学改变, 可排除炎症性肠病等疾病可能。

**2.5 大鼠结肠5-HT检测情况** 如图6所示: 生理盐水组结肠5-HT水平高于对照组、BBR组、匹维溴铵组, 组间比较差异有统计学意义( $P<0.05$ ); 匹维溴铵组结肠5-HT水平高于BBR组, 两组比较差异有统计学意义( $P<0.05$ ).

### 3 讨论

IBS是临床常见的一组消化系统症候群, 严重影响患者生活、工作质量, 耗费大量的医疗资源。IBS是人群的常见病、多发病, 总的来说, IBS在世界各国人群中患病率为5%-25%, 无论在发达国家还是发展中国家, 本病是临床上最常见的一种功能性肠道疾病<sup>[6]</sup>。VH是指内脏组织器官对刺激的感受性增强的现象, 表现为引起感觉的阈值降低和/或对一定强度刺激的反应增强。大量研究表明, VH是IBS主要的病理生理特征之一<sup>[7]</sup>, 很多学者认为他是IBS腹部疼痛或不适的主要机制, 甚至有学者将其做生物学标志, 受到广泛重视与应用<sup>[8]</sup>。研究表明, 母婴分离大鼠模型成年后, 内脏敏感性增强, 能很好模拟人类IBS患者, 这一模型已经被广泛用于VH的研究<sup>[4,9]</sup>。

BBR治疗胃肠道疾病在我国有数千年的历史, 广泛用来治疗腹痛、腹泻、腹胀等消化道症状, 近年来研究显示BBR具有多种药理作用, 如降血糖、抗心律失常、抗肿瘤等<sup>[10-14]</sup>, 适用范围广, 已成为传统中药药效成分研究的新热

### ■创新盘点

本文深入的研究BBR对IBS大鼠内脏高敏感的影响, 探讨其机制与降低结肠5-羟色胺(5-hydroxy tryptamine, 5-HT)、血浆白介素-6(interleukin-6, IL-6)高表达有关。

### ■应用要点

BBR能显著影响大鼠内脏高敏感, 这为临床上长期使用BBR治疗IBS提供了理论依据, 为临床诊治提供一个明确的方向。

点<sup>[15]</sup>。但目前有关BBR研究中对其作用的传统靶器官—肠道研究却相对有限。而最新研究提示, BBR治疗肠道疾病仍有很大潜力, 而开发传统中药并赋予这些不良反应小、价格低的老药以新的应用价值无疑将会对减轻医药负担、保障人民健康有着积极的意义。本研究通过大鼠模型来探讨BBR治疗IBS的机制, 结果显示, 与生理盐水及匹维溴铵比较, BBR能够显著降低AWR评分, 同时束缚应激后排便较少, 提示BBR能影响VH, 这为临床治疗IBS提供了新的策略和思路。

5-HT是调节消化系功能的一种重要的神经信号分子。人体内约有95%以上5-HT存在于胃肠道中, 少量存在于中枢神经系统(central nervous system, CNS)、血小板及各组织肥大细胞(mast cell, MC)中。胃肠道中90%以上5-HT位于黏膜层肠嗜铬细胞中, 其余约10%存在于肠神经系统(enteric nervous system, ENS)中。目前研究发现MC周围有大量的神经末梢与之紧密连接, 在活化脱颗粒时释放包括5-HT、组织胺、P物质、前列腺素等诸多生物活性物质, 他们可直接作用于神经末梢, 对神经末梢的刺激起到级联放大作用。ENS主要包括肌间神经丛和黏膜下神经丛, 神经丛可继续分成更小的分支, 即二级神经丛和三级神经丛, 这些神经网络之间以及和外源性神经丛之间的相互联系, 在5-HT等神经分子参与下, 共同协调肠道功能。目前认为5-HT作为ENS一种神经递质分子, 对VH形成中起重要作用。研究表明, IBS患者体内5-HT代谢异常, 肠道5-HT分泌增多<sup>[16-20]</sup>。本研究中, 我们发现生理盐水组5-HT水平较对照组明显升高( $P<0.05$ ); 与匹维溴铵组、生理盐水组比较, BBR组结肠5-HT水平明显降低( $P<0.05$ ), 这与Tjong课题组<sup>[3]</sup>、Zheng课题组<sup>[11]</sup>的研究结果是一致的。

成熟的IL-6由185个氨基酸残基组成, 是一种分子量为26 kDa的糖蛋白。IL-6可以由多种细胞产生, 它具有多种生物学功能, 可以刺激各种细胞的增殖和分化并在机体免疫应答、骨髓造血、自身免疫和机体防御等方面均十分重要<sup>[21]</sup>。近年来研究表明, IL-6是一种在许多慢性炎症疾病中起重要作用细胞因子, 是一种适宜的肠道炎症标志物, 在IBS诊断和治疗中起重要作用<sup>[22,23]</sup>。本研究中, 我们检测生理盐水组大鼠血浆IL-6水平高于对照组( $P<0.05$ ), 与生理盐水、匹维溴铵相比, BBR组IL-6水平明显降低( $P<0.05$ )。

总之, 本研究用母婴分离方法建立IBS大鼠模型, 通过干预处理, 表明BBR能够影响大鼠VH, 降低结肠5-HT、血浆IL-6高表达, 其机制分析如下: (1)BBR对肠道内某些病原微生物有一定的抑制(或杀灭)作用, 能够阻止其破坏肠黏膜屏障<sup>[24]</sup>, 改善肠黏膜“微炎症”, 保护肠功能, 调节VH; (2)研究发现, 静止期溃疡性结肠炎患者中存在IBS样的VH, 进一步支持了即使肠道黏膜轻微炎症也能诱发VH并产生症状。轻微炎症导致IBS患者ENS的改变, 研究表明无论在正常肠黏膜还是炎症黏膜, MC等免疫细胞均毗邻ENS的神经纤维, 这种解剖结构上的紧密连接并不是偶然发生的, 而是说明黏膜内存在神经免疫系统的交互作用。作为传统的治疗肠炎的药物, BBR改善肠炎的疗效确切, 有基础和临床研究表明, BBR能够抑制IL-6等肠道炎症因子的表达<sup>[25,26]</sup>, 其机制可能与过氧化物酶增殖体活化受体 $\gamma$ 有关。故我们推测BBR抑制了IL-6的表达, 影响了其相关ENS神经纤维功能, 调节VH; (3)有研究表明, BBR能够抑制突触后5-HT<sub>1A</sub>和5-HT<sub>2</sub>受体来调节5-HT高表达<sup>[27]</sup>。据此我们推测, BBR降低作为ENS神经递质的5-HT高表达, 从而调节VH; (4)匹维溴铵是一种高度选择性的肠道钙离子拮抗药, 其机制是通过阻断钙离子流入肠壁平滑肌细胞, 防止肌肉过度收缩而达到解痉作用, 此外, 有研究表明该药还可以调节肠道感觉过敏, 改善腹痛等症状。有研究表明, BBR对钙离子通道有一定的调节作用<sup>[28,29]</sup>, 据此, 我们推测其机制可能与影响钙离子通道有关。

### 4 参考文献

- 1 Ford AC, Quigley EM, Lacy BE, Lembo AJ, Saito YA, Schiller LR, Soffer EE, Spiegel BM, Moayyedi P. Efficacy of Prebiotics, Probiotics, and Synbiotics in Irritable Bowel Syndrome and Chronic Idiopathic Constipation: Systematic Review and Meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2014; 109: 1547-1561 [PMID: 25070051 DOI: 10.1038/ajg.2014.202]
- 2 Drossman DA. The functional gastrointestinal disorders and the Rome III process. *Gastroenterology* 2006; 130: 1377-1390 [PMID: 16678553 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.03.008]
- 3 李亚军, 尹淑新, 符雪松, 郑春玉. 黄连素治疗腹泻型肠易激综合征的临床研究. *中国现代药物应用* 2010; 4: 161-162
- 4 Tjong Y, Ip S, Lao L, Fong HH, Sung JJ, Berman B, Che C. Analgesic effect of Coptis chinensis rhizomes (Coptidis Rhizoma) extract on rat model of irritable bowel syndrome. *J Ethnopharmacol* 2011; 135: 754-761 [PMID: 21511022 DOI: 10.1016/j.jep.2011.04.007]

- 5 Dai C, Guandalini S, Zhao DH, Jiang M. Antinociceptive effect of VSL#3 on visceral hypersensitivity in a rat model of irritable bowel syndrome: a possible action through nitric oxide pathway and enhance barrier function. *Mol Cell Biochem* 2012; 362: 43-53 [PMID: 22020749 DOI: 10.1007/s11010-011-1126-5]
- 6 Dong YY, Chen FX, Yu YB, Du C, Qi QQ, Liu H, Li YQ. A school-based study with Rome III criteria on the prevalence of functional gastrointestinal disorders in Chinese college and university students. *PLoS One* 2013; 8: e54183 [PMID: 23349820 DOI: 10.1371/journal.pone.0054183]
- 7 van Wanrooij SJ, Wouters MM, Van Oudenhove L, Vanbrabant W, Mondelaers S, Kollmann P, Kreutz F, Schemann M, Boeckstaens GE. Sensitivity testing in irritable bowel syndrome with rectal capsaicin stimulations: role of TRPV1 upregulation and sensitization in visceral hypersensitivity? *Am J Gastroenterol* 2014; 109: 99-109 [PMID: 24189713 DOI: 10.1038/ajg.2013.371]
- 8 Zhou Q, Verne GN. New insights into visceral hypersensitivity--clinical implications in IBS. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2011; 8: 349-355 [PMID: 21643039 DOI: 10.1038/nrgastro.2011.83]
- 9 van den Wijngaard RM, Stanisor OI, van Diest SA, Welting O, Wouters MM, de Jonge WJ, Boeckstaens GE. Peripheral  $\alpha$ -helical CRF (9-41) does not reverse stress-induced mast cell dependent visceral hypersensitivity in maternally separated rats. *Neurogastroenterol Motil* 2012; 24: 274-82, e111 [PMID: 22129370]
- 10 Asai M, Iwata N, Yoshikawa A, Aizaki Y, Ishiura S, Saido TC, Maruyama K. Berberine alters the processing of Alzheimer's amyloid precursor protein to decrease Abeta secretion. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 352: 498-502 [PMID: 17125739 DOI: 10.1016/j.bbrc.2006.11.043]
- 11 Domitrović R, Jakovac H, Blagojević G. Hepatoprotective activity of berberine is mediated by inhibition of TNF- $\alpha$ , COX-2, and iNOS expression in CCl(4)-intoxicated mice. *Toxicology* 2011; 280: 33-43 [PMID: 21095217 DOI: 10.1016/j.tox.2010.11.005]
- 12 Wang Y, Campbell T, Perry B, Beaurepaire C, Qin L. Hypoglycemic and insulin-sensitizing effects of berberine in high-fat diet- and streptozotocin-induced diabetic rats. *Metabolism* 2011; 60: 298-305 [PMID: 20304443 DOI: 10.1016/j.metabol.2010.02.005]
- 13 Sun Y, Xun K, Wang Y, Chen X. A systematic review of the anticancer properties of berberine, a natural product from Chinese herbs. *Anticancer Drugs* 2009; 20: 757-769 [PMID: 19704371 DOI: 10.1097/CAD.0b013e328330d95b]
- 14 Diogo CV, Machado NG, Barbosa IA, Serafim TL, Burgeiro A, Oliveira PJ. Berberine as a promising safe anti-cancer agent - is there a role for mitochondria? *Curr Drug Targets* 2011; 12: 850-859 [PMID: 21269266]
- 15 Cai Y, Xia Q, Luo R, Huang P, Sun Y, Shi Y, Jiang W. Berberine inhibits the growth of human colorectal adenocarcinoma in vitro and in vivo. *J Nat Med* 2014; 68: 53-62 [PMID: 23604974]
- 16 Grasberger H, Chang L, Shih W, Presson AP, Sayuk GS, Newberry RD, Karagiannides I, Pothoulakis C, Mayer E, Merchant JL. Identification of a functional TPH1 polymorphism associated with irritable bowel syndrome bowel habit subtypes. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 1766-1774 [PMID: 24060757 DOI: 10.1038/ajg.2013.304]
- 17 Zhan DW, Sun JH, Luo KT, Xu LZ, Zhou JL, Pei LX, Chen L, Wu XL, Zhang JW, Zhang W, Jiao DY, Zhu L. [Effects and efficacy observation of acupuncture on serum 5-HT in patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome]. *Zhongguo Zhenjiu* 2014; 34: 135-138 [PMID: 24796047]
- 18 Spiller RC, Jenkins D, Thornley JP, Hebden JM, Wright T, Skinner M, Neal KR. Increased rectal mucosal enteroendocrine cells, T lymphocytes, and increased gut permeability following acute Campylobacter enteritis and in post-dysenteric irritable bowel syndrome. *Gut* 2000; 47: 804-811 [PMID: 11076879]
- 19 Bose M, Farthing MJ. Irritable bowel syndrome: new horizons in pathophysiology and treatment. *Br J Surg* 2001; 88: 1425-1426 [PMID: 11683735 DOI: 10.1046/j.0007-1323.2001.01870.x]
- 20 Yu Y, Wu S, Li J, Wang R, Xie X, Yu X, Pan J, Xu Y, Zheng L. The effect of curcumin on the brain-gut axis in rat model of irritable bowel syndrome: involvement of 5-HT-dependent signaling. *Metab Brain Dis* 2014 May 8. [Epub ahead of print][PMID: 24807589 DOI: 10.1007/s11011-014-9554-z]
- 21 Mulé JJ, McIntosh JK, Jablons DM, Rosenberg SA. Antitumor activity of recombinant interleukin 6 in mice. *J Exp Med* 1990; 171: 629-636 [PMID: 2307930]
- 22 Dinan TG, Clarke G, Quigley EM, Scott LV, Shanahan F, Cryan J, Cooney J, Keeling PW. Enhanced cholinergic-mediated increase in the pro-inflammatory cytokine IL-6 in irritable bowel syndrome: role of muscarinic receptors. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 2570-2576 [PMID: 18785949 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2008.01871.x]
- 23 O'Malley D, Quigley EM, Cryan JF, Dinan TG. Plasma from patients with irritable bowel syndrome excites rat submucosal neurons via IL-6 and CRF1 receptor dependent mechanisms. *Gastroenterology* 2011; 140: S835
- 24 Gu L, Li N, Li Q, Zhang Q, Wang C, Zhu W, Li J. The effect of berberine in vitro on tight junctions in human Caco-2 intestinal epithelial cells. *Fitoterapia* 2009; 80: 241-248 [PMID: 19243699 DOI: 10.1016/j.fitote.2009.02.005]
- 25 Chen FL, Yang ZH, Liu Y, Li LX, Liang WC, Wang XC, Zhou WB, Yang YH, Hu RM. Berberine inhibits the expression of TNF $\alpha$ , MCP-1, and IL-6 in AcLDL-stimulated macrophages through PPAR $\gamma$  pathway. *Endocrine* 2008; 33: 331-337 [PMID: 19034703 DOI: 10.1007/s12020-008-9089-3]
- 26 Kim S, Kim Y, Kim JE, Cho KH, Chung JH. Berberine inhibits TPA-induced MMP-9 and IL-6 expression in normal human keratinocytes. *Phytomedicine* 2008; 15: 340-347 [PMID: 17951041 DOI: 10.1016/j.phymed.2007.09.011]
- 27 Peng WH, Wu CR, Chen CS, Chen CF, Leu ZC, Hsieh MT. Anxiolytic effect of berberine on exploratory activity of the mouse in two experimental anxiety models: interaction with drugs acting at 5-HT receptors. *Life Sci* 2004; 75: 2451-2462 [PMID: 15350820 DOI: 10.1016/j.lfs.2004.04.032]
- 28 Yang J, Wang HD, Lu DX, Wang YP, Qi RB, Li J, Li F, Li CJ. Effects of neutral sulfate berberine on LPS-induced cardiomyocyte TNF- $\alpha$  secretion, abnormal calcium cycling, and cardiac dysfunction in rats. *Acta Pharmacol Sin* 2006; 27: 173-178 [PMID: 16811111 DOI: 10.1007/s12265-006-0011-1]

# ■名词解释

IBS: 指一组包括腹痛、腹胀、排便习惯改变(腹泻/便秘)、粪便性状改变(稀便、黏液便或硬便)等临床表现的症候群, 症状持续存在或间歇发作。IBS分为IBS腹泻型、IBS便秘型、IBS混合型 and IBS不定型。



## ■同行评价

本文具有一定的科学性和研究价值。

29 16412266 DOI: 10.1111/j.1745-7254.2006.00257.x]  
Qi MY, Feng Y, Dai DZ, Li N, Cheng YS, Dai Y.  
CPU86017, a berberine derivative, attenuates  
cardiac failure through normalizing calcium leak-

age and downregulated phospholamban and  
exerting antioxidant activity. *Acta Pharmacol Sin*  
2010; 31: 165-174 [PMID: 20139899 DOI: 10.1038/  
aps.2009.180]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



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

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

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

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

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

# 一种细菌鞭毛蛋白衍生物CZLC331治疗小鼠溃疡性结肠炎的疗效

王寰, 徐阳, 屈亚威, 张成岗, 刘海峰

王寰, 徐阳, 屈亚威, 刘海峰, 中国人民武装警察部队总医院消化科 北京市 100039

张成岗, 中国人民解放军军事医学科学院放射与辐射医学研究所 蛋白质组学国家重点实验室 全军军事认知与心理卫生研究中心 北京市 100850

王寰, 主要从事消化系统相关疾病研究。

北京市自然科学基金资助项目, No. 7132171

作者贡献分布: 本文由王寰撰写; 徐阳与屈亚威进行实验操作; 张成岗与刘海峰进行实验设计、指导。

通讯作者: 刘海峰, 主任医师, 100039, 北京市海淀区永定路69号, 中国人民武装警察部队总医院消化科。haifengliu333@163.com  
电话: 010-57976549

收稿日期: 2014-07-21 修回日期: 2014-09-04

接受日期: 2014-09-21 在线出版日期: 2014-10-28

## Therapeutic effects of CZLC331, a flagellum protein derivative, on ulcerative colitis in mice

Huan Wang, Yang Xu, Ya-Wei Qu, Cheng-Gang Zhang, Hai-Feng Liu

Huan Wang, Yang Xu, Ya-Wei Qu, Hai-Feng Liu, Department of Gastroenterology, General Hospital of Chinese People's Armed Police Forces, Beijing 100039, China  
Cheng-Gang Zhang, Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences; State Key Laboratory of Proteomics; Research Center for Military Cognition and Mental Hygiene of Chinese PLA, Beijing 100850, China  
Supported by: Beijing Natural Science Foundation, No. 7132171

Correspondence to: Hai-Feng Liu, Chief Physician, Department of Gastroenterology, General Hospital of Chinese People's Armed Police Forces, 69 Yongding Road, Haidian District, Beijing 100039, China. haifengliu333@163.com

Received: 2014-07-21 Revised: 2014-09-04

Accepted: 2014-09-21 Published online: 2014-10-28

## Abstract

**AIM:** To assess the therapeutic effects of CZLC331 on mice with ulcerative colitis (UC).

**METHODS:** UC was induced in mice with 3,4,5-trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS). Twenty-four male Balb/c mice were randomly and equally divided into a control group, a UC model group, and a CZLC331 treatment group. After treatment, indexes including general status, disease activity index (DAI), changes in

the colon mucosa and muscularis layer, colonic mucosa damage index (CMDI), pathological changes of colon tissue were observed.

**RESULTS:** Compared with the model group, food and water intake and activity increased significantly, and DAI score decreased significantly in the treatment group ( $P < 0.05$ ). Colonic serosal congestion, edema, mucosa bleeding and ulcers were significantly mitigated, and CMDI was significantly decreased in the treatment group compared with the model group ( $P < 0.05$ ). Pathological changes of colon tissue were also significantly reduced, and only disappearance of few goblet cells and lymphocyte and neutrophil infiltration were observed.

**CONCLUSION:** CZLC331 has a significant therapeutic effect on UC mice.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Ulcerative colitis; CZLC331; Treatment

Wang H, Xu Y, Qu YW, Zhang CG, Liu HF. Therapeutic effects of CZLC331, a flagellum protein derivative, on ulcerative colitis in mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(30): 4573-4577 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4573.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4573>

## 摘要

**目的:** 研究一种细菌鞭毛蛋白衍生物CZLC331对小鼠溃疡性结肠炎的治疗效果。

**方法:** 采用2,4,6-三硝基苯磺酸(2,4,6-trinitro benzenesulfonic acid, TNBS)溶液灌肠的方法建立小鼠溃疡性结肠炎模型, 将24只实验小鼠分为模型组、治疗组和对照组, 治疗组是针对模型小鼠造模后4 h腹腔注射3.2 mg/kg CZLC331蛋白。观察指标包括小鼠摄食水量、便血量、皮毛光泽度等一般状态、疾病活动指数(disease activity index, DAI), 小鼠结肠组织黏膜和浆膜层变化及结肠黏膜损伤指

## ■背景资料

目前溃疡性结肠炎缺乏有效的治疗方法和特效药物。细菌鞭毛蛋白是一种抗原物质, 是5型Toll-like受体激动剂。既往研究显示细菌鞭毛蛋白能对造血系统及胃肠道系统均表现出较显著的保护作用。细菌鞭毛蛋白是否对溃疡性结肠炎有保护治疗作用文献中鲜有报道。

## ■同行评议者

宋新明, 教授, 主任医师, 中山大学附属第一医院胃肠外科

## ■相关报道

Burdelya等研究表明细菌鞭毛蛋白能有效地预防致死剂量照射引起的小鼠死亡。Vijay-Kumar等研究表明细菌鞭毛蛋白能够有效地提高小鼠骨髓中造血干细胞数量,提高照射后小鼠的存活率。Hossain等研究表明:应用鞭毛蛋白成功地减弱了异基因造血干细胞移植后急性性移植抗宿主病的发生,提高了移植后小鼠的存活时间,增强了供者T细胞的植入及Treg细胞的产生。

数(colonic mucosa damage index, CMDI),小鼠结肠组织HE染色的病理改变。

**结果:**与模型组相比,治疗组小鼠摄食( $7\text{ g/d} \pm 1.12\text{ g/d}$ )、摄水量( $3\text{ mL/d} \pm 0.78\text{ mL/d}$ )、活动性( $14\text{ min} \pm 5.32\text{ min}$ )明显增加,DAI评分( $1.55 \pm 0.28$ )显著降低( $P < 0.05$ );治疗组小鼠结肠浆膜层充血、水肿,黏膜层出血及溃疡等现象亦有所减轻,CMDI评分( $2.08 \pm 0.46$ )与模型组比较显著降低( $P < 0.05$ );治疗组结肠黏膜病理观察细胞排列结构比较整齐、少量杯状细胞消失及淋巴细胞和中性粒细胞浸。

**结论:**腹腔注射细菌鞭毛蛋白CZLC331可以有效对抗结肠炎症对肠黏膜的损伤,对溃疡性结肠炎模型小鼠有明显的治疗作用。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 溃疡性结肠炎; CZLC331; 治疗

**核心提示:** 本实验探索一种鞭毛蛋白衍生物CZLC331作为治疗溃疡性结肠炎的全新药物,具有一定的临床指导意义。

王寰, 徐阳, 屈亚威, 张成岗, 刘海峰. 一种细菌鞭毛蛋白衍生物CZLC331治疗小鼠溃疡性结肠炎的疗效. 世界华人消化杂志 2014; 22(30): 4573-4577 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4573.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i30.4573>

## 0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种病因尚未完全明确的慢性非特异性炎症性肠病,多浸润黏膜及黏膜下层<sup>[1-5]</sup>。主要表现为腹痛、腹泻、黏液便和血便,并伴有多发性硬化症、视神经炎、骨质疏松等肠外表现。目前临床上缺乏有效的治疗方法和特效药物,主要是对症处理,治疗缺乏特异性,疗程长而且治愈后易于复发,治疗难度极大,已被世界卫生组织确定为现代难治病之一。细菌鞭毛蛋白是一种抗原物质,鞭毛抗原又称H抗原,是5型Toll-like受体(Toll like receptor 5, TLR5)激动剂。既往研究表明细菌鞭毛蛋白能有效地预防致死剂量照射引起的小鼠死亡,也能够有效提高小鼠骨髓中造血干细胞数量,提高照射后小鼠的存活率,对造血系统及胃肠道系统均表现出较显著的保护作用<sup>[6-10]</sup>。细菌鞭毛蛋白是否对溃疡性结肠炎有保护治疗作用文献中鲜有报道。我们采用常规原核表达方法制备了一种沙门氏菌鞭毛蛋白衍生

物,命名为CZLC331,包括Tat蛋白转导肽、沙门氏菌鞭毛蛋白自N端第1-176位氨基酸残基和第402-505位氨基酸残基的融合蛋白,自N端第1-176位氨基酸残基和第402-505位氨基酸残基可通过柔性连接肽连接,纯度>95%。本研究是以三硝基苯磺酸(2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid, TNBS)/乙醇建立的小鼠UC动物模型为研究对象,观察CZLC331对UC模型小鼠的预防和治疗效果。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** SPF级♂Balb/c小鼠,6-8周龄,体质量18-22 g,由中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心提供;2,4,6-三硝基苯磺酸(Sigma公司);液体石蜡(国药集团化学试剂北京有限公司);VMR小动物麻醉机(北京益仁恒业科技有限公司);小鼠灌胃针(北京健力园医疗器械有限公司);1 mL注射器(山东新华安德医疗用品有限公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 模型制备:** 首先将小鼠采用麻醉机麻醉,然后采用直径2.0 mm、长约5 cm的灌胃针由肛门轻缓插入(深约3 cm)并将灌肠试剂(含有150 g/L TNBS+380 mL/L乙醇溶液,150 mg/kg)缓慢推入结肠以制备炎症性肠病模型。

**1.2.2 实验分组:** 分为模型组、治疗组和对照组,每组8只小鼠。对照组是针对正常小鼠用以上方法将380 mL/L乙醇溶液灌肠1次,正常喂养2 d;治疗组是针对模型小鼠,小鼠UC形成后4 h,腹腔注射CZLC331蛋白(3.2 mg/kg体质量),模型组是针对模型小鼠正常喂养2 d。

**1.2.3 沙门氏菌鞭毛蛋白衍生物CZLC331蛋白的制备:** 首先构建沙门氏菌鞭毛蛋白衍生物CZLC331的原核表达载体pET28b-Tat-CZLC331,然后对原核表达载体pET28b-Tat-CZLC331进行转化及菌体复苏,再对原核表达载体pET28b-Tat-CZLC331进行诱导表达,制备沙门氏菌鞭毛蛋白衍生物CZLC331蛋白样品,最后对沙门氏菌鞭毛蛋白衍生物CZLC331蛋白样品进行分离、纯化得到沙门氏菌鞭毛蛋白衍生物CZLC331蛋白,通过限制性内切酶酶切及测序确证,纯度达95%以上。

**1.2.4 观察指标:** (1)观察小鼠摄食/水量、活动度、便血等一般状态变化及疾病活动指数DAI评分。参照Jackson等<sup>[11]</sup>的方法,计算DAI评分。DAI评分 = (大便性状分数+体质量下降分数+便



表 1 DAI评分标准

计分	体质量下降(%)	大便性状	便血
0	无	正常	阴性
1	1-5	-	-
2	6-10	半稀便	潜血阳性
3	11-15	-	-
4	>15	稀便	肉眼可见血便

表 2 CMDI评分标准

计分	损伤程度	大体形态
0	无	无黏膜充血、水肿和溃疡
1	轻度	黏膜略见充血、水肿, 无糜烂及溃疡形成
2	轻-中度	黏膜充血、水肿较明显, 并出现糜烂、小溃疡, 直径<1 mm
3	中度	黏膜充血水肿较重, 可见多处糜烂, 单个溃疡直径>1 mm
4	中-重度	弥漫充血水肿, 散在多处溃疡和糜烂, 单个溃疡直径1-2 mm
5	重度	弥漫性溃疡和糜烂, 充血水肿严重, 溃疡直径可>2 mm

表 3 小鼠一般情况比较

分组	摄食量(g/d)	摄水量(mL/d)	活动时间(min)
对照组	8±1.01	4±0.56	16±8.34
模型组	4±0.91 <sup>a</sup>	2±0.32 <sup>a</sup>	9±3.14 <sup>a</sup>
治疗组	7±1.12 <sup>c</sup>	3±0.78 <sup>c</sup>	14±5.32 <sup>c</sup>

<sup>a</sup>*P*<0.05 vs 对照组; <sup>c</sup>*P*<0.05 vs 模型组.

表 4 DAI评分比较

分组	DAI评分
对照组	0.00±0.00
模型组	2.09±0.25 <sup>a</sup>
治疗组	1.55±0.28 <sup>c</sup>

<sup>a</sup>*P*<0.05 vs 对照组; <sup>c</sup>*P*<0.05 vs 模型组.

血分数)/3. DAI评分标准如表1; (2)结肠黏膜大体形态观察及黏膜损伤情况评分(colonic mucosa damage index, CMDI). 将清洗洁净的病变组织平展开后置于10倍放大镜下观察, 参照Zingarelli等<sup>[12]</sup>进对结肠黏膜损伤情况进行CMDI评分. CMDI评分标准如表2; (3)观察组织病理形态学变化: 将结肠病变置于40 g/L甲醛溶液中固定后石蜡包埋、切片和HE染色, 显微镜下观察其病理改变.

**统计学处理** 各组数据采用mean±SD表示, SPSS11.0统计软件进行分析, 采用*t*检验, *P*<0.05

为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 一般情况状态观察及疾病活动指数DAI评分 对照组小鼠摄食、水量正常, 无便血及活动减少等现象. 模型组小鼠摄食/水量明显减少, 活动减少, 皮毛光泽度下降, 血便. 治疗组CZLC331经腹腔注射后, 小鼠便血、少食少动现象有所减轻(摄食/水量、活动性明显增加)(表3). 模型组DAI评分与对照组相比显著增高, 治疗组DAI评分与模型组比较显著降低(表4).

2.2 结肠黏膜大体形态观察及黏膜损伤CMDI评分 对照组小鼠肉眼观察结肠浆膜层光滑, 无充血、水肿, 黏膜层无出血及溃疡. 模型组小鼠肉眼观察结肠浆膜层出现明显的充血、水肿, 黏膜层出现明显的出血及溃疡. 治疗组小鼠CZLC331经腹腔注射后, 肉眼观察结肠浆膜层充血、水肿, 黏膜层出血及溃疡等现象亦有所减轻(图1, 2). 模型组CMDI评分与对照组相比显

**■创新盘点**  
我们采用常规原核表达方法制备了一种沙门氏菌鞭毛蛋白衍生物, 我们命名他为CZLC331, 通过观察小鼠摄食水量、便血量、皮毛光泽度等一般状态、疾病活动指数(disease activity index, DAI), 小鼠结肠组织黏膜和浆膜层变化及结肠黏膜损伤指数(colonic mucosa damage index, CMDI), 小鼠结肠组织HE染色的病理改变, 研究CZLC331对小鼠溃疡性结肠炎的治疗效果.

### ■应用要点

本实验探索一种鞭毛蛋白衍生物CZLC331作为治疗溃疡性结肠炎的全新药物, 具有极高的现实意义。

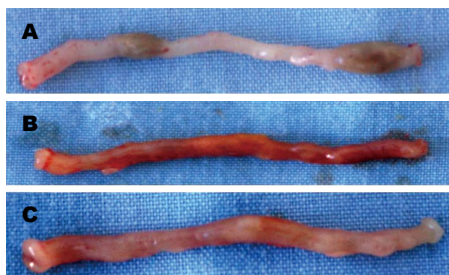


图1 小鼠的结肠浆膜层. A: 对照组; B: 模型组; C: 治疗组.

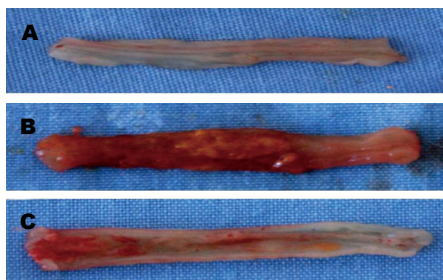


图2 小鼠的结肠黏膜层. A: 对照组; B: 模型组; C: 治疗组.

著增高, 治疗组CMDI评分与模型组比较显著降低(表5).

**2.3 病理组织学观察** 对照组小鼠病理观察可见细胞排列整齐, 无杯状细胞减少及淋巴细胞和中性粒细胞浸润等现象. 模型组小鼠病理观察可见细胞结构紊乱、杯状细胞消失、淋巴细胞和中性粒细胞浸润等现象. 治疗组小鼠CZLC331经腹腔注射后, 病理观察可见细胞排列结构比较整齐、少量杯状细胞消失及淋巴细胞和中性粒细胞浸(图3).

### 3 讨论

UC是严重影响人类健康的疾病, 由于UC的发病机理至今尚不明确, 因而在临床上无法进行针对病因进行有效的治疗, 从1888年至今, 5-氨基水杨酸始终是UC的一线治疗药物, 但其治疗效果并不理想. 即使在发病率较高的欧美发达国家, 也并无治疗UC的特效药<sup>[13]</sup>, 随着病情的恶化, 往往不得不进行全结肠切除术, 给患者带来了极大的痛苦. 因此迫切需要一种能针对病因进行有效治疗的临床药物, 来缓解患者的痛苦.

细菌鞭毛蛋白是一种抗原物质, 鞭毛抗原又称H抗原, 是5型TLR5激动剂, 对TLR5-NF-κB信号通路具有激活作用<sup>[7,14]</sup>, 与TLR家族信号通路具有密切关系. TLR家族是一类参与病原微生物引起的先天免疫的蛋白受体家族. 近年来TLR在机体免疫应答中的作用受到高度关注. TLR不仅

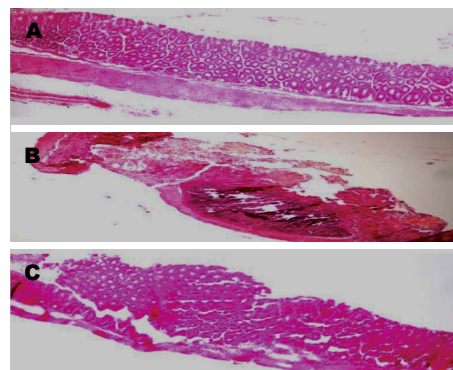


图3 小鼠结肠黏膜组织切片后HE染色结果. A: 对照组; B: 模型组; C: 治疗组.

表5 CMDI评分比较

分组	CMDI评分
对照组	0.00 ± 0.00
模型组	3.03 ± 0.42 <sup>a</sup>
治疗组	2.08 ± 0.46 <sup>c</sup>

<sup>a</sup>P<0.05 vs 对照组; <sup>c</sup>P<0.05 vs 模型组.

在激活天然免疫中发挥重要作用, 而且还在诱导和调节获得性免疫中具有重要意义, 是连接天然免疫和获得性免疫的重要桥梁. 目前已发现13种TLR<sup>[15]</sup>, 细菌鞭毛蛋白是目前已知的唯一的TLR5特异性配体. 既往研究表明在放射损伤小鼠模型中, 鞭毛蛋白衍生物对造血系统及胃肠道系统均表现出较显著的保护作用. Burdelya等<sup>[7]</sup>研究表明细菌鞭毛蛋白能有效地预防致死剂量照射引起的小鼠死亡. Vijay-Kumar等<sup>[8]</sup>研究表明细菌鞭毛蛋白能够有效提高小鼠骨髓中造血干细胞数量, 提高照射后小鼠的存活率. Hos-sain等<sup>[10]</sup>对小鼠的研究成果表明: 应用鞭毛蛋白成功地减弱了异基因造血干细胞移植后急性移植抗宿主病的发生, 提高了移植后小鼠的存活时间. 强调了供者T细胞的植入及Treg细胞的产生. 细菌鞭毛蛋白是否对溃疡性结肠炎有保护作用文献中鲜有报道. 我们采用常规原核表达方法制备了一种沙门氏菌鞭毛蛋白衍生物, 我们命名他为CZLC331, 包括Tat蛋白转导肽、沙门氏菌鞭毛蛋白自N端第1-176位氨基酸残基和第402-505位氨基酸残基的融合蛋白, 自N端第1-176位氨基酸残基和第402-505位氨基酸残基可通过柔性连接肽连接, 纯度>95%. 本研究是以TNBS/乙醇建立的小鼠UC动物模型为研究对象, 观察CZLC331对UC模型小鼠的治疗效果,

我们研究发现, CZLC331对UC的治疗效果显著: 与模型组相比, 治疗组小鼠摄食/水量、活动性明显增加, DAI评分显著降低( $P<0.05$ ); 治疗组小鼠结肠浆膜层充血、水肿, 黏膜层出血及溃疡等现象亦有所减轻, CMDI评分与模型组比较显著降低( $P<0.05$ ); 治疗组结肠黏膜病理观察细胞排列结构比较整齐、少量杯状细胞消失及淋巴细胞和中性粒细胞浸。我们研究显示CZLC331对UC小鼠具有明显的预防和治疗效果。

本研究显示鞭毛蛋白衍生物CZLC331UC小鼠具有明显的治疗作用, 但机制不明确, 是否与调节白介素家族和肿瘤坏死因子的水平有关, 是否与TLR-NF- $\kappa$ B通路存在一定联系, 有待进一步研究。

#### 4 参考文献

- 1 孔磊, 王威, 孙景武, 万玉良. 溃疡性结肠炎的研究进展. 临床荟萃 2009; 9: 823-825
- 2 Yamamoto-Furusho JK, Uscanga LF, Vargas-Alarcón G, Ruiz-Morales JA, Higuera L, Cutiño T, Rodríguez-Pérez JM, Villarreal-Garza C, Granados J. Clinical and genetic heterogeneity in Mexican patients with ulcerative colitis. *Hum Immunol* 2003; 64: 119-123 [PMID: 12507822]
- 3 Campieri M, Gionchetti P. Bacteria as the cause of ulcerative colitis. *Gut* 2001; 48: 132-135 [PMID: 11115835]
- 4 侯庆芬, 王欣妮. 溃疡性结肠炎病因与发病机制的研究. 中外医疗 2009; 20: 168
- 5 王立春, 马鑫, 胡强基, 吴仕九. 溃疡性结肠炎的病因及相关问题探讨. 山东中医杂志 2001; 4: 10-14
- 6 Rhee SH, Im E, Riegler M, Kokkotou E, O'Brien M, Pothoulakis C. Pathophysiological role of Toll-like receptor 5 engagement by bacterial flagellin in colonic inflammation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 13610-13615 [PMID: 16157881]
- 7 Burdelya LG, Krivokrysenko VI, Tallant TC, Strom E, Gleiberman AS, Gupta D, Kurnasov OV, Fort FL, Osterman AL, Didonato JA, Feinstein E, Gudkov AV. An agonist of toll-like receptor 5 has radioprotective activity in mouse and primate models. *Science* 2008; 320: 226-230 [PMID: 18403709]
- 8 Vijay-Kumar M, Aitken JD, Sanders CJ, Frias A, Sloane VM, Xu J, Neish AS, Rojas M, Gewirtz AT. Flagellin treatment protects against chemicals, bacteria, viruses, and radiation. *J Immunol* 2008; 180: 8280-8285 [PMID: 18523294]
- 9 龚旭东, 马梁明, 朱镭, 郭慧敏, 任连生, 任瑞瑞, 张华屏, 卫芬, 牛燕燕. TLR5激动剂鞭毛蛋白预防小鼠异基因造血干细胞移植后急性移植物抗宿主病的初步研究. 中国实验血液学杂志 2012; 20: 965-970
- 10 Hossain MS, Roback JD, Gewirtz AT, Waller EK. Flagellin, A TLR5 Agonist, Facilitates Production of foxp3+CD4+CD25+ Regulatory T Cells to Maintain Balanced Immune Reconstitution in Allogeneic BMT without GvHD. *Biology Blood Marrow Transplantation* 2009; 15: Supplement 1-164
- 11 Jackson LN, Zhou Y, Qiu S, Wang Q, Evers BM. Alternative medicine products as a novel treatment strategy for inflammatory bowel disease. *Am J Chin Med* 2008; 36: 953-965 [PMID: 19051360]
- 12 Zingarelli B, Hake PW, Burroughs TJ, Piraino G, O'Connor M, Denenberg A. Activator protein-1 signalling pathway and apoptosis are modulated by poly(ADP-ribose) polymerase-1 in experimental colitis. *Immunology* 2004; 113: 509-517 [PMID: 15554929]
- 13 Liu Z, Yadav PK, Xu X, Su J, Chen C, Tang M, Lin H, Yu J, Qian J, Yang PC, Wang X. The increased expression of IL-23 in inflammatory bowel disease promotes intraepithelial and lamina propria lymphocyte inflammatory responses and cytotoxicity. *J Leukoc Biol* 2011; 89: 597-606 [PMID: 21227898]
- 14 Wang HD, Lu DX, Qi RB. Therapeutic strategies targeting the LPS signaling and cytokines. *Pathophysiology* 2009; 16: 291-296 [PMID: 19321321]
- 15 任美玉, 吴欣怡. Toll样受体的研究进展. 现代免疫学 2006; 26: 340-342

#### ■同行评价

UC的药物治疗缺乏有效性。本实验在动物模型做一些尝试, 具有一定的临床指导意义。

编辑 田滢 电编 闫晋利





## 结直肠癌中miRNAs差异表达谱的筛查

张媛, 林贞花, 金铁峰, 金仁顺

### ■背景资料

近年来microRNAs (miRNAs)与消化系统肿瘤发生的研究取得了较大的进步, 为消化系统肿瘤的基因诊断及治疗也提供了新靶点, 然而目前仍有许多miRNA在消化系统肿瘤中作用机制尚未阐明。结直肠癌(colorectal cancer, CRC)也是消化系统最常见的恶性肿瘤之一, CRC发生发展, 经历由不典型增生、腺瘤、癌及肿瘤转移等一系列变化, 都有相应的基因发生变化, 同时也有调控这些基因的miRNA发生改变。

张媛, 金仁顺, 延边大学医院 吉林省延吉市 133000  
林贞花, 金铁峰, 延边大学 吉林省延吉市 133000  
张媛, 副主任医师, 主要从事消化系统疾病的研究。  
作者贡献分布: 实验设计与实验操作由张媛完成; 林贞花参与实验设计及指导; 金铁峰参与收集病例协助进行实验; 金仁顺进行病理诊断协助收集病例。  
通讯作者: 张媛, 副主任医师, 133000, 吉林省延吉市局子街1327号, 延边大学医院. zhangyuan2600@163.com  
收稿日期: 2013-12-18 修回日期: 2014-09-18  
接受日期: 2014-09-21 在线出版日期: 2014-10-28

### MicroRNA expression profile in colorectal cancer

Yuan Zhang, Zhen-Hua Lin, Tie-Feng Jin, Ren-Shun Jin

Yuan Zhang, Ren-Shun Jin, Yanbian University Hospital, Yanji 133000, Jilin Province, China  
Zhen-Hua Lin, Tie-Feng Jin, Yanbian University, Yanji 133000, Jilin Province, China  
Correspondence to: Yuan Zhang, Associate Chief Physician, Yanbian University Hospital, 1327 Juzi Street, Yanji 133000, Jilin Province, China. zhangyuan2600@163.com  
Received: 2013-12-18 Revised: 2014-09-18  
Accepted: 2014-09-21 Published online: 2014-10-28

### Abstract

**AIM:** To examine the expression of microRNAs (miRNAs) in colorectal cancer (CRC) and adjacent tissues by miRNA gene microarray, determine some cellular functions and molecular pathways targeted by these differentially expressed miRNAs, and discuss the clinical significance of differential miRNA expression profile in CRC.

**METHODS:** Surgical CRC and adjacent tissues were collected from 11 CRC patients and frozen immediately. For microarray analysis, the AFFX miRNA biochip was used. Total RNA was isolated from samples and expression of miRNAs was analyzed. Of the screened differentially expressed miRNAs, miR-31, miR-105 and miR-196b, which were strongly up-regulated in CRC, were selected for validation by real-time PCR using 53 CRC and 15 adjacent tissues. The relationships between the differential expression of these miRNAs and clinical and pathological characteristics were analyzed

**RESULTS:** MiRNA expression in CRC and adjacent normal tissues had obvious differences. A total of 25 miRNAs that were significantly differentially expressed in CRC were screened ( $P < 0.001$ ), of which 15 were up-regulated and 10 down-regulated. MiR-31 expression was significantly correlated with CRC pathological type ( $P < 0.01$ ) and clinical stage ( $P < 0.05$ ), but not with lymph node metastasis or distant metastasis ( $P > 0.05$ ). MiR-105 was positively correlated with pathologic classification, clinical stage, lymph node metastasis and distant metastasis ( $P < 0.05$ ). MiR-196-b was significantly correlated with pathologic classification ( $P < 0.05$ ), but not with lymph node metastasis, distant metastasis or clinical stage ( $P > 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Differentially expressed miRNAs exist in CRC, and these miRNAs may become potential molecular targets for diagnosis and treatment of CRC. High expression of miR-31, miR-105 and miR-196-b is related to the pathological classification of CRC.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Colorectal cancer; MicroRNA; Genechip assay

Zhang Y, Lin ZH, Jin TF, Jin RS. Screening of miRNAs expression profile on colorectal cancers. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(30): 4578-4587 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4578.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4578>

### 摘要

**目的:** 探讨结直肠癌(colorectal cancer, CRC)组织中microRNA(miRNA)的差异表达谱及其在CRC临床生物学特点判定中的检测意义。

**方法:** 应用AFFX miRNA芯片实验初步筛查手术切除的11例新鲜CRC及癌旁正常组织中miRNAs的差异表达, 并选取CRC中显著高表达的miR-31、miR-105和miR-196b, 以53例新鲜的CRC及其15例癌旁正常组织作为研究对象, 应用qRT-PCR技术对比分析其与临床生物

■同行评议者  
许剑民, 教授, 复旦大学附属中山医院普外科

学之间的关系.

**结果:** CRC和癌旁正常组织中miRNAs表达有明显差异, 与癌旁正常组织相比, CRC中有25个miRNAs表达显著不同( $P<0.001$ ), 包括15个上调和10个下调的miRNAs. miR-31与CRC的病理分型( $P<0.01$ )和临床分期( $P<0.05$ )显著相关, 与淋巴转移及远处转移不相关( $P>0.05$ ); miR-105与病理分型、临床分期、淋巴结转移及远处转移均呈正相关( $P<0.05$ ); miR-196b与病理分型有关( $P<0.05$ ), 与淋巴结转移和远处转移及临床分期均无关( $P>0.05$ ).

**结论:** CRC中存在着明显的miRNAs差异表达, miRNAs特异表达可能成为CRC的潜在的诊断和治疗的分子靶点. miR-31、miR-105和miR-196b高表达与CRC的病理分型密切相关.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 结直肠癌; 微小RNA; 基因芯片

**核心提示:** 本文应用AFFX microRNA(miRNA)芯片实验初步筛查结直肠癌(colorectal cancer, CRC)及癌旁正常组织中miRNAs的差异表达, 应用qRT-PCR技术对比分析其与临床生物学之间的关系. 显示CRC中存在着明显的miRNAs差异表达, miRNAs特异表达可能成为CRC的潜在的诊断和治疗的分子靶点. miR-31、miR-105和miR-196b高表达与CRC病理分型密切相关.

张媛, 林贞花, 金铁峰, 金仁顺. 结直肠癌中miRNAs差异表达谱的筛查. 世界华人消化杂志 2014; 22(30): 4578-4587 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4578.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i30.4578>

## 0 引言

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是一种常见的消化道恶性肿瘤. 其发病与高脂肪和缺少膳食纤维的不良饮食结构有关. 随着我国人民生活水平的大幅提高和生活方式的西化, CRC的发病率逐年提高. 近年, CRC在我国发病率已经上升到第5位<sup>[1]</sup>, 死亡率也居第5位<sup>[2]</sup>. 根据世界其他国家CRC发生发展的变化规律, 结合我国各地区近年来癌症发病率动态, CRC将成为21世纪我国发病率上升速度最快的恶性肿瘤之一. 因此, 寻找能够早期诊断和判断预后的标志物, 对CRC的诊断及治疗具有重大意义. microRNAs(miRNAs)属于内源性非蛋白质编码小RNA(small non-protein-coding RNA).

miRNA最早是在分析线虫遗传学信息时发现<sup>[3,4]</sup>, 并命名为lin-14. 在细胞的生长、组织分化、各种疾病的发生、甚至在肿瘤的发生发展中miRNA都发挥着极为重要的作用. miRNA的研究尚处于起步阶段, miRNA的表达与结肠癌的发生发展以及浸润和转移之间到底存在着什么样的具体关系, 目前还不是十分明了. 本研究拟采用miRNA芯片及RT-PCR等研究方法, 通过对比研究CRC及其癌旁正常组织中miRNAs的差异表达, 初步探讨CRC组织中miRNA的差异表达谱及其在CRC临床生物学特点判定中的检测意义.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集的64例的CRC组织及其癌旁正常组织均来源于延边大学医院普外科手术切除的具备完整临床资料的标本. 手术切除的CRC组织及其癌旁正常组织(距离癌组织10 cm以上)于5 min内切取大小约0.5 cm<sup>3</sup>, 立即送入液氮冰冻, 于-80 °C冰箱长期保存待用. 所用CRC病理组织标本另取石蜡包埋及常规HE染色后, 由两位经验丰富的病理医生参照2003年世界卫生组织肿瘤分类标准进行诊断和分类(表1). 总RNA提取试剂盒购自美国Invitrogen公司; miRNA提取试剂盒购自美国Ambion公司; 基因芯片购自美国Affymetrix公司; 反转录试剂盒及PCR酶、ExTaq酶购自日本TaKaRa公司; GeneChip® Command Console™ 1.1分析软件购自美国Affymetrix公司.

### 1.2 方法

**1.2.1 AFFX miRNA芯片实验:** 手术切除的CRC组织及其癌旁正常组织(距离癌组织10 cm以上)于5 min内切取大小约0.5 cm<sup>3</sup>, 立即送入液氮冰冻, 于-80 °C冰箱长期保存待用. 64例手术切除标本包括用于基因芯片筛查的11例和用于Real-time PCR检测的53例. 总RNA的提取: (1)从-80 °C冰箱取出标本, 切成50-100 mg的小块, 立即投入到放置在冰上研钵中研磨, 研成粉末; (2)加入1/10体积的TRIzol RNA提取液裂解细胞, 转入离心管, 室温静置5 min, 4 °C, 12000 r/min离心10 min, 取上清; (3)加1/5体积(200 μL)氯仿振荡15 s混匀后, 室温静置15 min, 4 °C, 12000 r/min离心15 min, 离心后TRIzol抽提混合液分成3层, 上层为无色透明水相, 中层为薄层蛋白, 下层为粉红色有机相, 取上清; (4)加1/5体积(500 μL)异丙醇上下颠倒3-4次混匀, 室温静置10 min, 4 °C, 12000 r/min离心10 min, 弃上清, RNA沉于离心

## ■ 研发前沿

研究已经证明, miRNA几乎参与了肿瘤发生发展中的每一步, 在肿瘤发生、发展及临床演变过程中发挥重要作用, 因此miRNA在肿瘤的诊断和预后及对化疗药物的应用以及治疗的新靶点选择方面均有很好的应用前途. 然而目前仍有许多miRNA在CRC中作用机制尚未阐明.

## ■相关报道

Bandres、Wang、Sisby等发现miRNA表达谱与CRC生物学行为及临床特征相关。

表 1 结直肠癌组织标本临床资料

临床资料	基因芯片用标本	RT-PCR用标本
<i>n</i>	11	53
性别		
男	5	29
女	6	24
年龄(岁)		
中位(范围)	57(47-82)	61(41-83)
病理分级		
高	2	23
中	8	12
低	1	18
临床分期		
I-II	3	26
III-IV	8	27
淋巴转移		
有	7	31
无	4	22
远隔转移		
有	1	11
无	10	42
部位		
结肠	2	20
直肠	9	33

管底部; (5)加1体积(1 mL)750 mL/L乙醇悬浮沉淀, 4 °C, 1000 r/min离心5 min, 弃上清, 自然干燥; (6)加50 μL TE Buffer超纯净水充分溶解, 利用NanoDrop超微量分光光度仪测RNA浓度及质量. 总RNA的质量分析: 利用NanoDrop超微量分光光度仪测RNA浓度及质量. 提取的每份样品总RNA含量 $\geq 5 \mu\text{g}$ , 测定 $A_{260}/A_{280} > 1.9$ , 且电泳结果显示总RNA有清晰的28S和18S条带, 28S: 18S条带亮度大于或近2: 1者, 用于本实验的基因芯片检测及Real-time PCR检测. 稀释ATP Mix; Poly(A)加尾; 生物素标记miRNA; 芯片杂交; 芯片清洗染色、扫描、应用GeneChip® Command Console™ 1.1软件对芯片图像进行数据分析.

1.2.2 荧光定量实时聚合酶链反应验证hsa-miR-31, hsa-miR-105和hsa-miR-196b芯片结果: 以逆转录获得的cDNA为模版, 反应条件: 95 °C 30 s, 95 °C 5 s, 60 °C 20 s, 72 °C 20 s, 共循环45次, 在11例CRC标本中共检测在芯片结果中表现为上调的6种以及下调的4种miRNAs的表达水平进行验证. 计算方法为 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 相对定量法. 从中选择hsa-miR-31、hsa-miR-105和hsa-miR-196b共3种miRNAs作为进一步研究的对象, 在53例CRC及其15例癌旁正常组织中进行

Real-time PCR检测. 其引物序列如表2. 反应体系(反应液配制在冰上进行): PCR反应五要素: 参加PCR反应的物质主要有5种即引物、酶、dNTP、模板和 $\text{Mg}^{2+}$ 10倍浓缩扩增缓冲液10 μL, 4种dNTP混合物各200 μmol/L 800 μL, 引物各10-100 pmol, 模板DNA 0.1-2.0 μg, Taq DNA聚合酶2.5 U,  $\text{Mg}^{2+}$  1.5 mmol/L, 加双或三蒸水至100 μL. 反应条件: (1)95 °C 30 s, 起始模板预变性, 循环1次; (2)95 °C 5 s, 循环中模板变性; (3)60 °C 20 s, 退火; (4)72 °C 20 s, 延伸, 反应共循环45次; (5)溶解曲线分析, 由55 °C以0.1 °C/s上升至95 °C, 最后冷却至40 °C. 反应结果判断: (1)确认Real-time PCR反应的扩增曲线及溶解曲线, 判断扩增效率及特异性; 调节基线至适宜处(指数扩增的起始处), 各扩增曲线与基线的交叉点对应的横坐标即为 $C_t$ 值; (2)miRNA计算方法为 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 相对定量法.

**统计学处理** 实验数据采用SPSS16.0软件进行统计学分析. 计量资料采用秩和检验, 以中位数(四分位数间距)来描述, 计数资料采用两独立样本的 $\chi^2$ 检验和Fisher确切概率法分析. 以 $\alpha = 0.05$ 的双尾概率作为统计学检验的显著性标准,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 MiRNA在CRC及癌旁正常组织中的差异表达 选取经质检合格的11例CRC和其配对癌旁正常组织抽提的RNA寡核苷酸基因芯片杂交结果显示, 有25种miRNAs在CRC与癌旁正常组织相比存在明显差异表达. 其中表达上调的15个, 表达下调的10个( $P < 0.001$ ). 相对于癌旁正常组织, CRC组织中表达上调的有hsa-miR-31、hsa-miR-767-5p、hsa-miR-105、hsa-miR-196b、hsa-miR-224、hsa-miR-483-5p、hsa-miR-1246、hsa-miR-196b、hsa-miR-663b、hsa-miR-584、hsa-miR-141、hsa-miR-18a、hsa-miR-19a、hsa-miR-452、hsa-miR-622. 表达下调的是hsa-miR-215、hsa-miR-4298、hsa-miR-139-5p、hsa-miR-490-5p、hsa-miR-3201、hsa-miR-363、hsa-miR-187、hsa-miR-133a、hsa-miR-1825、hsa-miR-30a(表3, 4).

从聚类图及log-log scatter plot(图1, 2)可以看出与癌旁正常组织比较, CRC组织中的miRNA表达有显著性差异; 与癌旁正常组织相比, 其中hsa-miR-31、hsa-miR-105、hsa-miR-196b的表达在CRC组织中显著增高.



表 2 miRNAs引物序列

基因名称	引物		序列 5'-3'
hsa-miR-31	RT-Primer		GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGG
			TATTCGCACTGGATACGACAGCTAT
	PCR-Primer	Forward Primer	AGGCAAGATGCTGGCATAGCT
		Reverse Primer	CAAGGCAAGATGCTGGCATA
hsa-miR-105	RT-Primer		GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGG
			TATTCGCACTGGATACGACACAGGA
	PCR-Primer	Forward Primer	TCAAATGCTCAGACTCCTGT
		Reverse Primer	GCGTCAAATGCTCAGACTCC
hsa-miR-196b	RT-Primer		GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGG
			TATTCGCACTGGATACGACGAAGGC
	PCR-Primer	Forward Primer	TCGACAGCACGACACTGCCTTC
		Reverse Primer	TCGACAGCACGACACTGCC
U6	RT-Primer		AACGCTTCACGAATTTGCGT
	PCR-Primer	Forward Primer	CTCGCTTCGGCAGCAC
		Reverse Primer	GTGCAGGGTCCGAGGT

**■创新盘点**  
本研究发现, 与癌旁正常组织比较, CRC组织中有包括15种表达上调的和10种表达下调的共25种显著差异性表达的miRNAs存在, 其中除了miR-31和miR-215以外, 其他miRNAs在CRC的组织中的差异表达均未见报道。

表 3 结直肠癌中明显表达上调的miRNAs

miRNA	log2Ratio
hsa-miR-31	21.0559
hsa-miR-767-5p	13.9791
hsa-miR-105	11.7936
hsa-miR-196b	9.288
hsa-miR-224	9.1227
hsa-miR-483-5p	9.0639
hsa-miR-1246	7.6698
hsa-miR-196b	6.815
hsa-miR-663b	6.5095
hsa-miR-141	6.1256
hsa-miR-584	5.6565
hsa-miR-18a	5.65
hsa-miR-19a	5.3913
hsa-miR-452	5.2654
hsa-miR-622	5.2073

图1中可以直观地看出在两个样品之间基因表达的差异情况. 其中X轴和Y轴分别以两个样品的荧光信号强度值为坐标, 图中每一个数据点代表芯片上一个基因点的杂交信号, 红色标记和绿色标记的数据点分别表示C6/N\_2\_10(B/A)的比值 $\geq 2$ 和 $\leq 0.5$ , 属于表达有差异的基因(红点表示CRC中miRNA表达升高, 绿点表示CRC中miRNA表达降低), 黑色标记表示B/A的Ratio值在0.5和2之间, 表达基本无差异.

从聚类图中可以看出相比于癌旁正常组织, 在CRC组织中miR-31、miR-105和miR-196b均为显著高表达, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ).

表 4 结直肠癌中明显表达下调的miRNAs

miRNA	log2Ratio
hsa-miR-215	-15.87301587
hsa-miR-4298	-6.075334143
hsa-miR-139-5p	-6.042296073
hsa-miR-490-5p	-5.586592179
hsa-miR-3201	-4.518752824
hsa-miR-363	-3.976143141
hsa-miR-187	-3.755163335
hsa-miR-133a	-3.946329913
hsa-miR-1825	-3.6900369
hsa-miR-30a	-3.584229391

**2.2 差异表达的miRNA的荧光定量PCR验证结果**  
本实验进一步采用荧光定量PCR检测了芯片中明显异常表达的10个miRNAs包括表达上调的6个miRNAs, 分别为miR-31、miR-105、miR-196b、miR-224、miR-483-5p和miR-767-5p, 表达下调的4个miRNAs是miR-139-5p、miR-215、miR-490-5p和miR-4298(图3). 发现与miRNA芯片检查的结果基本吻合, 表明miRNA芯片结果真实可靠. q-PCR与miRNA microarray比较分析结果说明, 在miR-31、miR-105、miR-196b均显示出几乎相等的miRNA表达增高.

**2.3 CRC中miR31、miR105和miR196-b差异表达的临床病理学意义**  
在53例新鲜的CRC及其15例癌旁正常组织中提取总RNA, 应用Real time quantitative PCR(q-PCR)方法比较分析了miR-31、miR-105和miR-196b表达与CRC临

## ■应用要点

CRC具有明显的miRNAs差异表达谱, miRNAs特异表达可能成为CRC的潜在的诊断和治疗的分子靶点. miR-31、miR-105和miR-196b高表达与CRC的病理分型密切相关.

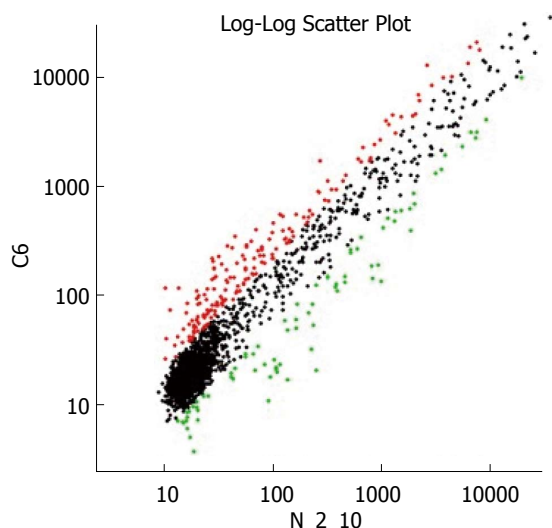


图1 CRC(C6)和癌旁正常组织(N\_2\_10)的miRNA表达比较分析散点图. CRC: 结直肠癌.

床生物学特点之间的关系. 发现在癌组织中miR-31、miR-105和miR-196b表达均较癌旁正常组织明显升高, 差异具有统计学意义( $P < 0.01$ ).

在53例CRC患者中, 高分化23例, 中分化12例, 低分化18例. q-PCR结果显示, 分化越低miR-31、miR-105、miR-196b的mRNA表达水平越高. 低分化组mRNA平均表达量较高分化组的及中分化组mRNA平均表达量较高分化组的明显升高, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ). 但中分化组与低分化组中上述3种miRNAs的mRNA表达量比较分析发现没有统计学差异( $P > 0.05$ ).

在53例CRC中, 有淋巴结转移的22例, 无淋巴结转移的31例. miR-105在有淋巴转移组中与在无淋巴转移组中的mRNA平均表达量相比, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ ). 而miR-31、miR-196b在有淋巴转移组中与在无淋巴转移组中mRNA平均表达量相比, 差异没有统计学意义( $P > 0.05$ ).

53例CRC中有远隔转移的11例, 没有远隔转移的42例. miR-105在有转移组中与无转移组的mRNA平均表达量相比, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ ). 而miR-31、miR-196b在有远处转移和没有转移组中的mRNA平均表达量相比, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ).

在53例CRC中, 临床分期为I期的有11例, II期15例, III期16例, IV期11例. miR-31在III期患者中mRNA平均表达量较I期患者的明显升高; IV期患者中的mRNA平均表达量较I期患者的明显升高, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ). miR-105在III期患者中的mRNA平均表达量较I期患者

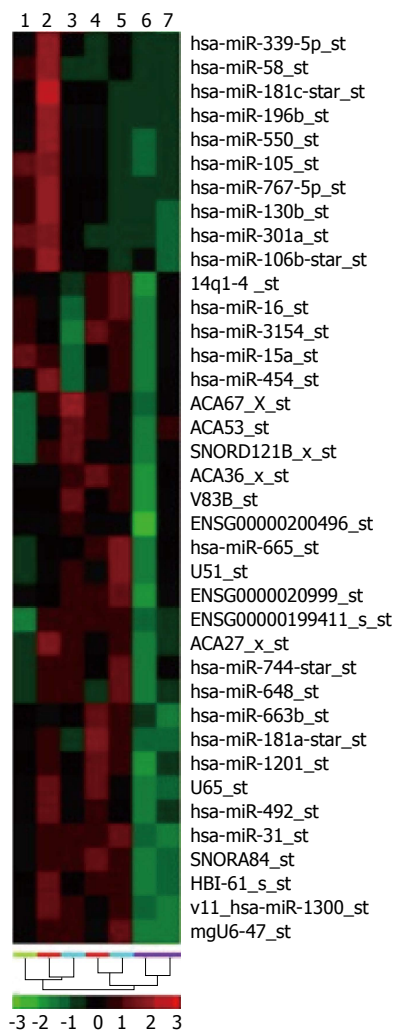
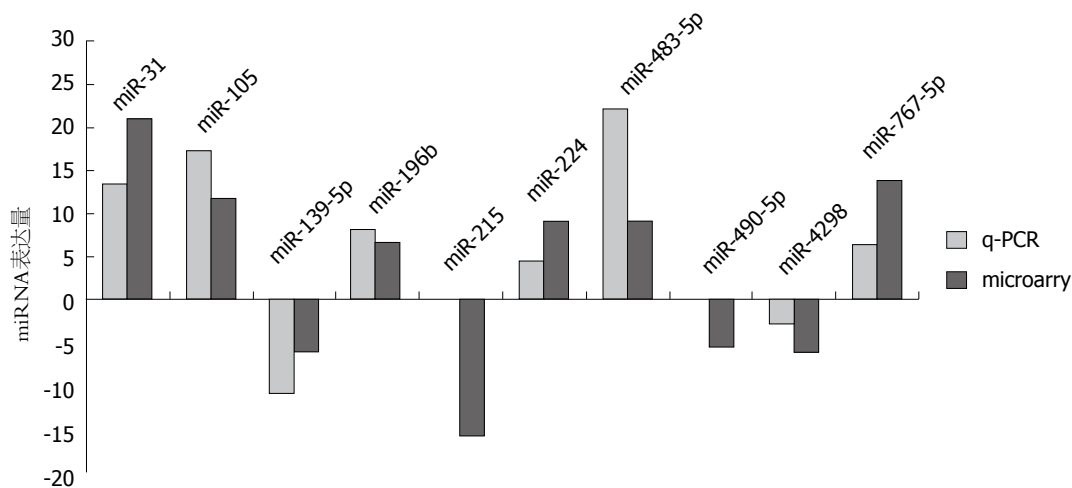


图2 miRNA聚类图. 红色表示高表达; 绿色表示低表达.

的明显升高, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 在IV期患者中的mRNA平均表达量较I期患者中的明显升高, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ ). 而miR-196b在III期、IV期患者中的mRNA平均表达量与I期相比, 均无统计学差异( $P > 0.05$ )(表5).

### 3 讨论

CRC在不同地区发病率不同. 由世界肿瘤流行病学调查统计显示, CRC在<http://baike.baidu.com/view/595143.htm>美洲的北部、欧洲西部、澳大利亚及新西兰等地区的发病率最高, 美洲南部、非洲等地则比较低. 通常CRC的发病率与人群的生活水平呈正相关. 虽然我国仍属于发展中国家, 但随着经济的高速发展, 近年来CRC呈明显的上升趋势, 且其分布表现为以东部沿海地区高发, 西部经济欠发达地区发病率较低. 在研究中发现CRC的发病, 男女比约为1.6:1, 从发病年龄看, 在我国40-50岁发病率较



**同行评价**  
本文采用AFFX miRNA芯片方法初步筛选了和CRC明显相关的miRNAs,探讨CRC组织中miRNA的差异表达谱和临床病理因素之间的关系,有一定临床意义。

图 3 q-PCR与microarray比较分析图.

表 5 CRC患者miR-31、miR-105、miR-196b表达与临床病理之间的关系 [M(Q4)]				
分组	n	miR-31	miR-105	miR-196b
结直肠癌组织	53	18.40(14.8) <sup>b</sup>	30.56(16.08) <sup>b</sup>	19.38(12.42) <sup>b</sup>
癌旁正常组织	15	5.73(3.21)	6.62(4.12)	4.20(2.51)
病理分级				
高	23	10.32(11.86) <sup>d</sup>	19.35(7.16) <sup>c</sup>	11.32(3.31) <sup>c</sup>
中	12	11.20(4.84) <sup>c</sup>	22.30(9.73)	12.30(4.42)
低	18	20.83(6.8)	32.04(4.22)	22.07(4.3)
淋巴结转移				
阴性	22	15.21(8.86)	18.66(3.4)	15.02(7.62)
阳性	31	17.05(9.79)	32.03(7.14) <sup>f</sup>	19.10(7.69)
远隔转移				
无	42	13.02(8.01)	19.23(2.3)	14.90(6.63)
有	11	17.23(13.79)	30.07(11.99) <sup>h</sup>	18.93(9.73)
临床分期				
I	11	10.07(7.81)	17.02(4.38)	13.16(4.82)
II	15	13.23(7.01)	18.52(5.08)	12.05(4.93)
III	16	18.06(9.74) <sup>i</sup>	25.37(5.17) <sup>j</sup>	17.83(7.78)
IV	11	17.23(5.96)	32.20(13.87) <sup>j</sup>	19.42(11.73)

<sup>b</sup>P<0.01 vs 癌旁正常组织; <sup>c</sup>P<0.05, <sup>d</sup>P<0.01 vs 低分化组; <sup>e</sup>P<0.01 vs 无淋巴结转移组; <sup>f</sup>P<0.01 vs 无远隔转移组比较; <sup>g</sup>P<0.05, <sup>h</sup>P<0.01 vs I期.

高, 欧美发达国家CRC高发年龄为60-70岁. 资料显示我国CRC好发年龄比国外CRC好发年龄提前10-15岁, 11%-13%是年龄为30岁以下的患者, CRC好发年龄较小是我国CRC的一个主要特点.

针对CRC的早期诊断、早期筛查目前仍没有比较有效的方法. Levin等<sup>[5]</sup>指出大便潜血试验(fecal occult blood test, FOBT)和结肠镜检查在CRC的早期诊断中最敏感, 最常用. 黄彦钦等<sup>[6]</sup>在杭州地区对40-74岁之间人群共43713名在籍人口, 进行了包括问卷调查与大便潜血试验检测组成的初筛, 阳性者进行结肠镜诊断

性复筛, 发现息肉样病变后取活检进行病理诊断. 分析结果高危人群为14.85%, 总体样本中癌的检出率为1.11%. 初筛结果令人满意. 但此方案也存在一些问题, 比如由于问卷调查的主观性较强, 出现了腺瘤和癌的检出率问卷调查明显低于FOBT者, 结肠镜检操作者操作水平参差不齐, 容易出现漏诊等情况. 此外此方案在鉴别不同年龄不同性别人群CRC风险的判定上仍有欠缺. 加之肿瘤检出的敏感性、特异性以及患者的经济负担等均需审慎考虑. 有学者提出<sup>[7]</sup>, 为了早期诊断预防CRC, 50岁以上健康人群每



10年要做一次结肠镜检查. 这对于人口庞大的中国来说, 显然每年要产生一个庞大的筛查群体. 考虑其工作量, 目前国内的医疗资源及经费问题, 其执行难度可想而知. 一种针对CRC的迅速、准确、非侵入性、价格低廉的筛查方法呼之欲出.

以往研究发现蛋白编码基因的异常会导致肿瘤的发生、发展. 自2002年Croce研究组首次报道miRNA表达异常与肿瘤相关以来, miRNA的研究日新月异, 越来越多的研究发现miRNA的表达异常几乎与所有人类肿瘤相关.

内源性非蛋白质编码小RNA(small non-protein-coding RNA, 19-25 nt)广泛存在于高等和低等生物体内, 通过对靶标miRNA直接切除或抑制其翻译在转录及转录后水平对基因表达起调节作用. 已知的小RNA主要分为两大类: 一类是miRNA, 一类是小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA). 在1993年Lee等<sup>[3]</sup>在对线虫进行遗传分析时发现了第一个miRNA, 即Lin-4. 有学者指出<sup>[8,9]</sup>, 在CRC的早期检查中, miRNA的筛查可能成为可靠的诊断和预后指标.

在已确认的人类miRNA中, 50%以上miRNAs位于或靠近基因组中肿瘤相关的脆性区域(fragile sites), 即经常发生缺失、扩增、易位的染色体片段, 而这些脆性区域与肿瘤的发生有着密切的关系<sup>[10]</sup>. 如在慢性淋巴细胞性白血病中miR-15a/miR-16-1的表达下调, 且常常存在于易于发生缺失的13q14; miR-21位于染色体的脆性区域17q23在淋巴瘤中上调的miR-17-92表达簇, 位于肿瘤中经常发生扩增的13q31<sup>[11]</sup>.

miRNA主要是通过干扰靶mRNA的翻译及转录, 使其降解或被抑制, 表现为mRNA的“沉默”及相应靶蛋白的表达下调. miRNA通过调控靶蛋白在生物体的生命活动以及各种疾病的发生中行使着相应的功能. 在肿瘤的发生发展中, 根据靶蛋白的性质不同, miRNA也可以成为癌基因或抑癌基因. 众多学者发表了关于miRNA在CRC的差异表达<sup>[12-16]</sup>. miRNA表达谱的建立不仅有助于识别正常组织和早期新发恶性肿瘤, 在对晚期的恶性肿瘤进行临床分期, 判定肿瘤类型, 甚至对治疗及预后均有着重要的参考价值和指导意义. Lu等<sup>[17]</sup>报道, 通过miRNA表达谱诊断肿瘤的准确率达70%<sup>[18]</sup>. 基于不同miRNA在不同肿瘤之中的特异性差异表达, 通过高通量筛查miRNA, 建立人类miRNA表达谱, 以miRNA为指标的肿瘤诊断及评判预后的新方

法成为全世界肿瘤学者高度关注的热点问题.

miRNA微阵列(miRNA microarray)技术是一种快速有效的检测miRNA表达谱的方法. Liu等<sup>[19]</sup>首次应用这一方法检测了不同肿瘤细胞中245个miRNA的表达谱, 结果重复性很好, 并被Northern blot所验证, 目前已得到大范围的推广.

本研究采用基因芯片微阵列技术, 高通量筛查11例CRC和其11例癌旁对照组织抽提的RNA表达谱, 寡核苷酸基因芯片杂交结果显示: 有25种miRNAs在CRC和其癌旁正常对照组织中存在显著性差异表达. 其中表达增高15个, 表达下调10个( $P<0.001$ ). 相对于癌旁正常对照组织, 在CRC组织中表达上调的有hsa-miR-31、hsa-miR-767-5p、hsa-miR-105、hsa-miR-196b、hsa-miR-224、hsa-miR-483-5p、hsa-miR-1246、hsa-miR-196b、hsa-miR-663b、hsa-miR-584、hsa-miR-141、hsa-miR-18a、hsa-miR-19a、hsa-miR-452、hsa-miR-622. 表达下调的是hsa-miR-215、hsa-miR-4298、hsa-miR-139-5p、hsa-miR-490-5p、hsa-miR-3201、hsa-miR-363、hsa-miR-187、hsa-miR-133a、hsa-miR-1825和hsa-miR-30a.

在上述表达增高的miRNA中发现, miR-31是CRC组织与癌旁正常对照组织相比表达差异最大的miRNA. 据研究表明miR-31的表达与肿瘤的关系存在着相当大的组织学差异性. 如在CRC中miR-31的表达明显升高, 与我们的研究基本一致. 其他如头颈部鳞癌<sup>[20]</sup>、口腔鳞癌<sup>[21]</sup>、肺癌<sup>[22]</sup>的表达也是升高的. 但同时在乳腺癌<sup>[23]</sup>、胃癌<sup>[24,25]</sup>、浆液性卵巢癌<sup>[26]</sup>、前列腺癌<sup>[27]</sup>等组织中的表达却是明显下调. 类似的现象也出现在miR-196b的表达之中. 本实验发现, miR-196b在人CRC中具有显著的表达升高, 证明其高表达与肿瘤的发生呈正相关. 而Liao等<sup>[28]</sup>研究证明miR-196b作为抑癌基因, 可以抑制胃癌的发生. Bhatia等<sup>[29]</sup>报道miR-196b的高表达具有显著的抑制T细胞急性淋巴细胞白血病发生的作用. Bhatia等<sup>[30]</sup>同时报道, miR-196b在B细胞急性淋巴细胞白血病的抑制作用. Li等<sup>[31]</sup>发现, miR-196b可以有效抑制乳腺癌细胞株的转移. 更为有趣的是Li等<sup>[32]</sup>在白血病的最新研究中发现miR-196b的高表达不仅可以抑制作为癌基因的HOXA9/MEIS1也可以抑制抑癌基因Fas的表达. 本研究证明miR-196b在CRC中是癌基因, 而在白血病及胃癌中却是抑癌基因. miR-196b在肿瘤中的表达有着较为明确的组织特异性, 这种

特异性的来源目前尚不清楚, 还有待于进一步研究.

迄今为止, 有关miR-105与肿瘤发生的关系报道甚少, 与CRC的相关性则未见报道. Benakanakere等<sup>[33]</sup>报道在口腔角化上皮组织的研究中发现miR-105可以调节TLR2(Toll-like receptor 2)的mRNA的表达, 从而起到抵抗炎症的作用. 本研究的结果表明, miR-105的高表达与CRC发生密切相关( $P<0.01$ ).

Karaayvaz等<sup>[34]</sup>研究表明, 在CRC组织当中miR-215的表达明显低于癌旁正常组织, miR-215主要是通过调节DTL(denticleless protein homolog)的表达从而达到抑制肿瘤的目的. 在本研究中CRC组织内miR-215的表达明显低于周围正常组织, 提示miR-215在结肠癌组织内为抑癌基因, 与上述研究结果相符.

早在2003年就有学者报道miRNA在CRC中的异常表达, Michael等<sup>[35]</sup>在对CRC的研究中发现, 有两个miRNA即miR-143和miR-145, 出现明显下调. Asangani等<sup>[36]</sup>在筛查84例美国CRC患者miRNA表达谱时发现37种miRNA异常表达, 其中miR-21的高表达被证实与肿瘤的临床分期以及预后呈高度相关. Sarver等<sup>[37]</sup>研究发现与正常结肠组织相比较, CRC中有39个miRNAs异常表达, 包括miR-135b、miR-96、miR-182、miR-183、miR-1和miR-13等. Motoyama等<sup>[38]</sup>通过4组RNA芯片, 比较分析CRC与正常结肠组织miRNAs的表达, 发现有21个miRNAs上调, miR-31也包含在其中, 这与本研究结果相一致. 从以上文献报道得知, 多数研究者的miRNAs表达谱不尽相同, 这其中也许存在着样本量等客观因素的存在, 当然也可能存在人为操作的差异等原因.

本研究发现, 与癌旁正常组织比较, CRC组织中有包括15种表达上调的和10种表达下调的共25种显著差异性表达的miRNAs, 其中除了miR-31和miR-215以外, 其他miRNAs在CRC的组织中的差异表达均未见报道. 这些新发现的miRNAs的差异性表达, 有望成为今后在诊断早期CRC及对CRC预后的判断上的可靠指标.

选取53例新鲜的CRC及其15例癌旁正常组织为研究对象, 比较分析疑为癌基因的表达升高的miRNAs, 包括miR-31、miR-105和miR-196b, 发现相对于癌旁正常组织, 他们在CRC组织中有明显的高表达( $P<0.01$ ). miR-196b与分化程度具有相关性, 即分化越差其miRNAs的表

达越高( $P<0.05$ ), 而在miR-31这种差异更明显( $P<0.01$ ), 且miR-31( $P<0.05$ )与临床分期有关. 有人研究发现<sup>[39]</sup>, miR-31通过控制肿瘤的淋巴道及远隔转移来抑制肿瘤. 我们对CRC miR-31高表达组进行临床病理分析结果表明, miR-31高表达组与淋巴道转移及远隔转移无相关性, 支持Valastyan等<sup>[39]</sup>的研究结果. 另外, 在本研究中发现miR-105与CRC的发生、分化、临床分期、有无淋巴道转移及远隔转移均呈现出密切的联系( $P<0.01$ ). miR-105在CRC的发生及浸润, 侵袭性的增强, 乃至转移的过程所起的作用, 有必要在今后的研究过程中去一一阐明.

**志谢** 感谢金元哲教授的悉心关怀与指导, 感谢车敬昌教授的指导与帮助, 感谢北京博奥生物科技有限公司在基因芯片的生物分析方面给予的大力支持与帮助.

#### 4 参考文献

- 2010世界癌症宣传日消化道肿瘤会在京召开. 中国医药导刊 2010; 5: 770
- 陈燕, 李兆申, 蔡全才, 郭爱珍. 粪便脱落细胞检测应用于大肠癌筛查的研究进展. 第二军医大学学报 2007; 28: 1120-1122
- Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 1993; 75: 843-854 [PMID: 8252621 DOI: 10.1016/0092-8674(93)90529-Y]
- Wightman B, Ha I, Ruvkun G. Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene *lin-14* by *lin-4* mediates temporal pattern formation in *C. elegans*. *Cell* 1993; 75: 855-862 [PMID: 8252622 DOI: 10.1016/0092-8674(93)90530-4]
- Levin B, Lieberman DA, McFarland B, Smith RA, Brooks D, Andrews KS, Dash C, Giardiello FM, Glick S, Levin TR, Pickhardt P, Rex DK, Thorson A, Winawer SJ. Screening and surveillance for the early detection of colorectal cancer and adenomatous polyps, 2008: a joint guideline from the American Cancer Society, the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer, and the American College of Radiology. *CA Cancer J Clin* 2008; 58: 130-160 [PMID: 18322143]
- 黄彦钦, 蔡善荣, 张苏展, 李其龙, 马新源, 何玉芳, 周晓芳, 郑树. 中国CRC人群筛查方案的应用价值初探. 中国预防医学杂志 2011; 45: 601-604
- 朱红, 刘丽. 2008年《NCCN CRC筛查指南》要点解读(一). 中华健康管理学杂志 2008; 2: 201-202
- Luo X, Burwinkel B, Tao S, Brenner H. MicroRNA signatures: novel biomarker for colorectal cancer? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011; 20: 1272-1286 [PMID: 21551242 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-11-0035]
- Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, Hyslop T, Noch E, Yendamuri S, Shimizu M, Rattan S, Bullrich F, Negrini M, Croce CM. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proc Natl Acad*

- Sci U S A* 2004; 101: 2999-3004 [PMID: 14973191 DOI: 10.1073/pnas.0307323101]
- 20 Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, Bichi R, Zupo S, Noch E, Aldler H, Rattan S, Keating M, Rai K, Rassenti L, Kipps T, Negrini M, Bullrich F, Croce CM. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 15524-15529 [PMID: 12434020 DOI: 10.1073/pnas.242606799]
- 21 Kameoka Y, Tagawa H, Tsuzuki S, Karnan S, Ota A, Suguro M, Suzuki R, Yamaguchi M, Morishima Y, Nakamura S, Seto M. Contig array CGH at 3p14.2 points to the FRA3B/FHIT common fragile region as the target gene in diffuse large B-cell lymphoma. *Oncogene* 2004; 23: 9148-9154 [PMID: 15480422 DOI: 10.1038/sj.onc.1208136]
- 22 Zhang W, Dahlberg JE, Tam W. MicroRNAs in tumorigenesis: a primer. *Am J Pathol* 2007; 171: 728-738 [PMID: 17724137 DOI: 10.2353/ajpath.2007.070070]
- 23 Volinia S, Calin GA, Liu CG, Ambs S, Cimmino A, Petrocca F, Visone R, Iorio M, Roldo C, Ferracin M, Prueitt RL, Yanaihara N, Lanza G, Scarpa A, Vecchione A, Negrini M, Harris CC, Croce CM. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 2257-2261 [PMID: 16461460 DOI: 10.1073/pnas.0510565103]
- 24 Cummins JM, He Y, Leary RJ, Pagliarini R, Diaz LA, Sjoblom T, Barad O, Bentwich Z, Szafranska AE, Labourier E, Raymond CK, Roberts BS, Juhl H, Kinzler KW, Vogelstein B, Velculescu VE. The colorectal microRNAome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 3687-3692 [PMID: 16505370 DOI: 10.1073/pnas.0511155103]
- 25 Xi Y, Formentini A, Chien M, Weir DB, Russo JJ, Ju J, Kornmann M, Ju J. Prognostic Values of microRNAs in Colorectal Cancer. *Biomark Insights* 2006; 2: 113-121 [PMID: 18079988]
- 26 Monzo M, Navarro A, Bandres E, Artells R, Moreno I, Gel B, Ibeas R, Moreno J, Martinez F, Diaz T, Martinez A, Balagué O, Garcia-Foncillas J. Overlapping expression of microRNAs in human embryonic colon and colorectal cancer. *Cell Res* 2008; 18: 823-833 [PMID: 18607389 DOI: 10.1038/cr.2008.81]
- 27 Lu J, Getz G, Miska EA, Alvarez-Saavedra E, Lamb J, Peck D, Sweet-Cordero A, Ebert BL, Mak RH, Ferrando AA, Downing JR, Jacks T, Horvitz HR, Golub TR. MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature* 2005; 435: 834-838 [PMID: 15944708 DOI: 10.1038/nature03702]
- 28 Bresalier RS, Kim YS. Diet and colonic cancer: putting the puzzle together. *N Engl J Med* 1985; 313: 1413-1414 [PMID: 2997610 DOI: 10.1056/NEJM198511283132209]
- 29 Liu CG, Calin GA, Meloon B, Gamliel N, Sevignani C, Ferracin M, Dumitru CD, Shimizu M, Zupo S, Dono M, Alder H, Bullrich F, Negrini M, Croce CM. An oligonucleotide microchip for genome-wide microRNA profiling in human and mouse tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 9740-9744 [PMID: 15210942 DOI: 10.1073/pnas.0403293101]
- 30 Wong TS, Liu XB, Wong BY, Ng RW, Yuen AP, Wei WI. Mature miR-184 as Potential Oncogenic microRNA of Squamous Cell Carcinoma of Tongue. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 2588-2592 [PMID: 18451220 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-0666]
- 31 Kozaki K, Imoto I, Mogi S, Omura K, Inazawa J. Exploration of tumor-suppressive microRNAs silenced by DNA hypermethylation in oral cancer. *Cancer Res* 2008; 68: 2094-2105 [PMID: 18381414 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-5194]
- 32 Liu X, Sempere LF, Ouyang H, Memoli VA, Andrew AS, Luo Y, Demidenko E, Korc M, Shi W, Preis M, Dragnev KH, Li H, Drenzo J, Bak M, Freemantle SJ, Kauppinen S, Dmitrovsky E. MicroRNA-31 functions as an oncogenic microRNA in mouse and human lung cancer cells by repressing specific tumor suppressors. *J Clin Invest* 2010; 120: 1298-1309 [PMID: 20237410 DOI: 10.1172/JCI39566]
- 23 Valastyan S, Benaich N, Chang A, Reinhardt F, Weinberg RA. Concomitant suppression of three target genes can explain the impact of a microRNA on metastasis. *Genes Dev* 2009; 23: 2592-2597 [PMID: 19875476 DOI: 10.1101/gad.1832709]
- 24 Zhang Y, Guo J, Li D, Xiao B, Miao Y, Jiang Z, Zhuo H. Down-regulation of miR-31 expression in gastric cancer tissues and its clinical significance. *Med Oncol* 2010; 27: 685-689 [PMID: 19598010 DOI: 10.1007/s12032-009-9269-x]
- 25 Guo J, Miao Y, Xiao B, Huan R, Jiang Z, Meng D, Wang Y. Differential expression of microRNA species in human gastric cancer versus non-tumorous tissues. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 652-657 [PMID: 19175831 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05666.x]
- 26 Creighton CJ, Fountain MD, Yu Z, Nagaraja AK, Zhu H, Khan M, Olokpa E, Zariff A, Gunaratne PH, Matzuk MM, Anderson ML. Molecular profiling uncovers a p53-associated role for microRNA-31 in inhibiting the proliferation of serous ovarian carcinomas and other cancers. *Cancer Res* 2010; 70: 1906-1915 [PMID: 20179198]
- 27 Schaefer A, Jung M, Mollenkopf HJ, Wagner I, Stephan C, Jentzmik F, Miller K, Lein M, Kristiansen G, Jung K. Diagnostic and prognostic implications of microRNA profiling in prostate carcinoma. *Int J Cancer* 2010; 126: 1166-1176 [PMID: 19676045 DOI: 10.1002/ijc.24827]
- 28 Liao YL, Hu LY, Tsai KW, Wu CW, Chan WC, Li SC, Lai CH, Ho MR, Fang WL, Huang KH, Lin WC. Transcriptional regulation of miR-196b by ETS2 in gastric cancer cells. *Carcinogenesis* 2012; 33: 760-769 [PMID: 22298639 DOI: 10.1093/carcin/bgs023]
- 29 Bhatia S, Kaul D, Varma N. Functional genomics of tumor suppressor miR-196b in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Mol Cell Biochem* 2011; 346: 103-116 [PMID: 20924650 DOI: 10.1007/s11010-010-0597-0]
- 30 Bhatia S, Kaul D, Varma N. Potential tumor suppressive function of miR-196b in B-cell lineage acute lymphoblastic leukemia. *Mol Cell Biochem* 2010; 340: 97-106 [PMID: 20549547 DOI: 10.1007/s11010-010-0406-9]
- 31 Li Y, Zhang M, Chen H, Dong Z, Ganapathy V, Thangaraju M, Huang S. Ratio of miR-196s to HOXC8 messenger RNA correlates with breast cancer cell migration and metastasis. *Cancer Res* 2010; 70: 7894-7904 [PMID: 20736365 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1675]
- 32 Li Z, Huang H, Chen P, He M, Li Y, Arnovitz S, Jiang X, He C, Hyjek E, Zhang J, Zhang Z, Elkahouloun A, Cao D, Shen C, Wunderlich M, Wang Y, Neilly MB, Jin J, Wei M, Lu J, Valk PJ, Delwel R, Lowenberg B, Le Beau MM, Vardiman J, Mulloy JC, Zeleznik-Le NJ, Liu PP, Zhang J, Chen J. miR-196b



- directly targets both HOXA9/MEIS1 oncogenes and FAS tumour suppressor in MLL-rearranged leukaemia. *Nat Commun* 2012; 3: 688 [PMID: 22353710 DOI: 10.1038/ncomms1681]
- 33 Benakanakere MR, Li Q, Eskandari MA, Singh AV, Zhao J, Galicia JC, Stathopoulou P, Knudsen TB, Kinane DF. Modulation of TLR2 protein expression by miR-105 in human oral keratinocytes. *J Biol Chem* 2009; 284: 23107-23115 [PMID: 19509287 DOI: 10.1074/jbc.M109.013862]
- 34 Karaayvaz M, Pal T, Song B, Zhang C, Georgakopoulos P, Mehmood S, Burke S, Shroyer K, Ju J. Prognostic significance of miR-215 in colon cancer. *Clin Colorectal Cancer* 2011; 10: 340-347 [PMID: 21752725 DOI: 10.1016/j.clcc.2011.06.002]
- 35 Michael MZ, O' Connor SM, van Holst Pellekaan NG, Young GP, James RJ. Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia. *Mol Cancer Res* 2003; 1: 882-891 [PMID: 14573789]
- 36 Asangani IA, Rasheed SA, Nikolova DA, Leupold JH, Colburn NH, Post S, Allgayer H. MicroRNA-21 (miR-21) post-transcriptionally downregulates tumor suppressor Pdc4 and stimulates invasion, intravasation and metastasis in colorectal cancer. *Oncogene* 2008; 27: 2128-2136 [PMID: 17968323 DOI: 10.1038/sj.onc.1210856]
- 37 Sarver AL, French AJ, Borralho PM, Thayanithy V, Oberg AL, Silverstein KA, Morlan BW, Riska SM, Boardman LA, Cunningham JM, Subramanian S, Wang L, Smyrk TC, Rodrigues CM, Thibodeau SN, Steer CJ. Human colon cancer profiles show differential microRNA expression depending on mismatch repair status and are characteristic of undifferentiated proliferative states. *BMC Cancer* 2009; 9: 401 [PMID: 19922656 DOI: 10.1186/1471-2407-9-401]
- 38 Motoyama K, Inoue H, Mimori K, Tanaka F, Kojima K, Uetake H, Sugihara K, Mori M. Clinicopathological and prognostic significance of PD4 and microRNA-21 in human gastric cancer. *Int J Oncol* 2010; 36: 1089-1095 [PMID: 20372781 DOI: 10.3892/ijo.00000590]
- 39 Valastyan S, Reinhardt F, Benaich N, Calogrias D, Szász AM, Wang ZC, Brock JE, Richardson AL, Weinberg RA. A pleiotropically acting microRNA, miR-31, inhibits breast cancer metastasis. *Cell* 2009; 137: 1032-1046 [PMID: 19524507 DOI: 10.1016/j.cell.2009.03.047]
- 40 Bandrés E, Cubedo E, Agirre X, Malumbres R, Zárate R, Ramirez N, Abajo A, Navarro A, Moreno I, Monzó M, García-Foncillas J. Identification by Real-time PCR of 13 mature microRNAs differentially expressed in colorectal cancer and non-tumoral tissues. *Mol Cancer* 2006; 5: 29 [PMID: 16854228]
- 41 Wang CJ, Zhou ZG, Wang L, Yang L, Zhou B, Gu J, Chen HY, Sun XF. Clinicopathological significance of microRNA-31, -143 and -145 expression in colorectal cancer. *Dis Markers* 2009; 26: 27-34 [PMID: 19242066 DOI: 10.3233/DMA-2009-0601]
- 42 Slaby O, Svoboda M, Fabian P, Smerdova T, Knoflickova D, Bednarikova M, Nenutil R, Vyzula R. Altered expression of miR-21, miR-31, miR-143 and miR-145 is related to clinicopathologic features of colorectal cancer. *Oncology* 2007; 72: 397-402 [PMID: 18196926 DOI: 10.1159/000113489]

编辑 田滢 电编 闫晋利



# Notch信号通路对肝纤维化EMT环节的影响

黄颖而, 许嘉彬, 安海燕

## ■背景资料

Notch信号通路是一条进化上高度保守的通路, 广泛存在于各种生物细胞中, 精确介导细胞间信息交流, 与肿瘤发生发展、组织纤维化等病理过程联系紧密。肝纤维化形成过程中存在上皮-间充质现象(epithelium-mesenchymal transition, EMT), 这是细胞受到外界刺激而引起的应激反应。已有研究表明EMT是肝纤维化过程中的重要环节并受Notch信号通路调控, Notch信号通路与其他信号通路共同作用可调控EMT从而介导肝纤维化的形成。

黄颖而, 许嘉彬, 安海燕, 南方医科大学中医药学院 广东省广州市 510515  
国家级大学生创新创业训练计划基金资助项目, No. 201212121053  
高等学校博士学科点专项科研基金资助项目, No. 20134433120009  
作者贡献分布: 本文综述由黄颖而与许嘉彬完成; 安海燕审核。  
通讯作者: 安海燕, 主治医师, 讲师, 510515, 广东省广州市白云区广州大道北1838号, 南方医科大学中医药学院。  
anhaiyan@fimmu.com  
电话: 020-6164824  
收稿日期: 2014-08-05 修回日期: 2014-09-02  
接受日期: 2014-09-21 在线出版日期: 2014-10-28

## Notch signaling regulates epithelial-mesenchymal transition in hepatic fibrosis

Ying-Er Huang, Jia-Bin Xu, Hai-Yan An

Ying-Er Huang, Jia-Bin Xu, Hai-Yan An, School of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China  
Supported by: the National Training Programs of Innovation and Entrepreneurship for College Students of China, No. 201212121053; Specialized Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education, No. 20134433120009  
Correspondence to: Hai-Yan An, Attending Physician, School of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, 1838 Guangzhou Avenue North, Baiyun District, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China. anhaiya@fimmu.com  
Received: 2014-08-05 Revised: 2014-09-02  
Accepted: 2014-09-21 Published online: 2014-10-28

## Abstract

Notch signaling is a conserved cellular interaction mechanism that widely exists in many kinds of cells. It can influence proliferation, differentiation and apoptotic cell fates, mediating interaction between cells. Epithelial-mesenchymal transition (EMT) is a process in which cells lose their epithelial phenotype and acquire mesenchymal cellular characteristics that enhance migration and invasion. This process is mediated by several cell signaling pathways. It has been proved that Notch signaling regulates EMT in hepatic fibrosis. This article will discuss how Notch signaling regulates EMT in hepatic fibrosis.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Hepatic fibrosis; Notch signaling; Epithelium-mesenchymal transition

Huang YE, Xu JB, An HY. Notch signaling regulates epithelial-mesenchymal transition in hepatic fibrosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(30): 4588-4592  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4588.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4588>

## 摘要

Notch信号通路是一条进化上高度保守的通路, 广泛存在于各种生物细胞中, 参与细胞增殖、分化等环节, 精确介导细胞间信息交流。上皮-间充质现象(epithelium-mesenchymal transition, EMT)是细胞受到外界刺激而引起的应激反应, 即上皮细胞在接受刺激后, 激活一系列信号通路, 最终向间充质细胞转化的过程。已有研究表明EMT是肝纤维化过程中的重要环节并受Notch信号通路调控, 这说明Notch信号通路可以通过调控EMT介导肝纤维化的形成。本文就Notch信号通路在肝纤维化EMT环节中的具体作用机制作一综述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 肝纤维化; Notch信号通路; 上皮-间充质现象

**核心提示:** Notch与转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor  $\beta$ , TGF $\beta$ )信号通路相互作用的具体环节: Notch信号通路被激活后, 最终胞内活化域(Notch intracellular domain, NICD)和Smad3结合, 成为TGF $\beta$ 信号通路中的胞内转录诱导因子, 从而诱导激活含有Smad3或CSL结合位点的合成启动子。在CSL和NICD作用下, Smad3被招募到DNA上的CSL结合位点, 形成多聚体。

黄颖而, 许嘉彬, 安海燕. Notch信号通路对肝纤维化EMT环节的影响. *世界华人消化杂志* 2014; 22(30): 4588-4592 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4588.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4588>

## 0 引言

肝脏受到各种损伤因素如病毒、酒精、药物或

## ■同行评议者

鲁玉辉, 副教授, 福建中医药大学中医学院

化学毒物的刺激时会发生肝细胞坏死、再生, 之后逐渐形成肝纤维化<sup>[1-3]</sup>。其中, 肝纤维化是以细胞外基质(extracellular matrix, ECM)大量沉积为主要特点, 这一过程的关键是肝星状细胞(hepatic satellite cell, HSC)的增殖活化和表型转变并分泌大量ECM<sup>[4,5]</sup>。作为肝脏疾病发展进程中普遍存在的现象, 已有大量研究表明肝纤维化在去除损伤因素后是可以逆转的<sup>[6-10]</sup>。上皮-间充质现象<sup>[11,12]</sup>(epithelium-mesenchymal transition, EMT)是肝纤维化表型转变环节中存在多种肝源细胞的现象, 其作用机制为肝源细胞转变为间充质细胞, 并逐渐分化为肌成纤维细胞(myofibroblast, MFB)、促成纤维性肝星状细胞(myofibroblastic hepatic stellate cells, MF-HSC)等, 后者分泌大量ECM沉积于肝脏, 从而诱导肝纤维化的形成。因此调控EMT是逆转肝纤维化的重要手段。最新研究证明<sup>[13-15]</sup>Notch通路在其中起着重要作用。从EMT现象研究肝纤维化的发生发展机制, 有必要清楚了解Notch信号通路对肝纤维化EMT环节中的分子作用机制。

## 1 肝纤维化中的上皮-间充质现象

在肝纤维化过程中, EMT是指肝源细胞如肝细胞、HSC、肝窦内皮细胞(liver sinusoidal endothelial cells, LSECs)、胆管细胞等受到外界因素刺激后细胞进行损伤修复的保护性反应, 长期存在可导致组织纤维化<sup>[16-18]</sup>。在此过程中, 细胞间将启动一系列信号传导, 主要表现为上皮细胞获得间充质细胞特性, 如细胞间连接减弱、骨架蛋白合成下降, E-钙黏蛋白(E-cadherin)、角蛋白表达下降等, 而间质标志物N-钙黏蛋白、波形蛋白的表达则上升, 并最终转化为MFB等, 分泌大量胶原纤维, 破坏肝脏原有正常结构<sup>[19,20]</sup>。E-cadherin存在人与动物的上皮细胞内, 介导细胞的连接与相关的信号通路, 他的缺失是EMT发生的特异性标志<sup>[21]</sup>。锌指蛋白转录因子Snail是EMT进程中的关键分子, 其表达的增加可使E-cadherin的表达下降<sup>[14,22]</sup>, 表现为Snail基因含有的CAG-GTG核心, 可与E-cadherin启动子上的E-box元件结合, 抑制E-cadherin转录, 使E-cadherin表达下降, 肌动蛋白 $\alpha$ ( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA)表达上升, 从而促进肝纤维化EMT的发展。所以, Snail和E-cadherin的表达可以反映EMT的进程。

## 2 肝纤维化中的Notch信号通路

在多种组织中, Notch信号通路参与相邻细胞间

信息传导, 具有调控细胞增殖、分化和凋亡的作用<sup>[23,24]</sup>, 其作用靶点包括p21Cip/Waf、Cyclin D1、CyclinA等, 同时影响核转录因子(nuclear factor-kappa B, NF- $\kappa$ B)家族<sup>[25]</sup>, 也与炎症趋化因子如雌激素受体 $\alpha$ (estrogen receptor- $\alpha$ )、erbB-2和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等存在信号传导<sup>[26,27]</sup>, 经典的Notch信号通路<sup>[28]</sup>包括定位于细胞表面的4个异源二聚体跨膜受体(Notch1、2、3和4)和5个配体(D11、D13、D14、Jagged1和Jagged2), 具体环节为Notch受体与配体结合后发生两次蛋白裂解过程, 最终胞内活化域(Notch intracellular domain, NICD)释放并转位到细胞核中。在细胞核中, NICD与转录因子RBP-J $\kappa$ 结合并激活Hes1、Hey1、Hey2等靶基因的转录, 从而激活细胞周期, 促进细胞进入分化状态<sup>[24,26,29,30]</sup>。在哺乳动物胚胎时期, 肝组织中Notch信号通路表达活跃, 当肝脏分化发育成熟后, Notch通路在肝组织几乎不表达<sup>[23]</sup>。在胆管闭锁引起的肝硬化及原发性胆汁性肝硬化患者肝组织中, Notch通路被重新激活<sup>[31]</sup>。这一现象说明了Notch信号通路在肝硬化过程中发挥了重要的作用。肝纤维化作为肝硬化发展过程中的必经环节, 也受到Notch信号通路的调控。Wang等<sup>[32]</sup>发现Notch/RBP-J信号通路通过调节再生肝组织中LSECs的增殖和分化参与肝纤维化的形成。叶超等<sup>[33]</sup>也证实, Notch1、Jagged1可能参与肝纤维化的发生、发展, 并且其表达水平与肝纤维化严重程度密切相关。这说明Notch信号通路从不同方面影响着肝纤维化的进程。

## 3 Notch信号通路对EMT环节的作用机制

3.1 Notch信号通路对EMT的影响 上文提及, Snail的表达增加是EMT发生的标志。Notch信号通路上调Snail表达的途径<sup>[34]</sup>有: (1)Notch作为跨膜蛋白激活后, NICD作用于Snail的启动子上调其表达; (2)Notch上调低氧诱导因子(hypoxia-inducible factor 1, HIF-1), 后者作用于赖氨酸氧化酶(lysyl oxidase, LOX)基因的启动子促进Snail的稳定。另外, HIF-1是肝纤维化中一种重要的促血管生成因子<sup>[35]</sup>。因此, 我们推测Notch除了影响EMT进程外, 还可以通过调节血管生成来影响肝纤维化的进程。赵文冰等<sup>[14]</sup>研究发现, 在大鼠肝组织中, Notch-1、Jagged1与Snail1的表达水平呈正相关, 与E-cadherin呈负相关, 这提示Notch信号通路可能通过上调Snail的表达参与

### ■ 研发前沿

Notch信号通路广泛参与多种组织纤维化的EMT环节, 目前认为其与TGF $\beta$ 、Hedgehog等信号通路存在联系, 但其参与肝纤维化的EMT的环节分子机制尚未被研究清楚。除了本文所述的两条与Notch有关的信号通路, 是否还存在其他信号通路共同介导肝纤维化EMT这一环节, 也有待更多的研究。而最新研究发现Notch信号通路和NF- $\kappa$ B相关的通路存在相互作用, 从而促进肝纤维化的进程。因此, Notch信号通路参与各种组织纤维化的EMT环节的具体机制对研究肝纤维化有很好的借鉴作用。



## ■创新盘点

本文着重从EMT环节入手介绍肝纤维化,并以Notch信号通路这一较少研究结果的通路作为切入点,重点阐述了Notch信号通路与TGF $\beta$ 、hedgehog的联系,并说明了Notch与TGF $\beta$ 相互作用的具体环节。

肝纤维化的EMT环节。

3.2 Notch和TGF $\beta$ 信号通路的相互作用 Zavadil等<sup>[36]</sup>发现在上皮细胞的EMT过程中,转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor  $\beta$ , TGF $\beta$ )直接诱导早期*Hey1*基因的转录,而由延迟合成的Jagged1则间接调控的后期*Hey1*的基因表达。这说明TGF $\beta$ 信号通路参与Notch信号通路介导EMT过程。在器官纤维化中<sup>[37,38]</sup>,TGF $\beta$ 1可以诱导上调*Nothc1*、*Notch4*和*Jgaged1*、*Jagged2*等基因的表达。研究发现TGF $\beta$ 信号通路的下游分子Smad3结合靶基因启动子上的Smad结合元件(Smad binding elements, SBEs)的同时,又可结合Notch信号通路的下游的DNA结合因子CSL(CBF-1、Suppressor of hairless及Lag的合称)<sup>[39]</sup>,这一具体环节存在于TGF $\beta$ 信号通路上调*Hes1*基因表达的过程中,且该环节依赖于Notch信号通路的调控。Notch信号通路被激活后,NICD和Smad3结合,成为TGF $\beta$ 信号通路中的胞内转录诱导因子,从而诱导激活含有Smad3或CSL结合位点的合成启动子。在CSL和NICD作用下,Smad3被招募到DNA上的CSL结合位点,形成多聚体<sup>[40]</sup>。DAPT<sup>[41]</sup>是一种 $\gamma$ 分泌素( $\gamma$ -secretase)抑制物。在大鼠肝星状细胞(HSC-T6)中,DAPT能降低Notch通路活性,下调MFB的表达,同时下调TGF $\beta$ 、*Snail*、间质细胞的基因表达,上调E-cadherin的表达<sup>[42,43]</sup>。因此,TGF $\beta$ 1是EMT最主要的促发因子之一,其受体阻滞剂可以逆转EMT,改善肝纤维化。而E-cadherin的缺失又可以反过来上调TGF $\beta$ 1及其下游基因的水平。这说明TGF $\beta$ 通路在Notch介导的肝纤维化EMT环节具有重要的调控作用。

3.3 Notch和Hedgehog信号通路的相互作用 Hedgehog信号通路<sup>[44]</sup>主要由Hh配体、Patched(Ptc)受体、Smoothered(Smo)跨膜蛋白、核转录因子Gli构成。Hh配体有3种: Sonic Hedgehog(Shh)、Indian Hedgehog(Ihh)、Dessert Hedgehog(Dhh)。Ptc受体有Ptc1和Ptc2两种,均能与Hh配体结合发挥作用。另外,在Hedgehog信号通路效应的细胞表面存在一种Hedgehog相互作用蛋白(Hedgehog-interacting protein, Hip),其能与Ptc竞争集合Hh配体,抑制Hedgehog信号通路的活性<sup>[45]</sup>。Hedgehog信号通路活化,Gli表达增加可导致*Snail*过表达,进而发生EMT<sup>[46]</sup>。这与Notch信号通路参与肝纤维化的EMT环节存在共同作用靶点,因此我们推测这两条通路存在相互作用。越来越多的证据提示在受损伤肝脏

中能产生促成纤维化的Hh配体<sup>[47,48]</sup>并大量增殖能导致静止肝星状细胞(quietescent hepatic stellate cell, Q-HSC)转化为成MF-HSC<sup>[48]</sup>。同时,Shh作为一个自分泌生长因子,可加强MF-HSC生存活性和增殖能力<sup>[49]</sup>。在胰腺癌细胞中<sup>[50]</sup>,用三羟异黄酮能抑制Notch1的表达,同时减低Shh mRNA和蛋白的水平,增强Hip mRNA的转录,其对Hip转录的调节机制可能有Notch1间接通过Hes或Hey及转录因子bHLH(basic helix loop-helix)实现的。在骨髓间质细胞<sup>[51]</sup>中,20-羟基胆固醇(20S)能诱导Notch信号通路中Hes1、Hey1和Hey2 mRNA的表达。但Hedgehog信号通路的阻滞剂环巴胺却能阻断这一过程,提示Hedgehog信号通路影响着Notch信号通路的靶基因表达。Xie等<sup>[52]</sup>发现在肝损伤中,Notch和Hedgehog信号通路通过介导EMT环节共同调控HSC。在HSC中,Notch信号通路被激活的同时,Hedgehog信号通路也被激活,而Hedgehog信号通路的激活又提高了Notch通路的活性。阻断Notch信号通路能下调Hedgehog靶基因*Gli1*和*Ptc*的表达,Hedgehog信号通路的活性被抑制。阻断Hedgehog信号通路中的Smo、Notch2、Jagged1和Notch信号通路的靶基因的表达均下降。这表明在肝纤维化中,Notch信号通路和Hedgehog信号通路共同参与了HSC的EMT环节,但其具体机制仍有待研究。

## 4 结论

Notch信号通路广泛参与多种组织纤维化的EMT环节。尽管目前关于肝纤维化中Notch信号通路参与EMT的环节的分子机制尚未被研究清楚,但Notch信号通路参与各种组织纤维化的EMT环节的机制对研究肝纤维化有很好的借鉴作用。本文着重阐述了在肝纤维化的EMT环节中,Notch与TGF $\beta$ 、Hedgehog信号通路的相互作用。从EMT环节入手,研究不同细胞信号转导通路的具体作用,相信能给肝纤维化的治疗靶点带来新观点。

## 5 参考文献

- 1 Mitchell SJ, Hilmer SN Associate Professor. Drug-induced liver injury in older adults. *Ther Adv Drug Saf* 2010; 1: 65-77 [PMID: 25083196]
- 2 Koppe SW. Obesity and the liver: nonalcoholic fatty liver disease. *Transl Res* 2014; 164: 312-322 [PMID: 25028077 DOI: 10.1016/j.trsl.2014.06.008]
- 3 Chrostek L, Panasiuk A. Liver fibrosis markers in alcoholic liver disease. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 8018-8023 [PMID: 25009372 DOI: 10.3748/wjg.

- v20.i25.8018]
- 4 吴晓玲, 曾维政, 蒋明德, 王丕龙. 肝纤维化的信号转导通路. 世界华人消化杂志 2006; 14: 2223-2228
  - 5 Gressner OA, Gao C. Monitoring fibrogenic progression in the liver. *Clin Chim Acta* 2014; 433: 111-122 [PMID: 24607331 DOI: 10.1016/j.ccca.2014.02.021]
  - 6 陈芳艳. 肝纤维化发生发展及逆转过程中kupffer细胞表型的研究. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院, 2013
  - 7 李政通, 李俊, 黄成, 李浩, 章圣鹏, 黄艳, 陶辉. CCL4诱导的大鼠肝纤维化模型肝纤维化逆转与MAPK信号通路的研究. 中国药理学通报 2011; 27: 809-814
  - 8 Ueberham E, Löw R, Ueberham U, Schöning K, Bujard H, Gebhardt R. Conditional tetracycline-regulated expression of TGF-beta1 in liver of transgenic mice leads to reversible intermediary fibrosis. *Hepatology* 2003; 37: 1067-1078 [PMID: 12717387]
  - 9 Issa R, Zhou X, Trim N, Millward-Sadler H, Krane S, Benyon C, Iredale J. Mutation in collagen-1 that confers resistance to the action of collagenase results in failure of recovery from CCl4-induced liver fibrosis, persistence of activated hepatic stellate cells, and diminished hepatocyte regeneration. *FASEB J* 2003; 17: 47-49 [PMID: 12475903]
  - 10 Dienstag JL, Goldin RD, Heathcote EJ, Hann HW, Woessner M, Stephenson SL, Gardner S, Gray DF, Schiff ER. Histological outcome during long-term lamivudine therapy. *Gastroenterology* 2003; 124: 105-117 [PMID: 12512035]
  - 11 Cicchini C, Amicone L, Alonzi T, Marchetti A, Mancone C, Tripodi M. Molecular mechanisms controlling the phenotype and the EMT/MET dynamics of hepatocyte. *Liver Int* 2014 Apr 25. [Epub ahead of print] [PMID: 24766136 DOI: 10.1111/liv.12577]
  - 12 Xie G, Diehl AM. Evidence for and against epithelial-to-mesenchymal transition in the liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2013; 305: G881-G890 [PMID: 24157970 DOI: 10.1152/ajpgi.00289.2013]
  - 13 张秋霞, 孔心涓, 姜英俊, 徐永红, 李新华, 武军. Notch通路在大鼠肝纤维化发生发展中作用的初探. 现代生物医学进展 2012; 12: 2046-2048
  - 14 赵文冰, 孔心涓, 姜英俊, 赵文君. Notch通路及Snail在大鼠肝纤维化发生发展中的作用. 齐鲁医学杂志 2014; 29: 22-25
  - 15 Huang M, Chang A, Choi M, Zhou D, Anania FA, Shin CH. Antagonistic interaction between Wnt and Notch activity modulates the regenerative capacity of a zebrafish fibrotic liver model. *Hepatology* 2014 Jul 4. [Epub ahead of print] [PMID: 24995814 DOI: 10.1002/hep.27285]
  - 16 Lee SJ, Kim KH, Park KK. Mechanisms of fibrogenesis in liver cirrhosis: The molecular aspects of epithelial-mesenchymal transition. *World J Hepatol* 2014; 6: 207-216 [PMID: 24799989 DOI: 10.4254/wjh.v6.i4.207]
  - 17 Xue ZF, Wu XM, Liu M. Hepatic regeneration and the epithelial to mesenchymal transition. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 1380-1386 [PMID: 23538893 DOI: 10.3748/wjg.v19.i9.1380]
  - 18 Reichl P, Haider C, Grubinger M, Mikulits W. TGF-beta in epithelial to mesenchymal transition and metastasis of liver carcinoma. *Curr Pharm Des* 2012; 18: 4135-4147 [PMID: 22630087]
  - 19 Jiang L, Wang H, Li J, Fang X, Pan H, Yuan X, Zhang P. Up-regulated FASN expression promotes transcoelomic metastasis of ovarian cancer cell through epithelial-mesenchymal transition. *Int J Mol Sci* 2014; 15: 11539-11554 [PMID: 24979135 DOI: 10.3390/ijms150711539]
  - 20 Wen SL, Gao JH, Yang WJ, Lu YY, Tong H, Huang ZY, Liu ZX, Tang CW. Celecoxib attenuates hepatic cirrhosis through inhibition of epithelial-to-mesenchymal transition of hepatocytes. *J Gastroenterol Hepatol* 2014 Jun 9. [Epub ahead of print] [PMID: 24909904 DOI: 10.1111/jgh.12641]
  - 21 Adhikary A, Chakraborty S, Mazumdar M, Ghosh S, Mukherjee S, Manna A, Mohanty S, Nakka KK, Joshi S, De A, Chattopadhyay S, Sa G, Das T. Inhibition of Epithelial to Mesenchymal Transition by E-cadherin Up-regulation via Repression of Slug Transcription and Inhibition of E-cadherin Degradation: DUAL ROLE OF SCAFFOLD/MATRIX ATTACHMENT REGION-BINDING PROTEIN 1 (SMAR1) IN BREAST CANCER CELLS. *J Biol Chem* 2014; 289: 25431-25444 [PMID: 25086032]
  - 22 Kaufhold S, Bonavida B. Central role of Snail1 in the regulation of EMT and resistance in cancer: a target for therapeutic intervention. *J Exp Clin Cancer Res* 2014; 33: 62 [PMID: 25084828]
  - 23 Bassil R, Orent W, Elyaman W. Notch signaling and T-helper cells in EAE/MS. *Clin Dev Immunol* 2013; 2013: 570731 [PMID: 24324509 DOI: 10.1155/2013/570731]
  - 24 Hori K, Sen A, Artavanis-Tsakonas S. Notch signaling at a glance. *J Cell Sci* 2013; 126: 2135-2140 [PMID: 23729744 DOI: 10.1242/jcs.127308]
  - 25 He F, Guo FC, Li Z, Yu HC, Ma PF, Zhao JL, Feng L, Li WN, Liu XW, Qin HY, Dou KF, Han H. Myeloid-specific disruption of RBP-J ameliorates hepatic fibrosis by attenuating inflammation through cylindromatosis in mice. *Hepatology* 2014 Aug 22. [Epub ahead of print] [PMID: 25145286 DOI: 10.1002/hep.27394]
  - 26 Ferrari R, Rizzo P. The Notch pathway: a novel target for myocardial remodelling therapy? *Eur Heart J* 2014; 35: 2140-2145 [PMID: 24970336]
  - 27 Rizzo P, Miele L, Ferrari R. The Notch pathway: a crossroad between the life and death of the endothelium. *Eur Heart J* 2013; 34: 2504-2509 [PMID: 22645188 DOI: 10.1093/eurheartj/ehs141]
  - 28 Andersson ER, Lendahl U. Therapeutic modulation of Notch signalling--are we there yet? *Nat Rev Drug Discov* 2014; 13: 357-378 [PMID: 24781550 DOI: 10.1038/nrd4252]
  - 29 颜君, 郭安源, 贾海波, 刘剑峰. HEY转录因子的研究进展. 现代生物医学进展 2013; 13: 763-768
  - 30 魏铭, 王国栋, 郑国旭, 郑甲, 杨帆, 史圣甲, 席文锦, 杨安钢, 温伟红, 秦卫军. Notch1及其下游靶分子Hes1在肾细胞癌组织中的表达及其临床意义. 细胞与分子免疫学杂志 2014; 30: 417-420
  - 31 Kavian N, Servettaz A, Mongaret C, Wang A, Nicco C, Chéreau C, Grange P, Vuiblet V, Birembaut P, Diebold MD, Weill B, Dupin N, Batteux F. Targeting ADAM-17/notch signaling abrogates the development of systemic sclerosis in a murine model. *Arthritis Rheum* 2010; 62: 3477-3487 [PMID: 20583103]
  - 32 Wang L, Wang CM, Hou LH, Dou GR, Wang YC, Hu XB, He F, Feng F, Zhang HW, Liang YM, Dou KF, Han H. Disruption of the transcription factor recombination signal-binding protein-Jkappa (RBP-J) leads to veno-occlusive disease and interfered liver regeneration in mice. *Hepatology* 2009; 49: 268-277 [PMID: 19065680 DOI: 10.1002/hep.22579]

## ■应用要点

本文着重阐述了在肝纤维化的EMT环节中, Notch与TGFβ、Hedgehog信号通路的相互作用. 从EMT环节入手, 研究不同细胞信号转导通路的具体作用, 相信能给肝纤维化的治疗靶点带来新观点.

## ■同行评价

本文综述了Notch信号通路在肝纤维化EMT环节中的具体作用机制,对肝纤维化的EMT环节中Notch与TGF $\beta$ 、Hedgehog信号通路的相互作用做了较全面的介绍,具有一定指导意义。

- 33 叶超, 陈永平, 金晓芝, 程媛, 戴志娟, 林镭, 王晓东, 李文渊. Notch/Jagged信号通路在肝纤维化大鼠模型中的动态表达及意义. 张家界: 第二十次全国中西医结合肝病学术会议, 2011
- 34 Sahlgren C, Gustafsson MV, Jin S, Poellinger L, Lendahl U. Notch signaling mediates hypoxia-induced tumor cell migration and invasion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 6392-6397 [PMID: 18427106 DOI: 10.1073/pnas.0802047105]
- 35 Hsu SJ, Wang SS, Hsin IF, Lee FY, Huang HC, Huo TI, Lee WS, Lin HC, Lee SD. Green tea polyphenol decreases the severity of portosystemic collaterals and mesenteric angiogenesis in rats with liver cirrhosis. *Clin Sci (Lond)* 2014; 126: 633-644 [PMID: 24063570 DOI: 10.1042/CS20130215]
- 36 Zavadil J, Cermak L, Soto-Nieves N, Böttinger EP. Integration of TGF-beta/Smad and Jagged1/Notch signalling in epithelial-to-mesenchymal transition. *EMBO J* 2004; 23: 1155-1165 [PMID: 14976548]
- 37 孙彬. Notch1/Jagged1在肾间质纤维化发病机制中的作用及干预的研究. 南京: 南京医科大学, 2005
- 38 Morrissey J, Guo G, Moridaira K, Fitzgerald M, McCracken R, Tolley T, Klahr S. Transforming growth factor-beta induces renal epithelial jagged-1 expression in fibrotic disease. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 1499-1508 [PMID: 12039979]
- 39 张凯, 艾文兵, 柳长柏, 吴江锋. Notch信号通路与HSC活化关系的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 3611-3616
- 40 Blokzijl A, Dahlqvist C, Reissmann E, Falk A, Moliner A, Lendahl U, Ibáñez CF. Cross-talk between the Notch and TGF-beta signaling pathways mediated by interaction of the Notch intracellular domain with Smad3. *J Cell Biol* 2003; 163: 723-728 [PMID: 14638857]
- 41 Li LC, Peng Y, Liu YM, Wang LL, Wu XL. Gastric cancer cell growth and epithelial-mesenchymal transition are inhibited by  $\gamma$ -secretase inhibitor DAPT. *Oncol Lett* 2014; 7: 2160-2164 [PMID: 24932308]
- 42 Chen YX, Weng ZH, Zhang SL. Notch3 regulates the activation of hepatic stellate cells. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 1397-1403 [PMID: 22493555 DOI: 10.3748/wjg.v18.i12.1397]
- 43 Chen Y, Zheng S, Qi D, Zheng S, Guo J, Zhang S, Weng Z. Inhibition of Notch signaling by a  $\gamma$ -secretase inhibitor attenuates hepatic fibrosis in rats. *PLoS One* 2012; 7: e46512 [PMID: 23056328 DOI: 10.1371/journal.pone.0046512]
- 44 Omenetti A, Choi S, Michelotti G, Diehl AM. Hedgehog signaling in the liver. *J Hepatol* 2011; 54: 366-373 [PMID: 21093090 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.10.003]
- 45 黄继锦, 李长福. Hedgehog信号通路在肝癌中的研究进展. 中国中医药现代远程教育 2014; 12: 156-158
- 46 Zhou BP, Hung MC. Wnt, hedgehog and snail: sister pathways that control by GSK-3beta and beta-Trcp in the regulation of metastasis. *Cell Cycle* 2005; 4: 772-776 [PMID: 15917668]
- 47 Witek RP, Yang L, Liu R, Jung Y, Omenetti A, Syn WK, Choi SS, Cheong Y, Fearing CM, Agboola KM, Chen W, Diehl AM. Liver cell-derived microparticles activate hedgehog signaling and alter gene expression in hepatic endothelial cells. *Gastroenterology* 2009; 136: 320-330.e2 [PMID: 19013163 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.09.066]
- 48 Choi SS, Omenetti A, Witek RP, Moylan CA, Syn WK, Jung Y, Yang L, Sudan DL, Sicklick JK, Michelotti GA, Rojkind M, Diehl AM. Hedgehog pathway activation and epithelial-to-mesenchymal transitions during myofibroblastic transformation of rat hepatic cells in culture and cirrhosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009; 297: G1093-G1106 [PMID: 19815628 DOI: 10.1152/ajpgi.00292.2009]
- 49 Yang L, Wang Y, Mao H, Fleig S, Omenetti A, Brown KD, Sicklick JK, Li YX, Diehl AM. Sonic hedgehog is an autocrine viability factor for myofibroblastic hepatic stellate cells. *J Hepatol* 2008; 48: 98-106 [PMID: 18022723]
- 50 廖宇圣. 三羟异黄酮对胰腺癌细胞Notch-1和Hedgehog信号通路活性影响的实验研究. 华中科技大学, 2008
- 51 Kim WK, Meliton V, Tetradis S, Weinmaster G, Hahn TJ, Carlson M, Nelson SF, Parhami F. Osteogenic oxysterol, 20(S)-hydroxycholesterol, induces notch target gene expression in bone marrow stromal cells. *J Bone Miner Res* 2010; 25: 782-795 [PMID: 19839776]
- 52 Xie G, Karaca G, Swiderska-Syn M, Michelotti GA, Krüger L, Chen Y, Premont RT, Choi SS, Diehl AM. Cross-talk between Notch and Hedgehog regulates hepatic stellate cell fate in mice. *Hepatology* 2013; 58: 1801-1813 [PMID: 23703657]

编辑 田滢 电编 闫晋利





# 粪菌移植的临床应用新进展

郭文涛, 董丽娜, 王俊平, 刘萍

郭文涛, 王俊平, 山西医科大学附属人民医院消化科 山西省太原市 030012

董丽娜, 山西医科大学附属人民医院中心实验室 山西省太原市 030012

刘萍, 山西医科大学附属人民医院妇产科 山西省太原市 030012

郭文涛, 在读硕士, 主要从事肠道微生态与临床的研究。

山西省国际科技合作基金资助项目, No. 2013081066

山西省卫生厅科研基金资助项目, No. 201201059

作者贡献分布: 本综述课题由王俊平提出与设计; 郭文涛撰写完成; 董丽娜负责论文修改与指导; 王俊平与刘萍审校。

通讯作者: 王俊平, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 030012, 山西省太原市双塔寺东街26号, 山西医科大学附属人民医院消化科。wangjp8396@sohu.com

电话: 0351-4960141

收稿日期: 2014-07-22 修回日期: 2014-09-05

接受日期: 2014-09-17 在线出版日期: 2014-10-28

## New advances in clinical application of fecal microbiota transplantation

Wen-Tao Guo, Li-Na Dong, Jun-Ping Wang, Ping Liu

Wen-Tao Guo, Jun-Ping Wang, Department of Gastroenterology, the Affiliated People's Hospital to Shanxi Medical University, Taiyuan 030012, Shanxi Province, China

Li-Na Dong, Central Laboratory, the Affiliated People's Hospital to Shanxi Medical University, Taiyuan 030012, Shanxi Province, China

Ping Liu, Department of Obstetrics and Gynecology, the Affiliated People's Hospital to Shanxi Medical University, Taiyuan 030012, Shanxi Province, China

Supported by: the Science and Technology International Cooperation Fund of Shanxi Province, No. 2013081066; the Scientific Research Foundation of Health Department of Shanxi Province, No. 201201059

Correspondence to: Jun-Ping Wang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated People's Hospital to Shanxi Medical University, 26 Shuang-tasi East Street, Taiyuan 030012, Shanxi Province, China. wangjp8396@sohu.com

Received: 2014-07-22 Revised: 2014-09-05

Accepted: 2014-09-17 Published online: 2014-10-28

## Abstract

The intestinal microbiota is composed of hundreds of millions of microorganism and plays an important role in maintaining the body's immune function and resisting invasion of pathogenic microorganisms. Intestinal microecological imbalance can cause a variety of external and parenteral diseases. In recent years, fecal microbiota transplantation has achieved good effects

in treating those diseases that are caused by *Clostridium difficile* infection. The therapy can correct intestinal microenvironment disorders, which make it possible to use the therapy to treat other related diseases caused by microecological imbalance and improve human health. This paper will review recent advances in fecal microbiota transplantation in terms of its history, methods, application in external and parenteral diseases, and adverse reactions.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Fecal microbiota transplantation; Intestinal microecology; Clinical application

Guo WT, Dong LN, Wang JP, Liu P. New advances in clinical application of fecal microbiota transplantation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(30): 4593-4598  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4593.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4593>

## 摘要

由数以亿计的微生物所构成的肠道微生态, 在维持人体免疫、协同拮抗病原微生物入侵等方面发挥重要作用, 肠道微生态失衡可引起多种肠道内外疾病。近年来, 粪便菌群移植在艰难梭菌感染性疾病的治疗中取得了很好效果, 由于该治疗方法可以纠正肠道微环境失调, 所以使用此方法治疗其他微生态失调相关性疾病, 以改善人体健康成为可能。本文从粪菌移植的历史、方法、在胃肠道内、外疾病的应用、不良反应及应用前景等方面结合国内外最新进展进行综述, 为粪菌移植这一治疗方法更好的应用于临床治疗相关疾病提供借鉴。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 粪菌移植; 肠道微生态; 临床应用

**核心提示:** 本文较为系统地结合国内外最新进展综述了粪便菌群移植(fecal microbiota transplantation, FMT), 在难辨艰难梭菌感染、溃疡性结肠炎(ulcerative colitis)、克罗恩病(Crohn's disease)、肠易激综合征(irritable bowel

## ■背景资料

近年来在欧美等西方国家, 过度使用抗生素所引发的难辨艰难梭菌感染及其反复复发问题日益严重, 面对这一“超级细菌”人类用现有的治疗方式却难以达到满意效果。粪菌移植, 令人眼前一亮的办法, 现已在世界各地广泛尝试, 并得到初步认可。

## ■同行评议者

马欣, 主任医师, 甘肃省人民医院消化科

## ■研发前沿

目前人们主要致力于寻找粪菌移植治疗除抗生素诱发肠道难辨梭菌感染外,在治疗人体免疫相关性疾病、冠状动脉粥样硬化性心脏病、肥胖,甚至肿瘤等方面,减少不良反应的同时,如何改进粪菌移植操作流程能够给患者带来最大的收益。

syndrome)、肥胖、便秘等疾病的相关应用,特别是对多种移植途径进行了比较,提示通过改进操作流程、方法,改善肠道微环境,可能会提高相关疾病的治愈率、扩大FMT的应用范围,在临床治疗自身免疫性疾病、甚至肿瘤等方面获得突破。

郭文涛,董丽娜,王俊平,刘萍.粪菌移植的临床应用新进展.世界华人消化杂志 2014; 22(30): 4593-4598 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4593.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i30.4593>

## 0 引言

人体肠道内含有100万亿多的微生物,种类多达500-1000个<sup>[1]</sup>,肠道微生态在人体生理病理中起重要作用<sup>[2,3]</sup>,微生态失衡与糖尿病、炎症性肠病等多种肠内、肠外疾病相关。肠道菌群受多种因素影响,抗生素的使用可对肠道微生态造成严重破坏。近年来,抗生素的滥用及耐药菌的出现已成为一个越来越严重的问题,尤其抗生素使用引发的耐药性艰难梭菌感染<sup>[4]</sup>具有较高的住院率和致死率。粪菌移植(fecal microbiota transplantation, FMT)首先被应用于艰难梭菌感染的治疗并取得非常好的疗效<sup>[5,6]</sup>。此外,由于多种疾病与微生态失衡相关,一些学者开始尝试将粪菌移植用于其他微生态相关疾病的治疗。本文就近年来关于粪菌移植方面的研究作一详细综述,这将有助于临床工作者对这一新型治疗方式有更加全面深入的了解,并有助于探索这一新的治疗方法更为广泛的应用范围,为多种临床疾病的治疗提供新的选择。

## 1 FMT的历史简介

FMT简称“粪便移植”或“粪菌移植”,是指将健康人粪便中的功能菌群,移植到患者胃肠道内,重建具有正常功能的肠道菌群,实现肠道及肠道外疾病的诊疗<sup>[7]</sup>。因此,也有人称他作为一种特殊的“器官移植”。

早在1700年前,中国传统医学中就有人用大小便给人治病,东晋葛洪《肘后备急方》即有记载用人粪治疗食物中毒、腹泻、濒临死亡的患者<sup>[7]</sup>,但由于在伦理、观念、认识等方面的限制,FMT逐渐被医生所遗弃,在中国,FMT仅用于动物腹泻、消化不良等疾病的治疗。近代,最早关于FMT的报道是1958年,4例抗生素引发的伪膜性肠炎患者,在各种治疗失败后,意大利Eiseman第一次选用健康人粪便给患者灌肠进行治疗,使得濒临死亡的患者奇迹般的改善了病

情,3例患者戏剧性的全部健康出院,只有1例最终证实死于非感染性疾病<sup>[8]</sup>。此后,不断有人尝试使用FMT这一新兴治疗方法治疗艰难梭菌感染性疾病。特别是在2000年以后,在美国、加拿大及欧洲等地,由于能产生高毒性蛋白的难辨艰难梭菌感染的流行,致使艰难梭菌对现有的抗生素(万古霉素)等产生耐药,最终导致艰难梭菌感染复发率、住院率和死亡率明显增高<sup>[9]</sup>,这使得越来越多的人将FMT应用于艰难梭菌感染的治疗,由于其产生的疗效较好,因此FMT也越来越引起人们的重视。从1958年anatomist开始到现在,全球已有500多人接受了FMT,其累计治愈率高达95%<sup>[9]</sup>。

近年来,随着微生态和疾病关系研究的日益深入,许多慢性病如糖尿病、炎症性肠病等与肠道菌群的失衡有着密切关系,且益生菌的使用有助于缓解症状、治疗疾病,但其作用较为有限<sup>[10]</sup>。FMT在艰难梭菌治疗中如此有效的治愈效果<sup>[11,12]</sup>使得越来越多的科学家和医务工作者尝试将FMT用于其他多种微生态相关疾病的治疗。

## 2 FMT的方法简介

2.1 FMT接受者的适应证和禁忌证 由于FMT目前主要应用于治疗艰难梭菌感染,所以目前多数认为其适应证为:(1)复发性难辨梭状芽胞菌感染,即轻-中度的艰难梭菌感染采用万古霉素(或采用替代抗生素如利福昔明或硝唑尼特)治疗6-8 wk后,反复发作至少3次,或至少2次严重的艰难梭菌感染导致住院治疗 and 发病率较高的疾病;(2)轻-中度的艰难梭菌感染采用标准治疗至少1 wk后无改善者;(3)严重或暴发性艰难梭菌结肠炎采用标准治疗48 h后无缓解者。禁忌证:(1)近期有吞服其他异物、免疫缺陷性疾病、过敏性疾病等相关病史者;(2)有不适宜FMT的重症危重病患者,危及生命者<sup>[13,14]</sup>。

2.2 粪菌供者的筛选 FMT可以说是一种特殊的“器官移植”,其供者的筛选也非常重要。由于人类肠道微生态常常受饮食习惯、居住环境以及宿主基因的共同影响,且常处于动态变化之中<sup>[13]</sup>,所以捐助者最好选自家庭成员、配偶或者有共同的基因或环境的同伴,这样可以减少筛选的成本,且能够提高移植的成功率和安全性<sup>[12,13]</sup>。肠道微生物与肠道性疾病有密切关系,因此任何与肠道微生物有关的疾病,都应该排除<sup>[15]</sup>。此外,要同时对供者的血标本和粪便标本筛选,是

表 1 粪便的前期处理

处理措施移植方法	上消化道途径	下消化途径
粪便新鲜度	≤6 h	≤24 h
是否肠道清洗	否	是
粪便质量(g)	30-50	10-200
生理盐水量(mL)	50-250	20-500
灌注量(mL)	25-200	20-500
是否需反复灌注	说法不一	说法不一

否有携带可通过粪便传播的致病病原体(病毒、细菌、寄生虫),特别是处于疾病早期或者窗口期的疾病,防治遗漏,增强FMT的安全性。

### 2.3 FMT操作流程

**2.3.1 移植前准备:** 受者<sup>[13]</sup>: 在FMT前3 d应停止口服万古霉素等抗生素;应在术前一晚,用聚乙二醇清洗肠道;采用上消化道途径者,术前一晚和术当天口服奥美拉唑20 mg;采用下消化道途径者,移植当天服用洛哌丁胺。供者:应在取便前一晚,使用容积性泻药;避免使用一些可能导致接受者发生腹泻等情况的物质。

**2.3.2 FMT方法:** 现在FMT的常用途径有结肠镜检查治疗术<sup>[16]</sup>、菌液灌肠术、上消化道途径以及吞咽胶囊等<sup>[17]</sup>,目前对于选择哪种治疗途径以及粪便如何提取、筛检、存放时间等问题存在较大争议。(1)粪菌来源:有人认为冷藏处理后的粪便<sup>[18]</sup>,同样可以达到治疗目的;相反,还有人认为,为了细菌不致死亡或变异,应在6 h内及时移植<sup>[19]</sup>;(2)移植途径:结肠镜检查治疗术,这是现阶段首选途径<sup>[20]</sup>,优点是此法可以直视下直达结肠全境,且必要时可以取活检<sup>[13]</sup>,缺点是属于侵入性治疗,依从性较差<sup>[19]</sup>,而且,有肠穿孔特别是有中毒性巨结肠的危险。菌液灌肠术:优点是方便,患者可自己在家操作<sup>[13]</sup>,缺点是需要超过3-5 d的多次灌注<sup>[21]</sup>、患者不舒服感增加,且只能灌注到脾曲<sup>[22]</sup>。上消化道途径(鼻饲、胃镜、空肠导管):该方法比结肠镜的方法要安全、容易操作、花费少,对于肠功能低下或者有肠粘连的患者,鼻饲的方式或许更为安全。缺点是粪菌的悬浮液可能不能到达低位小肠,特别是有肠梗阻、小肠异物时,或老年患者因胃酸分泌减少,会增加细菌过度繁殖的危险<sup>[13]</sup>。现在还有学者尝试口服胶囊制剂的方式,这一新途径可能会成为将来FMT的发展方向;(3)粪便的前期处理:从上消化道途径和下消化道途径,对于每一种方式的粪便提取时间、粪便量、是否肠道

灌洗、稀释用的生理盐水量、灌肠剂量以及是否需要重复移植等进行了总结如表1<sup>[23-25]</sup>;(4)患者有下列疾病将不能作为供者如表2;(5)FMT后30-45 min不能排便<sup>[26]</sup>。

## 3 FMT在胃肠道疾病中的作用

**3.1 FMT在治疗难辨艰难梭菌感染中的应用** 人体肠道,正常菌群有“定植抗力”<sup>[27]</sup>,长期不规范使用抗生素,将会极大的杀伤正常菌群,破坏定植抗力,导致条件致病菌群(难辨艰难梭菌感染)迅速繁殖<sup>[28]</sup>。艰难梭菌感染是一种最常见的医院获得性感染,常常导致较高的住院率和死亡率。近年来,能对喹诺酮类药物耐受的菌株BI/NAP1/027<sup>[9,13]</sup>的产生,使得艰难梭菌感染发病率和复发率持续增高,常表现为严重的腹泻伴有伪膜性肠炎或者爆发性肠梗阻、巨结肠。临床上常将正规治疗(万古霉素、灭敌灵等)症状消失8 wk后,再次出现艰难梭菌感染临床症状称为复发<sup>[13]</sup>,抗生素可以杀伤艰难梭菌,但是不能杀灭其所产生的孢子,这可能就是艰难梭菌反复复发和产生耐药的根源<sup>[14]</sup>。在美国,每年约有300万新发急性艰难梭菌感染者<sup>[29]</sup>,其中就有高达35%,即105万的患者会因为抗生素治疗失败而复发<sup>[30]</sup>,据估计每年治疗艰难梭菌感染的花费为11亿美元<sup>[13]</sup>。

目前在治疗艰难梭菌感染中,FMT被证明是迅速、安全、高效的,世界平均治疗有效率高达91%。5名流行病学家在美国不同地区对曾接受过FMT治疗复发性艰难梭菌感染的患者,随访超过了3 mo,结果显示,91%的患者第1次FMT后治愈,第2次FMT后治愈率高达98%,且有73%的患者表示,他们会再次接受FMT,而53%的人则表示以后会将FMT作为治疗艰难梭菌感染的首选方法<sup>[31]</sup>。一项长期、随访、多中心、经结肠镜途径的粪菌移植治疗复发性艰难梭菌感染的研究证实:初次治愈率达91%(指FMT后90 d内未

### ■创新盘点

本文从粪菌移植的历史简介、适应症、禁忌症、操作流程、多种移植途径优缺点比较、在胃肠道内、外疾病的应用及其不良反应的方面,结合国内外最新进展进行综述,使读者更为全面、系统、快捷的了解粪菌移植,激发读者兴趣。



## ■应用要点

本文通过纵向、全面的综述粪菌移植的发展沿革,可以加深人们对肠道微生物与人体多系统相关性疾病关系理解,为粪菌移植在临床诊治相关性疾病,提供新思路,寻求新突破。

表 2 供者排除标准

类型	疾病
感染性疾病 <sup>[13,24]</sup>	肝炎病毒、HIV、巨细胞病毒、空肠弯曲杆菌等可传染性疾病
胃肠道其他疾病 <sup>[13,25]</sup>	肠炎性疾病、肠易激综合征、特发性便秘、慢性腹泻、恶性肿瘤或息肉史者
可以影响肠道微生物组成的因素 <sup>[13]</sup>	3 mo内有抗生素使用史、使用免疫抑制类药物、抗肿瘤化疗史
其他 <sup>[13,24,25]</sup>	胃肠手术史、代谢综合征、糖尿病、动脉粥样硬化、结直肠癌、系统性自身免疫性疾病、自闭症、过敏性体质、重症危重病患者

HIV: 人类免疫缺陷病毒。

出现艰难梭菌感染症状), 复发性艰难梭菌感染治愈率98%<sup>[12]</sup>。一项对27项研究的317例患者的系统性评价(循证医学)显示: FMT的整体治愈率为92%<sup>[32]</sup>。

现在对FMT成功治疗艰难梭菌感染的机制还不清楚, 有学者认为其可能机制是, FMT可以使粪便中的细菌群落结构和代谢成分正常化, 通过修正粪便中胆汁酸的代谢, 达到治疗和防止艰难梭菌感染复发的效果<sup>[33]</sup>。

3.2 FMT在治疗便秘、溃疡性结肠炎、克罗恩病、肠易激综合征等疾病中的应用 随着人们对肠道微生物与多种疾病关系的认识, 特别是肠道菌群与炎症性肠病研究<sup>[34]</sup>的深入, 近年来, 不断有大量文献报道, FMT在溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)、克罗恩病(Crohn's disease, CD)、肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)的成功应用。Andrews等<sup>[35]</sup>对45例患有慢性严重性的便秘患者进行了FMT治疗, 有89%的患者(40/45)症状得到改善, 对其中30例患者进行长期随访, 有60%不再使用泻药。Borody等<sup>[36]</sup>对55例患有IBS和炎症性肠病患者进行FMT, 有36%的患者被视为治愈, 16%的患者症状减轻。最近有报道称, 通过FMT改善肠道菌群可以明显缓解克罗恩肠炎<sup>[37,38]</sup>。

#### 4 FMT在胃肠道外疾病中的应用

肥胖是一个多因素综合作用的代谢综合征, 他不仅与摄入高热量、高脂肪等不良的饮食习惯、缺乏运动、遗传等有关, 现在更多的研究证实, 肥胖还与肠道微生物种类、数量等密切相关<sup>[39]</sup>。肠道微生物通过影响一些转录因子活性, 调控宿主基因的表达, 增强宿主甘油三酯的合成和脂肪沉积, 减少脂肪酸氧化分解, 调控宿主能量代谢<sup>[40]</sup>。但是, 当不合理的饮食, 特别是过量的能量摄入和富含饱和脂肪酸可造成肠道饱和脂肪酸的主要分解者-厚壁菌门细菌大量

繁殖, 而拟杆菌明显减少, 造成肠道菌群不平衡, 以及肠道菌群失调所引发的系统性炎症反应等, 更是促进了肥胖发生的恶性循环<sup>[41]</sup>。2010年, Vrieze等<sup>[42]</sup>对18例代谢综合征患者, 采用双盲随机对照试验的方式, 50%的患者接受来自男性瘦者的粪菌移植, 另外50%则接受自己的粪菌作为对照, 结果显示接受瘦者粪菌的代谢综合征患者, 其空腹甘油三酯水平显著降低, 而对照组无明显变化; 此外, 6 wk时外周和肝胰岛素敏感性在受者供体组明显提高, 而对照组同样未见明显改变。以上这些结果表明, 通过FMT人为操纵群落结构, 可能对调节在肥胖个体中的能量平衡是有用的。此外, FMT还被尝试应用于肿瘤、帕金森氏病、多发性硬化、自闭症<sup>[43]</sup>以及胰岛素抵抗和2型糖尿病的治疗<sup>[44]</sup>。

#### 5 FMT治疗的不良反应

虽然FMT在大量文献报道中, 认为其治疗难辨艰难梭菌感染是较为安全有效的, 且深受医生和患者的喜爱, 但是, FMT能否安全、广泛应用于其他疾病, 目前国际社会对此治疗方法存在质疑<sup>[45]</sup>。

有少部分人会在移植操作完成后的2 wk内出现肠道不规则运动和肠胀气等非特异性症状<sup>[12,13]</sup>。Angelberger等<sup>[46]</sup>报道, 5例中、重度UC患者在接受各种抗炎治疗失败后, 接受了FMT治疗, 短时间内出现体温、C反应蛋白升高, 出现更为严重的腹泻症状, 甚至菌血症, 宣布FMT治疗失败, 原因可能有: (1)炎症性肠病与肠菌群紊乱的因果关系尚不清楚; (2)5例中重度顽固性UC患者已经过临床各种侵入性治疗, 通过改善肠道菌群紊乱已难纠正病变过程; (3)两名捐助者粪菌的混合以及同时服用抗生素、质子泵抑制剂等多种治疗的干扰<sup>[47]</sup>。

#### 6 结论

目前对于FMT具体的作用机制尚不清楚, 能否

通过DNA测序检测明确具体的功能菌群, 特异性的菌群移植, 可能会提高移植的安全性, 同时, FMT所构造的菌群间相互作用的微环境, 是否是治疗有效的关键? FMT能否会导致细菌的变异? 能否会引起继发性炎症性疾病, 甚至是肿瘤? 以及缺乏大样本的随机对照试验等多种问题, 还需更多的研究. FMT作为一种潜在有效地治疗途径, 特别是在肿瘤<sup>[48]</sup>、肥胖、IBS、炎症性肠病<sup>[49]</sup>、自身免疫性疾病等方面的新探索, 必将提高人类对肠道微生物的认识<sup>[50]</sup>, 为诊治疾病、维护健康保驾护航.

## 7 参考文献

- Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144: 646-674 [PMID: 21376230 DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013]
- Floch MH. Intestinal microecology in health and wellness. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45 Suppl: S108-S110 [PMID: 21992947 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3182309276]
- Si JM, Yu YC, Fan YJ, Chen SJ. Intestinal microecology and quality of life in irritable bowel syndrome patients. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1802-1805 [PMID: 15188510]
- Khoruts A, Weingarden AR. Emergence of fecal microbiota transplantation as an approach to repair disrupted microbial gut ecology. *Immunol Lett* 2014 Aug 10. [Epub ahead of print] [PMID: 25106113 DOI: 10.1016/j.imlet.2014.07.016]
- Di Bella S, Drapeau C, García-Almodóvar E, Petrosillo N. Fecal microbiota transplantation: the state of the art. *Infect Dis Rep* 2013; 5: e13 [PMID: 24470963 DOI: 10.4081/idr.2013.e13.]
- Dai C, Jiang M, Sun MJ. Fecal Microbiota Transplantation for Treatment of Clostridium difficile Infection. *J Clin Gastroenterol* 2014 Jul 17. [Epub ahead of print] [PMID: 25036411]
- Zhang F, Luo W, Shi Y, Fan Z, Ji G. Should we standardize the 1,700-year-old fecal microbiota transplantation? *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1755; author reply 1755-1756 [PMID: 23160295 DOI: 10.1038/ajg.2012.251]
- CUTOLO LC, KLEPPEL NH, FREUND HR, HOLKER J. Fecal feedings as a therapy in Staphylococcus enterocolitis. *N Y State J Med* 1959; 59: 3831-3833 [PMID: 13813452]
- Borody TJ, Campbell J. Fecal microbiota transplantation: techniques, applications, and issues. *Gastroenterol Clin North Am* 2012; 41: 781-803 [PMID: 23101687 DOI: 10.1016/j.gtc.2012.08.008]
- Starley BQ, Calcagno CJ, Harrison SA. Nonalcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma: a weighty connection. *Hepatology* 2010; 51: 1820-1832 [PMID: 20432259 DOI: 10.1002/hep.23594]
- PLOS ONE Staff. Correction: Microbiota dynamics in patients treated with fecal microbiota transplantation for recurrent Clostridium difficile infection. *PLoS One* 2014; 9: e104471 [DOI: 10.1371/journal.pone.0104471]
- Rohlke F, Stollman N. Fecal microbiota transplantation in relapsing Clostridium difficile infection. *Therap Adv Gastroenterol* 2012; 5: 403-420 [PMID: 23152734 DOI: 10.1177/1756283X12453637]
- Agito MD, Atreja A, Rizk MK. Fecal microbiota transplantation for recurrent C difficile infection: ready for prime time? *Cleve Clin J Med* 2013; 80: 101-108 [PMID: 23376915]
- Bakken JS, Borody T, Brandt LJ, Brill JV, Demarco DC, Franzos MA, Kelly C, Khoruts A, Louie T, Martinelli LP, Moore TA, Russell G, Surawicz C. Treating Clostridium difficile infection with fecal microbiota transplantation. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011; 9: 1044-1049 [PMID: 21871249 DOI: 10.1016/j.cgh.2011.08.014]
- Borody TJ, Khoruts A. Fecal microbiota transplantation and emerging applications. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 9: 88-96 [PMID: 22183182 DOI: 10.1038/nrgastro.2011.244]
- Lok AS, Seeff LB, Morgan TR, di Bisceglie AM, Sterling RK, Curto TM, Everson GT, Lindsay KL, Lee WM, Bonkovsky HL, Dienstag JL, Ghany MG, Morishima C, Goodman ZD. Incidence of hepatocellular carcinoma and associated risk factors in hepatitis C-related advanced liver disease. *Gastroenterology* 2009; 136: 138-148 [PMID: 18848939 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.09.014]
- Lo Vecchio A, Cohen MB. Fecal microbiota transplantation for Clostridium difficile infection: benefits and barriers. *Curr Opin Gastroenterol* 2014; 30: 47-53 [PMID: 24275671 DOI: 10.1097/MOG.0000000000000023]
- Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell* 2010; 140: 883-899 [PMID: 20303878 DOI: 10.1016/j.cell.2010.01.025]
- Mole B. FDA gets to grips with faeces. *Nature* 2013; 498: 147-148 [PMID: 23765468 DOI: 10.1038/498147a]
- Brandt LJ, Borody TJ, Campbell J. Endoscopic fecal microbiota transplantation: "first-line" treatment for severe clostridium difficile infection? *J Clin Gastroenterol* 2011; 45: 655-657 [PMID: 21716124 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3182257d4f]
- Borody TJ, Warren EF, Leis S, Surace R, Ashman O. Treatment of ulcerative colitis using fecal bacteriotherapy. *J Clin Gastroenterol* 2003; 37: 42-47 [PMID: 12811208]
- Persky SE, Brandt LJ. Treatment of recurrent Clostridium difficile-associated diarrhea by administration of donated stool directly through a colonoscope. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 3283-3285 [PMID: 11095355]
- Landy J, Al-Hassi HO, McLaughlin SD, Walker AW, Ciclitira PJ, Nicholls RJ, Clark SK, Hart AL. Review article: faecal transplantation therapy for gastrointestinal disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34: 409-415 [PMID: 21682755 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.02365.x]
- van Nood E, Speelman P, Nieuwdorp M, Keller J. Fecal microbiota transplantation: facts and controversies. *Curr Opin Gastroenterol* 2014; 30: 34-39 [PMID: 24241245 DOI: 10.1097/MOG.0000000000000024]
- Owens C, Broussard E, Surawicz C. Fecal microbiota transplantation and donor standardization. *Trends Microbiol* 2013; 21: 443-445 [PMID: 24012274 DOI: 10.1016/j.tim.2013.07.003]
- Kelly CR, de Leon L, Jasutkar N. Fecal microbiota transplantation for relapsing Clostridium difficile infection in 26 patients: methodology and results. *J Clin Gastroenterol* 2012; 46: 145-149 [PMID: 22157239 DOI: 10.1097/MCG.0b013e318234570b]

## ■名词解释

肠道难辨艰难梭菌感染: 一种机会致病菌, 常因过度使用抗生素或机体免疫低下时, 肠道正常菌群生长受抑或破坏而引发的多重耐药、致死率较高的一种常见医院获得性感染, 欧美等西方国家较常见, 近来我国报道的难辨艰难梭菌感染率已明显增加。

## ■同行评价

文章立意新颖、思路创新, 经过详细的资料查询提供了充足的有意义的信息。研究符合伦理学要求, 凸显了肠道微生态与人体多系统、多器官常见病、多发病的相关性, 希望能为广大科研、医务工作者更为深入研究、治愈相关性疾病, 起到抛砖引玉的效果。

- 27 沈定树, 陈素云. 肠道微生物与定植抗力. 中国微生态学杂志 2012; 24: 1150-1152
- 28 Berg RD. The indigenous gastrointestinal microflora. *Trends Microbiol* 1996; 4: 430-435 [PMID: 8950812]
- 29 Sailhamer EA, Carson K, Chang Y, Zacharias N, Spaniolas K, Tabbara M, Alam HB, DeMoya MA, Velmahos GC. Fulminant *Clostridium difficile* colitis: patterns of care and predictors of mortality. *Arch Surg* 2009; 144: 433-439; discussion 439-440 [PMID: 19451485 DOI: 10.1001/archsurg.2009.51]
- 30 Pepin J. Improving the treatment of *Clostridium difficile*-associated disease: where should we start? *Clin Infect Dis* 2006; 43: 553-555 [PMID: 16886145]
- 31 Brandt LJ. Editorial commentary: fecal microbiota transplantation: patient and physician attitudes. *Clin Infect Dis* 2012; 55: 1659-1660 [PMID: 22990845 DOI: 10.1093/cid/cis812]
- 32 Gough E, Shaikh H, Manges AR. Systematic review of intestinal microbiota transplantation (fecal bacteriotherapy) for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis* 2011; 53: 994-1002 [PMID: 22002980 DOI: 10.1093/cid/cir632]
- 33 Weingarden AR, Chen C, Bobr A, Yao D, Lu Y, Nelson VM, Sadowsky MJ, Khoruts A. Microbiota transplantation restores normal fecal bile acid composition in recurrent *Clostridium difficile* infection. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2014; 306: G310-G319 [PMID: 24284963 DOI: 10.1152/ajpgi.00282]
- 34 王静, 韩英, 王继恒. 炎症性肠病与肠道细菌研究进展. 世界华人消化杂志 2007; 15: 1406-1410
- 35 Andrews P, Borody TJ, Shortis NP, Thompson S. Bacteriotherapy for chronic constipation-long term follow-up. *Gastroenterology* 1995; 108: A563 [DOI: 10.1016/0016-5085(95)26563-5]
- 36 Borody TJ, George L, Andrews P, Brandt S, Noonan S, Cole P, Hyland L, Morgan A, Maysey J, Moore-Jones D. Bowel-flora alteration: a potential cure for inflammatory bowel disease and irritable bowel syndrome? *Med J Aust* 1989; 150: 604 [PMID: 2783214]
- 37 Kao D, Hotte N, Gillevet P, Madsen K. Fecal microbiota transplantation inducing remission in Crohn's colitis and the associated changes in fecal microbial profile. *J Clin Gastroenterol* 2014; 48: 625-628 [PMID: 24667590 DOI: 10.1097/MCG.0000000000000131]
- 38 Zhang FM, Wang HG, Wang M, Cui BT, Fan ZN, Ji GZ. Fecal microbiota transplantation for severe enterocolonic fistulizing Crohn's disease. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 7213-7216 [PMID: 24222969 DOI: 10.3748/wjg.v19.i41.7213]
- 39 Konrad D, Wueest S. The gut-adipose-liver axis in the metabolic syndrome. *Physiology (Bethesda)* 2014; 29: 304-313 [PMID: 25180260]
- 40 曾波, 钟荣珍, 谭支良. 肠道微生物多样性与能量代谢调控及肥胖关系的研究进展. 中国微生态学杂志 2008; 20: 415-417
- 41 刘伟伟, 严敏, 周丽萍, 文钦, 丁维俊. 肥胖与肠道菌群的相关性. 生命的化学 2009; 29: 928-932
- 42 Vrieze A, Van Nood E, Holleman F, Salojärvi J, Kootte RS, Bartelsman JF, Dallinga-Thie GM, Ackermans MT, Serlie MJ, Oozeer R, Derrien M, Druesne A, Van Hylckama Vlieg JE, Bloks VW, Groen AK, Heilig HG, Zoetendal EG, Strees ES, de Vos WM, Hoekstra JB, Nieuwdorp M. Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. *Gastroenterology* 2012; 143: 913-916. e7 [PMID: 22728514 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.06.031]
- 43 de Vrieze J. Medical research. The promise of poop. *Science* 2013; 341: 954-957 [PMID: 23990540 DOI: 10.1126/science.341.6149.954]
- 44 Udayappan SD, Hartstra AV, Dallinga-Thie GM, Nieuwdorp M. Intestinal microbiota and faecal transplantation as treatment modality for insulin resistance and type 2 diabetes mellitus. *Clin Exp Immunol* 2014; 177: 24-29 [PMID: 24528224 DOI: 10.1111/cei.12293]
- 45 Pamer EG. Fecal microbiota transplantation: effectiveness, complexities, and lingering concerns. *Mucosal Immunol* 2014; 7: 210-214 [PMID: 24399149 DOI: 10.1038/mi.2013.117]
- 46 Angelberger S, Reinisch W, Makristathis A, Lichtenberger C, Dejaco C, Papay P, Novacek G, Trauner M, Loy A, Berry D. Temporal bacterial community dynamics vary among ulcerative colitis patients after fecal microbiota transplantation. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 1620-1630 [PMID: 24060759 DOI: 10.1038/ajg.2013.257]
- 47 Rubin DT. Curbing our enthusiasm for fecal transplantation in ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 1631-1633 [PMID: 24091506 DOI: 10.1038/ajg.2013.279]
- 48 Pennisi E. Biomedicine. Cancer therapies use a little help from microbial friends. *Science* 2013; 342: 921 [PMID: 24264971 DOI: 10.1126/science.342.6161.921]
- 49 Singal AK, Fontana RJ. Meta-analysis: oral antiviral agents in adults with decompensated hepatitis B virus cirrhosis. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 35: 674-689 [PMID: 22257108 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04990.x]
- 50 Aroniadis OC, Brandt LJ. Intestinal microbiota and the efficacy of fecal microbiota transplantation in gastrointestinal disease. *Gastroenterol Hepatol (N Y)* 2014; 10: 230-237 [PMID: 24976806]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利





# 人参皂苷Rg1对结肠癌肿瘤在体外和体内的增殖抑制作用

张龙江, 周二付

张龙江, 河南中医学院第二附属医院肛肠科 河南省郑州市 450000

周二付, 河南中医学院第一附属医院肛肠科 河南省郑州市 450000

张龙江, 主任医师, 主要从事肛肠外科的研究.

作者贡献分布: 论文研究的设计、写作、资料收集、实验研究均由张龙江负责; 周二付负责文章的审核、校对以及论文写作指导.

通讯作者: 张龙江, 主任医师, 450000, 河南省郑州市东风路与园田路交叉口, 河南中医学院第二附属医院肛肠科.

jiangcaida99@126.com

电话: 0371-60905533

收稿日期: 2014-08-17 修回日期: 2014-09-11

接受日期: 2014-09-17 在线出版日期: 2014-10-28

## *In vitro* and *in vivo* inhibitory effects of ginsenoside Rg1 on proliferation of colon cancer cells

Long-Jiang Zhang, Er-Fu Zhou

Long-Jiang Zhang, Department of Anorectal Medicine, the Second Affiliated Hospital, He'nan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, He'nan Province, China

Er-Fu Zhou, Department of Anorectal Medicine, the First Affiliated Hospital, He'nan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, He'nan Province, China

Correspondence to: Long-Jiang Zhang, Chief Physician, Department of Anorectal Medicine, the Second Affiliated Hospital, He'nan College of Traditional Chinese Medicine, Dongfeng Road, Zhengzhou 45000, He'nan Province, China. jiangcaida99@126.com

Received: 2014-08-17 Revised: 2014-09-11

Accepted: 2014-09-17 Published online: 2014-10-28

## Abstract

**AIM:** To assess the inhibitory effects of ginsenoside Rg1 on colon cancer cell proliferation *in vivo* and *in vitro*, and to investigate the possible underlying mechanism.

**METHODS:** The proliferation of normal colon cells and colon cancer cells treated with different concentrations of ginsenoside Rg1 was assessed *in vitro*, and related protein expression was also detected. A mouse model of colon cancer was created, and model mice were given different concentrations of ginsenoside Rg1 by gavage administration. Tumor growth and related protein expression in tumor tissue were then measured.

**RESULTS:** Ginsenoside Rg1 could not only inhibit colon cancer cell proliferation and alter cell cycle progression *in vitro*, but also suppress tumor growth and decrease cancer growth related protein expression *in vivo*.

**CONCLUSION:** Ginsenoside Rg1 can inhibit colon cancer growth and proliferation effectively possibly by down-regulating the expression of cell cycle- and proliferation-related proteins.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Ginsenoside Rg1; Colon cancer; Cell cycle; Proliferation

Zhang LJ, Zhou EF. *In vitro* and *in vivo* inhibitory effects of ginsenoside Rg1 on proliferation of colon cancer cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(30): 4599-4603  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4599.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4599>

## 摘要

**目的:** 研究人参皂苷Rg1在体外和体内对结肠癌的增殖抑制作用, 并对其机制做初步探索.

**方法:** 体外比较正常结肠细胞与结肠癌细胞在添加不同浓度的人参皂苷Rg1以后细胞增殖情况差异, 并对细胞周期及相关蛋白进行检测; 对结肠癌模型小鼠灌胃给予人参皂苷Rg1, 检测小鼠结肠癌生长情况, 并对相关蛋白进行检测.

**结果:** 人参皂苷Rg1在体外能够特异性抑制肿瘤细胞增殖, 引起细胞周期改变, 在体内试验中也可以抑制肿瘤的生长, 且肿瘤生长相关蛋白表达降低.

**结论:** 人参皂苷Rg1能通过下调肿瘤细胞周期及增殖相关蛋白的表达从而有效的抑制结肠癌肿瘤的增殖与生长.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 人参皂苷Rg1; 结肠癌; 细胞周期; 增殖

## ■背景资料

目前, 结肠癌已经成为威胁人类健康最重要的恶性肿瘤之一, 尽管以手术、放疗、化疗等为主的治疗方式近年来发展迅速, 但由于结肠癌患者常发生远处转移, 目前结肠癌患者的5年生存率只有15%左右. 而采用中药配合化疗方法可减轻由其引起的多种不良反应, 增加化疗药物的疗效, 而且还可以提高机体免疫力和抗癌能力, 改善生活质量, 不良反应小, 易被患者接受.

## ■同行评议者

卢宁, 副主任医师, 中国人民解放军兰州军区乌鲁木齐总医院肿瘤科

## ■研发前沿

人参是我国一种传统的名贵中药材,具有良好的保健作用。目前,学者研究发现无论是其初提物,还是明确成分提取物,在抑制肿瘤等方面都有显著效果。其中人参的主要活性成分-人参皂苷Rg1具有抗氧化、促进记忆、增强免疫多种生物活性,近年来被证实可以抑制骨肉瘤细胞的发展,可抑制人乳腺癌细胞的体外增殖过程。

**核心提示:** 在使用药物Rg1分别处理结肠癌细胞SW480和正常结肠组织细胞CCD-18<sup>Co</sup>后发现,SW480结肠癌细胞的增殖明显受到抑制,而正常结肠组织细胞CCD-18<sup>Co</sup>则不受影响,进一步进行细胞周期分析发现,受Rg1处理后,SW480细胞中处于G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期的细胞增加,S期细胞减少,说明Rg1可能通过周期抑制进而特异性抑制肿瘤细胞的增殖。

张龙江,周二付. 人参皂苷Rg1对结肠癌肿瘤在体外和体内的增殖抑制作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(30): 4599-4603  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4599.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4599>

## 0 引言

目前,结肠癌已经成为威胁人类健康最重要的恶性肿瘤之一,尽管以手术、放疗、化疗等为主的治疗方式近年来发展迅速,但由于结肠癌患者常发生远处转移,目前结肠癌患者的5年生存率只有15%左右。而采用中药配合化疗方法可减轻由其引起的多种不良反应,增加化疗药物的疗效,而且还可以提高机体免疫力和抗癌能力,改善生活质量,不良反应小,易被患者接受。人参是我国一种传统的名贵中药材,具有良好的保健作用。目前,学者研究发现无论是其初提物<sup>[1,2]</sup>,还是明确成分提取物<sup>[3-5]</sup>,在抑制肿瘤等方面都有显著效果。其中人参的主要活性成分-人参皂苷Rg1具有抗氧化<sup>[6,7]</sup>、促进记忆<sup>[8-10]</sup>、增强免疫<sup>[11-13]</sup>多种生物活性,近年来被证实可以抑制骨肉瘤细胞的发展<sup>[14]</sup>,可抑制人乳腺癌细胞的体外增殖过程<sup>[15]</sup>,而其对结肠损伤的保护作用也已经被发现<sup>[16]</sup>,但其对于结肠癌是否具有治疗作用目前还未见深入报道。本研究选取人参皂苷的主要活性成分之一-Rg1,比较其对正常结肠细胞和结肠癌细胞抑制作用的差异,并对其机制进行细胞水平研究。通过建立结肠癌小鼠模型,给予人参皂苷治疗,观察人参皂苷对小鼠中肿瘤生长的影响,并对肿瘤组织中相关蛋白的表达进行检测,在动物水平进一步验证人参皂苷Rg1的抗肿瘤效果,为人参皂苷Rg1最终作为药物应用于抗肿瘤治疗奠定基础。

## ■相关报道

人参皂苷Rg1对结肠损伤的保护作用也已经被发现,但其对于结肠癌是否具有治疗作用目前还未见深入报道。

中科院上海细胞库;人参皂苷Rg1购自上海研拓生物科技有限公司;RPMI 1640、DMEM培养基购自GIBCO;FBS购自Hyclone。RIPA裂解液购自碧云天;血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)、细胞周期素D1(Cyclin D1)一抗和兔二抗均购自Abcam。

## 1.2 方法

**1.2.1 人参皂苷Rg1对人结肠正常细胞和结肠癌细胞的增殖抑制作用:** 人正常结肠组织细胞CCD-18<sup>Co</sup>,人结肠癌细胞SW480皆培养于含10%FBS的RPMI 1640培养基中,37℃、50 mL/L CO<sub>2</sub>浓度。分别取以上两种对数生长期细胞,分别以1×10<sup>5</sup> cells/mL接种于96孔板中,向实验组细胞分别添加5、10、20、40、80 μg/mL的人参皂苷Rg1,对照组添加无菌PBS。加药继续培养48 h后,换液处理,每孔加入5 mg/mL MTT 20 μL,37℃孵育4 h后吸去培养液,每孔加入150 μL DMSO,震荡混匀后置酶标仪(Thermo Fisher)上测定570 nm处吸光度(A)值。生长抑制率 = 1-药物组A值/对照组A值

**1.2.2 人参皂苷Rg1对人结肠正常细胞和结肠癌细胞周期的影响:** 取对数生长期的人正常结肠细胞CCD-18<sup>Co</sup>,人结肠癌细胞SW480细胞,分别以1×10<sup>5</sup> cells/mL接种于6孔板中,向实验组细胞添加10 μg/mL的人参皂苷Rg1,对照组添加无菌PBS。加药继续培养12 h后,0.25%胰酶室温消化2 min,消化终止后,PBS洗涤2遍后重悬,加入2 mL预冷的700 mL/L乙醇,冰上固定30 min后300 g离心去上清,加入200 μL guava cell cycle reagent(Milipore),37℃避光孵育30 min后上Guava流式细胞仪(Milipore)检测。

**1.2.3 人参皂苷Rg1对Lewis结肠癌模型小鼠作用影响:** 参考文献[17],将ct26细胞培养于含10%FBS的DMEM培养基中,37℃、50 mL/L CO<sub>2</sub>浓度,待细胞长至70%饱和度时,胰酶消化细胞,无菌PBS洗涤两次后制成密度为2×10<sup>7</sup> cells/mL的单细胞悬液,立即对每只实验小鼠左腋窝下皮进行注射接种,注射量为100 μL。接种5 d后,选取造模成功的小鼠40只,随机分为4组:100 mg/kg、200 mg/kg、300 mg/kg、400 mg/kg Rg1组,20 mL/kg生理盐水对照组,每组10只,每日清晨空腹灌胃给药。连续给药10 d后,然后放血法处死小鼠,剥离肿瘤。抑瘤率 = (模型组肿瘤平均重量-实验组肿瘤平均重量)/模型组肿瘤平均重量。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 实验动物C57BL/6小鼠60只,雌雄各半,6周龄,购自中国医学科学院实验动物研究所;人正常结肠组织细胞CCD-18<sup>Co</sup>、人结肠腺癌细胞SW480、小鼠Lewis结肠癌细胞ct26购自

表 1 不同浓度的人参皂苷Rg1对正常结肠细胞以及结肠癌细胞抑制率的影响 (mean ± SD, %)

分组	5 μg/mL	10 μg/mL	20 μg/mL	40 μg/mL	80 μg/mL
CCD-18 <sup>Co</sup> 组	3.2 ± 0.2	7.4 ± 0.2	6.4 ± 0.2	7.3 ± 0.2	7.2 ± 0.2
SW480组	7.3 ± 2.2	47.6 ± 2.2	45.1 ± 2.2	43.6 ± 2.2	32.3 ± 2.2

表 2 人参皂苷Rg1对结肠癌细胞和正常结肠细胞周期的影响 (mean ± SD, %)

分组	G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> 期	S期	G <sub>2</sub> 期
CCD-18 <sup>Co</sup> 对照组	64.0 ± 1.0	25.0 ± 1.0	11.0 ± 0.5
CCD-18 <sup>Co</sup> 实验组	68.0 ± 2.0	24.0 ± 1.0	8.0 ± 0.4
SW480对照组	57.0 ± 1.0	28.0 ± 2.0	15.0 ± 0.2
SW480实验组	71.0 ± 2.0	19.0 ± 1.0	10.0 ± 0.4

1.2.4 Western blot检测VEGF、PCNA、Cyclin D1等基因在蛋白水平的表达变化: 取剪切成细小碎片的肿瘤组织, 按照20 mg样品/200 μL RIPA裂解液的比加入裂解液, 裂解数分钟之前加入终浓度为1 mmol的PMSF, 裂解5 min后13000 g离心5 min, 取上清, 测定总蛋白浓度, 取每份样品20 μg蛋白质, SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白质. 将分离的条带电转移至PVDF膜上, 用5%脱脂奶粉(Wyeth)室温封闭2 h, 加入一抗, 4 °C孵育过夜, 加入辣根过氧化物酶标记的抗兔IgG二抗, 室温1 h, 用ECL化学发光底物显色, X线片曝光后显影定影, 以β-actin为对照。

**统计学处理** 采用SPSS19.0软件包进行统计学处理, 实验数据以mean ± SD表示, 进行方差分析和相关性分析,  $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 人参皂苷Rg1对人结肠正常细胞和结肠癌细胞的增殖抑制作用 对人正常结肠细胞CCD-18<sup>Co</sup>和人结肠癌细胞SW480细胞给予不同浓度的人参皂苷Rg1以后, 对细胞的抑制率如表1所示: 在添加不同浓度的人参皂苷Rg1后, 人正常结肠细胞受到抑制较小, 最大抑制率仅为7.4% ± 0.2%; 与MRC-5细胞相比, 人结肠癌细胞SPC-A-1生长则受到明显的抑制, 且在人参皂苷Rg1浓度为10 μg/mL时达到最大, 为47.6% ± 2.2%。

2.2 人参皂苷Rg1对人结肠正常细胞和结肠癌细胞周期的影响 对给药10 μg/mL的人参皂苷Rg1的实验组和添加无菌PBS的对照组的两种细胞进行周期检测, 结果如表2所示, 正常结肠细胞在Rg1处理后细胞周期改变不大, 而结肠癌细胞

SPC-A-1在Rg1处理后, G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期细胞显著增多, 而S期和G<sub>2</sub>期细胞不同程度减少。

2.3 人参皂苷Rg1处理前后结肠癌细胞中PCNA和Cyclin D1蛋白表达的变化 对给药浓度为10 μg/mL Rg1的该结肠癌细胞进行Western blot蛋白表达测定, 以β-actin为对照, 结果如图1所示, 在Rg1处理后, 促进细胞增殖的PCNA以及促使G<sub>1</sub>变短的Cyclin D1蛋白表都有所降低。

2.4 人参皂苷Rg1对Lewis结肠癌模型小鼠作用影响

2.4.1 不同浓度人参皂苷Rg1对Lewis结肠癌模型小鼠肿瘤生长的抑制作用: 与对照组相比, 在添加不同浓度的人参皂苷Rg1后, 小鼠肿瘤的大小均有所降低, 对肿瘤生长均呈现出抑制作用, 当给药浓度为100 mg/kg和200 mg/kg时, 肿瘤抑制率分别为5.2 ± 0.2和14.4 ± 0.2, 当给药浓度达到300 mg/kg之后, 肿瘤抑制率为26.4 ± 0.2, 可达最大抑制率25%左右, 此后再进一步加大给药剂量对肿瘤抑制率改变不大。

2.4.2 不同浓度人参皂苷Rg1对VEGF、PCNA、Cyclin D1基因等在蛋白水平的表达变化: 对给药浓度为300 mg/kg的小鼠肿瘤组织进行Western blot检测细胞中VEGF、PCNA、Cyclin D1蛋白的表达, 并与对照组进行比较, 结果如图2所示。由图2可知, 在给药后肿瘤细胞中VEGF、Cyclin D1以及PCNA的表达量都呈现出不同程度的下降, 说明在给予人参皂苷Rg1后, 对这3种蛋白的表达均有一定的抑制作用。

## 3 讨论

正常的细胞周期是细胞实现增殖的前提, 肿瘤细胞能够无限制的生长, 与其旺盛的代谢合成

### ■创新盘点

本研究选取人参皂苷的主要活性成分之一-Rg1, 比较其对正常结肠细胞和结肠癌细胞抑制作用的差异, 并对其机制进行细胞水平研究。通过建立结肠癌小鼠模型, 给予人参皂苷治疗, 观察人参皂苷对小鼠中肿瘤生长的影响, 并对肿瘤组织中相关蛋白的表达进行检测, 在动物水平进一步验证人参皂苷Rg1的抗肿瘤效果, 为人参皂苷Rg1最终作为药物应用于抗肿瘤治疗奠定基础。

### ■应用要点

在本研究中, 我们发现Rg1不仅在体外对结肠癌细胞具有特异性抑制作用, 产生结肠癌细胞G<sub>1</sub>期阻滞, 而且在体内试验中对肿瘤的生长于发展也起到同样的抑制作用, 并且下调肿瘤组织中细胞周期素D1(Cyclin D1)、增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen)以及血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor)3种蛋白的表达, 说明Rg1抑制促进肿瘤发生相关基因的表达可能是其抑制癌症的主要途径。



### ■名词解释

Cyclin D1: 含295个氨基酸, 由染色体11q13上的CCND1基因编码。其过度表达可使细胞G<sub>1</sub>期缩短, Cyclin D1蛋白表达增加主要见于一些原发性恶性肿瘤。

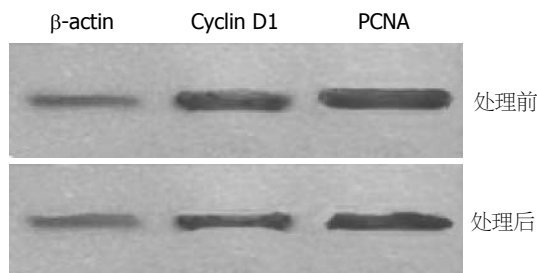


图1 人参皂苷Rg1处理对结肠癌细胞中PCNA和Cyclin D1蛋白表达的影响。PCNA: 增殖细胞核抗原; Cyclin D1: 细胞周期素D1。

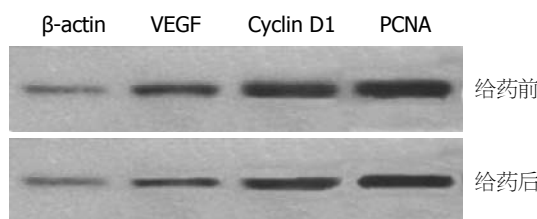


图2 人参皂苷Rg1对肿瘤组织中相关蛋白表达的影响。β-actin: β-肌动蛋白; VEGF: 血管内皮生长因子; Cyclin D1: 细胞周期素D1; PCNA: 增殖细胞核抗原。

密切相关。在使用药物Rg1分别处理结肠癌细胞SW480和正常结肠组织细胞CCD-18<sup>Co</sup>后发现, SW480结肠癌细胞的增殖明显受到抑制, 而正常结肠组织细胞CCD-18<sup>Co</sup>则不受影响, 进一步进行细胞周期分析发现, 受Rg1处理后, SW480细胞中处于G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期的细胞增加, S期细胞减少, 说明Rg1可能通过周期抑制进而特异性抑制肿瘤细胞的增殖。

Cyclin D1含295个氨基酸, 由染色体11q13上的CCND1基因编码。其过度表达可使细胞G<sub>1</sub>期缩短, Cyclin D1蛋白表达增加主要见于一些原发性恶性肿瘤; PCNA与细胞DNA合成关系密切, 在细胞增殖的启动上起重要作用, 是反映细胞增殖状态的良好指标; VEGF则是促进肿瘤血管生长最有效因子, 因此以其为靶点的抗癌药物一直是癌症研究的热点。在本研究中, 在对结肠癌模型小鼠给予人参皂苷Rg1后发现, 对小鼠肿瘤的生长都起到了一定的抑制作用, 进一步对肿瘤组织中的以上3种蛋白进行分析发现, 与对照相比, 他们的表达量都不同程度的有所降低, 这说明Rg1可能是通过抑制这3种基因的表达从而发挥其抑癌作用。

研究显示, 人参(山参)提取物可通过激活肿瘤抑制基因<sup>[18,19]</sup>、抑制NF-κB的核转运<sup>[2]</sup>来显示出抗结肠癌细胞活性的效用。在本研究中, 我们发现Rg1不仅在在体外对结肠癌细胞具有特

异性抑制作用, 产生结肠癌细胞G<sub>1</sub>期阻滞, 而且在体内试验中对肿瘤的生长于发展也起到同样的抑制作用, 并且下调肿瘤组织中Cyclin D1、PCNA以及VEGF 3种蛋白的表达, 说明Rg1抑制促进肿瘤发生相关基因的表达可能是其抑制癌症的主要途径。

### 4 参考文献

- Wong VK, Cheung SS, Li T, Jiang ZH, Wang JR, Dong H, Yi XQ, Zhou H, Liu L. Asian ginseng extract inhibits in vitro and in vivo growth of mouse lewis lung carcinoma via modulation of ERK-p53 and NF-κB signaling. *J Cell Biochem* 2010; 111: 899-910 [PMID: 20665661 DOI: 10.1002/jcb.22778]
- Hwang JW, Oh JH, Yoo HS, Lee YW, Cho CK, Kwon KR, Yoon JH, Park J, Her S, Lee ZW, Jang IS, Choi JS. Mountain ginseng extract exhibits anti-lung cancer activity by inhibiting the nuclear translocation of NF-κB. *Am J Chin Med* 2012; 40: 187-202 [PMID: 22298458 DOI: 10.1142/S0192415X12500152]
- Park TY, Park MH, Shin WC, Rhee MH, Seo DW, Cho JY, Kim HM. Anti-metastatic potential of ginsenoside Rp1, a novel ginsenoside derivative. *Biol Pharm Bull* 2008; 31: 1802-1805 [PMID: 18758081]
- Wang W, Rayburn ER, Hang J, Zhao Y, Wang H, Zhang R. Anti-lung cancer effects of novel ginsenoside 25-OCH(3)-PPD. *Lung Cancer* 2009; 65: 306-311 [PMID: 19131140 DOI: 10.1016/j.lungcan.2008.11.016]
- Xu TM, Cui MH, Xin Y, Gu LP, Jiang X, Su MM, Wang DD, Wang WJ. Inhibitory effect of ginsenoside Rg3 on ovarian cancer metastasis. *Chin Med J (Engl)* 2008; 121: 1394-1397 [PMID: 18959116]
- Liu Q, Kou JP, Yu BY. Ginsenoside Rg1 protects against hydrogen peroxide-induced cell death in PC12 cells via inhibiting NF-κB activation. *Neurochem Int* 2011; 58: 119-125 [PMID: 21078355 DOI: 10.1016/j.neuint.2010.11.004]
- Saw CL, Yang AY, Cheng DC, Boyanapalli SS, Su ZY, Khor TO, Gao S, Wang J, Jiang ZH, Kong AN. Pharmacodynamics of ginsenosides: antioxidant activities, activation of Nrf2, and potential synergistic effects of combinations. *Chem Res Toxicol* 2012; 25: 1574-1580 [PMID: 22780686 DOI: 10.1021/tx2005025]
- Chen ZY, DU TM, Chen SC. [Effects of ginsenoside Rg1 on learning and memory function and morphology of hippocampal neurons of rats with electrical hippocampal injuries]. *Nanfang Yike Daxue Xuebao* 2011; 31: 1039-1042 [PMID: 21690064]
- Fang F, Chen X, Huang T, Lue LF, Luddy JS, Yan SS. Multi-faced neuroprotective effects of Ginsenoside Rg1 in an Alzheimer mouse model. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1822: 286-292 [PMID: 22015470 DOI: 10.1016/j.bbdis.2011.10.004]
- Wu W, Yang JQ, He ZY. [Effect of ginsenoside Rg1 on the spatial learning-memory ability in dementia rats after transplanted with bone marrow mesenchymal stem cells]. *Zhongguo Zhongxiyi Jiehe Zazhi* 2011; 31: 799-802 [PMID: 21823427]
- Yu SH, Huang HY, Korivi M, Hsu MF, Huang CY, Hou CW, Chen CY, Kao CL, Lee RP, Lee SD, Kuo CH. Oral Rg1 supplementation strengthens antioxidant defense system against exercise-induced

- oxidative stress in rat skeletal muscles. *J Int Soc Sports Nutr* 2012; 9: 23 [PMID: 22607394 DOI: 10.1186/1550-2783-9-23]
- 12 Wu J, Pan Z, Wang Z, Zhu W, Shen Y, Cui R, Lin J, Yu H, Wang Q, Qian J, Yu Y, Zhu D, Lou Y. Ginsenoside Rg1 protection against  $\beta$ -amyloid peptide-induced neuronal apoptosis via estrogen receptor  $\alpha$  and glucocorticoid receptor-dependent anti-protein nitration pathway. *Neuropharmacology* 2012; 63: 349-361 [PMID: 22534050 DOI: 10.1016/j.neuropharm.2012.04.005]
- 13 Chen H, Yin J, Deng Y, Yang M, Xu L, Teng F, Li D, Cheng Y, Liu S, Wang D, Zhang T, Wu W, Liu X, Guan S, Jiang B, Guo D. The protective effects of ginsenoside Rg1 against hypertension target-organ damage in spontaneously hypertensive rats. *BMC Complement Altern Med* 2012; 12: 53 [PMID: 22533478 DOI: 10.1186/1472-6882-12-53]
- 14 Shi SL, Li QF, Liu QR, Xu DH, Tang J, Liang Y, Zhao ZL, Yang LM. Nuclear matrix protein, prohibitin, was down-regulated and translocated from nucleus to cytoplasm during the differentiation of osteosarcoma MG-63 cells induced by ginsenoside Rg1, cinnamic acid, and tanshinone IIA (RCT). *J Cell Biochem* 2009; 108: 926-934 [PMID: 19725052 DOI: 10.1002/jcb.22324]
- 15 Lau WS, Chen WF, Chan RY, Guo DA, Wong MS. Mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway mediates the oestrogen-like activities of ginsenoside Rg1 in human breast cancer (MCF-7) cells. *Br J Pharmacol* 2009; 156: 1136-1146 [PMID: 19298253 DOI: 10.1111/j.1476-5381.2009.00123.x]
- 16 Shen L, Han JZ, Li C, Yue SJ, Liu Y, Qin XQ, Liu HJ, Luo ZQ. Protective effect of ginsenoside Rg1 on glutamate-induced lung injury. *Acta Pharmacol Sin* 2007; 28: 392-397 [PMID: 17303002 DOI: 10.1111/j.1745-7254.2007.00511.x]
- 17 Liu X, Wu Z, Zuo S, Zhou Y, Chen Y, Wang X. [Establishment of orthotopic Lewis lung cancer model in mouse]. *Zhongguo Feiai Zazhi* 2010; 13: 42-47 [PMID: 20672703 DOI: 10.3779/j.issn.1009-3419.2010.01.08]
- 18 Wang Y, Ye X, Ma Z, Liang Q, Lu B, Tan H, Xiao C, Zhang B, Gao Y. Induction of cytochrome P450 1A1 expression by ginsenoside Rg1 and Rb1 in HepG2 cells. *Eur J Pharmacol* 2008; 601: 73-78 [PMID: 19022240 DOI: 10.1016/j.ejphar.2008.10.057]
- 19 Leung KW, Pon YL, Wong RN, Wong AS. Ginsenoside-Rg1 induces vascular endothelial growth factor expression through the glucocorticoid receptor-related phosphatidylinositol 3-kinase/Akt and beta-catenin/T-cell factor-dependent pathway in human endothelial cells. *J Biol Chem* 2006; 281: 36280-36288 [PMID: 17008323]

#### 同行评价

通过建立结肠癌小鼠模型,在动物水平进一步验证人参皂苷Rg1的抗肿瘤效果。内容客观,实验方法成熟,观点新颖,具有一定的科学意义。

编辑 韦元涛 电编 闫晋利



# ACCF及ACDF手术后患者食管功能障碍及护理干预

付红英, 李登凤, 蒲 静

## ■背景资料

颈椎综合征又称颈椎病, 脊髓型颈椎病(cervical spondylotic myelopathy, CSM)为严重型颈椎病, 他主要指颈椎椎体退化和其相邻软组织退变导致脊髓受到压迫及脊髓供血障碍, 进而引起相关脊髓功能障碍, 对于单节段及相邻两节段病变的CSM一般采用颈椎前路减压融合术治疗, 但患者术后可能发生食管功能障碍。

付红英, 李登凤, 蒲静, 贵州省人民医院外科(骨科) 贵州省贵阳市 550002

付红英, 副主任护师, 主要从事脊髓损伤患者早期康复指导、神经源性膀胱护理、慢性伤口治疗、老年病护理的研究。

作者贡献分布: 本文主要由付红英、李登凤及蒲静共同写作完成。

通讯作者: 付红英, 副主任护师, 550002, 贵州省贵阳市中山东路83号, 贵州省人民医院外科(骨科). fhy9261396@163.com

电话: 0851-5922979

收稿日期: 2014-08-07 修回日期: 2014-08-25

接受日期: 2014-09-03 在线出版日期: 2014-10-28

## Esophageal dysfunction after anterior cervical corpectomy and fusion or anterior cervical discectomy and fusion for cervical spondylotic myelopathy: Nursing intervention

Hong-Ying Fu, Deng-Feng Li, Jing Pu

Hong-Ying Fu, Deng-Feng Li, Jing Pu, Department of Orthopedics, Guizhou Provincial People's Hospital, Guiyang 550002, Guizhou Province, China

Correspondence to: Hong-Ying Fu, Associate Chief Nurse, Department of Orthopedics, Guizhou Provincial People's Hospital, 83 Zhongshan East Road, Guiyang 550002, Guizhou Province, China. fhy9261396@163.com

Received: 2014-08-07 Revised: 2014-08-25

Accepted: 2014-09-03 Published online: 2014-10-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the occurrence of esophageal dysfunction after anterior cervical corpectomy and fusion (ACCF) or anterior cervical discectomy and fusion (ACDF) for cervical spondylotic myelopathy (CSM) and the nursing intervention.

**METHODS:** Fifty-seven patients with CSM treated at our hospital from August 2009 to January 2011 were divided into either an ACCF group or a ACDF group to receive ACCF or ACDF, respectively. All patients also received nursing intervention before and after treatment.

**RESULTS:** The levels of JOA (Japanese Orthopaedic Association) score, height of fusion segments and Cobb's corner were improved significantly in both group ( $P < 0.05$ ), and the differ-

ences between the two groups had no significant differences ( $P > 0.05$ ). The rates of esophageal dysfunction at 6 mo and 1 year after treatment were improved in both groups ( $P < 0.05$ ), and the differences between the two groups had no significant differences (80.0% vs 85.2%,  $P > 0.05$ ; 90.0% vs 92.6%,  $P > 0.05$ ).

**CONCLUSION:** ACCF and ACDF are effective for CSM, and esophageal dysfunction may occur after surgery. Effective nursing intervention will lower the rate of esophageal dysfunction.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Cervical spondylotic myelopathy; Anterior cervical corpectomy and fusion; Anterior cervical discectomy and fusion; Nursing intervention; Esophageal dysfunction

Fu HY, Li DF, Pu J. Esophageal dysfunction after anterior cervical corpectomy and fusion or anterior cervical discectomy and fusion for cervical spondylotic myelopathy: Nursing intervention. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(30): 4604-4608 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4604.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4604>

## 摘要

**目的:** 研究脊髓型颈椎病(cervical spondylotic myelopathy, CSM)患者颈椎前路椎体次全切除减压融合术(anterior cervical corpectomy and fusion, ACCF)和颈椎前路椎间盘切除减压融合术(anterior cervical discectomy and fusion, ACDF)后食管功能障碍情况和护理干预效果。

**方法:** 选取2009-08/2011-01在贵州省人民医院接受治疗的CSM患者57例, 按手术分为ACCF组和ACDF组, ACCF组给予ACCF, ACDF组给予ACDF, 并手术前后给予护理干预, 观察治疗及护理效果。

**结果:** 两组患者治疗后JOA评分, 融合节段高度及Cobb's角均较治疗前有显著改善( $P < 0.05$ ), 但两组间无统计学差异( $P > 0.05$ )。两组患者治疗后各时间点食管功能正常率无统

## ■同行评议者

姜慧卿, 教授, 河北医科大学第二医院消化科; 卜平, 教授, 主任医师, 扬州大学医学院, 苏北人民医院消化内科308病区



计学差异( $P>0.05$ ), 而且治疗后6 mo及1年两组患者正常率均有显著性提高(80.0% vs 85.2%,  $P<0.05$ ; 90.0% vs 92.6%,  $P>0.05$ ).

**结论:** ACCF及ACDF均可有效治疗CSM, 而患者术后可能出现食管功能障碍, 但对患者给予有效的护理干预, 可使其食管功能障碍发生率降低.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 脊髓型颈椎病; 颈椎前路椎体次全切除减压融合术; 颈椎前路椎间盘切除减压融合术; 护理干预; 食管功能障碍

**核心提示:** 颈椎前路椎体次全切除减压融合术(anterior cervical corpectomy and fusion)和颈椎前路椎间盘切除减压融合术(anterior cervical discectomy and fusion)均为治疗脊髓型颈椎病(cervical spondylotic myelopathy)有效方法, 但手术后患者可能出现食管功能障碍等不良反应, 因此需对患者进行一定的护理干预, 以降低术后食管功能障碍发生率.

付红英, 李登凤, 蒲静. ACCF及ACDF手术后患者食管功能障碍及护理干预. 世界华人消化杂志 2014; 22(30): 4604-4608  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4604.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i30.4604>

## 0 引言

颈椎综合征又称颈椎病, 是指以退行病理改变为基础的疾病, 他是颈椎间盘脱出症, 颈椎关节炎及颈神经根综合征等的总称<sup>[1]</sup>. 脊髓型颈椎病(cervical spondylotic myelopathy, CSM)为严重型颈椎病, 他主要指颈椎椎体退化和其相邻软组织退变导致脊髓受到压迫及脊髓供血障碍, 进而引起相关脊髓功能障碍<sup>[2]</sup>. 一般来说CSM病症隐匿, 并具有较宽临床表现, 若不及时确诊及治疗, 将严重影响患者预后, 因此患者一旦确诊即需进行治疗, 以保证治疗效果. 临床上治疗CSM多用手术方法治疗, 虽然术式有多种, 但对于单节段及相邻两节段病变的CSM一般均采用颈椎前路减压融合术治疗<sup>[3,4]</sup>. 颈椎前路减压融合术的疗效已经临床实践充分检查, 但患者术后食管功能障碍却未引起足够关注. 食管功能障碍可能由术中食管损伤引起, 或其他原因引起, 这些食管功能障碍虽然病情较轻, 但对患者预后可产生一定影响<sup>[5]</sup>. 本文对贵州省人民医院收治的CSM患者分别进行颈椎前路椎体次全切除减

压融合术(anterior cervical corpectomy and fusion, ACCF)及颈椎前路椎间盘切除减压融合术(anterior cervical discectomy and fusion, ACDF), 并在手术前后针对食管功能障碍对患者给予了护理干预, 取得满意效果, 现报道如下.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2009-08/2011-01在贵州省人民医院接受治疗的CSM患者57例, 均经临床计算机断层扫描(computed tomography, CT)、核磁共振成像(nuclear magnetic resonance imaging, MRI)及X线片检查确诊为CSM, 且均为相邻两节段病变的CSM. 所有患者临床表现主要为四肢或双上肢麻木无力, 颈部僵硬, 行走不稳及四肢病理反射呈阳性等. 纳入标准<sup>[6]</sup>: (1)椎间盘为主要退变节段; (2)相邻两节段的压迫, 致压物为椎间盘等; (3)患者具有手术指征; (4)患者签署知情同意书. 排除标准: (1)合并其他严重心、肺、肝及肾等疾病患者; (2)伴有椎间隙高度明显狭窄, 明显节段不稳及后纵韧带骨化患者; (3)有颈椎手术史患者; (4)类风湿关节炎, 肿瘤及强制性脊柱炎累及颈椎患者; (5)术前后食管功能障碍患者; (6)合并其他可导致食管功能障碍疾病患者; (7)病例资料不完全患者. 根据患者术式, 将患者分为ACCF组及ACDF组. 其中ACCF组患者30例, 男16例, 女14例, 年龄35-71岁, 平均57.6岁 $\pm$ 4.3岁, 病程4 mo-9年, 平均2.3年 $\pm$ 0.5年, 累及C3-C5患者8例, C4-C6患者10例, C5-C7患者12例; ACDF患者27例, 男14例, 女13例, 年龄35-72岁, 平均57.1岁 $\pm$ 4.4岁, 病程4 mo-9年, 平均2.4年 $\pm$ 0.2年, 累及C3-C5患者6例, C4-C6患者9例, C5-C7患者12例. 两组患者在年龄、病程及病情等方面差异均无统计学意义( $P>0.05$ ), 具有可比性.

### 1.2 方法

**1.2.1 治疗:** 手术前所有患者均进行血常规、血生化、心电图、MRI及CT检查, 观察椎间盘退变情况、颈椎生理屈度情况. 所有患者均采用气管插管全身麻醉, 麻醉成功后患者平躺并取仰卧位, 垫高肩胛部并使患者颈部略后仰; 取颈前右侧斜切口或横切口, 依次切开皮肤, 皮下组织及颈阔肌等, 钝性分离内脏鞘, 血管神经鞘等, 显露椎体前部和椎间盘<sup>[7]</sup>. ACCF组患者采用ACCF: 在病变两端椎体安装椎体钉及机械撑开器, 同时固定撑开器; 切除椎间盘, 椎间盘组织和椎体软骨终板等, 清除椎体软骨板, 椎体骨赘及残留椎间盘组织等<sup>[8]</sup>; 暴露神经根和硬囊

## ■研究前沿

食管功能障碍为颈椎前路椎体次全切除减压融合术(anterior cervical corpectomy and fusion, ACCF)和颈椎前路椎间盘切除减压融合术(anterior cervical discectomy and fusion, ACDF)手术后常见不良反应, 可影响患者预后, 因此需进行针对性护理干预.

## ■相关报道

Bazaz等对颈椎前路手术后发生吞咽障碍患者进行统计和研究, 结果发现约50%患者术后发生吞咽障碍, 但吞咽障碍可时间推移逐步减轻, 术后6 mo吞咽障碍患者仅为18%, 而且均为轻度吞咽障碍。

表 1 两组患者治疗前后相关指标比较 (mean ± SD)

分组	n	JOA评分(分)		融合节段高度(mm)		Cobb's角(°)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
ACCF组	30	7.4 ± 1.1	10.6 ± 1.6	55.3 ± 7.9	56.8 ± 8.2	5.6 ± 0.7	8.8 ± 1.2
ACDF组	27	7.3 ± 1.3	10.2 ± 1.5	54.8 ± 7.6	57.1 ± 8.1	5.4 ± 0.6	8.5 ± 1.4
t值		0.773	0.116	1.033	0.481	0.371	0.881
P值		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

ACCF: 颈椎前路椎体次全切除减压融合术; ACDF: 颈椎前路椎间盘切除减压融合术; JOA: 日本骨科协会评估治疗分数。

表 2 两组患者食管功能障碍情况比较

时间	ACCF组	ACDF组	$\chi^2$ 值	P值
n	30	27		
治疗后1 wk			0.001	>0.05
正常	21	19		
轻度	4	4		
中度	3	2		
重度	2	2		
正常率(%)	70.0	70.4		
治疗后1 mo			0.004	>0.05
正常	22	20		
轻度	4	4		
中度	3	2		
重度	1	1		
正常率(%)	73.3	74.1		
治疗后6 mo			0.264	<0.05
正常	24	23		
轻度	5	3		
中度	1	1		
重度	0	0		
正常率(%)	80.0	85.2		
治疗后1年			0.119	<0.05
正常	27	25		
轻度	3	2		
中度	0	0		
重度	0	0		
正常率(%)	90.0	92.6		

ACCF: 颈椎前路椎体次全切除减压融合术; ACDF: 颈椎前路椎间盘切除减压融合术。

膜, 对椎体后壁和后纵韧带进行切除; 对椎体间距进行测量, 并取合适大小钛网, 填入椎体间骨槽, 取合适大小前路钢板并固定, 调整位置后用螺钉固定, 锁定螺钉完成手术<sup>[9]</sup>。ACDF患者患者采用ACDF: 在病变两端椎体安装椎体钉及机械撑开器, 同时固定撑开器, 切除椎间盘; 清除椎体后缘骨赘及髓核组织等致压物, 同时切除后纵韧带, 进行减压; 选择合适椎间融合器, 在椎

间融合器中加入自体骨; 将椎间融合器插入椎间隙, 并取合适大小前路钢板并固定, 调整位置后用螺钉固定, 锁定螺钉完成手术。术后用生理盐水冲洗切口, 放置负压引流管, 24-48 h内拔出; 常规使用抗生素1-3 d, 佩戴颈托保护并进行康复训练。

1.2.2 护理: 术前护理: (1)适应性练习: 护理人员指导患者进行咳嗽, 翻身及床上大小便练习; 患者每日进行颈椎过伸位练习, 1 h/次, 1次/d, 以尽快适应手术; 护理人员指导患者进行床上饮食练习, 患者取卧床位进行摄食, 在练习过程中逐渐降低床头高度<sup>[10,11]</sup>; (2)气管推移练习: 练习方法为患者用手指在食管气管, 血管神经鞘之间按入, 逐渐推移并用力, 开始持续时间为5-10 min, 后可逐步增加持续时间, 以增加耐受性; 在练习前护理人员亲自示范, 并为患者讲解动作要领及注意事项; 患者在练习时护理人员可向患者说明练习目的, 这可减少术后食管障碍及吞咽功能障碍发生率, 以增强患者信心; (3)心理护理: 手术前护理人员向患者及其家属讲解手术方法及过程, 使其对手术有所了解并做好充分准备; 对于有紧张及恐惧等不良情绪患者, 护理人员可加强与患者沟通, 鼓励和支持患者并向其介绍成功案例, 帮助患者树立信心。术后护理: (1)术后观察: 手术后观察患者声音, 吞咽情况, 若患者出现吞咽困难, 声调降低等情况, 则说明患者喉部相关神经受到损伤, 并及时通知主治医师进行进一步治疗; (2)颈部制动: 所有患者手术后颈部垫放颈椎枕, 保持患者颈椎中位, 也可在颈椎两侧放置沙袋以防颈椎左右摆动, 影响手术效果<sup>[12]</sup>; (3)功能锻炼: 手术后3-4 wk护理人员即可指导患者进行颈部功能锻炼, 如进行颈部肌肉多方向旋转等; 护理人员也需治疗患者进行吞咽功能锻炼, 如控制吞咽速度、力量等。所有患者术后10-20 mo。

1.2.3 效果评价: 采用改良日本骨科协会评估治

疗分数(Japanese Orthopaedic Association Scores, JOA)评分对患者手术前后神经功能进行评价, 记录患者手术前后融合节段高度及Cobb's角, 并对患者手术前后食管功能障碍进行评价, 正常: 患者进食液体和固体均无障碍; 轻度: 患者进食液体无障碍, 但进食固体偶尔出现障碍; 中度: 患者进食液体偶尔出现障碍, 且进食特殊食物偶尔出现障碍; 重度: 患者进食液体偶尔出现障碍, 且进食特殊食物经常出现障碍<sup>[13]</sup>.

**统计学处理** 应用SPSS11.0进行数据统计与分析, 计量资料采用 $t$ 检验, 计数资料采用 $\chi^2$ 检验,  $P<0.05$ 为差异具有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 两组患者治疗前后相关指标比较** 两组患者治疗前后相关指标比较如表1. 治疗后两组患者JOA评分、融合节段高度及Cobb's角均较治疗前有显著改善, 而两组患者治疗前后JOA评分、融合节段高度及Cobb's角差异无统计学意义( $P>0.05$ ).

**2.2 两组患者食管功能障碍情况比较** 两组患者食管功能障碍情况比较如表2. 两组患者各时间点食管功能正常率差异无统计学意义( $P>0.05$ ), 而且治疗后6 mo及1年两组患者正常率均有所提高, 且差异具有统计学意义( $P<0.05$ ).

## 3 讨论

CSM为骨科严重疾病, 一般以相邻两节段病变为多见. CSM病理特点主要为患者病变部位椎间盘及椎骨压迫椎间隙等. 临床实践充分证明对于CSM应及早进行手术治疗, 解除神经根及脊髓的压迫, 控制疾病进一步发展.

手术治疗CSM后患者发生食管功能障碍或吞咽障碍为不可避免的话题. Smith-Hammond等<sup>[14]</sup>比较了颈椎前路手术, 颈椎前路手术及腰椎后路手术后患者食管功能障碍发生率情况, 结果发现颈椎后路手术后患者食管功能障碍发生率为20%, 而颈椎前路手术后则为60%, 但腰椎后路手术后则为0%, 因此Smith-Hammond等<sup>[14]</sup>认为这些手术后食管功能障碍主要发生原因为手术后颈椎整体屈度的改变. Bazaz等<sup>[15]</sup>对颈椎前路手术后发生吞咽障碍患者进行统计和研究, 结果发现约50%患者术后发生吞咽障碍, 但吞咽障碍可时间推移逐步减轻, 术后6 mo吞咽障碍患者仅为18%, 而且均为轻度吞咽障碍<sup>[16]</sup>. 以上研究可得出结论颈椎前路手

术后患者发生食管障碍或吞咽障碍的可能性较高, 且不可避免, 但可通过一定术后康复练习减轻症状. 目前临床普遍认为颈椎前路手术后发生食管障碍或吞咽障碍原因主要为局部血肿形成, 术中持续对食管牵拉, 软组织损伤及相关神经损伤导致食管肌肉收缩障碍等<sup>[17]</sup>.

本文纳入研究患者57例, 均为相邻两节段病变的CSM患者, 我们对这些进行了ACCF及ACDF, 手术后发现两组患者间JOA评分, 融合节段高度及Cobb's角等无统计学差异, 这说明两种术式均可有效治疗CSM, 且疗效差异不大, 至少在本文研究中两种术式疗效差异不大. 因多数临床研究已发现ACCF及ACDF后患者发生食管障碍或吞咽障碍可能性较高, 因此本文研究中我们在手术前后对患者进行了针对性护理干预, 主要有术前适应性练习、气管推移练习、术后颈部制动、术后颈部功能练习等. 虽然术前对患者给予了一定护理干预, 但患者术后也发生了食管障碍情况, 其中ACCF组为30%, ACDF组为29.6%, 两组间无统计学差异. 虽然患者术后发生了食管功能障碍, 但可以肯定随着时间推移食管功能障碍显著减轻, 这说明手术前后护理干预可能可降低食管障碍发生率及促进食管恢复, 但未有足够理由说明护理干预在降低食管障碍发生率及促进食管恢复有明显作用, 因为本文因资源, 时间及伦理等方面限制未设置对照组.

总之, ACCF及ACDF均可有效治疗CSM, 而患者术后可能出现食管功能障碍, 但对患者给予有效的护理干预, 可使其食管功能障碍发生率降低.

## 4 参考文献

- 1 陈常华. 两种前路减压融合方式治疗双节段脊髓型颈椎病的疗效分析. 局解手术学杂志 2014; 23: 262-264
- 2 Yamazaki T, Yasuda S, Uemura K, Matsumura A. New instrument for creating bone graft cavities for anterior cervical decompression and fusion: the anterior fusion spinal fork. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 2012; 52: 691-694 [PMID: 23006889 DOI: 10.2176/nmc.52.691]
- 3 Chang SW, Kakarla UK, Maughan PH, DeSanto J, Fox D, Theodore N, Dickman CA, Papadopoulos S, Sonntag VK. Four-level anterior cervical discectomy and fusion with plate fixation: radiographic and clinical results. *Neurosurgery* 2010; 66: 639-46; discussion 646-7 [PMID: 20305488 DOI: 10.1227/01.NEU.0000367449.60796.94]
- 4 祁敏, 梁磊, 陈华江, 杨立利, 康健, 王建喜, 袁文. ACDF术式中采用Zero-p颈椎椎间融合器置入治疗颈椎病的临床学习曲线. *中国矫形外科杂志* 2013; 21: 213-216

### ■应用要点

ACCF及ACDF均可有效治疗CSM, 而患者术后可能出现食管功能障碍, 但对患者给予有效的护理干预, 可使其食管功能障碍发生率降低.



## ■同行评价

本文为ACCF及ACDF前后针对食管功能障碍的护理干预效果提供一定依据。

- 5 路秦龙, 郑锴, 张鹏. 术前肠内营养对食管狭窄食管癌患者术后感染及营养指标的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21: 2434-2439
- 6 黄小东, 方诗元, 王叙进, 孙建皖, 徐磊. 两种前路减压术治疗相邻两节段脊髓型颈椎病的疗效比较. 安徽医药 2014; 35: 450-453
- 7 Cunningham MR, Hershman S, Bendo J. Systematic review of cohort studies comparing surgical treatments for cervical spondylotic myelopathy. *Spine (Phila Pa 1976)* 2010; 35: 537-543 [PMID: 20190625 DOI: 10.1097/BRS.0b013e3181b204cc]
- 8 杨小奇, 齐新生, 茅治湘, 赵锡江. 颈前路椎间盘切除减压融合术与椎体次全切除减压融合术治疗多节段脊髓型颈椎病疗效比较. 中国医师进修杂志 2013; 36: 30-33
- 9 Stachniak JB, Diebner JD, Brunk ES, Speed SM. Analysis of prevertebral soft-tissue swelling and dysphagia in multilevel anterior cervical discectomy and fusion with recombinant human bone morphogenetic protein-2 in patients at risk for pseudarthrosis. *J Neurosurg Spine* 2011; 14: 244-249 [PMID: 21184639 DOI: 10.3171/2010.9.SPINE09828]
- 10 陈陪能, 杨骏. 椎间盘镜下颈前路椎间盘切除减压、植骨融合内固定术的围手术期护理. 国际护理学杂志 2010; 29: 1347-1349
- 11 杜杏利, 胡丽敏, 阮娜, 李锋. 人工颈椎间盘置换术与颈前路减压植骨融合术的护理差异及近期疗效. 护理学杂志 2009; 24: 50-52
- 12 窦锐, 曹艳霞, 金秀均, 吕卫新. 前路脊髓减压植骨融合内固定治疗脊髓型颈椎病的术后临床护理. 中国医药导报 2014; 11: 13-15
- 13 Kang SH, Kim DK, Seo KM, Kim KT, Kim YB. Multi-level spinal fusion and postoperative pre-vertebral thickness increase the risk of dysphagia after anterior cervical spine surgery. *J Clin Neurosci* 2011; 18: 1369-1373 [PMID: 21798743 DOI: 10.1016/j.jocn.2011.02.033]
- 14 Smith-Hammond CA, New KC, Pietrobon R, Curtis DJ, Scharver CH, Turner DA. Prospective analysis of incidence and risk factors of dysphagia in spine surgery patients: comparison of anterior cervical, posterior cervical, and lumbar procedures. *Spine (Phila Pa 1976)* 2004; 29: 1441-1446 [PMID: 15223936]
- 15 Bazaz R, Lee MJ, Yoo JU. Incidence of dysphagia after anterior cervical spine surgery: a prospective study. *Spine (Phila Pa 1976)* 2002; 27: 2453-2458 [PMID: 12435974]
- 16 杨朝晖, 吴险峰, 邹磊. 前路减压植骨融合内固定术治疗颈椎间盘突出症的疗效分析. 安徽医学 2013; 34: 22-24
- 17 宋科冉, 袁文, 王新伟. 椎体次全切除与椎间隙减压治疗多阶段颈椎病的疗效比较. 脊柱外科杂志 2011; 9: 102-107

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



# 食管鳞状细胞癌组织中S100A11、14-3-3的表达及临床意义

张玉洁, 杜强, 朱丽娟, 张艳, 李晓梅, 蒲红伟, 陈晓

张玉洁, 杜强, 克孜勒苏自治州人民医院病理科 新疆维吾尔自治区阿图什市 845350

朱丽娟, 李晓梅, 新疆医科大学厚博学院病理学教研室 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830011

张艳, 蒲红伟, 陈晓, 新疆医科大学基础医学院病理学教研室 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830011

国家自然科学基金资助项目, No. 81360303

作者贡献分布: 张玉洁与陈晓对此文所作贡献均等; 此课题由陈晓、张玉洁及朱丽娟设计; 研究过程由张玉洁、杜强、朱丽娟、张艳、李晓梅、蒲红伟及陈晓完成; 分析工具由张艳与李晓梅提供; 数据分析朱丽娟、张玉洁、张艳及陈晓完成; 论文写作张玉洁、朱丽娟及陈晓完成。

通讯作者: 陈晓, 教授, 830011, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市新医路393号, 新疆医科大学基础医学院病理学教研室。

xjchenxiao@sina.com

电话: 0991-4361759

收稿日期: 2014-06-12 修回日期: 2014-07-18

接受日期: 2014-07-31 在线出版日期: 2014-10-28

## Significance of expression of S100A11 and 14-3-3 proteins in esophageal squamous cell carcinoma

Yu-Jie Zhang, Qiang Du, Li-Juan Zhu, Yan Zhang, Xiao-Mei Li, Hong-Wei Pu, Xiao Chen

Yu-Jie Zhang, Qiang Du, Department of Pathology, Kezilesu People's Hospital, Atushi 845350, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Li-Juan Zhu, Xiao-Mei Li, Department of Pathology, Bohou College of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Yan Zhang, Hong-Wei Pu, Xiao Chen, Department of Pathology, School of Basic Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China  
Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81360303

Correspondence to: Xiao Chen, Professor, Department of Pathology, School of Basic Medicine, Xinjiang Medical University, 393 Xinyi Road, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. xjchenxiao@sina.com

Received: 2014-06-12 Revised: 2014-07-18

Accepted: 2014-07-31 Published online: 2014-10-28

## Abstract

**AIM:** To determine the correlation between invasion, migration and prognosis of esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) and expression of S100A11 and 14-3-3 proteins.

**METHODS:** Sixty-eight previously untreated pa-

tients who underwent surgical excision of ESCC were included. The expression of S100A11 and 14-3-3 proteins was examined immunohistochemically in formalin-fixed paraffin-embedded primary tissue specimens. The relationships between the expression of S100A11 and 14-3-3 proteins, the clinicopathologic features of ESCC, and the survival rate of ESCC patients were analyzed. The correlation between S100A11 and 14-3-3 protein expression in ESCC was also analyzed.

**RESULTS:** The positive rates of S100A11 and 14-3-3 protein expression were significantly higher in ESCC than in normal esophageal tissues (55.9% vs 25.0%, 69.1% vs 33.3%,  $P < 0.05$ ). S100A11 expression showed no significant correlation with gender, age, ethnicity, tumor size or infiltration depth ( $P > 0.05$ ), but was significantly correlated with degree of differentiation, lymph node metastasis and clinical stage ( $P < 0.05$ ). 14-3-3 expression showed no significant correlation with gender, age, ethnicity, or tumor size ( $P > 0.05$ ), but was significantly correlated with degree of differentiation, depth of infiltration, lymph node metastasis and clinical stage ( $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** S100A11 and 14-3-3 may play a role in the occurrence and development of ESCC. The expression of S100A11 and 14-3-3 is significantly related to tumor differentiation, lymph node metastasis and clinical stage, and they may be used to assess the malignant degree of ESCC.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Esophageal squamous cell carcinoma; S100A11; 14-3-3

Zhang YJ, Du Q, Zhu LJ, Zhang Y, Li XM, Pu HW, Chen X. Significance of expression of S100A11 and 14-3-3 proteins in esophageal squamous cell carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(30): 4609-4614 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4609.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i30.4609>

## ■背景资料

新疆哈萨克族食管癌具有明显的地区性和家族聚集性, 食管癌成为本地区重点防治的恶性肿瘤。多年来对新疆食管癌流行了多学科的研究, 发现食管癌是多因素作用, 多基因参与, 多阶段发展的疾病。在分子生物学研究, 尤其标志物研究没有突破。

## ■同行评议者

卢晓梅, 教授, 研究员, 新疆医科大学第一附属医院临床医学研究院

## ■研发前沿

S100A11在肿瘤进展中的作用越来越受到关注. 关于14-3-3蛋白 $\epsilon$ 在肿瘤中的作用机制, 目前国内外的报道尚不多. 14-3-3蛋白参与细胞生长、细胞分化、细胞凋亡、信号转导、蛋白跨膜转运等重要的生命活动调节的过程, 并有重要的影响作用.

## 摘要

**目的:** 研究食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)组织中S100A11、14-3-3的表达及其临床意义.

**方法:** 应用免疫组织化学SP法检测68例ESCC组织和48例癌旁切端正常食管组织, 观察S100A11、14-3-3的表达, 并应用统计学方法分析其表达与临床病理学指标的意义.

**结果:** (1)ESCC组织中S100A11、14-3-3蛋白的阳性表达率分别为: 55.9%(38/68)、69.1%(47/68). 正常食管组织中阳性表达率分别为: 25.0%(12/48)、33.3%(16/48), 经比较差异均有统计学意义( $P<0.05$ ); (2)ESCC组织中S100A11在不同性别、年龄、民族、肿瘤大小及不同浸润深度组之间的表达差异无统计学意义( $P>0.05$ ); 在不同分化程度、有无淋巴结转移及不同临床分期组之间的表达差异有统计学意义( $P<0.05$ ); (3)ESCC组织中14-3-3在不同性别、年龄、民族及不同肿瘤大小组之间的表达差异无统计学意义( $P>0.05$ ); 在不同分化程度、不同浸润深度、有无淋巴结转移及不同临床分期组之间的表达差异有统计学意义( $P<0.05$ ).

**结论:** 提示S100A11、14-3-3在ESCC的发生和发展中可能起到一定作用. S100A11、14-3-3在不同分化程度、有无淋巴结转移及不同临床分期组之间的表达均有显著差异, 提示S100A11、14-3-3可能对ESCC恶性程度判断有一定的指导意义.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 食管鳞状细胞癌; S100A11; 14-3-3

**核心提示:** 多年来对新疆食管癌流行病学、病因发病学进行了多学科的研究, 发现食管癌是多因素作用、多基因参与、多阶段发展的疾病.

张玉洁, 杜强, 朱丽娟, 张艳, 李晓梅, 蒲红伟, 陈晓. 食管鳞状细胞癌组织中S100A11、14-3-3的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(30): 4609-4614 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4609.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i30.4609>

## ■相关报道

研究表明S100A11与肾癌、乳腺癌、直肠癌、膀胱癌、前列腺癌、肺癌、胃癌及脑损伤的发生发展相关. 相关研究提示食管鳞癌组织中14-3-3表达与临床病理因素及预后有相关性.

食管癌大多已处于晚期, 整体治疗效果仍不理想. 新疆作为多民族聚集地, 是食管癌高发区, 其中哈萨克族人群发病率最高, 达155.9/10万, 远高于全国平均水平14.95/10万. 食管癌就诊时常处于中晚期, 尚无有效的治疗手段, 5年生存率仅为5%-13%<sup>[1]</sup>. 新疆哈萨克族食管癌具有明显的地区性和家族聚集性, 食管癌成为本地区重点防治的恶性肿瘤. 多年来对新疆食管癌流行病学、病因发病学进行了多学科的研究, 发现食管癌是多因素作用, 多基因参与, 多阶段发展的疾病. 在分子生物学研究, 尤其标志物研究没有突破.

食管癌的确切病因不明, 在食管癌发生发展中最为关键的致病环节仍未能完全解释. S100A11蛋白参与细胞增殖、细胞分化、细胞凋亡以及癌症的形成和进展<sup>[2]</sup>. S100A11在肿瘤进展中的作用越来越受到关注, 研究结果表明S100A11与肾癌、乳腺癌、直肠癌、膀胱癌、前列腺癌、肺癌、胃癌及脑损伤的发生发展相关<sup>[2]</sup>. 此外S100A11还可作为P21的通路蛋白引起细胞生长负性调控因子P21CIP1/WAF1表达增强抑制细胞内DNA的合成从而间接抑制肿瘤的发生发展. 目前已经证实200多种蛋白与14-3-3家族成员之间存在相互作用, 14-3-3蛋白与其靶分子的相互作用有赖于14-3-3结合域的识别及14-3-3靶分子的丝氨酸/苏氨酸磷酸化. 该家族可以和许多信号蛋白, 包括激酶、磷酸酶和跨膜受体等结合, 在信号传导、细胞周期以及细胞凋亡的调控等方面发挥重要作用. 在14-3-3蛋白的7个亚型中, 目前已知14-3-3蛋白 $\epsilon$ 和肿瘤的发生密切相关, 关于14-3-3蛋白 $\epsilon$ 在肿瘤中的作用机制, 目前国内外的报道尚不多. 14-3-3蛋白参与细胞生长、细胞分化、细胞凋亡、信号转导、蛋白跨膜转运等重要的生命活动调节的过程, 并有重要的影响作用<sup>[3]</sup>.

本研究应用免疫组织化学法检测68例食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)组织中S100A11、14-3-3的表达, 另外选取48例正常癌旁组织作为对照. 并应用统计学方法分析表达与临床病理学指标的关系, 为食管癌的恶性程度和预后判断奠定理论基础.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集新疆医科大学第一附属医院病理科2011-09/2013-05经手术切除, 并且病理诊断确诊为ESCC的石蜡包埋组织68例, 其中男35例, 女33例; 年龄<50岁17例, 年龄 $\geq$ 50岁51例; 哈萨

## 0 引言

食管癌是我国常见的恶性肿瘤之一. 尽管在食管癌的基础和临床医疗方面进行了大量的研究, 但由于食管癌早期无明显症状, 临床上诊断的



表 1 S100A11在食管鳞状细胞癌组织和食管正常黏膜组织中的表达

分组	<i>n</i>	阳性( <i>n</i> )	阳性率(%)	$\chi^2$ 值	<i>P</i> 值
食管鳞癌组织	68	38	55.9	10.942	0.001
正常食管黏膜	48	12	25.0		

表 2 14-3-3在食管鳞状细胞癌组织和食管正常黏膜组织中的表达

分组	<i>n</i>	阳性( <i>n</i> )	阳性率(%)	$\chi^2$ 值	<i>P</i> 值
食管鳞癌组织	68	47	69.1	14.520	0.000
正常食管黏膜	48	16	33.3		

## ■创新盘点

提示S100A11、14-3-3在ESCC的发生和发展中可能起到一定作用。S100A11、14-3-3在不同分化程度、有无淋巴结转移及不同临床分期组之间的表达均有显著差异,提示S100A11、14-3-3可能对ESCC恶性程度判断有一定的指导意义。

克族病例36例,汉族病例32例;肿瘤<5cm 27例,肿瘤≥5cm 41例;高分化鳞癌24例,中分化鳞癌33例,低分化鳞癌11例;肿瘤浸润结食管黏膜层或黏膜下层5例,肿瘤浸润食管肌层26例,肿瘤浸润结食管浆膜层有37例;有淋巴结转移的病例52例,无淋巴结转移的病例16例。另外选取48例正常癌旁组织。收集病例获取所有患者性别、年龄、民族等基本信息,建立完整的数据资料,并由两位高年资经验丰富的病理医师指导收集病理标本、阅片。这项研究经国家自然科学基金支持,通过本院的医学伦理委员会审查,向研究中涉及的参与人员解释,并签署知情同意文件。

## 1.2 方法

1.2.1 S100A11、14-3-3检测:采用SP免疫组织化学三步法进行S100A11、14-3-3检测,步骤严格按照试剂盒操作说明。步骤如下:石蜡切片逐级脱蜡、水化至水,用30 mL/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>室温下孵育20 min(封闭内源性过氧化物酶),PBS漂洗。将切片置于pH 6.0的枸橼酸盐缓冲液中,微波炉加热修复抗原20 min(温度控制在95℃-100℃),取出自然冷却至室温后,用PBS漂洗。滴加一抗,置于湿盒内,4℃冰箱过夜。同法冲洗切片,DAB显色,置于湿盒中,自来水终止显色反应,切片苏木素复染,盐酸乙醇分化返蓝,脱水封片。

1.2.2 染色结果判断: S100A11、14-3-3的阳性表达主要位于细胞胞浆。迈新公司赠送的阳性切片作阳性对照,结果判定标准:随机计数10个高倍镜视野下的阳性细胞数。胞浆内的棕黄色或棕褐色颗粒为S100A11和14-3-3的阳性细胞。

**统计学处理** 采用SPSS17.0统计软件包分析处理数据,分析性别、年龄、民族、肿瘤大小、分化程度、浸润深度、淋巴结转移情况。用 $\chi^2$ 检验对实验数据结果进行分析,检验水准 $\alpha$

= 0.05。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 S100A11在ESCC组织和食管正常黏膜组织中的表达 在68例食管鳞癌患者组织中, S100A11蛋白的阳性表达率为55.9%(38/68), 在48例食管正常黏膜组织中S100A11蛋白的阳性表达率为25.0%(12/48), S100A11蛋白在食管鳞癌患者组织中的阳性表达明显高于在食管正常黏膜组织中的阳性表达, 两组之间差异有统计学意义( $P < 0.05$ )(表1)。

2.2 14-3-3在ESCC组织和食管正常黏膜组织中的表达 在68例食管鳞癌患者组织中, 14-3-3蛋白的阳性表达率为69.1%(47/68), 在48例食管正常黏膜组织中14-3-3蛋白的阳性表达率为33.3%(16/48), 14-3-3蛋白在食管鳞癌患者组织中的阳性表达明显高于在食管正常黏膜组织中的阳性表达, 两组之间差异有统计学意义( $P < 0.05$ )(表2)。

2.3 ESCC组织中S100A11蛋白表达与临床病理学参数之间的关系 在高、中和低分化组患者组织中S100A11的阳性表达率分别为29.2%、63.6%和90.9%, 3组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。表明S100A11的表达可能与食管癌组织的分化程度有关, 提示表达率高恶性程度高, 与预后相关。在有和无淋巴结转移组食管鳞癌患者组织中, S100A11的阳性表达率分别为25.0%和65.4%, 两组之间差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 表明S100A11的表达与食管癌组织的淋巴结转移有关。在性别、年龄、民族、肿瘤大小、浸润深度各组比较, 差异无统计学意义(表3)。

2.4 ESCC组织中14-3-3蛋白表达与临床病理学参数之间的关系 在高分化、中分化和低分化

## ■应用要点

提示S100A11在ESCC的发生和发展中可能起一定作用,并且对ESCC恶性程度判断有一定的指导意义,进一步随访研究有望成为判断预后的标志物。

表 3 S100A11蛋白在食管癌组织表达与临床病理学参数之间的关系

临床病理参数	n	S100A11		
		阳性(%)	$\chi^2$ 值	P值
性别			0.496	0.481
男	35	21(60.0)		
女	33	17(51.5)		
年龄(岁)			1.988	0.159
<50	17	12(70.6)		
≥50	51	26(51.0)		
民族			0.003	0.574
哈族	36	20(55.6)		
汉族	32	18(56.3)		
肿瘤大小(cm)			0.002	0.965
<5	27	15(55.6)		
≥5	41	23(56.1)		
分化程度			13.231	0.001
高分化	24	7(29.2)		
中分化	33	21(63.6)		
低分化	11	10(90.9)		
浸润深度			0.558	0.757
黏膜及黏膜下层	5	2(40.0)		
肌层	26	15(57.7)		
浆膜层	37	21(56.8)		
淋巴结转移			8.094	0.004
无	16	4(25.0)		
有	52	34(65.4)		

表 4 14-3-3蛋白在食管癌组织表达与临床病理学参数之间的关系

临床病理参数	n	14-3-3		
		阳性(%)	$\chi^2$ 值	P值
性别			0.181	0.671
男	35	25(71.4)		
女	33	22(66.7)		
年龄(岁)			0.207	0.649
<50	17	11(64.7)		
≥50	51	36(70.6)		
民族			0.004	0.579
哈族	36	25(69.4)		
汉族	32	22(68.8)		
肿瘤大小(cm)			0.126	0.723
<5	27	18(66.7)		
≥5	41	29(70.7)		
分化程度			14.832	0.001
高分化	24	10(41.7)		
中分化	33	26(78.8)		
低分化	11	11(100)		
浸润深度			8.375	0.015
黏膜及黏膜下层	5	3(60.0)		
肌层	26	13(50.5)		
浆膜层	37	31(83.8)		
淋巴结转移			7.958	0.005
无	16	6(37.5)		
有	52	41(78.8)		

食管癌患者组织中14-3-3蛋白的阳性表达率分别为41.7%、78.8%和100.0%,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),表明14-3-3的表达可能与食管癌组织的分化程度有关,提示表达率高恶性程度高,与预后相关。在不同浸润深度食管癌患者组织中14-3-3的阳性表达率分别为60.0%、50.5%和83.8%,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),表明14-3-3蛋白的表达可能与食管癌组织的浸润程度有关。在有淋巴结转移和无淋巴结转移食管癌患者组织中14-3-3蛋白的阳性表达率分别为37.5%和78.8%,两组之间差异有统计学意义( $P<0.05$ ),表明14-3-3蛋白的表达可能与食管癌组织的淋巴结转移有关。在性别、年龄、民族、肿瘤大小各组比较,差异无统计学意义(表4)。

## 3 讨论

S100蛋白是分子量较小(9-13 kDa)的钙结合蛋白家族,其与 $\text{Ca}^{2+}$ 结合后, S100蛋白构象发生改变使之能与靶蛋白结合,结合后发挥其生物学效应<sup>[4]</sup>。目前已知S100蛋白在细胞内外都有重要功能:如细胞内调节蛋白质磷酸化(S100A4)、

调节酶活性(S100A1、S100A11、S100B)、调节 $\text{Ca}^{2+}$ 稳态(S100A1、S100A4、S100B)、调节细胞支架结构(S100A1、S100A2、S100A4、S100A6、S100A7、S100A9)、调节细胞存活增殖(S100A1、S100A11、S100A7)等<sup>[5]</sup>。人类S100的 $\alpha$ 基因定位于染色体的1q21区域。在肿瘤组织中此区的基因常常频繁重组从而引起S100基因表达的失控,这样就对细胞的功能和代谢产生影响,导致肿瘤的发生和发展。因此在很多肿瘤晚期和发生肿瘤转移时可见,而且与疾病分期和预后具有相关性<sup>[6]</sup>。S100A11是S100蛋白家族的成员之一,最初发现在鸡砂囊平滑肌细胞,因此又称之为钙囊素。S100A11磷酸化以后与肌动蛋白分离,继而转移到细胞核中, S100A11与钙结合之后导致蛋白构象发生改变,暴露出疏水区后与靶蛋白结合。S100A11的生物学功能主要是参与细胞信号通路调节,调节细胞的生长增殖、分化和凋亡,从而与肿瘤的发生密切相关<sup>[7-9]</sup>。

Ji等<sup>[10]</sup>和Ming等<sup>[11]</sup>研究显示, S100A11是S100蛋白家族的一员,是上调蛋白质, S100A11

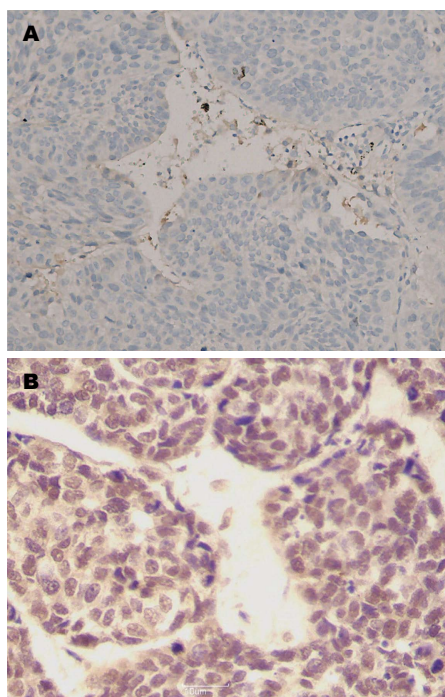


图 1 S100A11在食管鳞状细胞癌组织中的表达( $\times 400$ ). A: S100A11在食管鳞状细胞癌组织中的阴性表达; B: S100A11在食管鳞状细胞癌组织中的阳性表达.

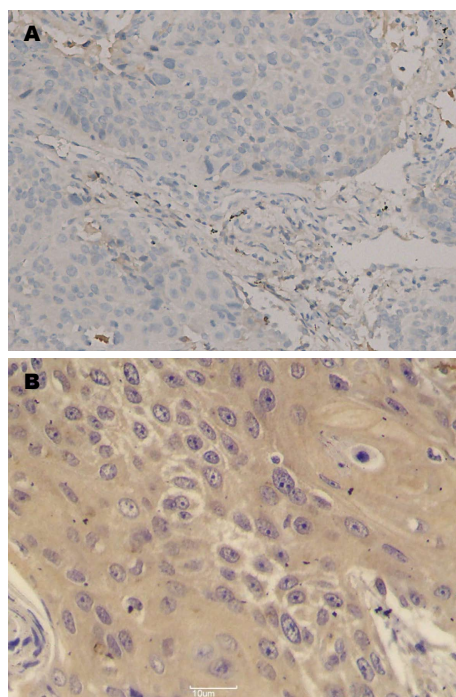


图 2 14-3-3在食管鳞状细胞癌组织中的表达( $\times 400$ ). A: 14-3-3在食管鳞状细胞癌组织中的阴性表达; B: 14-3-3在食管鳞状细胞癌组织中的阳性表达.

#### ■名词解释

S100蛋白: 分子量较小(9-13 kDa)的钙结合蛋白家族, 其与 $\text{Ca}^{2+}$ 结合后, S100蛋白构象发生改变使之能与靶蛋白结合, 结合后发挥其生物学效应.

表达与临床病理的关系变量和胰腺癌患者的临床结果. S100A11表达胰腺癌明显高于正常组织. S100A11的高表达与淋巴结转移相关, S100A11表达与预后不良相关. 结果表明, S100A11蛋白在胰腺癌高表达, 是一种胰腺癌重要标志物, 但是对于预后判定没有意义. 陈军政等<sup>[12]</sup>应用基因芯片筛查胃癌相关差异表达基因, 结果发现, 7例胃癌组织中进行RT-PCR验证, S100A11表达上调, 基因异常表达可能参与胃癌发生发展. 吴慧玲等<sup>[13]</sup>应用免疫组织化学方法研究S100蛋白家族成员S100A2、A4、A9、A11在58例低分化鼻咽癌患者的癌组织及16例正常鼻咽组织中的表达, S100A11蛋白与鼻咽癌的发生无相关性. 在本组研究中, S100A11蛋白在ESCC中呈高表达, 并且在不同分化程度、有无淋巴结转移之间的表达有显著性差异, 提示S100A11在ESCC的发生和发展中可能起一定作用, 并且对ESCC恶性程度判断有一定的指导意义, 进一步随访研究有望成为判断预后的标志物.

14-3-3蛋白于1967年在动物大脑组织中发现, 在哺乳动物中, 14-3-3蛋白家族包括7种亚基, 14-3-3与肿瘤的关系密切. 14-3-3主要受抑癌基因p53调控, 作为一个细胞周期负调控因子, 起活化可以引起细胞周期G<sub>2</sub>/M期阻滞, 以发挥抑

癌基因作用<sup>[14]</sup>. 14-3-3直接参与人类肿瘤的发生、发展, 已有报道在多种人类恶性肿瘤中常有其蛋白或基因表达异常<sup>[15]</sup>. 14-3-3在乳腺癌中表达尚存争议, 有研究认为其表达随乳腺癌的恶性进展呈下降趋势. Bartel等<sup>[16]</sup>发现, 14-3-3蛋白表达随着肿瘤发展进行性下降, 证实14-3-3作为肿瘤抑制因子存在于乳腺癌组织中.

Li等<sup>[17]</sup>运用蛋白质组学分析了高转移性和低转移性乳腺癌细胞系的蛋白表达, 发现14-3-3ε高表达于高转移性的细胞系. Ko等<sup>[18]</sup>通过免疫组织化学方法发现14-3-3ε不但高表达于原发性肝细胞肝癌, 且其表达与肿瘤转移相关并且提示患者预后不良. 谭锋维等<sup>[19]</sup>研究了食管鳞癌组织中14-3-3ε表达与临床病理因素及预后的相关性, 结果发现, 14-3-3ε在食管癌中表达上调; 该蛋[?]肿瘤中多表达于细胞质, 14-3-3ε表达水平与淋巴结转移和预后不良呈正相关. 在不同民族间, 14-3-3和S100A11的表达无差异, 提示遗传起作用可能小.

在本组研究中, 14-3-3蛋白在ESCC中呈高表达, 并且在不同组织分化程度、不同浸润深度、有无淋巴结转移的表达有显著性差异, 提示14-3-3蛋白在ESCC的发生和发展中可能起一定作用, 对其进一步随访研究有望成为ESCC早期诊断、预后判断及化学治疗的参考指标.



## ■同行评价

本文较准确反映了研究工作的科学问题和特定内容,对食管癌分子标志物进行探索性研究。

## 4 参考文献

- 1 刘清, 刘涛, 郑树涛, 高向朋, 伊力亚尔·夏合丁, 林仁勇, 卢晓梅. 哈萨克族食管癌中高迁移率蛋白A2的表达及其与上皮间质转化的相关性. *中华消化杂志* 2014; 34: 148-151
- 2 He H, Li J, Weng S, Li M, Yu Y. S100A11: diverse function and pathology corresponding to different target proteins. *Cell Biochem Biophys* 2009; 55: 117-126 [PMID: 19649745 DOI: 10.1007/s12013-009-9061-8]
- 3 Mhawech P. 14-3-3 proteins--an update. *Cell Res* 2005; 15: 228-236 [PMID: 15857577]
- 4 Gross SR, Sin CG, Barraclough R, Rudland PS. Joining S100 proteins and migration: for better or for worse, in sickness and in health. *Cell Mol Life Sci* 2014; 71: 1551-1579 [PMID: 23811936 DOI: 10.1007/s00018-013-1400-7]
- 5 Amin AR, Islam AB. Genomic analysis and differential expression of HMG and S100A family in human arthritis: upregulated expression of chemokines, IL-8 and nitric oxide by HMGB1. *DNA Cell Biol* 2014; 33: 550-565 [PMID: 24905701]
- 6 Egberts F, Pollex A, Egberts JH, Kaehler KC, Weichenthal M, Hauschild A. Long-term survival analysis in metastatic melanoma: serum S100B is an independent prognostic marker and superior to LDH. *Onkologie* 2008; 31: 380-384 [PMID: 18596385 DOI: 10.1159/000135492]
- 7 Anania MC, Miranda C, Vizioli MG, Mazzoni M, Cleris L, Pagliardini S, Manenti G, Borrello MG, Pierotti MA, Greco A. S100A11 overexpression contributes to the malignant phenotype of papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98: E1591-E1600 [PMID: 23928665 DOI: 10.1210/jc.2013-1652]
- 8 Jaiswal JK, Lauritzen SP, Scheffer L, Sakaguchi M, Bunkenborg J, Simon SM, Kallunki T, Jäättelä M, Nylandsted J. S100A11 is required for efficient plasma membrane repair and survival of invasive cancer cells. *Nat Commun* 2014; 5: 3795 [PMID: 24806074 DOI: 10.1038/ncomms4795]
- 9 Wang C, Zhang Z, Li L, Zhang J, Wang J, Fan J, Jiao B, Zhao S. S100A11 is a migration-related protein in laryngeal squamous cell carcinoma. *Int J Med Sci* 2013; 10: 1552-1559 [PMID: 24046531 DOI: 10.7150/ijms.5986]
- 10 Ji YF, Huang H, Jiang F, Ni RZ, Xiao MB. S100 family signaling network and related proteins in pancreatic cancer (Review). *Int J Mol Med* 2014; 33: 769-776 [PMID: 24481067 DOI: 10.3892/ijmm.2014.1633]
- 11 Xiao MB, Jiang F, Ni WK, Chen BY, Lu CH, Li XY, Ni RZ. High expression of S100A11 in pancreatic adenocarcinoma is an unfavorable prognostic marker. *Med Oncol* 2012; 29: 1886-1891 [PMID: 21912994 DOI: 10.1007/s12032-011-0058-y]
- 12 陈军政, 王卫军, 郑敏巧, 林曦, 王国平, 李剑锋, 侯建毅. 应用基因芯片筛查胃癌相关差异表达基因. *中华实验外科杂志* 2011; 28: 2155-2157
- 13 吴慧玲, 董盛宇, 叶耀耀, 周慧. S100蛋白表达与鼻咽癌临床关系的研究. *中国现代医药杂志* 2013; 15: 15-18
- 14 Chen M, Liu T, Xu L, Gao X, Liu X, Wang C, He Q, Zhang G, Liu L. Direct interaction of 14-3-3 $\zeta$  with ezrin promotes cell migration by regulating the formation of membrane ruffle. *J Mol Biol* 2014; 426: 3118-3133 [PMID: 25020230 DOI: 10.1016/j.jmb.2014.06.021]
- 15 Raungrut P, Wongkotsila A, Lirdprapamongkol K, Svasti J, Geater SL, Phukaoloun M, Suwiat S, Thongsuksai P. Prognostic significance of 14-3-3 $\gamma$  overexpression in advanced non-small cell lung cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014; 15: 3513-3518 [PMID: 24870749]
- 16 Bartel M, Schäfer A, Stevers LM, Ottmann C. Small molecules, peptides and natural products: getting a grip on 14-3-3 protein-protein modulation. *Future Med Chem* 2014; 6: 903-921 [PMID: 24962282 DOI: 10.4155/fmc.14.47]
- 17 Li DQ, Wang L, Fei F, Hou YF, Luo JM, Zeng R, Wu J, Lu JS, Di GH, Ou ZL, Xia QC, Shen ZZ, Shao ZM. Identification of breast cancer metastasis-associated proteins in an isogenic tumor metastasis model using two-dimensional gel electrophoresis and liquid chromatography-ion trap-mass spectrometry. *Proteomics* 2006; 6: 3352-3368 [PMID: 16637015]
- 18 Ko BS, Chang TC, Hsu C, Chen YC, Shen TL, Chen SC, Wang J, Wu KK, Jan YJ, Liou JY. Overexpression of 14-3-3 $\epsilon$  predicts tumour metastasis and poor survival in hepatocellular carcinoma. *Histopathology* 2011; 58: 705-711 [PMID: 21401702]
- 19 谭锋维, 赵亮, 邵康, 陈照丽, 赫捷. 食管鳞癌组织中14-3-3 $\epsilon$ 表达与临床病理因素及预后的相关性. *中华医学杂志* 2011; 91: 2305-2309

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



# 微生物制剂治疗新生儿窒息后喂养不耐受及其对胃动素水平的作用

彭芬, 吴华莉

彭芬, 吴华莉, 湖北民族学院附属民大医院新生儿科 湖北省恩施市 445000

彭芬, 主治医师, 主要从事新生儿疾病的诊断和治疗。

作者贡献分布: 此文主要由彭芬完成; 此课题由彭芬和吴华莉设计; 研究过程由彭芬操作完成; 数据分析由彭芬和吴华莉共同完成; 本论文写作由彭芬完成。

通讯作者: 吴华莉, 主管护师, 445000, 湖北省恩施市五峰山路2号, 湖北民族学院附属民大医院新生儿科。

1534096286@qq.com

电话: 0718-8301949

收稿日期: 2014-07-28 修回日期: 2014-08-21

接受日期: 2014-09-03 在线出版日期: 2014-10-28

## Probiotics for treatment of neonatal feeding intolerance after asphyxia: Effect on motilin level

Fen Peng, Hua-Li Wu

Fen Peng, Hua-Li Wu, Department of Neonatology, Affiliated Minda Hospital of Hubei Institute for Nationalities, Enshi 445000, Hubei Province, China

Correspondence to: Hua-Li Wu, Nurse-in-Charge, Department of Neonatology, Affiliated Minda Hospital of Hubei Institute for Nationalities, 2 Wufengshan Road, Enshi 445000, Hubei Province, China. 1534096286@qq.com

Received: 2014-07-28 Revised: 2014-08-21

Accepted: 2014-09-03 Published online: 2014-10-28

## Abstract

**AIM:** To evaluate the clinical efficacy of probiotics in the treatment of neonatal feeding intolerance after asphyxia, and to analyze its impact on motilin (MOT) level.

**METHODS:** Sixty neonates with feeding intolerance after asphyxia treated at Affiliated Minda Hospital of Hubei Institute for Nationalities from January 2012 to January 2014 were randomized into either a study group or a control group ( $n = 30$  for each group). Both groups of children were given conventional treatment, and the study group was additionally given probiotics. Clinical effects were observed and compared in the two groups.

**RESULTS:** The response rate was significantly

higher in the study group than in the control group (93.3% vs 73.3%,  $P < 0.05$ ). The times to disappearance of vomiting and bloating symptoms, to recovery of body mass to the level of birth, and to full enteral feeding were significantly shorter in the study group than in the control group ( $P < 0.05$ ). One week after treatment for 3 d, MOT levels were improved in both groups, and the improvement was significantly better in the study group ( $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** For neonatal feeding intolerance after asphyxia, application of probiotics can shorten the time to total parenteral feeding and improve motilin levels.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Asphyxia; Feeding intolerance; Probiotics; Clinical efficacy

Peng F, Wu HL. Probiotics for treatment of neonatal feeding intolerance after asphyxia: Effect on motilin level. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(30): 4615-4618  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4615.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4615>

## 摘要

**目的:** 探讨临床中应用微生物制剂治疗新生儿窒息后喂养不耐受的临床疗效, 并分析其对胃动素(motilin, MOT)的影响。

**方法:** 选取2012-01/2014-01湖北民族学院附属民大医院新生儿科60例新生儿窒息后喂养不耐受为研究对象, 将其按照随机数字法分为研究组和对照组, 均30例。两组患儿均给予常规治疗, 研究组在此基础上应用微生物制剂治疗, 观察两组的临床治疗效果。

**结果:** 研究组有效率为93.3%, 高于对照组73.3%, 差异统计学有意义( $P < 0.05$ ); 研究组呕吐、腹胀症状消失时间、体质量恢复出生时间、达到全胃肠喂养时间均低于对照组, 统计

## ■背景资料

新生儿窒息对新生儿的成长具有重要的影响, 多数患儿表现为喂养不耐受的情况, 从而使得成长受到影响。因此, 在临床中如何更好的改善这种情况在临床中具有重要的意义。

## ■同行评议者

白玉作, 教授, 博士生导师, 中国医科大学附属盛京医院小儿外科

## ■研究前沿

临床研究中重点分析微生态制剂在改善新生儿窒息后喂养不耐受的情况,且微生态制剂在临床中的应用也比较广泛,对改善患者的胃肠道功能具有重要的作用,但是对胃动素(motilin, MOT)是否产生的影响并不多见。故此,研究中分析其对MOT的影响。

学有意义( $P<0.05$ );治疗3 d、1 wk后研究组与对照组的MOT含量较治疗前均有改善,且研究组改善程度明显的优于对照组,差异统计学有意义( $P<0.05$ )。

**结论:**临床中对于新生儿窒息后喂养不耐受患儿应用微生态制剂治疗效果可行,能够缩短患者全胃肠喂养时间,改善MOT水平,值得临床中应用与推广。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 新生儿窒息; 喂养不耐受; 微生态制剂; 临床疗效

**核心提示:** 微生态制剂在新生儿窒息后喂养不耐受治疗效果显著,能够缩短患者临床症状恢复时间。同时,在改善胃动素水平方面也具有明显的优势。

彭芬, 吴华莉. 微生态制剂治疗新生儿窒息后喂养不耐受及其对胃动素水平的作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(30): 4615-4618 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4615.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4615>

## 0 引言

新生儿窒息是临床中常见疾病之一,很容易导致胃肠道的低灌注,使其胃肠动力差,胃肠激素水平也大大降低。临床中常常表现呕吐和胃潴留以及胃食管反流等喂养不耐受,严重影响新生儿的健康生长<sup>[1]</sup>。因此,加强新生儿窒息喂养不耐受的治疗在临床中具有重要的意义。笔者结合自己多年的临床工作经验,对新生儿窒息后喂养不耐受治疗中应用微生态制剂治疗,并且取得了较好的临床治疗效果。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2012-01/2014-01湖北民族学院附属民大医院新生儿科60例新生儿窒息后喂养不耐受为研究对象,将其按照随机数字法分为研究组和对照组,均30例。研究组男16例,女14例,孕龄为37-42 wk,平均孕龄时间为39.4 wk $\pm$ 2.1 wk。出生1 min后的Apgar评分为3-7分,平均值为5.3分 $\pm$ 1.4分。窒息持续时间为5.3-11.0 min,平均值为7.8 min $\pm$ 3.5 min。对照组男17例,女13例,孕龄为37-42 wk,平均孕龄时间为40.2 wk $\pm$ 1.7 wk。出生1 min后的Apgar评分为3-7分,平均值为5.5分 $\pm$ 1.2分。窒息持续时间为5.0-10.5 min,平均值为8.0 min $\pm$ 3.3 min。研究组与对照组基本

资料比较无明显的差异,统计学无意义( $P>0.05$ ),具有可比性。微生态制剂(批准文号:国药准字S19980004,内蒙古双奇药业股份有限公司,药品名:双歧杆菌乳杆菌三联活菌片,药品特性:0.5 g/片)。

## 1.2 方法

**1.2.1 治疗:** 此次研究的研究组与对照组患儿均给予常规的治疗,包括原发疾病和纠正脏器功能衰竭和静脉营养等治疗<sup>[2]</sup>。同时,给予预防感染和维持水、电解质平衡和对症治疗。对照组给予常规的胃肠外营养支持,并且确保营养物质的摄入。研究组在常规的胃肠外营养支持基础上应用口服微生态制剂,剂量为3次/d,1片/次,连续治疗1 wk,观察其临床治疗效果<sup>[3]</sup>。

**1.2.2 观察指标:** (1)临床疗效; (2)临床症状改善时间(呕吐、腹胀症状消失时间、体质量恢复出生时间、达到全胃肠喂养时间); (3)胃动素(motilin, MOT)变化。

**1.2.3 疗效评定:** 依据患者的临床症状与体征改善状况进行评估<sup>[4]</sup>,将其分为3个等级: (1)显效:治疗3-5 d其临床症状消失,鼻饲奶1次/(2-3 h)能够耐受,并且无胃内容物的潴留; (2)有效:治疗5-7 d其临床症状明显的减轻,且鼻饲奶1次/(2-3 h)能够耐受,胃内容物潴留不足30.0%; (3)无效:治疗1 wk后患者的临床症状无任何的好转,且鼻饲奶1次/(2-3 h)不能够耐受,胃内容物潴留超过30.0%。临床治疗有效率=显效(%) + 有效(%)。

**统计学处理** 采取SPSS19.0统计学软件进行数据分析与处理,计量资料采取mean $\pm$ SD表示,采取 $t$ 进行检验,计数资料采取 $\chi^2$ 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 临床治疗效果对比观察** 研究组临床治疗有效率为93.3%,对照组临床治疗有效率为73.3%,研究组明显高于对照组,差异统计学有意义( $P<0.05$ )(表1)。

**2.2 临床症状改善时间对比观察** 研究组呕吐、腹胀症状消失时间、体质量恢复出生时间、达到全胃肠喂养时间均低于对照组,差异统计学有意义( $P<0.05$ )(表2)。

**2.3 不同时间MOT对比** 治疗前研究组与对照组MOT比较差异无统计学无意义( $P>0.05$ );治疗3 d、1 wk后研究组与对照组的MOT较治疗前均有改善,且研究组改善程度明显优于对照组,差异统计学有意义( $P<0.05$ )(表3)。

## ■相关报道

临床中对于微生态制剂治疗胃肠道方面的影响也有报道,并且能够改善患者胃肠功能指标,促进其胃肠道的正常。这些研究进一步说明,微生态制剂在临床治疗胃肠道疾病中的优越性。



表 1 研究组与对照组临床治疗有效率对比 ( $n = 30$ )

分组	显效( $n$ )	有效( $n$ )	无效( $n$ )	有效率( $n$ )
研究组	21	7	2	28(93.3)
对照组	12	10	8	22(73.3)
$\chi^2$ 值	7.248			
$P$ 值	<0.05			

## ■创新盘点

本研究中重点分析微生态制剂对改善新生儿窒息后喂养不耐受情况, 并且观察MOT的变化, 从而全面的了解微生态制剂的临床作用机制。

表 2 研究组与对照组临床症状改善时间对比观察 ( $n = 30$ , mean  $\pm$  SD, d)

分组	呕吐、腹胀症状消失时间	体质量恢复出生时间	达到全胃肠喂养时间
研究组	3.1 $\pm$ 1.1	7.5 $\pm$ 1.8	8.9 $\pm$ 1.8
对照组	4.8 $\pm$ 1.2	9.5 $\pm$ 2.2	11.2 $\pm$ 1.7
$t$ 值	4.173	5.026	7.311
$P$ 值	<0.0	<0.0	<0.0

表 3 研究组与对照组不同时间MOT对比观察 ( $n = 30$ , mean  $\pm$  SD, ng/L)

分组	治疗前	治疗3 d	治疗1 wk
研究组	192.5 $\pm$ 32.4	261.5 $\pm$ 33.1	353.9 $\pm$ 28.9
对照组	190.5 $\pm$ 34.1	221.6 $\pm$ 32.9	289.7 $\pm$ 27.5
$t$ 值	0.316	27.253	33.614
$P$ 值	>0.05	<0.05	<0.05

## 3 讨论

新生儿窒息在临床中比较常见, 且多数的患儿其胃肠功能的调节能力相对比较差, 使得胃肠激素的分泌水平也大大降低<sup>[5]</sup>。MOT是其中一个重要的观察指标, 能够有效刺激胃酸和胃蛋白酶的大量分泌, 有效促进患儿胃肠道的运动, 并且能够较好的促进患者胃肠黏膜的快速生长<sup>[6,7]</sup>。同时, 新生儿窒息很容易导致脑部的缺血缺氧, 使得中枢神经的功能受阻, 降低MOT的含量<sup>[8]</sup>。同时, 患儿在出现窒息时期一氧化氮的水平也明显增加, 最终很容易引起胃底肌底张力大大降低, 从而使得胃运动能力下降, 从而引起喂养不耐受的情况。

对于新生儿窒息后喂养不耐受给予微生态制剂治疗效果明显, 能够提高患儿的临床治疗有效率。数据显示, 研究组治疗有效率达到了93.3%, 高于对照组73.3%。微生态制剂的主要作用是更好的恢复正常微生态菌群的数量, 从而使得恢复微生态平衡, 利于人体的营养吸收, 进一步提高临床治疗效果<sup>[9,10]</sup>。同时, 还能够有效的缩短患者临床症状缓解时间。数据显示, 研究组呕吐、腹胀症状消失时间、体质量恢复出生时

间、达到全胃肠喂养时间均低于对照组。进一步说明, 应用微生态制剂的优越性。这种药物可以产生大量的酸性物质, 进一步降低肠道内pH值, 不利于致病菌的定植, 减少其在肠道内的停留, 更好恢复<sup>[11-14]</sup>。治疗3 d、1 wk后研究组与对照组的MOT较治疗前均有改善, 且研究组改善程度明显的优于对照组。进一步说明, 微生态制剂在改善患儿MOT方面具有明显的效果, 更好的促进其胃肠功能的蠕动, 降低喂养不耐受的情况<sup>[15]</sup>。

总之, 新生儿窒息后喂养不耐受患儿应用微生态制剂治疗效果显著, 能够缩短患者临床症状恢复时间, 改善MOT水平, 值得临床中应用。

## 4 参考文献

- 刘俊峰, 黄军华, 王杰, 刘花玲. 微量喂养对窒息后喂养不耐受新生儿血液胃动素、一氧化氮的影响. 中国误诊学杂志 2009; 9: 2833-2834
- 唐宝. 微生态制剂在治疗小儿腹泻中的应用. 中外医学研究 2014; 6: 52-53
- 王丽红, 李慧华. 微生态制剂美常安治疗溃疡性结肠炎的临床观察. 中国药物经济学 2014; 7: 236-237
- Brenner DM, Moeller MJ, Chey WD, Schoenfeld PS. The utility of probiotics in the treatment of irritable bowel syndrome: a systematic review. *Am J*

## ■应用要点

此次临床研究对新生儿窒息后喂养不耐受的情况进行分析, 进一步的了解微生态制剂治疗的效果, 对以后患儿的治疗具有重要的指导作用。

## ■名词解释

微生态制剂:是利用正常微生物或促进微生物生长的物质制成的活的微生物制剂;新生儿窒息是指由于产前、产时或产后的各种病因,使胎儿病理生理改变的疾病。

## ■同行评价

本研究应用前景广泛,对新生儿窒息后喂养不耐受的治疗具有较好的指导意义。同时,临床观察指标新颖,且统计学方法正确,在临床中具有一定的应用价值。

- Gastroenterol* 2009; 104: 1033-1049; quiz 1050 [PMID: 19277023 DOI: 10.1038/ajg.2009.25]
- 5 张寒娟, 谢悦旭, 杨玉玲. 微生态制剂治疗小儿腹泻的疗效观察. *中国现代药物应用* 2014; 8: 36
  - 6 程丽惠. 酪酸梭菌活菌散剂促进早产儿胃肠功能稳定的作用. *中国乡村医药* 2014; 7: 28-29
  - 7 王信伟, 孙亮, 许彬. 口服乳杆菌LB散预防新生儿胃肠功能障碍. *中国基层医药* 201; 18: 640
  - 8 周辉. 益生菌对小儿胃肠疾病治疗效果的探讨. *中外医学研究* 2012; 10: 30-31
  - 9 吴燕君. 益生菌对极低出生体质量早产儿胃肠功能的影响的临床研究. 重庆: 重庆医科大学, 2012
  - 10 Pimentel M, Lembo A, Chey WD, Zakko S, Ringel Y, Yu J, Mareya SM, Shaw AL, Bortey E, Forbes WP. Rifaximin therapy for patients with irritable bowel syndrome without constipation. *N Engl J Med* 2011; 364: 22-32 [PMID: 21208106 DOI: 10.1056/NEJ-Moa1004409]
  - 11 庞英超, 王章星, 吴湘兰, 栾静, 汪春, 童燕梅. 金双歧治疗极低出生体质量儿喂养不耐受的观察. *中国医药导报* 2012; 9: 79-80
  - 12 李扬扬, 李艳艳, 陈彩琴, 俞富祥. 微生态肠内营养在胃大部切除术后中的应用观察. *中华实验外科杂志* 2014; 31: 449
  - 13 杨育林, 沈雁, 杨法根. 微生态制剂联合肠内营养治疗肝性脑病的临床研究. *中国中西医结合消化杂志* 2014; 22: 173-177
  - 14 程幸种, 金灵肖, 黄海珍, 赵旭宏, 郑芬芳, 张双丽. 微生态制剂酪酸梭菌治疗乙型肝炎肝硬化腹泻的短期临床疗效分析. *中华临床感染病杂志* 2014; 7: 49-52
  - 15 唐睿晗, 陈湖旻. 微生态制剂治疗炎症性肠病. *中华医学杂志* 2014; 94: 627-629

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



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

## • 消息 •

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

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

# CTLA-4基因多态性与胃癌易感性的Meta分析

李良庆, 林国彬, 潘敦

李良庆, 林国彬, 潘敦, 福建医科大学附属第一医院胃肠外科一区 福建省福州市 350000

李良庆, 主要从事胃癌的基础与临床研究.

国家临床重点专科基金资助项目

福建省教育厅中青年骨干教师教育科研基金资助项目, No.

JB13388

作者贡献分布: 本论文设计由李良庆完成; 研究过程在李良庆指导下由林国彬与潘敦操作完成; 数据分析由林国彬与潘敦完成; 写作由林国彬与潘敦完成; 李良庆审阅改正.

通讯作者: 李良庆, 主任医师, 350000, 福建省福州市茶中路20号, 福建医科大学附属第一医院胃肠外科一区. lqli@msn.com  
电话: 0591-87982075

收稿日期: 2014-06-26 修回日期: 2014-09-07

接受日期: 2014-09-17 在线出版日期: 2014-10-28

## A meta-analysis of association between cytotoxic T lymphocyte associated antigen-4 polymorphisms and gastric cancer risk

Liang-Qing Li, Guo-Bin Lin, Dun Pan

Liang-Qing Li, Guo-Bin Lin, Dun Pan, Department of Gastrointestinal Surgery, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, Fujian Province, China

Supported by: the National Key Clinical Specialist Construction Programs of China; Scientific Research and Education Foundation for Young Teachers in Fujian Province Education Office, No. JB13388

Correspondence to: Liang-Qing Li, Chief Physician, Department of Gastrointestinal Surgery, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, 20 Chazhong Road, Fuzhou 350005, Fujian Province, China. lqli@msn.com  
Received: 2014-06-26 Revised: 2014-09-07

Accepted: 2014-09-17 Published online: 2014-10-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the correlation between cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA-4) gene polymorphisms and gastric cancer risk.

**METHODS:** Two reviewers independently searched PubMed, FMRIS, CNKI, VIP and Wan-Fang Data from January 1, 1990 to May 1, 2014 for case-control studies on the correlation between CTLA-4 gene polymorphisms and gastric cancer risk. According to inclusion and exclusion criteria, two reviewers independently screened the literature, extracted the data, and assessed

the methodological quality. A meta-analysis was then performed using RevMan 5.2 software.

**RESULTS:** A total of 10 case-control studies concerning the CTLA-4 +49 A/G, CTLA-4 -1661A/G, CTLA-4 -1722T/C and CTLA-4 -318 T/C polymorphisms were included in the meta-analysis. The CTLA-4 +49 and CTLA-4 -318 alleles were not associated with genetic susceptibility to gastric cancer. The CTLA-4 -1661 A/G polymorphism was significantly associated with an increased gastric cancer risk (AG vs AA: OR = 2.04, 95%CI: 1.60-2.61,  $P < 0.00001$ ; AG/GG vs AA: OR = 1.79, 95%CI: 1.43-2.25,  $P < 0.00001$ ). The CTLA-4 -1722T/C polymorphism was also significantly associated with an increased gastric cancer risk (TT vs CC, OR = 1.66, 95%CI: 1.05-2.62,  $P = 0.03$ ; TC vs CC, OR = 2.11, 95%CI: 1.05-4.24,  $P = 0.04$ ; TT/TC vs CC, OR = 1.84, 95%CI: 1.20-2.82,  $P = 0.04$ ).

**CONCLUSION:** The CTLA-4 +49 and CTLA-4 -318 alleles are not associated with genetic susceptibility to gastric cancer. The CTLA-4 -1661A/G and -1722T/C polymorphisms are associated with an increased risk of gastric cancer. CTLA-4 -1661 AG and GG allele carrying individuals may have increased incidence of gastric cancer. CTLA-4 -1722 allele carrying TT and TC may increase the incidence of gastric cancer in individuals.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Gastric cancer; CTLA-4 polymorphisms; Meta-analysis

Li LQ, Lin GB, Pan D. A meta-analysis of association between cytotoxic T lymphocyte associated antigen-4 polymorphisms and gastric cancer risk. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(30): 4619-4626 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4619.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4619>

## 摘要

**目的:** 探讨细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4等位基因(cytotoxic T-lymphocyte antigen-4,

## ■背景资料

每年全球新增恶性肿瘤死亡中, 胃癌跃居第2位, 其病因与发病机制尚不明确. 目前认为环境因素、饮食习惯、幽门螺杆菌感染等与胃癌密切相关. 此外, 遗传因素和胃癌易感性之间有密切的关系, 寻找与胃癌相关的遗传位点对胃癌的防治有重要意义.

## ■同行评议者

刘丽江, 教授, 江汉大学医学院病理学; 王小众, 教授, 福建医科大学附属协和医院消化内科



## ■ 研发前沿

细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4等位基因(cytotoxic T-lymphocyte antigen-4, *CTLA-4*)位于人体2号染色体上的几个免疫调节基因编码区,目前研究发现超过100个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)在*CTLA-4*基因编码区编码,其位点上+49、-318、-1661及-1772基因的编码区被报道和癌症的易感性有关,其中包括胃癌。然而,不同研究的结果存有差异。

*CTLA-4*多态性与胃癌易感性的关系。

**方法:**检索PubMed、FMRS、CNKI、VIP和Wan Fang Data等数据库。由两位学者独立按照纳入和排除标准筛选文献、提取资料并根据Lichtenstein的文献评价指南评价纳入研究的质量,应用RevMan 5.2统计学软件进行Meta分析,并做漏斗图观察是否发表偏移。

**结果:**共纳入10项研究,胃癌患者1966例,对照组2473例。*CTLA-4* +49A/G等位基因、*CTLA-4* -318T/C等位基因与胃癌易感性没有关联;*CTLA-4* -1661携带等位基因AG和AG/GG是胃癌的易感因素(OR = 2.04, 95%CI: 1.60-2.61,  $P < 0.00001$ ; OR = 1.79, 95%CI: 1.43-2.25,  $P < 0.00001$ ); *CTLA-4* -1772携带等位基因TT、TC和TC/TT是胃癌的易感因素(OR = 1.66, 95%CI: 1.05-2.62,  $P = 0.03$ ; OR = 2.11, 95%CI: 1.05-4.24,  $P = 0.04$ ; OR = 1.84, 95%CI: 1.20-2.82,  $P = 0.04$ )。

**结论:***CTLA-4*-1661基因和*CTLA-4*-1772基因多态性与胃癌发病风险存在相关性。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:**胃癌; *CTLA-4*易感性; Meta分析

**核心提示:**相同的基因位点,可能因遗传背景、生活环境、设计方式、纳入及评价标准不同等原因导致研究结果存在差异。本研究将细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4等位基因(cytotoxic T-lymphocyte antigen-4)多态性与胃癌易感性文章进行荟萃分析,为基础研究或临床工作提供更可靠的证据。

李良庆, 林国彬, 潘敦. *CTLA-4*基因多态性与胃癌易感性的Meta分析. 世界华人消化杂志 2014; 22(30): 4619-4626  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4619.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i30.4619>

## 0 引言

胃癌是我国恶性肿瘤死亡率第1位,个体对环境暴露因素的遗传易感性在胃癌发病过程中起着重要作用<sup>[1]</sup>。有许多研究发现细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4(cytotoxic T-lymphocyte antigen-4, *CTLA-4*)基因多态性和癌症的易感性有关,然而,在胃癌的研究中结论存在一定的差异<sup>[2-11]</sup>,造成这一结果的原因可能包括:不同研究对象种族不同,遗传背景存在差异;不同研究区域、不同的生活环境因素也存在差异;不同的设计方

式、纳入标准、评价标准不同从而导致研究结果存在差异。因此,本研究采用Cochrane系统评价方法,选取已公开发表的关于*CTLA-4*基因多态性与胃癌易感性相关文献进行Meta分析,进一步明确二者之间的关系。

## 1 材料和方法

**1.1 材料**以“gastric cancer”或“stomach cancer”或“gastric neoplasm”和“polymorphism”和“cytotoxic T-lymphocyte antigen-4”或“*CTLA-4*”或“CD152”为检索词检索PubMed、FMRS外文数据库,以“胃癌”或“胃肿瘤”和“基因多态性”和“*CTLA-4*”或“细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4”为检索词检索中国期刊网全文数据库、维普资讯网中文科技期刊数据库、万方数据库,检索时限1990-01-01/2014-03-01的文献,并辅以文献追溯的方法,收集国内外公开发表的所有关于胃癌遗传易感性与*CTLA-4*基因多态性关系的相关研究。

### 1.2 方法

**1.2.1 方法学质量评价:**由经过规范文献检索和循证医学培训的两位研究者独立参照Lichtenstein的文献评价指南<sup>[12]</sup>,对各独立研究从以下五个方面进行质量评估:(1)是否明确其纳入研究对象的标准及其基本构成特征;(2)是否科学的设计试验;(3)是否准确的处理因素及其方法;(4)是否恰当使用统计方法;(5)是否对该研究的偏倚进行讨论。每符合一项得1分,总分 $\geq 3$ 分的研究表示其质量可靠。对文献质量评价提取资料,如果遇到分歧,主要通过讨论协商或根据第三位研究者的意见解决,最终达成相同的意见。

**1.2.2 排除与纳入标准:**文献纳入标准:(1)研究对象:在手术前病理确诊为胃恶性肿瘤患者和正常健康体检人群中*CTLA-4*基因(+49 A/G、-318 T/C、-1661 A/G及-1772 T/C);(2)研究设计:为病例对照研究;(3)中文或英文文献中的等位基因分布频率符合Hardy-Weinberg (H-W)遗传平衡定律;(4)相关数据具体详尽,可用于计算。文献排除标准:(1)非胃恶性肿瘤的病例对照研究;(2)同一研究者发表的重复文献或者数据相同;(3)综述。

**统计学处理**本研究的结果是采用Cochrane协作网提供的RevMan 5.2统计学软件进行Meta分析。计数资料以优势比(odds ratio, OR),连续变量采用标准权重均差(standard mean difference, SMD)表示,并给出其95%CI。若没有显著的异质

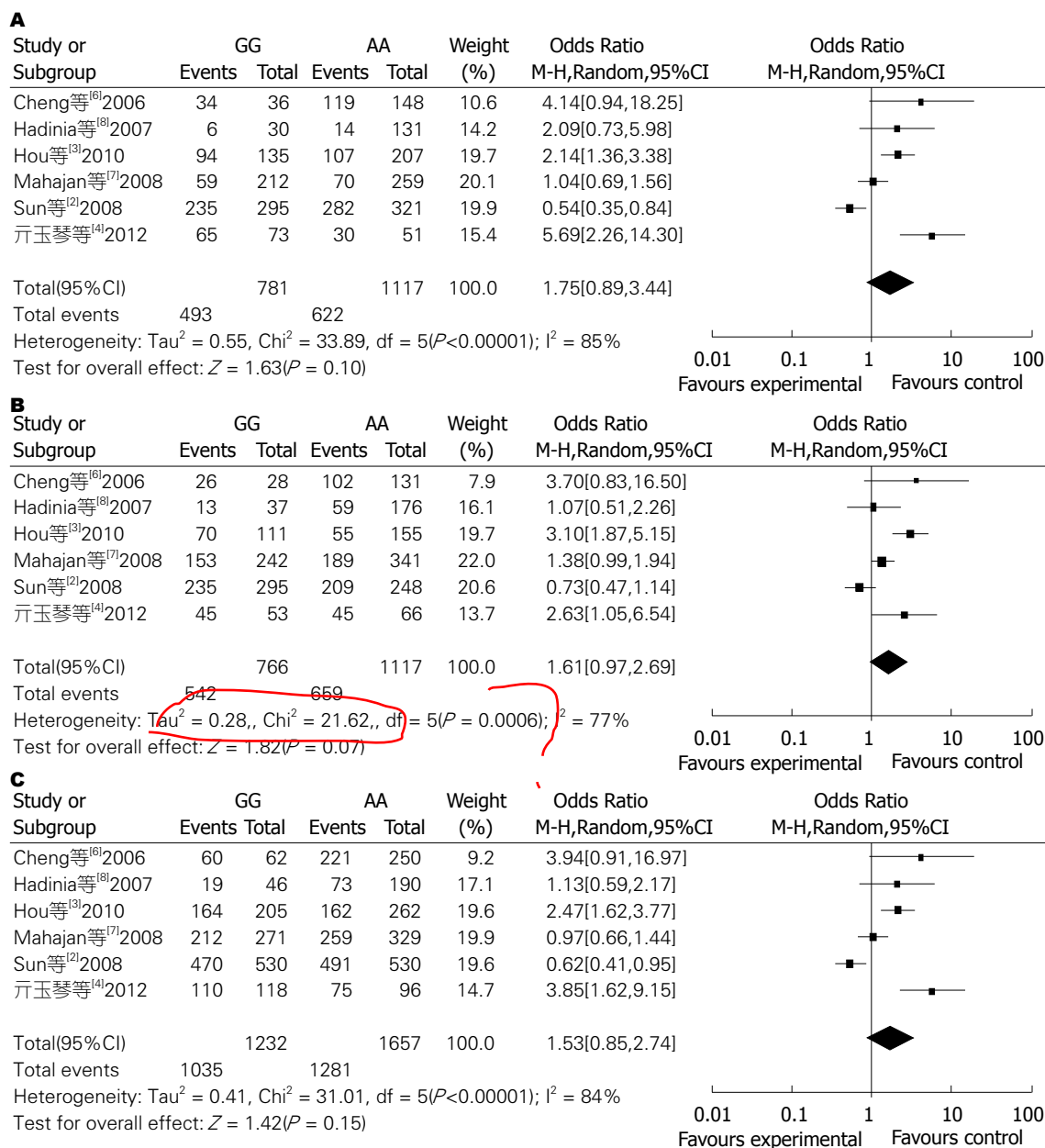


图 1 CTLA-4 +49A/G等位基因多态性与胃癌易感性的Meta分析森林图。A: GG与AA; B: AG与AA; C: AG+GG与AA。

性差异,则采用固定效应模型进行分析结果,反之则采用随机效应模型进行分析。分析结果由RevMan 5.2森林图展示,并制作漏斗图估计发表偏倚是否存在。

## 2 结果

**2.1 纳入研究的基本特征** 在相关数据库中初步检索得到有关的文献62篇,根据纳入和排除标准,最终纳入10个相关的研究做Meta分析,纳入的研究中胃癌患者共1966例,对照组共2473例。其中6项研究CTLA-4 +49等位基因A/G,有1261例胃癌患者和1769例对照;3项研究CTLA-4 -318等位基因T/C,有229例胃癌患者和676例对

照;5项研究CTLA-4 -1661等位基因A/G,有736例胃癌患者和898例对照;4项研究CTLA-4 -722等位基因T/C,有552例胃癌患者和664例对照。*CTLA-4*基因多态性基因频率分布及基因分布频率均符合Hardy-Weinberg(H-W)遗传平衡定律。

**2.2 Meta分析结果** 结果显示:(1)在CTLA-4 +49A/G等位基因与胃癌易感性没有关联:当GG与AA比较时,GG基因型患胃癌风险增高无统计学意义( $OR = 1.75$ , 95%CI: 0.89-3.44,  $P < 0.0001$ );当AG与AA比较时,AG基因型患胃癌风险增高无统计学意义( $OR = 1.61$ , 95%CI: 0.97-2.69,  $P = 0.0006$ );当AA/AG与AA比较时,

## ■ 创新盘点

目前关于CTLA-4多态性与胃癌易感性的单个研究结果不尽一致,且相关Meta分析较少,且存在纳入文献较少,纳入基因不全的缺点。本文广泛搜集相关文献,更加全面准确的评价CTLA-4多态性与胃癌的易感性之间的关系。

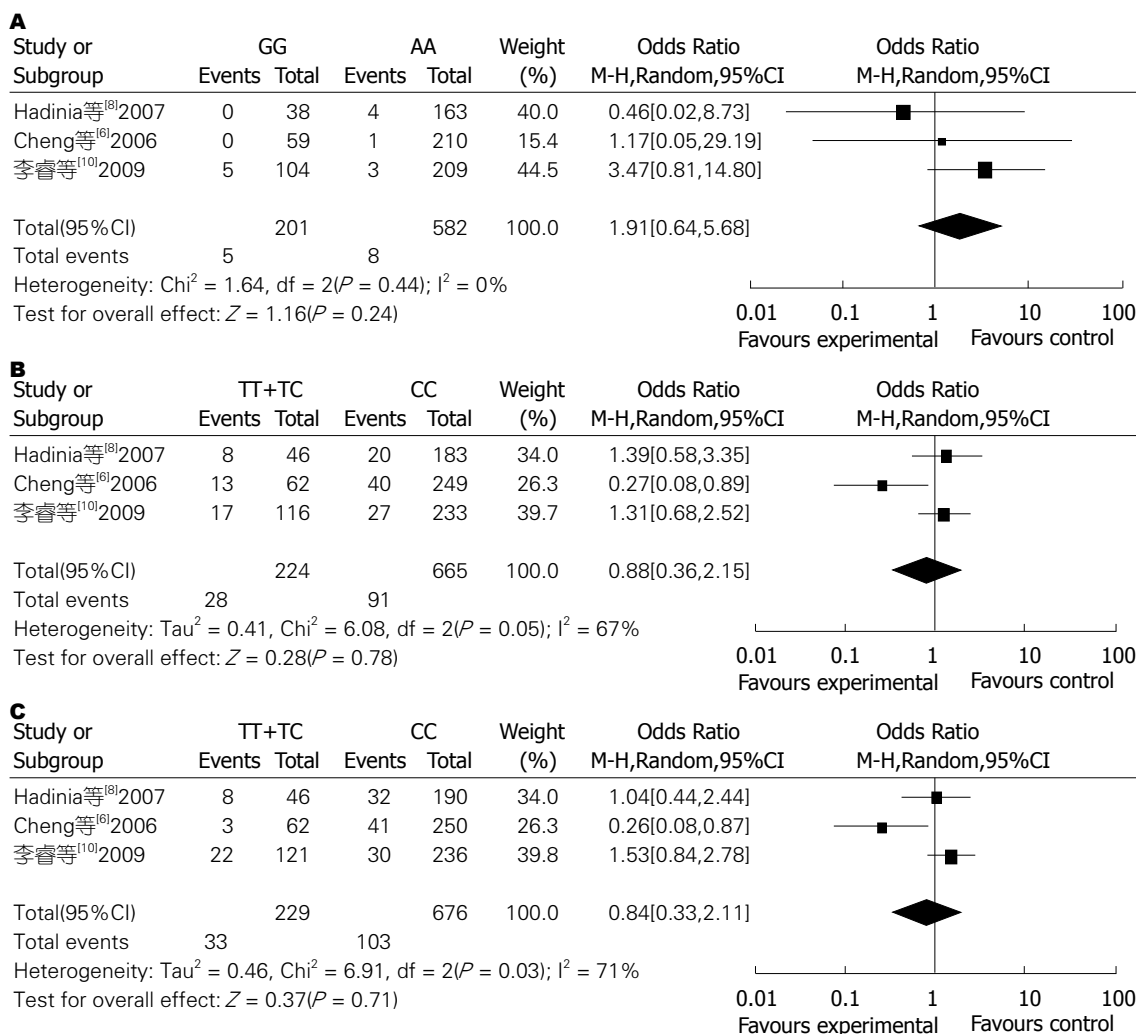


图2 CTLA-4 -318T/C等位基因多态性与胃癌易感性的Meta分析森林图。A: TT与CC; B: TC与CC; C: TT+TC与CC。

表1 纳入研究的基本特征及文献评价

作者	年份	国家	基因分型方法	基因多态性	文献质量
Sun等 <sup>[2]</sup>	2008	中国	PCR-RFLP	a	4
Hou等 <sup>[3]</sup>	2010	中国	PCR	a, c, d	4
元玉琴等 <sup>[4]</sup>	2010	中国	PCR	a, d	4
厚瑞萍等 <sup>[5]</sup>	2009	中国	PCR-RFLP	a	4
Cheng等 <sup>[6]</sup>	2006	中国	PCR	a, b	4
Mahajan等 <sup>[7]</sup>	2008	波兰	TaqMan	a	4
Hadinia等 <sup>[8]</sup>	2007	伊朗	PCR	a, b, c, d	4
崔伟丽等 <sup>[9]</sup>	2010	中国	PCR-RFLP	c	4
李睿等 <sup>[10]</sup>	2009	中国	PCR-RFLP、	c, b	4
宋继权等 <sup>[11]</sup>	2006	中国	PCR-RFLP	c, d	4

a: +49A/G; b: -318T/C; c: -1661A/G; d: -1722T/C. PCR-RFLP: 聚合酶链式反应-限制性片段长度多态性。

AA/AG基因型患胃癌风险增高无统计学意义 ( $OR = 1.53$ ,  $95\%CI: 0.85-2.74$ ,  $P < 0.0001$ )(图1); (2)在CTLA-4 -318T/C等位基因与胃癌遗传易

感性没有关联: 当TT与CC比较时, TT基因型患胃癌风险未见增高无统计学意义( $OR = 1.91$ ,  $95\%CI: 0.64-5.68$ ,  $P = 0.24$ ); 当TC与CC比较



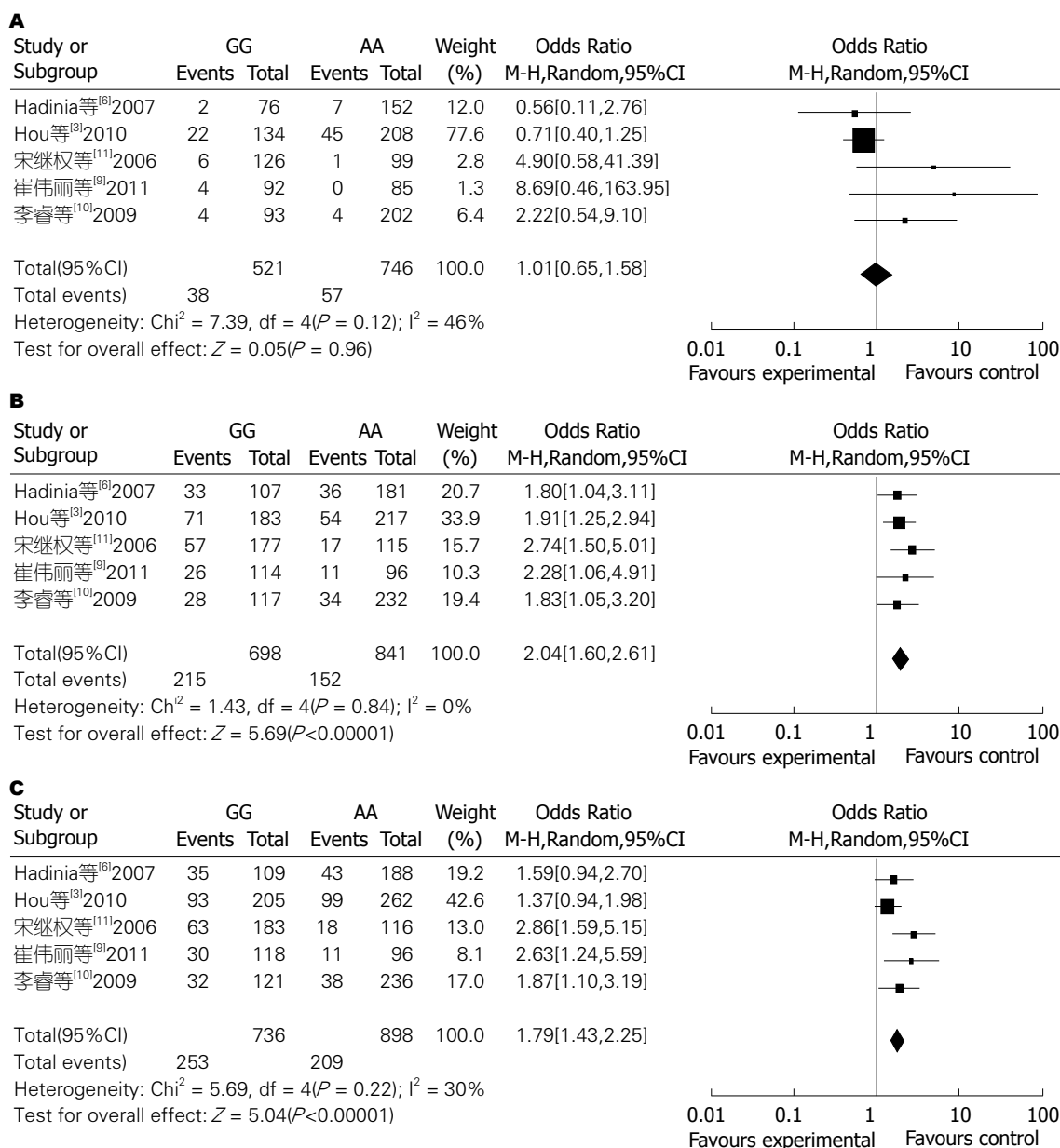


图3 CTLA-4 -1661A/G等位基因多态性与胃癌易感性的Meta分析森林图。A: GG与AA; B: AG与AA; C: GG+AG与AA。

时, TC基因型患胃癌风险未见增高无统计学意义( $OR = 0.88$ ,  $95\%CI: 0.36-2.15$ ,  $P = 0.78$ ); 当TT/TC与CC比较时, TT/TC基因型患胃癌风险未见增高无统计学意义( $OR = 0.84$ ,  $95\%CI: 0.33-2.11$ ,  $P = 0.71$ )(图2); (3)在CTLA-4 -1661 A/G等位基因中: 当AG与AA比较时, AG基因型个体患胃癌风险增高( $OR = 2.04$ ,  $95\%CI: 1.60-2.61$ ,  $P < 0.00001$ ); 当AA/AG与AA比较时, AG及GG基因型个体患胃癌风险增高( $OR = 1.79$ ,  $95\%CI: 1.43-2.25$ ,  $P < 0.00001$ )(图3); (4)在CTLA-4 -1722等位基因T/C中: 当TT与CC比较时, TT基因型个体患胃癌风险增高( $OR = 1.66$ ,  $95\%CI: 1.05-2.62$ ,  $P = 0.03$ ); 当TC与CC比较

时, TC基因型个体患胃癌风险增高( $OR = 2.11$ ,  $95\%CI: 1.05-4.24$ ,  $P = 0.04$ ); 当TT/TC与CC比较时, TT/TC基因型个体患胃癌风险增高( $OR = 1.84$ ,  $95\%CI: 1.20-2.82$ ,  $P = 0.04$ )(图4)。

2.3 发表偏移 本研究的发表偏移主要通过Rev-Man 5.2分析软件将纳入文献研究方法不同而分别绘制各个基因位点的倒漏斗图: 发现CTLA-4 +49A/C等位基因及-1661 A/C等位基因的漏斗图散点在对称轴两侧, 呈基本对称的倒漏斗状, 提示纳入的文献可能没有明显的发表性偏倚。但是-1722T/C等位基因及-318T/C等位基因纳入文献偏少, 故图形不对称, 可能与纳入研究数量较少有关。

## ■名词解释

**CTLA-4多态性与肿瘤**: 目前认为CTLA-4有启动区、4个外显子和3个内显子等构成, 已经发现超过100个SNP在CTLA-4基因编码区编码, 位于外显子1区49位的A/G(腺嘌呤/鸟嘌呤); 位于启动子的318C/T(胞嘧啶/胸腺嘧啶); 位于启动子的1661A/G及1722T/C, 这些基因的编码区被报道与肿瘤的易感性相关联。

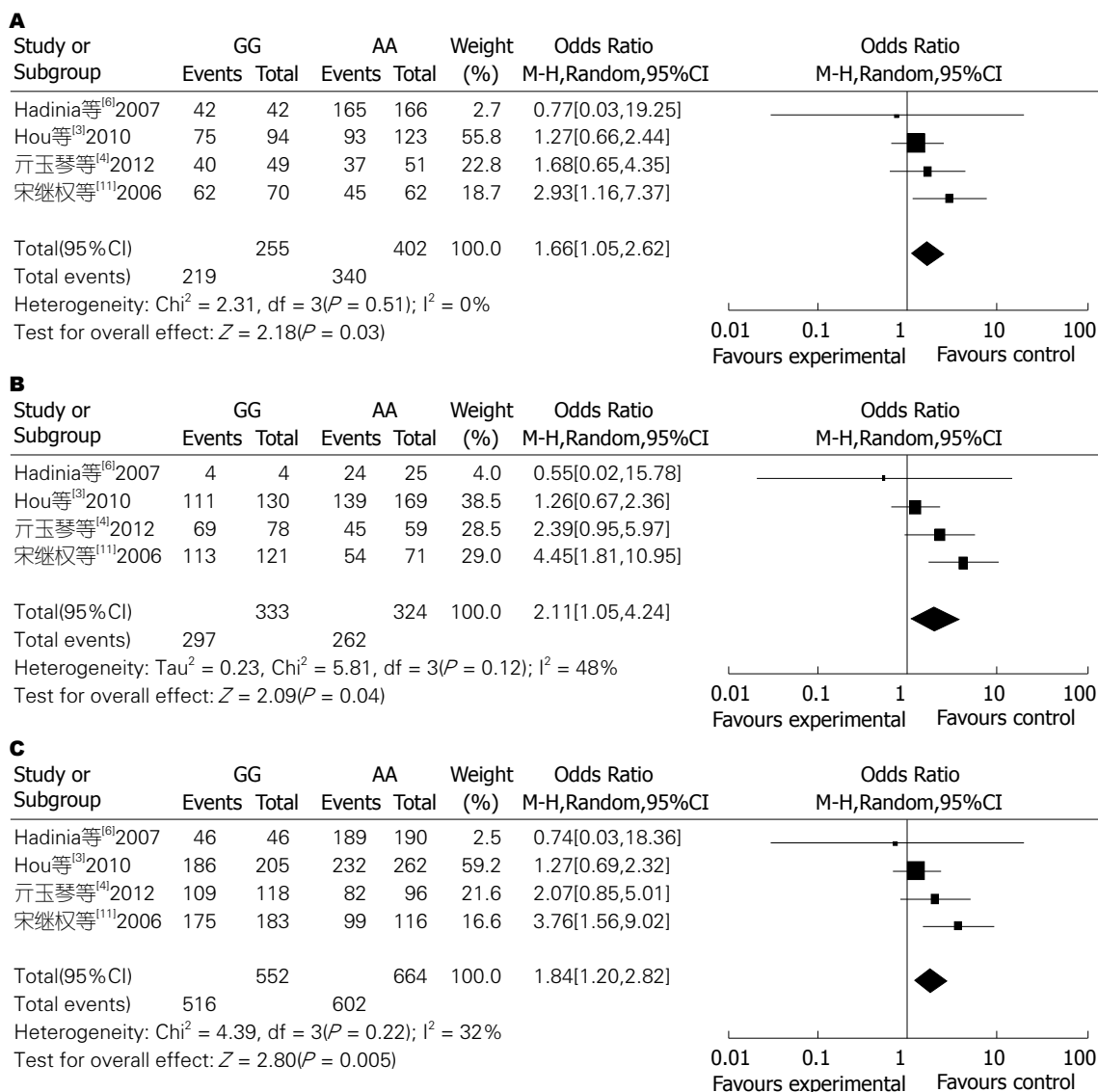


图4 CTLA-4 -1722T/C等位基因多态性与胃癌易感性的Meta分析森林图。A: TT与CC; B: TC与CC; C: TT/TC与CC。

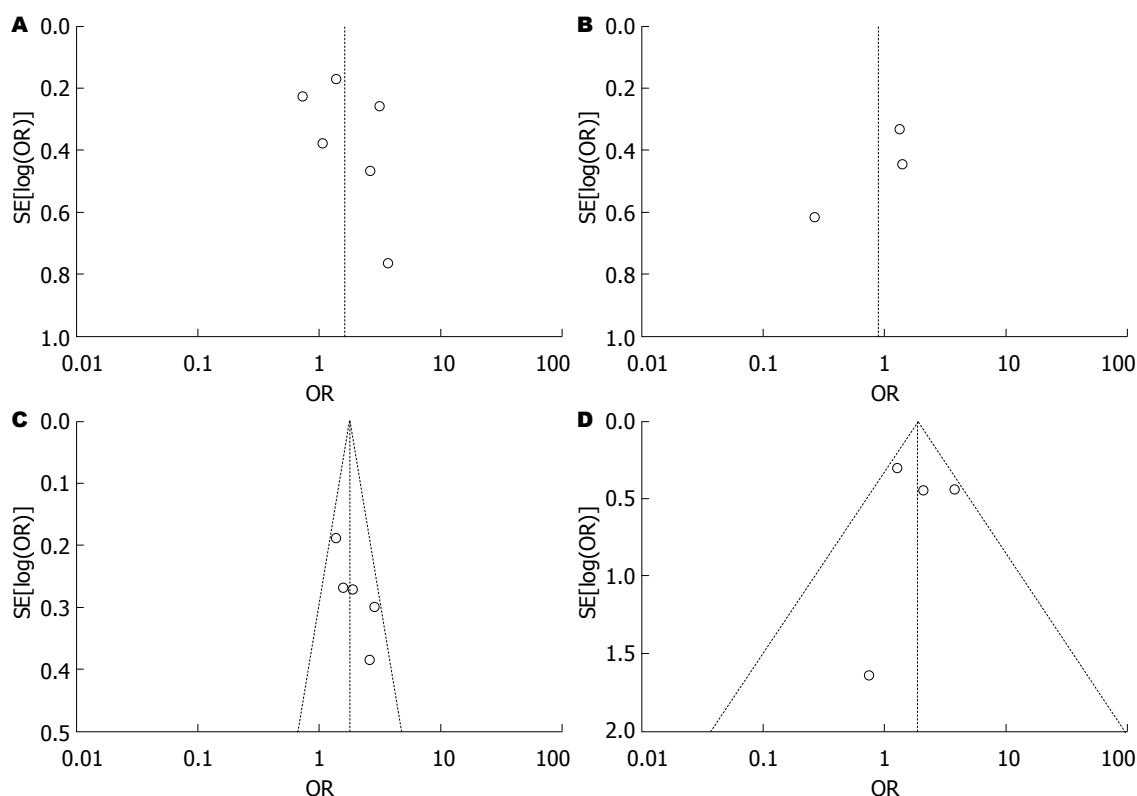
### 3 讨论

在抗肿瘤免疫中, CTLA-4主要是通过调节T细胞增殖和活化起重要作用。CTLA-4表达于活化的CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup> T细胞, 他与B7配体结合启动抑制性信号, 当体内CTLA-4过度表达时, 产生的抑制性信号超过了肿瘤细胞表面抗原提供的免疫原性, 下调或终止T细胞活化, 使肿瘤发生免疫逃逸<sup>[13,14]</sup>。在小鼠和人类中, 抗CTLA-4的单克隆抗体(ipilimumab)可以诱导黑色素瘤的长期消退, 被用于治疗晚期黑色素瘤<sup>[15]</sup>。

当CTLA-4基因的变异时, 会引起其+49A/G、-318T/C、-1661A/G及-1722T/C等位基因频率的改变, 从而可能导致肿瘤的发生。在本研究中发现, +49A/G及-318T/C等位基因多态性与胃癌易感性无明显关联, 目前研究认为其是

通过与其他基因的协同作用而发挥效应<sup>[16]</sup>。而-1661A/G及-1722T/C等位基因与胃癌易感性有关, 有研究认为CTLA-4 -1661A/G的A等位基因变为G等位基因, 将产生一个新的结合位点C/EBPβ<sup>[17]</sup>, 可上调人类CTLA-4启动子的调控区共识序列的表达, 从而促进胃癌细胞的增殖<sup>[18]</sup>。本研究中也证实携带等位基因AG和GG的个体可能增加胃癌的风险。在-1722T/C的C等位基因变成T等位基因, 将产生的转录因子结合位点的核因子1(nuclear factor-1, NF-1), 会加强启动子增强基因的转录, 从而促进T细胞表面的CTLA-4的表达<sup>[17]</sup>。本研究也证实携带等位基因TT和TC的个体增加胃癌的风险。

而对CTLA-4 -1661A/G等位基因多态性与胃癌易感性进行异质性分析表明: 在携带AG基



#### 同行评价

本文通过Meta分析探讨了*CTLA-4*基因多态性与胃癌易感性的关系, 认为*CTLA-4*-1661基因和*CTLA-4*-1722基因多态性与胃癌的发病风险存在相关性, 对胃癌的早期筛查具有一定意义。

图5 各等位基因与胃癌关系的倒漏斗图分析. A: *CTLA-4* +49A/C; B: *CTLA-4* -318T/C; C: *CTLA-4* -1661A/C; D: *CTLA-4* -1722T/C.

因与AA基因比较中, 异质性 $I^2 = 0\%$ ; 在携带GG/AG基因与AA基因比较中, 异质性 $I^2 = 30\%$ 。对*CTLA-4* -1722 -T/C基因多态性与胃癌遗传易感性进行异质性分析表明: 携带TT基因与CC基因比较中, 异质性 $I^2 = 0\%$ ; 携带TT/TC基因与CC基因比较中, 异质性 $I^2 = 32\%$ 。因此, 可认为*CTLA-4* -1661A/G及*CTLA-4* -1722T/C等位基因的各个研究同质性较好, 本研究在此方面的结论是比较可靠的。

与以往的研究比较, 本研究纳入的高质量文献更为全面, 且不存在明显的发表偏倚, 纳入的基因也比较全面, 能够对*CTLA-4*多态性与胃癌的易感性进行较为准确和全面的评价。当然, 本研究的还存在一定的局限性。例如: 纳入研究的人群主要来自亚洲(特别是中国), 只有一个欧洲人群, 所以研究的结果可能更适用于亚洲人; 纳入文献中缺乏对年龄、性别、生活环境暴露因素(饮食习惯、幽门螺杆菌感染等危险因素)等变量的体现, 将影响本研究结果的信度; 在对*CTLA-4* -318T/C基因多态性研究中数量不足, 只有3个病例对照研究, 分析结果可能会受限制。因此, 这些结论应继续待以后更加全面和详尽的研究继续证实。

#### 参考文献

- 1 于国伟, 梁会. 胃癌遗传易感性基因的研究进展. 世界华人消化杂志 2012; 22: 53-58
- 2 Sun T, Zhou Y, Yang M, Hu Z, Tan W, Han X, Shi Y, Yao J, Guo Y, Yu D, Tian T, Zhou X, Shen H, Lin D. Functional genetic variations in cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 and susceptibility to multiple types of cancer. *Cancer Res* 2008; 68: 7025-7034 [PMID: 18757416 DOI: 10.1158/0008-5472]
- 3 Hou R, Cao B, Chen Z, Li Y, Ning T, Li C, Xu C, Chen Z. Association of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4 gene haplotype with the susceptibility to gastric cancer. *Mol Biol Rep* 2010; 37: 515-520 [PMID: 19688278 DOI: 10.1007/s11033-009-9705-1]
- 4 元玉琴, 司君利, 崔京远, 纪莉莎. *CTLA-4*启动子及外显子区域基因多态性与胃癌的相关性研究. 临床肿瘤学杂志 2012; 17: 828-831
- 5 厚瑞萍, 刘英超, 陈自平, 张传臻, 徐昌青. 胃癌易感性与细胞毒性T淋巴细胞相关抗原-4基因49A/G多态性的关系. 中华实验外科杂志 2009; 26: 747-749
- 6 Cheng TY, Lin JT, Chen LT, Shun CT, Wang HP, Lin MT, Wang TE, Cheng AL, Wu MS. Association of T-cell regulatory gene polymorphisms with susceptibility to gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. *J Clin Oncol* 2006; 24: 3483-3489 [PMID: 16849765]
- 7 Mahajan R, El-Omar EM, Lissowska J, Grillo P, Rabkin CS, Baccarelli A, Yeager M, Sobin LH, Zatorski W, Channock SJ, Chow WH, Hou L. Genetic variants in T helper cell type 1, 2 and 3 pathways and gastric cancer risk in a Polish population. *Jpn J Clin Oncol* 2008; 38: 626-633 [PMID: 18687755 DOI: 10.1093/jjco/hyn075]



- 8 Hadinia A, Hossieni SV, Erfani N, Saberi-Firozi M, Fattahi MJ, Ghaderi A. CTLA-4 gene promoter and exon 1 polymorphisms in Iranian patients with gastric and colorectal cancers. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 2283-2287 [PMID: 18031393]
- 9 崔伟丽, 崔京远, 司君利, 元玉琴, 王贺. CTLA-4基因多态性, Hp感染与胃癌发病的相关性研究. *中国现代普通外科进展* 2012; 14: 937-940
- 10 李睿, 夏冰, 肖晖, 蒋益, 周峰. CTLA-4基因启动子区-1661和-318位点多态性与胃癌的关系. *胃肠病学* 2009; 14: 332-336
- 11 宋继权, 夏冰, 李睿, 李春, 吴云华. 胃癌与细胞毒性T淋巴细胞相关抗原-4基因启动子区域多态性的相关性研究. *中华实验外科杂志* 2006; 23: 1373-1374
- 12 Lichtenstein MJ, Mulrow CD, Elwood PC. Guidelines for reading case-control studies. *J Chronic Dis* 1987; 40: 893-903 [PMID: 3597690]
- 13 Wang XB, Zhao X, Giscombe R, Lefvert AK. A CTLA-4 gene polymorphism at position -318 in the promoter region affects the expression of protein. *Genes Immun* 2002; 3: 233-234 [PMID: 12058260]
- 14 Holmgaard RB, Zamarin D, Munn DH, Wolchok JD, Allison JP. Indoleamine 2,3-dioxygenase is a critical resistance mechanism in antitumor T cell immunotherapy targeting CTLA-4. *J Exp Med* 2013; 210: 1389-1402 [PMID: 23752227 DOI: 10.1084/jem.20130066]
- 15 Fan X, Quezada SA, Sepulveda MA, Sharma P, Allison JP. Engagement of the ICOS pathway markedly enhances efficacy of CTLA-4 blockade in cancer immunotherapy. *J Exp Med* 2014; 211: 715-725 [PMID: 24687957 DOI: 10.1084/jem.20130590]
- 16 Ligers A, Teleshova N, Masterman T, Huang WX, Hillert J. CTLA-4 gene expression is influenced by promoter and exon 1 polymorphisms. *Genes Immun* 2001; 2: 145-152 [PMID: 11426323]
- 17 Mao HT, Wang XB, Zhang L, Gu HT. [Studies on the genetic pathogenesis of myasthenia gravis caused by CTLA-4 gene polymorphism]. *Zhonghua YiXue Yichuanxue Zazhi* 2004; 21: 574-578 [PMID: 15583985]
- 18 Bouqbis L, Izaabel H, Akhayat O, Pérez-Lezaun A, Calafell F, Bertranpetit J, Comas D. Association of the CTLA4 promoter region (-1661G allele) with type 1 diabetes in the South Moroccan population. *Genes Immun* 2003; 4: 132-137 [PMID: 12618861]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



# 胃混合性癌组织中HER2蛋白表达的判读要点

李滢滢, 王苏南, 徐正顺, 王建军, 王仰坤

李滢滢, 王苏南, 深圳职业技术学院电子与通信工程学院计算机软件开发室 广东省深圳市 518055

徐正顺, 河南科技大学医学院病理学教研室 河南省洛阳市 471000

王建军, 中国人民解放军第150中心医院胃肠外科 河南省洛阳市 471031

王仰坤, 中国人民解放军第150中心医院病理科 河南省洛阳市 471031

李滢滢, 讲师, 主要从事计算机图像分析与定量识别显微镜下的组织和细胞的应用技术研究。

河南省重点科技攻关计划基金资助项目, No. 132102310008

作者贡献分布: 此课题由李滢滢、王苏南及王仰坤共同设计; 研究过程由徐正顺与王建军操作完成; 数据分析由李滢滢、王苏南及徐正顺完成; 论文写作由李滢滢、王苏南、王建军及王仰坤完成。

通讯作者: 王苏南, 讲师, 518055, 深圳市南山区西丽湖沙河西路4089号深圳职业技术学院行政楼503, 深圳职业技术学院电子与通信工程学院计算机软件开发室。wangsunan@szpt.edu.cn  
电话: 0379-64169432

收稿日期: 2014-03-14 修回日期: 2014-06-06

接受日期: 2014-07-28 在线出版日期: 2014-10-28

## Expression and amplification of HER2 in mixed-type gastric carcinoma

Ying-Ying Li, Su-Nan Wang, Zheng-Shun Xu, Jian-Jun Wang, Yang-Kun Wang

Ying-Ying Li, Su-Nan Wang, Computer Software Development, Electronics and Communication Engineering, Shenzhen Polytechnic College, Shenzhen 518055, Guangdong Province, China

Zheng-Shun Xu, Department of Pathology, Henan University of Science and Technology School of Medicine, Luoyang 471000, Henan Province, China

Jian-Jun Wang, Department of Gastrointestinal Surgery, 150th Central Hospital of People's Liberation Army, Luoyang 471031, Henan Province, China

Yang-Kun Wang, Department of Pathology, 150th Central Hospital of People's Liberation Army, Luoyang 471031, Henan Province, China

Supported by: Henan Provincial Key Scientific and Technological Project, No. 132102310008

Correspondence to: Su-Nan Wang, Lecturer, Computer Software Development, Electronics and Communication Engineering, Shenzhen Polytechnic College, Administration Building Room 503, East Campus of Shenzhen Polytechnic, 4089 Shahe West Road, Xili Lake, Nanshan District, Shenzhen 518055, Guangdong Province, China. wangsunan@szpt.edu.cn

Received: 2014-03-14 Revised: 2014-06-06

Accepted: 2014-07-28 Published online: 2014-10-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the expression and amplification of human epidermal growth factor receptor-2 (HER2) in mixed-type gastric carcinoma.

cation of human epidermal growth factor receptor-2 (HER2) in mixed-type gastric carcinoma.

**METHODS:** Immunohistochemistry (IHC) and fluorescence *in situ* hybridization (FISH) were used to detect the expression and amplification of HER2 in 277 cases of mixed-type gastric carcinoma, respectively.

**RESULTS:** The overall expression rate of HER2 protein was 41.5% (115/277). Strong HER2 protein expression (+++) accounted for 10.1% (28/277), including diffuse expression in 7 cases, partial expression in 12 cases, and focal expression in 4 cases. Moderate HER2 protein expression (++) accounted for 13.4% (37/277), including diffuse expression in 9 cases, partial expression in 16 cases, and focal expression in 6 cases. Weak HER2 protein expression (+) accounted for 18.1% (50/277), including diffuse expression in 11 cases, partial expression in 24 cases, and focal expression in 7 cases. Negative HER2 protein expression was noted in 162 cases, which accounted for 58.5% (162/277). The overall rate of *HER2* gene amplification was 40.9% (47/115), including 89.3% (25/28) of cases with strong HER2 protein expression, 45.9% (17/37) of cases with moderate HER2 protein expression and 10% (5/50) of cases with weak HER2 protein expression. Of the 47 cases with amplification of the *HER2* gene, only one case occurred in the region of squamous cell carcinoma, and the remaining 46 cases occurred in the adenocarcinoma region.

**CONCLUSION:** HER2 expression has great heterogeneity in mixed-type gastric carcinoma, and the classification of positive HER2 protein expression into diffuse, partial and focal types can provide a better quantitative parameter for targeted therapy with anti-tumor drugs.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Stomach neoplasms; Mixed tumor; HER2; *In situ* hybridization; Fluorescence; Immunohistochemistry

## ■背景资料

近年来,随着对肿瘤生物学研究的不断深入,新的分子靶向治疗药物也不断出现。胃及食管胃连接部的混合性癌中有混合性腺癌和非腺癌混合,包括鳞癌、神经内分泌癌混合等。因此,规范胃癌人表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor-2, HER2)检测是正确指导用药的保证。

## ■同行评议者

陈国忠, 主任医师, 广西医科大学

## ■ 研发前沿

以HER2为靶点的抗肿瘤作用成为各国医学研究的热点。HER2过表达常见于乳腺癌、胃癌。HER2基因状态的研究近年来有较少的报道。但如何更好地为靶向抗肿瘤药物治疗过程中受益提供量化的参考指标亟待研究的问题。

Li YY, Wang SN, Xu ZS, Wang JJ, Wang YK. Expression and amplification of HER2 in mixed-type gastric carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(30): 4627-4633 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4627.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4627>

## 摘要

**目的:** 探讨胃混合性癌组织中人表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor-2, HER2)蛋白表达的判读要点。

**方法:** 采用免疫组织化学(immunohistochemical, IHC)和荧光原位杂交(fluorescence *in situ* hybridization, FISH)技术对277例胃混合性癌进行HER2蛋白表达的检测。

**结果:** HER2蛋白表达阳性率41.5%(115/277), 其中HER2蛋白表达3+广泛型7例、部分型12例、局灶型4例, 占10.1%(28/277)。HER2蛋白表达2+广泛型9例、部分型16例、局灶型6例, 占13.4%(37/277)。HER2蛋白表达1+广泛型11例、部分型24例、局灶型7例, 占18.1%(50/277)。阴性162例, 占58.5%(162/277)。HER2基因扩增率为40.9%(47/115), 其中HER2蛋白表达3+者中占89.3%(25/28)、HER2蛋白2+者占45.9%(17/37)和HER2蛋白1+者占10.0%(5/50)。47例HER2基因扩增阳性中除一例是胃混合性癌中的鳞状细胞癌区域扩增外, 其余46例均为混合性癌中的腺癌区域扩增。

**结论:** 胃混合性癌HER2检测有很大的异质性, 检测HER2蛋白阳性表达划分为广泛型、部分型和局灶型, 此种划分能更好地为靶向抗肿瘤药物治疗过程中受益提供量化的参考指标。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 胃肿瘤; 混合性癌; HER2基因; HER2蛋白; 原位杂交; 荧光; 免疫组织化学

**核心提示:** 人表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor-2)蛋白阳性表达划分为将阳性肿瘤细胞 $\geq 80\%$ 为广泛型、79-21%为部分型、 $\leq 20\%$ 为局灶型, 此划分能更好地为靶向抗肿瘤药物治疗过程中受益提供量化的参考指标。

李滢滢, 王苏南, 徐正顺, 王建军, 王仰坤. 胃混合性癌组织中HER2蛋白表达的判读要点. *世界华人消化杂志* 2014; 22(30): 4627-4633 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4627.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4627>

## 0 引言

靶向治疗实属病理生理治疗, 也就是封闭肿瘤发展过程中的关键受体和纠正其病理过程。由于这类药物具有靶向性和非细胞毒性的特点, 主要对肿瘤细胞起调节作用和稳定作用, 因此, 与细胞毒性药物有很大区别。近年来, 针对信号转导、生长因子及其受体, 人们正在研发几种新型药物, 并且已取得了重要成果, 其表达的蛋白产物为人表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor-2, HER2), 后者的高表达可活化细胞信号转导系统, 导致细胞转化、增殖<sup>[1,2]</sup>。乳腺癌中HER2是一种广泛采用的治疗靶点<sup>[3,4]</sup>, 越来越多的证据表明, HER2也是胃癌的重要标志物, 高HER2表达的肿瘤患者最为受益<sup>[5-7]</sup>。但胃癌表现出独特的免疫染色特性, 特别是胃混合性癌HER2表达阳性病例中有较高的肿瘤异质性<sup>[8]</sup>, 胃及食管胃连接部的混合性癌中有混合性腺癌和非腺癌混合, 包括鳞癌、神经内分泌癌混合等。因此, 规范胃癌HER2检测是正确指导用药的保证。我们采用免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)技术检测胃混合性癌HER2蛋白表达水平、荧光原位杂交(fluorescence *in situ* hybridization, FISH)技术检测胃混合性癌HER2基因扩增状态, 探讨IHC和FISH技术检测胃混合性癌判读标准, 以便更好地为靶向抗肿瘤药物治疗过程中的受益提供量化的参考指标。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集洛阳市第150中心医院于2010-05/2011-12外科手术切除的胃及食管胃连接部混合性癌根治标本277例, 组织学诊断标准按照文献胃肿瘤病理学<sup>[9]</sup>和世界卫生组织消化系肿瘤(World Health Organization digestive system tumors)胃癌组织学分类<sup>[10]</sup>。本组年龄25-76岁(中位年龄64.7岁)。手术离体后标本均在30 min内固定, 经新鲜配置的40 g/L甲醛固定8-48 h, 固定液与组织体积比为10:1。切取肿瘤组织4-6块(常规切取近端、远端切缘, 肿瘤及临近胃黏膜等处组织标本块不包括在内), 包括最深浸润点及最邻近浆膜层, 分别进行HE、IHC和FISH技术检测。采用美国FDA批准的HER2免疫组织化学染色试剂盒, 即HER2 HercepTest™ Kit和pharmDx™ Kit, 均购自Dako Cytomation公司。Paraffin Pretreatment Kit II 试剂盒(其中主要含有预处理溶液和蛋白酶溶液)和Path Vysion™ HER2探针试剂盒, 均购自Vysis公司。



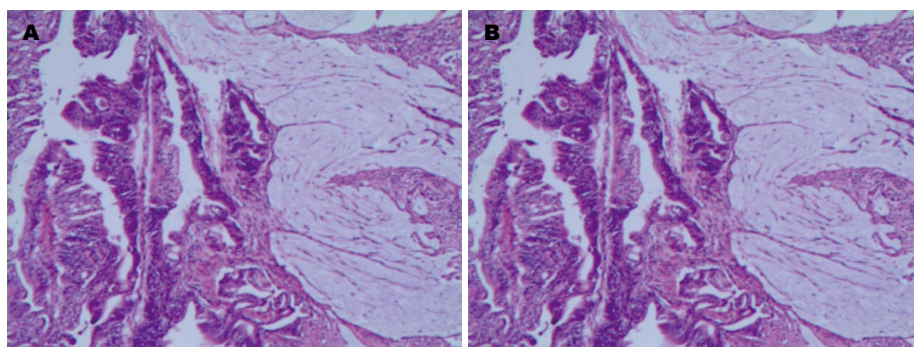


图1 胃混合性腺癌(HE × 400). A: 混合性黏液腺癌-乳头状腺癌; B: 混合性乳头状腺癌-管状腺癌.

## ■ 相关报道

胃癌组织中HER2检测有很大的异质性,尤其是胃混合性癌,HER2检测规范和细化是正确指导用药的保证.在采用分子靶向治疗时每例胃标本切取肿瘤组织6-8块,以防漏检.

## 1.2 方法

1.2.1 HE染色: 常规脱水, 石蜡包埋, 4  $\mu$ m厚切片, HE染色, 光镜观察组织结构及细胞形态.

1.2.2 免疫组织化学染色: 采用SP法, 抗体及克隆号为: HER2(SP3). 即用型试剂盒和一抗均购自福州迈新生物技术开发有限公司. DAB显色, 苏木精衬染, 用TBS液代替第一抗体作阴性对照, 每次染色均设阴性及阳性对照. 染色阳性强度的结果判读: 每例分析4-6张切片, 若肿瘤细胞的细胞膜均无染色, 结果为0; 若肿瘤细胞微弱或隐约可见膜染色者, 结果为1+; 若肿瘤细胞的基底膜、侧面膜或完整性的膜有弱至中度染色者, 结果为2+; 肿瘤细胞的基底膜、侧面膜或完整性的膜有强阳性染色者, 结果为3+. 染色阳性面积的结果判读: 每例分析4-6张切片, 若肿瘤细胞的细胞膜均无着色为阴性, 若 $\geq 80\%$ 着色为广泛型、79-21%着色为部分型、 $\leq 20\%$ 着色为局灶型.

1.2.3 FISH技术检测: 石蜡包埋胃癌组织切片的预处理程序及FISH操作步骤按照文献[11]及试剂盒说明书进行. FISH结果判断: 根据IHC检测切片的HER2阳性区域, 进行FISH技术检测. 首先在HE染色切片上确认癌细胞阳性区域, 然后在10 $\times$ 物镜下, 于FISH切片上找到HE的同一视野, 在40 $\times$ 物镜下观察整张切片, 75%以上癌细胞核中都有杂交信号视为结果满意, 然后换成100 $\times$ 物镜, 计数至少30个边界完整、孤立无重叠的癌细胞. HER2基因扩增评价标准: 随机计数30个癌细胞核中HER2基因拷贝数与17号染色体数量的比值, 若比值 $>2.2$ 为阳性结果, 提示样本中扩增HER2基因, 若比值 $<1.8$ 为阴性结果, 提示该样本无HER2基因扩增; 如果比值在1.8-2.2之间, 可选择其他肿瘤组织区域再进行30个肿瘤细胞计数以确定最后结果.

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件分析,

应用t检验和 $\chi^2$ 检验比较两组HER2基因状态患者的生存率.  $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 胃混合性癌组织形态学 胃混合性腺癌216例, 包括乳头状腺癌、腺管状腺、黏液腺癌和低黏附性腺癌的不同组织学结构混合(图1); 腺鳞癌34例; 胃混合性腺癌-神经内分泌癌22例, 包括一种或一种以上的腺癌与神经内分泌肿瘤的混合; 胃混合性腺癌-鳞癌-神经内分泌癌5例. 均为pT2-4期.

2.2 胃混合性癌HER2蛋白表达率及表达特点 胃混合性癌HER2蛋白表达率与组织学类型的关系如表1. HER2蛋白阳性表达定位在细胞膜, 阳性表达率为41.5%(115/277), 其中HER2蛋白表达3+广泛型7例(图2A)、部分型12例(图2B)、局灶型(图3C)4例, 占10.1%(28/277); HER2蛋白表达2+广泛型9例、部分型16例、局灶型6例, 占13.4%(37/277); HER2蛋白表达1+广泛型11例、部分型24例、局灶型7例, 占18.1%(50/277). 阴性162例, 占58.5%(162/277).

胃混合性癌HER2蛋白表达的显著特点是异质性, 每例4-6张切片中若只有广泛型、部分型、局灶型和阴性的任何一种类型者, 称为单信号型, 本次研究中占36.5%(42/115); 每例分析4-6张切片中同时有广泛型、部分型、局灶型的一种或一种以上者, 称为多信号型, 本次研究占63.5%(73/115). 34例腺鳞癌中HER2蛋白表达阳性12例, 其中2例为鳞癌部分阳性, 其他均为腺癌部分阳性; 22例混合性腺癌-神经内分泌癌和5例混合性腺癌-鳞癌-神经内分泌癌中, HER2蛋白表达阳性区域均在腺癌部分.

2.3 17号染色体高拷贝数和HER2基因扩增特点 HER2基因扩增率为40.9%(47/115), 其中HER2蛋白表达3+者中占89.3%(25/28)、HER2

### ■ 创新盘点

其意义在于国内外文献把胃癌组织中HER2检测判读标准定为 $\leq 10\%$ 为阴性是不妥,临床实践发现胃癌组织中HER2检测10%阳性细胞个体化治疗仍有意义,所以,将阳性肿瘤细胞 $\geq 80\%$ 为广泛型、79%-21%为部分型、 $\leq 20\%$ 为局灶型,方便受益效果的观察。

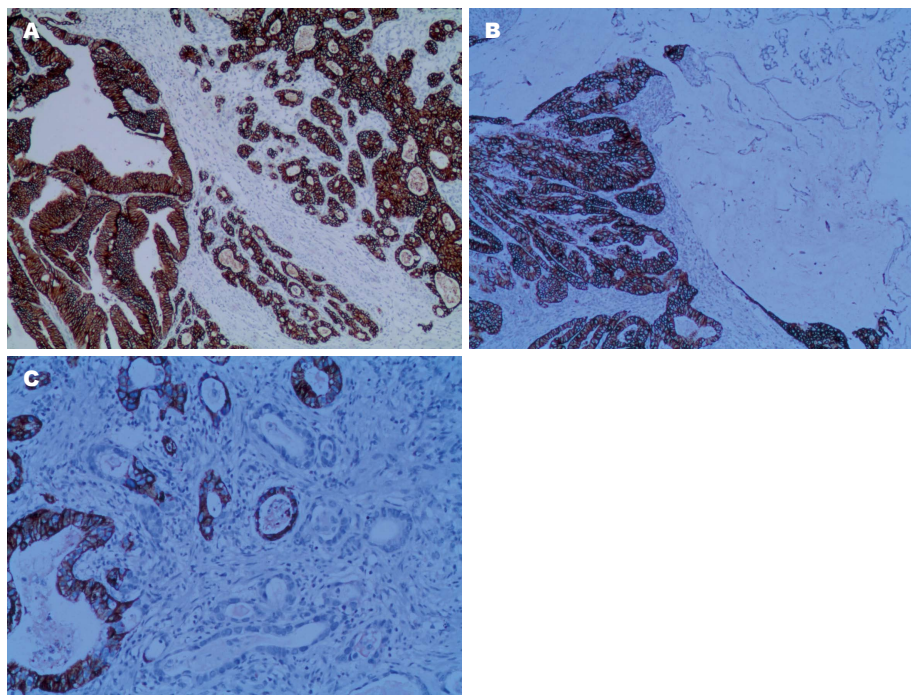


图2 胃混合性腺癌HER2阳性表达(SP $\times 400$ )。A: 混合性管状腺管-乳头状腺癌3+广泛型; B: 混合性乳头状腺癌-黏液腺癌3+部分型; C: 混合性癌组织中管状腺癌3+局灶型。

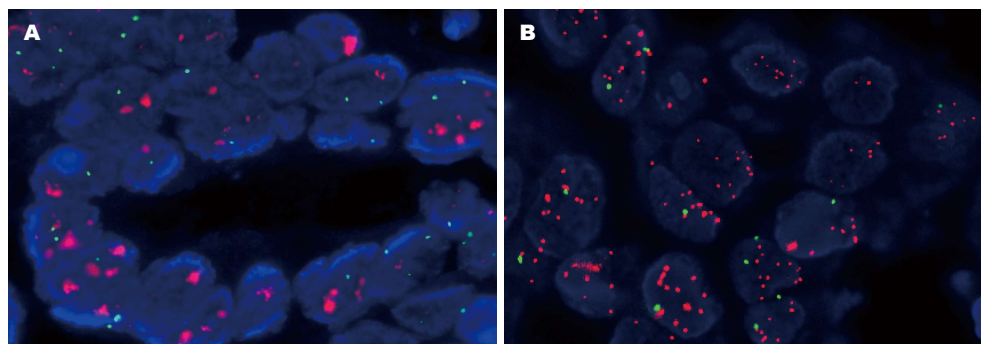


图3 胃混合性癌HER2基因扩增(FISH法 $\times 1000$ )。A: 胃混合性癌组织中的腺癌HER2基因扩增状态; B: 胃混合性癌组织中的低分化腺癌HER2基因扩增状态。红色为探针信号, 绿色为17号染色体。

蛋白2+者占45.9%(17/37)和HER2蛋白1+者占10.0%(5/50)。47例HER2基因扩增阳性中除一例是胃混合性癌中的鳞状细胞癌区域扩增外,其余46例均为混合性癌中的腺癌区域扩增(图3)。

### 3 讨论

近年来随着对肿瘤生物学研究的不断深入,新的分子靶向治疗药物也不断出现。与传统的细胞毒性药物不同,他们在分子、生物化学和基因水平上选择性作用于癌细胞,特异性阻断癌细胞膜上的异常途径而对正常细胞功能仅有轻微影响。曲妥珠单抗(herceptin)是一种人鼠嵌合型单克隆抗体。1998年美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批

准在HER2过表达的晚期乳腺癌患者中应用,目前已经成为乳腺癌一线治疗药物<sup>[8,9]</sup>。HER2也是胃癌重要的生物标志物<sup>[12]</sup>,用herceptin对HER2蛋白过表达的进展期、复发/或转移性胃癌患者进行治疗,生存率明显提高<sup>[10]</sup>。我们采用IHC和FISH技术检测277例胃混合性癌,发现HER2蛋白表达阳性率41.5%(115/277),其中HER2蛋白表达3+广泛型7例、部分型12例、局灶型4例,占10.1%(28/277)。HER2蛋白表达2+广泛型9例、部分型16例、局灶型6例,占13.4%(37/277)。HER2蛋白表达1+广泛型11例、部分型24例、局灶型7例,占18.1%(50/277)。阴性162例,占58.5%(162/277)。HER2基因扩增率为40.9%(47/115),其中HER2蛋白表达3+者中占

表 1 277例胃混合性癌HER2蛋白表达与组织学类型的关系

**■应用要点**  
HER2检测时,即使是HER2蛋白表达阳性3+广泛型仍有7.1%(2/28)的患者无HER2基因扩增,而HER2蛋白表达阳性1+中却有10.0%(5/50)的患者有HER2基因扩增。因此,在采用分子靶向治疗前,进行HER2基因扩增的检测更为正确。

类型	n	IHC(n)				阳性率[n(%)]
		-	1+	2+	3+	
混合性腺癌	216					
≥80%			13	10	8	31(14.4)
79%~21%			21	15	14	50(23.1)
≤20%			7	5	3	15(6.9)
阴性		120				120(55.6)
腺鳞癌	34					
≥80%			0	1	0	1(2.9)
79%~21%			3	1	1	5(14.7)
≤20%			2	1	1	4(11.8)
阴性		24				24(70.6)
混合性腺癌-神经内分泌癌	22					
≥80%			0	0	0	0(0)
79%~21%			2	2	0	4(13.6)
≤20%			1	1	1	3(14.3)
阴性		15				15(68.1)
混合性腺癌-鳞癌-神经内分泌癌	5					
≥80%			0	0	0	0(0)
79%~21%			1	0	0	1(20.0)
≤20%			0	1	0	1(20.0)
阴性		3				3(60.0)
合计[n(%)]	277	162(58.5)	50(18.1)	37(13.4)	28(10.1)	115(41.5)

HER2: 人表皮生长因子受体2; IHC: 免疫组织化学。

表 2 115例HER2蛋白阳性表达强度和面积分布特点

	广泛型	部分型	局灶性	合计n(%)
单信号型 <sup>1</sup>	10	23	9	42(36.5)
多信号型 <sup>2</sup>	22	37	14	73(63.5)
合计[n(%)]	32(10.1)	60(13.2)	23(18.5)	115(42.3)

<sup>1</sup>每例4~6张切片中只有广泛型、部分型、局灶型的任何一种类型; <sup>2</sup>每例4~6张切片中同时有广泛型、部分型、局灶型或二者以上者。HER2: 人表皮生长因子受体2。

89.3%(25/28)、HER2蛋白2+者占45.9%(17/37)和HER2蛋白1+者占10.0%(5/50)。我们的研究结果同文献报道一致,HER2表达水平越高,则越有可能从以HER2为靶点的抗肿瘤药物治疗过程中受益<sup>[13]</sup>。但文献对胃癌HER2蛋白表达的判读标准确定>10%的肿瘤细胞为3+者视为受益,然而,在临床随访中发现5%的患者也是有效果的,另外,>80%比10%的临床效果显著得多,由此,我们提出将HER2蛋白表达结果检测划分为广泛型、部分型和局灶型,能更好的为靶向抗肿瘤药物治疗过程中的受益提供量化的参考指标。每例4-6张切片中只有广泛型、部分型、局灶型

的任何一种类型为单信号型;每例4-6张切片中同时有广泛型、部分型、局灶型或二者以上者为多信号型。这种单型号与多信号划分主要是区分出异质性的肿瘤,但对靶向抗肿瘤药物治疗过程中的受益多信号有待更多病例的随访。  
胃癌HER2检测与乳腺癌不同,其检测结果受到诸多因素的影响,包括标本的术前处理、固定、检测的试剂及方法、实验室的质量控制、染色结果的判读等<sup>[14]</sup>。由于在临床病理工作中还存在相当数量检测结果的不确定性或不可重复性,常导致胃癌临床治疗方面的困惑,临床医师难以准确制定治疗方案而可能造成误治。



### ■同行评价

本研究通过免疫组织化学检测胃混合性癌HER2蛋白表达水平、荧光原位杂交技术检测胃混合性癌HER2基因扩增状态,探讨IHC和FISH技术检测胃混合性癌判读标准,以便更好地为靶向抗肿瘤药物治疗过程中的受益提供量化的参考指标,有较好的科学意义和临床应用价值。

因此,将HER2表达水平的检测结果详细而准确的<sup>[15]</sup>临床,可使以HER2为靶点的抗肿瘤药物治疗过程受益<sup>[15]</sup>。我们通过实践观察总结6方面的检测体会:(1)手术标本必须在离体30 min内固定于新鲜配置的40 g/L中性甲醛溶液,同时记录肿瘤的大体类型,大体照相并剪开;(2)固定液是组织的5倍,时间固定24-36 h不超过48 h;(3)强调在胃癌组织的不同区域取材和组织块的数量,除常规切取近端、远端切缘,肿瘤及临近胃黏膜等处组织标本块之外,至少切取肿瘤组织4-6块,包括最深浸润点及邻近浆膜层,分别进行IHC技术检测,以防因胃癌的异质性而漏检;(4)试剂的厂商较多,选择试剂时,应采用美国FDA批准的HER2免疫组织化学染色试剂盒,同时设立已知的HER2蛋白表达阳性3+、阳性2+、阳性1+和HER2蛋白表达阴性切片作对照;(5)混合性胃腺癌的判读,显示乳头状、管样结构腺癌的癌细胞主要观察基底膜和侧面膜是否阳性;非乳头和管状结构的实体巢状、低黏附性胃癌观察完整的细胞膜;(6)HER2蛋白表达的检测报告,应详细写明HER2阳性表达的强度、面积分别所占百分比或写明HER2蛋白阳性表达3+广泛型、3+部分型和3+局灶型。其意义在于文献报道的判读标准确定>10%的肿瘤细胞为3+者视为受益,但实践证明>80%比仅占10%的阳性肿瘤细胞的效果显著的多,所以,将阳性肿瘤细胞≥80%为广泛型、79%-21%为部分型、≤20%为局灶型,方便受益效果的观察。

FISH技术检测胃癌HER2基因扩增状态,其特异性高于IHC方法,并能提供定量数据,能有效减少试验操作人员的主观印象干扰和实验室之间的变异<sup>[16]</sup>。但FISH技术检测胃癌HER2基因扩增有很大的局限性,尤其是胃混合性癌。因此,根据IHC检测HER2蛋白表达结果,首先分析HER2蛋白表达阳性3+区域,如果无扩增再对HER2蛋白表达2+或HER2蛋白表达1+的区域进行FISH检测。同时强调,即使IHC检测HER2蛋白表达阳性3+患者也要进行HER2基因检测,我们发现HER2蛋白表达阳性3+广泛型仍有7.1%(2/28)的患者为基因扩增检测阴性。计数至少30个肿瘤细胞核中HER2基因拷贝数与17号染色体数量的比值,比值>2.2为阳性结果,提示样本中存在HER2基因扩增;若比值<1.8为阴性结果,提示该样本无HER2基因扩增。如果比值在1.8-2.2之间,可选择其他肿瘤组织区域再进行30个肿瘤细胞计数以确定最后结果。如果比值

接近2.0,但HER2基因为高拷贝数(即≥6个拷贝)也可视为HER2基因扩增阳性,并且在检测报告中必须写明30个细胞中高拷贝数占多少个。

总之,胃癌组织中HER2检测有很大的异质性,尤其是胃混合性癌,HER2检测规范和细化是正确指导用药的保证。在采用分子靶向治疗时每例胃标本切取肿瘤组织6-8块,以防漏检;同时,强调HER2检测的强度和范围,将HER2蛋白表达阳性划分为广泛型、部分型和局灶型,能更好地为靶向抗肿瘤药物治疗过程中的受益提供量化的参考指标。HER2检测时,即使是HER2蛋白表达阳性3+广泛型仍有7.1%(2/28)的患者无HER2基因扩增,而HER2蛋白表达阳性1+中却有10.0%(5/50)的患者有HER2基因扩增。因此,在采用分子靶向治疗前,进行HER2基因扩增的检测更为正确。

### 4 参考文献

- García-García E, Gómez-Martín C, Angulo B, Conde E, Suárez-Gauthier A, Adrados M, Perna C, Rodríguez-Peralto JL, Hidalgo M, López-Ríos F. Hybridization for human epidermal growth factor receptor 2 testing in gastric carcinoma: a comparison of fluorescence in-situ hybridization with a novel fully automated dual-colour silver in-situ hybridization method. *Histopathology* 2011; 59: 8-17 [PMID: 21771023 DOI: 10.1111/j.1365-2559.2011.03894.x]
- Isinger-Ekstrand A, Johansson J, Ohlsson M, Francis P, Staaf J, Jönsson M, Borg A, Nilbert M. Genetic profiles of gastroesophageal cancer: combined analysis using expression array and tiling array-comparative genomic hybridization. *Cancer Genet Cytogenet* 2010; 200: 120-126 [PMID: 20620594 DOI: 10.1016/j.cancergencyto.2010.03.013]
- Rieck LD, Pottala JV, Eliason SL, Koch MR, Egland PG, Egland KA. Status of HER-2 gene amplification in breast cancers from Native American women. *Cancer Genet Cytogenet* 2008; 187: 54-56 [PMID: 18992644 DOI: 10.1016/j.cancergencyto.2008.08.004]
- Gumuskaya B, Alper M, Hucumenoglu S, Altundag K, Uner A, Guler G. EGFR expression and gene copy number in triple-negative breast carcinoma. *Cancer Genet Cytogenet* 2010; 203: 222-229 [PMID: 21156237 DOI: 10.1016/j.cancergencyto.2010.07.118]
- Berezowska S, Novotny A, Bauer K, Feuchtinger A, Slotta-Huspenina J, Becker K, Langer R, Walch A. Association between HSP90 and Her2 in gastric and gastroesophageal carcinomas. *PLoS One* 2013; 8: e69098 [PMID: 23874879 DOI: 10.1371/journal.pone.0069098]
- 田磊, 肖秀英, 叶明. 胃癌分子靶向药物治疗的研究进展. *世界华人消化杂志* 2014; 22: 773-781
- 张永磊, 花亚伟, 张占东, 马飞, 许家亮. HER-2在胃癌原发灶和转移淋巴结中的表达. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 2485-2490
- Gordon MA, Gundacker HM, Benedetti J, Macdonald JS, Baranda JC, Levin WJ, Blanke CD, Elatre W, Weng P, Zhou JY, Lenz HJ, Press MF. Assessment of HER2 gene amplification in adenocarcinomas

- of the stomach or gastroesophageal junction in the INT-0116/SWOG9008 clinical trial. *Ann Oncol* 2013; 24: 1754-1761 [PMID: 23524864 DOI: 10.1093/annonc/mdt106]
- 9 王仰坤. 胃肿瘤病理学. 北京: 人民军医出版社, 2012: 296-404
- 10 哈米霍恩原著, 虞积耀主译. WHO肿瘤分类及诊断标准: 消化系统肿瘤病理学和遗传学. 人民卫生出版社, 2002: 45-79
- 11 Yk W, Cf G, T Y, Z C, Xw Z, Xx L, Nl M, Wz Z. Assessment of ERBB2 and EGFR gene amplification and protein expression in gastric carcinoma by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization. *Mol Cytogenet* 2011; 4: 14 [PMID: 21689422 DOI: 10.1186/1755-8166-4-14]
- 12 王仰坤, 高春芳, 张现伟, 负田, 李富林, 赵元珍, 赵文召, 蒙念龙. 利用FISH技术检测胃癌组织中HER2基因及其与p53蛋白表达的相关性. 临床与实验病理学杂志 2011; 27: 126-129
- 13 刘伟, 余英豪, 陈娟, 熊喜生, 欧阳学农, 王烈, 武一曼. EGFR在中国胃癌患者中的表达及其临床意义. 世界华人消化杂志 2010; 18: 2648-2653
- 14 王仰坤, 高春芳, 负田, 张现伟, 赵文召, 郑国宝, 刘广洛. HER2和EGFR基因在胃癌组织中的状态及其临床病理的关系. 世界华人消化杂志 2010; 18: 2642-2647
- 15 Brabender J, Danenberg KD, Metzger R, Schneider PM, Park J, Salonga D, Hölscher AH, Danenberg PV. Epidermal growth factor receptor and HER2-neu mRNA expression in non-small cell lung cancer Is correlated with survival. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 1850-1855 [PMID: 11448895]
- 16 Pala EE, Bayol U, Ozguzer A, Akman O. HER2 status in gastric cancer: a comparison of two novel in situ hybridization methods (IQ FISH and dual color SISH) and two immunohistochemistry methods (A0485 and HercepTest™). *Pathol Res Pract* 2013; 209: 548-554 [PMID: 23910175 DOI: 10.1016/j.prp.2013.05.008]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

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

## 肝淀粉样变性的临床特点及随访

汤善宏, 曾维政, 吴晓玲, 秦建平, 陈易华, 程双平, 梁燕, 蒋明德

### ■背景资料

肝淀粉样变性是多系统淀粉样变病的一部分, 是由于特异性淀粉样糖蛋白沉积于多个组织器官细胞外组织中, 引起一组临床症候群, 淀粉样蛋白沉积于肝细胞间或网状纤维支架, 由于缺乏特异性临床症状及体征容易导致误诊。

汤善宏, 曾维政, 吴晓玲, 秦建平, 程双平, 蒋明德, 中国人民解放军成都军区总医院消化内科 四川省成都市 610083  
陈易华, 中国人民解放军成都军区总医院病理科 四川省成都市 610083

梁燕, 中国人民解放军成都军区总医院超声科 四川省成都市 610083

汤善宏, 主治医师, 医学博士, 主要从事肝脏疾病基础及临床研究。成都军区“十二五”计划面上基金资助项目, No. C14036  
四川省卫生厅基金资助项目, No.120572

作者贡献分布: 本文设计由汤善宏、曾维政及程双平完成; 资料查阅、收集由汤善宏与吴晓玲完成; 临床治疗由曾维政、吴晓玲、程双平、秦建平及蒋明德完成; 病理诊断及资料提供由陈易华完成; 超声诊断及资料提供由梁燕完成; 汤善宏负责论文的撰写; 曾维政、吴晓玲及蒋明德负责论文的修改。

通讯作者: 曾维政, 主任医师, 硕士研究生导师, 610083, 四川省成都市金牛区蓉都大道270号, 中国人民解放军成都军区总医院消化内科, zengweizheng@163.com

电话: 0288-6570745

收稿日期: 2014-06-21 修回日期: 2014-08-19

接受日期: 2014-09-15 在线出版日期: 2014-10-28

### Hepatic amyloidosis: Clinical characteristics and follow-up

Shan-Hong Tang, Wei-Zheng Zeng, Xiao-Ling Wu, Jian-Ping Qin, Yi-Hua Chen, Shuang-Ping Cheng, Yan Liang, Ming-De Jiang

Shan-Hong Tang, Wei-Zheng Zeng, Xiao-Ling Wu, Jian-Ping Qin, Shuang-Ping Cheng, Ming-De Jiang, Department of Gastroenterology, General Hospital of Chengdu Military Region, Chengdu 610083, Sichuan Province, China

Yi-Hua Chen, Department of Pathology, General Hospital of Chengdu Military Region, Chengdu 610083, Sichuan Province, China

Yan Liang, Department of Ultrasound, General Hospital of Chengdu Military Region, Chengdu 610083, Sichuan Province, China

Supported by: “Twelve-Five” Grant of Chengdu Military Region, No. C14036; Sichuan Province Health Department Grant, No.120572

Correspondence to: Wei-Zheng Zeng, Chief Physician, Department of Gastroenterology, General Hospital of Chengdu Military Region, 270 Rongdu Avenue, Jinniu District, Chengdu 610083, Sichuan Province, China. zengweizheng@163.com

Received: 2014-06-21 Revised: 2014-08-19

Accepted: 2014-09-15 Published online: 2014-10-28

### Abstract

**AIM:** To summarize the clinical features and outcomes of patients with hepatic amyloidosis to improve its diagnosis and treatment and decrease the misdiagnosis rate.

**METHODS:** A total of 4 patients who were diagnosed with hepatic amyloidosis at General Hospital of Chengdu Military Region were retrospectively analyzed in terms of clinical features, laboratory tests, liver biopsy, treatment and follow-up data.

**RESULTS:** All the 4 patients had hepatomegaly, increased ALP and  $\gamma$ -glutamyl transferase, and some patients had decreased serum albumin, proteinuria and hyperlipidemia. The liver biopsy pathology showed significant amyloid deposition between hepatocytes and mesh scaffolds. After oral steroids and symptomatic treatment, all patients had improved symptoms and were discharged. During follow-up, two patients died because of liver function failure, and 1 patient died due to kidney function failure.

**CONCLUSION:** Hepatic amyloidosis is a rare disease, which can be diagnosed by liver biopsy pathology. Steroid hormone drugs can temporarily control the disease, although the prognosis is still poor.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Amyloidosis; Hepatomegaly; Portal hypertension; Follow-up

Tang SH, Zeng WZ, Wu XL, Qin JP, Chen YH, Cheng SP, Liang Y, Jiang MD. Hepatic amyloidosis: Clinical characteristics and follow-up. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(30): 4634-4637 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4634.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4634>

### 摘要

**目的:** 通过对中国人民解放军成都军区总医院确诊为肝淀粉样变性患者临床特点、治疗及随访资料总结分析, 以提高对本病的了解, 从而减少误诊率。

**方法:** 回顾性分析成都军区总医院收治的4例肝淀粉样变性患者临床、实验室检查、肝脏穿刺活检病理学、治疗及随访资料。

### ■同行评议者

王铮, 副研究员, 西安交通大学医学院第一附属医院肝胆病肝胆外科; 戴朝六, 教授, 中国医科大学第二临床学院(盛京医院)肝胆外科



**结果:** 4例患者均有肝肿大, 碱性磷酸酶、 $\gamma$ -谷氨酰基转移酶明显升高, 部分患者血清蛋白降低, 蛋白尿及高脂血症。肝脏穿刺活检染色示肝细胞及网状支架间见大量粉红色淀粉样物质沉积。经口服激素及对症治疗均出院, 随访2例患者因肝功衰竭、1例因肾功能衰竭死亡。

**结论:** 肝淀粉样变性为临床罕见疾病, 需经肝穿刺活检可确诊。患者经对症治疗病情好转, 激素药物可暂时控制病情, 但患者预后不良。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 淀粉样变性; 巨型肝; 门静脉高压; 随访

**核心提示:** 本文总结4例肝淀粉样变性患者临床特点及随访, 所有患者均有肝大、血清碱性磷酸酶及 $\gamma$ -谷氨酰基转移酶明显升高, 激素及对症治疗症状缓解, 但预后仍较差。今后临床遇到不明原因肝大应尽早行肝脏穿刺病理活检。

汤善宏, 曾维政, 吴晓玲, 秦建平, 陈易华, 程双平, 梁燕, 蒋明德. 肝淀粉样变性的临床特点及随访. 世界华人消化杂志 2014; 22(30): 4634-4637 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4634.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4634>

## 0 引言

肝淀粉样变性是一种罕见的临床疾病, 他一般是全身多系统淀粉样变病的一部分, 是由于特异性淀粉样糖蛋白沉积于多个组织器官细胞外组织中, 引起一组临床症候群, 其侵袭肝脏相对较少, 淀粉样蛋白沉积于肝细胞间或网状纤维支架<sup>[1]</sup>, 由于缺乏特异性临床症状及体征容易导致误诊, 目前国内、外报道病例数不多, 本文将对中国人民解放军成都军区总医院收治确诊为肝淀粉样变性4例患者临床特点、治疗及随访进行分析, 使大家更多认识该疾病, 以后遇到类似疾病尽早行肝穿刺以利于疾病诊断及治疗。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集中国人民解放军成都军区总医院2006-02/2014-05收治诊断为肝淀粉样变性4例患者, 男3例, 女1例, 年龄: 45-58岁, 平均年龄51.0岁 $\pm$ 5.4岁。所有患者均在中国人民解放军成都军区总医院住院治疗, 并首次被诊断为肝淀粉样变性。

### 1.2 方法

**1.2.1 实验室、病理检查:** 所有患者实验室、病

理检查均在中国人民解放军成都军区总医院完成, 实验室检查在检验科完成, 在超声科均经B超引导下进行肝或肾穿刺, 病理科进行切片、HE染色及特异性组织学染色。

**1.2.2 观察指标与随访:** 记录患者性别、年龄、肝功能相关血清学指标、病理学指标。患者出院后随访以门诊回诊、病案查阅或电话联系。

## 2 结果

**2.1 患者一般资料** 4例患者既往均无明确肝脏病史, 其中一位男性患者有长期饮酒史, 实验室检查均排除甲、乙、丙、丁、戊型肝炎, 自身抗体及抗核抗体均为阴性; 其中3例因现皮肤、巩膜黄染、腹胀、纳差、乏力、消瘦等腹水症状就诊, 均反复辗转多家医院, 被误诊为不明原因肝硬化、布加综合征或肝癌等, 治疗效果不佳转入成都军区总医院消化内科, 另外1例因体检发现肝、肾功异常首次就诊。4例患者均未发现自身免疫病、慢性感染或其他相关疾病, 无家族遗传史, 因此诊断为原发性肝淀粉样变性。所有患者均有肝大, 最大患者肝下缘距肋缘7 cm, 剑突下10 cm, 肝脏最小患者肋缘下可触及肝下缘; 其中2例患者合并轻、中度脾大, 另外2例脾脏未见明显异常。

**2.2 患者实验室检查结果** 所有4例患者均有明显血清碱性磷酸酶及 $\gamma$ -谷氨酰基转移酶明显升高, 碱性磷酸酶最低301.3 IU/L, 最高1158.4 IU/L, 平均625.0 IU/L $\pm$ 395.2 IU/L;  $\gamma$ -谷氨酰基转移酶最低值为521.6 IU/L, 最高值为1409.7 IU/L, 平均值为790.85 IU/L $\pm$ 415.4 IU/L; 2例轻微谷草转氨酶升高(55.4 IU/L及67.2 IU/L); 3例血清白蛋白降低, 分别为24、33、36 g/L; 3例尿素氮升高, 分别为31.78、26.3、17.8 mmol/L; 3例血清肌酐升高, 分别为157、257、178  $\mu$ mol/L; 1例血尿酸增高(630.30  $\mu$ mol/L)。

**2.3 病理学检查** 4例患者均行超声引导下肝穿刺活检, 2例经HE染色(hematoxylin-eosin staining)可见肝细胞及网状支架间见大量淀粉样物质沉积, 肝细胞萎缩, 局部肝细胞消失, 细胞排列混乱, 为典型肝脏淀粉样变性(图1A), 另外2例加刚果红染色示阳性, 橙红色物质沉积于肝板周围(图1B)。4例患者均被病理确诊为肝淀粉样变性。

**2.4 治疗及随访** 患者经腹腔穿刺引流、保肝、利尿等对症处理, 以及口服泼尼松后症状缓解后出院。电话随访其中1例患者出院后1 mo因肝功衰竭死亡, 1例出院后8 mo因肝功衰竭死

### ■ 研发前沿

目前国内、外报道病例数不多, 治疗效果欠佳, 临床诊治经验有待进一步交流。

报道  
样变性缺  
性临床表  
国外有关  
样变病案  
达500篇,  
肝淀粉样  
例报道不  
同, 最多报  
解放军总  
化内科同  
报道7例,  
大学第一  
玉琳等报

### ■创新盘点

4例患者均有肝大,最大患者肝下缘距肋缘7 cm,剑突下10 cm,病理活检确诊。发现所有患者均有肝大、血清碱性磷酸酶及 $\gamma$ -谷氨酰基转移酶明显升高等显著特点。

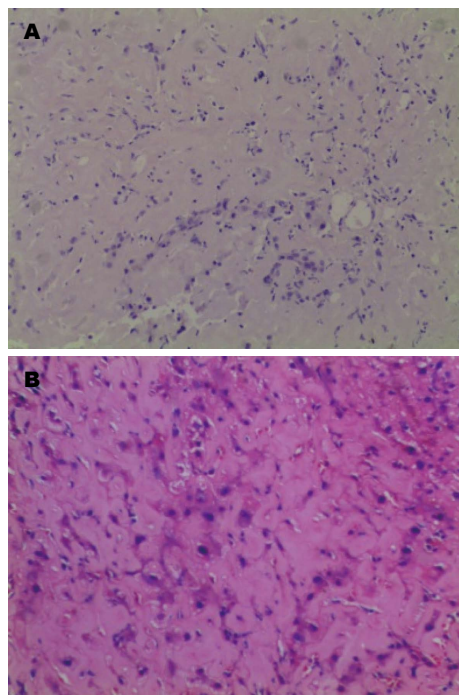


图1 肝穿刺活检病理检查( $\times 200$ )。A: HE染色; B: 刚果红染色。

亡, 1例出院后12 mo因肾功能衰竭死亡, 另外1例已出院1 mo, 口服泼尼松维持治疗, 目前情况尚可。

### 3 讨论

淀粉样变性是一种不明原因全身多系统淀粉样糖蛋白沉积, 导致器官功能受损的一组临床症候群, 肝脏是淀粉样变性侵袭靶器官之一, 往往患者出现肝肿大后才进行肝脏穿刺病理活检诊断明确, 因此患者预后较差, 少数患者可出现黄疸、皮肤瘙痒等症状<sup>[2]</sup>, 但多数由于其临床表现缺乏特异性, 临床医师对该病认识不足, 导致肝淀粉样变性被误诊为原发性硬化性胆管炎<sup>[3]</sup>、肝硬化及肝癌等, 目前国外有关肝淀粉样变病案报道多达500篇, 但国内肝淀粉样变性病例报道不到100例, 最多报道的为解放军总医院消化内科闫文姬等报道7例<sup>[4]</sup>, 及吉林大学第一医院胡玉琳等报道4例<sup>[5]</sup>。其原因可能是由于国外肝脏穿刺较为普及。

中国人民解放军成都军区总医院从2006年起至今一共诊断4例肝淀粉样变性患者, 这4例患者均有肝大, 最大患者肝下缘距肋缘7 cm, 剑突下10 cm, 该患者伴有高尿酸血症, 这与文献报道肝大是淀粉样变性重要特点之一相符合<sup>[6,7]</sup>, 由于患者不能及时得到诊断及治疗, 长时间淀粉样糖蛋白沉积, 导致肝脏明显增大时才接受

肝穿刺病理活检, 本文描述的4例患者均为中国人民解放军成都军区总医院开展肝穿刺病理活检术后诊断, 在开展这项检查之前可能存在部分患者被误诊, 或未明确诊断而死亡。四位患者均有血清碱性磷酸酶及 $\gamma$ -谷氨酰基转移酶明显升高显著特点, 这些特点与文献报道基本一致<sup>[4,5]</sup>。本组4例患者中, 有3例均死亡, 其中2例因肝功能衰竭死亡, 这与文献报道肝衰竭是患者死亡原因主要原因之一相一致<sup>[8,9]</sup>。另外, 据国对超过20年多达近百例肝淀粉样变性患随访分析发现, 患者的预后较差, 中位生存期仅8.5-14.0 mo<sup>[10,11]</sup>, 本组患者中3例患者确诊后1年内死亡, 另外1例患者刚被诊断明确1 mo, 经治疗后症状好转出院, 我们将进一步对该患者加强随访, 并将致力于提高该类患者治疗效果及预后生存而努力。

另外, 4例患者肝功能异常不是很明显, 与肝巨大等特征不相符合, 据研究报道, 由于淀粉样蛋白的沉积会增加肝实质的刚性, 因此肝淀粉样变性可导致肝脏硬度变大, 而对肝功能影响相对较小<sup>[12]</sup>, Janssens等<sup>[13]</sup>报道2例肝淀粉样变性患者, 肝瞬时弹性成像发现这两位患者肝脏硬度明显增高; Loustaud-Ratti等<sup>[14]</sup>报道, FibroScan检测肝脏硬度能够使肝淀粉样变性肝硬化相鉴别, 当肝脏硬度大于17.3 kPa时对于淀粉样变性有一定的诊断价值, 因此对于发现肝硬度与临床表现不一致时建议及时肝脏穿刺病理活检。这些研究表明, 肝淀粉样变性患者肯定存在其特异性检测指标及方法, 尚需进一步深入研究发现。对于肝淀粉样变性目前尚无特效治疗方法, 可通过减少前体蛋白的合成和对症支持治疗<sup>[15,16]</sup>。间歇马法兰和强的松治疗可改善患者肝、肾功能, 肝体积的减少, 化疗能阻止组织中的淀粉样蛋白的沉积, 改善原发性淀粉样变性的预后<sup>[17]</sup>。干细胞移植对可明显肝淀粉样变性患者血清学指标<sup>[18]</sup>, Katoh等<sup>[19]</sup>报道对1例52岁肝淀粉样变性患者进行干细胞移植后获得较好疗效, 患者血清学应答较好。大剂量马法兰化疗联合自体外周血干细胞移植可对全身性淀粉样变性病患者血清学生化改善及延长患者存活时间<sup>[20]</sup>。

总之, 本文报道了中国人民解放军成都军区总医院4例诊断为肝淀粉样变性患者临床特点及随访资料, 发现所有患者均有肝大、血清碱性磷酸酶及 $\gamma$ -谷氨酰基转移酶明显升高显著特点, 患者经口服激素及对症治疗症状缓解, 但预后仍较差。今后临床遇到不明原因肝大、

### ■应用要点

今后临床遇到不明原因肝大、肝硬度与临床表现不一致时应尽早行肝脏穿刺病理活检, 以让患者尽早诊断及治疗。

肝硬度与临床表现不一致时应尽早行肝脏穿刺病理活检, 以让患者尽早诊断及治疗。

#### 4 参考文献

- Gillmore JD, Lovat LB, Persey MR, Pepys MB, Hawkins PN. Amyloid load and clinical outcome in AA amyloidosis in relation to circulating concentration of serum amyloid A protein. *Lancet* 2001; 358: 24-29 [PMID: 11454373 DOI: 10.1016/S0140-6736(00)05252-1]
- 鲍旭丽, 田洲, 陈庆峰, 李丽, 张蕾, 闫军. 以黄疸为特征的原发性干淀粉样变性1例报告. *临床肝胆病杂志* 2013; 29: 943-944
- Hirano K, Ikemura M, Mizuno S, Tada M, Isayama H, Watanabe T, Saito T, Kawahata S, Uchino R, Hamada T, Miyabayashi K, Sasaki T, Kogure H, Yamamoto N, Sasahira N, Koike K, Fukayama M, Sugawara Y, Kokudo N. Two cases with hepatic amyloidosis suspected of having primary sclerosing cholangitis. *Hepatol Res* 2013; 43: 911-916 [PMID: 23675805 DOI: 10.1111/hepr.12034]
- 闫文姬, 罗小洋, 杨云生, 郭明洲. 7例肝淀粉样变性的临床分析. *胃肠病学和肝病杂志* 2012; 21: 339-341
- 胡玉琳, 潘煜, 辛桂杰, 刘树军, 王银萍. 4例肝淀粉样变性的临床特点和分析. *临床肝胆病杂志* 2010; 26: 65-67
- Son RC, Chang JC, Choi JH. Primary hepatic amyloidosis: report of an unusual case presenting as a mass. *Korean J Radiol* 2011; 12: 382-385 [PMID: 21603298 DOI: 10.3348/kjr.2011.12.3.382]
- Wee JW, Jeong SW, Jang JY. Hepatic amyloidosis presenting as a large hepatic mass. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012; 10: e73-e74 [PMID: 22642954 DOI: 10.1016/j.cgh.2012.05.014]
- Hung HH, Huang DF, Tzeng CH, Su CH, Su TP, Chen HC, Tsay SH, Lin HC, Wu JC, Lee SD, Su CW. Systemic amyloidosis manifesting as a rare cause of hepatic failure. *J Chin Med Assoc* 2010; 73: 161-165 [PMID: 20231002 DOI: 10.1016/S1726]
- Güllü BE, Hatemi I, Ozbay G, Tüzüner N, Sonsuz A. A rare case of primary systemic amyloidosis presenting with hepatic failure. *Turk J Gastroenterol* 2011; 22: 113-114 [PMID: 21480129]
- Park MA, Mueller PS, Kyle RA, Larson DR, Plevak MF, Gertz MA. Primary (AL) hepatic amyloidosis: clinical features and natural history in 98 patients. *Medicine (Baltimore)* 2003; 82: 291-298 [PMID: 14530778]
- Gertz MA, Kyle RA. Hepatic amyloidosis: clinical appraisal in 77 patients. *Hepatology* 1997; 25: 118-121 [PMID: 8985276 DOI: 10.1002/hep.510250122]
- Mueller S, Sandrin L. Liver stiffness: a novel parameter for the diagnosis of liver disease. *Hepat Med* 2010; 2: 49-67 [PMID: 24367208]
- Janssens F, Spahr L, Rubbia-Brandt L, Giostra E, Bihl F. Hepatic amyloidosis increases liver stiffness measured by transient elastography. *Acta Gastroenterol Belg* 2010; 73: 52-54 [PMID: 20458851]
- Loustaud-Ratti VR, Cypierre A, Rousseau A, Yagoubi F, Abraham J, Fauchais AL, Carrier P, Lefebvre A, Bordessoule D, Vidal E, Sautereau D, Jaccard A. Non-invasive detection of hepatic amyloidosis: FibroScan, a new tool. *Amyloid* 2011; 18: 19-24 [PMID: 21219116 DOI: 10.3109/13506129.2010.543443]
- Sattianayagam PT, Hawkins PN, Gillmore JD. Systemic amyloidosis and the gastrointestinal tract. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2009; 6: 608-617 [PMID: 19724253 DOI: 10.1038/nrgastro.2009.147]
- Qu Z, Liu G, Wang HY. The pathogenesis of amyloidosis and the therapeutic prospect. *Chin J Intern Med* 2008; 47: 165-167
- Bradstock K, Clancy R, Uther J, Basten A, Richards J. The successful treatment of primary amyloidosis with intermittent chemotherapy. *Aust N Z J Med* 1978; 8: 176-179 [PMID: 277166 DOI: 10.1111/j.1445-5994.1978.tb04507.x]
- Kumar KS, Lefkowitz J, Russo MW, Hesdorffer C, Kinkhabwala M, Kapur S, Emond JC, Brown RS. Successful sequential liver and stem cell transplantation for hepatic failure due to primary AL amyloidosis. *Gastroenterology* 2002; 122: 2026-2031 [PMID: 12055607 DOI: 10.1053/gast.2002.33648]
- Katoh N, Matsushima A, Kurozumi M, Matsuda M, Ikeda S. Marked and rapid regression of hepatic amyloid deposition in a patient with systemic light chain (AL) amyloidosis after high-dose melphalan therapy with stem cell transplantation. *Intern Med* 2014; 53: 1991-1995 [PMID: 25175136]
- Girnius S, Seldin DC, Skinner M, Finn KT, Quillen K, Doros G, Sanchowawala V. Hepatic response after high-dose melphalan and stem cell transplantation in patients with AL amyloidosis associated liver disease. *Haematologica* 2009; 94: 1029-1032 [PMID: 19454500 DOI: 10.3324/haematol.2008.001925]

#### 同行评价

本文较为详细论述了肝淀粉样变性的临床特点, 对临床上进一步认识肝淀粉样变性的发生发展过程, 避免误诊误治, 有一定意义。

编辑 韦元涛 电编 闫晋利





# 慢性乙型肝炎患者Th17/Tc17影响病毒复制和肝细胞损伤

王娟华, 胡敏涛, 吴杭源, 苏婷婷, 汪铮, 杜合娟, 顾锡炳, 黄利华, 李莹

## ■背景资料

乙型病毒性肝炎是由乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)引起的世界性传染病。我国HBV高发。乙型病毒性肝炎发病机制并未阐明, 患者临床表现及预后多样, 除与乙型病毒性肝炎病毒自身特点有关外, 主要取决于患者机体免疫状况。

王娟华, 胡敏涛, 吴杭源, 苏婷婷, 汪铮, 杜合娟, 顾锡炳, 黄利华, 无锡市第五人民医院 江苏省无锡市 214000  
李莹, 兰州大学第一医院普外二科 甘肃省兰州市 730000  
王娟华, 副主任医师, 主要从事HBV相关肝病的分子免疫机制的研究。

作者贡献分布: 王娟华参与课题设计、研究过程、试剂的提供及论文写作; 胡敏涛、吴杭源、苏婷婷、汪铮及杜合娟参与研究过程、病例收集及患者的随访; 顾锡炳与黄利华参与病例的收集和数据的分析; 李莹参与课题设计、数据分析、得出结论及论文的写作。

通讯作者: 李莹, 副主任医师, 730000, 甘肃省兰州市东岗西路1号, 兰州大学第一医院普外二科。13993101312@126.com

电话: 0931-8356028

收稿日期: 2013-05-10 修回日期: 2014-03-12

接受日期: 2014-03-19 在线出版日期: 2014-10-28

## Correlation of Th17/Tc17 ratio with virus load and liver function in patients with chronic hepatitis B

Juan-Hua Wang, Min-Tao Hu, Hang-Yuan Wu, Ting-Ting Su, Zheng Wang, He-Juan Du, Xi-Bing Gu, Li-Hua Huang, Ying-Li

Juan-Hua Wang, Min-Tao Hu, Hang-Yuan Wu, Ting-Ting Su, Zheng Wang, He-Juan Du, Xi-Bing Gu, Li-Hua Huang, the Fifth People's Hospital of Wuxi, Wuxi 214005, Jiangsu Province, China

Ying-Li, Department of General Surgery, the First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China

Correspondence to: Ying-Li, Associate Chief Physician, Department of General Surgery, the First Hospital of Lanzhou University, 1 Donggang West Road, Lanzhou 730000, Gansu Province, China. 13993101312@126.com

Received: 2013-05-10 Revised: 2014-03-12

Accepted: 2014-03-19 Published online: 2014-10-28

## Abstract

**AIM:** To assess the role of cellular immunity in the development of chronic hepatitis B.

**METHODS:** Patients with chronic hepatitis B were collected. Alanine aminotransferase (ALT) and viral load were detected. CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio, Th1, Th2, Th1/Th2 ratio, Tc1, Th17, Tc17, Th17/Tc17 ratio, regulatory T cells (Treg), and Th17/Treg ratio were detected by flow cytometry (FCM). The correlations between the immune indicators and transaminase and viral load were evaluated.

**RESULTS:** Th17 percentage and Th17/Treg ratio were significantly higher in chronic hepatitis B patients with low viral load than in those with normal/high viral load (5.81% vs 2.51%, 2.23%; 23.54 vs 19.42, 9.85). Th2 percentage, Tc1 percentage, and Th17/Tc17 ratio were significantly higher in chronic hepatitis B patients with normal liver function than in those with mild/severe liver damage (6.75% vs 3.09%, 3.58%; 70.43% vs 36.97%, 35.86%; 71.18 vs 11.35, 12.58). Tc17 percentage was significantly lower in chronic hepatitis B patients with severe liver dysfunction than in those with mild liver dysfunction (0.42% vs 1.69%).

**CONCLUSION:** Cellular immune status in patients with chronic hepatitis B has an impact on viral load and liver dysfunction level, in which Th17/Tc17 ratio may play an important role.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Chronic hepatitis B; Cellular immune; Th17/Tc17; HBV DNA; Alanine aminotransferase

Wang JH, Hu MT, Wu HY, Su TT, Wang Z, Du HJ, Gu XB, Huang LH, Li Y. Correlation of Th17/Tc17 ratio with virus load and liver function in patients with chronic hepatitis B. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(30): 4638-4641 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4638.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4638>

## 摘要

**目的:** 本研究试图通过评价乙型病毒性肝炎患者的部分T细胞免疫指标与病毒复制水平和肝细胞损伤水平之间的关系, 了解乙型病毒性肝炎患者的T细胞免疫在疾病发生发展过程中的作用。

**方法:** 将慢性乙型病毒性肝炎患者31例按照HBV DNA水平分为高、中、低复制3组, 比较3组间CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>、Th1、Th2、Th1/Th2、Tc1、Th17、Tc17、Th17/Tc17、Treg、Th17/Treg等多项T细胞亚群细胞数量; 按照谷丙转氨酶水平分为肝细

## ■同行评议者

林潮双, 主任医师, 中山大学附属第三医院

胞轻、中、重损伤3组, 比较3组间多项T细胞亚群细胞数量, 以此评价慢性乙型病毒性肝炎患者的部分T细胞免疫指标与病毒复制水平和肝细胞损伤水平之间的关系。

**结果:** 病毒低度复制患者Th17细胞(5.81%)和Th17/Treg(23.54)显著高于中/高度复制患者Th17细胞(2.51%/2.23%)和Th17/Treg(19.42/9.85); 正常肝功患者Th2细胞(6.75%)、Tc1细胞(70.43%)、Th17/Tc17(71.18)均显著高于轻/重度肝细胞损伤患者Th2细胞(3.09%/3.58%)、Tc1细胞(36.97%/35.86%)、Th17/Tc17(11.35/12.58), 重度损伤患者Tc17细胞(0.42%)显著少于轻度损伤患者Tc17细胞(1.69%)。

**结论:** 慢性乙型病毒性肝炎患者T细胞免疫状态与病毒复制水平和肝细胞损伤水平关系密切, 其中Th17/Tc17起重要作用。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 慢性乙型肝炎; 细胞免疫; Th17/Tc17; HBV DNA; 谷丙转氨酶

**核心提示:** 本文研究了Th1/Th2、Th17/Treg、Th17/Tc17之间的关系及免疫指标与疾病临床转归之间的关系。发现Th17与抗病毒有关, 而Tc17与炎症反应关系可能更为密切。认为Th17/Tc17可能通过影响Th1/Th2平衡影响机体抗病毒机制。这或许可以成为乙型病毒性肝炎抗病毒疗效的观察指标, 或进一步成为新的抗病毒治疗靶点。

王娟华, 胡敏涛, 吴杭源, 苏婷婷, 汪铮, 杜合娟, 顾锡炳, 黄利华, 李莹. 慢性乙型肝炎患者Th17/Tc17影响病毒复制和肝细胞损伤. 世界华人消化杂志 2014; 22(30): 4638-4641 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4638.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i30.4638>

## 0 引言

乙型病毒性肝炎是由乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)引起的世界性传染病。乙型病毒性肝炎全球散发, 我国属于HBV感染高流行区, 一般人群的HBsAg阳性率为9.09%<sup>[1]</sup>。乙型病毒性肝炎抗病毒治疗目前主要通过抑制病毒复制和调节机体免疫两方面进行, 机体细胞免疫状态对病情及预后都有影响。本研究试图评价乙型病毒性肝炎患者的部分T细胞免疫指标与病毒复制水平和肝细胞损伤水平之间的关系以此更全面的了解慢性乙型病毒性肝炎患者的细胞免疫状态特点及其在疾病转归方面的作用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取无锡市第五人民医院门诊、住院慢性乙型病毒性肝炎患者共31例。诊断标准符合全国传染病与寄生虫病学术会议(2005)修订的病毒性肝炎诊断标准。患者抽取清晨空腹外周静脉血2 mL, 置于肝素钠抗凝管中, 进行流式检测, 同时留取血清检测丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)。流式细胞仪(FACScalibur, 美国BD公司), APC 100标记的鼠抗人CD3抗体、FITC标记的鼠抗人CD8a抗体、PerCP-Cy5.5标记的鼠抗人CD4抗体、PE标记的鼠抗人干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )抗体、PE标记的鼠抗人白介素4(interleukin, IL-4)抗体、PE标记的鼠抗人IFN- $\gamma$ 抗体、FITC标记的鼠抗人IL-17A抗体(美国eBioscience公司), PMA/Ionomycin/Monensin刺激剂(美国ENZO公司), 人Treg染色试剂盒(美国eBioscience公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 临床资料收集:** 收集患者31例, 男24例, 女7例。收集年龄、性别、病史、肝功能等资料。各组性别及年龄无显著差异, 指标有可比性(表1)。

**1.2.2 免疫荧光标记和流式细胞分析T细胞亚群:** 所有观察对象均于清晨空腹采肘静脉血2 mL, 肝素抗凝。分离外周血单个核细胞, 荧光标记细胞表面抗原, 破膜后荧光标记细胞内抗原。以流式细胞仪计数各种T细胞。

**统计学处理** 所有数据用SPSS13.0软件处理。各组性别比较采用 $\chi^2$ 检验; 各组年龄比较采用单因素方差分析; 各组免疫指标与HBV DNA水平及ALT水平之间的相关性评价, 采用Spearman相关分析,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

将慢性乙型病毒性肝炎组患者按病毒复制水平分为高、中、低3组: 103及以下为低水平复制, 104-106为中等水平复制, 107及以上为高水平复制。比较3组免疫指标, 结果提示: 各组间Th1/Th2、Th17细胞数量有差异, 其中Th1/Th2差异显著( $P < 0.05$ )。病毒低度复制患者Th17细胞(5.81%)和Th17/Treg(23.54)显著高于中/高度复制患者Th17细胞(2.51%/2.23%)和Th17/Treg(19.42/9.85)( $P < 0.05$ )(图1)。

将各组按ALT水平分为肝细胞无损伤、轻、重度损伤3组: 500 IU/L以上为重度损伤, 50-500 IU/L为轻度损伤, 50 IU/L以下为正常肝功。比较3组免疫指标, 结果提示: Th1、Th2、

### ■研发前沿

乙型病毒性肝炎发病机制未完全阐明, Th细胞起重要作用, 近年关于T细胞亚群及其相互转化的基础研究有很大突破, 认为Th1、Th2、Th17、Treg这4群细胞间平衡参与慢性病毒性疾病的发生发展, 但Th17/Treg失衡与乙型病毒性肝炎发病、治疗关系还不明确。

### ■相关报道

Treg细胞在乙型病毒性肝炎慢性化、免疫抑制等过程升高, 被认为通过主要抑制Th1而使Th1/Th2向Th2极化。Th17在自身免疫性疾病方面的促炎功能与Treg刚好相反, 在乙型病毒性肝炎肝功能损害和纤维化时升高, 因此, Th17/Treg平衡可能通过调节Th1/Th2从而影响机体抗病毒及免疫炎症能力。

### ■创新盘点

本文的特色在于关注了免疫指标与疾病临床转归之间的关系,并研究了Th1/Th2、Th17/Treg、Th17/Tc17之间的关系.发现Th17与抗病毒有关,而Tc17与炎症反应关系可能更为密切.

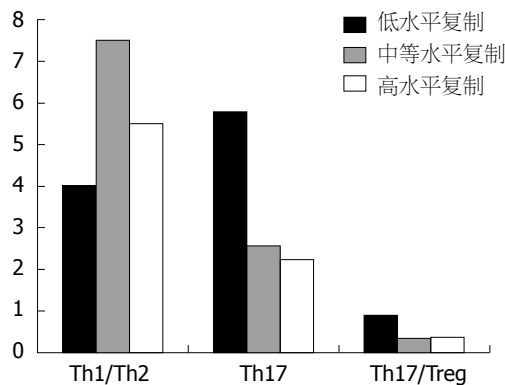


图1 不同病毒复制水平慢性乙型病毒性肝炎患者部分T细胞免疫指标比较.将慢性乙型病毒性肝炎患者按病毒复制水平分为高、中、低3组,各组间Th1/Th2、Th17细胞数量有差异,其中Th1/Th2差异显著( $P<0.05$ ).病毒低度复制患者Th17细胞(5.81%)和Th17/Treg(23.54)显著高于中/高度复制患者Th17细胞(2.51%/2.23%)和Th17/Treg(19.42%/9.85)( $P<0.05$ ).

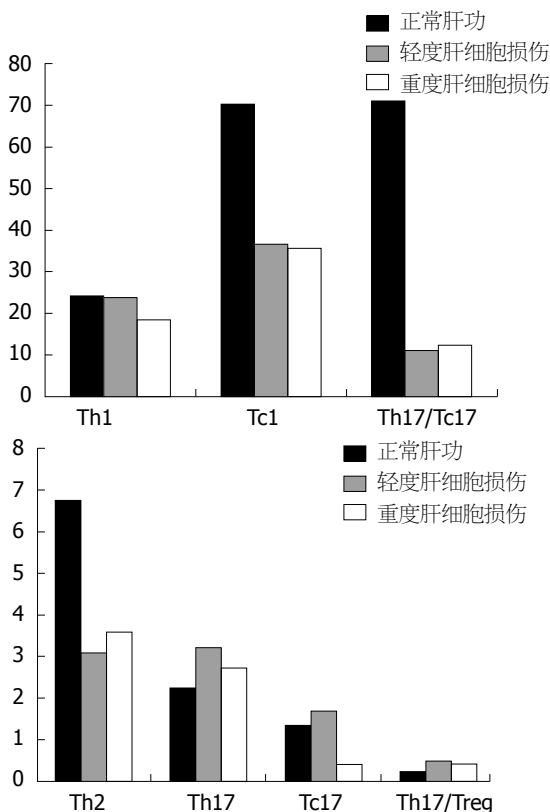


图2 不同水平肝细胞损伤慢性乙型病毒性肝炎患者部分T细胞免疫指标比较.将各组按ALT水平分为肝细胞无损伤、轻、重度损伤3组,Th1、Th2、Tc1、Tc17细胞数量和Th17/Tc17比值差异显著( $P<0.05$ ).肝细胞无损伤患者Th2细胞(6.75%)、Tc1细胞(70.43%)、Th17/Tc17(71.18)均显著高于轻/重度肝细胞损伤患者Th2细胞(3.09%/3.58%)、Tc1细胞(36.97%/35.86%)、Th17/Tc17(11.35/12.58)( $P<0.05$ )。重度损伤患者Tc17细胞(0.42%)显著少于轻度损伤患者Tc17细胞(1.69%)( $P<0.05$ )。

### ■应用要点

认为Tc17或Th17/Tc17可能通过影响Th1/Th2平衡调节效应影响机体抗病毒机制.这或许可以成为乙型病毒性肝炎抗病毒疗效的观察指标,或进一步成为新的抗病毒治疗靶点.

Tc1、Tc17细胞数量和Th17/Tc17比值差异显著( $P<0.05$ ).肝细胞无损伤患者Th2细胞

表1 各组年龄、性别比较

分组	n	性别		年龄
		男	女	mean $\pm$ SD
低度病毒复制	5	4	1	47.80 $\pm$ 12.276
中度病毒复制	9	8	1	35.11 $\pm$ 8.609
高度病毒复制	17	11	6	41.29 $\pm$ 10.516
总计	31	23	8	40.55 $\pm$ 10.807
肝细胞无损伤	2	2	0	54.50 $\pm$ 2.121
肝细胞轻度损伤	10	7	3	39.30 $\pm$ 10.307
肝细胞重度损伤	19	14	5	39.21 $\pm$ 9.704
总计	31	23	8	40.23 $\pm$ 10.151

(6.75%)、Tc1细胞(70.43%)、Th17/Tc17(71.18)均显著高于轻/重度肝细胞损伤患者Th2细胞(3.09%/3.58%)、Tc1细胞(36.97%/35.86%)、Th17/Tc17(11.35/12.58)( $P<0.05$ ),重度损伤患者Tc17细胞(0.42%)显著少于轻度损伤患者Tc17细胞(1.69%)( $P<0.05$ )(图2)。

### 3 讨论

慢性乙型肝炎发病及预后均与机体细胞免疫状态显著相关.既往文献提示:Th1细胞主要参与机体抗胞内病原体感染免疫,而Th2细胞主要中和细胞外病原体与胞内感染慢性化,甚至疾病进展有关<sup>[2]</sup>.乙型肝炎病毒感染机体后,多种因素影响Th细胞增殖并且调节其亚型模式,如果Th1细胞亚群占优,将促进细胞免疫反应,增强Tc细胞的活性,从而清除胞内病毒,但同时增强了肝脏的炎症反应从而加重肝细胞的损伤.如果Th2细胞占优,将促进体液免疫反应,并抑制细胞免疫反应,Tc1细胞活性减弱,抗病毒效应减低,但肝细胞损伤减轻<sup>[3-5]</sup>.在本研究结果中看到高水平病毒复制患者Th1/Th2低于中度病毒复制患者,肝细胞损伤者Th1/Th2高于肝细胞无损伤者,即Th2优势患者,Tc1被抑制,病毒复制增加,Th1优势者炎症反应加重,肝细胞损伤加重,这符合既往文献报道结果;但同时观察到病毒低度复制患者Th1水平反而低于病毒中高度复制患者,重度肝细胞损伤患者Tc1反而低于肝细胞无损伤者,可见Th1占优的患者,Tc1并不一定被增强,病毒并不一定被抑制.因此,慢性乙型病毒性肝炎患者中,在Th1/Th2平衡之外同时还存在其他免疫机制影响调节效应<sup>[6]</sup>.

Treg细胞在乙型病毒性肝炎慢性化、免疫抑制等过程升高,发病过程中显著升高,被认为通过主要抑制Th1而使Th1/Th2向Th2极化<sup>[7]</sup>.但



本研究中,不同病毒复制水平和不同肝功损害水平患者间差异不显著,认为影响Th1/Th2的主要机制并非Treg细胞。Th17在自身免疫性疾病方面的促炎功能与Treg刚好相反,在乙型病毒性肝炎肝功损害和纤维化时升高<sup>[8]</sup>,同时伴Th1/Th2向Th1极化,随肝功恢复、抗病毒起效而恢复<sup>[9]</sup>。Th17/Treg与风湿性关节炎、哮喘、自发性胆汁性肝硬化等多种自身免疫性疾病有关<sup>[10-12]</sup>。本研究见慢性乙型病毒性肝炎患者中低病毒复制者Th17高于中、高病毒复制者,认为Th17不仅具有促炎功能,还可能与抗病毒机制也有关,这在既往未见相关报道,还需要进一步深入研究。在CD8<sup>+</sup> T细胞中也有一群分泌IL-17的细胞,称为Tc17。体内外能够诱导CD4<sup>+</sup> T细胞向Th17分化发育的细胞因子环境,也能诱导初始CD8<sup>+</sup> T细胞分化为Tc17、Th17/Tc17与多种疾病有关<sup>[13-15]</sup>。在慢乙型病毒性肝炎患者中,随病毒复制增多Th17/Tc17降低,肝细胞损伤者Th17/Tc17显著低于肝功正常者,认为Th17功能与抗病毒关系更为密切,而Tc17功能与促炎关系更为密切。

慢性乙型病毒性肝炎病毒复制及肝损伤水平受到机体细胞免疫状态的影响,Th1/Th2平衡在其中起重要作用,但并非决定作用,Tc17或Th17/Tc17可能正是影响Th1/Th2平衡调节效应的主要机制。这一设想还需进一步深入研究验证。

#### 4 参考文献

- 1 慢性乙型肝炎防治指南(一). 胃肠病学 2006; 11: 550-557
- 2 Mosmann TR, Sad S. The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunol Today* 1996; 17: 138-146 [PMID: 8820272 DOI: 10.1016/0167-5699(96)80606-2]
- 3 Jiang R, Feng X, Guo Y, Lu Q, Hou J, Luo K, Fu N. T helper cells in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Chin Med J (Engl)* 2002; 115: 422-424 [PMID: 11940380]
- 4 Rosenberg W. Mechanisms of immune escape in viral hepatitis. *Gut* 1999; 44: 759-764 [PMID: 10205220]
- 5 Zhang L, Zhang DZ, Chen M, He H, Guo SH. [Dynamic changes of Th1/Th2 type cytokines in peripheral blood of patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B treated with telbivudine]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2009; 17: 175-179 [PMID: 19335978]
- 6 Saito S, Nakashima A, Shima T, Ito M. Th1/Th2/Th17 and regulatory T-cell paradigm in pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 2010; 63: 601-610 [PMID: 20455873 DOI: 10.1111/j.1600-0897.2010.00852.x]
- 7 Zhu J, Paul WE. Heterogeneity and plasticity of T helper cells. *Cell Res* 2010; 20: 4-12 [PMID: 20010916 DOI: 10.1038/cr.2009.138]
- 8 Zhang JY, Zhang Z, Lin F, Zou ZS, Xu RN, Jin L, Fu JL, Shi F, Shi M, Wang HF, Wang FS. Interleukin-17-producing CD4(+) T cells increase with severity of liver damage in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 2010; 51: 81-91 [PMID: 19842207 DOI: 10.1002/hep.23273]
- 9 Ye Y, Xie X, Yu J, Zhou L, Xie H, Jiang G, Yu X, Zhang W, Wu J, Zheng S. Involvement of Th17 and Th1 effector responses in patients with Hepatitis B. *J Clin Immunol* 2010; 30: 546-555 [PMID: 20393789 DOI: 10.1007/s10875-010-9416-3]
- 10 Rong G, Zhou Y, Xiong Y, Zhou L, Geng H, Jiang T, Zhu Y, Lu H, Zhang S, Wang P, Zhang B, Zhong R. Imbalance between T helper type 17 and T regulatory cells in patients with primary biliary cirrhosis: the serum cytokine profile and peripheral cell population. *Clin Exp Immunol* 2009; 156: 217-225 [PMID: 19302244 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2009.03898.x]
- 11 Ochs HD, Oukka M, Torgerson TR. TH17 cells and regulatory T cells in primary immunodeficiency diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 123: 977-983; quiz 984-985 [PMID: 19410687 DOI: 10.1016/j.jaci.2009.03.030]
- 12 Cosmi L, Liotta F, Maggi E, Romagnani S, Annunziato F. Th17 cells: new players in asthma pathogenesis. *Allergy* 2011; 66: 989-998 [PMID: 21375540 DOI: 10.1111/j.1398-9995.2011.02576.x]
- 13 Huber M, Heink S, Grothe H, Guralnik A, Reinhard K, Elflein K, Hünig T, Mittrücker HW, Brüstle A, Kamradt T, Lohoff M. A Th17-like developmental process leads to CD8(+) Tc17 cells with reduced cytotoxic activity. *Eur J Immunol* 2009; 39: 1716-1725 [PMID: 19544308 DOI: 10.1002/eji.200939412]
- 14 Wang YH, Liu YJ. The IL-17 cytokine family and their role in allergic inflammation. *Curr Opin Immunol* 2008; 20: 697-702 [PMID: 18832032 DOI: 10.1016/j.coi.2008.09.004]
- 15 Kumawat AK, Strid H, Tysk C, Bohr J, Hörnquist EH. Microscopic colitis patients demonstrate a mixed Th17/Tc17 and Th1/Tc1 mucosal cytokine profile. *Mol Immunol* 2013; 55: 355-364 [PMID: 23566938 DOI: 10.1016/j.molimm.2013.03.007]

#### ■同行评价

本文选题具有一定新颖性和科学意义,是目前本领域研究的热点。

编辑 田滢 电编 闫晋利



# 内镜微创保胆取石联合口服牛磺熊去氧胆酸治疗胆囊结石的临床效果

李春来, 段泽艳, 吴正阳, 王 浪

## ■背景资料

胆囊切除术是治疗胆囊炎、胆囊结石的有效方法。内镜微创保胆取石治疗胆囊结石, 保留了具有相对正常生理功能的胆囊, 有助于维持机体正常的生理状况。但该方法也存在较高的结石复发率。牛磺熊去氧胆酸能增加胆汁中的胆酸浓度, 从而促进胆固醇结石的溶解, 对有限降低保胆取石术后的复发率具有重要意义。

李春来, 段泽艳, 吴正阳, 王浪, 贵阳市第一人民医院普外科  
贵州省贵阳市 550002

李春来, 副主任医师, 主要从事胃肠道疾病的研究。

作者贡献分布: 此课题由李春来设计; 研究过程由李春来、段泽艳、吴正阳及王浪操作完成; 数据测定和分析由吴正阳与王浪完成; 论文写作由李春来完成。

通讯作者: 李春来, 副主任医师, 550002, 贵州省贵阳市南明区博爱路97号, 贵阳市第一人民医院普外科。q25789611@163.com  
电话: 0851-5833094

收稿日期: 2014-08-07 修回日期: 2014-09-02

接受日期: 2014-09-10 在线出版日期: 2014-10-28

## Curative effect of cholecystolithotomy combined with tauroursodeoxycholic acid in treatment of patients with cholecystolithiasis

Chun-Lai Li, Ze-Yan Duan, Zheng-Yang Wu, Lang Wang

Chun-Lai Li, Ze-Yan Duan, Zheng-Yang Wu, Lang Wang, Department of General Surgery, the First People's Hospital of Guiyang, Guiyang 550002, Guizhou Province, China

Correspondence to: Chun-Lai Li, Associate Chief Physician, Department of General Surgery, the First People's Hospital of Guiyang, 97 Boai Road, Nanming District, Guiyang 550002, Guizhou Province, China. q25789611@163.com

Received: 2014-08-07 Revised: 2014-09-02

Accepted: 2014-09-10 Published online: 2014-10-28

## Abstract

**AIM:** To evaluate the clinical effect of gallbladder preserving cholecystolithotomy combined with tauroursodeoxycholic acid in the treatment of cholecystolithiasis.

**METHODS:** Three hundred and forty-six patients with gallstones treated at our hospital from June 2008 to June 2010 were randomly divided them into either an experimental group or a control group, with 173 patients in each group. The experimental group received minimally invasive endoscopic lithotomy combined with tauroursodeoxycholic acid capsules, while the control group received minimally invasive endoscopic lithotomy combined with routine anti-inflammatory treatment. All patients were

followed postoperatively (average, 2 years) to record patients' symptom relief, gallbladder function and gallbladder stone recurrence for the two groups.

**RESULTS:** The rates of improvement of biliary colic (89.83% vs 74.24%), right lower quadrant abdominal discomfort (85.99% vs 71.22%) and bloating (90.28% vs 74.03%) were significantly higher in the experimental group than in the control group ( $P < 0.05$ ). Combination with tauroursodeoxycholic acid capsules could effectively improve the gallbladder emptying index ( $53.95 \pm 10.61$  vs  $43.81 \pm 12.39$ ,  $P < 0.05$ ), and reduce the recurrence at 1 and 2 years (1.16% vs 6.36%, 4.62% vs 16.18%,  $P < 0.05$ ) compared with the control group.

**CONCLUSION:** Cholecystolithotomy combined with tauroursodeoxycholic acid can effectively eliminate gallbladder stone recurrence, relieve symptoms, and restore the gallbladder contraction function in patients with cholecystolithiasis.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Gallbladder preserving cholecystolithotomy; Tauroursodeoxycholic acid; Gallbladder stones; Curative effect

Li CL, Duan ZY, Wu ZY, Wang L. Curative effect of cholecystolithotomy combined with tauroursodeoxycholic acid in treatment of patients with cholecystolithiasis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(30): 4642-4646  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4642.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4642>

## 摘要

**目的:** 探讨内镜微创保胆取石联合术后口服牛磺熊去氧胆酸胶囊治疗胆囊结石的疗效和复发率。

**方法:** 选取贵阳市第一人民医院2008-06/2010-06收治的346例胆囊结石患者作为研究对象, 随机分为实验组和对照组, 每组173例。实验组患者内镜微创保胆取石术后口服牛磺

## ■同行评议者

陈海龙, 教授, 大连医科大学附属第一医院院办

熊去氧胆酸胶囊, 对照组患者内镜微创保胆术后给予常规抗炎治疗. 所有患者术后平均随访时间为2年, 统计两组患者临床症状缓解情况、胆囊收缩功能和结石复发率.

**结果:** 实验组患者胆绞痛改善率(89.83% vs 74.24%)、右下腹不适改善率(85.99% vs 71.22%)和腹胀改善率(90.28% vs 74.03%)均显著高于对照组( $P < 0.05$ ), 保胆取石术后服用牛磺熊去氧胆酸胶囊能有效将胆囊排空指数( $53.95 \pm 10.61$  vs  $43.81 \pm 12.39$ )提高到正常水平, 与对照组相比差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 且可以明显降低患者1年复发率(1.16% vs 6.36%)和2年复发率(4.62% vs 16.18%), 均  $P < 0.05$ .

**结论:** 保胆取石术联合牛磺熊去氧胆酸胶囊能够有效地彻底清除结石并防治<sup>③</sup>, 缓解症状, 在恢复胆囊收缩功能方面具有巨大的促进作用.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 内镜微创保胆取石; 牛磺熊去氧胆酸胶囊; 胆囊结石; 疗效

**核心提示:** 本文结果表明, 应用保胆取石术后联合口服牛磺熊去氧胆酸能明显降低胆囊结石的复发率, 改善患者的生活质量, 为胆囊结石患者的临床治疗提供了有效参考.

李春来, 段泽艳, 吴正阳, 王浪. 内镜微创保胆取石联合口服牛磺熊去氧胆酸治疗胆囊结石的临床效果. 世界华人消化杂志 2014; 22(30): 4642-4646 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4642.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i30.4642>

## 0 引言

胆囊结石是普通外科常见多发疾病之一, 其主要见于成人, 女性多于男性, 是世界范围内的常见病、多发病, 在正常人群中约占10%左右, 目前其治疗方法以胆囊切除为主<sup>[1,2]</sup>. 患有此病的患者, 大多数无症状, 仅在体检、手术、尸解时发现, 少数患者的典型症状为胆绞痛, 上腹隐痛、胆囊积液等. 结石多为胆固醇结石, 同时还包括以胆固醇为主的混合结石以及黑色胆色素结石, 同时胆囊结石的生成与多种因素有关, 任何影响胆固醇与胆汁浓度比例改变和造成胆汁淤积的因素都能导致结石的形成<sup>[3,4]</sup>. 临床中对胆囊结石的首选治疗方法为腹腔镜胆囊切除术,

此方法比经典的开腹胆囊切除损伤小, 疗效确切. 但随着对胆囊生理功能以及胆囊切除术后各种不良反应认识的不断深入, “胆囊结石是否必须行胆囊切除术”这一问题受到越来越多外科医师的反思. 近年来, “内镜微创保胆取石术”这一概念被提出并受到越来越多普外科医师的关注和研究, 临床研究结果疗效显著<sup>[5]</sup>. 鉴于此, 贵阳市第一人民医院通过对346例胆囊结石患者患者分组实施不同的治疗方案, 旨在探索纤维胆道镜微创保胆取石联合术后口服牛磺熊去氧胆酸胶囊治疗胆囊结石的临床效果, 现将分析方法和结果报告如下.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2008-06/2010-06收治的346例患者作为研究对象, 随机分为实验组和对照组, 每组173例. 所有患者均符合“胆囊结石”诊断<sup>[6]</sup>: (1)患者年龄20-75岁, 知情并要求行保胆取石术者; (2)术前胆囊超声显示胆囊壁厚度 $\leq 4$  mm, 术中胆囊无萎缩, 胆囊管无结石嵌顿或有结石嵌顿但能推挤至胆囊; (3)超声收缩功能试验显示收缩功能良好(脂肪餐后2 h胆囊收缩 $\geq 30\%$ ); (4)无合并严重心肺肝功能障碍, 无凝血机制障碍, 非结核病活动期; (5)无合并急性胆囊炎, 胰腺炎, 胆总管结石, 胆总管梗阻等情况, 无上腹部手术史; (6)非怀孕期及哺乳期妇女. 其中, 实验组男98例, 女75例, 体质指数(body mass index, BMI)  $21.6 \text{ kg/m}^2 \pm 1.8 \text{ kg/m}^2$ , 年龄20-75岁( $45.4 \text{ 岁} \pm 7.6 \text{ 岁}$ ), 病程0.6-20.0年, 平均 $7.6 \text{ 年} \pm 2.2 \text{ 年}$ , 单发结石94例, 多发结石66例, 结石伴息肉13例, 结石平均直径 $1.72 \text{ cm} \pm 0.64 \text{ cm}$ ; 对照组男100例, 女73例, BMI为 $21.4 \text{ kg/m}^2 \pm 1.9 \text{ kg/m}^2$ , 年龄20-75岁( $45.2 \text{ 岁} \pm 8.1 \text{ 岁}$ ), 右上腹疼痛病史0.7-11年, 平均 $5.2 \text{ 年} \pm 2.1 \text{ 年}$ , 单发结石89例, 多发结石68例, 结石伴息肉16例, 结石数量最多1例为630枚, 结石平均直径 $1.71 \text{ cm} \pm 0.68 \text{ cm}$ . 两组间年龄、性别、BMI、病程、病情等一般资料无显著差异( $P > 0.05$ ), 具有可比性. 研究经过本院伦理委员会的审查批准, 由患者或家属代笔签署知情同意书. 牛磺熊去氧胆酸, 商品名: 滔罗特, 意大利贝迪大药厂生产, 生产批号: 20110319.

## 1.2 方法

**1.2.1 治疗:** 实验组: 取右上腹肋缘下经腹直肌切口约3-4 cm, 常规进腹后探查胆囊情况, 提出胆囊底并于底部切开约1 cm切口, 插入Olympus纤

## ■ 研发前沿

治疗胆囊结石的理想方法是只取石而不切除胆囊, 从而保留胆囊的正常功能. 随着内镜技术和微创手术的发展, 外科医师们可逐渐减轻手术过程中对机体组织造成的伤害, 从而加速患者的康复.

## ■ 相关报道

骆助林等报道采用微创保胆取石术后给予患者间歇口服牛磺熊去氧胆酸, 可明显改善患者术后症状, 同时与对照组相比结石复发率明显降低( $P < 0.05$ ).



## ■创新盘点

内镜微创保胆取石术在国内三甲医院已普遍开展,但少见其对患者术后联合服用牛磺熊去氧胆酸对胆囊收缩功能影响的报道,本文可提供参考。

表 1 两组患者症状改善情况比较 [ $n = 173, n(\%)$ ]

分组	胆绞痛	右下腹不适	腹胀
实验组	155(89.83) <sup>a</sup>	148(85.99) <sup>a</sup>	156(90.28) <sup>a</sup>
对照组	128(74.24)	123(71.22)	128(74.03)
$\chi^2$ 值	7.642	6.780	8.929
$P$ 值	0.006	0.009	0.003

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 对照组。

表 2 3组患者胆囊收缩功能比较 (mean  $\pm$  SD)

分组	$n$	餐前容积(mL)	餐后容积(mL)	排空指数
实验组	25	18.54 $\pm$ 11.45 <sup>ac</sup>	6.71 $\pm$ 3.58 <sup>ac</sup>	53.95 $\pm$ 10.61 <sup>ac</sup>
对照组	25	26.34 $\pm$ 14.66	15.90 $\pm$ 4.01	43.81 $\pm$ 12.39
胆囊结石组	38	28.72 $\pm$ 16.27	16.63 $\pm$ 15.17	42.65 $\pm$ 20.34
正常组	37	19.71 $\pm$ 4.83 <sup>ac</sup>	8.38 $\pm$ 2.63 <sup>ac</sup>	56.96 $\pm$ 14.07 <sup>ac</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 胆囊结石组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 对照组。

维胆道镜探查胆囊,直视下使用配套取石网套取胆囊内结石并刷洗清除胆囊粘膜附着的胆固醇结晶,仔细检查胆囊内无残留结石,观察胆总管通畅可见胆汁涌入,4-0可吸收线缝合胆囊底部切口并包埋浆肌层,还纳胆囊,逐层关腹。患者术后第2天开始口服牛磺熊去氧胆酸。使用方法为:10 mg/(kg  $\cdot$  d)(2-3粒 250 mg胶囊),可分2-3次于饭后服用。疗程为6 mo。对照组:手术操作同对照组,术后不口服牛磺熊去氧胆酸,但给予常规抗炎支持治疗。

1.2.2 观察指标:术后采用电话及电子邮件的方法对患者进行随访2年,随访内容包括:(1)临床治疗效果<sup>[7]</sup>。通过电话及电子邮件的方式对患者胆绞痛、右下腹不适和腹胀改善情况进行统计。包括有效:症状消失或明显减轻;无效:临床症状无变化或减轻不明显;(2)胆囊收缩功能测定<sup>[8]</sup>。选取在我院行保胆取石术后满2年复诊的患者50例,其中实验组和对照组各25例,以及我院未经手术的胆囊结石患者38例和无胆囊疾病的志愿者37例,胆囊超声测定各组受试者空腹时胆囊的最大长径,横径和前后径,计算出餐前胆囊容积,然后对每组受试者进食我院营养科统一配制的脂肪餐,40 min后再次对每组受试者行胆囊超声测定进食脂肪餐后胆囊的最大长径,横径和前后径并计算出餐后胆囊容积,餐后胆囊排空指数=(餐前容积-餐后容积)/餐前容积 $\times$ 100%。此排空指数即可代表胆囊收缩功能;(3)

结石复发率测定:术后1年和2年的结石复发情况,以我院或者当地医院B超检查为准。

**统计学处理** 数据采用SPSS19.0统计学软件进行处理。数据以mean $\pm$ SD表示,两组患者临床症状改善情况和结石复发率比较采用 $\chi^2$ 检验,胆囊收缩功能比较采用 $t$ 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 两组患者症状改善情况比较 两组患者症状改善情况比较如表1。实验组患者胆绞痛改善率89.83%、右下腹不适改善率85.99%、腹胀改善率90.28%,显著高于对照组胆绞痛改善率74.24%、右下腹不适改善率71.22%、腹胀改善率74.03%。且三组数据比较均 $P < 0.05$ ,具有统计学意义。

2.2 3组患者胆囊收缩功能比较 3组患者胆囊收缩功能比较如表2。实验组排空指数(53.95  $\pm$  10.61)大于胆囊结石组排空指数(42.65  $\pm$  20.34)和对照组排空指数(43.81  $\pm$  12.39),且差别具有统计学意义( $P < 0.05$ )。并且,实验组排空指数(56.95  $\pm$  10.61)与正常组排空指数(56.96  $\pm$  14.07)接近,差别不具有统计学意义( $P > 0.05$ )。

2.3 结石复发率比较 两组患者的结石复发率比较如表3。实验组术后1年复发率和2年复发率均显著低于对照组,且两组数据比较均,具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表 3 两组患者的结石复发率比较 [ $n=173, n(\%)$ ]

分组	1年复发率	2年复发率
实验组	2(1.16)a	8(4.62) <sup>a</sup>
对照组	11(6.36)	28(16.18)
$\chi^2$ 值	6.471	12.401
$P$ 值	0.011	0.001

\* $P<0.05$  vs 对照组。

### 3 讨论

胆石病是普外科的常见多发疾病,在我国成年人中发生率接近10%,其中胆囊结石占有一半以上的比例。随着人民生活水平的提高,胆囊炎、胆囊结石的发病率还有明显的上升趋势<sup>[8]</sup>。根据德国名医Langenbuch的理论“胆囊切除不是因为胆囊内含有结石,而是因为胆囊能生长结石”,100多年来胆囊切除术一直是临床治疗胆囊结石、胆囊炎最常用的方法,随着科技的进步现时腹腔镜胆囊切除术被推崇为治疗胆囊结石的“金标准”<sup>[9]</sup>。随着对胆囊生理功能认识的不断深入以及胆囊切除术后各种不良反应的大量临床报告的发表,现代医学发现胆囊为一个重要的消化及免疫器官不可缺少部分,且胆囊切除后可出现多种并发症,如:术后易出现消化不良、腹胀腹泻、返流性胃炎、肝胆肠脏器损伤、胆总管结石发生率升高、结肠癌发生率增加、胆囊切除术后综合征等<sup>[10]</sup>。国内张宝善教授最先提出了“内镜微创保胆取石”这一概念<sup>[11]</sup>,他认为对胆囊结石患者有选择的进行“保胆取石”手术治疗,保留具有相对正常生理功能的胆囊,有助于维持机体正常生理状况,避免胆囊切除后的各种并发症和不良影响。

较早开展的保胆取石术存在较高的复发率,文献报道术后5年及10年复发率接近40%<sup>[12]</sup>。纤维胆道镜技术的应用使得术者可以直接看到胆囊腔内情况并在直视下取净结石,明显降低了结石残留率,刘京山等<sup>[13]</sup>采用内镜微创直视下取石术治疗胆囊结石,报道1年复发率为6.60%,5年复发率为10.11%。康健等<sup>[14]</sup>研究表明胆囊功能、胆囊壁厚度是影响保胆取石术后结石复发的重要因素。我们在临床治疗过程中严格掌握适应症,于术前B超检查判定胆囊舒缩功能及胆囊壁厚度;手术操作过程中使用纤维胆道镜全面探查胆囊腔内情况并取净结石,使用可吸收缝线缝合胆囊等。上述措施的采用,大大降低了

术中结石残留及术后结石复发的几率。

在我国约有70%-80%的胆囊结石为胆固醇性结石,胆固醇结石的形成主要由胆汁胆固醇过饱和、胆汁中胆固醇成核异常和胆囊动力异常等3方面缺陷导致<sup>[15]</sup>。既往临床应用的熊去氧胆酸能增加胆汁酸的分泌,降低胆汁中胆固醇的浓度和饱和度,临床溶石疗效肯定,但其使用疗程较长的缺点限制了他的临床应用。滔罗特的有效成分为牛磺熊去氧胆酸,是一种天然胆汁酸酰胺化物,在体内由熊去氧胆酸与牛磺酸结合而成,其较熊去氧胆酸多一个牛磺酸基团,极性增加,溶解胆固醇能力亦有所增强,作为天然活性药物口服后无需机体进行生物转化而直接起效,溶石速度大于熊去氧胆酸<sup>[16]</sup>。胆汁中的胆固醇依赖胆汁中的胆汁酸盐和卵磷脂形成微胶粒或泡而溶解,胆固醇结石形成的关键环节是胆汁中胆汁酸盐含量降低、胆固醇过饱和,纠正胆汁成分的失衡是预防结石复发的关键措施。本文研究结果显示,实验组患者胆绞痛改善率、右下腹不适和腹胀改善率均显著高于对照组( $P<0.05$ ),保胆取石术后服用牛磺熊去氧胆酸胶囊能有效将胆囊排空指数提高到正常水平左右( $P<0.05$ ),且可以有效降低患者1年复发率及2年复发率(均 $P<0.05$ ),与张宏等<sup>[8]</sup>的研究结果一致,表明保胆取石术联合牛磺熊去氧胆酸胶囊能够有效地彻底清除结石防治复发,在恢复胆囊收缩功能方面具有巨大的促进作用。

总之,牛磺熊去氧胆酸可预防胆囊结石的形成,因此保胆取石术后联合口服牛磺熊去氧胆酸能明显降低胆囊结石的复发率,改善患者的生活质量,为胆囊结石患者的临床治疗提供了有效参考,值得临床推广应用。

### 4 参考文献

- 张宝善. 内镜微创保胆取石术治疗胆囊结石. 中国内镜杂志 2012; 8: 1-4
- 舒越, 康建明, 王国宏, 陈春民, 王文忠, 焦西征, 潘用彬, 罗时龙. 保胆取石术治疗胆囊结石的临床应用. 医学研究生学报 2010; 17: 33-34
- Sanjay P, Kulli C, Polignano FM, Tait IS. Optimal surgical technique, use of intra-operative cholangiography (IOC), and management of acute gallbladder disease: the results of a nation-wide survey in the UK and Ireland. *Ann R Coll Surg Engl* 2010; 92: 302-306 [PMID: 20501016 DOI: 10.1308/003588410X12628812458617]
- 欧阳才国, 张利刚, 姚宝福, 吴振宇, 许大彬, 张宝善. 内镜保胆取石与胆囊切除术治疗胆囊结石疗效对比分析. 中国现代医药杂志 2011; 11: 36-38
- 骆助林, 田伏洲, 陈理国, 王瑞丰, 陈龙, 黄竹, 宋宗涛. 腹腔镜胆囊切除术与保胆取石术治疗胆囊结石对比

### ■应用要点

内镜微创保胆取石术后应反复确认无残石遗留,并于术后第2天开始口服牛磺熊去氧胆酸10 mg/(kg·d),疗程6 mo。

## ■同行评价

本文具有一定科学价值和临床指导意义。

- 6 分析. 局解手术学杂志 2012; 21: 639-641
- 7 韩积义, 崔自介. 腹部外科诊断和鉴别诊断学. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 400-422
- 8 贝郑平. 现代临床医学诊断标准丛书. 北京: 科学出版社, 1998: 293
- 9 张宏, 潘耀振, 张浩, 詹磊, 孙诚谊. 微创保胆取石术联合牛磺熊去氧胆酸与腹腔镜胆切除术治疗胆囊结石的对比研究. 中华临床医师杂志 2014; 8: 873-878
- 10 Cheon YK, Cho YD, Moon JH, Lee JS, Shim CS. Evaluation of long-term results and recurrent factors after operative and nonoperative treatment for hepatolithiasis. *Surgery* 2009; 146: 843-853 [PMID: 19744434 DOI: 10.1016/j.surg.2009.04.009]
- 11 Topal B, Vromman K, Aerts R, Verslype C, Van Steenberghe W, Penninckx F. Hospital cost categories of one-stage versus two-stage management of common bile duct stones. *Surg Endosc* 2010; 24: 413-416 [PMID: 19554369 DOI: 10.1007/s00464-009-0594-0]
- 12 Biddinger SB, Haas JT, Yu BB, Bezy O, Jing E, Zhang W, Unterman TG, Carey MC, Kahn CR. Hepatic insulin resistance directly promotes formation of cholesterol gallstones. *Nat Med* 2008; 14: 778-782 [PMID: 18587407 DOI: 10.1038/nm1785]
- 13 张宝善. 关于胆囊结石治疗的争论. 中国医刊 2010; 42: 322-325
- 14 刘京山, 李晋忠, 赵期康, 金斗, 侯郑生, 黄坤全, 杜文, 于景波, 张宝善, 康晓平. 纤维胆道镜下胆囊切开取石保胆治疗胆囊结石612例随访结果分析. 中华外科杂志 2010; 47: 279-281
- 15 康健, 张波, 王世龙, 孟庆成. 微创内镜保胆取石术后结石复发率及影响因素分析. 中国医药 2011; 6: 322-324
- 16 Portincasa P, Di Ciaula A, Wang HH, Palasciano G, van Erpecum KJ, Moschetta A, Wang DQ. Coordinate regulation of gallbladder motor function in the gut-liver axis. *Hepatology* 2008; 47: 2112-2126 [PMID: 18506897 DOI: 10.1002/hep.22204.]
- 17 Kuipers F, Groen AK. Chipping away at gallstones. *Nat Med* 2008; 14: 715-716 [PMID: 18607368 DOI: 10.1038/nm0708-715]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》参考文献要求

**本刊讯** 本刊采用“顺序编码制”的著录方法,即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映,并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名,则需在“Pang等”的右上角注角码;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注角码。如马连生<sup>[1]</sup>报告……,潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认为……;PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>。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。



# 肠外免疫营养在急性胰腺炎治疗中作用的随机对照试验荟萃分析

胡俊, 黄强, 林先盛, 刘臣海, 杨骥, 李瑞阳, 汪超

胡俊, 黄强, 林先盛, 刘臣海, 杨骥, 李瑞阳, 汪超, 安徽医科大学  
附属安徽省立医院普外科 肝胆胰安徽省重点实验室 安徽省  
合肥市 230001

胡俊, 在读硕士, 主要从事胆胰外科的研究。

作者贡献分布: 胡俊与林先盛负责文献检索、文献质量评价、  
提取资料及论文撰写; 刘臣海、杨骥、李瑞阳及汪超负责论文  
的数据分析及文献审核; 黄强教授负责论文的审阅及修改。

通讯作者: 黄强, 教授, 主任医师, 博士生导师, 230001, 安徽省  
合肥市庐江路17号, 安徽医科大学附属安徽省立医院普外科, 肝  
胆胰安徽省重点实验室, hq-sohu@sohu.com

电话: 0551-62281790

收稿日期: 2014-07-19 修回日期: 2014-09-03

接受日期: 2014-09-10 在线出版日期: 2014-10-28

## Parenteral immunonutrition in patients with acute pancreatitis: A meta-analysis of randomized controlled trials

Jun Hu, Qiang Huang, Xian-Sheng Lin, Chen-Hai Liu,  
Ji Yang, Rui-Yang Li, Chao Wang

Jun Hu, Qiang Huang, Xian-Sheng Lin, Chen-Hai Liu,  
Ji Yang, Rui-Yang Li, Chao Wang, Department of General  
Surgery, Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical  
University, Hepato-biliary and Pancreatic Laboratory of  
Anhui Province, Hefei 230001, Anhui Province, China

Correspondence to: Qiang Huang, Professor, Chief Physi-  
cian, Department of General Surgery, Affiliated Provincial  
Hospital of Anhui Medical University, Hepato-biliary and  
Pancreatic Laboratory of Anhui Province, 17 Lujiang Road,  
Hefei 230001, Anhui Province, China. hq-sohu@sohu.com  
Received: 2014-07-19 Revised: 2014-09-03  
Accepted: 2014-09-10 Published online: 2014-10-28

## Abstract

**AIM:** To evaluate the effects of parenteral im-  
munonutrition on clinical outcomes [infectious  
complications, length of hospital stay (LOS) and  
mortality] in patients with acute pancreatitis.

**METHODS:** Pubmed, Medline, Embase, Science  
Direct, CBM, Springer link, VIP and CNKI were  
electronically searched before 31st May 2014 to  
collect the articles on parenteral immunonutri-  
tion in acute pancreatitis. The quality of the  
included trials was assessed according to the  
inclusive and exclusive criteria, and the data  
were extracted and analyzed using RevMan 5.2.7

software.

**RESULTS:** A total of seven randomized con-  
trolled trials studies with 264 pancreatitis pa-  
tients were included. The number of patients  
receiving parenteral immunonutrition was 130  
and the number of patient receiving standard  
parenteral nutrition was 134. Meta-analysis  
showed that parenteral immunonutrition signifi-  
cantly reduced the risk of infectious complica-  
tions (RR = 0.56, 95%CI: 0.39-0.82,  $P = 0.002$ ) and  
mortality (RR = 0.23, 95%CI: 0.10-0.52,  $P < 0.001$ ).  
LOS was also shorter in patients who received  
immunonutrition (RR = -5.63, 95%CI: -9.69--1.57,  
 $P = 0.007$ ).

**CONCLUSION:** Immunonutrients like gluta-  
mine and omega-3 fatty acids added to parenter-  
al formulas can improve prognoses in patients  
with acute pancreatitis. Our findings still need  
to be verified by large, multicenter prospective  
randomized controlled trials.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights  
reserved.

**Key Words:** Acute pancreatitis; Parenteral nutrition;  
Glutamine; Omega-3 fatty acids

Hu J, Huang Q, Lin XS, Liu CH, Yang J, Li RY, Wang  
C. Parenteral immunonutrition in patients with acute  
pancreatitis: A meta-analysis of randomized controlled  
trials. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(30): 4647-4653  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4647.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i30.4647>

## 摘要

**目的:** 探讨肠外免疫营养制剂在急性胰腺炎  
(acute pancreatitis, AP)肠外营养中的作用。

**方法:** 计算机检索在2014-05-31在PubMed;  
Medline; Embase; Science Direct; CBM;  
Springer link; VIP; CNKI数据库公开发表的  
关于肠外免疫营养在治疗AP中疗效的英文文  
献, 由2位研究者严格按纳入、排除标准独立

## ■背景资料

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是临床常见的急危重症之一, 最新治疗指南提倡在早期施行肠外营养, 待患者胃肠动力能够耐受时, 及早(发病48 h内)施行肠内营养。但是目前AP的肠外免疫营养治疗的临床随机对照试验(randomized controlled trials, RCTs)的结果仍存在争议, 目前尚无系统评价对于肠外免疫营养与传统的营养制剂进行对比。

## ■同行评议者

汪波, 主任医师, 北京大学第一医院急诊科

## ■研究前沿

由于AP肠外免疫营养的效果和应用存在着争议,目前尚无系统评价对于肠外免疫营养与传统的营养制剂进行对比。本文遂结合近年来的最新的随机对照试验进行分析,进一步明确肠外免疫营养的临床价值,为临床选择提供证据。

进行文献筛选(PRISMA标准)、资料提取和方法学质量评价,并采用RevMan 5.2.7软件进行Meta分析。

**结果:**共纳入7篇文献,共包含AP患者264例,其中行肠外免疫营养制剂患者130例,行常规肠外营养制剂患者134例。Meta分析结果显示:肠外免疫营养组与常规肠外营养组对比,其感染发生率较低( $RR = 0.56$ , 95%CI: 0.39-0.82,  $P = 0.002$ )、住院时间较短( $RR = -5.63$ , 95%CI: -9.69--1.57,  $P = 0.007$ )、病死率也较低( $RR = 0.23$ , 95%CI: 0.10-0.52,  $P < 0.001$ )。

**结论:**AP进行肠外营养治疗时,使用肠外免疫营养制剂能显著减少相关并发症和改善预后,值得临床上推广。但仍需大样本、多中心、前瞻性随机对照研究来进一步验证肠外免疫营养制剂在AP治疗中的优点。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:**急性胰腺炎; 肠外营养; 谷氨酰胺;  $\omega$ -3多不饱和脂肪酸

**核心提示:**在常规的急性胰腺炎的营养治疗中,如在肠外营养制剂中添加谷氨酰胺(glutamine)、 $\omega$ -3多不饱和脂肪酸(omega-3 fatty acids)等营养素组成的肠道制剂可以显著地减少住院时间和各种并发症的发生。

胡俊, 黄强, 林先盛, 刘臣海, 杨骥, 李瑞阳, 汪超. 肠外免疫营养在急性胰腺炎治疗中作用的随机对照试验荟萃分析. 世界华人消化杂志 2014; 22(30): 4647-4653 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4647.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4647>

## 0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是临床常见的急危重症之一,最新的指南定义为由于胆源性、酒精性等多种病因引起的胰腺胰酶激活,以胰腺局部炎症反应为主要特征,伴或不伴有其他器官功能改变的疾病。临床上,大多数患者预后较好,病程呈自限性,但是仍有20%-30%患者病情经过凶险,总体病死率为5%-10%<sup>[1-4]</sup>,临床上根据最新的分级标准<sup>[1-4]</sup>将AP分为轻度AP(mild AP, MAP)、中度AP(moderately severe AP, MSAP)、重症AP(severe AP, SAP), AP常导致肠黏膜屏障功能受损、肠内细菌易位,全身性的代谢紊乱、营养不良和免疫功能下降,患者的营养状态也决定了AP的预后,因此,恰当

的营养支持在AP的治疗中起着至关重要的作用<sup>[5-7]</sup>。目前AP常见的营养治疗方法分为肠内营养(enteral nutrition, EN)和肠外营养(parenteral nutrition, PN)<sup>[8-11]</sup>。对于MAP患者只需要短期禁食水,无需行营养支持治疗;对于MSAP和SAP患者,最新治疗指南提倡在早期施行PN,待患者胃肠动力能够耐受时,及早(发病48 h内)施行肠内营养<sup>[1-4,9]</sup>,且在整个AP的营养治疗过程中,提倡使用肠内营养<sup>[9]</sup>。只有在肠内营养提供营养不足、肠道无法耐受肠内营养、肠梗阻或者出现消化道穿孔时,才使用PN支持。

近年的研究表明<sup>[12-15]</sup>,在肠道营养制剂中添加谷氨酰胺(glutamine)、 $\omega$ -3多不饱和脂肪酸(omega-3 fatty acids)等营养素组成的肠道免疫营养制剂,可以在提供能量的同时,调控机体的免疫炎症反应和保护肠黏膜屏障的功能<sup>[16-18]</sup>。肠道免疫营养治疗在重症患者和大手术术后的临床效果得到肯定,但是目前AP的肠外免疫营养治疗的临床随机对照试验(randomized controlled trials, RCTs)的结果仍存在争议<sup>[19,20]</sup>。为了进一步明确肠外免疫营养制剂在AP治疗的应用,我们遂采用循证医学的方法来评估肠外免疫营养制剂在AP治疗中的效用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 分别以“acute pancreatitis” or “pancreatitis” or “severe acute pancreatitis”、“nutritional support” or “parenteral nutrition” or “total parenteral nutrition”、“immunonutrition”、“Fatty Acids, Omega-3” or “Fish oil” or “glutamine” or “glutamine dipeptide” or “L-glutamine” or “glutamine supplementation”)为检索词,通过计算机检索数据库: Pubmed; Medline; Embase; Science Direct; CBM; Springer link; VIP; CNKI。并以不同检索策略进行检索,文献检索的截止时间为: 2014-05-31。检索语言仅限于英文文献。

### 1.2 方法

**1.2.1 纳入标准:** (1)纳入研究的试验设计类型为RCT; (2)纳入研究为2014-05-31前公开发表的英文文献; (3)各纳入研究需有肠外免疫营养制剂组和常规肠外营养制剂组对比,且需有相关表明疗效的指标(感染性并发症、病死率、住院时间等); (4)肠外免疫营养制剂为谷氨酰胺(glutamine)、 $\omega$ -3多不饱和脂肪酸(omega-3 fatty acids)、精氨酸等制剂或者配合而成的制剂; (5)

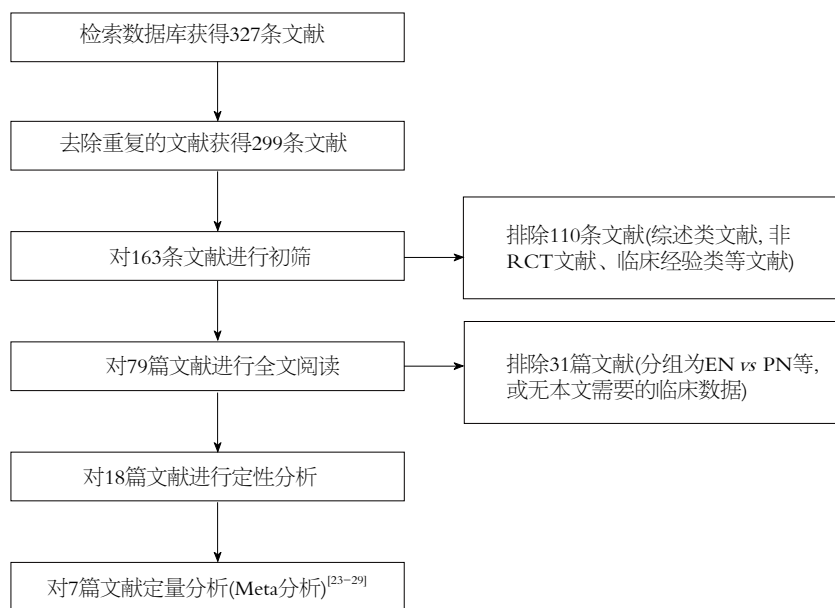


图1 PRISMA文献筛选流程。

## ■ 相关报道

肠外营养制剂中添加谷氨酰胺及 $\omega$ -3多不饱和脂肪酸等组成的免疫营养制剂具有明显降低AP的住院时间、减少AP相关并发症[全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)、多器官功能障碍综合征(multiple dysfunction syndrome, MODS)等]的发生和降低死亡率等特点。AP肠外免疫营养制剂会逐渐成为发展方向。

文献中应该交代肠外免疫营养制剂的剂量和治疗方案; (6)纳入研究中的研究对象的年龄应为 $\geq 16$ 岁且诊断明确。

1.2.2 排除标准: (1)非随机对照试验; (2)研究为EN和PN之间对比的RCT; (3)诊断不明确或者纳入的研究人群包含有不同疾病的, 则不予以纳入。

1.2.3 研究: 严格按照Cochrane协作组的系统评价文献筛选流程<sup>[21]</sup>和Meta分析报告规范PRISMA标准进行文献筛选<sup>[22]</sup>, 首先由三位研究者分别独立进行文献检索和文献的初筛, 整个筛选过程采用盲法。具体的文献筛选过程为: 先独立阅读所获文献的题目及摘要, 剔除明显不符合纳入标准的文献, 再对可能符合纳入标准的文献阅读全文, 以确定该文献是否真正符合纳入标准。如果对筛选过程中有分歧而难以确定是否纳入的文献, 则通过讨论或由第三个研究者决定其是否纳入。两位研究人员独立地对符合纳入标准的试验进行资料提取(第一作者、发表年限、人群构成、研究类型等), 再填写资料提取表格, 并交叉核对提取的资料, 缺乏的资料通过与临床试验通讯作者联系予以补充。

1.2.4 文献质量评估: 采用Cochrane协作组的Cochrane Handbook 5.0推荐的“偏倚风险评估”工具对本主题词检索纳入后所得到的研究进行方法学质量评价。具体的评价包括6个方面: (1)随机分配方法; (2)隐藏分组; (3)盲法: 对研究对象、治疗方案实施者、研究结果测量者; (4)结果数据的完整性; (5)选择性报告研究结果; (6)其他偏倚来源。将研究治疗分为3级: 完全满足上

述6条标准者, 即为“正确或充分”, 其发生各种偏倚的可能性最小, 质量为A; 上述有1条描述不清楚者为部分满足, 质量为B级; 上述有1条描述有发生相应偏倚的可能性, 质量为C级。

**统计学处理** 本文采用Cochrane协作网提供的RevMan 5.2.7软件进行Meta分析。对纳入的研究资料进行临床异质性分析, 研究中存在吻合方式的差异, 采用随机效应模型合并数据。计数资料采用相对危险度(risk ratio, RR)以及95%可信区间(95%confidence interval, 95%CI)表示。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 文献筛选流程及纳入文献特点 由两位研究者严格按照PRISMA标准进行文献筛选流程和既定的纳入排除标准进行文献筛选, 共纳入文献7篇<sup>[23-29]</sup>。具体筛选文献的PRISMA流程图如图1。其中共纳入AP病例数264例, 其中行肠外免疫营养制剂患者130例, 行常规肠外营养制剂患者134例, 肠外营养制剂为谷氨酰胺添加或者 $\omega$ -3多不饱和脂肪酸添加组。各纳入文献分别介绍了文中AP患者的纳入和诊断标准, 两组之间的基线具有可比性。其中具体纳入文献的分组情况及一般情况如表1。

2.2 文献质量评估 采用Cochrane协作组的Cochrane Handbook 5.0推荐的“偏倚风险评估”工具从随机分配方法的描述、隐藏分组、盲法的说明、结果数据的完整性、选择性报告研究结果和其他偏倚来源六个方面对纳入文献进行



## ■创新盘点

本文遂结合近年来的最新的随机对照试验进行分析,进一步明确和证实肠外免疫营养的临床价值,为临床选择提供证据。

表 1 纳入研究的一般情况

纳入研究	国家	肠外免疫营养制剂	分组(n)	
			肠外营养制剂组	常规组
de Beaux等 <sup>[23]</sup> 1998	United Kingdom	Glutamine	6	7
Ockenga等 <sup>[24]</sup> 2002	Germany	Glutamine	14	14
He等 <sup>[25]</sup> 2004	China	Glutamine	20	23
Sahin等 <sup>[26]</sup> 2007	Turkey	Glutamine	20	20
Fuentes-Orozco等 <sup>[27]</sup> 2008	Mexico	Glutamine	22	22
Wang等 <sup>[28]</sup> 2009	China	Omega-3 fatty acids	28	28
Wang等 <sup>[29]</sup> 2008	China	Omega-3 fatty acids	20	20
合计			130	134

Glutamine: 谷氨酰胺; Omega-3 fatty acids:  $\omega$ -3多不饱和脂肪酸。肠外营养制剂组: 添加了相关的免疫营养制剂组。文献[28]与[29]作者相同,但纳入研究对象和时间不同。

表 2 纳入研究的质量评价

纳入研究	SAP诊断标准	实验组剂量(g/kg·d)	肠外营养持续时间(d)		质量评价
			实验组	对照组	
de Beaux等 <sup>[23]</sup> 1998	Glasgow评分	0.22	7	7	B
Ockenga等 <sup>[24]</sup> 2002	APACHE、CTSI	0.3	10-18	6-16	B
He等 <sup>[25]</sup> 2004	CTSI	0.4	14	14	B
Sahin等 <sup>[26]</sup> 2007	Ranson scores	0.3	7-21	7-15	C
Fuentes-Orozco等 <sup>[27]</sup> 2008	APACHE、CTSI	0.4	17.5	19.3	A
Wang等 <sup>[28]</sup> 2009	APACHE	0.2	5	5	B
Wang等 <sup>[29]</sup> 2008	APACHE	0.2	5	5	A

APACHE: 急性生理和慢性健康评分标准; CTSI: CT严重指数评分标准; Ranson score: Ranson评分标准。文献[28]与[29]作者相同,但纳入研究对象和时间不同。

质量评价。具体质量评价的结果详如表2。由表2可知: 各纳入研究的AP的诊断标准均根据1992年的亚特兰大标准,且诊断重症胰腺炎均叙述了诊断标准。各纳入研究均包含了肠外营养制剂组的剂量和使用时间的比较,也包含预后指标,如病死率、感染率、住院时间等。纳入研究中质量为A级的2篇<sup>[27,29]</sup>,质量为B级的4篇<sup>[23-25,28]</sup>,仅有1篇<sup>[26]</sup>因为未明确交代随机方法的分配和盲法的说明评价为C级。整体纳入文献质量较高。

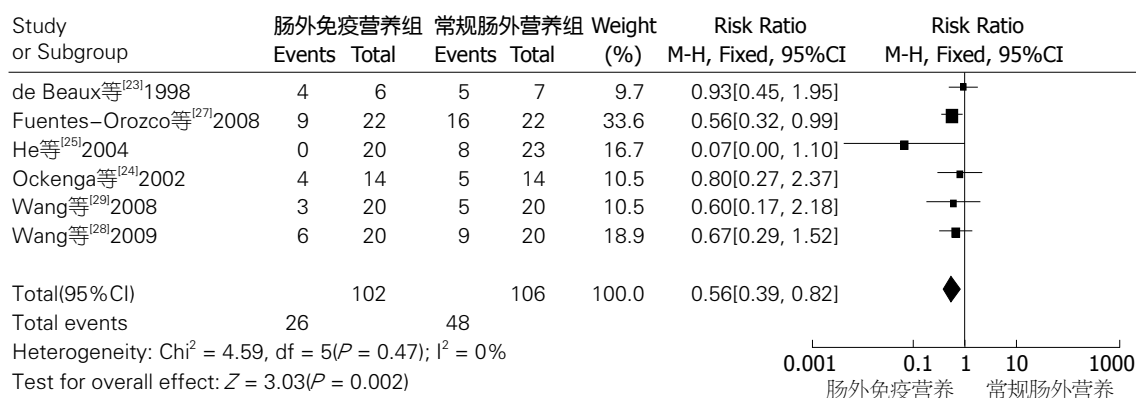
### 2.3 肠外免疫营养制剂组与常规营养制剂组的比较

2.3.1 肠外免疫营养制剂组和常规肠外营养制剂组感染发生率的比较: 共纳入有6篇文献,共包含肠外免疫营养组患者102例,常规肠外营养组106例,Meta分析结果表明: 各纳入研究的异质性很小( $I^2 = 0\%$ ,  $P = 0.47$ ),遂采用固定效应模型进行分析。结果表明:  $RR = 0.56$ , 95%CI: 0.39-0.82。肠外免疫营养组的感染发生率与常规

肠外营养组的感染发生率的差异有统计学意义( $P = 0.002$ )。肠外免疫营养组的感染发生率较小。两组感染发生率比较的森林图如图2。

2.3.2 肠外免疫营养制剂组和常规肠外营养制剂组住院时间的比较: 共纳入有5篇文献,共包含肠外免疫营养组患者96例,常规肠外营养组99例,Meta分析结果表明: 各纳入研究有一定的异质性( $I^2 = 72\%$ ,  $P = 0.006$ ),遂采用随机效应模型进行分析。结果表明:  $RR = -5.63$ , 95%CI: -9.69--1.57。肠外免疫营养组的住院时间与常规肠外营养组住院时间的差异有统计学意义( $P = 0.007$ ),免疫营养组的住院时间较短。两组住院时间比较的森林图如图3。

2.3.3 肠外免疫营养制剂组和常规肠外营养制剂组病死率的比较: 共纳入有7篇文献,共包含肠外免疫营养组患者130例,常规肠外营养组134例,Meta分析结果表明: 各纳入研究异质性很小( $I^2 = 0\%$ ,  $P = 0.92$ ),遂采用固定效应模型进行分



## ■应用要点

相比较常规的肠外营养而言, 肠外免疫营养组能显著地降低AP的住院时间、病死率、感染率, 降低AP相关并发症的发生率, 值得在临床进一步推广。

图2 肠外免疫营养组与常规肠外营养的感染发生率比较的森林图。

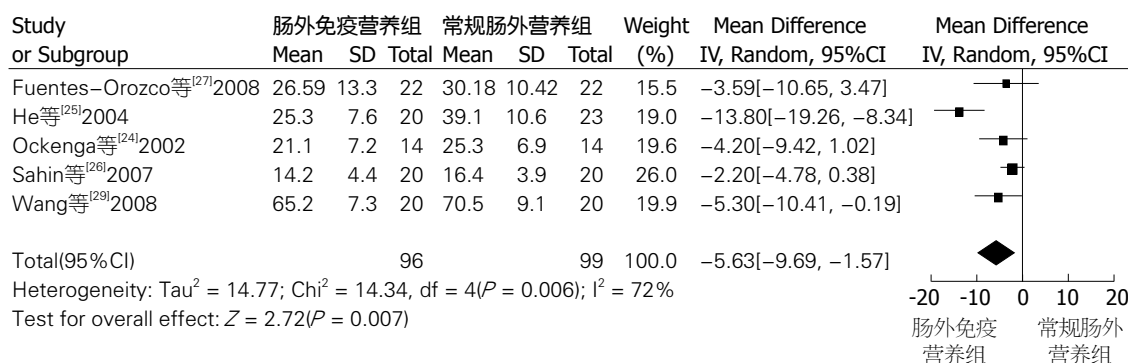


图3 肠外免疫营养组与常规肠外营养的住院时间比较的森林图。

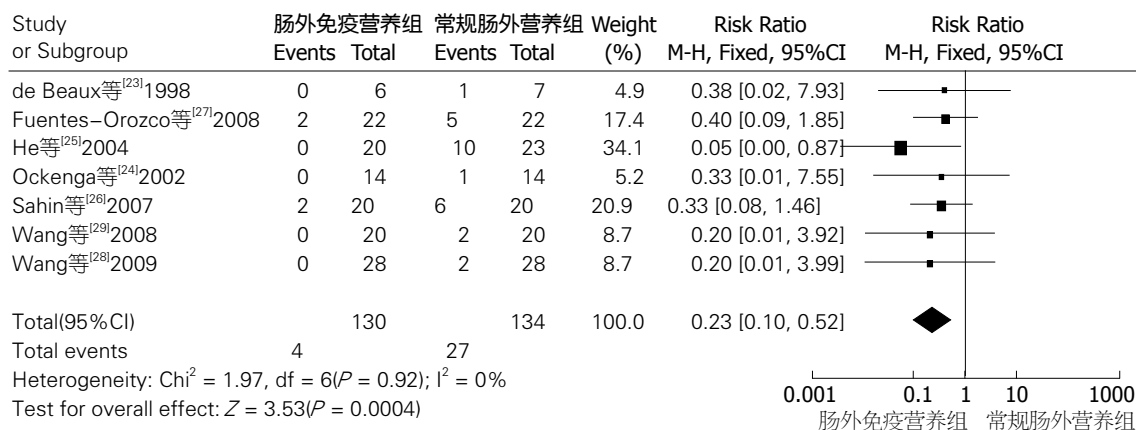


图4 肠外免疫营养组与常规肠外营养的病死率比较的森林图。

析。结果表明:  $RR = 0.23$ ,  $95\%CI: 0.10-0.52$ 。肠外免疫营养组病死率与常规肠外营养组病死率的差异有统计学意义( $P < 0.001$ )。肠外免疫营养组的病死率小。两组住院时间比较的森林图如图4。各纳入文献的漏斗图如图5。由图5可知: 文献选择偏倚较小。

### 3 讨论

AP是一种由于胰酶被激活, 继而导致局部或者

全身炎症反应的疾病, 在其治疗中, 营养支持占很重要的地位<sup>[2,4]</sup>。对于早期的MAP, 患者仅需要短暂的禁食水即可; 对于MSAP及SAP患者, 需给予营养支持治疗。目前对于营养支持治疗的选择, 如胃肠道能够耐受, 需及时行肠内营养。但是对于SAP患者或者胃肠道无法耐受肠内营养的患者, 肠外营养成为首选的营养支持方法。目前肠道营养制剂中添加谷氨酰胺、 $\omega$ -3多不饱和脂肪酸等营养素组成的肠道免疫营养制剂<sup>[16-18]</sup>成

### ■名词解释

肠道免疫制剂: 在常规肠道营养制剂中添加谷氨酰胺(Glutamine)、 $\omega$ -3多不饱和脂肪酸(Omega-3 fatty acids)等营养素组成的肠道制剂, 可以在提供能量的同时, 调控机体的免疫炎症反应和保护肠黏膜屏障的功能。肠道免疫营养治疗在重症患者和大手术后的临床效果得到肯定。

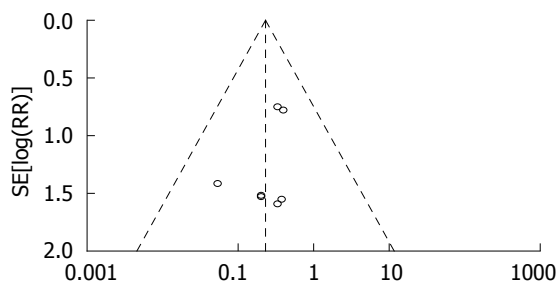


图5 肠外免疫营养组与常规肠外营养的病死率比较的漏斗图。

为指南等推荐的方案, 且已有相关的系统评价<sup>[30,31]</sup>论证, 并且肯定了肠外免疫营养制剂在营养支持中的作用, 但是由于部分文献的异质性较大、研究的设计类型等原因, 其结果并不充分。本文检索近年来的关于肠外免疫营养制剂和常规治疗方案对比的RCT研究, 进一步说明肠外免疫营养在AP营养支持治疗中的作用。

通过本文的系统评价表明: 肠外免疫营养组的住院时间较常规肠外营养组明显的降低( $P<0.05$ ), 肠外免疫营养组的病死率及感染的发生率均较常规肠外营养组低( $P<0.05$ ), 说明了在肠外营养制剂中添加谷氨酰胺及 $\omega$ -3多不饱和脂肪酸等组成的免疫营养制剂具有明显降低AP的住院时间、减少AP相关并发症[全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)、多器官功能障碍综合征(multiple dysfunction syndrome, MODS)等]的发生和降低死亡率等特点。其主要原因可能是<sup>[32,33]</sup>: 谷氨酰胺等参与葡萄糖三羧酸循环氧化生成ATP供能, 并参与黏膜细胞核酸以及蛋白质的合成代谢, 促进肠黏膜细胞的更新和再生, 保持其超微结构的完整性; 谷氨酰胺可能刺激机体产生高血糖素, 增加萎缩肠黏膜中谷氨酰胺酶活性, 改善肠黏膜组织结构; SAP极易发展成为MODS, 而谷氨酰胺等可有效地升高血浆还原型谷胱甘肽浓度, 减少氧自由基的产生, 减轻氧自由基对机体的损害, 同时能显著降低SAP某些炎症介质和细胞因子释放, 从而减轻机体的炎症反应, 减轻组织损伤。

荟萃分析作为一种观察性的研究, 有一定的局限性。本系统评价有如下局限性: (1)纳入的各文献研究病例数, 样本量较少, 导致总的样本量不足, 这可能影响试验的结果; (2)纳入文献有一定的异质性, 这会影响试验结果; (3)各纳入研究的AP或者重症胰腺炎应用肠外营养的指征不同, 从而影响试验结果; (4)纳入人群的不同, 影响试

验结果; (5)纳入文献的肠外营养制剂的配比和剂量不同也可能影响试验结果。

总之, AP的肠外营养治疗中, 使用肠外免疫营养制剂能明显降低相关并发症, 并改善预后, 值得临床推广。但仍需大样本、多中心、前瞻性随机对照研究来进一步验证肠外免疫营养制剂在肠外营养中的优点。

### 4 参考文献

- 1 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组. 中国急性胰腺炎诊治指南(草案). 中华内科杂志 2004; 43: 236-238
- 2 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组. 中国急性胰腺炎诊治指南(2013, 上海). 中华胰腺病杂志 2013; 13: 73-78
- 3 Bank S, Singh P, Pooran N, Stark B. Evaluation of factors that have reduced mortality from acute pancreatitis over the past 20 years. *J Clin Gastroenterol* 2002; 35: 50-60 [PMID: 12080227 DOI: 10.1097/00004836-200207000-00012]
- 4 Banks PA, Bollen TL, Dervenis C, Gooszen HG, Johnson CD, Sarr MG, Tsiotos GG, Vege SS. Classification of acute pancreatitis--2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus. *Gut* 2013; 62: 102-111 [PMID: 23100216 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-302779]
- 5 Ong JP, Fock KM. Nutritional support in acute pancreatitis. *J Dig Dis* 2012; 13: 445-452 [PMID: 22908969 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2012.00611.x]
- 6 Meier RF, Beglinger C. Nutrition in pancreatic diseases. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2006; 20: 507-529 [PMID: 16782526 DOI: 10.1016/j.bpg.2006.01.004]
- 7 Marik PE. What is the best way to feed patients with pancreatitis? *Curr Opin Crit Care* 2009; 15: 131-138 [PMID: 19300086 DOI: 10.1097/MCC.0b013e328319910a]
- 8 Thomson A, Subramaniam K, Davies A. Nutritional therapy in acute pancreatitis--time to take stock. *Nutrition* 2012; 28: 731-732 [PMID: 22516372 DOI: 10.1016/j.nut.2011.12.011]
- 9 Mirtallo JM, Forbes A, McClave SA, Jensen GL, Waitzberg DL, Davies AR. International consensus guidelines for nutrition therapy in pancreatitis. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2012; 36: 284-291 [PMID: 22457421 DOI: 10.1177/0148607112440823]
- 10 Gianotti L, Meier R, Lobo DN, Bassi C, Dejong CH, Ockenga J, Irtun O, MacFie J. ESPEN Guidelines on Parenteral Nutrition: pancreas. *Clin Nutr* 2009; 28: 428-435 [PMID: 19464771 DOI: 10.1016/j.clnu.2009.04.003]
- 11 Zhao G, Wang CY, Wang F, Xiong JX. Clinical study on nutrition support in patients with severe acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2105-2108 [PMID: 12970916]
- 12 Souba WW. Glutamine: a key substrate for the splanchnic bed. *Annu Rev Nutr* 1991; 11: 285-308 [PMID: 1892702 DOI: 10.1146/annurev.nu.11.070191.001441]
- 13 Fürst P, Pogan K, Stehle P. Glutamine dipeptides in clinical nutrition. *Nutrition* 1997; 13: 731-737 [PMID: 9263278 DOI: 10.1016/S0899-9007(97)83035-3]
- 14 Tremel H, Kienle B, Weilemann LS, Stehle P, Fürst P. Glutamine dipeptide-supplemented parenteral



- nutrition maintains intestinal function in the critically ill. *Gastroenterology* 1994; 107: 1595-1601 [PMID: 7958669]
- 15 Roth E. [Amino acid and protein metabolism in critically ill patients]. *Infusionsther Klin Ernahr* 1985; 12: 270-280 [PMID: 3937809]
- 16 Martin JM, Stapleton RD. Omega-3 fatty acids in critical illness. *Nutr Rev* 2010; 68: 531-541 [PMID: 20796218 DOI: 10.1111/j.1753-4887.2010.00313.x]
- 17 Fetterman JW, Zdanowicz MM. Therapeutic potential of n-3 polyunsaturated fatty acids in disease. *Am J Health Syst Pharm* 2009; 66: 1169-1179 [PMID: 19535655 DOI: 10.2146/ajhp080411]
- 18 Jafari T, Fallah AA, Azadbakht L. Role of dietary n-3 polyunsaturated fatty acids in type 2 diabetes: a review of epidemiological and clinical studies. *Maturitas* 2013; 74: 303-308 [PMID: 23384976 DOI: 10.1016/j.maturitas.2013.01.008]
- 19 Pradelli L, Mayer K, Muscaritoli M, Heller AR. n-3 fatty acid-enriched parenteral nutrition regimens in elective surgical and ICU patients: a meta-analysis. *Crit Care* 2012; 16: R184 [PMID: 23036226 DOI: 10.1186/cc11668]
- 20 Bollhalder L, Pfeil AM, Tomonaga Y, Schwenglenks M. A systematic literature review and meta-analysis of randomized clinical trials of parenteral glutamine supplementation. *Clin Nutr* 2013; 32: 213-223 [PMID: 23196117 DOI: 10.1016/j.clnu.2012.11.003]
- 21 张燕舞, 蒋朱明, 王杨, 张玢, 胡铁军. 与转化医学有关的临床研究质量及研究报告质量的评价工具. *中华临床营养杂志* 2011; 19: 1-6
- 22 Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *Int J Surg* 2010; 8: 336-341 [PMID: 20171303 DOI: 10.1016/j.ijsu.2010.02.007]
- 23 de Beaux AC, O'Riordain MG, Ross JA, Jodozi L, Carter DC, Fearon KC. Glutamine-supplemented total parenteral nutrition reduces blood mononuclear cell interleukin-8 release in severe acute pancreatitis. *Nutrition* 1998; 14: 261-265 [PMID: 9583368 DOI: 10.1016/S0899-9007(97)00477-2]
- 24 Ockenga J, Borchert K, Rifai K, Manns MP, Bischoff SC. Effect of glutamine-enriched total parenteral nutrition in patients with acute pancreatitis. *Clin Nutr* 2002; 21: 409-416 [PMID: 12381339 DOI: 10.1054/clnu.2002.0569]
- 25 He XL, Ma QJ, Lu JG, Chu YK, Du XL. Effect of total parenteral nutrition (TPN) with and without glutamine dipeptide supplementation on outcome in severe acute pancreatitis (SAP). *Clin Nutr* 2004; 1: 43-47 [DOI: 10.1016/j.clnu.2004.07.011]
- 26 Sahin H, Mercanligil SM, Inanç N, Ok E. Effects of glutamine-enriched total parenteral nutrition on acute pancreatitis. *Eur J Clin Nutr* 2007; 61: 1429-1434 [PMID: 17311061 DOI: 10.1038/sj.ejcn.1602664]
- 27 Fuentes-Orozco C, Cervantes-Guevara G, Muciño-Hernández I, López-Ortega A, Ambriz-González G, Gutiérrez-de-la-Rosa JL, Gómez-Herrera E, Hermosillo-Sandoval JM, González-Ojeda A. L-alanyl-L-glutamine-supplemented parenteral nutrition decreases infectious morbidity rate in patients with severe acute pancreatitis. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2008; 32: 403-411 [PMID: 18596311 DOI: 10.1177/0148607108319797]
- 28 Wang X, Li W, Zhang F, Pan L, Li N, Li J. Fish oil-supplemented parenteral nutrition in severe acute pancreatitis patients and effects on immune function and infectious risk: a randomized controlled trial. *Inflammation* 2009; 32: 304-309 [PMID: 19568921 DOI: 10.1007/s10753-009-9136-0]
- 29 Wang X, Li W, Li N, Li J. Omega-3 fatty acids-supplemented parenteral nutrition decreases hyperinflammatory response and attenuates systemic disease sequelae in severe acute pancreatitis: a randomized and controlled study. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2008; 32: 236-241 [PMID: 18443134 DOI: 10.1177/0148607108316189]
- 30 Palmer AJ, Ho CK, Ajibola O, Avenell A. The role of  $\omega$ -3 fatty acid supplemented parenteral nutrition in critical illness in adults: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care Med* 2013; 41: 307-316 [PMID: 23128380 DOI: 10.1097/CCM.0b013e3182657578]
- 31 Wirtitsch M, Wessner B, Spittler A, Roth E, Volk T, Bachmann L, Hiesmayr M. Effect of different lipid emulsions on the immunological function in humans: a systematic review with meta-analysis. *Clin Nutr* 2007; 26: 302-313 [PMID: 17449147 DOI: 10.1016/j.clnu.2007.02.001]
- 32 De Caterina R, Liao JK, Libby P. Fatty acid modulation of endothelial activation. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 213S-223S [PMID: 10617974]
- 33 Avenell A. Glutamine in critical care: current evidence from systematic reviews. *Proc Nutr Soc* 2006; 65: 236-241 [PMID: 16923308 DOI: 10.1079/PNS2006498]

## 同行评价

本文应用系统评价的方法就说明了AP的免疫营养制剂的使用在治疗AP中的作用, 结果可信, 具备相应的科学性、创新性, 有实际指导意义。

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



# 胰十二指肠切除术后并发乳糜瘘的诊治体会

曹学峰, 管清海, 王西秀, 林绪涛, 欧琨

## ■背景资料

胰十二指肠切除术(pancreaticoduodenectomy, PD)是目前治疗胰头癌、壶腹癌及胆总管下段癌最有效的方法。该手术后极易出现多种严重并发症。目前对于PD术后并发症的研究多集中于出血、胰瘘、胆瘘、胃排空障碍等, 对于PD术后并发乳糜瘘的研究较少。

曹学峰, 管清海, 王西秀, 林绪涛, 欧琨, 滨州医学院附属医院肝胆外科 滨州医学院附属医院临床营养支持中心 山东省滨州市 256603

曹学峰, 主治医师, 主要从事肝胆胰外科疾病的临床研究。

作者贡献分布: 本文主要由曹学峰收集患者临床资料并总结、书写完成; 管清海、王西秀、林绪涛及欧琨协助完成; 文章的修改由曹学峰与管清海完成; 患者手术主要由曹学峰、管清海、林绪涛及欧琨参与完成。

通讯作者: 管清海, 副主任医师, 256603, 山东省滨州市黄河二路661号, 滨州医学院附属医院肝胆外科, 滨州医学院附属医院临床营养支持中心。gqh1975@126.com。

电话: 0543-3258597

收稿日期: 2014-08-08 修回日期: 2014-08-25

接受日期: 2014-09-03 在线出版日期: 2014-10-28

## Diagnosis and treatment of chylous fistula after pancreaticoduodenectomy

Xue-Feng Cao, Qing-Hai Guan, Xi-Xiu Wang, Xu-Tao Lin, Kun Ou

Xue-Feng Cao, Qing-Hai Guan, Xi-Xiu Wang, Xu-Tao Lin, Kun Ou, Department of Hepatobiliary Surgery & Clinical Nutrition Center, the Affiliated Hospital of Binzhou Medical University, Binzhou 256603, Shandong Province, China

Correspondence to: Qing-Hai Guan, Associate Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery & Clinical Nutrition Center, the Affiliated Hospital of Binzhou Medical University, 661 Huanghe Second Road, Binzhou 256600, Shandong Province, China. gqh1975@126.com

Received: 2014-08-08 Revised: 2014-08-25

Accepted: 2014-09-03 Published online: 2014-10-28

## Abstract

**AIM:** To summarize our experiences in the diagnosis and treatment of chylous fistula after pancreaticoduodenectomy (PD).

**METHODS:** The clinical data for patients with chylous fistula after PD treated from January 2012 to June 2014 at our hospital were analyzed retrospectively. The causes, diagnosis, localization, prevention and treatment of chylous fistula after PD were explored.

**RESULTS:** The incidence of chylous fistula after PD was 3.85%, the causes of chylous fistula after PD might include preoperative malnutrition, intraoperative lymph node dissection and postoperative early enteral nutrition. Pa-

tients with chylous fistula after PD were cured by fasting, abdominal cavity drainage, adjustment of enteral and parenteral nutritional support structure and intravenous octreotide treatment.

**CONCLUSION:** Multiple factors might cause chylous fistula after PD, and it is of important clinical significance to understand the causes, preventive measures, treatment principles and methods.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** PD; Chylous fistula; Postoperative complications

Cao XF, Guan QH, Wang XX, Lin XT, Ou K. Diagnosis and treatment of chylous fistula after pancreaticoduodenectomy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(30): 4654-4657 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4654.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4654>

## 摘要

**目的:** 探讨胰十二指肠切除术(pancreaticoduodenectomy, PD)后并发乳糜瘘的诊断与治疗。

**方法:** 将滨州医学院附属医院肝胆外科2012-01/2014-06行胰十二指肠切除术并发乳糜瘘的患者临床资料进行回顾性分析, 分析探讨PD术后并发乳糜瘘的原因、诊断与定位、预防与治疗。

**结果:** 滨州医学院附属医院PD术后并发乳糜瘘发生率约为3.85%, PD术后乳糜瘘的发生与术前营养不良、术中淋巴结清扫及术后早期肠内营养可能有关, PD术后并发乳糜瘘患者经禁饮食、腹腔通畅引流、调整肠内外营养支持结构及静脉应用奥曲肽治疗后均瘘口愈合、痊愈出院。

**结论:** PD术后并发乳糜瘘有多方面的原因, 提高对PD术后并发乳糜瘘的认识、熟悉PD术后并发乳糜瘘的原因及预防措施、掌握PD术

## ■同行评议者

刘宝林, 教授, 中国医科大学附属医院盛京医院

后并发乳糜瘘的处理原则及方法具有重要临床意义。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 胰十二指肠切除术; 乳糜瘘; 术后并发症

**核心提示:** 胰十二指肠切除术(pancreaticoduodenectomy, PD)术后乳糜瘘的发生与术前营养不良、术中淋巴结清扫及术后早期肠内营养可能有关, PD术后并发乳糜瘘患者经禁饮食、腹腔通畅引流、调整肠内外营养支持结构及静脉应用奥曲肽等保守治疗后大多可治愈, 而对于保守治疗无效者可选择手术治疗。

曹学峰, 管清海, 王西秀, 林绪涛, 欧琨. 胰十二指肠切除术后并发乳糜瘘的诊治体会. 世界华人消化杂志 2014; 22(30): 4654-4657 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4654.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i30.4654>

## 0 引言

胰十二指肠切除术(pancreaticoduodenectomy, PD)是治疗胰头癌、壶腹癌及胆总管下段癌最有效的方法, 对于邻近脏器癌肿如胆囊癌、胃窦癌等肿瘤侵犯胰头部时也可实施PD术, 该手术切除范围大、难度高、持续时间长、术中出血多, 是腹部外科中最为复杂的手术之一, 且术后极易出现多种严重并发症。目前对于PD术后并发症的研究多集中于出血、胰瘘、胆瘘、胃排空障碍等, 对于PD术后并发乳糜瘘的报道及研究较少。本文通过对山东省滨州医学院附属医院肝胆外科肝胆外科2012-01/2014-06行PD并发乳糜瘘的患者临床资料进行回顾性分析, 将PD术后并发乳糜瘘的原因、诊断与定位、预防与治疗总结如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 滨州医学院附属医院肝胆外科2012-01/2014-06共行胰十二指肠切除术78例, 其中男32例, 女46例, 年龄跨度为26-74岁, 平均年龄51岁±8岁。术后病理诊断分别为胆管癌(下段)41例、胰头癌23例、壶腹部癌8例、十二指肠癌4例、胆囊癌1例、胆囊癌并十二指肠癌1例。该78例患者术前均有梗阻性黄疸病史。手术均行PD+空肠造口术, 在常规whipple基础上进行规范化区域淋巴结清扫, 重点清扫肝十二指肠韧带内淋巴结(12a、12b、12p)、肝动脉旁淋巴结(第8组)、腹腔动脉旁淋巴结(第9组)、肠系膜

根部淋巴结(第14组)以及腹主动脉旁淋巴结(第16组)(淋巴结清扫后改变如图1)。术中放置26 Fr双腔腹腔引流管, 在空肠上段放置flocar穿刺营养管。术后早期(24 h内)即开始进行肠内营养支持, 根据患者肠内营养耐受情况将肠内营养剂量和浓度逐日增加。肠外营养制剂由本院营养科根据患者的体质量、营养状况等条件专门配置, 肠外营养液由葡萄糖、氨基酸、长链脂肪乳(英脱利匹特)、电解质、微量元素等混合制成。78例患者术后病理检查均证实肿瘤有淋巴结转移。

**1.2 方法** 78例患者中术后有3例患者证实为PD术后并发乳糜瘘。该3例患者均予以行双腔腹腔引流管的持续冲洗引流(0.9%生理盐水500 mL tid), 保持引流管引流通畅, 预防乳糜瘘基础上并发腹腔感染。嘱患者禁饮食, 2例患者进行完全肠内营养, 肠内营养制剂应用脂质含量低、中链甘油三酯(medium chain triglycerides, MCT)含量相对较高的瑞先(华瑞制药)。1例患者进行完全肠外营养治疗, 肠外营养制剂仍由本院营养科配置, 营养液成分中将30%长链脂肪乳更换为20%中长链脂肪乳(力能), 其余成分不变。3例患者均同时经静脉持续泵入奥曲肽(0.1 mg Q8h)。

## 2 结果

滨州医学院附属医院肝胆外科PD术后并发乳糜瘘的发生率约为3.85%(3/78), 引流液性状如图2, 3例患者经保守治疗后均瘘口愈合, 痊愈出院。出院后6 mo随访均无腹胀、腹痛等不适。

## 3 讨论

乳糜瘘是一种罕见的且较难处理的临床症状。常见原因有寄生虫病、外伤、布-加氏综合征及恶性肿瘤等, 通过对淋巴管的阻塞或压迫造成乳糜性腹水。乳糜瘘也可发生于手术后(14.98%), 多见于胃癌根治术中腹腔淋巴结清扫、肝硬化门脉高压症的门体分流术、腹主动脉瘤修补术及肝移植术等。PD后乳糜瘘的发生率约为1.3%-6.7%<sup>[1-3]</sup>, 一般多于术后3-5 d发生。乳糜瘘的发生可以使含有大量脂蛋白和电解质的淋巴液丢失, 引起严重的营养不良和水电解质紊乱, 且乳糜瘘后容易导致患者机体免疫防御功能下降, 增加机体感染发生率<sup>[4]</sup>, 可进一步导致患者住院时间延长、住院费用增加。因此, 探讨PD术后并发乳糜瘘的原因、预防措施、治疗原则等有重要的临床意义。

## ■研究前沿

目前国内外对于PD中规范化区域淋巴结清扫重要性的认识增强, 术后并发乳糜瘘的发生率增高, 探讨PD术后并发乳糜瘘的原因、防治措施极为重要。

## ■相关报道

纪荣明等对腹部手术导致乳糜瘘的解剖基础研究有助于预防术中对于淋巴管的损伤。



### ■创新盘点

本文通过对滨州医学院附属医院PD后并发乳糜瘘的患者临床资料进行回顾性分析,查阅国内外相关文献,系统阐述了PD后并发乳糜瘘的原因、诊断、定位与治疗措施。

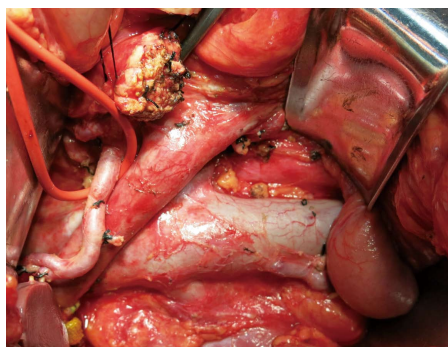


图1 清扫淋巴结后改变。

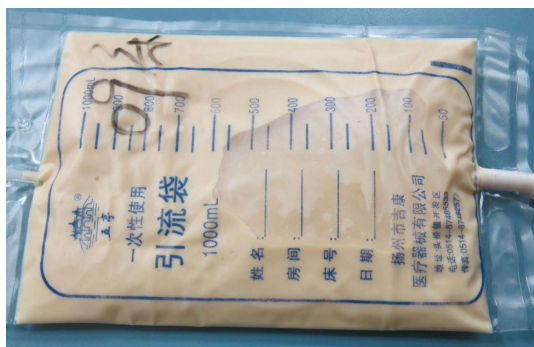


图2 术后引流液性状。

**3.1 原因分析** PD术后乳糜瘘多因为术中损伤或清扫淋巴结时未处理好淋巴管或处理好的淋巴管因回流受阻等原因再次开放,导致淋巴液外漏而形成。基础解剖研究<sup>[5]</sup>证实,在多数情况下,腹腔淋巴结及肠系膜上淋巴结的输出管在降主动脉的左侧、肠系膜下静脉的内侧、左肾动脉的上方和腹腔干的下方区域内汇合成肠淋巴干。在右肾动脉的下方也发现较大淋巴管,末端多数与腹膜后淋巴结和肠系膜下淋巴结相连,终端常与右腰干汇合成共干。解剖观察腹腔淋巴结的输出管结果提示:PD术中清扫淋巴结,尤其是清扫第9组、第13组、第14组、第16a2、16b1组淋巴结过程中易损伤淋巴管致淋巴液漏出。该3例患者手术中均彻底清扫上述几组淋巴结,部分血管周围达到骨骼化,术后易出现乳糜瘘。

另有研究<sup>[6]</sup>证实,禁饮食状态下腹腔淋巴流量约为0.93 mL/min,而进食后淋巴管淋巴流量将会骤增为225 mL/min,早期肠内营养由于增加了淋巴管的流量和压力,也可导致已经闭合的小淋巴管重新开放导致乳糜瘘<sup>[7]</sup>。因此,早期肠内营养虽可改善患者一般状况,提高患者机体免疫力,维持肠屏障功能等优点,但有增加术后出现乳糜瘘的风险。

此外,行PD术患者术前多有梗阻性黄疸等

临床症状,合并有不同程度的贫血、低蛋白血症等,术后机体愈合能力差,加之淋巴液不具备血液凝固机制,故术后易出现乳糜瘘。术中操作大量使用电刀、结扎或缝扎次数减少、腹腔内感染等因素,也是术后乳糜瘘发生的原因。

**3.2 诊断与定位** 乳糜瘘后腹腔引流液多呈乳白色,个别呈黄白色或浑浊乳白色。进食后,尤其是进食脂质食物后引流量可明显增加。Kaas等<sup>[8]</sup>提出乳糜腹水诊断标准为:乳白色、静置后分出乳酪样层、无臭味、碱性、比重大于1.012、脂质含量0.4%-4.0%、固体物>4%、总蛋白>30 g/L、甘油三酯含量>110 g/dL、无菌、苏丹红染色镜检可见脂肪球,另外需排除腹腔内感染及消化道瘘。结合患者病史、实验室检查,诊断PD后乳糜瘘并不困难。但需注意的是,早期乳糜液的颜色多不典型,可呈淡红色、淡黄色、橘黄色甚至灰黄色。

由于淋巴结内皮细胞可吞噬放射性胶体颗粒,且胶体颗粒不易透过毛细血管而仅滞留于淋巴系统,因此对于乳糜瘘的定位可以应用<sup>99</sup>Tc-硫化锑胶体颗粒进行放射性核素淋巴显像检查<sup>[9]</sup>。淋巴管造影<sup>[9]</sup>不仅能定位乳糜瘘,也能治疗乳糜瘘,因为造影剂具有泛影葡胺的特性,有助于乳糜瘘的愈合,但该方法为有创检查,并发症多,临床使用应慎重。另外,手术治疗乳糜瘘时,牛奶试验可定位乳糜瘘发生部位<sup>[10]</sup>。腹腔镜探查也是诊断与定位乳糜瘘的方法之一<sup>[11]</sup>。

**3.3 预防与治疗** PD手术中预防乳糜瘘的关键是熟悉淋巴系统解剖,尤其是变异情况。尽可能避免术中损伤淋巴管及淋巴网。清扫腹膜后脂肪组织和淋巴结时,特别在血管骨骼化时,无明显出血的淋巴组织也应逐一结扎。清扫术野,止血的同时应注意有无乳白色液体渗出。另外,已有研究证实运用超声刀切割止血及清扫淋巴结在胃肠外科中能减少出血及乳糜瘘的发生<sup>[12]</sup>。

PD术后乳糜瘘的治疗可分为保守治疗和手术治疗,通常首选保守治疗<sup>[13]</sup>,约85%患者可获得治愈,保守治疗的措施可包括:(1)腹腔通畅引流:保持腹腔引流管的通畅引流对于瘘口的愈合和腹腔感染的预防至关重要<sup>[14]</sup>。本3例患者均采用双腔腹腔引流管的持续滴注并非负压引流,有利于稀释毒素、预防感染。(2)禁饮食:禁饮食状态下人体淋巴液的流量为0.93 mL/min,而餐后会骤增为225 mL/min<sup>[6]</sup>,禁饮食可以使胃肠道得到充分休息,大大减少淋巴液的产生,有利于减轻淋巴瘘口张力,缩短瘘口闭合时间,如前所述,

### ■应用要点

PD后并发乳糜瘘的发生可以使含有大量脂蛋白和电解质的淋巴液丢失,引起严重的营养不良和水电解质紊乱,且乳糜瘘后容易导致患者机体免疫防御功能下降,增加机体感染发生率,进一步导致患者住院时间延长、住院费用增加。因此,探讨PD术后并发乳糜瘘的原因、预防措施、治疗原则等有重要的临床意义。

早期肠内营养虽能降低肠道菌群异位的风险, 但会使机体淋巴液流量增加, 临床进行早期肠内营养的同时需权衡利弊; (3)低脂、高热量补给: 无论是肠内营养支持患者还是肠外营养支持患者均需遵循低脂、高热量补给原则. 肠内营养制剂可选择为脂质含量较低、中链脂肪酸含量相对较高的瑞高或瑞先(均为华瑞制药); 肠外营养中脂肪乳制剂应首先选用中链脂肪酸, 因为长链甘油三酯主要通过胃肠道淋巴管吸收运输, 他与乳糜液的形成有关. 而中短链脂肪酸则经肠吸收后直接弥散入门静脉系统, 氧化快, 且不需肉毒碱就能进入线粒体, 但中链脂肪酸不是必需脂肪酸, 所以在乳糜瘘发生时可应用中链脂肪酸, 既满足机体能量需要, 又保证了必需脂肪酸的需要; (4)奥曲肽的应用: 奥曲肽为人工合成的八肽化合物, 他通过抑制内脏分泌血管扩张激素, 减少胃肠道血流, 与肠壁的生长抑素受体结合, 可以减少脂肪吸收, 还可抑制多种胃肠道激素的释放, 减少肠道吸收, 所以奥曲肽可以减少肠道淋巴液的生成, 有助于乳糜瘘的愈合<sup>[1,15]</sup>; (5)泛影葡胺冲洗: 泛影葡胺可作为硬化剂直接堵塞淋巴管, 作为高渗液可导致组织脱水, 减轻水肿, 有利于淋巴管闭合; 另外, 泛影葡胺冲洗也可以在局部形成无菌性炎症, 促进组织粘连, 提高局部组织养分, 促进局部代谢, 增加创面毛细血管及上皮组织再生, 加速创面愈合<sup>[16]</sup>.

对于PD术后弥漫性乳糜腹水、诊断并定位明确、或合并感染者、经保守治疗无效者, 可选择手术治疗. 术中可应用牛奶试验<sup>[10]</sup>或空肠内注射脂肪乳剂寻找瘘口位置, 手术方式可选择为瘘口结扎修补、OB胶黏堵等术式, 术中同样需放置引流, 术后继续采取禁饮食、调整肠内外营养支持结构等治疗措施促进瘘口愈合.

总之, PD术后并发乳糜瘘有多方面的原因, 他的发生与其他消化道瘘一样, 可以影响患者术后恢复, 给患者带来经济及心理负担. 因此提高对PD术后并发乳糜瘘的认识、熟悉PD术后并发乳糜瘘的原因及预防措施、掌握PD术后并发乳糜瘘的处理原则及方法具有重要的临床意义.

#### 4 参考文献

- 1 Zhou DX, Zhou HB, Wang Q, Zou SS, Wang H, Hu HP. The effectiveness of the treatment of octreotide on chylous ascites after liver cirrhosis. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 1783-1788 [PMID: 19051030 DOI: 10.1007/s10620-008-0566-6]
- 2 王秀茹. 乳糜腹水247例国内外文献分析. *临床消化病杂志* 2009; 21: 41-43
- 3 Assumpcao L, Cameron JL, Wolfgang CL, Edil B, Choti MA, Herman JM, Geschwind JF, Hong K, Georgiades C, Schulick RD, Pawlik TM. Incidence and management of chyle leaks following pancreatic resection: a high volume single-center institutional experience. *J Gastrointest Surg* 2008; 12: 1915-1923 [PMID: 18685899 DOI: 10.1007/s11605-008-0619-3]
- 4 Breaux JR, Marks C. Chylothorax causing reversible T-cell depletion. *J Trauma* 1988; 28: 705-707 [PMID: 3259269 DOI: 10.1097/00005373-198805000-00029]
- 5 纪荣明, 蒋尔鹏, 申晓军, 熊绍虎, 林宁, 刘芳, 李玉泉, 刘艳春, 马立业. 腹部手术致乳糜漏解剖学基础的研究. *中华外科杂志* 2004; 42: 857-860
- 6 全竹富, 鲍扬, 倪小冬, 李维勤, 罗开. 肠内营养支持在腹部手术后乳糜腹水治疗中的应用. *肠外与肠内营养* 2000; 7: 128-130
- 7 迟达超, 吴涛, 龙延滨, 陈熹. 胃肠癌根治术后乳糜瘘的原因与防治. *现代肿瘤医学* 2010; 18: 2260-2261
- 8 Kaas R, Rustman LD, Zoetmulder FA. Chylous ascites after oncological abdominal surgery: incidence and treatment. *Eur J Surg Oncol* 2001; 27: 187-189 [PMID: 11289756 DOI: 10.1053/ejso.2000.1088]
- 9 陈黎波, 李方, 张少华, 杨梅芳. 核素淋巴显像诊断乳糜胸腹水. *中国医学影像学杂志* 2002; 10: 85-87
- 10 张松柏, 张浩. 牛奶试验用于检测Whipple术中淋巴漏. *中华普通外科杂志* 2008; 23: 630-631
- 11 黄书亮, 孙国斌, 邹晓平. 乳糜腹水18例临床分析. *中原医刊* 1998; 25: 14-15
- 12 胡建昆, 张波, 陈心足, 杨昆, 陈志新, 陈佳平. 新型超声刀在胃癌根治术中的运用及技巧. *中国普外基础与临床杂志* 2008; 15: 718-721
- 13 Senyüz OF, Sentürk H, Taşçi H, Kaya G, Ozbay G, Sariyar M. Chylous ascites after liver transplantation with mesentero-portal jump graft. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2001; 8: 571-572 [PMID: 11956910]
- 14 罗志勇, 严律南, 田伯乐. 胰十二指肠切除术后并发乳糜腹及感染1例报告. *中国普外基础与临床杂志* 2001; 8: F004
- 15 Bhatia C, Pratap U, Slavik Z. Octreotide therapy: a new horizon in treatment of iatrogenic chyloperitoneum. *Arch Dis Child* 2001; 85: 234-235 [PMID: 11517107 DOI: 10.1136/adc.85.3.234]
- 16 Alejandro-Lafont E, Krompiec C, Rau WS, Krombach GA. Effectiveness of therapeutic lymphography on lymphatic leakage. *Acta Radiol* 2011; 52: 305-311 [PMID: 21498367 DOI: 10.1258/ar.2010.090356]

#### ■同行评价

本文通过对PD后并发乳糜瘘患者的临床资料进行回顾性分析, 结合国内外文献进行综述, 选题新颖, 思路清晰, 研究方法科学严谨, 具有重要的临床指导意义.

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



# 临床路径护理在内镜逆行胰胆管造影和内镜下十二指肠乳头括约肌切开手术中的应用效果

韩鸿雁

## ■背景资料

肝外胆结石为普外科常见疾病,内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)及内镜下十二指肠乳头括约肌切开取石术(endoscopic sphincterotomy, EST)为治疗该病常用手术,良好的手术治疗效果离不开细致的护理配合,临床路径护理(clinical nursing path, CNP)为一种先进护理模式,本文探讨了该护理模式在ERCP和EST中的应用效果。

韩鸿雁, 锡林郭勒职业学院医学院 内蒙古自治区锡林郭勒盟锡林浩特市 027300

韩鸿雁, 讲师, 主要从事护理教育的研究。

作者贡献分布: 本文由韩鸿雁写作完成。

通讯作者: 韩鸿雁, 讲师, 027300, 内蒙古自治区锡林郭勒盟锡林浩特市明安图街11号, 锡林郭勒职业学院医学院。

275725758@qq.com

电话: 0479-8269414

收稿日期: 2014-07-22 修回日期: 2014-09-05

接受日期: 2014-09-15 在线出版日期: 2014-10-28

## Clinical effectiveness of clinical nursing pathway for patients treated by endoscopic retrograde cholangiopancreatography and endoscopic sphincterotomy

Hong-Yan Han

Hong-Yan Han, Medical School, Xilinguole Vocation College, Xilinguole Meng, Xilinhaote 027300, Inner Mongolia Autonomous Region, China

Correspondence to: Hong-Yan Han, Lecturer, Medical School, Xilinguole Vocation College, 11 Minggatu Street, Xilinguole Meng, Xilinhaote 027300, Inner Mongolia Autonomous Region, China. 275725758@qq.com

Received: 2014-07-22 Revised: 2014-09-05

Accepted: 2014-09-15 Published online: 2014-10-28

## Abstract

**AIM:** To analyze the clinical effectiveness of clinical nursing pathway (CNP) for patients treated by endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) and endoscopic sphincterotomy (EST).

**METHODS:** Seventy-eight patients with extrahepatic gallstones at our hospital from September 2010 to August 2011 comprised a control group, and 98 patients with extrahepatic gallstones treated at our hospital from September 2011 to August 2011 comprised a treatment group. All patients received routine care, and the treatment group received CNP on the basis of routine care. Clinical effectiveness was observed and compared between the two groups.

## ■同行评议者

崔立红, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 中国人民解放军海军总医院消化内科

**RESULTS:** The hospitalization duration, hospital costs and incidence of postoperative complications in treatment group were significantly lower than those in the control group ( $P < 0.05$ ). The rates of health knowledge awareness and satisfaction to care quality in treatment group were significantly higher than those in the control group (95.9% vs 87.2%, 96.9% vs 87.2%,  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** CNP is effective for patients treated by ERCP and EST.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Endoscopic retrograde cholangiopancreatography; Endoscopic sphincterotomy; Clinical nursing pathway; Clinical effectiveness

Han HY. Clinical effectiveness of clinical nursing pathway for patients treated by endoscopic retrograde cholangiopancreatography and endoscopic sphincterotomy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(30): 4658-4662 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4658.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4658>

## 摘要

**目的:** 研究临床路径护理(clinical nursing path, CNP)在内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangio pancreatography, ERCP)和内镜下十二指肠乳头括约肌切开手术(endoscopic sphincterotomy, EST)中的应用效果。

**方法:** 选取2010-09/2011-08锡林郭勒职业学院医学院附属医院收治的患者78例作为对照组, 2011-09/2012-08锡林郭勒职业学院医学院附属医院收治的肝外胆结石患者98例作为观察组, 均给予常规护理, 而观察组患者再给予CNP, 观察护理效果。

**结果:** 观察组患者住院时间, 住院费用及术后相关并发症发生率均少于或低于对照组, 且差



并具有统计学意义( $P<0.05$ )。观察组患者健康知识掌握率及护理质量满意率分别为95.9%和96.9%,而对照组患者为87.2%和87.2%,观察组患者这两项指标均高于对照组,且差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。

**结论:** CNP在ERCP和EST中的应用效果满意,可降低患者术后并发症发生率,减少患者住院时间和住院费用,提高患者对健康知识掌握率及对护理质量满意率,并建议在临床治疗和护理中推广应用。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 内镜逆行胰胆管造影; 内镜下十二指肠乳头括约肌切开取石术; 临床路径护理; 效果比较

**核心提示:** 临床路径护理(clinical nursing path)在内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangio pancreatography)和内镜下十二指肠乳头括约肌切开手术(endoscopic sphincterotomy)中应用效果满意,可降低患者术后并发症发生率,减少患者住院时间和住院费用,提高患者对健康知识掌握率及对护理质量满意率。

韩鸿雁. 临床路径护理在内镜逆行胰胆管造影和内镜下十二指肠乳头括约肌切开手术中的应用效果. 世界华人消化杂志 2014; 22(30): 4658-4662 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4658.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i30.4658>

## 0 引言

肝外胆结石为普外科常见疾病,他可分为原发性和继发性两种,其中原发性为多数,主要指结石原发于胆管系统内,而且结石大多为胆色素结石或混合性结石,而继发性主要指胆囊内结石排到胆管,而且结石大多为胆固醇结石<sup>[1]</sup>。肝外胆结石患者主要表现为腹痛、高热及恶心呕吐,严重时甚至可危及生命,因此需对该病患者进行及时有效的治疗<sup>[2]</sup>。开腹手术为治疗肝外胆结石常用方法,虽然在一定程度上具有一定疗效,但不良反应也较多,如术后疼痛、切口感染等<sup>[3]</sup>。目前临床上多用微创手术治疗该病,其中内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangio-pancreatography, ERCP)及内镜下十二指肠乳头括约肌切开取石术(endoscopic sphincterotomy, EST)为常用微创手术,该方法具有创伤小、患者术后恢复快等优点<sup>[4]</sup>。在手术时,对患者进行护理支持和配合必不可少,临床路径

护理(clinical nursing path, CNP)为一种先进护理模式,护理人员可根据患者病情及治疗方案制定有效全面的治疗和护理方法,以保证患者得到最优护理服务及最快康复速度<sup>[5]</sup>。本文对本院收治的肝外胆结石患者给予ERCP和EST手术,并在治疗过程中给予CNP,且取得满意效果,现报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2010-09/2011-08锡林郭勒职业学院医学院附属医院收治的肝外胆结石患者78例作为对照组,而2011-09/2012-08月本院收治的肝外胆结石患者98例作为观察组,所有入选患者均经计算机断层扫描(computed tomography, CT)、B超及核磁检查确诊为肝外胆结石,无手术禁忌症。所有患者主要表现为腹痛,恶心呕吐及发热等,排除合并其他严重心、肺、肝及肾等疾病患者,病历资料不完全患者。其中对照组男43例,女35例,年龄21-73岁,平均年龄45.3岁±3.2岁,病程1 mo-13年;观察组患者男53例,女45例,年龄21-73岁,平均45.9岁±3.4岁,病程1 mo-13年。两组患者在家庭背景、病情及病程等方面均无统计学差异,具有可比性( $P>0.05$ )。

### 1.2 方法

**1.2.1 护理:** 两组患者均给予常规护理,如术前评估患者病情,严密监测患者各项生命体征,术中对手术进行配合,术后严密监测患者病情,进行必要的抗感染治疗等<sup>[6]</sup>。观察组患者在常规护理基础上再给予CNP,临床治疗小组(主治医师,各类护理人员)根据患者病情及治疗方案为患者制定详细、全面的临床护理路径表,并通过实践修正和改进护理路径表<sup>[7]</sup>,具体临床护理路径表如表1。

入院当天主治医师及护理人员需全面、详细评估患者病情,并制定初步治疗方案;护理人员协助患者及其家属办理入院手续,并向患者及其家属介绍医院及病房环境<sup>[8]</sup>;护理人员协助患者完成各项检查,包括血常规、尿常规及过敏试验等。

手术前主治医师和护理人员再次全面、详细评估患者病情;护理人员向患者及其家属讲解手术方法,手术中需注意事项等;护理人员对患者进行心理护理,患者在术前难免出现紧张、焦虑等不良情绪,护理人员可介绍成功案例,同时鼓励和支持患者,帮助其树立战胜疾病的信心<sup>[9]</sup>。

**■研发前沿**  
传统护理以基础、常规护理为主,强调批量、统一护理,而CNP可克服这些缺点。

**■相关报道**  
传统常规护理已在ERCP和EST中应用多年,既有优点,也有缺点。

## ■创新盘点

本文探索了可应用于ERCP和EST中先进护理模式,并为CNP的应用提供临床依据。

表 1 行ERCP和EST治疗是肝外胆结石患者临床护理路径表

时间	护理内容
入院当天	入院介绍,病情评估,相关检查,办理相关手续,对症治疗等
手术前护理	评估患者病情,向患者讲解手术相关过程,心理护理等
手术中护理	准备好手术相关器械,对患者进行心理护理等,预防术中突发事件等
手术后1 d护理	监测患者生命体征,常规基础护理,心理护理,相关检查,观察并记录并发症等
手术后3-5 d护理	基础护理,心理护理,饮食指导,并发症观察等
出院指导	制定康复计划、饮食计划,进行健康教育,办理相关手续等

表 2 两组患者相关指标比较 (mean ± SD)

分组	n	住院时间(d)	住院费用(元)
观察组	98	4.65 ± 1.2	8712.5 ± 329.5
对照组	78	5.98 ± 1.4	10325.9 ± 342.7
t值		4.361	6.983
P值		<0.05	<0.05

手术中护理人员需点清及准备好手术用品,熟练配合术者进行手术操作;严密监测患者各项生命体征,若有异常,及时处理;术后陪同患者返回病房,连接各种监护仪,保证输液管道通畅。

手术后,严密监测患者各项生命体征,观察术后并发症情况,若有异常,及时报告;对患者进行镇痛及抗感染治疗,观察患者反应及心理变化,及时进行心理干预,保证患者顺利康复。

手术后3-5 d继续严密监测患者各项生命体征并观察术后并发症情况;对患者进行必要的饮食指导,叮嘱患者多摄入高蛋白,低油脂食物。出院时护理人员协助患者及其家属办理各项出院手续;为患者制定全面、合理的康复计划和饮食计划,叮嘱患者合理安排作息时间,并对其进行健康教育。

1.2.2 效果评价: (1)统计和比较两组患者住院时间,住院费用及各类并发症发生率; (2)对比较两组患者对健康知识掌握情况,自行设计健康知识问卷调查表,调查内容包括疾病基本知识、手术知识、饮食知识、术后并发症处理知识等,若患者能答出80%表示为掌握,60%-80%表示为基本掌握,60%以下表示为未掌握,总掌握率 = (掌握+基本掌握)/总例数 × 100%; (3)对比两组患者对护理质量满意情况,自行设计护理质量评价表,评价内容包括技术水平、服务态度、工作态度等,若评价表中满意条目达80%则认为满意,满意条目60%-80%则认为一般,满意条

目60%以下则认为不满意,总满意率 = (满意+一般)/总例数 × 100%。

**统计学处理** 应用SPSS15.0进行数据统计与分析,计量资料采用t检验,计数资料采用 $\chi^2$ 检验,以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 两组患者相关指标比较 两组患者相关指标比较如表2。观察组患者住院时间,住院费用分别为4.65 d ± 1.2 d, 8712.5元 ± 329.5元;对照组患者住院时间,住院费用分别为5.98 d ± 1.4 d, 10325.9元 ± 342.7元。观察组住院时间和住院费用均少于对照组,且差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

2.2 两组患者术后并发症比较 两组患者术后并发症比较如表3。观察组发热、腹痛等并发症发生率低于对照组,且差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

2.3 两组患者健康知识掌握情况 两组患者健康知识掌握情况如表4。观察组掌握45例,基本掌握49例,总掌握率95.9%;对照组掌握31例,基本掌握37例,总掌握率87.2%。观察组总掌握率高于对照组,且差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

2.4 两组患者对护理质量满意情况 两组患者对护理质量满意情况如表5。观察组满意54例,一般41例,总满意率96.9%;对照组满意41例,一般27例,总满意率87.2%。观察组总满意率高于对照组,且差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

## 3 讨论

肝外胆结石为普外科常见疾病,患者主要临床表现为恶心呕吐、腹痛及高热等,而且严重时甚至可危及患者生命。手术治疗为肝外胆结石主要治疗方法,其中ERCP及EST为主要手术方法,临床实践已经证明该方法较传统开腹手术具有明显优点,如术后并发症少、患者痛苦小、治疗费用低及患者住院时间短等<sup>[10,11]</sup>。良好的手术治疗效

## ■应用要点

本文为CNP在ERCP和EST中的应用提供一定依据。

表 3 两组患者术后并发症比较  $n(\%)$ 

分组	$n$	发热	出血	腹痛	呕吐	黄疸
观察组	98	3(3.1)	2(2.0)	3(3.1)	2(2.0)	2(2.0)
对照组	78	8(10.2)	7(9.0)	9(11.5)	10(12.8)	8(10.2)
$\chi^2$ 值		3.837	4.303	4.913	7.944	5.470
$P$ 值		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

表 4 两组患者健康知识掌握情况比较

分组	$n$	掌握( $n$ )	基本掌握( $n$ )	未掌握( $n$ )	总掌握率(%)
观察组	98	45	49	4	95.9
对照组	78	31	37	10	87.2
$\chi^2$ 值				4.617	
$P$ 值				<0.05	

表 5 两组患者对护理质量满意情况比较

分组	$n$	满意( $n$ )	一般( $n$ )	不满意( $n$ )	总满意率(%)
观察组	98	54	41	3	96.9
对照组	78	41	27	10	87.2
$\chi^2$ 值				6.145	
$P$ 值				<0.05	

## ■名词解释

临床路径护理: 为一种先进护理模式, 护理人员可根据患者病情及治疗方案制定有效、全面的护理方法和护理方法, 以保证患者得到最优护理服务及最快康复速度。

果离不开细致的护理配合, 传统护理以基础、常规护理为主, 强调批量、统一护理, 虽然传统护理经多年临床实践证明效果满意, 但所暴露的缺点也较多<sup>[12]</sup>。随着我院医疗卫生事业的发展, 人们生活水平的提高, 患者对护理服务的要求也越来越高, 传统护理已不能完全满足患者需求<sup>[13]</sup>。CNP为一种先进护理方法, 患者入院后医生及护理人员根据患者病情和治疗方案为患者制定全面、细致的治疗护理方案, 并根据实际实施情况及患者病情不断调整, 最终达到患者最适治疗、护理需求。CNP为一种优质护理服务, 强调护患沟通, 护患交流, 不以医护人员作为治疗、护理主体, 将患者和医护人员共同作为治疗、护理主体, 这样既促进了患者的治疗, 也改善了医疗水平, 提高了护理质量<sup>[14]</sup>。CNP为一种个性化护理, 过去传统护理强调批量护理, 统一护理, 这虽然在护理工作安排, 协调上具有较高效率, 但这是牺牲患者实际感受换来的。而CNP有效<sup>①</sup>服了这一缺点, 他可根据患者实际情况实施个性化护理, 以患者作为出发点进行护理<sup>[15]</sup>。虽然CNP优点较多, 但也有一定缺点, 如这可能浪费有限的医疗、护理资源, 将有限的医疗、护理资源集中

到一点, 这可能对其他患者产生不公, 因此目前来看CNP也不宜在基层医院大规模开展。虽然该护理模式具有一定缺点, 但这种护理模式代表了未来护理发展方向, 在不远的将来可成为主流护理模式。

在本研究中我们对观察组患者又进行了CNP, 主要有详细评估患者病情, 协助患者入院, 帮助患者适应医院环境, 对患者进行护理干预、饮食指导等, 结果发现观察组患者住院时间, 住院费用及术后相关并发症发生率显著性低于对照组( $P<0.05$ )。而且观察组患者健康知识掌握率和对护理质量满意率高达95.9%和96.9%, 显著性高于对照组, 这些结果均可说明CNP效果优于传统常规护理。

总之, CNP在ERCP和EST中的应用效果满意, 可降低患者术后并发症发生率, 减少患者住院时间和住院费用, 提高患者对健康知识掌握率及对护理质量满意率, 并建议在临床治疗和护理中推广应用。

## 4 参考文献

- 1 Kayashima H, Ikegami T, Ueo H, Tsubokawa N,



## ■同行评价

本研究设计合理,方法可靠,对护理模式的探索有一定参考意义。

- 2 陈晓梅, 李明星, 罗志建, 张煜, 冯春红, 贺凯. 腹腔镜超声在腹腔镜胆总管探查术中的应用价值. 重庆医学 2014; 43: 281-282
- 3 贾淑芹, 福泉, 金山. 肝内胆管结石合并胆道感染的细菌谱. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3349-3353
- 4 Sahoo MR, Kumar AT, Patnaik A. Randomised study on single stage laparo-endoscopic rendezvous (intra-operative ERCP) procedure versus two stage approach (Pre-operative ERCP followed by laparoscopic cholecystectomy) for the management of cholelithiasis with choledocholithiasis. *J Minim Access Surg* 2014; 10: 139-143 [PMID: 25013330 DOI: 10.4103/0972-9941.134877]
- 5 顾艳茹, 单君, 丁敏, 强莹, 徐秀群. 单病种临床路径效果评价指标体系的初步构建. 护理进修杂志 2011; 26: 1080-1081
- 6 侯晓慧. ERCP和EST取石术治疗肝内胆管结石53例临床护理. 齐鲁护理杂志 2007; 13: 9-10
- 7 范莹. 临床路径护理管理模式在胆管结石患者ERCP EST术中应用的效果评价. 中国实用护理杂志 2014; 30: 34-35
- 8 赵秋月, 何赛琴, 颜信芬. 胆管结石ERCP EST取石术2320例的配合及护理. 实用医学杂志 2010; 26: 2452-2453
- 9 王瑞, 张宗霞, 骆欧, 张铭光. 肝硬化患者心理特征和心理护理的系统评价. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3037-3039
- 10 黄宏春, 王秀敏, 王永亮. ERCP和EST取石术治疗肝外胆管结石临床研究. 中华肝胆外科杂志 2010; 16: 34-35
- 11 邵东, 庄耘, 徐馥, 陈建平. 内镜下乳头小切开加球囊扩张术治疗胆总管大结石80例. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1057-1059
- 12 Lee JH, Kang DH, Park JH, Kim MD, Yoon KT, Choi CW, Kim HW, Cho M. Endoscopic removal of a bile-duct stone using sphincterotomy and a large-balloon dilator in a patient with situs inversus totalis. *Gut Liver* 2010; 4: 110-113 [PMID: 20479922 DOI: 10.5009/gnl.2010.4.1.110]
- 13 杨永, 杨连招, 莫新少, 陈似霞. 胆结石感染菌群与术后T型管护理的临床研究. 护士进修杂志 2012; 27: 297-298
- 14 蒋敏君, 石春风. 路径化健康教育在留置T管患者中的应用. 齐鲁护理杂志 2012; 18: 139-141
- 15 邵素娇. 腹腔镜胆囊切除术患者临床护理路径的研究. 中国实用护理杂志 2011; 27: 12-14

编辑 韦元涛 电编 闫晋利



# 早期肠内营养、服用多潘立酮、中药灌肠等综合干预措施对肝胆患者外科术后胃肠功能恢复的治疗方法及其效果

王成虎, 陈君

王成虎, 陈君, 水矿集团总医院外科 贵州省六盘水市 553000  
王成虎, 副主任医师, 主要从事肝胆外科的临床诊断及治疗研究。  
作者贡献分布: 此课题由王成虎设计; 研究过程由王成虎与陈君  
实施完成; 数据分析由王成虎与陈君完成; 本论文写作由王成虎  
与陈君共同完成。  
通讯作者: 王成虎, 副主任医师, 553000, 贵州省六盘水市钟山  
区水西路17号, 水矿集团总医院外科。  
wchwangchenghu@163.com  
收稿日期: 2014-08-16 修回日期: 2014-09-09  
接受日期: 2014-09-15 在线出版日期: 2014-10-28

## Comprehensive intervention to promote recovery of gastrointestinal function in patients after hepatobiliary surgery

Cheng-Hu Wang, Jun Chen

Cheng-Hu Wang, Jun Chen, Department of Surgery,  
Shuicheng Gold Mine Industry Group General Hospital,  
Liupanshui 553000, Guizhou Province, China  
Correspondence to: Cheng-Hu Wang, Associate Chief  
Physician, Department of Surgery, Shuicheng Gold Mine  
Industry Group General Hospital, 17 Shuixi Road, Zhong-  
shan District, Liupanshui 553000, Guizhou Province,  
China. wchwangchenghu@163.com  
Received: 2014-08-16 Revised: 2014-09-09  
Accepted: 2014-09-15 Published online: 2014-10-28

## Abstract

**AIM:** To assess the clinical effects of comprehensive intervention in promoting the recovery of gastrointestinal function in patients after hepatobiliary surgery.

**METHODS:** Eighty-four patients after hepatobiliary surgery were randomly divided into either a study group (42 cases) or a control group (42 cases). The study group was treated by early enteral nutrition, domperidone, and Chinese medicine enema, and the control group was treated by fluid infusion and nutrition support. The times to recovery bowel sounds, first meal, anus exhaust, and defecation, serum albumin (SAlb), prealbumin (PA), prognostic nutritional index (PNI), as well as the rate of gallbladder fossa

and subhepatic fluid formation on day 6 were compared for the two groups.

**RESULTS:** The times to recovery bowel sounds, first meal, anus exhaust, and defecation for the study group were significantly lower than those for the control group ( $29.85 \pm 8.85$  h vs  $32.67 \pm 9.67$  h,  $30.01 \pm 6.78$  h vs  $35.14 \pm 10.83$  h,  $40.95 \pm 7.85$  h vs  $49.84 \pm 15.79$  h,  $41.35 \pm 12.56$  h vs  $53.86 \pm 1.35$  h,  $P < 0.05$ ). The levels of SAlb, PA, and PNI for the study group post treatment were significantly higher than the values prior treatment ( $40.85 \text{ g/L} \pm 3.85 \text{ g/L}$  vs  $35.83 \text{ g/L} \pm 2.84 \text{ g/L}$ ,  $4.00 \text{ g/dL} \pm 1.35 \text{ g/dL}$  vs  $2.85 \text{ g/dL} \pm 0.75 \text{ g/dL}$ ,  $46.88 \pm 5.78$  vs  $42.15 \pm 8.83$ ,  $P < 0.05$ ), and than those for the control group ( $40.85 \text{ g/L} \pm 3.85 \text{ g/L}$  vs  $33.32 \text{ g/L} \pm 2.45 \text{ g/L}$ ,  $4.00 \text{ g/dL} \pm 1.35 \text{ g/dL}$  vs  $1.85 \text{ g/dL} \pm 0.71 \text{ g/dL}$ ,  $46.88 \pm 5.78$  vs  $40.81 \pm 5.76$ ,  $P < 0.05$ ). The rate of no gallbladder fossa and subhepatic fluid formation on day 6 for the study group was significantly higher than that for the control group ( $69.05\%$  vs  $40.48\%$ ,  $P < 0.05$ ). The rates of fluid formation with a diameter  $< 2$  cm and a diameter  $> 2$  cm for the study group were significantly lower than those for the control group ( $9.52\%$  vs  $26.19\%$ ,  $21.43\%$  vs  $33.33\%$ ,  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Comprehensive intervention by early enteral nutrition, domperidone, and Chinese medicine enema can shorten the time to gastrointestinal functional recovery and reduce the occurrence of gallbladder fossa and subhepatic fluid formation in patients after hepatobiliary surgery.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Hepatobiliary surgery; Gastrointestinal functional recovery; Enteral nutrition

Wang CH, Chen J. Comprehensive intervention to promote recovery of gastrointestinal function in patients after hepatobiliary surgery. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(30): 4663-4667 URL: <http://www.wjgnet.com>

## ■背景资料

肝胆患者外科手术常见胃肠功能紊乱现象, 延长病情恢复时间, 严重影响预后效果。因此, 在肝胆患者外科手术期间, 为患者提供综合治疗方法, 提高白蛋白水平、胃泌素水平, 促进术后胃肠道功能恢复, 缩短患者住院时间是十分有必要的。

## ■同行评议者

陈积圣, 教授, 中山大学孙逸仙纪念医院肝胆外科

## ■研究前沿

肝胆疾病是一种发病率较高的普外科疾病,手术治疗作为肝胆疾病临床治疗的首选方法。术中全身麻醉、术后镇痛泵方式,对患者肠胃功能造成了不同程度干扰。

wjgnet.com/1009-3079/22/4663.asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4663>

## 摘要

**目的:** 比较分析肝胆患者外科手术后胃肠功能恢复的治疗方法及其效果。

**方法:** 收集2013-01/2014-01水矿集团总医院外科收治的84例肝胆外科手术治疗患者临床资料,遵循随机原则,将患者分为研究组与对照组,每组例数均为42。研究组患者实施术后早期肠内营养、多潘立酮治疗、中药灌肠等手术期治疗方法,对照组患者采取补液、营养支持等常规治疗措施,比较两组患者术后肠鸣音恢复时间、首次进食时间、肛门排气时间、排便时间、治疗前后血清白蛋白(serum albumin, SAlb)、前白蛋白(prealbumin, PA)、预后营养指数(prognostic nutritional index, PNI)等指标变化情况以及术后6 d胆囊窝、肝下积液情况。

**结果:** 研究组患者肠鸣音恢复时间、首次进食时间、肛门排气时间、排便时间明显短于对照组, ( $29.85 \pm 8.85 \text{ h}$  vs  $32.67 \pm 9.67 \text{ h}$ ), ( $30.01 \pm 6.78 \text{ h}$  vs  $35.14 \pm 10.83 \text{ h}$ ), ( $40.95 \pm 7.85 \text{ h}$  vs  $49.84 \pm 15.79 \text{ h}$ ), ( $41.35 \pm 12.56 \text{ h}$  vs  $53.86 \pm 1.35 \text{ h}$ ), 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 研究组患者治疗后SAlb、PA、PNI水平均显著升高,与治疗前比较, ( $40.85 \text{ g/L} \pm 3.85 \text{ g/L}$  vs ( $35.83 \text{ g/L} \pm 2.84 \text{ g/L}$ ), ( $4.00 \text{ g/dL} \pm 1.35 \text{ g/dL}$  vs ( $2.85 \text{ g/dL} \pm 0.75 \text{ g/dL}$ ), ( $46.88 \pm 5.78$  vs ( $42.15 \pm 8.83$ ), 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 研究组患者治疗后SAlb、PA、PNI水平均显著高于对照组, ( $40.85 \text{ g/L} \pm 3.85 \text{ g/L}$  vs ( $33.32 \text{ g/L} \pm 2.45 \text{ g/L}$ ), ( $4.00 \text{ g/dL} \pm 1.35 \text{ g/dL}$  vs ( $1.85 \text{ g/dL} \pm 0.71 \text{ g/dL}$ ), ( $46.88 \pm 5.78$  vs ( $40.81 \pm 5.76$ ), 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 研究组患者胆囊窝及肝下无积液率显著高于对照组 ( $69.05\%$  vs  $40.48\%$ ), 积液长径 $< 2 \text{ cm}$ 率、积液长径 $> 2 \text{ cm}$ 率均显著低于对照组 ( $9.52\%$  vs  $26.19\%$ )、( $21.43\%$  vs  $33.33\%$ ), 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

**结论:** 将早期肠内营养、服用多潘立酮、中药灌肠等综合干预措施应用于肝胆患者外科围手术期,有利于缩短病情恢复时间,减少胆囊窝及肝下积液,促进术后胃肠功能恢复,值得临床推广。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 肝胆外科; 胃肠功能恢复; 肠内营养

**核心提示:** 本研究表明: 研究组患者血清白蛋白(serum albumin)、前白蛋白(prealbumin)、预后营养指数(prognostic nutritional index)等肠胃功能指标高于对照组; 胆囊窝及肝下无积液率明显高于对照组; 且肠鸣音恢复时间、首次进食时间、肛门排气时间、排便时间明显短于对照组 ( $P < 0.05$ )。总之, 在肝胆患者外科围手术期综合应用早期肠内营养、服用多潘立酮、中药灌肠等干预措施, 有效减少胆囊窝及肝下积液。

王成虎, 陈君. 早期肠内营养、服用多潘立酮、中药灌肠等综合干预措施对肝胆患者外科术后胃肠功能恢复的治疗方法及其效果. 世界华人消化杂志 2014; 22(30): 4663-4667 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4663.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4663>

## 0 引言

肝胆患者外科手术后常见胃肠功能紊乱现象, 延长病情恢复时间, 严重影响预后效果<sup>[1]</sup>。因此, 在肝胆患者外科手术期间, 为患者提供综合治疗方法, 提高白蛋白水平、胃泌素水平, 促进术后胃肠道功能恢复, 缩短患者住院时间是十分有必要的<sup>[2]</sup>。为了分析肝胆患者外科手术后胃肠功能恢复的临床效果, 将水矿集团总医院外科在2013-01/2014-01期间收治的肝胆外科手术患者分为两组, 分别实施综合治疗与常规治疗, 比较临床效果, 现报道如下。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 收集2013-01/2014-01水矿集团总医院收治的84例肝胆外科手术治疗患者临床资料, 遵循随机原则, 将患者分为研究组与对照组, 每组例数均为42例。排除相关药物禁忌者以及术前胃肠功能障碍等患者。研究组中男28例, 女14例, 患者年龄在29-68岁之间, 平均年龄为 $46.33 \pm 2.32$ 岁。临床术式包含: 肝叶切除18例、胆肠吻合12例、胰十二指肠切除7例、胰体尾部切除5例。对照组男27例、女15例, 患者年龄在28-70岁之间, 平均年龄为 $47.14 \pm 2.47$ 岁。临床术式包含: 肝叶切除16例、胆肠吻合11例、胰十二指肠切除8例、胰体尾部切除7例。两组患者在年龄、性别、病情等一般资料上, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 具有可比性。两组患者均可耐受手术, 自愿签署知情同意书。

多潘立酮(商品名: 吗丁啉, 西安杨森制药有限公司, 国药准字: H10910003,  $10 \text{ mg} \times 45$ 片)。



表 1 两组患者术后恢复情况比较 ( $n = 42$ , mean  $\pm$  SD, h)

分组	肠鸣音恢复时间	首次进食时间	肛门排气时间	排便时间
研究组	29.85 $\pm$ 8.85 <sup>a</sup>	30.01 $\pm$ 6.78 <sup>a</sup>	40.95 $\pm$ 7.85 <sup>a</sup>	41.35 $\pm$ 12.56 <sup>a</sup>
对照组	32.67 $\pm$ 9.67	35.14 $\pm$ 10.83	49.84 $\pm$ 15.79	53.86 $\pm$ 1.35

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 对照组.

表 2 两组患者治疗前后肠胃功能指标变化情况比较 (mean  $\pm$  SD)

分组	时间	SAlb(g/L)	PA(g/dL)	PNI
研究组	治疗前	35.83 $\pm$ 2.84	2.85 $\pm$ 0.75	42.15 $\pm$ 8.83
	治疗后	40.85 $\pm$ 3.85 <sup>ac</sup>	4.00 $\pm$ 1.35 <sup>ac</sup>	46.88 $\pm$ 5.78 <sup>ac</sup>
对照组	治疗前	35.96 $\pm$ 2.95	2.77 $\pm$ 0.85	42.86 $\pm$ 4.68
	治疗后	33.32 $\pm$ 2.45	1.85 $\pm$ 0.71	40.81 $\pm$ 5.76

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 同组治疗前; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 对照组. SAlb: 血清白蛋白; PA: 前白蛋白; PNI: 预后营养指数.

## 1.2 方法

1.2.1 处理方法: 对照组患者在围手术期间采取常规处理方式, 包括: 常规补液、营养支持、保持水电解及酸碱平衡等. 在术后给予患者维生素、微量元素、葡萄糖等肠外营养<sup>[3]</sup>. 研究组患者在对照组治疗基础上实施围手术期综合处理方案, 首先给予患者预防性应用抗生素, 结合其并发基础疾病以及具体病情转化, 为患者提供不同级别的抗生素. 对于肠道感染者, 可进行静脉注射. 病情严重者可加以多潘立酮治疗, 1片/次, 3次/d<sup>[4]</sup>. 术后12 h给予患者进行中药灌肠, 芒硝、大黄、厚朴、枳实等作为大承气汤的主要配方, 250 mL/次、1次/d<sup>[5]</sup>, 同时指导患者实施适量运动并咀嚼口香糖.

经鼻肠管实施早期肠内营养支持, 术后24 h泵入温生理盐水200 mL, 泵速20 mL/h; 术后48 h泵入温开水200 mL、能全力400 mL, 泵速50 mL/h; 术后72 h泵入温开水400 mL、能全力800 mL, 泵速90 mL/h; 肠内营养支持持续时间为72 h<sup>[6]</sup>.

1.2.2 观察指标: 分析记录患者治疗前后血清白蛋白(serum albumin, SAlb), 前白蛋白(prealbumin, PA), 预后营养指数(prognostic nutritional index, PNI)等指标变化; 统计患者术后肠鸣音恢复时间、首次进食时间、肛门排气时间、排便时间; 术后6 d采取B超观察记录患者胆囊窝、肝下积液情况等.

**统计学处理** 使用SPSS17.0统计分析, 用mean  $\pm$  SD表示计量资料, 采用 $t$ 检验, 用百分比表示计数资料, 采用 $\chi^2$ 检验,  $P < 0.05$ 表示差异有

统计学意义.

## 2 结果

2.1 两组患者术后恢复情况比较 研究组患者肠鸣音恢复时间、首次进食时间、肛门排气时间、排便时间明显短于对照组, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )(表1).

2.2 两组患者治疗前后肠胃功能指标变化情况比较 两组患者治疗前SAlb、PA、PNI水平比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); 研究组患者治疗后SAlb、PA、PNI水平均显著升高, 与治疗前比较, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ); 研究组患者治疗后SAlb、PA、PNI水平均显著高于对照组, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )(表2).

2.3 两组患者胆囊窝及肝下积液情况比较 研究组患者胆囊窝及肝下无积液率显著高于对照组, 积液长径 $< 2$  cm率、积液长径 $> 2$  cm率均显著低于对照组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )(表3).

## 3 讨论

肝胆疾病是一种发病率较高的普外科疾病, 手术治疗作为肝胆疾病临床治疗的首选方法<sup>[7]</sup>. 术中全身麻醉、术后镇痛泵方式, 对患者肠胃功能造成了不同程度干扰<sup>[8]</sup>. 另外, 受到术中胃肠组织牵拉、腹腔内脏器暴露于空气等因素的影响, 会导致患者在术后出现腹胀、胃肠功能紊乱、排便排气障碍等胃肠道并发症, 难以促进机体恢复, 造成预后情况恶化<sup>[9]</sup>. 轻度不良反应可在短时间内自动缓解, 患者无明显不适感,

### ■相关报道

中药灌肠对肠道蠕动产生良好的刺激效果, 有效消除肠鸣音, 且指导患者实施适量运动并咀嚼口香糖, 其治疗作用在于促进胃肠道兴奋而产生反射行为, 增强消化液分泌功能, 使患者食欲恢复正常.

## ■应用要点

肝胆外科手术患者必须在围手术期间采取高效的治疗方案,才能尽快恢复胃肠道功能,降低并发症发生率,减少不良反应的出现。

表 3 两组患者胆囊窝及肝下积液情况比较 [ $n = 42, n(\%)$ ]

分组	积液长径<2 cm	积液长径>2 cm	无积液
研究组	4(9.52) <sup>a</sup>	9(21.43) <sup>a</sup>	29(69.05) <sup>a</sup>
对照组	11(26.19)	14(33.33)	17(40.48)

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 对照组。

如患者机体条件较差,可能会延长机体恢复时间,引发膈肌上移阻碍呼吸、腔静脉发生血栓等并发症<sup>[10]</sup>。因此,肝胆外科手术患者必须在围手术期间采取高效的治疗方案,才能尽快恢复胃肠道功能,降低并发症发生率,减少不良反应的出现。

多潘立酮又名吗丁啉,可有效促进胃动力,改善恶心呕吐、嗝气腹胀等临床症状,并且可使食管下部的括约肌张力得到提高,以增强肠胃蠕动功能<sup>[11]</sup>。治疗中给予患者预防性应用抗生素,可对RNA多聚酶产生良好的抑制作用,减少细菌RNA合成,从而发挥整体的抗菌效果,有效防止肠内感染现象的出现<sup>[12]</sup>。中药灌肠对肠道蠕动产生良好的刺激效果,有效消除肠鸣音<sup>[13]</sup>,且指导患者实施适量运动并咀嚼口香糖,其治疗作用在于促进胃肠道兴奋而产生反射行为,增强消化液分泌功能,使患者食欲恢复正常<sup>[14]</sup>。术后早期开展肠内营养支持可加速胃移动运动,且改善其收缩行为,确保胃肠功能恢复程度符合评估标准<sup>[15]</sup>。另外,术后早期开展肠内营养支持,有利于保护小肠功能与黏膜结构,促进胃肠道激素,增大胃酸分泌,从而增强胃肠蠕动功能,改善SAIb、PA、PNI等肠胃功能指标,最终改善患者生理功能<sup>[16]</sup>。

通过以上研究表明,研究组患者SAIb、PA、PNI等肠胃功能指标高于对照组;胆囊窝及肝下无积液率明显高于对照组;且肠鸣音恢复时间、首次进食时间、肛门排气时间、排便时间明显短于对照组( $P < 0.05$ )。总之,在肝胆患者外科围手术期间综合应用早期肠内营养、服用多潘立酮、中药灌肠等干预措施,有效减少胆囊窝及肝下积液,有利于改善患者临床症状,从整体上改善肠胃功能,改善患者预后情况。

## 4 参考文献

- 1 陈志强,曹立幸. 围手术期术后胃肠功能评价的研究现状与展望. 中国中西医结合杂志 2011; 31: 727-731

- 2 徐金明,黎可,童富云,王连伟. 腹腔镜结直肠癌根治术治疗结直肠癌患者的疗效观察及对胃肠功能的影响研究. 中国地方病防治杂志 2014; 29: 146-147
- 3 黄勇,陈小平. 肝胆患者外科术后胃肠功能恢复的护理研究. 临床合理用药杂志 2014; 7: 112-115
- 4 Al-Jabri T, Sanjay P, Shaikh I, Woodward A. Inflammatory myofibroblastic pseudotumour of the liver in association with gall stones - a rare case report and brief review. *Diagn Pathol* 2010; 5: 53 [PMID: 20718986 DOI: 10.1186/1746-1596-5-53]
- 5 陈志强. 围手术期术后胃肠功能障碍的辨证论治策略. 中国中西医结合杂志 2013; 33: 149-154
- 6 Yin XQ, Zhou YC, Zhou H, Yang H, Wang YQ, Zhang H. [Effect of transcutaneous electrical stimulation of Zusanli (ST 36) and Liangqiu (ST 34) combined with general anesthesia on pain and gastrointestinal symptoms in patients undergoing gynecological laparoscopic operation]. *Zhenci Yanjiu* 2013; 38: 431-434 [PMID: 24579355 DOI: 10.1007/s11655-007-9006]
- 7 徐菊玲. 老年患者腹腔镜胆囊切除术后胃肠功能紊乱的原因分析与护理. 护士进修杂志 2010; 25: 1271-1272
- 8 Kim JW, Han JW, Jung SY, Jung JP, Kim JW. Synchronous double primary malignant tumor of the gallbladder and liver: a case report. *World J Surg Oncol* 2011; 9: 84 [PMID: 21812959 DOI: 10.1186/1477-7819-9-84]
- 9 Rabbani K, Narjis Y, Diffaa A, Jalal H, Zoughari L, Benelkhaiat R, Louzi A, Finech B, Elidrissi A. Calcified liver hydatid cyst compressing the gall bladder. *Arab J Gastroenterol* 2011; 12: 166-167 [PMID: 22055599 DOI: 10.1016/j.ajg.2011.03.002]
- 10 Shi WZ, Miao YL, Yakoob MY, Cao JB, Zhang H, Jiang YG, Xu LH, Mi WD. Recovery of gastrointestinal function with thoracic epidural vs. systemic analgesia following gastrointestinal surgery. *Acta Anaesthesiol Scand* 2014; 58: 923-932 [PMID: 25060245 DOI: 10.1111/aas.12375]
- 11 谭康联,陈志强. 胃动素用于胃肠功能评价的研究进展. 世界华人消化杂志 2011; 19: 156-160
- 12 方晓杰,刘纯伦,李章勇,周旭春,王丕龙,任超世. 生物阻抗技术评价多潘立酮对功能性消化不良胃动力的影响. 中国实用内科杂志 2009; 29: 333-335
- 13 孙飞,彭海燕. 胆囊切除术后综合征的中医认识和治疗进展. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1694-1700
- 14 Pottakkat B, Kapoor A, Prakash A, Singh RK, Behari A, Kumar A, Kapoor VK, Saxena R. Evaluation of a prospective surgical strategy of extended resection to achieve R0 status in gall bladder cancer. *J Gastrointest Cancer* 2013; 44: 33-40 [PMID: 22987147 DOI: 10.1007/s12029-012-9432-z]
- 15 Gall TM, Frampton AE, Krell J, Jiao LR. Optimizing unresectable colorectal liver metastases for surgery--no limits, any benefits? *J Gastrointest Surg* 2013; 17: 2185-2187 [PMID: 23592187 DOI: 10.1007/

s11605-013-2197-2]  
16 Tubby KG. Concurrent gall bladder, liver lobe torsion, and bile peritonitis in a German shepherd dog

2 months after gastric dilatation/volvulus gastropexy and splenectomy. *Can Vet J* 2013; 54: 784-786 [PMID: 24155480]

■同行评价  
本研究选题尚可, 写作层次分明, 具有一定的可读性。

编辑 韦元涛 电编 闫晋利



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》出版流程

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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



# AGI分级标准对胃肠功能障碍评估价值及其在早期EN中的应用效果

李 华, 申亚晖

## ■背景资料

危重症患者容易发生胃肠道功能障碍, 影响患者预后。急性胃肠损伤(acute gastrointestinal injury, AGI)分级用于评估胃肠功能障碍情况。本研究将探讨AGI分级标准在胃肠功能障碍中的评估价值及其对EN治疗效果的影响, 旨在明确AGI分级标准在危重症胃肠功能障碍患者中的应用可行性。

李华, 河南省中医院急诊科 河南省郑州市 450002  
申亚晖, 河南省中医院重症医学科 河南省郑州市 450002  
李华, 主治医师, 主要从事急危重症的研究。  
作者贡献分布: 本文由李华与申亚晖共同完成。  
通讯作者: 申亚晖, 副主任医师, 450002, 河南省郑州市东风路6号, 河南省中医院急诊科. lihua771203@163.com  
收稿日期: 2014-08-06 修回日期: 2014-08-28  
接受日期: 2014-09-10 在线出版日期: 2014-10-28

## Value of acute gastrointestinal injury grading system in assessing gastrointestinal dysfunction in critically ill patients: Application in early enteral nutrition

Hua Li, Ya-Hui Shen

Hua Li, Department of Emergency Medicine, Henan Traditional Chinese Medicine Hospital, Zhengzhou 450002, Henan Province, China

Ya-Hui Shen, Department of Intensive Medicine, Henan Traditional Chinese Medicine Hospital, Zhengzhou 450002, Henan Province, China

Correspondence to: Hua Li, Associate Chief Physician, Department of Emergency Medicine, Henan Traditional Chinese Medicine Hospital, 6 Dongfeng Road, Zhengzhou 450002, Henan Province, China. lihua771203@163.com

Received: 2014-08-06 Revised: 2014-08-28

Accepted: 2014-09-10 Published online: 2014-10-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the value of acute gastrointestinal injury (AGI) grading system in assessing gastrointestinal dysfunction in critically ill patients and to assess its application in early enteral nutrition (EN).

**METHODS:** Seventy-eight patients with gastrointestinal dysfunction admitted to intensive care unit (ICU) from January 2013 to January 2014 were divided into different groups using the AGI grading system: grade I (35 cases), grade II (22 cases), grade III (12 cases), and grade IV (9 cases). The patients were given appropriate treatment based on the AGI guideline. The nutritional status before and after EN implementa-

tion, severity, rate of adequate intake, changes in the function of the gastrointestinal mucosa were compared between the two groups. The relationship between AGI grading and EN feeding rate and rate of adequate calories was also analyzed.

**RESULTS:** The levels of APACHE II score, serum albumin (ALB), nitrogen balance (NB), total protein (TP), gastric pH, lactate, and PgCO<sub>2</sub> showed no significant differences among the four groups before treatment ( $P > 0.05$ ); after 7 d of treatment, the APACHE II score, lactate, and PgCO<sub>2</sub> significantly decreased ( $P < 0.05$ ), and the levels of ALB, NB, TP, and pH value significantly increased in grades I-III groups ( $P < 0.05$ ). The APACHE II score, lactate, and PgCO<sub>2</sub> were significantly higher ( $P < 0.05$ ), and the values of NB, TP, and pH before treatment were significantly lower in grade IV group than in grades I-III groups ( $P < 0.05$ ), although the level of ALB showed no significant difference among the four groups ( $P > 0.05$ ). The 4-h feeding rates in grades I-IV groups were 91.43%, 68.18%, 50.00%, and 0.00%, respectively, and the 48-h feeding rates were 100.00%, 81.82%, 58.33%, and 0.00%. The 7-d rate of adequate calories in grades I-IV groups were 100.00%, 81.82%, 66.67% and 22.22%, respectively.

**CONCLUSION:** AGI grading has a good correlation with EN treatment and can be used for gastrointestinal function evaluation in critically ill patients.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Acute gastrointestinal injury grading; Critically ill patients; Gastrointestinal dysfunction; Enteral nutrition

Li H, Shen YH. Value of acute gastrointestinal injury grading system in assessing gastrointestinal dysfunction in critically ill patients: Application in early enteral nutrition. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(30): 4668-4673 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4668.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4668>

## ■同行评议者

张进祥, 副教授, 华中科技大学同济医学院附属协和医院

## 摘要

**目的:** 探讨急性胃肠损伤(acute gastrointestinal injury, AGI)分级标准对危重症患者胃肠功能障碍评估价值及其在早期肠内营养(enteral nutrition, EN)支持中的应用效果。

**方法:** 选取2013-01/2014-01本院重症监护病房(intensive care unit, ICU)收治的78例胃肠功能障碍患者为研究对象, 患者入住ICU后12-24 h内行EN治疗。根据AGI分级标准将患者分为I级35例, II级22例, III级12例, IV级9例, 并按AGI指南对患者实施对应治疗, 观察EN实施前后营养状态、病情程度及EN摄入量达标率、胃肠黏膜功能的变化, 并分析AGI分级与EN喂养率及热量达标率的关系。

**结果:** 4组患者入ICU时急性生理学与慢性健康状况评分系统II(acute physiology and chronic health evaluation system II, APACHE II)、血清白蛋白(serum albumin, ALB)、氮平衡(nitrogen balance, NB)、总蛋白(total protein, TP)、胃黏膜pH值、乳酸值、胃黏膜二氧化碳分压( $\text{PgCO}_2$ )水平无统计学差异( $P>0.05$ ), 治疗7 d后, I-III级患者APACHE II评分、乳酸值、 $\text{PgCO}_2$ 均显著下降( $P<0.05$ ), ALB、NB、TP、pH值水平显著升高( $P<0.05$ )。IV级患者入住ICU 7 d时, APACHE II评分、乳酸值、 $\text{PgCO}_2$ 显著高于I-III级患者( $P<0.05$ ), 而NB、TP、pH值水平平均低于I-III级患者( $P<0.05$ ), 各组间ALB水平差异无统计学意义( $P>0.05$ )。I-IV级患者24 h喂养率分别为91.43%、68.18%、50.00%、0.00%, 48 h喂养率分别为100.00%、81.82%、58.33%、0.00%, 7 d热量达标率分别为100.00%、81.82%、66.67%、22.22%。相关分析显示, AGI分级与24 h喂养率、48 h喂养率及72 h营养达标率呈负相关(均 $P<0.05$ )。

**结论:** AGI分级与EN治疗效果具有良好的相关性, 可作为危重症患者胃肠道功能的评价指标。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 急性胃肠损伤分级; 危重症患者; 胃肠功能障碍; 肠内营养支持

**核心提示:** 本文探讨急性胃肠损伤(acute gastrointestinal injury)分级标准对危重症患者胃肠功能障碍评估价值及其在肠内营养(enteral nutrition)中的应用效果。旨在为危重病患者的救治方案的制定提供指导。

李华, 申亚晖. AGI分级标准对胃肠功能障碍评估价值及其在早期EN中的应用效果. 世界华人消化杂志 2014; 22(30): 4668-4673  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4668.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4668>

## 0 引言

危重症患者容易发生胃肠道功能障碍, 影响患者预后。对于行机械通气的急性肺损伤或呼吸综合征患者胃肠功能障碍发生率更高<sup>[1]</sup>。多项研究<sup>[2]</sup>指出, 50%的重症患者机械通气期间会出现不同程度的胃肠功能障碍。近年相关研究证实<sup>[3]</sup>, 胃肠功能障碍是影响重症患者预后的独立危险因素。为了更好地明确胃肠功能损伤对危重病患者预后的影响, 欧洲危重病学会(European Society of Critical Care, ESICM)于2012年提出了急性胃肠损伤(acute gastrointestinal injury, AGI)概念、分级及治疗标准<sup>[4]</sup>。本研究将探讨AGI分级标准在胃肠功能障碍中的评估价值及其对EN治疗效果的影响, 旨在明确AGI分级标准在危重症胃肠功能障碍患者中的应用可行性。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 2013-01/2014-01河南省中医院急诊科ICU共收治的危重症患者185例, 纳入标准: (1)均存在胃肠功能障碍; (2)年龄 $>18$ 岁; (3)所有检查及治疗均获得患者及其家属同意。排除精神障碍、意识模糊、心、肝、肾功能衰竭者。共有78例患者符合上述入组标准, 其中男41例, 女37例, 年龄19-78岁, 平均年龄 $62.8 \pm 5.3$ 岁。原发疾病: 肺炎28例, 脑外伤18例, 急腹症10例, 恶性肿瘤8例, 脑血管疾病8例, 心肺复苏后6例。

### 1.2 方法

**1.2.1 AGI分级:** 依据国内外文献[5,6], 应用的间接测量法对AGI进行评定。采用AbViser腹内压监测系统(ABV300)测量患者膀胱内压, 以协助诊断AGI及对AGI进行分级。

**1.2.2 分组及相关指标检测:** 对纳入标准行APACHE II评分<sup>[7]</sup>及AGI分级<sup>[4]</sup>, 由3名专业医师对患者完成AGI评估, 并根据AGI分级标准将患者分为I级35例, II级22例, III级12例, IV级9例。分别于入住ICU 1 d及7 d抽取患者静脉血液3 mL, 采用全自动化生化分析仪测定患者血清白蛋白(serum albumin, ALB)、氮平衡(nitrogen balance, NB)、总蛋白(total protein, TP)水平。分别于入住ICU 1 d及7 d于餐后2 h抽取桡动脉血3 mL, 采用胃张力监测仪(芬兰Dtatex-Ohmede公

## ■ 研发前沿

AGI分级标准是近2年新提出的概念, 目前已被应用在危重症患者胃肠功能障碍损伤的评估中, 其临床应用价值获得肯定。目前将AGI分级作为胃肠功能障碍早期营养支持的患者分级及指导标准目前国内研究较少, 为此本文探讨AGI分级标准对危重症患者胃肠功能障碍评估价值及其在早期肠内营养支持EN中的应用效果。

## ■相关报道

Reintaam在2012年ESICM会议中根据患者粪便或胃内容物中可见性出血、腹泻次数、下消化道麻痹、喂养不耐受、恶心、呕吐、大便次数、肠鸣音、胃潴留等客观指标提出AGI定义及分级标准。其目的在于对危重症胃肠功能障碍患者病情进行分级,使其更好地进行临床干预。

表 1 不同AGI分级基线资料对比 (mean ± SD)

AGI分级	n	性别 (男/女)	年龄 (岁)	原发性疾病					
				肺炎	脑外伤	急腹症	恶性肿瘤	脑血管疾病	心肺复苏后
I级	35	18/17	62.2 ± 5.2	12	6	5	4	5	3
II级	22	11/11	63.2 ± 5.1	8	5	3	2	2	2
III级	12	7/5	62.1 ± 4.8	5	4	2	1	0	0
IV级	9	5/4	62.4 ± 4.9	3	3	0	1	1	1
统计值		$\chi^2 = 0.112$	$t = 0.108$			$U = 0.223$			
P值		0.789	0.812			0.378			

AGI: 急性胃肠损伤。

表 2 不同AGI分级患者不同时段APACHE II评分及营养指标对比 (mean ± SD)

AGI分级	n	APACHE II (分)		ALB(g/L)		NB(g/d)		TP(g/L)	
		治疗1 d	治疗7 d	治疗1 d	治疗7 d	治疗1 d	治疗7 d	治疗1 d	治疗7 d
I级	35	21.85 ± 3.24	18.45 ± 2.15 <sup>a</sup>	30.02 ± 2.78	31.02 ± 3.02 <sup>a</sup>	-13.12 ± 2.12	-9.12 ± 3.10 <sup>a</sup>	52.25 ± 7.12	58.36 ± 8.25 <sup>a</sup>
II级	22	21.98 ± 3.47	19.02 ± 1.78 <sup>a</sup>	29.18 ± 2.45	31.12 ± 4.11	-13.02 ± 2.42	-9.57 ± 3.48 <sup>a</sup>	52.36 ± 5.18	57.98 ± 7.85 <sup>a</sup>
III级	12	22.02 ± 4.02	20.12 ± 1.56 <sup>a</sup>	28.78 ± 2.17	30.98 ± 3.56	-13.08 ± 2.38	-10.12 ± 3.92 <sup>a</sup>	53.02 ± 5.67	58.25 ± 6.78 <sup>a</sup>
IV级	9	22.78 ± 3.98	22.14 ± 4.02 <sup>ceg</sup>	28.02 ± 4.21	30.12 ± 3.72	-13.32 ± 2.56	-11.98 ± 3.04 <sup>ceg</sup>	53.18 ± 4.86	55.36 ± 5.25 <sup>ceg</sup>
F值		1.025	5.986	0.896	1.251	1.224	5.612	0.785	4.986
P值		0.078	0.012	0.125	0.078	0.312	0.00	0.145	0.015

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 治疗1 d; <sup>b</sup> $P < 0.05$  vs AGI I级; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs AGI II级; <sup>e</sup> $P < 0.05$  vs AGI III级。AGI: 急性胃肠损伤; APACHE II: 急性生理学及慢性健康状况评分系统 II; ALB: 血清白蛋白; NB: 氮平衡; TP: 总蛋白。

司)测定pH值、乳酸值、PgCO<sub>2</sub>。记录不同组别患者24、48 h喂养率、7 d热量达标率。

1.2.3 治疗: 根据AGI治疗程序对患者实施对应干预, 对AGI I-III级患者在进入ICU后12-24 h内给予早期EN治疗。EN方案: 伤后12-24 h内持续泵入胃肠营养液(美国诺华公司), 开始量为600 mL, 以300-400 mL/d逐渐递增至全量。3 d后选用全能肠内营养液(Nutricia公司)。AGI IV级患者早期不给予EN治疗, 待患者病情稳定后给予EN支持治疗, 治疗期间维持血糖水平在8-10 mmol/L, 7 d内尽可能不进行肠外营养支持治疗, 如患者EN治疗后营养无法达标, 可适量给予肠外营养支持。

统计学处理 采用SPSS17.0进行数据统计分析, 计量资料采用mean ± SD表示, 组间计量资料比较采用t检验, 进一步两两分析采用LSD-t分析, 计数资料采用率表示, 组间计数资料率的比较采用 $\chi^2$ 检验, 等级资料采用U检验, AGI分级与24、48 h喂养率、7 d热量达标率采用Spearman等级相关性分析,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 不同AGI分级基线资料对比 4组患者性别、年龄、原发性疾病无统计学差异( $P > 0.05$ ), 具有可比性(表1)。

2.2 不同AGI分级患者不同时段APACHE II评分及营养指标对比 4组患者入ICU 1d时APACHE II、ALB、NB、TP水平无统计学差异( $P > 0.05$ ), 治疗7 d后, I-III级患者APACHE II评分均显著下降( $P < 0.05$ ), ALB、NB、TP水平显著升高( $P < 0.05$ )。IV级患者入住ICU 7 d时, APACHE II评分显著高于I-III级患者( $P < 0.05$ ), 而NB、TP、pH值水平均低于I-III级患者( $P < 0.05$ ), 各组间ALB水平差异无统计学意义( $P > 0.05$ )(表2)。

2.3 不同AGI分级患者不同时段胃肠黏膜功能对比 4组患者入ICU 1 d胃黏膜pH值、乳酸值、PgCO<sub>2</sub>水平差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 治疗7 d后, I-III级患者乳酸值、PgCO<sub>2</sub>均显著下降( $P < 0.05$ ), pH值水平显著升高( $P < 0.05$ )。IV级患者入住ICU 7 d时, 乳酸值、PgCO<sub>2</sub>显著高于I-III



表 3 不同AGI分级患者不同时段胃肠黏膜功能对比 (mean ± SD)

AGI分级	n	pH值		乳酸值(mmol/L)		PgCO <sub>2</sub>	
		治疗1 d	治疗7 d	治疗1 d	治疗7 d	治疗1 d	治疗7 d
I 级	35	7.02 ± 0.47	7.52 ± 0.78 <sup>a</sup>	2.02 ± 0.48	1.58 ± 0.72 <sup>a</sup>	45.25 ± 2.56	40.20 ± 3.82 <sup>a</sup>
II 级	22	7.05 ± 0.52	7.45 ± 0.67 <sup>a</sup>	2.09 ± 0.52	1.62 ± 0.69 <sup>a</sup>	45.98 ± 2.47	40.39 ± 3.74 <sup>a</sup>
III 级	12	7.07 ± 0.68	7.48 ± 0.63 <sup>a</sup>	2.04 ± 0.42	1.64 ± 0.65 <sup>a</sup>	45.72 ± 2.26	40.62 ± 3.89 <sup>a</sup>
IV 级	9	7.05 ± 0.48	7.12 ± 0.52 <sup>ceg</sup>	2.06 ± 0.53	1.92 ± 0.87 <sup>ceg</sup>	45.32 ± 2.37	43.05 ± 5.62 <sup>ceg</sup>
F值		0.163	3.562	0.112	3.698	0.225	5.236
P值		0.742	0.014	0.814	0.012	0.863	0.000

<sup>a</sup>P<0.05 vs 治疗1 d; <sup>c</sup>P<0.05 vs AGI I 级; <sup>e</sup>P<0.05 vs AGI II 级; <sup>g</sup>P<0.05 vs AGI III 级. AGI: 急性胃肠损伤; PgCO<sub>2</sub>: 胃黏膜二氧化碳分压.

表 4 不同AGI分级24、48 h喂养率、7 d热量达标率对比 n(%)

AGI分级	n	24 h喂养率	48 h喂养率	7 d热量达标率
I 级	35	32(91.43)	35(100.00)	35(100.00)
II 级	22	15(68.18) <sup>a</sup>	18(81.82) <sup>a</sup>	18(81.82) <sup>a</sup>
III 级	12	6(50.00) <sup>ac</sup>	7(58.33) <sup>ac</sup>	8(66.67) <sup>ac</sup>
IV 级	9	0(0.00) <sup>ace</sup>	0(0.00) <sup>ace</sup>	2(22.22) <sup>ace</sup>
χ <sup>2</sup> 值		29.716	43.154	34.799
P值		0.000	0.000	0.000

<sup>a</sup>P<0.05 vs I 级相比; <sup>c</sup>P<0.05 vs II 级相比; <sup>e</sup>P<0.05 vs III 级.

级患者( $P<0.05$ ), 而pH值水平均低于 I -III级患者( $P<0.05$ )(表3).

2.4 不同AGI分级24、48 h喂养率、7 d热量达标率对比 4组患者24、48 h喂养率、7 d热量达标率比较有统计学差异( $P<0.05$ ), 随AGI分级的增加, 24、48 h喂养率、7 d热量达标率显著下降( $P<0.05$ )(表4).

2.5 AGI分级与24、48 h喂养率、7 d热量达标率的关系 经Spearman相关分析可知, AGI分级与24 h喂养率( $r = -0.412$ ,  $P = 0.008$ )、48 h喂养率( $r = -0.396$ ,  $P = 0.010$ )、7 d热量达标率( $r = -0.432$ ,  $P = 0.004$ )呈负相关.

### 3 讨论

ICU危重病患者由于胃排空延迟而容易发生肠内营养不耐受, 延迟患者住院时间, 增加患者病死率. 朱承睿等<sup>[8]</sup>研究也指出, 胃肠排空是危重患者死亡的独立危险因素. 因此积极改善危重患者胃肠功能衰竭及障碍将有助于改善患者预后, 促进患者康复. 近年相关研究指出<sup>[9]</sup>, 肠道脂肪酸欧联蛋白及瓜氨酸可作为小肠功能的预测指标, 但其在胃肠功能障碍的应用效果还

有待进一步验证. 既往临床对胃肠功能障碍缺乏统一的定义及有效的治疗策略, 从而给临床诊治带来困难. Reintamäki等<sup>[4]</sup>在2012年ESICM会议中根据患者粪便或胃内容物中可见性出血、腹泻次数、下消化道麻痹、喂养不耐受、恶心、呕吐、大便次数、肠鸣音、胃潴留等客观指标提出AGI定义及分级标准. 其目的在于对危急重症胃肠功能障碍患者病情进行分级, 使其更好地进行临床干预.

本研究185例危重患者中共有78例患者符合AGI定义标准, 占42.16%, 低于高红梅等<sup>[10]</sup>报道的49.42%, 分析其原因可能与本研究病例较少有关, 也可能与本研究病例早期进行了积极的救治, 患者病情有所缓解, 从而防止病情继续恶化引起的胃肠功能障碍有关. 本研究 I -IV级患者入院时APACHE II评分均>20分, 从而提示患者预后差, 具有较高的死亡风险(80%-100%)<sup>[11]</sup>. 患者入ICU时ALB<31.53 g/L, TP<68 g/L, 从而提示患者入ICU时已存在明显的营养不良. NB是反映蛋白质代谢的一个重要指标, 他是反映机体摄入氮(I)和排出氮(E)之间的关系, 即NB = I-E, 本研究患者入ICU时, 患者均处于负氮平衡,

### ■创新盘点

朱承睿等研究也指出, 胃肠排空是危重患者死亡的独立危险因素. 因此积极改善危重患者胃肠功能衰竭及障碍将有助于改善患者预后, 促进患者康复. 本研究在前人的基础上, 运用AGI定义及分级标准对危重患者胃肠功能障碍评估, 并指导患者实施早期营养支持.

## ■应用要点

危重症患者容易发生胃肠道功能障碍,影响患者预后。对于行机械通气的急性肺损伤或呼吸综合征患者胃肠功能障碍发生率更高。多项研究指出,50%的重症患者机械通气期间会出现不同程度的胃肠功能障碍。本研究运用AGI定义及分级标准对危重症患者胃肠功能障碍评估,并指导患者实施早期营养支持,可提高患者早期营养支持效果,促进患者预后,具有一定的应用价值。

从而提示患者蛋白摄取不足,营养状况差<sup>[12]</sup>。在正常生理状况下,PgCO<sub>2</sub>值为7.5 mmHg,乳酸为0.36-1.25 mmol/L,pH值为7.32,而本研究患者入ICU时其PgCO<sub>2</sub>、乳酸、pH值均为异常,这是由于危重症作为超强的刺激源,可引起机体出现应激反应,从而导致交感-肾上腺髓质过度兴奋,促使儿茶酚胺大量释放于血液中,进而引起胃肠黏膜血管收缩,导致胃肠黏膜缺血缺氧,引起胃肠损伤<sup>[13]</sup>。

本研究根据AGI指南对不同AGI级别患者进行了干预性治疗,并于入院12-24 h内给予患者实施早期EN支持性治疗。EN营养液中均为短肽,不需要消化就能被肠道直接吸收,符合机体对蛋白的最佳吸收形式,能及时纠正应激状态下的负氮平衡,改善胃肠功能<sup>[14,15]</sup>。结果表明经治疗后,AGI I-III级患者ALB、NB、TP、PgCO<sub>2</sub>、乳酸、pH值水平均得到有效的纠正,APACHE II评分<20分,从而提示根据AGI指南对胃肠功能障碍患者实施早期EN能有效改善患者营养状态,减轻患者胃肠损伤,降低患者死亡风险。患者经7 d治疗后,I-III级患者营养改善状况、胃肠损伤改善状况均优于AGI IV级,APACHE II评分低于AGI IV级,从而提示胃肠功能损伤程度与患者营养状态及疾病严重程度关系密切。本研究中AGI分级与24、48 h喂养率、7 d热量达标率呈负相关,从而表明AGI分级标准在危重症胃肠功能障碍患者中的应用是可行的,能有效反映EN支持性治疗效果。

总之,AGI分级与EN治疗效果具有良好的相关性,可作为危重症患者胃肠道功能的评价指标。但由于AGI分级标准提出的时间较短,大部分概念是根据专家意见制定的,且对AGI的定义及分级描述较为复杂,对于同一等级的AGI可能会出现不同的临床描述,因此在日后的研究中还需要加大样本量进一步验证AGI分级的可行性,简化AGI定义,完善AGI分级标准,使得AGI分级能更好地应用于临床研究。

## 4 参考文献

- 1 白黎智,康利民,路小光. 肠内免疫微生态营养对重症急性胰腺炎肝损害的影响. 世界华人消化杂志 2010; 18: 616-620
- 2 马晓博,赵瑛. 肠内肠外营养对大鼠肠道损伤后屏障功能恢复的实验研究. 中华临床医师杂志(电子版) 2012; 6: 3194-3197
- 3 Li B, Tang S, Ma YL, Tang J, Wang B, Wang JR. Analysis of bowel sounds application status for gastrointestinal function monitoring in the intensive care unit. *Crit Care Nurs Q* 2014; 37: 199-206 [PMID: 24595257 DOI: 10.1097/CNQ.000000000000019]

- 4 Reintam Blaser A, Malbrain ML, Starkopf J, Fruhwald S, Jakob SM, De Waele J, Braun JP, Poeze M, Spies C. Gastrointestinal function in intensive care patients: terminology, definitions and management. Recommendations of the ESICM Working Group on Abdominal Problems. *Intensive Care Med* 2012; 38: 384-394 [PMID: 22310869 DOI: 10.1007/s00134-011-2459-y]
- 5 王吉文,张茂. 欧洲危重病医学会关于急性胃肠损伤的定义和处理指南. 中华急诊医学杂志 2012; 21: 812-814
- 6 包龙,徐峰,凌伟华. 创伤性颅脑损伤患者:急性胃肠损伤与营养支持-基于欧洲危重病医学会关于急性胃肠损伤定义及处理指南的思考. 中国急救医学 2013; 33: 793-796
- 7 Kim YH, Yeo JH, Kang MJ, Lee JH, Cho KW, Hwang S, Hong CK, Lee YH, Kim YW. Performance assessment of the SOFA, APACHE II scoring system, and SAPS II in intensive care unit organophosphate poisoned patients. *J Korean Med Sci* 2013; 28: 1822-1826 [PMID: 24339715 DOI: 10.3346/jkms.2013.28.12.1822]
- 8 朱承睿,丁仁戡,孙旖旎. 脂脂肪酸结合蛋白与严重脓毒症患者肠道损伤的相关性研究. 中华危重病急救医学 2014; 26: 420-424
- 9 Sun JJ, Chu ZJ, Liu WF, Qi SF, Yang YH, Ge PL, Zhang XH, Li WS, Yang C, Zhang YM. Perirenal space blocking restores gastrointestinal function in patients with severe acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 8752-8757 [PMID: 24379596 DOI: 10.3748/wjg.v19.i46.8752]
- 10 高红梅,姚俊利,路玲. 急性胃肠损伤分级在重症监护病房患者早期肠内营养支持中应用的临床研究. 中华危重病急救医学 2014; 26: 214-218
- 11 任建安. 危重症患者急性胃肠损伤与肠康复治疗. 中华消化外科杂志 2013; 12: 21-24
- 12 Barker LA, Gray C, Wilson L, Thomson BN, Shedd S, Crowe TC. Preoperative immunonutrition and its effect on postoperative outcomes in well-nourished and malnourished gastrointestinal surgery patients: a randomised controlled trial. *Eur J Clin Nutr* 2013; 67: 802-807 [PMID: 23801093 DOI: 10.1038/ejcn.2013.117]
- 13 Hsu MH, Yu YE, Tsai YM, Lee HC, Huang YC, Hsu HS. Combined enteral feeding and total parenteral nutritional support improves outcome in surgical intensive care unit patients. *J Chin Med Assoc* 2012; 75: 459-463 [PMID: 22989542 DOI: 10.1016/j.jcma.2012.06.017]
- 14 Stupak DP, Abdelsayed GG, Soloway GN. Motility disorders of the upper gastrointestinal tract in the intensive care unit: pathophysiology and contemporary management. *J Clin Gastroenterol* 2012; 46: 449-456 [PMID: 22469641 DOI: 10.1097/MCG.0b013e31824e14c1]
- 15 Shi WZ, Miao YL, Yakoo MY, Cao JB, Zhang H, Jiang YG, Xu LH, Mi WD. Recovery of gastrointestinal function with thoracic epidural vs. systemic analgesia following gastrointestinal surgery. *Acta Anaesthesiol Scand* 2014; 58: 923-932 [PMID: 25060245 DOI: 10.1111/aas.12375]
- 16 Guo H, Zhu SF, Zhang RR, Zhao XL, Wan MH, Tang WF. Electroacupuncture Ameliorates Acute Lung Injury through Promoting Gastrointestinal Motility in Rats with Acute Pancreatitis. *Evid Based Complement Alternat Med* 2014; 2014: 943596 [PMID: 24595257 DOI: 10.1097/CNQ.000000000000019]

## ■名词解释

急性胃肠损伤分级:欧洲危重病医学会于2012年提出了AGI概念、分级及治疗标准,其可对危重症胃肠功能障碍患者病情进行分级,使其更好地进行临床干预。

- 24876883]  
17 Zhang D, Li N, Dong L, Fu Y, Liu Z, Wang Y.  
Evaluation of clinical application of ESICM acute

gastrointestinal injury grading system: a single-center observational study. *Chin Med J (Engl)* 2014; 127: 1833-1836 [PMID: 24824240]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



#### ■同行评价

本文探讨AGI分级标准对危重症患者胃肠功能障碍评估价值及其在EN中的应用效果,内容及题材较新颖,目前在国内外研究较少,实验设计合理、科学,具有一定的临床指导意义。

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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

#### 1 修回稿信件

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

#### 2 稿件修改

来稿经同行专家审查后,认为内容需要修改、补充或删除时,本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改,而作者必须于15天内将单位介绍信、作者复核要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部,同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统;逾期发回的,作重新投稿处理。

#### 3 版权

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



# 早期肠内营养联合埃索美拉唑对老年人工髋关节置换术后患者消化系并发症的影响

谢伟

## ■背景资料

老年是髋部疾病高发的人群, 髋部疾病对患者生命健康与生活质量造成严重影响。髋关节置换术是治疗髋部等疾病的首选治疗手段, 具有显著疗效, 已经成为众多学者的共识。不尽人意的是, 该手术并发症多, 其中消化系并发症最为常见, 不利于手术治疗效果。

谢伟, 西宁市第二人民医院骨科 青海省西宁市 810003  
谢伟, 副主任医师, 主要从事关节置换术的临床应用研究。  
作者贡献分布: 课题设计、研究过程等均由谢伟完成。  
通讯作者: 谢伟, 副主任医师, 810003, 青海省西宁市城北区祁连路892号, 西宁市第二人民医院骨科。1339946939@qq.com  
电话: 024-23986463  
收稿日期: 2014-08-16 修回日期: 2014-09-14  
接受日期: 2014-09-17 在线出版日期: 2014-10-28

## Clinical effects of early enteral nutrition in combination with esomeprazole for digestive complications in elderly patients after artificial hip joint replacement

Wei Xie

Wei Xie, Department of Orthopedics, the Second People's Hospital of Xi'ning, Xi'ning 810003, Qinghai Province, China

Correspondence to: Wei Xie, Associate Chief Physician, Department of Orthopedics, the Second People's Hospital of Xi'ning, 892 Qilian Road, Chengbei District, Xi'ning 810003, Qinghai Province, China. 1339946939@qq.com  
Received: 2014-08-16 Revised: 2014-09-14  
Accepted: 2014-09-17 Published online: 2014-10-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the clinical effects of early enteral nutrition (EN) in combination with esomeprazole for digestive complications in elderly patients after artificial hip joint replacement.

**METHODS:** One hundred and twenty elderly patients receiving artificial hip joint replacement at our hospital from January 2009 to December 2013 were randomly divided into either a control group or an observation group ( $n = 60$  for each group). Both groups received conventional postoperative therapy. The control group was additionally treated with esomeprazole alone, and the observation group was additionally given early EN in combination with esomeprazole. After treatment, the pH value of gastric juice,

incidences of gastric mucosal lesions, nutritional indices and rate of postoperative digestive complications were compared, and adverse reactions were observed.

**RESULTS:** Immediately after surgery, the pH value of gastric juice was similar between the two groups ( $P > 0.05$ ). However, on days 1, 3 and 7 after surgery, the pH values of gastric juice were significantly higher in the observation group than in the control group ( $P < 0.05$  for all). The incidence of gastric mucosal lesions in the observation group was significantly lower than that in the control group. Before surgery, there was no statistical differences in albumin, prealbumin, total protein and body weight ( $P > 0.05$  for all). After 7 d of treatment, in comparison to the control group, the above nutritional indices in the observation group were statistically higher ( $P < 0.05$  for all). As to digestive complications, the numbers of cases with nausea or vomiting, regurgitation or belching, abdominal distension or constipation, loss of appetite, and gastrointestinal hemorrhage were respectively 6, 5, 5, 5 and 3, respectively, in the observation group, which were statistically lower than those in the control group (17, 14, 13, 15 and 8;  $P < 0.05$  for all); however, the number of cases with abdominal pain or diarrhea in the two groups was similar ( $P > 0.05$ ). During treatment, only one case of elevated alanine transaminase was observed in the observation group.

**CONCLUSION:** Early EN in combination with esomeprazole in elderly patients after artificial hip joint replacement can effectively decrease gastric acidity for protection of the gastric mucosa, improve nutrition status, and significantly reduce the rate of digestive complications with less adverse reactions.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Early enteral nutrition; Esomeprazole;

## ■同行评议者

甘华田, 教授, 四川大学华西医院老年消化内科

## Artificial hip joint replacement; Elderly; Digestive complications

Xie W. Clinical effects of early enteral nutrition in combination with esomeprazole for digestive complications in elderly patients after artificial hip joint replacement. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(30): 4674-4678 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4674.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i30.4674>

## 摘要

**目的:** 探讨早期肠内营养(enteral nutrition, EN)联合埃索美拉唑对老年人工髋关节置换术后消化系并发症的影响, 为临床治疗提供相应依据。

**方法:** 收集2009-01/2013-12在西宁市第二人民医院收治的120例行人工髋关节置换术的老年患者作为研究对象, 随机分为对照组60例和观察组60例。两组均给予常规术后治疗, 对照组在常规治疗的基础上给予埃索美拉唑治疗; 观察组在对照组的基础上给予早期EN联合治疗。比较2组患者术后胃液pH值、胃黏膜病变、营养学指标、术后消化系并发症发生率, 并观察不良反应发生情况。

**结果:** 两组患者在术后即刻的胃液pH值比较无统计学差异( $P>0.05$ ), 但术后第1、3、7天观察组胃液pH值明显高于对照组, 比较均有统计学意义(均 $P<0.05$ )。胃镜检查结果显示, 观察组患者胃黏膜炎症、糜烂、溃疡及出血等病变发生率显著低于对照组, 比较均有统计学意义(均 $P<0.05$ )。术前, 两组患者营养学指标白蛋白、前白蛋白、总蛋白及体质量比较无统计学差异(均 $P>0.05$ ), 治疗后7 d, 与对照组相比, 观察组上述营养学指标均明显升高, 比较都有统计学差异(均 $P<0.05$ )。术后消化系并发症发生率方面, 观察组发生恶心呕吐、反酸嗝气、腹胀便秘、食欲不振和消化系出血并发症的例数分别为6、5、5、5和3例, 明显低于对照组的17、14、13、15和8例, 比较都有统计学差异(均 $P<0.05$ ), 发生腹痛腹泻的例数在两组之间比较无统计学差异( $P>0.05$ )。用药期间, 仅观察组有1例出现血清谷丙转氨酶升高的不良反应。

**结论:** 老年人工髋关节置换术后应用早期EN联合埃索美拉唑治疗可以有效降低胃液酸度, 保护胃黏膜, 具有显著营养作用, 还可以明显降低术后消化系并发症发生率, 且不良反应少, 值得临床进一步研究及推广。

**关键词:** 早期肠内营养; 埃索美拉唑; 人工髋关节置换术; 老年; 消化系并发症

**核心提示:** 早期肠内营养(enteral nutrition, EN)有助于保护患者胃肠道功能, 有利于患者营养吸收, 进一步促进患者恢复; 埃索美拉唑可有效抑制胃酸并降低其对于消化系的损伤; 二者联合治疗作为一种新的预防髋关节置换术后消化系并发症手段, 疗效显著, 值得临床上进一步研究与推广应用。

谢伟. 早期肠内营养联合埃索美拉唑对老年人工髋关节置换术后患者消化系并发症的影响. *世界华人消化杂志* 2014; 22(30): 4674-4678 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4674.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i30.4674>

## 0 引言

老年是股骨颈骨折等髋部疾病的好发人群, 起病后愈合能力差, 非手术或内固定治疗容易导致严重并发症的发生, 不但会使髋关节功能丧失, 甚至会缩短预期寿命<sup>[1]</sup>。目前, 髋关节置换术是治疗髋部等疾病的首选治疗手段, 具有显著疗效, 已经成为众多学者的共识<sup>[2]</sup>。不尽人意的是, 该手术并发症多, 其中消化系并发症最为常见, 不利于手术治疗效果<sup>[3]</sup>。近年来, 相关研究表明早期肠内营养(enteral nutrition, EN)可以有效地降低外伤及术后患者消化系并发症发生率, 并具有经济方便的优点, 已经越来越受到临床重视<sup>[4]</sup>。然而, 目前关于早期EN应用于髋关节置换术后患者中的相关研究不多。本研究旨在探讨早期EN联合埃索美拉唑对老年人工髋关节置换术后消化系并发症的影响, 为临床治疗提供相应依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集2009-01/2013-12在西宁市第二人民医院收治的行人工髋关节置换术的老年患者共120例, 随机分为2组, 每组各60例。纳入标准: (1)年龄 $>60$ 岁; (2)均行人工髋关节置换术; (3)排除严重心肺、肝肾功能不全患者。观察组男34例, 女26例, 平均年龄 $68.4 \pm 7.6$ 岁; 对照组男32例, 女28例, 平均年龄 $70.1 \pm 5.9$ 岁。两组患者在性别、年龄等基本资料方面比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ), 具有可比性。所有患者均知情同意, 自愿参与研究。

## 1.2 方法

**1.2.1 治疗:** 两组患者均给予常规术后治疗。对照

## ■研究前沿

近年来, 髋关节置换术后消化系并发症高发, 给患者带来较大痛苦, 因此, 如何降低患者术后此类并发症已经成为临床工作与研究亟需解决的重点之一。研究表明早期肠内营养(enteral nutrition, EN)可以有效地改善消化系功能, 并具有经济方便的优点, 已经越来越受到临床重视, 成为临床研究热点。

## ■相关报道

EN在改善消化系功能方面具有重要意义, 宋茂力等在全胃切除术后使用EN治疗, 患者胃黏膜损伤形成被中断。周文策等在胆源性胰腺炎术后采用EN可中和胃酸及胃蛋白酶作用, 有效减少患者消化系出血。同时, 周兴等研究显示, 埃索美拉唑可以明显降低颅脑损伤术后患者胃液酸度, 有效改善患者生活质量。

## ■创新盘点

骨科髋关节置换术后消化系统并发症高发,然而到目前为止,关于如何预防此类并发症发生的研究较少。早期EN联合埃索美拉唑作为一种预防髋关节置换术后消化系统并发症的治疗手段,在临床研究中未见报道,值得深入研究。

表 1 两组患者术后胃液pH值比较 (mean  $\pm$  SD,  $n = 60$ )

分组	术后即刻	术后第1天	术后第3天	术后第7天
对照组	1.07 $\pm$ 0.53	1.68 $\pm$ 0.56	2.07 $\pm$ 0.64	2.28 $\pm$ 0.56
观察组	1.09 $\pm$ 0.57	2.01 $\pm$ 0.55	3.29 $\pm$ 0.47	3.96 $\pm$ 0.64
$t$ 值	0.20	3.26	11.90	15.30
$P$ 值	0.843	0.002	0.000	0.000

表 2 两组患者术后胃黏膜改变比较 ( $n = 60$ )

分组	胃黏膜炎症	胃黏膜糜烂	胃黏膜溃疡	胃黏膜出血
对照组	22	19	16	10
观察组	8	9	5	2
$\chi^2$ 值	8.71	4.66	6.98	4.54
$P$ 值	0.003	0.031	0.008	0.033

表 3 两组患者术后营养学指标比较 ( $n = 60$ , mean  $\pm$  SD)

分组	白蛋白(g/L)	前白蛋白(mg/L)	总蛋白(g/L)	体质量(kg)
对照组				
术前	36.92 $\pm$ 4.34	130.71 $\pm$ 31.29	70.24 $\pm$ 6.38	62.47 $\pm$ 10.31
治疗7 d	31.22 $\pm$ 3.67 <sup>a</sup>	178.76 $\pm$ 33.46 <sup>a</sup>	53.71 $\pm$ 6.29 <sup>a</sup>	47.32 $\pm$ 8.78 <sup>a</sup>
观察组				
术前	37.27 $\pm$ 4.76	133.78 $\pm$ 34.66	71.36 $\pm$ 7.24	62.61 $\pm$ 11.83
治疗7 d	35.26 $\pm$ 2.48 <sup>ce</sup>	231.22 $\pm$ 36.24 <sup>ce</sup>	59.44 $\pm$ 6.47 <sup>ce</sup>	54.71 $\pm$ 10.12 <sup>ce</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 对照组术前; <sup>b</sup> $P < 0.05$  vs 观察组术前; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 对照组术后7 d.

组为埃索美拉唑组,埃索美拉唑40 mg+生理盐水100 mL静滴,2次/d。观察组在对照组的基础上联合应用早期EN治疗,在术后24-48 h插入胃管,无明显胃潴留患者立即给予小剂量流质,48 h后胃管注入要素饮食,持续24 h滴注。逐渐增量,从每日所需总量1/4起始,每日以1/4的量逐渐递增,6-7 d后EN达到全量2500 mL  $\pm$  500 mL。

1.2.2 观察指标:术前和术后治疗过程中,检测并比较两组患者胃液pH变化,胃镜检查两组患者胃黏膜改变,检测两组患者白蛋白、前白蛋白、总蛋白和体质量等营养学指标。观察比较两组患者消化系统并发症发生情况及不良反应。

**统计学处理** 采用统计学软件SPSS16.0对数据进行分析,计量资料以mean  $\pm$  SD表示,采用 $t$ 检验比较分析,计数资料采用 $\chi^2$ 检验比较分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 两组患者术后胃液pH值比较 术后即刻,两组

患者胃液pH值比较无统计学差异( $P > 0.05$ ),但观察组胃液pH值上升较对照组快,术后第1、3、7天观察组胃液pH值明显高于对照组,比较均有统计学意义(均 $P < 0.05$ )(表1)。

2.2 两组患者胃黏膜改变比较 经胃镜检查,观察组患者胃黏膜炎症、糜烂、溃疡及出血等病变发生率显著低于对照组发生率,差异均具有统计学意义(均 $P < 0.05$ )(表2)。

2.3 两组患者术后营养学指标比较 术前,两组患者相关营养学指标比较无统计学差异(均 $P > 0.05$ )。与术前相比,两组患者治疗7 d后白蛋白、总蛋白及体质量明显下降,前白蛋白明显升高,比较均有统计学差异(均 $P < 0.05$ )。治疗7 d后,与对照组相比,观察组白蛋白、前白蛋白、总蛋白及体质量明显升高,比较都有统计学差异(均 $P < 0.05$ )(表3)。

2.4 两组患者术后消化系统并发症比较 观察组发生恶心呕吐、反酸暖气、腹胀便秘、食欲不振和消化系出血并发症的例数分别为6、5、5、

## ■应用要点

本研究中,早期EN与埃索美拉唑联合治疗可以显著改善患者营养,减少患者胃黏膜损伤,有效预防老年髋关节置换术后消化系统并发症。



表 4 两组患者术后消化系并发症比较 [ $n = 60, n(\%)$ ]

并发症	对照组	观察组	$\chi^2$ 值	$P$ 值
恶心、呕吐	17(28.3)	6(10.0)	6.51	0.011
反酸、嗝气	14(23.3)	5(8.3)	5.07	0.024
腹痛、腹泻	12(20.0)	7(11.7)	0.56	0.211
腹胀、便秘	13(21.7)	5(8.3)	4.18	0.041
食欲不振	15(25.0)	5(8.3)	6.00	0.014
胃肠道出血	8(16.7)	3(5.0)	4.23	0.040

# ■名词解释

肠内营养: 是经胃肠道提供代谢需要的营养物质及其他各种营养素的营养支持方式, 有利于营养素直接经肠吸收、利用, 更符合生理, 有助于维持肠黏膜结构和屏障功能完整性。

5和3例, 明显低于对照组的17、14、13、15和8例, 比较都有统计学差异(均 $P < 0.05$ ), 发生腹痛腹泻的例数在两组之间比较无统计学差异( $P > 0.05$ )(表4)。

2.5 不良反应 用药期间, 对照组未出现明显不良反应, 观察组有1例出现血清谷丙转氨酶升高, 停药后完全恢复正常。

## 3 讨论

老年患者骨质疏松, 轻微外伤即可导致股骨颈骨折等髋部疾病, 再加上老年患者脏器功能退化, 免疫功能下降, 或原有并存的基础疾病, 骨折后危害大, 病死率高<sup>[5]</sup>。随着医学的发展, 人工髋关节置换术为老年髋部疾病提供了有效的治疗方法, 已经在临床上取得了良好的效果, 可以有效提升患者的生活质量<sup>[6]</sup>。但是, 该手术存在多种危险因素, 容易导致消化系并发症的发生。其中, 术中失血过多及手术本身的刺激可以导致应激性溃疡的发生; 饮食结构改变, 排便习惯及姿势变化容易引起便秘; 阿片类药物镇静和麻醉处理将刺激胃肠道收缩, 痉挛, 从而引发恶心呕吐、腹胀腹痛等现象<sup>[7]</sup>。而且, 老年患者常有胃肠性疾病造成的消化不良, 会进一步促进消化系并发症的发生。当发生这些并发症时, 对手术治疗效果非常不利<sup>[8,9]</sup>。因此, 减少人工髋关节术后消化系并发症发生率是手术成功的一个重要环节, 对患者的预后意义重大。

埃索美拉唑是一种质子泵抑制剂, 具有良好的抑制胃酸作用, 特异性高, 且作用持续时间长, 能够快速使胃酸pH值上升<sup>[10]</sup>。与其他的质子泵抑制剂相比, 埃索美拉唑个体间差异小, 抑制胃酸作用更稳定<sup>[11,12]</sup>, 已经广泛应用到了外伤及术后患者对消化系并发症的防治中, 并取得了一定的疗效。周兴等<sup>[13]</sup>研究显示, 埃索美拉唑可以明显降低颅脑损伤术后患者胃液酸度, 减少消化系并发症的发生, 有效改善患者生活质量。本

研究中, 使用埃索美拉唑治疗方案, 患者在治疗后的1、3和7 d胃液pH值较术后即刻明显升高, 酸度降低; 其白蛋白、总蛋白和体质量较术前降低, 而前白蛋白明显升高, 表明埃索美拉唑在降低老年人工髋关节置换术后胃液酸度方面具有重要作用, 胃功能受到保护, 患者营养状况得以改善, 而且, 该药治疗不良反应少, 安全性好, 与相关报道相似。

越来越多的研究<sup>[14,15]</sup>显示, 早期EN可以明显减少外伤及术后患者消化系并发症发生率。通过早期的EN支持, 能够有效中断胃黏膜损伤形成; 适量的胃内容物可以刺激胃肠蠕动形成, 增加胃黏膜血流, 使黏膜上皮细胞不会由于缺血缺氧而发生坏死, 从而加强对黏膜的保护修复, 并增强胃黏膜的防御作用; 同时营养液可以中和胃酸及胃蛋白酶, 可以有效防治消化系出血<sup>[16]</sup>。然而, 到目前为止, 人工髋关节置换术后应用早期EN治疗的研究甚少。本研究中采用早期EN联合埃索美拉唑联合治疗方案, 结果表明, 相对于单独使用埃索美拉唑治疗, 其更能明显降低老年人工髋关节置换术后患者胃液酸度, 患者胃黏膜炎症、糜烂、溃疡及出血发生率显著降低, 患者消化系并发症发生率均显著减低。这可能与早期EN与埃索美拉唑在保护胃功能方面的协同作用相关, 一方面, 埃索美拉唑减少胃酸分泌, 降低胃液酸度, 另一方面, 早期EN可中和胃酸并加强胃黏膜修复。此外, 联合治疗组患者在白蛋白、前白蛋白、总蛋白和体质量等营养学指标改善方面优于单独埃索美拉唑治疗组患者, 表明早期EN联合埃索美拉唑治疗可加速患者营养状况改善, 从而促进机体康复。这可能与早期EN在促进胃肠道功能恢复方面的作用密切相关。早期摄入营养素后可以刺激消化液及胃肠激素的分泌, 促进胆囊的收缩和胃肠运动, 从而增加内脏血流, 使代谢过程更符合生理, 有利于肠道功能的恢复。同时, 其营养物质更接近人

## ■同行评价

本文语言流畅,逻辑性强,具有一定的可读性.

体的电解质和微量元素,有利于机体的康复.并且,通过上述作用,机体可以尽早获得营养物质,达到保持体质量、改善蛋白代谢的目的<sup>[17]</sup>.

总之,老年人工髋关节置换术后应用早期EN联合埃索美拉唑治疗可以有效降低胃液酸度,降低胃黏膜病变及消化系并发症发生率,并促进机体康复,且不良反应少,值得临床进一步研究及推广.

## 4 参考文献

- 1 郑季南, 方钧, 陈敏葵, 洪庆南, 王森林. 人工髋关节置换术治疗老年股骨颈骨折. 中国骨与关节损伤杂志 2013; 28: 140-141
- 2 马战备. 人工髋关节置换术治疗老年股骨颈骨折患者的疗效评价. 实用临床医药杂志 2013; 17: 131-133
- 3 洪方业, 叶斌, 黄朝辉, 张海林, 张弛. 高龄髋部骨折患者消化道并发症的早期干预. 淮海医药 2010; 28: 305-306
- 4 Dickerson RN, Mitchell JN, Morgan LM, Maish GO, Croce MA, Minard G, Brown RO. Disparate response to metoclopramide therapy for gastric feeding intolerance in trauma patients with and without traumatic brain injury. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2009; 33: 646-655 [PMID: 19892902 DOI: 10.1177/0148607109335307]
- 5 李青梅. 老年股骨颈骨折的临床护理及康复指导. 山西医药杂志 2013; 42: 704-705
- 6 唐洪钦, 赵丽, 谭小云, 焦培培, 乐惠飞. 全程式健康教育处方在人工髋关节置换术患者中的应用. 护理管理杂志 2013; 13: 136-138
- 7 唐跃先. 人工全髋关节置换术和股骨头置换术治疗老年股骨颈骨折的疗效分析. 重庆医学 2010; 39: 727-728
- 8 唐海远. 人工全髋关节置换术并发症的观察及护理. 现代中西医结合杂志 2009; 18: 323-324
- 9 郭哲, 王辉, 桂召柳, 毛路, 童力, 陈辉海, 赵广超, 曹松松, 吴天亮, 权良忠. 人工全髋关节置换术104例临床疗效分析. 中国综合临床 2011; 27: 188-190
- 10 张晖敏, 廖应雷. 埃索美拉唑的临床应用新进展. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2064-2069
- 11 Morais P, Baudrier T, Mota A, Cunha AP, Cadinha S, Barros AM, Azevedo F. Nonpigmented fixed drug eruption induced by esomeprazole. *Cutan Ocul Toxicol* 2010; 29: 217-220 [PMID: 20470240 DOI: 10.3109/15569527.2010.484824]
- 12 Hsu PI, Lai KH, Liu CP. Esomeprazole with clopidogrel reduces peptic ulcer recurrence, compared with clopidogrel alone, in patients with atherosclerosis. *Gastroenterology* 2011; 140: 791-798 [PMID: 21144850 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.11.056]
- 13 周兴, 张鹏远, 牛光明, 陶胜忠, 苏芳忠. 埃索美拉唑对防治颅脑损伤术后消化道并发症的作用. 广东医学 2011; 32: 3127-3129
- 14 宋茂力, 邹小明, 李晓林. 全胃切除术后应用不同营养制剂进行肠内营养58例. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2195-2197
- 15 周文策, 张辉, 李汛, 李玉民, 张磊, 孟文勃, 朱晓亮. 内镜联合早期肠内营养治疗急性重症胆源性胰腺炎31例. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1684-1688
- 16 潘明远, 王光绿, 罗大山, 邓峰. 早期肠内营养对老年重型颅脑外伤患者消化道并发症的影响. 中国老年学杂志 2009; 29: 2528-2529
- 17 乔志正. 早期肠内营养对老年重型颅脑外伤患者消化道并发症的影响. 中国医师杂志 2012; 14: 389-390

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



# 早期肠内营养配合护理对策对神经内科重症患者的营养状况及预后的影响

马丽萍, 仲桂英, 雷占萍, 李南香

马丽萍, 仲桂英, 雷占萍, 李南香, 青海大学附属医院神经内科 青海省西宁市 810001

马丽萍, 主管护师, 主要从事神经内科护理的研究。

作者贡献分布: 本文主要由马丽萍写作完成; 实验设计与完成由马丽萍、仲桂英、雷占萍及李南香共同参与完成。

通讯作者: 马丽萍, 主管护师, 810001, 青海省西宁市同仁路29号, 青海大学附属医院神经内科. 873599702@qq.com

收稿日期: 2014-08-14 修回日期: 2014-08-26

接受日期: 2014-09-03 在线出版日期: 2014-10-28

## Early enteral nutrition with nursing intervention for improvement of nutritional status and prognosis in critically ill patients in gastroenterology department

Li-Ping Ma, Gui-Ying Zhong, Zhan-Ping Lei, Nan-Xiang Li

Li-Ping Ma, Gui-Ying Zhong, Zhan-Ping Lei, Nan-Xiang Li, Department of Neurology, the Affiliated Hospital of Qinghai University, Xining 810001, Qinghai Province, China

Correspondence to: Li-Ping Ma, Nurse-in-charge, Department of Neurology, the Affiliated Hospital of Qinghai University, 29 Tongren Road, Xining 810001, Qinghai Province, China. 873599702@qq.com

Received: 2014-08-14 Revised: 2014-08-26

Accepted: 2014-09-03 Published online: 2014-10-28

### Abstract

**AIM:** To investigate the impact of early enteral nutrition with nursing intervention on the nutritional status and prognosis of critically ill patients in gastroenterology department.

**METHODS:** One hundred and twenty critically ill patients treated in gastroenterology department of our hospital from January 2013 to October 2013 were randomly into either an experimental or a control group, with 60 patients in each group. The experimental group was treated by early enteral nutrition with parenteral nutrition, and the control group received only simple parenteral nutrition therapy. The same care measures were used in the two groups. Duration of hospitalization, cure rate, rate of death, rate of complications, rate of cases with sequelae, and

protein contents were compared between the two groups.

**RESULTS:** The duration of hospitalization was significantly shorter in the experimental group than in the control group ( $P < 0.05$ ). The cure rate was significantly higher in the experimental group than in the control group (83.33% vs 38.33%,  $P < 0.05$ ). The rates of complications and sequelae were significantly lower in the experimental group than in the control group (1.67% vs 13.33%, 3.33% vs 18.33%,  $P < 0.05$ ). There were no significant differences between the two groups in total protein, hemoglobin, albumin and transferrin before treatment ( $P > 0.05$ ); however, total protein and transferrin after treatment were significantly higher in the experimental group than in the control group ( $P < 0.05$ ), although there was no significant differences between the two groups in hemoglobin and albumin after treatment ( $P > 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Early enteral nutrition with nursing intervention can significantly improve nutritional status and prognosis of critically ill patients in gastroenterology department.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Nutritional status; Critically ill patients; Early enteral nutrition

Ma LP, Zhong GY, Lei ZP, Li NX. Early enteral nutrition with nursing intervention for improvement of nutritional status and prognosis in critically ill patients in gastroenterology department. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(30): 4679-4682 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4679.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4679>

### 摘要

**目的:** 探讨早期肠内营养配合护理对策对神经内科重症患者的营养状况及预后的影响。

**方法:** 选择2013-01/2013-10青海大学附属医院

### ■背景资料

消化内科重症患者通常伴有患者的代谢率升高, 患者机体营养的供应往往不能满足集体高代谢的能量消耗与营养需求。在对重症消化内科患者进行常规对症治疗的同时, 应在其代谢出现高潮期及时提供足够的营养物质, 尽量减少患者体内蛋白质的缺失, 满足患者机体高代谢的能量和其他营养物质的需要。

### ■同行评议者

潘阳林, 副主任医师, 副教授, 中国人民解放军第四军医大学西京医院消化病医院消化六科



## ■ 研究前沿

对营养支持治疗以及相关的护理是目前消化内科重症患者治疗的重要组成部分。

接诊的120例消化内科重症患者进行研究。按照随机数表法将其随机分为观察组和对照组。其中观察组60例,对照组为60例。对照组采用常规治疗的护理下的肠外营养支持治疗及肠内营养,观察组采用早期肠内营养配合肠外营养,在对照组基础上给予肠内营养的护理。然后进行两组患者住院时长、治愈人数、并发症人数、后遗症人数以及其蛋白含量的比较。

**结果:** 观察组的住院时长明显短于对照组( $P<0.05$ ); 观察组和对照组的治愈率分别为83.33%和38.33%, 观察组的治愈人数多于对照组的治愈人数( $P<0.05$ ); 观察组与对照组的并发症发病率分别为1.67%和13.33%, 观察组少于对照组( $P<0.05$ ); 观察组与对照组的后遗症发生比率为3.33%与18.33%, 观察组少于对照组( $P<0.05$ )。两组患者在治疗前总蛋白、血红蛋白、清蛋白和转铁蛋白相比没有统计学差异( $P>0.05$ ); 治疗后观察组的总蛋白和转铁蛋白高于对照组( $P<0.05$ ); 治疗后观察组的血红蛋白和清蛋白比较也无统计学差异( $P>0.05$ )。

**结论:** 早期肠内营养配合肠内营养的护理对策对消化内科重症患者的营养改良状况优于常规治疗的护理下的肠外营养支持治疗及肠内营养,能够增强患者的免疫力,值得临床推广。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 早期肠内营养; 消化内科重症患者; 营养状况

**核心提示:** 本文研究显示早期肠内营养配合护理对策对消化内科重症患者的营养改良状况优于常规治疗的护理下的肠外营养支持治疗及肠内营养,早期肠内营养配合护理对策能提高消化内科重症患者的治愈率,并能减短治疗所需的时间,减少并发症的发生率,同时也预防和减少了患者后遗症的发生。

马丽萍, 仲桂英, 雷占萍, 李南香. 早期肠内营养配合护理对策对神经内科重症患者的营养状况及预后的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(30): 4679-4682 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4679.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4679>

## 0 引言

消化内科的危重患者通常表现为高代谢体质,机体蛋白质消耗很快,容易造成营养不良而蛋白质的消耗又会影响患者的免疫功能<sup>[1,2]</sup>。免疫

功能的降低又会导致产生各种感染。对营养支持治疗以及相关的护理是目前消化内科重症患者治疗的重要组成部分<sup>[3]</sup>。我院对早期肠内营养配合护理对策对消化内科重症患者的营养状况及预后的影响进行了探讨。现将报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择2013-01/2013-10青海大学附属医院接诊的120例消化内科重症患者进行研究。按照随机数表法将其随机分为观察组和对照组。整个研究均在患者的知情同意下进行,并经过我院伦理委员会的批准。其中观察组60例,男37例,女23例,年龄49-79岁,平均年龄68.5岁 $\pm$ 5.3岁,其中重症胰腺炎患者23例,急性肝衰竭患者16例,肠梗阻10例,严重肠炎9例,急性胆囊炎2例。对照组为60例,男31例,女29例,年龄54-88岁,平均年龄67.5岁 $\pm$ 6.8岁,其中重症胰腺炎患者22例,急性肝衰竭患者17例,肠梗阻8例,严重肠炎10例,急性胆囊炎3例。所有患者行血常规、血生化以及大小便等检查均未发现重要器官的病变。两组患者在性别、年龄、病情等方面差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

### 1.2 方法

**1.2.1 治疗:** 两组患者均于发病以后的36-72 h内使用硅胶鼻胃管对患者进行营养支持。两组患者在留置鼻胃管后,均先给予鼻饲的流质,如果患者24 h的胃潴留量 $<300$  mL,而且观察回抽胃液以及大便的颜色无异常,则可以开始进行肠内营养的支持治疗,先给予肠内的营养混悬液即TPF制剂(由强生公司生产),也可采用纯牛奶或者豆浆进行间歇性鼻饲。2-4 h输注1次,每次可以100-150 mL,晚上也需做两次鼻饲。注意鼻饲前需评估患者全身以及消化道的情况,并做好相应护理记录严防发生并发症。两组患者进行肠外营养支持治疗的方法为输注营养液的供能大约110-130 kJ/(kg $\cdot$ d); 营养液内糖与脂肪的比例为5:5,其热氮比为500-600 kJ:1 g; 其他还含有25%的脂肪乳剂、氨基酸液、50%葡萄糖以及其他的微量元素等。对照组采用常规的护理方法:根据患者情况来制定个体化的肠内营养的策略,在鼻饲时准确地记录液体的出入量,并仔细检查患者电解质平衡情况。注意患者的血压及脉搏等生命体征。患者鼻饲时,床头需要抬高35-45度,以免发生呕吐或者返流等情况。保持口腔的清洁,防止口腔的感染。肠内营养护理:(1)输液的护理:护理人员需要时刻注意患者

表 1 两组患者临床疗效情况比较 ( $n = 60$ )

分组	住院时长(d)	治愈 $n(\%)$	并发症 $n(\%)$	后遗症 $n(\%)$
观察组	33.34 ± 12.34	53(83.33)	1(1.67)	3(3.33)
对照组	67.23 ± 23.12	23(38.33)	8(13.33)	11(18.33)
统计值	10.0168	22.8869	5.8859	5.1752
$P$ 值	<0.0001	<0.0001	0.0153	0.0229

## ■ 相关报道

注意预防患者因长期的鼻饲以及卧床所引起的并发症, 做好必要的宣传教育工作, 并保持病房整洁, 为患者营造良好医疗环境。

表 2 两组患者治疗后营养指标比较 ( $n = 60$ , mean ± SD, g/L)

分组	总蛋白		血红蛋白		清蛋白		转铁蛋白	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组	57.22 ± 7.11	63.23 ± 6.34	93.24 ± 12.25	121.89 ± 13.23	26.34 ± 5.89	29.30 ± 5.40	1.58 ± 0.44	1.83 ± 0.33
对照组	57.34 ± 3.43	60.23 ± 5.33	94.29 ± 9.23	116.34 ± 23.34	27.32 ± 7.39	29.44 ± 4.34	1.61 ± 0.78	1.69 ± 0.42
$t$ 值	0.1177	2.8056	0.5303	1.6024	0.8033	0.1565	0.2595	2.0303
$P$ 值	0.9065	0.0059	0.5969	0.1117	0.4234	0.8759	0.7957	0.0446

营养液的输注速度, 速度一般是50 mL/h, 由缓慢逐渐加快, 最后稳定于800-1600 mL/d. 营养液的浓度从低到高, 起始浓度为10%, 最后可维持于20%-25%的水平. 输注营养液的管道需要每日更换, 接头处要保持无菌的状态; (2)导管的护理: 护理人员熟练掌握喂养管的理化性质. 注意导管通畅与否, 每次在喂养结束以后, 用生理盐水进行冲洗管道, 以免堵塞喂养管道. 若管道不通, 则用温水进行冲洗, 必要时需要更换管道; (3)并发症的护理: 在进行肠内营养期间, 谨防各种并发症, 主要的有代谢性的并发症和感染性并发症等. 护理人员需严格掌握各类并发症的护理方法. 在出现早期即对患者进行紧急处理. 然后记录两组患者的住院时长、治愈人数、并发症人数、后遗症人数以及其蛋白含量.

1.2.2 疗效评定标准: 记录患者的住院时长、治愈人数、并发症人数、后遗症人数以及其蛋白含量, 然后进行对比分析.

**统计学处理** 采用SPSS18.0软件进行统计学处理, 计数资料采用 $\chi^2$ 检验, 计量资料采用 $t$ 检验,  $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

## 2 结果

2.1 两组患者临床疗效情况比较 观察和比较两组患者经治疗后住院时长、治愈人数、并发症人数、后遗症人数, 并计算其总有效率, 两组患者总蛋白治疗前相比, 显示两者有统计学差异( $t = 10.0168$ ,  $P < 0.0001$ ), 观察组住院时间短于对照组, 治愈人数、并发症人数、后遗症人数也低

于对照组(表1).

2.2 两组患者治疗后营养指标比较 观察和比较两组患者经治疗前后总蛋白、血红蛋白、清蛋白和转铁蛋白含量, 两组患者总蛋白治疗前相比, 显示两者无统计学差异( $t = 0.1177$ ,  $P = 0.9065$ ); 两组患者总蛋白治疗前相比, 显示二者有统计学差异( $t = 2.8056$ ,  $P = 0.0059$ ), 血红蛋白、清蛋白和转铁蛋白含量在治疗后差异有统计学意义(表2).

## 3 讨论

感觉及运动功能的障碍甚至发生昏迷是临床中消化内科重症患者主要的临床表现, 这些表现会直接影响患者进食及其他各项活动<sup>[4,5]</sup>. 患者长期不能进食通常会导致患者的营养不良, 消化内科重症患者体的肠胃的功能及消化吸收的功能是正常的, 其能够顺利正常地运行. 消化内科重症患者通常伴有患者的代谢率升高, 患者机体营养的供应往往不能满足集体高代谢的能量消耗与营养需求<sup>[6,7]</sup>. 重症消化内科患者的蛋白质分解和速度快且糖元消耗的也很快, 易导致患者早期即出现身体体质虚弱状态<sup>[8]</sup>. 因此, 在对重症消化内科患者进行常规对症治疗的同时, 应在其代谢出现高潮期及时提供足够的营养物质, 尽量减少患者体内蛋白质的缺失, 满足患者机体高代谢的能量和其他营养物质的需要. 此举能够维持患者机体细胞群, 尤其是神经细胞的质量, 从而促进身体各脏器功能进行恢复<sup>[9,10]</sup>. 消化内科重症患者常常会有胃肠道的并发症, 通常会有包括恶心、呕吐、腹痛、腹胀、腹泻、

## ■ 应用要点

对患者实施常规消化内科相关治疗的同时, 再给予患者有效的肠内营养支持, 维持患者的血浆蛋白的浓度, 可以提高患者的血浆胶体的渗透压.

## ■同行评价

本研究层次分明, 逻辑性强, 有一定的可读性。

便秘等等, 其中以腹泻较为常见, 其主要原因与营养液的浓度较高、温度较低以及输注速度快等等因素有关。目前营养支持已成为消化内科重症患者的重要治疗方式, 可以通过给予患者营养支持来改善患者的营养状况, 以增强免疫力, 可以缩短患者病程。对此, 可以在对患者实施常规消化内科相关治疗的同时, 再给予患者有效的肠内营养支持, 维持患者的血浆蛋白的浓度, 可以提高患者的血浆胶体的渗透压<sup>[11]</sup>。同时还需及时为消化内科重症患者补充微量元素与氨基酸等, 确保患者的基本免疫。这样可以避免患者出现继发性的脑细胞水肿, 以减少发生脑组织的不可逆损害, 进而减少了重症消化内科相关疾病所引发的后遗症, 使患者的免疫力及抵抗力得到提高。集体较好的免疫力可以预防且控制患者发生各种感染, 促进患者的病情好转, 降低重症消化内科疾病的死亡率<sup>[12,13]</sup>。注意预防患者因长期的鼻饲以及卧床所引起的并发症, 做好必要的宣传教育工作, 并保持病房整洁, 为患者营造良好医疗环境<sup>[14]</sup>。

我院的研究显示, 观察组的住院时长明显短于对照组( $P<0.05$ ); 观察组和对照组的治愈率分别为83.33%和38.33%, 观察组的治愈人数多于对照组的治愈人数( $P<0.05$ ); 观察组的死亡人数少于对照组( $P<0.05$ ); 观察组的并发症人数少于对照组( $P<0.05$ ); 观察组的后遗症人数少于对照组( $P<0.05$ )。说明早期肠内营养配合护理对策对消化内科重症患者的营养改良状况优于常规治疗的护理下的肠外营养支持治疗及肠内营养, 早期肠内营养配合护理对策能提高消化内科重症患者的治愈率, 并能减短治疗所需的时间, 减少并发症的发生率, 同时也预防和减少了患者后遗症的发生。两组患者在治疗前总蛋白、血红蛋白、清蛋白和转铁蛋白相比没有统计学差异( $P>0.05$ ); 治疗后观察组的总蛋白和转铁蛋白高于对照组( $P<0.05$ ), 说明对消化内科重症患者实施早期肠内营养配合护理对策能够有效改善患者的营养状况, 改善效果优于常规治疗的护理下的肠外营养支持治疗及肠内营养。

总之, 早期肠内营养配合护理对策对消化内科重症患者的营养改良状况优于常规治疗的护理下的肠外营养支持治疗及肠内营养, 能够增强患者的免疫力, 提高治愈率, 并能减少并发症

与后遗症的发生, 值得临床推广。

## 4 参考文献

- 1 王惠凌, 袁蓓, 苏立凯, 李烨, 王德超, 李会静, 李震中. 不同营养方式对急危重症脑卒中患者脏器功能的影响. 临床荟萃 2013; 28: 17-19
- 2 郭会丽. 神经内科危重症患者肠内营养的护理效果分析. 护士进修杂志 2014; 2: 144-145
- 3 陈佳捷, 倪玲, 包斌, 吴文惠. 肠内营养的研究进展及临床应用. 食品工业科技 2013; 34: 382-386, 391
- 4 Thibault R, Heidegger CP, Berger MM, Pichard C. Parenteral nutrition in the intensive care unit: cautious use improves outcome. *Swiss Med Wkly* 2014; 144: w13997 [PMID: 25144728 DOI: 10.4414/smww.2014.13997]
- 5 李小好, 尚桂莲, 周志斌, 姜丹. 早期免疫肠内营养支持对重症脑卒中患者营养状况和免疫功能以及预后的影响. 中国全科医学 2012; 15: 3006-3008
- 6 任文博, 王维, 苏治国, 史万超, 刘振林. 早期肠内营养对大面积脑梗死患者预后的影响. 山东医药 2013; 53: 45-47
- 7 应佩秀. 胃癌术后实施早期肠内营养支持的护理. 护士进修杂志 2013; 28: 669-670
- 8 Papadimitriou-Olivgeris M, Drougka E, Fligou F, Kolonitsiou F, Liakopoulos A, Dodou V, Anastasiou ED, Petinaki E, Marangos M, Filos KS, Spiliopoulou I. Risk factors for enterococcal infection and colonization by vancomycin-resistant enterococci in critically ill patients. *Infection* 2014 Aug 21. [Epub ahead of print] [PMID: 25143193]
- 9 杨玉平. 早期肠内营养对重症缺血性脑卒中患者营养状况及预后的影响. 中国民康医学 2012; 20: 2459-2460
- 10 曾小红, 钟静. 护理干预对重症脑卒中患者营养状况及预后的影响. 护理实践与研究 2011; 8: 34-35
- 11 高萍, 董贯忠, 辛晋敏, 辛晋敏, 李妍. NICU伴意识障碍脑卒中患者肠内营养支持的探讨. 实用临床医药杂志 2011; 15: 111-114
- 12 金林梅, 孙莉, 高岚, 曹杰. 神经危重症患者发生胃潴留相关危险因素及营养支持对预后的影响. 中风与神经疾病杂志 2013; 30: 797-800
- 13 田永芳, 孙莉, 曹杰. 肠内营养混悬液对危重脑卒中患者血清蛋白、血脂、免疫指标的影响. 中风与神经疾病杂志 2013; 30: 257-260
- 14 任喜凤, 徐芳, 赵永华. 胃癌36例术后早期肠内营养支持的护理. 中国误诊学杂志 2010; 10: 5705-5706
- 15 Calkins KL, Sanchez LA, Tseng CH, Faull KF, Yoon AJ, Ryan CM, Le T, Shew SB. Effect of High-Dose Cysteine Supplementation on Erythrocyte Glutathione: A Double-Blinded, Randomized Placebo-Controlled Pilot Study in Critically Ill Neonates. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2014 Aug 19. [Epub ahead of print] [PMID: 25139979]
- 16 赵宏军, 张晓苹, 王黎萍, 吴承龙, 马阿火. 早期肠内营养联合质子泵抑制剂对脑卒中应激性溃疡的防治作用研究. 中国全科医学 2011; 14: 3585-3587
- 17 Granell Vidal L, Sánchez Juan C, Alfonso García A. [Sensory evaluation of enteral nutritional supplements]. *Nutr Hosp* 2014; 30: 104-112 [PMID: 25137268 DOI: 10.3305/nh.2014.30.1.7396]
- 18 卢武. 重症急性胰腺炎早期肠内营养支持治疗. 中外健康文摘 2011; 8: 101-102

编辑 郭鹏 电编 闫晋利





# HSF2和促炎症细胞因子在溃疡性结肠炎中的表达

夏蜀娴, 缪应雷

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

夏蜀娴, 主要从事炎症性肠病的研究。

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81160055, 81260074

云南省科技厅-昆明医学院联合专项基金资助项目, Nos.

2011FB183, 2007C0010R

云南省卫生厅卫生系统学科带头人培养计划积极资助项目, No. D-201215

云南省社会发展科技计划基金资助项目, No. 2013CA021

作者贡献分布: 夏蜀娴与缪应雷对此文所作贡献均等; 此课题由缪应雷设计; 研究过程由夏蜀娴操作完成; 数据分析由夏蜀娴完成; 本论文写作由夏蜀娴与缪应雷完成。

通讯作者: 缪应雷, 教授, 主任医师, 650032, 云南省昆明市西昌路295号, 昆明医科大学第一附属医院消化内科。

myldu@sina.com

电话: 0871-65324888

收稿日期: 2014-07-14 修回日期: 2014-08-26

接受日期: 2014-09-10 在线出版日期: 2014-10-28

## Expression of heat shock factor 2 and proinflammatory cytokines in ulcerative colitis

Shu-Xian Xia, Ying-Lei Miao

Shu-Xian Xia, Ying-Lei Miao, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81260074 and 81160055; Joint Special Foundation of Science & Technology Department of Yunnan Province and Kunming Medical College, Nos. 2011FB183 and 2007C0010R; Medical Academic Leader Fund of Yunnan Provincial Bureau of Health, No. D-201215; Social Development Science and Technology Projects of Yunnan Province, No. 2013CA021

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

Received: 2014-07-14 Revised: 2014-08-26

Accepted: 2014-09-10 Published online: 2014-10-28

## Abstract

**AIM:** To examine the mRNA and protein expression of heat shock factor 2 (HSF2) as well as the levels of proinflammatory cytokines like tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) and IL-8 in the colonic mucosa and serum of patients with ulcerative colitis (UC).

**METHODS:** Colonic mucosa and blood specimens were obtained from patients with UC who

were admitted at the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University from February 2013 to February 2014. Patients with abdominal pain or discomfort who were eventually diagnosed with IBS according to Roman III criteria and had no lesions under colonoscopy were used as controls. UC disease activity evaluation was performed using UC-DAI. The mRNA expression levels of HSF2, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-8 in the mucosa were detected by real-time fluorescence quantitative PCR. Serum concentrations of HSF2, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-8 were detected using ELISA. The correlations of HSF2 expression with disease activity, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-8 in UC were also explored.

**RESULTS:** Twenty UC and five control mucosa specimens were collected, and 60 UC and 20 control blood specimens were obtained. Patients with mild to severe UC had significantly higher mRNA expression of HSF2 (mild:  $1.30 \pm 0.11$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.05$ ; moderate:  $1.50 \pm 0.14$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.01$ ; severe:  $2.02 \pm 0.19$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.01$ ), TNF- $\alpha$  (mild:  $6.28 \pm 1.79$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.05$ ; moderate:  $10.21 \pm 1.68$  vs  $1.00$ ,  $P < 0.01$ ; severe:  $19.23 \pm 4.38$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.01$ ), IL-1 $\beta$  (mild:  $48.91 \pm 13.72$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.05$ ; moderate:  $99.12 \pm 17.28$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.01$ ; severe:  $22.77$  pg/mL  $\pm 7.19$  pg/mL vs  $4.93$  pg/mL  $\pm 2.92$  pg/mL,  $P < 0.01$ ) and IL-8 (mild:  $27.49 \pm 4.55$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.05$ ; moderate:  $54.73 \pm 12.00$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.01$ ; severe:  $60.19$  pg/mL  $\pm 9.71$  pg/mL vs  $8.25$  pg/mL  $\pm 2.23$  pg/mL,  $P < 0.01$ ) in the colon mucosa than controls. HSF2 expression had a positive expression correlation with the levels of these pro-inflammatory cytokines ( $r = 0.89, 0.89, 0.80$ ,  $P < 0.0001$ ). Serum concentrations of HSF2 (mild:  $0.91$  ng/mL  $\pm 0.33$  ng/mL vs  $0.42$  ng/mL  $\pm 0.29$  ng/mL,  $P < 0.05$ ; moderate:  $1.26$  ng/mL  $\pm 0.28$  ng/mL vs  $0.42$  ng/mL  $\pm 0.29$  ng/mL,  $P < 0.01$ ; severe:  $2.15$  ng/mL  $\pm 0.42$  ng/mL vs  $0.42$  ng/mL  $\pm 0.29$  ng/mL,  $P < 0.01$ ), TNF- $\alpha$  (mild:  $17.29$  pg/mL  $\pm 1.71$  pg/mL vs  $13.45$  pg/mL  $\pm 3.63$  pg/mL,  $P < 0.05$ ; moderate:  $17.42$  pg/mL  $\pm 1.85$  pg/mL vs  $13.45$  pg/mL  $\pm 3.63$  pg/mL,  $P < 0.01$ ; severe:  $21.16$  pg/mL  $\pm 2.15$  pg/mL vs  $13.45$  pg/mL  $\pm 3.63$  pg/mL,  $P < 0.01$ ), IL-1 $\beta$  (mild:  $11.86$  pg/mL  $\pm 5.18$  pg/mL vs  $4.93$

## ■背景资料

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 病情评估仍缺乏金指标, C反应蛋白 (C-reaction protein, CRP)、红细胞沉降率 (erythrocyte sedimentation rate, ESR)、乳铁蛋白、钙卫蛋白等指标虽可在一定程度上反应UC炎症活动程度, 但缺乏特异性, 也无法准确预测黏膜愈合。筛选更具特异性和准确性的体液指标势在必行。

## ■同行评议者

杜奕奇, 副教授, 中国人民解放军第二军医大学长海医院

## ■研究前沿

促炎症细胞因子和抗炎细胞因子的失衡在UC的发病过程中起了枢纽作用。当细胞长期处于炎症等应激下,热休克转录因子2(heat shock factor 2, HSF2)可通过诱导热休克蛋白(heat shock protein, HSP)的表达抑制蛋白质的错误折叠,促进变性蛋白质的降解,对细胞的修复具有重要作用。

pg/mL  $\pm$  2.92 pg/mL,  $P < 0.05$ ; moderate: 15.05 pg/mL  $\pm$  2.90 pg/mL vs 4.93 pg/mL  $\pm$  2.92 pg/mL,  $P < 0.01$ ; severe: 22.77 pg/mL  $\pm$  7.19 pg/mL vs 4.93 pg/mL  $\pm$  2.92 pg/mL,  $P < 0.01$ ) and IL-8 (mild: 9.49 pg/mL  $\pm$  4.38 pg/mL vs 8.25 pg/mL  $\pm$  2.23 pg/mL,  $P < 0.01$ ; moderate: 32.18 pg/mL  $\pm$  6.81 pg/mL vs 8.25 pg/mL  $\pm$  2.23 pg/mL,  $P < 0.01$ ; severe: 60.19 pg/mL  $\pm$  9.71 pg/mL vs 8.25 pg/mL  $\pm$  2.23 pg/mL,  $P < 0.01$ ) in UC patients were significantly higher than those in controls, and HSF2 concentration was also positively correlated with serum levels of these proinflammatory cytokines ( $r = 0.77, 0.73, 0.85, P < 0.0001$ ).

**CONCLUSION:** Colonic mRNA expression levels and serum concentrations of HSF2, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-8 increase in UC patients. The expression level of HSF2 is positively correlated with TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-8, suggesting that HSF2 might be used as a new marker for evaluating inflammation activity level in UC.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Heat shock factor 2; Ulcerative colitis; Proinflammatory cytokines

Xia SX, Miao YL. Expression of heat shock factor 2 and proinflammatory cytokines in ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(30): 4683-4690 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4683.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4683>

## 摘要

**目的:** 检测溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)患者结肠黏膜和血清中热休克转录因子2(heat shock factor 2, HSF2)和促炎症细胞因子如肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白介素1 $\beta$ (interleukin 1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、IL-8的转录和翻译水平,评价HSF2与UC病情严重程度的关系以及其与促炎症细胞因子表达的相关性。

**方法:** 收集2013-02/2014-02昆明医科大学第一附属医院住院治疗的UC患者。选取因腹痛或腹部不适收住我院,经肠镜检查未发现异常黏膜病变,根据罗马III标准诊断为IBS的患者作为对照组。采集肠黏膜组织和血清。UC病情评估采用溃疡性结肠炎疾病活动指数(UC-disease activity index, UC-DAI)评分系统。实时荧光定量PCR法检测结肠黏膜中HSF2和TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8的mRNA转录水平。ELISA测定血清中HSF2、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8的含量。应用SPSS17.0统计学软件对实验

数据进行统计分析,探讨HSF2和TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8在结肠黏膜组织及血清中表达的相关性。

**结果:** 共收集UC活动期患者肠黏膜组织样品20例,对照组5例。UC患者血清样品60例,对照组血清样品20例。(1)UC患者结肠黏膜组织中HSF2 mRNA(轻度:  $1.30 \pm 0.11$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.05$ ; 中度:  $1.50 \pm 0.14$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.01$ ; 重度:  $2.02 \pm 0.19$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.01$ )、TNF- $\alpha$  mRNA(轻度:  $6.28 \pm 1.79$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.05$ ; 中度:  $10.21 \pm 1.68$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.01$ ; 重度:  $19.23 \pm 4.38$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.01$ )、IL-1 $\beta$  mRNA(轻度:  $48.91 \pm 13.72$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.05$ ; 中度:  $99.12 \pm 17.28$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.01$ ; 重度:  $212.89 \pm 29.69$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.01$ )、IL-8 mRNA(轻度:  $27.49 \pm 4.55$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.05$ ; 中度:  $54.73 \pm 12.00$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.01$ ; 重度:  $124.73 \pm 26.08$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ,  $P < 0.01$ )的相对表达量较对照组显著增加。且HSF2与TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8的表达具有正相关性( $r = 0.89, 0.89, 0.80$ ;  $P < 0.0001$ ); (2)UC患者HSF2(轻度:  $0.91$  ng/mL  $\pm$   $0.33$  ng/mL vs  $0.42$  ng/mL  $\pm$   $0.29$  ng/mL,  $P < 0.05$ ; 中度:  $1.26$  ng/mL  $\pm$   $0.28$  ng/mL vs  $0.42$  ng/mL  $\pm$   $0.29$  ng/mL,  $P < 0.01$ ; 重度:  $2.15$  ng/mL  $\pm$   $0.42$  ng/mL vs  $0.42$  ng/mL  $\pm$   $0.29$  ng/mL,  $P < 0.01$ )、TNF- $\alpha$ (轻度:  $17.29$  pg/mL  $\pm$   $1.71$  pg/mL vs  $13.45$  pg/mL  $\pm$   $3.63$  pg/mL,  $P < 0.05$ ; 中度:  $17.42$  pg/mL  $\pm$   $1.85$  pg/mL vs  $13.45$  pg/mL  $\pm$   $3.63$  pg/mL,  $P < 0.01$ ; 重度:  $21.16$  pg/mL  $\pm$   $2.15$  pg/mL vs  $13.45$  pg/mL  $\pm$   $3.63$  pg/mL,  $P < 0.01$ )、IL-1 $\beta$ (轻度:  $11.86$  pg/mL  $\pm$   $5.18$  pg/mL vs  $4.93$  pg/mL  $\pm$   $2.92$  pg/mL,  $P < 0.05$ ; 中度:  $15.05$  pg/mL  $\pm$   $2.90$  pg/mL vs  $4.93$  pg/mL  $\pm$   $2.92$  pg/mL,  $P < 0.01$ ; 重度:  $22.77$  pg/mL  $\pm$   $7.19$  pg/mL vs  $4.93$  pg/mL  $\pm$   $2.92$  pg/mL,  $P < 0.01$ )、IL-8(轻度:  $19.49$  pg/mL  $\pm$   $4.38$  pg/mL vs  $8.25$  pg/mL  $\pm$   $2.23$  pg/mL,  $P < 0.01$ ; 中度:  $32.18$  pg/mL  $\pm$   $6.81$  pg/mL vs  $8.25$  pg/mL  $\pm$   $2.23$  pg/mL,  $P < 0.01$ ; 重度:  $60.19$  pg/mL  $\pm$   $9.71$  pg/mL vs  $8.25$  pg/mL  $\pm$   $2.23$  pg/mL,  $P < 0.01$ )血清浓度均显著高于对照组,且HSF2血清浓度与TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8血清浓度呈正相关性( $r = 0.77, 0.73, 0.85, P < 0.001$ )。

**结论:** HSF2与TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8在溃疡性结肠炎结肠黏膜组织及血清中的表达均增加,且HSF2与TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8的表达具有正相关性,提示HSF2可能作为一项新的评估UC炎症活动程度的指标。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 热休克转录因子2; 溃疡性结肠炎; 促炎症细胞因子

**核心提示:** 溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种肠道慢性非特异性炎症性疾病,严重影响患者的健康和生活质量,临床尚缺乏有效的炎症活动评判指标.本研究通过检测UC患者和对照组肠黏膜及血清中热休克转录因子2(heat shock factor 2, HSF2)与肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白介素1 $\beta$ (interleukin 1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、IL-8的表达水平,在一定程度上揭示了HSF2与UC炎症活动程度的相关性,为探索新的体液指标提供了重要线索.

夏蜀娴, 廖应雷. HSF2和促炎症细胞因子在溃疡性结肠炎中的表达. 世界华人消化杂志 2014; 22(30): 4683-4690 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4683.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i30.4683>

## 0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)以反复黏液脓血便为主要表现,重症患者还可出现肠外并发症,目前发病机制尚不完全明确.虽然如今已提出黏膜愈合(mucosal healing, MH)作为UC治疗的最终目标<sup>[1-3]</sup>,但临床上仍缺乏特异性的诊断指标.此外,目前对UC炎症活动性检测的实验室指标均不特异,无法对病情做更为准确的评判,在一定程度上不利于黏膜愈合的治疗.因此,筛选更具特异性和准确性的体液指标势在必行.热休克蛋白(heat shock protein, HSP)是当生物细胞在高温、毒物、自由基、感染、炎症等应激原作用下以基因表达变化为特征的一种防御性反应蛋白,是细胞最原始、最重要的内源性抗损伤机制<sup>[4]</sup>.HSP的表达在转录水平受热休克转录因子(heat shock factors, HSFs)的调控.研究表明, HSP70、HSP25/27可保护肠上皮细胞, HSP70、HSP25/27的表达下调可削弱肠上皮细胞抗炎性应激能力,引发UC<sup>[5-8]</sup>.HSF2可通过诱导HSP70的转录参与肠上皮细胞的保护<sup>[9]</sup>.本研究小组前期通过基因芯片、蛋白质组学及免疫组织化学结果都表明UC患者HSF2表达上调<sup>[10-12]</sup>.因此,进一步检测HSF2和促炎症细胞因子[肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白介素1 $\beta$ (interleukin 1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、IL-8在UC中的表达,有助于探索HSF2在UC诊治中的作用.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 按照我国2012年炎症性肠病诊断与治疗<sup>[13]</sup>的共识意见收集2013-02/2014-02昆明医科大学第一附属医院UC活动期患者.选取因腹痛或腹部不适收住我院,经肠镜检查未发现异常黏膜病变,根据罗马III标准诊断为肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)的患者作为对照组.病情评估采用溃疡性结肠炎疾病活动指数(UC-disease activity index, UC-DAI)评分系统.征求同意后,所有UC组与对照组于清晨空腹肘静脉抽取血液样品(治疗前),4000 r/min离心10 min,取血清分装于-80℃冰箱保存.结肠镜下活检钳夹新鲜肠黏膜组织,用无菌生理盐水清洗干净后置于冻存管中,于液氮中保存备用.共收集UC活动期患者肠黏膜组织样品20例,对照组5例. UC患者血清样品60例,对照组血清样品20例,患者一般资料如表1, 2.

### 1.2 方法

**1.2.1 实时荧光定量PCR:** (1)按照RNAprep Pure动物组织总RNA提取试剂盒DP431(TIANGEN, 北京)说明书进行肠黏膜组织总RNA提取; (2)1st-Strand cDNA合成按TaKaRa Reverse Transcriptase M-MLV (Rnase H-)(2641A)说明书进行; (3)根据GenBank中人 $HSF2$ 、 $TNF-\alpha$ 、 $IL-1\beta$ 、 $IL-8$ 、 $GAPDH$ 的基因序列,利用Primer Premier 5.0软件设计引物(北京三博志远).引物序列为: $HSF2$ (139 bp): F: 5'-ATA AGT AGT GCT CAG AAG GTT TCA GA-3'; R: 5'-GAA TAA CTT GTT GCT GTT GTG CAT G-3';  $TNF-\alpha$ (124 bp): F: 5'-TCT CGA ACC CCG AGT GAC AA-3'; R: 5'-TAT CTC TCA GCT CCA CGC CA-3';  $IL-1\beta$ (169 bp): F: 5'-TTC TTC GAC ACA TGG GAT AAC G-3'; R: 5'-TGG AGA ACA CCA CTT GTT GC T-3';  $IL-8$ (118 bp): F: 5'-AGA GTG ATT GAG AGT GGA CC-3'; R: 5'-ACT TCT CCA CAA CCC TCT G-3';  $GAPDH$ (185 bp): F: 5'-GGA AGG TGA AGG TCG GAG TC-3'; R: 5'-TCA GCC TTG ACG GTG CCA TG-3'. (4)所有cDNA样品配置按照TaKaRa SYBR Premix Ex Taq (Tli RnaseH Plus)的反应体系配制反应液,反应条件为95℃ 30 s 预变性,然后95℃ 5 s, 60℃ 15 s, 72℃ 20 s, 76℃ 10 s, 45个循环, 95℃ 1 min延伸; (5)观察扩增效率(0.8-1.2), 相关系数( $r^2 > 0.98$ ), 有无非特异性产物扩增熔解曲线是否单峰, 有无污染、引物二聚体产生. 根据计算公式: 改变的倍数(fold of change) =  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ,  $\Delta\Delta Ct = (Ct_{\text{靶基因}} - Ct_{\text{内参}})$ .

### ■ 相关报道

HSP是细胞在应激状态下HSP基因表达的产物,可通过调节NF- $\kappa$ B、MAPK中的家族成员,参与TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8、IL-6、IFN- $\gamma$ 等细胞因子的转录调控. HSF作为HSP的转录因子,除可与HSP基因启动子结合,尚可与IL-1 $\beta$ 等细胞因子基因启动子结合,直接或间接介导炎症细胞因子的表达调控.



## ■创新盘点

目前对HSF的研究主要集中在HSF1,对HSF2的认识相对较少,本研究通过检测HSF2与促炎症细胞因子在UC中的转录和翻译水平,为探讨HSF2在UC疾病中的作用提供了一定参考。

表 1 20例UC患者及5例对照组肠黏膜样品一般资料

临床资料	UC			对照组	P值
	轻度	中度	重度		
<i>n</i>	7	8	5	5	
年龄(岁)	46.0 ± 17.2	43.8 ± 5.5	38.0 ± 8.8	42.8 ± 8.9	0.71
性别, <i>n</i> (%)					0.88
男	3(42.8)	5(62.5)	3(60.0)	2(40.0)	
女	4(57.2)	3(37.5)	2(40.0)	3(60.0)	
病程(年)	2.7 ± 2.1	6.6 ± 4.7	2.4 ± 0.5	—	0.09
病变范围, <i>n</i> (%)					
直肠	4(57.2)	3(37.5)	1(20.0)	—	—
左半结肠	2(28.6)	3(37.5)	1(20.0)	—	—
广泛结肠	1(14.2)	2(25.0)	3(60.0)	—	—
UC-DAI	4.4 ± 0.5	7.4 ± 1.3	11.2 ± 0.4	—	<0.001

UC: 溃疡性结肠炎; UC-DAI: 溃疡性结肠炎疾病活动指数。

表 2 60例UC患者及20例对照组血清样品一般资料

临床资料	UC			对照组	P值
	轻度	中度	重度		
<i>n</i>	20	24	16	20	
年龄(岁)	44.1 ± 14.9	44.9 ± 7.9	39.1 ± 12.9	45.6 ± 9.7	0.64
性别, <i>n</i> (%)					0.41
男	8(40.0)	14(58.3)	12(75.0)	8(40.0)	
女	12(60.0)	10(41.7)	4(25.0)	12(60.0)	
病程(年)	3.8 ± 2.7	6.3 ± 6.5	1.8 ± 0.9	—	0.10
病变范围, <i>n</i> (%)					
直肠	12(60.0)	8(33.3)	0(0)	—	—
左半结肠	8(40.0)	14(58.3)	2(12.5)	—	—
广泛结肠	0(0)	2(8.4)	14(87.5)	—	—
UC-DAI	4.7 ± 0.7	7.4 ± 1.2	11.3 ± 0.5	—	0.02

UC: 溃疡性结肠炎; UC-DAI: 溃疡性结肠炎疾病活动指数。

内参)处理组-(Ct靶基因-Ct内参)未处理组分析数值。

1.2.2 血清ELISA检测HSF2、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8: 血清HSF2(CUSABIO, Wuhan)、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8(R&D, USA)浓度测定分别按照ELISA试剂盒说明书进行。

**统计学处理** 采用SPSS17.0软件进行统计分析, 计量资料数据经正态性检验均为正态分布, 用mean ± SD表示, 多组间计量资料的比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 组间差异采用成组设计 $t$ 检验分析。采用Pearson法进行相关性分析,  $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 实时荧光定量PCR 实时荧光定量PCR结果

显示: HSF2、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8相对于对照组, 在UC患者肠黏膜组织中表达均增加, 且HSF2与TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8的表达均呈正相关性(图1, 2)。

2.2 血清ELISA检测HSF2、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8浓度 根据ELISA试剂盒要求, 按照说明书操作步骤进行血清HSF2、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8浓度测定, 结果显示: UC组与对照组相比, HSF2、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8血清浓度在轻、中、重3组中均有升高, 组间差异有统计学意义。Pearson相关分析结果显示: 血清HSF2浓度与UC-DAI水平、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8浓度呈正相关(图3, 4)。

## 3 讨论

当细胞遭受外界高温、感染、炎症、各种理化

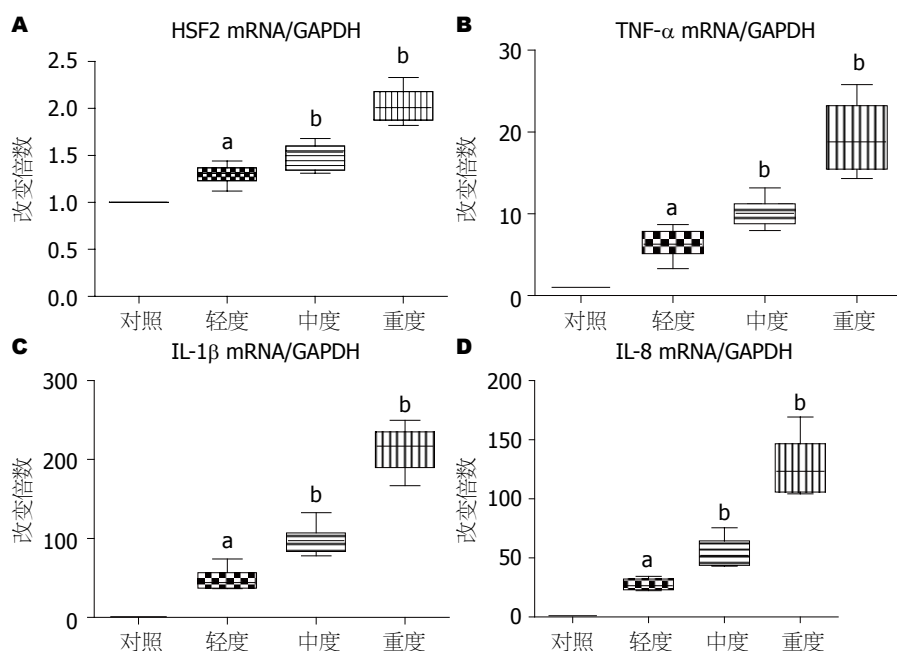


图 1 实时荧光定量PCR. A: HSF2 mRNA; B: TNF-α mRNA; C: IL-1β mRNA; D: IL-8 mRNA. <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 对照组. HSF2: 热休克转录因子2; TNF-α: 肿瘤坏死因子α; IL: 白介素.

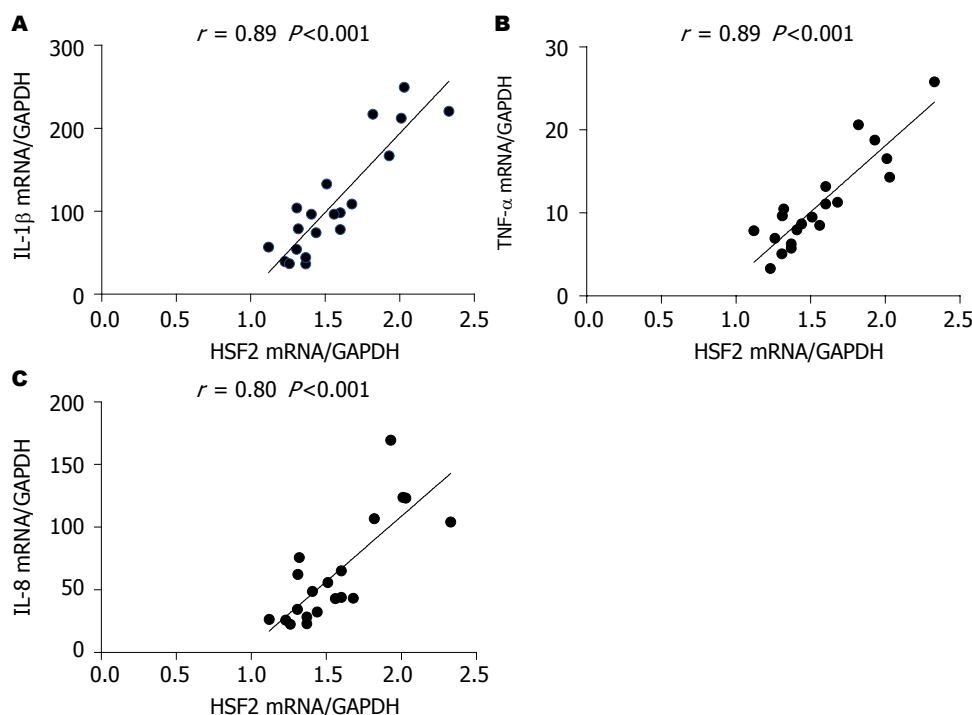


图 2 HSF2 mRNA相对表达量与TNF-α、IL-1β、IL-8 mRNA相对表达量相关性分析. A: HSF2 vs TNF-α,  $r = 0.89$ ,  $P < 0.001$ ; B: HSF2 vs IL-1β,  $r = 0.89$ ,  $P < 0.001$ ; C: HSF2 vs IL-8,  $r = 0.80$ ,  $P < 0.001$ . HSF2: 热休克转录因子2; TNF-α: 肿瘤坏死因子α; IL: 白介素.

因素刺激时, 为保持细胞内蛋白质功能的稳定, 机体会启动热休克反应防御系统, 通过表HSP发挥保护作用. 研究表明, 肠上皮细胞可分泌具有广谱抗菌作用的防御素、分泌型免疫球蛋白A(IgA)等, 具有保护黏膜免受损伤的重要作用; IL-10、HSP、TGF-β、前列腺素E<sub>2</sub>, 具有促

进肠道免疫耐受的作用, 在体内他们与受体组成完整而庞大的网络, 具有调节免疫反应及促进黏膜损伤后修复的作用<sup>[14]</sup>. HSP能介导细胞内蛋白质的正确装配, 保护新合成的蛋白分子构型, 防止在形成装配正确的多聚体前蛋白亚单位不恰当的折叠和聚集. 该蛋白陪伴蛋白分子

#### 同行评价

本文具有较强的创新性, 既往UC研究均关注HSP本身, 对于其调控因子HSF研究较少, 本文从组织和血清两个层面分析了HSF与炎症因子的关系, 对于阐明HSF在UC发病中的作用具有重要价值.

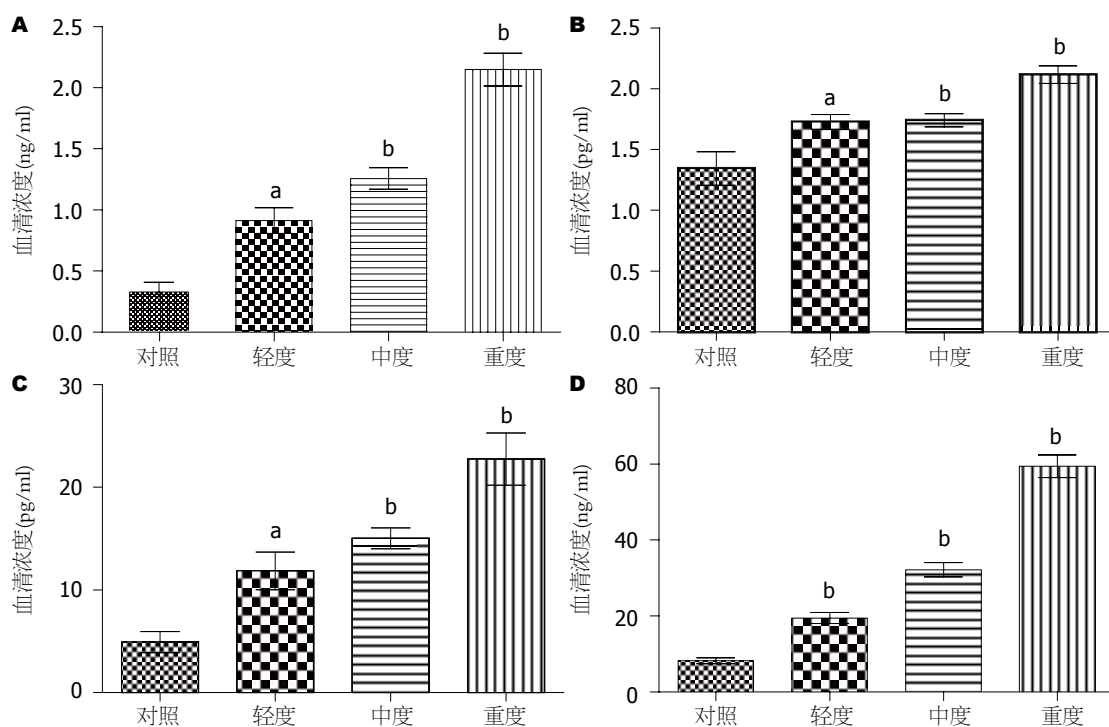


图3 HSF2、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8血清浓度。A: HSF2; B: TNF- $\alpha$ ; C: IL-1 $\beta$ ; D: IL-8。<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 对照组。HSF2: 热休克转录因子2; TNF- $\alpha$ : 肿瘤坏死因子 $\alpha$ ; IL: 白介素。

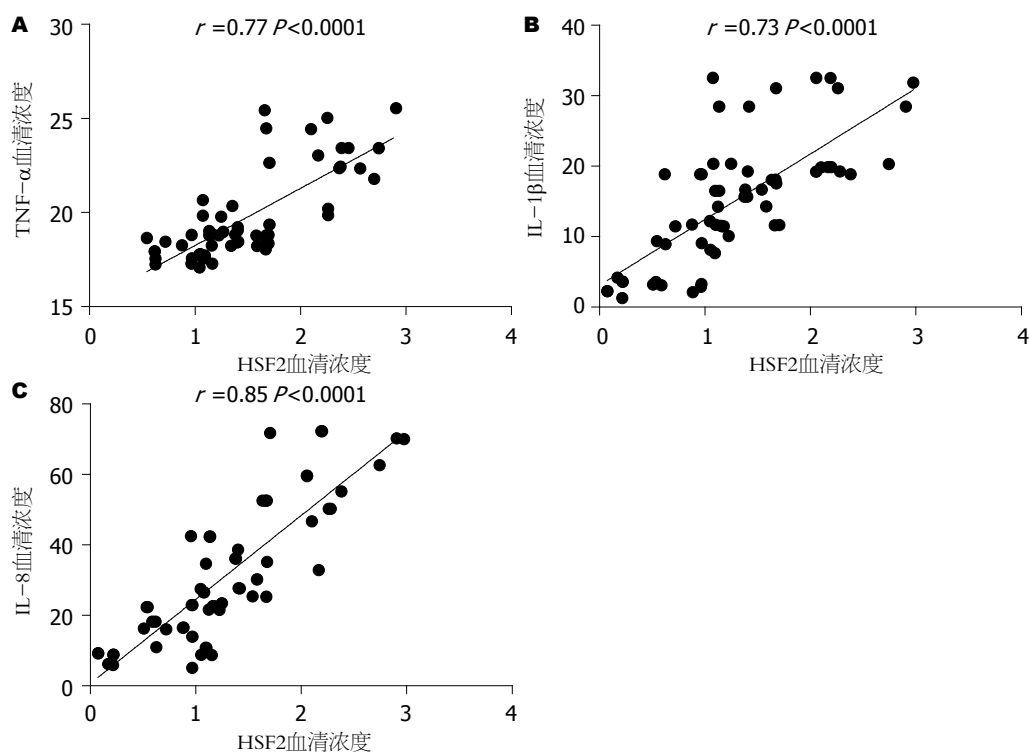


图4 HSF2血清浓度与TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8血清浓度相关性分析。A: HSF2 vs TNF- $\alpha$ ,  $r = 0.77$ ,  $P < 0.0001$ ; B: HSF2 vs IL-1 $\beta$ ,  $r = 0.73$ ,  $P < 0.0001$ ; C: HSF2 vs IL-8,  $r = 0.85$ ,  $P < 0.0001$ 。HSF2: 热休克转录因子2; TNF- $\alpha$ : 肿瘤坏死因子 $\alpha$ ; IL: 白介素。

在细胞内转运和跨膜, 参与蛋白质的折叠、伸展、多聚复合体的组装, 以维持细胞蛋白质稳定和细胞正常生理功能<sup>[15-17]</sup>。HSP的合成受HSF调控。

UC是一种肠道慢性非特异性炎症性疾病, 以肠黏膜充血、水肿、溃疡为特点。病理上, 肠道免疫系统的长期激活在肠黏膜慢性炎症的进展中起重要作用, 已有许多动物炎症模型和研究



发现UC中炎症介质水平明显升高,多种炎症细胞因子可损伤肠上皮细胞,破坏细胞间的紧密连接,使上皮通透性增加,是UC的发生和发展过程中的重要影响因素.其中,TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8就是主要的促炎症细胞因子,他们的含量与UC的炎症状态密切相关.

本研究利用实时荧光定量PCR方法检测TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8在UC患者肠黏膜组织中的转录水平,ELISA方法检测UC患者血清中TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8的浓度.结果发现TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8在UC患者肠黏膜中表达均增加,在血清中的浓度水平也显著高于对照组.这充分说明了促炎症细胞因子与UC关系的密切性.值得我们注意的是,HSF2在UC患者肠黏膜组织和血清中的表达亦显著高于对照组,且与TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8的表达以及病情严重程度呈正相关.我们知道,炎症细胞因子的表达受核因子- $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)、MAPK等信号通路网络调控,多种炎症细胞因子又可激活NF- $\kappa$ B、MAPK,他们之间彼此关联,相互作用.如前所述,HSF2是细胞内源性保护性蛋白质HSP的转录调控因子之一,对细胞有重要保护作用.HSF2可通过调节NF- $\kappa$ B、MAPK中的家族成员,参与细胞因子的转录调控<sup>[18-21]</sup>.本研究发现HSF2在UC患者中的表达水平增加,我们推测可能与其参与了HSP介导的抑制炎症细胞因子的表达信号通路,进而保护黏膜上皮细胞有关.

然而,本研究还存在很多局限性,有很多问题值得我们继续去研究探索.如HSF2的表达并未使TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-8的表达降低,说明HSF参与的HSP调控通路不是单一的影响因素.细胞因子的转录调节信号通路之间关系复杂,HSF这一调控机制中间还存在哪些重要的调控因子值得进一步研究.HSF2保护肠上皮细胞的具体作用靶点是什么仍需要更深入的研究.

#### 4 参考文献

- 1 Lichtenstein GR, Rutgeerts P. Importance of mucosal healing in ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 338-346 [PMID: 19637362 DOI: 10.1002/ibd.20997]
- 2 Pineton de Chambrun G, Peyrin-Biroulet L, Lémann M, Colombel JF. Clinical implications of mucosal healing for the management of IBD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 15-29 [PMID: 19949430 DOI: 10.1038/nrgastro.2009.203]
- 3 Neurath MF, Travis SP. Mucosal healing in inflammatory bowel diseases: a systematic review. *Gut* 2012; 61: 1619-1635 [PMID: 22842618 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-302830]
- 4 Hayashida N, Inouye S, Fujimoto M, Tanaka Y, Izu H, Takaki E, Ichikawa H, Rho J, Nakai A. A novel HSF1-mediated death pathway that is suppressed by heat shock proteins. *EMBO J* 2006; 25: 4773-4783 [PMID: 17024176 DOI: 10.1038/sj.emboj.7601370]
- 5 Liu TS, Musch MW, Sugi K, Walsh-Reitz MM, Ropeleski MJ, Hendrickson BA, Pothoulakis C, Lamont JT, Chang EB. Protective role of HSP72 against *Clostridium difficile* toxin A-induced intestinal epithelial cell dysfunction. *Am J Physiol Cell Physiol* 2003; 284: C1073-C1082 [PMID: 12490434 DOI: 10.1152/ajpcell.00134.2002]
- 6 Ren H, Musch MW, Kojima K, Boone D, Ma A, Chang EB. Short-chain fatty acids induce intestinal epithelial heat shock protein 25 expression in rats and IEC 18 cells. *Gastroenterology* 2001; 121: 631-639 [PMID: 11522747 DOI: 10.1053/gast.2001.27028]
- 7 Kojima K, Musch MW, Ropeleski MJ, Boone DL, Ma A, Chang EB. *Escherichia coli* LPS induces heat shock protein 25 in intestinal epithelial cells through MAP kinase activation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 286: G645-G652 [PMID: 14630641 DOI: 10.1152/ajpgi.00080.2003]
- 8 Hu S, Ciancio MJ, Lahav M, Fujiya M, Lichtenstein L, Anant S, Musch MW, Chang EB. Translational inhibition of colonic epithelial heat shock proteins by IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  in intestinal inflammation. *Gastroenterology* 2007; 133: 1893-1904 [PMID: 18054561 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.09.026]
- 9 Sandqvist A, Björk JK, Akerfelt M, Chitikova Z, Grichine A, Vourc'h C, Jolly C, Salminen TA, Nymalm Y, Sistonen L. Heterotrimerization of heat-shock factors 1 and 2 provides a transcriptional switch in response to distinct stimuli. *Mol Biol Cell* 2009; 20: 1340-1347 [PMID: 19129477 DOI: 10.1091/mbc.E08-08-0864]
- 10 廖应雷, 肖玉良, 段丽平, 李晓燕, 陈丽芳, 李红纳. 寡聚核苷酸芯片检测溃疡性结肠炎患者基因表达谱的研究. *中华消化杂志* 2009; 11: 775-777
- 11 陈丽芳, 廖应雷, 杜艳, 李红纳, 肖玉良. CEACAM6, Syndecan-1, PDGFA, HLA-DRB5在溃疡性结肠炎中的表达和意义. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 2971-2975
- 12 廖应雷, 陈丽芳, 杜艳, 李红纳, 朱艳平, 肖玉良. 溃疡性结肠炎血清差异蛋白的筛选研究. *中华消化杂志* 2010; 30: 898-901
- 13 中华医学会分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的一致意见. *中华消化杂志* 2012; 32: 796-813
- 14 祁燕, 王汝俊, 李燕舞, 米红, 唐立海. 溃疡结直肠含药血清对大鼠结肠上皮细胞损伤模型的影响. *中药药理与临床* 2013; 29: 132-135
- 15 Anfinsen CB. Principles that govern the folding of protein chains. *Science* 1973; 181: 223-230 [PMID: 4124164 DOI: 10.1126/science.181.4096.223]
- 16 Hartl FU. Molecular chaperones in cellular protein folding. *Nature* 1996; 381: 571-579 [PMID: 8637592 DOI: 10.1038/381571a0]
- 17 Shinkawa T, Tan K, Fujimoto M, Hayashida N, Yamamoto K, Takaki E, Takii R, Prakasam R, Inouye S, Mezger V, Nakai A. Heat shock factor 2 is required for maintaining proteostasis against febrile-range thermal stress and polyglutamine aggregation. *Mol Biol Cell* 2011; 22: 3571-3583 [PMID: 21813737 DOI: 10.1091/mbc.E11-04-0330]
- 18 Yoo CG, Lee S, Lee CT, Kim YW, Han SK, Shim YS. Anti-inflammatory effect of heat shock protein induction is related to stabilization of I kappa B al-

- pha through preventing I kappa B kinase activation in respiratory epithelial cells. *J Immunol* 2000; 164: 5416-5423 [PMID: 10799907 DOI: 10.4049/jimmunol.164.10.5416]
- 19 Cahill CM, Waterman WR, Xie Y, Auron PE, Calderwood SK. Transcriptional repression of the prointerleukin 1beta gene by heat shock factor 1. *J Biol Chem* 1996; 271: 24874-24879 [PMID: 8926278]
- 20 Singh IS, He JR, Calderwood S, Hasday JD. A high affinity HSF-1 binding site in the 5'-untranslated region of the murine tumor necrosis factor-alpha gene is a transcriptional repressor. *J Biol Chem* 2002; 277: 4981-4988 [PMID: 11734555 DOI: 10.1074/jbc.M108154200]
- 21 Kim SH, Kim D, Jung GS, Um JH, Chung BS, Kang CD. Involvement of c-Jun NH(2)-terminal kinase pathway in differential regulation of heat shock proteins by anticancer drugs. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 262: 516-522 [PMID: 10462506 DOI: 10.1006/bbrc.1999.1229]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



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

## • 消息 •

### 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

**本刊讯** 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界胃肠病学杂志(英文版)》总被引频次6 979次, 影响因子0.873, 综合评价总分88.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第1位、第3位、第1位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第11位、第156位、第18位; 其他指标: 即年指标0.219, 他引率0.89, 引用刊数619种, 扩散因子8.84, 权威因子2 144.57, 被引半衰期4.7, 来源文献量758, 文献选出率0.94, 地区分布数26, 机构分布数1, 基金论文比0.45, 海外论文比0.71。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界胃肠病学杂志(英文版)》再度被收录为“中国科技核心期刊”(中国科技论文统计源期刊)。根据2011年度中国科技论文与引文数据库(CSTPCD 2011)统计结果,《世界胃肠病学杂志(英文版)》荣获2011年“百种中国杰出学术期刊”称号。

# 麦考酚钠肠溶片治疗肾移植后远期吗替麦考酚酯相关慢性腹泻患者的临床疗效

孟凡航, 郭雪坤, 陈志勇, 赖永通, 黄先恩, 林民专

孟凡航, 郭雪坤, 陈志勇, 赖永通, 黄先恩, 林民专, 广州医科大学附属第三医院器官移植科 广东省广州市 510150  
孟凡航, 主治医师, 主要从事移植的临床与基础研究.

作者贡献分布: 此文主要由孟凡航完成; 此课题由林民专设计; 研究过程由孟凡航、郭雪坤及赖永通操作完成; 数据分析由陈志勇与黄先恩完成; 本文写作由孟凡航完成.

通讯作者: 孟凡航, 主治医师, 510150, 广东省广州市荔湾区多宝路63号, 广州医科大学附属第三医院器官移植科.

menfanhang@163.com

电话: 020-81292162

收稿日期: 2014-07-12 修回日期: 2014-08-25

接受日期: 2014-09-03 在线出版日期: 2014-10-28

## Conversion to enteric-coated mycophenolate sodium for management of long-term mycophenolate mofetil-related chronic diarrhea in patients after kidney transplantation

Fan-Hang Meng, Xue-Kun Guo, Zhi-Yong Chen, Yong-Tong Lai, Xian-En Huang, Min-Zhuan Lin

Fan-Hang Meng, Xue-Kun Guo, Zhi-Yong Chen, Yong-Tong Lai, Xian-En Huang, Min-Zhuan Lin, Department of Organ Transplantation, the Third Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510150, Guangdong Province, China

Correspondence to: Fan-Hang Meng, Attending Physician, Department of Organ Transplantation, the Third Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, 63 Duobao Road, Liwan District, Guangzhou 510150, Guangdong Province, China. menfanhang@163.com

Received: 2014-07-12 Revised: 2014-08-25

Accepted: 2014-09-03 Published online: 2014-10-28

## Abstract

**AIM:** To assess the effect of conversion to enteric-coated mycophenolate sodium for management of long-term mycophenolate mofetil-related chronic diarrhea in renal transplant recipients.

**METHODS:** Twenty-three renal transplant recipients with long-term mycophenolate mofetil-related chronic diarrhea treated at the Third Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University from May 2010 to January 2014 were included in the study. After mycophenolate mofetil was converted to enteric-coated mycophenolate so-

dium, these patients were followed for 12 wk. Improvement of diarrhea, blood carbon dioxide combining power, sodium, potassium, creatinine, and 24-h urine protein were monitored before and after drug conversion.

**RESULTS:** The rate of diarrhea improvement was 92.50% (111/120) 2 wk after drug conversion. After drug conversion, blood carbon dioxide combining power, sodium, and potassium were significantly higher than before conversion ( $P < 0.05$ ). During the follow-up period, no acute rejection was observed, and serum creatinine and 24-h urine protein were significantly better than before conversion ( $P > 0.05$ ). Gastrointestinal symptom rating scale (GSRs) score after conversion was significantly lower than before conversion ( $0.5 \pm 0.1$  vs  $2.3 \pm 0.3$ ,  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Conversion from mycophenolate mofetil to enteric-coated mycophenolate sodium can improve chronic diarrhea, electrolyte imbalance and kidney dysfunction in renal transplant recipients.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Kidney transplantation; Mycophenolate mofetil-related chronic diarrhea; Drug conversion

Meng FH, Guo XK, Chen ZY, Lai YT, Huang XE, Lin MZ. Conversion to enteric-coated mycophenolate sodium for management of long-term mycophenolate mofetil-related chronic diarrhea in patients after kidney transplantation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(30): 4691-4694  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4691.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i30.4691>

## 摘要

**目的:** 观察肾移植术后远期吗替麦考酚酯相关慢性腹泻的药物转换效果.

**方法:** 选取广州医科大学附属第三医院器官移植科于2010-05/2014-01收治的23例肾移植术后远期吗替麦考酚酯相关慢性腹泻患者作

## ■背景资料

吗替麦考酚酯相关慢性腹泻很容易引起患者内环境紊乱、体质量减轻、脱水等症状,从而干扰其他免疫抑制剂的药代动力学,严重影响着肾移植患者的长期预后.因此,临床中积极的治疗该病成为医师们关注的重点.

## ■同行评议者

秦建民, 主任医师, 上海中医药大学附属普陀医院普外科



## ■研发前沿

临床中对于吗替麦考酚酯相关慢性腹泻的研究也比较多,多数是采取西药进行缓解病情,而麦考酚钠肠溶片在治疗腹泻方面也具有明显的优势。但是,在吗替麦考酚酯相关慢性腹泻中的研究并不多见,了解麦考酚钠肠溶片的治疗效果依然需要大量的临床研究。

为临床研究对象,将这些患者所用的吗替麦考酚酯转换为麦考酚钠肠溶片,并随访12 wk,对比转换前后这些患者的腹泻改善情况、血二氧化碳结合力、血钠、血钾、血肌酐、24 h尿蛋白定量等指标,采取SPSS19.0的统计软件进行数据相关性分析,采取 $\chi^2$ 检验评价计数资料,采取t检验评价计量资料, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

**结果:** 药物转换后患者的2 wk内的腹泻改善率为92.50%(111/120)。血二氧化碳结合力、血钠、血钾等指标均要明显高于转换前,差异具有显著的统计学意义( $P<0.05$ )。随访12 wk,未观察到急性排斥反应,血肌酐、24 h尿蛋白定量等指标较转换前均有明显好转( $P>0.05$ )。治疗前采取胃肠道症状分级评分表(gastrointestinal symptom rating scale, GSRS)为2.3分 $\pm$ 0.3分,治疗后GSRS评分0.5分 $\pm$ 0.1分,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

**结论:** 肾移植术后远期吗替麦考酚酯相关性腹泻患者将吗替麦考酚酯及时转换为麦考酚钠肠溶片后腹泻症状明显减轻,有助于改善电解质紊乱,改善受损的移植肝功能,并未增加急性排斥反应风险,值得临床推广。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 肾移植; 吗替麦考酚酯相关慢性腹泻; 药物转换

**核心提示:** 麦考酚钠肠溶片在肾移植后远期吗替麦考酚酯相关性腹泻治疗中效果明显,较好的缓解腹泻症状。同时,提高患者生活质量,有助于改善电解质紊乱,改善受损的移植肝功能。

孟凡航, 郭雪坤, 陈志勇, 赖永通, 黄先恩, 林民专. 麦考酚钠肠溶片治疗肾移植后远期吗替麦考酚酯相关慢性腹泻患者的临床疗效. 世界华人消化杂志 2014; 22(30): 4691-4694 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4691.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4691>

## ■相关报道

临床中对于麦考酚钠肠溶片治疗腹泻的研究并不多,且多数的是从主观的指标进行分析。而本次的临床研究中,从客观的角度进行分析麦考酚钠肠溶片治疗吗替麦考酚酯相关慢性腹泻的临床优越性。

## 0 引言

吗替麦考酚酯是肾移植术后常用的免疫抑制药物,长期临床观察发现,吗替麦考酚酯可引起肾移植术后远期的慢性腹泻<sup>[1-3]</sup>。吗替麦考酚酯相关慢性腹泻可引起患者内环境紊乱、体质量减轻、脱水等症状,干扰其他免疫抑制剂的药代动力学,且降低服用药物的依从性,导致移植物的损伤发生,严重影响着肾移植患者的长期预后<sup>[4]</sup>。麦考酚钠肠溶片是一种新型霉酚

酸(mycophenolic acid, MPA)制剂,现有文献表明,该药有着更低的胃肠道不良反应发生率。我们选取广州医科大学附属第三医院器官移植科2010-05/2014-01收治的23例肾移植术后远期吗替麦考酚酯相关慢性腹泻患者作为临床研究对象,观察麦考酚钠肠溶片替代吗替麦考酚酯的疗效与安全性。现报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取广州医科大学附属第三医院器官移植科于2010-05/2014-01收治的23例肾移植术后远期吗替麦考酚酯相关慢性腹泻患者作为临床研究对象,其中男14例 女9例。最小年龄32岁,最大年龄58岁,平均年龄47.57岁 $\pm$ 5.24岁。腹泻发生时间区间为术后1-8年,平均为4.26年 $\pm$ 1.13年。所有患者的排便呈水样或者糊状,排便频率超过3次/d,且每日的排便量超过0.2 kg,腹泻轻者病程超过2 wk,腹泻重者病程超过1 mo。患者在进行药物转换治疗前均进行大便分析及大便培养以排除感染性腹泻,并排除肠道器质性病变。给予一般治疗,包括调整饮食结构、使用蒙脱石散等对症止泻、调节菌群失调、抑制肠胃蠕动药物治疗。经治疗14 d后疗效无好转的患者纳入本次临床研究对象。在进行药物转换治疗前所有患者均签署了知情同意书,同时本试验经过广州医科大学附属第三医院医学伦理委员会批准进行。

### 1.2 方法

**1.2.1 药物转换:** 所有患者均根据吗替麦考酚酯的用量等分子剂量转换为麦考酚钠肠溶片,每日服用360-720 mg。若转换两周后患者的腹泻症状仍无明显好转,停用麦考酚钠肠溶片并选用其他非MPA抗排斥药物,若患者症状有所减轻,则于治疗第2周将麦考酚钠肠溶片的剂量提升至每日服用720-1080 mg。若提高剂量后患者的腹泻症状并未出现加重,则维持该剂量,若提高剂量后患者的症状有所加重,则将剂量再减为每日服用360-720 mg维持。

**1.2.2 临床观察指标:** 观察药物转换前及转换后2 wk患者的腹泻症状改善情况采取胃肠道症状分级评分表(gastrointestinal symptom rating scale, GSRS),血二氧化碳结合力、血钠、血钾等指标,随访至转换后12 wk,检测血肌酐、24 h尿蛋白定量等。GSRS评估项目有腹痛、反流症状、消化不良症状、腹泻、便秘等,均为0-3分: 0分无症状、1分轻微症状、2分中度症状、3分严

表 1 患者药物转换前后的各项指标比较 ( $n = 23$ , mean  $\pm$  SD)

时间	血总二氧化碳(mmol/L)	血钠(mmol/L)	血肌酐( $\mu$ mol/L)	血钾(mmol/L)	24 h尿蛋白定量(g)
转换前	16.47 $\pm$ 3.98	131.41 $\pm$ 3.09	122.48 $\pm$ 51.78	3.21 $\pm$ 0.98	0.76 $\pm$ 0.38
转换后3 mo	22.76 $\pm$ 3.76	143.32 $\pm$ 3.89	101.04 $\pm$ 32.45	4.89 $\pm$ 0.59	0.43 $\pm$ 0.27
<i>t</i> 值	12.58	26.26	47.24	16.09	7.75
<i>P</i> 值	<0.01	<0.01	<0.05	<0.01	<0.01

重症状<sup>[5]</sup>。

**统计学处理** 将患者的一般资料、GSRS评分、血二氧化碳结合力、血钠、血钾以及血肌酐、24 h尿蛋白定量等指标输入Excel 2013数据库, 采取SPSS19.0的统计学软件进行数据相关性分析, 采取 $\chi^2$ 检验评价计数资料, 采取 $t$ 检验评价计量资料,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 患者的腹泻改善情况** 根据患者的临床资料可知, 23例患者有17例患者在进行药物转换后腹泻停止, 其中有12例患者的腹泻停止时间在1 wk内, 有5例患者的腹泻停止时间在2 wk内。有3例患者在药物转换后腹泻症状有明显的减轻, 表现为大便量减少以及大便次数减少。有2例患者在药物转换后腹泻症状仍无明显好转, 改用非MPA抗排斥药物进行治疗。因而药物转换后患者的2 wk内的腹泻改善率为95.65%(22/23)。所有22例腹泻症状改善的患者在治疗3 wk后提高麦考酚钠肠溶片的服用剂量至每日720 mg, 均未出现症状明显加重。治疗前GSRS评分为2.3分 $\pm$ 0.3分, 治疗后GSRS评分0.5分 $\pm$ 0.1分, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

**2.2 患者药物转换前后的各项指标比较** 根据患者的临床资料可知, 患者转换3 mo后的血总二氧化碳、血钠、血钾等指标均要明显高于转换前, 差异具有显著统计学意义( $P < 0.01$ ), 患者转换3 mo后的24 h尿蛋白定量、血肌酐要明显低于转换前, 差异具有显著统计学意义( $P < 0.01$ )(表1)。

## 3 讨论

肾移植术后远期慢性腹泻的病因以药物相关性最为常见, 其中吗替麦考酚酯是最常见的药物, 多表现为无菌性腹泻。持续性腹泻可引起患者肠液大量流失, 患者常出现低血钾与低血钠等症状<sup>[9-12]</sup>。本次试验中32例患者在药物转换前血钾与血钠均偏低, 二氧化碳结合力偏低, 处于酸中毒状态, 转换成麦考酚钠肠溶片后, 随着腹泻

症状的好转, 电解质紊乱及酸中毒得以纠正。慢性腹泻严重影响患者生活质量, 出现电解质紊乱、酸中毒等症状。主诊医师主动性调低吗替麦考酚酯剂量、患者服药依从性下降、机体内环境紊乱、腹泻引起CNI药物浓度升高导致其肝毒性等原因, 导致移植损伤, 出现血肌酐升高、尿蛋白定量增加。

在出现吗替麦考酚酯相关慢性腹泻后, 保持血中的足够的MPA暴露量对保证移植肝长期存活非常重要。吗替麦考酚酯引起慢性腹泻的病因尚未完全明确, 相关研究指出血中MPA浓度与腹泻的发生无相关关系, 同时临床应用中也发现, 调整吗替麦考酚酯的用量大多不能减轻慢性腹泻的症状<sup>[13-15]</sup>。最新的研究指出MPA的代谢产物在腹泻以及肠黏膜损伤中起主导作用。吗替麦考酚酯在肠内吸收入血后转变为MPA, MPA在肝脏内的葡萄糖醛酸转移酶的催化下转变为霉酚酸葡萄糖醛酸, 作为代谢产物虽胆汁分泌至肠腔。霉酚酸葡萄糖醛酸具有抗细胞增殖的作用, 同时也是一种炎症因子前体, 可引起肠壁细胞增殖受阻与长期局部炎症, 因而易导致慢性腹泻<sup>[16]</sup>。麦考酚钠肠溶片仅能在pH值低于5的环境下崩解, 因而麦考酚钠肠溶片在小肠内的吸收效率较低, 因而血液中MPA达到峰值所需时间较长, 进入肠腔中的霉酚酸葡萄糖醛酸较少, 因而服用麦考酚钠肠溶片可有效地改善慢性腹泻的症状。从本次试验中数据可以看出, 患者在药物转换后慢性腹泻的好转率高达95.65%。同时患者的血二氧化碳结合力、血钠、血钾等电解质均恢复至正常, 血肌酐24 h尿蛋白定量均有明显下降, 未监测到急性排斥反应, 证明了吗替麦考酚酯转换为麦考酚钠肠溶片治疗肾移植术后慢性腹泻的有效性与安全性。

总之, 肾移植后远期吗替麦考酚酯相关性腹泻患者将吗替麦考酚酯转换为麦考酚钠肠溶片后腹泻症状明显减轻, 提高患者生活质量, 有助于改善电解质紊乱, 改善受损的移植肝功能, 值得临床推广。

### ■创新盘点

本研究中重点分析麦考酚钠肠溶片在吗替麦考酚酯相关慢性腹泻治疗中的效果, 并且从主观和客观的临床指标进行分析, 从而更好的了解其临床治疗效果。

### ■应用要点

通过对麦考酚钠肠溶片的临床分析, 从而更好的了解其临床应用价值。同时, 对以后治疗吗替麦考酚酯相关慢性腹泻具有较好的指导意义。

## ■名词解释

慢性腹泻: 一种常见临床症状, 并非一种疾病. 是指病程在2 mo以上的腹泻或间歇期在2-4 wk内的复发性腹泻;  
酸中毒: 是指体内血液和组织中酸性物质的堆积, 其本质是血液中氢离子浓度上升、pH值下降.

## ■同行评价

本研究应用前景相对比较广泛, 且对肾移植术后远期吗替麦考酚酯相关慢性腹泻的治疗具有较好的指导意义. 同时, 临床观察指标比较新颖, 且统计学方法正确, 在临床中具有一定的应用价值.

## 4 参考文献

- 1 杨星, 卢倩, 刘祥德, 廖睿, 杨占宇. 肾移植术后转换为以吗替麦考酚酯胶囊为主的免疫抑制方案的临床应用. 实用医院临床杂志 2011; 8: 51-55
- 2 张卓莉, 田真, 赵娟. 吗替麦考酚酯在自身免疫病治疗中的疗效与安全性. 中华风湿病学杂志 2013; 17: 277-280
- 3 侯颖, 宋洪涛, 王庆华, 杨顺良, 吴卫真, 谭建明. 肾移植患者MRP2C3972T基因多态性对吗替麦考酚酯药动学参数、不良反应及急性排斥反应的影响. 药品评价 2011; 7: 40-43
- 4 Weber SC, Uhlenberg B, Raile K, Querfeld U, Müller D. Polyoma virus-associated progressive multifocal leukoencephalopathy after renal transplantation: regression following withdrawal of mycophenolate mofetil. *Pediatr Transplant* 2011; 15: E19-E24 [PMID: 20880091 DOI: 10.1111/j.1399-3046.2010.01368.x]
- 5 Sollinger HW, Sundberg AK, Levenson G, Voss BJ, Pirsch JD. Mycophenolate mofetil versus enteric-coated mycophenolate sodium: a large, single-center comparison of dose adjustments and outcomes in kidney transplant recipients. *Transplantation* 2010; 89: 446-451 [PMID: 20177347 DOI: 10.1097/TP.0b013e3181ca860d]
- 6 Ekberg H, van Gelder T, Kaplan B, Bernasconi C. Relationship of tacrolimus exposure and mycophenolate mofetil dose with renal function after renal transplantation. *Transplantation* 2011; 92: 82-87 [PMID: 21562449 DOI: 10.1097/TP.0b013e31821fad06]
- 7 刘育红, 王金侠, 孙继英, 路丛霞, 王彩燕, 寇雅丽. 肾移植术后严重腹泻的治疗及护理管理. 全科护理 2013; 11: 1947-1948
- 8 肖海静. 肾移植后不同免疫抑制剂抗排斥反应的临床应用及不良反应. 中国组织工程研究 2012; 16: 3383-3386
- 9 吕芳芳, 庞艳玲, 刘欣, 田旭. 美常安联合洛哌丁胺治疗化疗相关性腹泻临床研究. 中国社区医师(医学专业) 2011; 13: 68-69
- 10 陈红兵, 廖立红, 刘娟, 王冰, 刘祖亮, 何湘, 蓝兰. 轮状病毒感染性腹泻合并多器官功能损害40例临床分析. 中国临床新医学 2012; 5: 117-119
- 11 杨长尧. 抗生素的合理应用及其相关性腹泻的分析研究. 中国中医药咨讯 2012; 4: 3994-3994
- 12 冯小芳, 王立明, 闵敏, 左富姐, 周梅生. 急性腹泻期间肾移植受者他克莫司血药浓度的变化. 中国组织工程研究 2012; 16: 9911-9915
- 13 李夏寅, 任斌, 容颖慈, 李敏薇. 成年与老年肾移植受者霉酚酸药代动力学比较. 中国处方药 2014; 12: 12-14
- 14 于立新, 李伟模, 李川江, 苗芸. 肾移植患者霉酚酸谷浓度与急性排斥反应及药物毒性相关性的研究. 山东医药 2011; 51: 3-5
- 15 崔刚, 陈文倩, 刘晓, 李朋梅, 赵莉, 刘峻, 张相林. UPLC-MS/MS和HPLC-UV测定肾移植患者麦考酚酸血药浓度的相关性研究. 中国药理学杂志 2013; 48: 461-465
- 16 杨宏伟, 刘龙. 低剂量吗替麦考酚酯预防肾移植术后肺炎的临床研究. 中国现代医学杂志 2011; 21: 4168-4171

编辑 郭鹏 电编 闫晋利





# 心理社会因素与炎症性肠病患者生存质量的关系

孙晋洁, 翟晓峰

孙晋洁, 翟晓峰, 南通大学第二附属医院胃肠外科 江苏省南通市 226001

孙晋洁, 主管护师, 主要从事营养支持治疗的研究。

作者贡献分布: 本研究由孙晋洁进行课题设计、数据收集、整理及统计分析; 翟晓峰进行指导; 论文书写由孙晋洁完成; 翟晓峰修改。

通讯作者: 翟晓峰, 副主任医师, 226001, 江苏省南通市孩儿巷北路6号, 南通大学第二附属医院胃肠外科, zhaixiaof@yeah.net 电话: 0513-85061257

收稿日期: 2014-08-15 修回日期: 2014-09-02

接受日期: 2014-09-10 在线出版日期: 2014-10-28

## Relationship between psychosocial factors to quality of life in patients with inflammatory bowel disease

Jin-Jie Sun, Xiao-Feng Zhai

Jin-Jie Sun, Xiao-Feng Zhai, Department of Gastrointestinal Surgery, the Second Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Xiao-Feng Zhai, Associate Chief Physician, Department of Gastrointestinal Surgery, the Second Affiliated Hospital of Nantong University, 6 Haierxiang North Road, Nantong 226001, Jiangsu Province, China. zhaixiaof@yeah.net

Received: 2014-08-15 Revised: 2014-09-02

Accepted: 2014-09-10 Published online: 2014-10-28

## Abstract

**AIM:** To analyze psychosocial factors affecting quality of life in patients with inflammatory bowel disease (IBD).

**METHODS:** Both outpatients and inpatients treated in the Affiliated Hospital and Second Affiliated Hospital of Nantong University from October 2012 to March 2014 were included. A survey of general information was conducted. Disease activity index was adopted as the standard to determine the disease stage. Patients' anxiety and depression were assessed using self-rating anxiety scale and self-rating depression scale, respectively. A survey of the quality of life was carried out using the medical outcomes study short-form 36 (SF-36). The relationship between quality of life and psychosocial factors was then analyzed statistically.

**RESULTS:** This study included 90 cases of IBD, including 48 cases of ulcerative colitis and 42 cases of Crohn's disease. There were 42 males and 48 females, and their average age was  $51.31 \pm 14.97$  years. According to the score of disease activity index, 54 patients were in remission stage and 36 patients were in active stage. Fifteen patients suffered from anxiety and 36 patients from depression, accounting for 16.67% and 40.00%, respectively, which were considerably higher than the normal levels. IBD patients' quality of life was significantly worse compared with healthy people, and the quality of life in the active stage was considerably lower than that in the remission stage. Disease activity index, anxiety and depression were negatively correlated with patients' quality of life.

**CONCLUSION:** The quality of life in patients with IBD worsens considerably, which negatively correlates with disease activity, anxiety and depression.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Inflammatory bowel disease; Quality of life; Anxiety; Depression

Sun JJ, Zhai XF. Relationship between psychosocial factors and quality of life in patients with inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(30): 4695-4700 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4695.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4695>

## 摘要

**目的:** 了解南通地区炎症性肠病患者生存质量的现况, 分析影响生存质量可能的相关因素。

**方法:** 选取2012-10/2014-03在南通大学附属医院、南通大学第二附属医院门诊或住院就诊的炎症性肠病患者进入研究。对患者进行一般资料的调查, 以疾病活动度指数作为对病情分期判断的标准。采用焦虑自评量表评估患者的焦虑情况, 采用抑郁自评量表评估抑郁情况。采用健康状况调查问卷SF-36调查生存质量。

## ■背景资料

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是可见于全消化系的慢性非特异性炎症性疾病, 随着社会经济水平的发展, 生活方式、饮食习惯的改变, 该病在我国的发生率不断提高, 且病程迁延, 患者生存质量低。

## ■同行评议者

潘秀珍, 教授, 主任医师, 福建省立医院消化科

## ■研究前沿

本研究联合应用焦虑自评量表(self-rating anxiety scale, SAS)、抑郁自评量表(self-rating depression scale, SDS)、SF-36对IBD患者的生存质量进行横断面调查,并研究其相关关系,阐明IBD患者生存质量降低与心理社会因素间的关系。

经统计学分析得出炎症性肠病患者的生存质量及其相关影响因素。

**结果:** 本研究共纳入炎症性肠病90例,其中溃疡性结肠炎48例,克罗恩病42例,男42例,女48例,平均年龄 $51.31 \pm 14.97$ 岁。经疾病活动指数评分,缓解期患者54例,活动期患者36例。焦虑患者15例,占16.67%,抑郁患者36例,占40.00%,与常模相较显著增高。运用SF-36调查,炎症性肠病患者生存质量与常模比较显著降低,活动期较缓解期更低。统计学分析显示炎症性肠病患者无论疾病缓解期或活动期,生存质量均受损。疾病活动指数、焦虑、抑郁与患者的生存质量负相关。

**结论:** 炎症性肠病患者的生存质量显著降低,与疾病活动度负相关、与焦虑、抑郁负相关。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 炎症性肠病; 生存质量; 焦虑; 抑郁

**核心提示:** 炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是消化系常见病多发病,近年我国该病发病率增高趋势明显,严重影响青壮年的身体健康,并降低其生存质量。焦虑、抑郁等心理因素与IBD有关系已成共识,本研究通过设计合理的横断面研究和数据统计分析,揭示了心理社会因素与IBD患者生存质量间的关系,工作量饱满,数据详实,为制定护理干预措施提供理论依据,对IBD的临床诊治有帮助。

孙晋洁, 翟晓峰. 心理社会因素与炎症性肠病患者生存质量的关系. 世界华人消化杂志 2014; 22(30): 4695-4700 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4695.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i30.4695>

## 0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是可见于全消化系的慢性特发性炎症性疾病,包括克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC),仅在美国就有超过140万患者罹患该病<sup>[1]</sup>,我国在1989-2003年第3个五年间发病率比第1个五年增加了8.5倍,已经成为消化系统常见疾病。作为反复发作的慢性疾病,其治疗的目的是减少或控制疾病活动并优化生存质量<sup>[2]</sup>。随着医学模式的改变,关注患者的心理社会因素与疾病活动及生存质量的关系,提高生存质量,成为研究重点。本研究使用健康状况调查问卷SF-36(medical

outcomes study short-form 36, SF-36)、焦虑自评量表(self-rating anxiety scale, SAS)、抑郁自评量表(self-rating depression scale, SDS)调查南通地区IBD患者心理社会因素与生存质量的现况,研究其关系,为制定护理干预措施提供理论依据和数据支持,以期帮助患者提高生存质量。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 采用方便抽样的方法,选取2012-10/2014-03在南通大学附属医院、南通大学第二附属医院门诊或住院就诊并确诊的炎症性肠病患者。纳入标准: (1)参照2007年中华医学会消化病学分会推荐的标准,符合UC或CD诊断标准的患者; (2)年满16周岁,性别不限; (3)有正常沟通能力,单独或在他人帮助下能够完成问卷; (4)自愿签署知情同意书。排除标准: (1)不能理解完成问卷; (2)并发其他对生存质量有严重影响的疾病,如糖尿病、慢性阻塞性肺病、冠心病、严重肝肾疾病等; (3)有肠道造口、肠道癌变等影响生存质量的因素存在; (4)合并妊娠; (5)合并精神障碍或认知障碍者,服用抗焦虑、抑郁药物。本次研究的常模的资料来自同期南通大学第二附属医院的健康体检人群。

### 1.2 方法

**1.2.1 健康状况调查问卷SF-36:** 健康状况调查问卷SF-36是现阶段使用最广泛的性能可靠地生存质量量表<sup>[3]</sup>,包括躯体功能(physical function, PF)、躯体角色(role-physical, RP)、躯体疼痛(body pain, BP)、总体健康(general health, GH)、活力(vitality, VT)、社会功能(social function, SF)、情感角色(role emotional, RE)和心理卫生(mental health, MH)八个维度,前4个维度归为躯体健康,后四个维度归为心理健康。量表包含36个条目,总分共145分,经换算转换成标准分,计算公式为: 标准得分 = (实际得分-该维度可能的最低得分) × 100 / (该维度可能的最高得分 - 该维度可能的最低得分),分值越高,说明生存质量越好。

**1.2.2 焦虑自评量表:** 焦虑自评量表(self-rating anxiety scale, SAS)<sup>[4]</sup>由William W.K. Zung编制,包含20个条目,用于测量焦虑状态轻重程度。SAS采用4级评分,由自评者评定结束后,将20个项目的各个得分相加即得,再乘以1.25以后取得整数部分,就得到标准分。总分低于50分者为正常, >50分为焦虑。

表 1 炎症性肠病组与正常对照组焦虑、抑郁评分比较 (mean ± SD)

项目	炎症性肠病组	正常对照组	P值
焦虑评分	43.56 ± 7.88	35.47 ± 7.46	0.008
焦虑最大值	63.00	51.00	
焦虑最小值	26.00	26.00	
抑郁评分	44.55 ± 11.08	37.67 ± 10.20	0.037
抑郁最大值	79.00	58.00	
抑郁最小值	29.00	25.00	

## ■ 相关报道

IBD发病机制尚不完全清楚, Winfried的研究提供了下丘脑-垂体-肾上腺轴和胆碱能抗炎通路的变化与IBD的肠道病变间关系的环节证据, 解释了心理社会因素与IBD的相关性。

1.2.3 抑郁自评量表: 抑郁自评量表(self-rating depression scale, SDS)与SAS类似, 含有20个项目, 为4级评分的自评量表, 包含20个条目, 计分方法和SAS相同。总分低于50分者为正常, >50分为抑郁。

1.2.4 疾病活动度指数: 为便于筛选患者, 对IBD患者采用国际通用的量化评分标准进行病情评估。对CD患者采用哈佛-布拉德指数(Harvey-Bradshaw index)即简化CD活动指数(Crohn's disease activity index, CDAI)<sup>[5]</sup>评估, CADI根据一般情况、腹痛、腹泻、腹部肿块、穿孔、肠梗阻、瘘管等并发症进行计分。总分0-12分, 得分高代表病情重, 4分以下为疾病缓解。对溃疡性结肠炎患者采用简化结肠炎活动指数(colitis activity index, CAI)评估<sup>[6]</sup>。CAI根据UC患者的一般情况、白天排便次数、夜间排便次数、黏液血便、里急后重、关节炎、皮肤结节性红斑、虹膜炎、阿弗他溃疡、肛周瘘管等表现计分, 得分0-16, 得分越高, 病情越重, 4分以下为疾病处于缓解期。

1.2.5 研究过程: 问卷调查采用面对面的调查方式。在进行问卷调查前, 先向患者说明此次调查的研究目的, 在获研究对象同意后, 进行调查。问卷以患者自我填写为主, 对少数文化程度低的患者如自行填写存在困难, 则由研究人员提问, 被访者回答来进行测评, 由研究人员代为填写。填写问卷耗时约25-30 min。通过问诊和体格检查结果确定患者的疾病活动指数。

**统计学处理** 研究采用SPSS16.0软件包进行数据处理。采用Excel软件建立数据库, 将统计数据资料录入电脑, 为防止数据的输入错误, 采用双人核对的方式。对于成组资料采用配对样本的t检验比较组间的差异, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。采用多元逐步回归分析研究心理社会因素与患者生存质量的相关关系,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 研究对象的一般资料 2012-10/2014-06共有90例IBD患者进入研究。其中男性患者42例, 女性患者48例, 平均年龄51.31岁±14.97岁。CD患者42例, 平均年龄43.05岁±12.98岁, UC患者48例, 平均年龄58.54岁±12.86岁。以同期南通大学第二附属医院的90名健康体检人群为正常对照组。

2.2 疾病活动情况 本研究共有90例患者参与调查, 其中54例患者疾病活动指数<4, 处于缓解期, 36例患者疾病活动度指数≥4, 处于疾病活动期。

2.3 焦虑、抑郁发生情况 本研究采用SAS、SDS研究焦虑、抑郁发生情况。在90例IBD患者中, 有15例患者存在焦虑, 占16.67%, 36例患者存在抑郁, 占40.00%。以同期南通大学第二附属医院健康体检患者为正常对照组, 90例中有3例患者存在焦虑, 占3.33%, 6例患者存在抑郁, 占6.67%。结果显示IBD组焦虑、抑郁发生率高于常模, 两组患者评分差异有统计意义(表1)。

本研究纳入90例患者, 活动期IBD共发生焦虑7例, 占活动期患者的19.44%, 缓解期IBD患者共发生焦虑8例, 占缓解期患者的14.81%。活动期发生抑郁18例, 占活动期患者的50.00%, 缓解期发生抑郁18例, 占缓解期患者的33.33%。无论是焦虑还是抑郁, 活动期发生率均高于缓解期。

2.4 SF-36得分 为研究IBD患者生存质量的受损情况, 将健康人群和IBD患者的生存质量做两样本配对t检验。结果显示与健康人群相比较, IBD患者在躯体角色、躯体疼痛、总体健康、社会功能、情感角色维度的得分低于健康人群, 在躯体功能、活力、心理卫生维度与健康人群无明显差异(表2)。

为比较活动期和缓解期患者生存质量的差别, 分别将活动期与缓解期患者的生存质量进行了比较, 活动期患者生存质量低, 差异有统计学意义(表3)。



## ■创新盘点

本研究设计合理,联合使用了多种量表,重点关注了心理社会因素与炎症性肠病患者生存质量间的关系,为制定护理干预措施提供理论依据,对IBD的临床诊治有帮助。

表 2 炎症性肠病患者与健康人群生存质量比较 (mean ± SD)

SF-36维度	炎症性肠病患者	健康人群	t值	P值
躯体功能	82.21 ± 15.55	82.23 ± 18.90	0.06	0.963
躯体角色	44.08 ± 41.33	81.03 ± 32.09	8.48	0.000
躯体疼痛	73.36 ± 23.33	80.50 ± 21.53	3.67	0.004
总体健康	45.35 ± 18.09	58.23 ± 21.08	5.78	0.000
活力	56.51 ± 21.23	54.47 ± 23.34	1.02	0.065
社会功能	72.68 ± 25.66	82.89 ± 16.56	3.11	0.000
情感角色	68.23 ± 37.66	86.43 ± 32.22	3.66	0.000
心理卫生	60.67 ± 17.37	56.89 ± 24.67	4.23	0.088

表 3 活动期和缓解期炎症性肠病患者生存质量比较 (mean ± SD)

SF-36维度	缓解期	活动期	t值	P值
n	54	36		
躯体功能	85.52 ± 12.23	74.56 ± 21.08	3.06	0.003
躯体角色	63.55 ± 37.86	20.76 ± 30.89	6.55	0.001
躯体疼痛	83.66 ± 18.76	65.44 ± 23.88	4.20	0.000
总体健康	50.66 ± 18.65	37.54 ± 16.90	3.69	0.001
活力	64.44 ± 17.83	45.65 ± 21.76	6.06	0.000
社会功能	80.54 ± 13.34	66.69 ± 23.47	3.55	0.005
情感角色	83.65 ± 28.77	48.33 ± 35.69	4.99	0.004
心理卫生	75.48 ± 17.86	62.43 ± 16.55	5.67	0.003

表 4 UC和CD患者的生存质量比较 (mean ± SD)

SF-36维度	UC	CD	t值	P值
n	48	42		
躯体功能	82.33 ± 16.11	76.66 ± 15.44	1.14	0.036
躯体角色	43.77 ± 40.67	45.09 ± 44.04	0.05	0.357
躯体疼痛	74.25 ± 24.33	74.80 ± 23.98	0.15	0.235
总体健康	44.35 ± 18.66	43.77 ± 17.96	0.28	0.087
活力	56.57 ± 22.75	59.33 ± 20.55	1.00	0.069
社会功能	73.34 ± 25.88	72.00 ± 23.88	0.05	0.126
情感角色	69.78 ± 38.69	67.55 ± 39.01	0.36	0.335
心理卫生	72.77 ± 17.66	69.22 ± 19.36	1.23	0.079

CD: 克罗恩病; UC: 溃疡性结肠炎。

经对UC和CD患者的SF-36得分进行成组t检验,结果提示,CD患者的躯体功能维度得分低,差异有统计学意义(表4)。

2.5 心理社会因素与IBD患者生存质量的关系为进一步明确IBD的生存质量影响因素,以SF-36的8个维度作为因变量,将患者的一般资料、焦虑、抑郁作为自变量,利用多元逐步回归方程研究各种因素对患者生存质量影响,结果显示,焦虑、抑郁、疾病活动指数、年龄、吸烟与患

者的生存质量负相关(表5)。

### 3 讨论

IBD是一种慢性炎症性肠道疾病,IBD患者的焦虑、抑郁发生率较正常人群显著升高。国外的研究发现,在美国的青少年炎症性肠病患者中抑郁发生率高达25%,高于常人<sup>[7]</sup>,在接受外科肠造口手术的IBD患者中,其抑郁发生率高达31%<sup>[8]</sup>,临床数据显示在IBD患者中抑郁、焦虑

表 5 炎症性肠病患者心理社会因素与患者生存质量的相关研究

自变量	因变量	一般回归系数	标准误	标准回归系数	t值	P值
躯体功能	疾病活动指数	-7.123	1.564	-0.372	4.464	0.000
	年龄	-0.239	0.09	-0.189	2.117	0.042
躯体角色	疾病活动指数	-5.964	2.237	-0.238	2.622	0.011
	支付模式	10.006	1.473	0.765	2.876	0.008
	焦虑	-4.554	1.456	-0.334	1.432	0.083
躯体疼痛	疾病活动指数	-3.445	1.465	-0.324	2.334	0.023
	焦虑	-3.432	1.456	-0.334	1.435	0.041
总体健康	吸烟	-10.345	1.456	-0.556	2.345	0.007
	疾病活动指数	-3.335	1.290	-0.324	2.246	0.024
	焦虑	-4.224	1.336	-0.234	-1.332	0.025
活力	疾病活动指数	-5.540	1.224	-0.448	-4.303	0.002
	吸烟	-1.665	2.223	-0.445	-3.556	0.003
社会功能	支付	10.063	3.772	0.382	2.228	0.027
	疾病活动指数	-3.554	1.483	-0.270	-2.330	0.018
	抑郁	-3.224	1.334	-0.035	-1.342	0.004
	焦虑	-4.332	1.467	-0.018	-1.224	0.006
情感角色	疾病活动指数	-7.665	1.665	-0.453	-4.665	0.000
	抑郁	-4.443	1.086	-1.334	-2.334	0.006
心理卫生	疾病活动指数	-5.355	0.795	-0.564	-6.780	0.000
	抑郁	-3.446	1.335	-0.354	-1.224	0.005

## ■名词解释

哈维-布拉德指数 (Harvey-Bradshaw index): 即简化克罗恩病活动指数 (Crohn's disease activity index CDAI), 根据患者一般情况、腹痛、腹泻、腹部肿块、穿孔、肠梗阻、瘘管等并发症进行计分, 总分0-12分, 得分高代表病情重, 4分以下为疾病缓解。

的发生率显著高于常人<sup>[9]</sup>。国内的研究表明, 溃疡性结肠炎中抑郁的发生率为32.6%<sup>[10]</sup>, 显著高于正常人群。在本研究中, 焦虑发生率为16.67%, 抑郁发生率为40.00%, 显著高于常模, 但在具体数据上与其他地区存在差异。焦虑、抑郁的发生与社会支持之间有着密切的联系, 良好的社会支持可以降低焦虑抑郁的发生率, 个人不良情绪的适度表达有利于改善焦虑程度。在不同的地区文化背景下, 患者的社会家庭支持系统有所不同, 个人对情绪情感的表达有所差异, 焦虑、抑郁的发生率存在差异。炎症性肠病是慢性病, 影响人群多是青壮年, 该年龄段的人群承担着较重的社会和家庭责任。患者常因为突出的肠道症状不能正常的学习或就职, 来自团体的社会支持较正常人群为少; 由于疾病的困扰, 患者难以承担家庭的责任, 同时需要更多的家庭照护支持, 且由于长期就诊等原因经济负担重, 在此背景下, 患者更加容易产生自卑和自我歧视。在炎症性肠病对社会和家庭影响的共同因素下, 该病患者更易产生焦虑、抑郁的情绪。

先前的研究使用SF-36研究炎症性肠病患者的生存质量, 发现其生存质量降低。国外的研究表明, IBD患者的生存质量降低<sup>[11-14]</sup>, 国内的学者<sup>[15]</sup>发现, 使用SF-36研究, 炎症性肠病患者

的躯体功能评分显著低于常人, 但心理功能的部分维度高于常人。本研究发现IBD患者的生存质量低于常人, 活动期患者的生存质量缓解期更低, CD患者的躯体功能得分低于UC, 其心理卫生维度的得分与常模相较没有显著差异。究其原因, 该病的肠道症状突出, 由于食物不耐受, 患者进食敏感食物如牛奶、油炸、生冷、海鲜类食物后会出现剧烈的腹痛和腹泻症状, 为规避风险, 患者被迫选择来源单一的食物。海鲜、油炸类食物是年轻人群乐于选择的食物, 味道鲜美, 营养丰富, 而炎症性肠病患者被迫选择的单一食谱不仅限制了营养物质的摄入, 也使进餐的快感消失, 更加限制了患者的外出进餐和休闲活动, 对患者困扰大。长期的饮食单一, 营养物质的缺乏在炎症性肠病患者中表现突出, 使用营养评估工具测量时患者常存在营养风险, 潜在损害了患者的体质, 对躯体功能影响较大<sup>[16]</sup>, 因此, 患者的躯体功能评分显著低于常模。而作为慢性病, 患者对疾病的反复发作有了一定的认知, 病情较长的患者在访谈中对疾病的接受度较高, 这也可能是本研究中, 患者的心理卫生维度的得分与常模没有差异的原因。

既往的研究中, 研究者更多关注的是患者的病理生理指标, 而生存质量是患者的主观体验,

### ■同行评价

本研究立意依据充分, 纳入和排除病例合理, 问卷内容规范, 统计正确, 结果可信, 观点明确, 条理清晰, 对临床炎症性肠病的诊疗有参考意义。

有时与疾病的表现并不完全吻合。本研究显示, 与常模相比较, 炎症性肠病患者生存质量低, 活动期患者生存质量更低, 焦虑抑郁发生率高, 多元逐步回归分析的结果提示, 患者的生存质量低与焦虑、抑郁有关, 与国外的研究结果类似。对IBD患者, 更多的关注患者的心理社会状况, 给予较多的社会支持和干预, 帮助患者提高生存质量, 是今后的工作应关注的重点。

### 4 参考文献

- Loftus EV. Biologic therapy in inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am* 2014; 43: xv-xvii [PMID: 25110264 DOI: 10.1016/j.gtc.2014.06.001]
- Faust AH, Halpern LF, Danoff-Burg S, Cross RK. Psychosocial factors contributing to inflammatory bowel disease activity and health-related quality of life. *Gastroenterol Hepatol (N Y)* 2012; 8: 173-181 [PMID: 22675279]
- Revicki DA, Rentz AM, Luo MP, Wong RL. Psychometric characteristics of the short form 36 health survey and functional assessment of chronic illness Therapy-Fatigue subscale for patients with ankylosing spondylitis. *Health Qual Life Outcomes* 2011; 9: 36 [PMID: 21600054 DOI: 10.1186/1477-7525-9-36]
- Olatunji BO, Deacon BJ, Abramowitz JS, Tolin DF. Dimensionality of somatic complaints: factor structure and psychometric properties of the Self-Rating Anxiety Scale. *J Anxiety Disord* 2006; 20: 543-561 [PMID: 16198532]
- Quaia E, Cabibbo B, Sozzi M, Gennari AG, Pontello M, Degraffi F, Cova MA. Biochemical Markers and MR Imaging Findings as Predictors of Crohn Disease Activity in Patients Scanned by Contrast-enhanced MR Enterography. *Acad Radiol* 2014; 21: 1225-1232 [PMID: 24998692 DOI: 10.1016/j.acra.2014.05.002]
- Zahn A, Hinz U, Karner M, Eehalt R, Stremmel W. Health-related quality of life correlates with clinical and endoscopic activity indexes but not with demographic features in patients with ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 1058-1067 [PMID: 17075347]
- Jones NP, Siegle GJ, Proud L, Silk JS, Hardy D, Keljo DJ, Dahl RE, Szigethy E. Impact of inflammatory bowel disease and high-dose steroid exposure on pupillary responses to negative information in pediatric depression. *Psychosom Med* 2011; 73: 151-157 [PMID: 21217099 DOI: 10.1097/PSY.0b013e318207ffea]
- Ananthakrishnan AN, Gainer VS, Cai T, Perez RG, Cheng SC, Savova G, Chen P, Szolovits P, Xia Z, De Jager PL, Shaw S, Churchill S, Karlson EW, Kohane I, Perlis RH, Plenge RM, Murphy SN, Liao KP. Similar risk of depression and anxiety following surgery or hospitalization for Crohn's disease and ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 594-601 [PMID: 23337479 DOI: 10.1038/ajg.2012.471]
- Iglesias-Rey M, Barreiro-de Acosta M, Caamaño-Isorna F, Rodríguez IV, Ferreiro R, Lindkvist B, González AL, Dominguez-Munoz JE. Psychological factors are associated with changes in the health-related quality of life in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2014; 20: 92-102 [PMID: 24193152 DOI: 10.1097/01.MIB.0000436955.78220.bc]
- 张成林, 储兴, 林周, 薛飞. 溃疡性结肠炎患者的心理健康状况及个性特征. *中国行为医学科学* 2001; 10: 32-33
- Hauser G, Tkalcic M, Stimac D, Milić S, Sincić BM. Gender related differences in quality of life and affective status in patients with inflammatory bowel disease. *Coll Antropol* 2011; 35 Suppl 2: 203-207 [PMID: 22220436]
- Kalafateli M, Triantos C, Theocharis G, Giannakopoulou D, Koutroumpakis E, Chronis A, Sapountzis A, Margaritis V, Thomopoulos K, Nikolopoulou V. Health-related quality of life in patients with inflammatory bowel disease: a single-center experience. *Ann Gastroenterol* 2013; 26: 243-248 [PMID: 24714279]
- Casellas F, Barreiro de Acosta M, Iglesias M, Robles V, Nos P, Aguas M, Riestra S, de Francisco R, Papo M, Borrueal N. Mucosal healing restores normal health and quality of life in patients with inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2012; 24: 762-769 [PMID: 22517240 DOI: 10.1097/MEG.0b013e32835414b2]
- Ulitsky A, Ananthakrishnan AN, Naik A, Skaros S, Zadvornova Y, Binion DG, Issa M. Vitamin D deficiency in patients with inflammatory bowel disease: association with disease activity and quality of life. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2011; 35: 308-316 [PMID: 21527593 DOI: 10.1177/0148607110381267]
- 张丽华, 王玉霞, 陈玉. 心理行为干预对溃疡性结肠炎患者生命质量的影响. *中国行为医学科学* 2007; 16: 838-839
- 孙晋洁, 徐旭娟. 肠内营养的研究进展. *世界华人消化杂志* 2014; 22: 1525-1530

编辑 郭鹏 电编 闫晋利





# 外周血miRNA-17-3p的检测在结肠癌诊断中的临床意义

郭秀丽, 姚士伟, 朱东, 赵辉, 徐有青

郭秀丽, 姚士伟, 朱东, 徐有青, 首都医科大学附属北京天坛医院消化内科 北京市 100050

赵辉, 首都医科大学附属北京天坛医院检验科 北京市 100050

郭秀丽, 主治医师, 主要从事消化系统肿瘤诊治的研究。

**作者贡献分布:** 此课题由郭秀丽、姚士伟、朱东及徐有青设计; 研究过程郭秀丽、姚士伟及朱东操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由赵辉提供; 数据分析由郭秀丽与姚士伟完成; 本论文写作由郭秀丽完成。

**通讯作者:** 徐有青, 教授, 博士生导师, 100050, 北京市崇文区天坛西里6号, 首都医科大学附属北京天坛医院消化内科。

youqingxu@hotmail.com

电话: 010-67096644

收稿日期: 2014-08-01 修回日期: 2014-09-01

接受日期: 2014-09-10 在线出版日期: 2014-10-28

## Significance of serum miRNA-17-3p in diagnosis of colon cancer

Xiu-Li Guo, Shi-Wei Yao, Dong Zhu, Hui Zhao, You-Qing Xu

Xiu-Li Guo, Shi-Wei Yao, Dong Zhu, You-Chun Xu, Department of Gastrointestinal Medicine, Beijing Tiantan Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100050, China

Hui Zhao, Department of Laboratory Medicine, Beijing Tiantan Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100050, China

**Correspondence to:** You-Qing Xu, Professor, Department of Gastrointestinal Medicine, Beijing Tiantan Hospital Affiliated to Capital Medical University, 6 Tiantan West Street, Chongwen District, Beijing 100050, China. youqingxu@hotmail.com

Received: 2014-08-01 Revised: 2014-09-01

Accepted: 2014-09-10 Published online: 2014-10-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the diagnostic significance of serum miRNA-17-3p in colon cancer and its association with clinical and pathological features.

**METHODS:** The expression of miRNA-17-3p in sera from 67 colon cancer patients (observation group) and 50 matched healthy people (control group) was detected by using stem-loop real-time reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). The level of miRNA-17-3p was compared between two groups. The correlation between serum miRNA-17-3p expression and

clinical and pathologic features of colon cancer was analyzed. ROC curve was plotted to assess the diagnostic significance of miRNA-17-3p in colon cancer.

**RESULTS:** Expression level of serum miRNA-17-3p was significantly higher in the observation group than in the control group ( $P < 0.05$ ). The expression of serum miRNA-17-3p was associated with lymph node metastasis, tumor differentiation and TNM stage. Using a cut-off of 2.5 (the relative expression level), serum miRNA-17-3p had a sensitivity of 87% and a specificity of 62% for diagnosis of colon cancer. The AUC of miRNA-17-3p was 0.910, better than that of carcinoembryonic antigen.

**CONCLUSION:** Serum miRNA-17-3p expression may be a valuable adjuvant parameter for the diagnosis and staging of colon cancer.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** miRNA-17-3p; Colon cancer; ROC

Guo XL, Yao SW, Zhu D, Zhao H, Xu YQ. Significance of serum miRNA-17-3p in diagnosis of colon cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(30): 4701-4704 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4701.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4701>

## 摘要

**目的:** 外周血miRNA-17-3p对结肠癌的诊断意义及其与临床病理特征的相关性。

**方法:** 2012-011/2014-04在北京天坛医院本院接受住院治疗的结肠癌患者67例(观察组)资料,另选取50例健康体检者作为对照组。采用逆转录实时荧光定量聚合酶链反应(RT-PCR)方法检测miRNA-17-3p的表达量,分析两组外周血miRNA-17-3p、CEA水平差异;并分析miRNA-17-3p与年龄、性别、临床分期、分化程度、淋巴结转移等临床病理特征的关系。并分别对miRNA-17-3p、CEA水平对结肠癌的诊断意义行ROC曲线分析。

## ■背景资料

miRNA的表达谱不但能准确地判断其组织来源,甚至能对组织学上难以诊断的低分化肿瘤进行诊断分类,有着广泛的临床应用前景。结肠直肠癌是在全球范围内发病率和病死率均位居第3位的人类主要的恶性肿瘤之一,如能进一步研究清楚结肠癌的发生、发展及预后,对于结肠癌的诊断及治疗将有十分重要的作用。

## ■同行评议者

唐世刚, 教授, 湖南省人民医院

## ■ 研发前沿

结肠癌与miRNA表达谱的关系较为复杂,是近年来研究的热点.研究已发现结肠癌组织中的miRNA-17-3p水平较正常结肠组织明显升高,外周血中的miRNA-17-3p水平是否存在同样的变化,尚不十分明确.本研究通过定量PCR验证外周血miRNA-17-3p的表达结果,并研究miRNA-17-3p与临床病理因素的关系.

**结果:** 观察组患者血清中的miRNA-17-3p的相对表达量明显高于正常对照组( $P<0.05$ ).其表达与淋巴结转移、分化程度、TNM分期相关.受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC曲线)分析显示,miRNA-17-3p以相对表达量2.50为临界点时对结肠癌的诊断敏感性为87%,特异性为62%,曲线下面积0.910,优于CEA对结肠癌的诊断.术后外周血miRNA-17-3p水平明显低于术前,差异有统计学意义( $P<0.05$ ).

**结论:** 外周血miRNA-17-3p在结肠癌患者中的表达明显上调,对结肠癌的诊断价值优于CEA.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** miRNA-17-3p; 结肠癌; ROC曲线

**核心提示:** 结肠癌患者血清中的miRNA-17-3p的相对表达量明显高于正常对照组,且表达与淋巴结转移、分化程度、TNM分期相关. miRNA-17-3p对结肠癌的诊断敏感性为87%,特异性为62%,曲线下面积0.910,优于CEA对结肠癌的诊断.

郭秀丽, 姚士伟, 朱东, 赵辉, 徐有青. 外周血miRNA-17-3p的检测在结肠癌诊断中的临床意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(30): 4701-4704 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4701.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i30.4701>

## 0 引言

结直肠癌是在全球范围内发病率和病死率均位居第3位的人类主要的恶性肿瘤之一,严重威胁着人们的健康和生活,如能进一步研究清楚结肠癌的发生、发展及预后,对于结肠癌的诊断及治疗将有十分重要的作用<sup>[1]</sup>.近年来,研究<sup>[2]</sup>发现microRNA(miRNA)具有癌基因和抑癌基因的作用,从而参与肿瘤的发生、发展.到目前为止已发现多种miRNAs与结直肠癌发生发展有关,如miR-320a4、miR-148b5、miRNA-187、miRNA-214等<sup>[3,4]</sup>.部分研究<sup>[5]</sup>亦证实结肠癌组织中的miRNA-17-3p水平较正常结肠组织明显升高,外周血中的miRNA-17-3p水平是否存在同样的变化,尚不十分明确.本研究通过定量PCR验证外周血miRNA-17-3p的表达结果,并研究miRNA-17-3p与临床病理因素的关系及miRNA-17-3p对结肠癌的诊断意义.

## ■ 相关报道

Tokarz与Blasiak等的研究发现结肠癌组织中的miRNA-17-3p水平明显高于正常结肠组织,提示miRNA-17-3p在结肠癌的发生、发展中可能起到相关的作用,为进一步进行临床研究奠定了基础.谢玉宏等发现结肠癌患者血清中的miRNA-17-3p水平确实高于正常对照组,且联合CEA可提高诊断水平.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 2012-01/2014-04在北京天坛医院肠镜检查发现为结肠癌患者67例为观察组.并选取同期50例正常体检者作为对照组.入组标准:观察组患者根据结肠镜表现并联合取检病理确诊;所有观察组患者确诊后立即留取血标本(未行任何放化疗治疗);接受手术的患者(47例)另于术后3 wk再次留取血标本.排除标准:已有其他部位肿瘤(结肠癌所致转移除外);伴有高血压、糖尿病等慢性疾病患者;伴有心、肝、肺、肾等重要脏器功能不全者;有严重精神疾患者.所有患者均签署知情同意书.

### 1.2 方法

**1.2.1 临床指标:** 一般信息(包括性别、年龄、临床分期)、手术患者需采集记录淋巴结转移、肿瘤分化程度等信息.

**1.2.2 血标本指标:** 血癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)、miRNA-17-3p的相对表达量.采集外周血4 mL,迅速转入EDTA抗凝管中,涡旋混匀,送实验室.其中CEA根据ELISA法测得,miRNA-17-3p的相对表达量采用,实时RT-PCR方法测得.

**统计学处理** 数据采用SPSS13.0软件进行统计分析.计量资料以mean±SD表示,比较采用 $t$ 检验;多组织间的分析采用方差分析.受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)分析采用行非参数秩和检验.以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 观察组及对照组外周血清miRNA-17-3p、CEA的表达情况** 两组资料在性别、年龄资料对比方面无明显差异,具有可比性.观察组患者血清中的miRNA-17-3p的相对表达量明显高于正常对照组( $4.51 \pm 2.69$  vs  $1.01 \pm 0.97$ ),表明miRNA-17-3p在结肠癌患者的血清中表达上调.两者差异有统计学意义( $P<0.05$ ).观察组患者CEA水平明显高于对照组( $54.43 \pm 67.25$  vs  $10.98 \pm 7.84$ ),差异有统计学意义( $P<0.05$ ).

**2.2 观察组中miRNA-17-3p表达和临床病理因素的相关性** 观察组患者血清中miRNA-17-3p相对表达量表达与肿瘤分化程度相关,高分化组的表达量低于中、低分化组的表达量( $P<0.05$ );观察组患者血清中miRNA-17-3p相对表达量与淋巴结的转移情况有关,有淋巴结转移的miRNA-17-3p相对表达量明显高于无淋巴结转移的

表 1 观察组患者外周血miRNA-17-3p相对表达量和临床病理因素的相关性

临床资料	n	miRNA-17-3p相对表达量	P值
年龄(岁)			0.293
>60	40	4.82 ± 2.95	
≤60	27	4.39 ± 3.52	
性别			0.143
男	42	4.38 ± 2.58	
女	25	4.69 ± 3.06	
分化程度			0.03
中低分化	29	5.32 ± 3.75	
高分化	18	2.37 ± 1.90	
淋巴结转移			0.008
无	25	2.21 ± 2.28	
有	42	5.31 ± 3.19	
肿瘤分期			0.010
I - II	12	2.15 ± 2.45	
III	33	5.23 ± 2.90	
IV	22	6.78 ± 3.56	

( $P < 0.05$ ); 观察组患者血清中miRNA-17-3p相对表达量与临床TNM分期有显著相关性( $P < 0.05$ ), I - II期结肠癌患者血清中miRNA-17-3p相对表达量低于III-IV期( $P < 0.05$ ); 观察组患者血清中microRNA-17-3p相对表达量与性别、年龄无明显相关性( $P > 0.05$ )(表1)。

2.3 采用ROC曲线分析评价血清miRNA-17-3p结肠癌诊断的特异性和敏感性 外周血清miRNA-17-3p相对表达量的ROC曲线下面积为0.907(95%CI: 0.893-0.975,  $P = 0.000$ ); CEA的ROC曲线下面积为0.810(95%CI: 0.711-0.910,  $P = 0.000$ )(图1)。

2.4 术前、术后血清miRNA-17-3p、CEA水平比较 观察组患者47例, 术后血清中miRNA-17-3p相对表达量较术前明显降低, 差异有统计学意义( $4.23 \pm 2.52$  vs  $1.57 \pm 1.39$ ,  $P < 0.05$ )。观察组患者术后血清中CEA水平较术前明显降低( $58.23 \pm 47.89$  vs  $20.65 \pm 12.73$ ), 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

### 3 讨论

miRNA是近年来发现的长度约22 nt的内源性短链RNA, 不编码蛋白质但通过和编码蛋白质的mRNA完全或部分互补结合, 起内源性RNA干扰作用, 沉默其表达, 从而调控细胞的分化、增殖、代谢、凋亡等功能, 而肿瘤的发生和发展正是细胞的增殖、凋亡等功能失控的结果。虽然

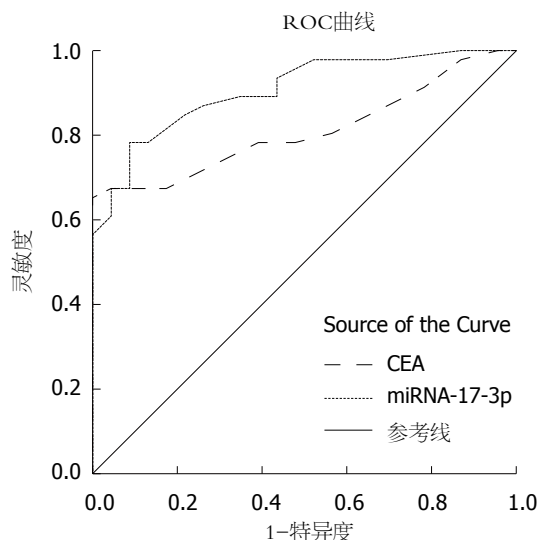


图 1 miRNA-17-3p、CEA与结肠癌诊断的ROC曲线。

miRNA含量较少, 但随着检测技术不断进步特别是Real-time PCR技术的应用, miRNA在各种肿瘤中特征性的表达谱相继被报道<sup>[6,7]</sup>, 并且很多miRNA的表达水平和肿瘤的临床病理特征及肿瘤的预后密切相关。目前的研究提示miRNA表达和组织特异性远远超过编码基因的表达, 如约200个miRNA的表达谱就能对人类的癌症进行分类, 准确地判断其组织来源, 而16000个编码mRNA表达谱的准确性却不如前者<sup>[8,9]</sup>。此外miRNA的表达谱甚至能对组织学上难以诊断的低分化肿瘤进行诊断分类<sup>[10,11]</sup>。

目前, 已有研究证实, miRNA通过参与调控影响蛋白表达水平而影响结肠癌的进展, 不同的miRNA在结肠癌的作用不同, 甚至相同的miRNA在不同类型的结肠癌中的表达也不相同, 有些充当癌基因作用, 有些充当抑癌基因的作用<sup>[12-14]</sup>。研究发现结肠癌组织中的miRNA-17-3p水平明显高于正常结肠组织<sup>[15]</sup>, 一个好的肿瘤标志物要求之一就是取材方便, 那么外周血中的miRNA-17-3p水平是否存在同样的变化, 需要研究。因此本研究选miRNA-17-3p作为研究对象, 观察结肠癌患者和正常对照组中miRNA-17-3p水平是否存在差别。我们的研究结果显示结肠癌患者血清miRNA-17-3p水平明显高于正常对照组( $4.51 \pm 2.69$  vs  $1.01 \pm 0.97$ ,  $P < 0.05$ ), 且miRNA-17-3p水平与淋巴结转移、TNM分期、肿瘤分化程度相关。血清miRNA-17-3p水平在有淋巴结转移的患者组明显高于无淋巴结转移的患者。I - II期患者的血清miRNA-17-3p水平明显低于III-IV期患者。肿瘤高分化患者组miRNA-

### ■创新盘点

关于血清中的miRNA-17-3p水平与结肠癌的关系研究并不多见, 本文进一步研究miRNA-17-3p与结肠癌的关系, 为两种关系进步增加论据资料; 另一方面, 将miRNA-17-3p这一新的诊断指标的价值与传统的指标CEA进行比较, 对结肠癌的诊断提供储备指标, 而且本文还研究了miRNA-17-3p与临床病理因素的关系, 将进一步指导临床。

### ■应用要点

本文研究发现结肠癌患者血清中的miRNA-17-3p的相对表达量明显高于正常对照组, 血清miRNA-17-3p有可能成为今后临床上对诊断结肠癌有帮助的指标。另外, 本研究发现miRNA-17-3p的水平与TNM分期相关, 可能用于病情严重程度评估。



### ■名词解释

ROC曲线指受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve),是反映敏感性和特异性连续变量的综合指标,是用构图法揭示敏感性和特异性的相互关系,他通过将连续变量设定出多个不同的临界值,从而计算出一系列敏感性和特异性,绘制成曲线,曲线下面积越大,诊断准确性越高。

17-3p水平低于中、低分化患者。提示miRNA-17-3p在结肠癌的进展阶段起了一定作用,如参与淋巴结转移等。

CEA,仍是目前临床上最常用的用于筛查结肠癌的肿瘤标志物,但CEA的特异性,尤其是敏感性,在临床工作上受到较大质疑。miRNA作为近年来研究的热点,其中一方面就是作为肿瘤标志物的优选<sup>[16,17]</sup>。我们的研究进一步的ROC曲线分析显示,miRNA-17-3p结肠癌的敏感性和特异性分别为诊断敏感性为87%,特异性为62%,曲线下面积0.910,优于CEA对结肠癌的诊断(图1)。因此,血清miRNA-17-3p有可能作为结肠癌一个新的辅助诊断标准。

另外,我们就47例接受手术的患者进行分析,术前、术后miRNA-17-3p水平有明显差别,术后3 wk的miRNA-17-3p水平明显下降,但仍未降至对照组水平。结果提示miRNA-17-3p还可能成为监测病情变化的一个指标,需要大规模临床研究进一步证实。

总之,血清miRNA-17-3p,除对结肠癌的发生、发展在基础研究领域有一定作用外,同样有着十分广泛的临床应用前景,需要进一步扩大临床研究。

### 4 参考文献

- 1 Nana-Sinkam SP, Fabbri M, Croce CM. MicroRNAs in cancer: personalizing diagnosis and therapy. *Ann N Y Acad Sci* 2010; 1210: 25-33 [PMID: 20973796 DOI: 10.1111/j.1749-6632.2010.05822.x]
- 2 Schee K, Fodstad Ø, Flatmark K. MicroRNAs as biomarkers in colorectal cancer. *Am J Pathol* 2010; 177: 1592-1599 [PMID: 20829435 DOI: 10.2353/ajpath.2010.100024]
- 3 邹健,于晓峰,虞阳,张颖,史冬梅,董洁,李天奇,刘雪静. MicroRNA在人结肠癌干细胞中的表达谱. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 173-178
- 4 Wang YX, Zhang XY, Zhang BF, Yang CQ, Chen

### ■同行评价

本研究使用方法简单可靠,研究目的明确,设计较为科学,结论可靠。有一定的临床实用价值,可建议进一步扩大研究。

XM, Gao HJ. Initial study of microRNA expression profiles of colonic cancer without lymph node metastasis. *J Dig Dis* 2010; 11: 50-54 [PMID: 20132431 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2009.00413.x]

- 5 尹少朋,徐峰,庞智. 结肠癌miRNA的转化机制. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 1101-1108
- 6 Pu XX, Huang GL, Guo HQ, Guo CC, Li H, Ye S, Ling S, Jiang L, Tian Y, Lin TY. Circulating miR-221 directly amplified from plasma is a potential diagnostic and prognostic marker of colorectal cancer and is correlated with p53 expression. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 1674-1680 [PMID: 20880178 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06417.x]
- 7 Kosaka N, Iguchi H, Ochiya T. Circulating microRNA in body fluid: a new potential biomarker for cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Sci* 2010; 101: 2087-2092 [PMID: 20624164 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2010.01650.x]
- 8 Slattery ML, Wolff E, Hoffman MD, Pellatt DF, Milash B, Wolff RK. MicroRNAs and colon and rectal cancer: differential expression by tumor location and subtype. *Genes Chromosomes Cancer* 2011; 50: 196-206 [PMID: 21213373 DOI: 10.1002/gcc.20844]
- 9 李明,连海峰,刘成霞,马锋振,谢书阳. 结肠癌中相关miRNA对NRP2调控的预测及鉴定. *世界华人消化杂志* 2014; 22: 624-629
- 10 熊青,徐龙. 血清microRNAs在胃肠道疾病中的意义. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 2043-2049
- 11 张超,罗霞,杨琦,张巨峰. miR-18a、miR-17和miR-20在结直肠癌组织中表达增高. *国际遗传学杂志* 2012; 35: 305-308
- 12 彭志平,袁飞,史学森. MicroRNA家族在结直肠癌发生发展过程中的作用. *内蒙古医科大学学报* 2013; 35: 403-406
- 13 Okayama H, Schetter AJ, Harris CC. MicroRNAs and inflammation in the pathogenesis and progression of colon cancer. *Dig Dis* 2012; 30 Suppl 2: 9-15 [PMID: 23207927 DOI: 10.1159/000341882]
- 14 李欣,李小青,黄士昂. microRNA表达谱与消化器官肿瘤的发生、诊断及治疗. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 1241-1245
- 15 Tokarz P, Blasiak J. The role of microRNA in metastatic colorectal cancer and its significance in cancer prognosis and treatment. *Acta Biochim Pol* 2012; 59: 467-474 [PMID: 23173124]
- 16 杨建军,马延磊,秦环龙. microRNAs调控网络在大肠癌发病机制中的研究进展. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1478-1484
- 17 谢玉宏. miRNA-17-3p联合CEA在结肠癌诊治中的应用. *实用临床医药杂志* 2014; 18: 30-32

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



# 内蒙古人群大肠癌的发病趋势和特点

王虎明, 周松, 王卫

王虎明, 王卫, 包头市肿瘤医院肿瘤外科 内蒙古自治区包头市 014010

周松, 包头市肿瘤医院质控科 内蒙古自治区包头市 014010

王虎明, 副主任医师, 主要从事胃肠道肿瘤的研究。

作者贡献分布: 本论文由王虎明、周松及王卫共同完成。

通讯作者: 周松, 副主任医师, 014010, 内蒙古包头市青山区团结大街18号, 包头市肿瘤医院质控科。whm086@163.com

收稿日期: 2014-06-04 修回日期: 2014-09-05

接受日期: 2014-09-21 在线出版日期: 2014-10-28

## Trends of incidence and characteristics of colorectal cancer in the population in Inner Mongolia

Hu-Ming Wang, Song Zhou, Wei Wang

Hu-Ming Wang, Wei Wang, Department of Oncological Surgery, Baotou Cancer Hospital, Baotou 014010, Inner Mongolia Autonomous Region, China

Song Zhou, Department of Population-Based Cancer Registration, Baotou Cancer Hospital, Baotou 014010, Inner Mongolia Autonomous Region, China

Correspondence to: Song Zhou, Associate Chief Physician, Department of Population-Based Cancer Registration, Baotou Cancer Hospital, 18 Tuanjie Street, Qingshan District, Baotou 014010, Inner Mongolia Autonomous Region, China. whm086@163.com

Received: 2014-06-04 Revised: 2014-09-05

Accepted: 2014-09-21 Published online: 2014-10-28

## Abstract

**AIM:** To analyze the incidence trends and characteristics of colorectal cancer in Inner Mongolia urban and rural areas.

**METHODS:** According to colorectal cancer incidence database derived from Inner Mongolia tumor registries from 2009 to 2013, there were a total population of 24706321 (including both urban and rural areas). ICD-9 and ICD-0-3 were used in the registries. Incidence trends were analyzed using the percentage change and the annual percent change (APC).

**RESULTS:** From 2009 to 2013, colorectal cancer incidence was  $29.18/10^5$  in Inner Mongolia, with  $33.42/10^5$  and  $14.55/10^5$  observed in urban and rural areas, respectively. The adjusted incidence rate in the Chinese standards was  $22.98/10^5$ .

From 2009 to 2013, colorectal cancer incidence increased by 18.93% (18.91% in urban areas and 10.84% in rural areas).

**CONCLUSION:** Colorectal cancer incidence rate in rural areas in China is lower than that in urban areas. An increasing incidence rate was observed in rural areas in contrast to the decreasing trend in urban areas.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Colorectal cancer; Incidence; Registration; Annual percentage change

Wang HM, Zhou S, Wang W. Trends of incidence and characteristics of colorectal cancer in the population in Inner Mongolia. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(30): 4705-4708 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4705.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i30.4705>

## 摘要

**目的:** 分析内蒙古自治区城市和农村大肠癌的发病趋势和特点。

**方法:** 根据全区肿瘤登记地区的2009-2013年大肠癌的发病数据库, 覆盖总人口24706321人。肿瘤登记采用ICD-9和ICD-0-3编码。发病趋势分别应用变化百分比(percent change, PC)和年度变化百分比(annual percent change, APC)分析。

**结果:** 2009-2013年我区大肠癌粗发病率 $29.18/10^5$ , 其中城市 $33.42/10^5$ , 农村 $14.55/10^5$ 。2009-2013年大肠癌发病上升16.82%, 其中城市上升18.91%, 农村上升10.84%。

**结论:** 内蒙古自治区农村大肠癌的发病低于城市, 整体低于全国, 男性多于女性, 并且城市发病呈现上升趋势。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 大肠癌; 发病; 肿瘤登记; 年度变化百分比

## ■背景资料

中国大肠癌的发病率已由20世纪70年代初的12/105增长到目前的56/105, 增速约为每年4.2%, 远高于2%的国际水平。目前, 我国大肠癌的发病数已超过美国, 发病率在所有肿瘤发病率中排名第5位。

## ■同行评议者

樊晓明, 教授, 主任医师, 复旦大学附属金山医院消化科

## ■应用要点

本研究对我区城乡肿瘤登记地区大肠癌的发病做一概括性分析, 为大肠癌的预防治疗提供科学的数据。

**核心提示:** 从中国大肠癌登记地区的数据分析, 未来我区肿瘤登记应当重视分析大肠癌的防治和相对生存率的研究, 这对认识我区人群大肠癌发病规律和治疗手段的选择都将会有很大的帮助。

王虎明, 周松, 王卫. 内蒙古人群大肠癌的发病趋势和特点. 世界华人消化杂志 2014; 22(30): 4705-4708 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4705.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4705>

## 0 引言

根据2012年世界卫生组织(World Health Organization, WHO)的统计报告, 全球最多人患的3大癌症为肺癌、乳腺癌、大肠癌, 致死率高的癌症有肺癌、肝癌、胃癌、结直肠癌、乳腺癌、食道癌。在中国, 结直肠癌发病率居恶性肿瘤第3位、癌症死因的第5位<sup>[1]</sup>。为了解我区大肠癌的发病情况, 本研究对我区城乡肿瘤登记地区大肠癌的发病作一概括性分析, 以期为大肠癌的预防治疗提供科学的数据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 依据内蒙古自治区肿瘤登记中心包头市肿瘤医院提供的2009-2013年大肠癌发病数据。覆盖人口2470.63万人, 其中男性人口占51.94%; 女性人口占48.06%, 城镇人口占56.62%, 乡村人口占43.38%。

**1.2 方法** 全部肿瘤登记采用ICD-9或ICD-0-3分类标准。中国标准人口年龄调整率(ASRc)采用2010年全国人口普查资料的人口构成数据计算, 世界调整率(ASRW)用1962年世界标准人口调整。

**统计学处理** 全部数据库的建立采用EXCEL软件, 应用JoinPoint软件对发病率变化趋势进行分析, 计算年度变化百分比(annual percent change, APC)和变化百分比(percent change, PC)。估计APC, 并用百分数表示。PC应用前两年ASRc平均值与后两年平均值的差计算。另外, 计算截缩率和累积率。

## 2 结果

**2.1 城乡发病率** 根据2009-2013年全自治区肿瘤登记监测数据, 我自治区大肠癌粗发病率 $29.18/10^5$ , 其中男 $31.24/10^5$ , 女 $26.92/10^5$ ; 按性别统计, 年龄标化后的发病率仍然是男性高于女性(表1)。

**2.2 年龄别发病率** 从年龄性别分析内蒙古自治区大肠癌发病有四个规律, 40岁之前年龄组的发病低于3.64%, 41-50岁发病明显为14.37%, 从51-70岁年龄组开始再次增加到28.37%, 至71-80岁为20.02%, 81岁以后为4.30%(图1)。

### 2.3 发病率变化

**2.3.1 2009-2013年城乡地区发病率:** 根据标化后发病率计算PC, 2009年至2013年大肠癌发病总体呈上升趋势, 男女合计平均上升18.93%。其中城市大肠癌发病上升18.91%, 农村上升10.84%(表2)。

**2.3.2 2009-2013年大肠癌登记地区发病率:** 大肠癌登记地区发病率整体呈现逐年上升趋势(图2), 并且男性多于女性, 分别为60.34%和39.66%。

## 3 讨论

中国大肠癌的发病率已由20世纪70年代初的 $12/10^5$ 增长到目前的 $56/10^5$ , 升速约为每年4.2%, 远高于2%的国际水平<sup>[2,3]</sup>。目前, 我国大肠癌的发病数已超过美国, 发病率在所有肿瘤发病率中排名第5位<sup>[4,5]</sup>。

从内蒙古肿瘤质控中心包头市肿瘤医院2009-2013年大肠癌登记点数据分析, 中国人口标准标化和内蒙古人口标化的大肠癌发病率分别是 $20.29/10^5$ 和 $15.43/10^5$ , 5年的发病数据分析PC, 大肠癌发病男女合计平均上升18.93%, 其中城市大肠癌发病上升18.91%, 农村上升10.84%, 城市高于农村。从年龄性别分析内蒙古自治区大肠癌发病有四个规律, 30岁以下青年人直肠癌仅占3.64%以下, 40岁之前年龄组的发病较低, 41-50岁发病明显增加, 从51-70岁年龄组开始, 再次明显增加, 至71-80岁仍较41-50岁前发病率要高, 81岁以后和40岁发病率类似。

我区各年度男女性大肠癌发病率总体上呈上升趋势, 高发年龄在40岁以上年龄组, 与我国总体发病情况一致<sup>[6-8]</sup>。

目前, 中国大肠癌的发病率为 $56/10^5$ , 高于内蒙古大肠癌的 $29.18/10^5$ 。

本文分析表明: 内蒙古大肠癌的发病率明显低于全国。此外, 与文献报道<sup>[9]</sup>美国发病高峰在60-70岁相比, 本研究大肠癌患者的发病高峰明显提前, 为51-60岁。因此, 40岁以上的人群, 特别是有大肠息肉、溃疡性结肠炎、有大肠癌家族史的高危人群应每年进行筛查。流行病学研究<sup>[10-13]</sup>表明大肠癌主要发生于40岁以上的男性。美国国家癌症数据库的研究结果表明<sup>[14,15]</sup>, 50



表 1 登记地区2009年至2013年大肠癌发病率与构成

■同行评价  
本文对于我国局  
部地区的大肠癌  
的防治有一定指  
导意义.

	性别	发病率(1/10 <sup>5</sup> )	构成(%)	内蒙古人口标化	中国人口标化	累积发病率(%)	截缩率
				发病率(1/10 <sup>5</sup> )	发病率(1/10 <sup>5</sup> )	0-74	35-64(1/10 <sup>5</sup> )
城市	男	35.69	12.91	18.96	25.16	3.33	38.17
	女	30.83	12.97	15.36	19.78	2.48	29.85
	合计	33.42	12.91	16.97	22.56	2.88	33.96
农村	男	15.86	5.81	10.32	13.73	1.72	23.41
	女	13.52	7.57	8.23	10.36	1.31	18.33
	合计	14.55	6.44	9.45	11.79	1.52	20.93
全区	男	31.24	11.38	17.33	22.98	2.67	33.67
	女	26.92	11.91	13.79	17.91	2.13	26.39
	合计	29.18	11.57	15.43	20.29	2.35	29.96

表 2 2009年至2013年登记地区大肠癌标化发病率和变化百分比 (1/10<sup>5</sup>)

地域	性别	2009年	2010年	2011年	2012年	2013年	变化百分比(%)
城市	男	1.33	1.63	1.25	1.51	1.68	20.78
	女	1.23	1.38	1.21	1.36	1.29	16.69
	合计	1.23	1.53	1.38	1.54	1.48	18.91
农村	男	1.68	1.62	2.02	1.83	1.97	12.87
	女	1.51	1.20	1.33	1.46	1.45	9.83
	合计	1.58	1.40	1.67	1.64	1.71	10.84
全区	男	1.38	1.65	1.64	1.55	1.75	18.93
	女	1.19	1.33	1.21	1.37	1.31	14.89
	合计	1.29	1.48	1.42	1.46	1.53	16.82

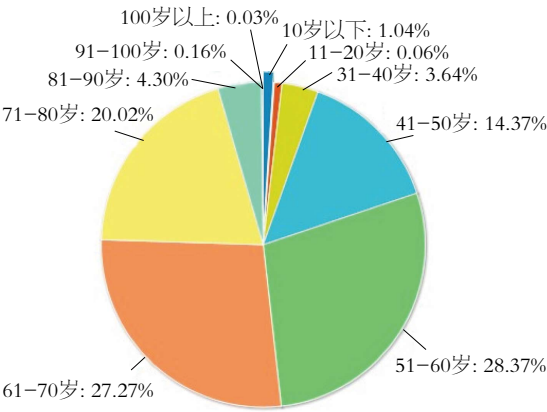


图 1 登记地区2009-2013年大肠癌年龄别发病率(1/10<sup>5</sup>).

岁以下成年人的大肠癌发病率在过去10年内增加了2.1%. 美国安德森肿瘤研究中心的You等<sup>[16]</sup>称, 年轻型大肠癌的中位发病年龄为44岁, 其中75.2%在40-49岁发病. 此研究大肠癌年龄别发病趋势特点与内蒙古自治区类似. 文献报道<sup>[17,18]</sup>, 约40%的大肠癌患者死于肝转移, 15%-25%的大肠癌患者在原发肿瘤诊断时即有肝转移, 20%左右的患者原发肿瘤治疗后出现肝转移, 因此, 我

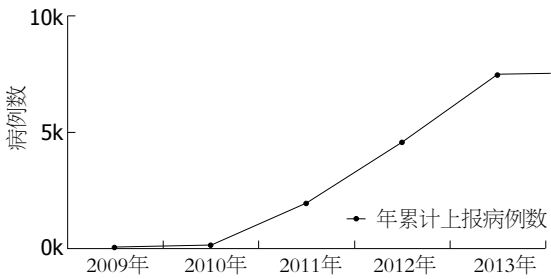


图 2 2009-2013年大肠癌登记地区发病率.

们应高度重视大肠癌肝转移的早期诊断, 同时表明大肠癌的预防和早期诊断至关重要<sup>[19,20]</sup>. 我区大肠癌的病因研究方面刚起步, 单纯从我区人群大肠癌的发病看, 我区农村人群的发病低于城市, 全区发病率低于全国, 男性多于女性, 其危险因素值得探讨.

从中国大肠癌登记地区的数据分析, 未来我区肿瘤登记应当重视分析大肠癌的防治和相对生存率的研究, 这对认识我区人群大肠癌发病规律和治疗手段的选择都将会有很大的帮助.

## 4 参考文献

- 1 陈琼, 刘志才, 程兰平, 宋国慧, 孙喜斌, 郑荣寿, 张思维, 陈万青. 2003-2007年中国结直肠癌发病与死亡分析. *中国肿瘤* 2012; 21: 179-182
- 2 Grau J, Castells A. [Early colorectal cancer detection programs: an integration and quality healthcare challenge]. *Rev Calid Asist* 2014; 29: 185-187 [PMID: 24928719 DOI: 10.1016/j.cali.2014.04.004]
- 3 万德森. 我国结直肠癌的流行趋势及对策. *中华肿瘤杂志* 2011; 33: 403-407
- 4 Xu C, Chi P. [Comparison of the incidence of post-operative ileus following laparoscopic and open radical resection for colorectal cancer: a meta-analysis]. *Zhonghua Weichang Waikie Zazhi* 2012; 15: 1044-1047 [PMID: 23099903]
- 5 Brandenbarg D, Roorda C, Groenhof F, Havenga K, Berger MY, de Bock GH, Berendsen AJ. Increased primary health care use in the first year after colorectal cancer diagnosis. *Scand J Prim Health Care* 2014; 32: 55-61 [PMID: 24931639]
- 6 Guo P, Huang ZL, Yu P, Li K. Trends in cancer mortality in China: an update. *Ann Oncol* 2012; 23: 2755-2762 [PMID: 22492700]
- 7 陈万青, 赵平, 饶克勤, 孔灵芝, 胡建平. 健全我国肿瘤登记系统. *中华预防医学杂志* 2010; 44: 374-375
- 8 Pourhoseingholi MA. Increased burden of colorectal cancer in Asia. *World J Gastrointest Oncol* 2012; 4: 68-70 [PMID: 22532878 DOI: 10.4251/wjgo.v4.i4.68]
- 9 张思维, 雷正龙, 李光琳, 邹小农, 赵平, 陈万青. 中国肿瘤登记地区2006年肿瘤发病和死亡资料分析. *中国肿瘤* 2010; 19: 356-365
- 10 Maly AG, Steel TL, Fu R, Lieberman DA, Becker TM. Colorectal cancer screening among American Indians in a Pacific Northwest tribe: Cowlitz Tribal BRFS Project, 2009-2010. *Public Health Rep* 2014; 129: 280-288 [PMID: 24791026]
- 11 Kennedy DA, Stern SJ, Matok I, Moretti ME, Sarkar M, Adams-Webber T, Koren G. Folate Intake, MTHFR Polymorphisms, and the Risk of Colorectal Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Cancer Epidemiol* 2012; 2012: 952508 [PMID: 23125859 DOI: 10.1155/2012/952508]
- 12 1 Hashimoto A, Takada K, Horiguchi H, Sato T, Iyama S, Murase K, Kamihara Y, Ono K, Tatekoshi A, Hayashi T, Miyanishi K, Sato Y, Furuhashi T, Kobune M, Takimoto R, Hirata K, Kato J. Combination Chemotherapy of Azacitidine and Cetuximab for Therapy-Related Acute Myeloid Leukemia following Oxaliplatin for Metastatic Colorectal Cancer. *Case Rep Oncol* 2014; 7: 316-322 [PMID: 24932174]
- 13 Lu Y, Oddsberg J, Martling A, Lagergren J. Reproductive history and risk of colorectal adenocarcinoma. *Epidemiology* 2014; 25: 595-604 [PMID: 24787555 DOI: 10.1097/EDE.0000000000000077]
- 14 Thiis-Evensen E, Kalager M, Bretthauer M, Hoff G. Long-term effectiveness of endoscopic screening on incidence and mortality of colorectal cancer: A randomized trial. *United European Gastroenterol J* 2013; 1: 162-168 [PMID: 24917955 DOI: 10.1177/2050640613483290]
- 15 Nitsche U, Späth C, Müller TC, Maak M, Janssen KP, Wilhelm D, Kleeff J, Bader FG. Colorectal cancer surgery remains effective with rising patient age. *Int J Colorectal Dis* 2014; 29: 971-979 [PMID: 24924447]
- 16 You YN, Xing Y, Feig BW, Chang GJ, Cormier JN. Young-onset colorectal cancer: is it time to pay attention? *Arch Intern Med* 2012; 172: 287-289 [PMID: 22157065 DOI: 10.1001/archinternmed.2011.602]
- 17 孙国哲, 王铮, 刘芬. 大肠癌肝转移的诊断与治疗新进展. *中国实用医药* 2009; 4: 241-244
- 18 Dik VK, Aarts MJ, Van Grevenstein WM, Koopman M, Van Oijen MG, Lemmens VE, Siersema PD. Association between socioeconomic status, surgical treatment and mortality in patients with colorectal cancer. *Br J Surg* 2014; 101: 1173-1182 [PMID: 24916417 DOI: 10.1002/bjs.9555]
- 19 毛华, 黄丽韞. 浅谈大肠癌的病因预防. *中华临床医师杂志(电子版)* 2013; (16): 303-311
- 20 Fang W, Radovich M, Zheng Y, Fu CY, Zhao P, Mao C, Zheng Y, Zheng S. 'Druggable' alterations detected by Ion Torrent in metastatic colorectal cancer patients. *Oncol Lett* 2014; 7: 1761-1766 [PMID: 24932229]

编辑 田滢 电编 闫晋利



# 红霉素联合西沙比利和吗丁啉治疗2型糖尿病性胃轻瘫的效果比较

王妍, 刘青志, 于艳燕, 张力, 王坤

王妍, 刘青志, 于艳燕, 张力, 王坤, 六盘水市水矿总医院内分泌科 贵州省六盘水市 553000

王妍, 副主任医师, 主要从事内分泌方面的研究。

作者贡献分布: 此课题由王妍设计; 研究过程由王妍与刘青志完成; 数据分析由于艳燕、张力及王坤完成; 写作由王妍、刘青志、于艳燕、张力及王坤共同完成。

通讯作者: 王妍, 副主任医师, 553000, 贵州省六盘水市钟山区水西路17号, 六盘水市水矿总医院内分泌科。

wangyan553@yeah.net

收稿日期: 2014-07-18 修回日期: 2014-08-25

接受日期: 2014-09-03 在线出版日期: 2014-10-28

## Clinical effects of erythromycin combined with cisapride or domperidone in treatment of type 2 diabetic gastroparesis

Yan Wang, Qing-Zhi Liu, Yan-Yan Yu, Li Zhang, Kun Wang

Yan Wang, Qing-Zhi Liu, Yan-Yan Yu, Li Zhang, Kun Wang, Department of Endocrinology, the Water Mine General Hospital of Liupanshui City, Liupanshui 553000, Guizhou Province, China

Correspondence to: Yan Wang, Associate Chief Physician, Department of Endocrinology, the Water Mine General Hospital of Liupanshui City, 17 Shuixi Road, Zhongshan District, Liupanshui 553000, Guizhou Province, China. wangyan553@yeah.net

Received: 2014-07-18 Revised: 2014-08-25

Accepted: 2014-09-03 Published online: 2014-10-28

## Abstract

**AIM:** To compare the clinical effects of erythromycin combined with either cisapride or domperidone in the treatment of type 2 diabetic gastroparesis, so as to provide reference for future clinical treatment.

**METHODS:** Sixty-one patients with type 2 diabetic gastroparesis treated from June 2013 to March 2014 at our hospital were randomly divided into two groups: A and B. Both groups were given 0.5 g erythromycin in 500 mL of 50 g/L glucose plus insulin 8 U by intravenous drip, once daily. On this basis, group A was additionally given cisapride 5 mg, three times a day, and group B was additionally given domperidone 10 mg, three times a day. The treat-

ment effects were observed after 2 wk.

**RESULTS:** The cure rate was higher in group A than in group B, but there was no statistical difference (96.8% vs 86.7%,  $P > 0.05$ ). The rate of improvement of nausea and vomiting in group A was significantly better than that in group B (92.8% vs 64.0%,  $\chi^2 = 6.69$ ,  $P < 0.01$ ). The rates of improvement of other symptoms showed no significant differences. Gastric emptying time after treatment was significantly improved in both groups ( $t_A = 5.044$ ,  $t_B = 5.044$ ,  $P < 0.01$ ), and the improvement was more significant in group A ( $t = 1.889$ ,  $P < 0.05$ ). Different degrees of mild adverse effects developed in both groups and relieved after treatment.

**CONCLUSION:** Erythromycin combined cisapride can improve the curative effect in type 2 diabetic gastroparesis in terms of effectively relieving clinical symptoms, reducing gastric emptying time and gastrointestinal adverse reactions.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Erythromycin; Cisapride; Domperidone; Diabetic gastroparesis

Wang Y, Liu QZ, Yu YY, Zhang L, Wang K. Clinical effect analysis of erythromycin combined with cisapride and domperidone respectively in the treatment for type 2 diabetes gastroparesis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(30): 4709-4713 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4709.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i30.4709>

## 摘要

**目的:** 比较不同药物联合应用以及改变红霉素给药途径后治疗2型糖尿病胃轻瘫的效果, 为今后临床治疗提供借鉴。

**方法:** 将2013-06/2014-03来六盘水市水矿总医院内分泌科就诊的61例2型糖尿病胃轻瘫患

## ■背景资料

糖尿病的并发症严重影响患者的预后及生活质量。糖尿病性胃轻瘫是常见的并发症之一, 主要表现为恶心呕吐、腹痛腹胀、嗝气等等, 多数人的临床症状并不明显。目前多采用综合性的治疗方案, 其中药物治疗重点在于增强胃动力, 促进胃窦部收缩, 从而减少胃排空时间, 缓解症状。

## ■同行评议者

高国全, 教授, 中山大学中山医学院生物化学教研室



## ■ 研究前沿

糖尿病性胃轻瘫的发病机制尚不完全清晰,可能与自身神经病变、长期高血糖状态、胃肠激素紊乱、微血管及胃肠平滑肌病变等因素有关。

者作为研究对象,依照入院先后顺序随机分为A、B两组。2组患者均给予0.5 g红霉素加入到500 mL的5 g/L葡萄糖中,外加8 U的胰岛素,静脉滴注,1次/d。A组在此基础上给予西沙比利5 mg, 3次/d, 每餐前30 min口服。B组给予吗叮啉10 mg, 3次/d, 每餐前30 min口服, 2 wk后观察治疗效果。

**结果:** 两组患者治愈率分别为96.8%和86.7%, A组略高于B组, 但差异无统计学意义( $P>0.05$ )。A组恶心呕吐的改善率为92.8%(26/28)显著好于B组64.0%(16/25)( $\chi^2 = 6.69, P<0.01$ )。其他症状改善率差异无统计学意义。两组治疗后胃排空时间分别为(162.1 min $\pm$ 41.3 min)和(182.9 min $\pm$ 44.7 min), 均比治疗前有显著改善( $t_A = 5.044, t_B = 3.308, P<0.01$ ), 且A组胃排空时间更短, 差异有统计学意义( $t = 1.889, P<0.05$ )。两组患者均有不同程度的轻微不良反应, 经对症治疗后均缓解。

**结论:** 采用静脉滴注红霉素联合西沙比利治疗2型糖尿病性胃轻瘫的疗效确定, 可有效的缓解临床症状, 减少胃排空时间和胃肠道不良反应, 值得临床推广应用。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 红霉素; 西沙比利; 吗叮啉; 糖尿病性胃轻瘫

**核心提示:** 胃排空时间是本研究另外一项重要观察指标, 治疗前两组患者胃排空时间差异无统计学意义, 均属于胃排空障碍。治疗后均比治疗前有显著改善( $t_A = 5.044, t_B = 3.308, P<0.01$ ), 且A组胃排空时间更短, 差异有统计学意义( $t = 1.889, P<0.05$ )。可见红霉素联合西沙比利对于改善胃排空障碍的效果更佳。

王妍, 刘青志, 于艳燕, 张力, 王坤. 红霉素联合西沙比利和吗叮啉治疗2型糖尿病性胃轻瘫的效果比较. 世界华人消化杂志 2014; 22(30): 4709-4713 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4709.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i30.4709>

## 0 引言

我国作为糖尿病大国, 患病人数居世界首位。我国18岁及以上成人样本中, 根据国际最新临床诊断标准进行诊断的糖尿病估测患病率为11.6%, 约1.139亿人<sup>[1]</sup>。糖尿病的并发症严重影响患者的预后及生活质量。糖尿病性胃轻瘫是常见的并发症之一, 主要表现为恶心呕吐、腹痛腹胀、嗝气等, 多数人的临床症状并不明显<sup>[2,3]</sup>。

目前多采用综合性的治疗方案, 其中药物治疗重点在于增强胃动力, 促进胃窦部收缩, 从而减少胃排空时间, 缓解症状。为了比较不同药物联合应用, 以及改变给药途径后治疗2型糖尿病胃轻瘫的临床效果, 特开展本次研究, 现将结果报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 将2013-06/2014-03来六盘水市水矿总医院内分泌就诊的61例2型糖尿病胃轻瘫患者作为研究对象。其中男35例, 女26例。年龄34-71岁, 平均年龄48.1岁 $\pm$ 10.5岁。2型糖尿病病程5-15年, 平均7.2年 $\pm$ 1.9年。主要表现为腹胀、上腹部疼痛、恶心呕吐、嗝气反酸、早饱等, 严重程度不一。依照入院的先后顺序, 随机分为A、B两组。A组31例, 患者空腹血糖值8.7 mmol/L $\pm$ 1.9 mmol/L, B组30例, 患者空腹血糖值8.7 mmol/L $\pm$ 1.9 mmol/L。两组患者的性别、年龄、病程、临床表现以及空腹血糖值差异无统计学意义, 具有可比性。

### 1.2 方法

**1.2.1 诊断标准:** (1)具有2型糖尿病病史5年以上; (2)有恶心呕吐、厌食、嗝气反酸、早饱等临床表现且持续时间2 wk以上; 或无明显临床症状, 但有胃排空时间延长; (3)经过内镜或钡餐检查排除机械性梗阻; (4)经B超检查排除肝、胆、胰、肾等器质性病变。

**1.2.2 治疗:** 两组患者入院后, 均给予基础性治疗, 积极控制血糖, 停止使用二甲双胍及阿卡波糖类降糖药。同时严格控制患者饮食, 嘱少食多餐, 饮食清淡, 不食用过于油腻的食物。餐后进行适当运动以缓解胃部不适感。为了更好地观察药物疗效, 治疗期间禁止服用其他胃动力药物、抗胆碱药物以及H<sub>2</sub>受体拮抗剂。使空腹血糖控制在7.0 mmol/L且基本稳定后, 两组患者均给予0.5 g红霉素加入到的50 g/L葡萄糖中, 外加8 U的胰岛素(根据血糖情况有所调整), 采用静脉滴注, 1次/d。A组在此基础上给予西沙比利5 mg, 3次/d, 每餐前30 min口服。B组给予吗叮啉10 mg, 3次/d, 每餐前30 min口服, 2 wk后观察治疗效果。

**1.2.3 观察指标:** 观察两组患者治疗的总有效率、主要临床症状的改善情况、胃部排空时间以及治疗后不良反应情况。

**1.2.4 疗效标准:** 显效: 临床主要症状基本消失, 胃排空正常; 有效: 临床主要症状明显减

表 1 两组患者治疗有效率情况

分组	<i>n</i>	显效	有效	无效	总有效率(%)
A组	31	14	16	1	96.8
B组	30	12	14	4	86.7
$\chi^2$ 值					0.94
<i>P</i> 值					>0.05

A组: 红霉素联合西沙比利组; B组: 红霉素联合吗丁啉组。

表 2 患者主要症状改善情况 (*n*)

主要症状	A组		B组		$\chi^2$ 值	<i>P</i> 值
	原病例数	治疗后改善	原病例数	治疗后改善		
恶心呕吐	28	26	25	16	6.69	<0.01
腹胀腹痛	22	19	25	18	0.71	>0.05
暖气反酸	24	22	21	19	0.15	>0.05

A组: 红霉素联合西沙比利组; B组: 红霉素联合吗丁啉组。

表 3 患者胃排空时间治疗前后比较 (mean  $\pm$  SD)

项目	胃排空时间(min)	
	入院时	治疗2 wk后
A组	220.3 $\pm$ 49.2	162.1 $\pm$ 41.3 <sup>bc</sup>
B组	223.5 $\pm$ 50.2	182.9 $\pm$ 44.7 <sup>b</sup>

<sup>b</sup>*P*<0.01 vs 入院时; <sup>c</sup>*P*<0.05 vs B组。A组: 红霉素联合西沙比利组; B组: 红霉素联合吗丁啉组。

轻, 体征改善, 胃排空仍有延迟; 无效: 症状体征没有改善。总有效率 = (显效+有效)/病例数  $\times$  100%。

1.2.5 胃排空时间: 所有患者于用药前以及停药1 wk后分别进行钡餐试验。每次实验前需隔夜禁食水10 h以上, 次日早晨使用试验用餐-波纹面与火腿肠, 后吞服不透X线钡条(含小钡条10条), 进食5 min后透视, 后透视1次/20 min, 测试胃排空时间。若5个小钡条通过幽门的时间( $T_{1/2}$ )超过210 min, 表示为胃排空出现障碍。

**统计学处理** 采用SPSS17.0软件进行数据的描述、统计和分析。对于正态计量资料用mean  $\pm$  SD描述, 两组比较用*t*检验。计数资料采用频数和发生率描述, 两组比较用 $\chi^2$ 检验。均以*P*<0.05为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 不同治疗方案有效率 A、B两组患者治疗后

均有较高的治愈率, 分别达到96.8%和86.7%, A组略高于B组, 但差异无统计学意义( $\chi^2 = 0.94$ , *P*>0.05)(表1)。

2.2 主要临床症状改善情况 患者临床主要症状(恶心呕吐、腹胀腹痛、暖气反酸等)均有不同程度的改善, A组恶心呕吐的改善率为92.8%(26/28)显著好于B组64.0%(16/25)( $\chi^2 = 6.69$ , *P*<0.01)。其他症状改善率差异无统计学意义(表2)。

2.3 胃排空时间 A、B两组治疗后胃排空时间分别为162.1 min  $\pm$  41.3 min和182.9 min  $\pm$  44.7 min, 均比治疗前有显著改善, 差异有统计学意义( $t_A = 5.044$ ,  $t_B = 3.308$ , *P*<0.01), 且A组胃排空时间更短, 差异有统计学意义( $t = 1.889$ , *P*<0.05)(表3)。

2.4 不良反应 两组患者均有不同程度的轻微不良反应。A组发生腹泻1例, 头痛2例, 头晕1例; B组发生腹痛3例, 恶心2例, 经过对症治疗后均缓解, 未影响临床药物的正常使用。

## 3 讨论

糖尿病性胃轻瘫的发病机制尚不完全清晰, 可能与自身神经病变、长期高血糖状态、胃肠激素紊乱、微血管及胃肠平滑肌病变等因素有关<sup>[4]</sup>。临床上多采用综合方案进行治疗, 如积极控制原发疾病, 稳定血糖值。控制患者的饮食, 建议清淡饮食, 少量多餐等。还有研究采用中西医结合的方法改善交感和迷走神经的

### ■相关报道

张国等人所做的“伊托必利与莫沙必利治疗糖尿病性胃轻瘫的疗效比较”也显示出, 莫沙必利或者伊托必利的不良反应更好, 这也是今后研究需要进一步深入的地方。

### ■应用要点

在综合治疗的基础上,采用静脉滴注红霉素联合西沙比利治疗2型糖尿病性胃轻瘫的疗效确定,缩短了疗程,可有效的缓解临床症状,特别是对改善恶心呕吐的效果明显。同时可以有效减少胃排空时间和胃肠道不良反应,值得临床推广应用。

失衡状态,甚至采用胃部手术来治疗难治性的呕吐等<sup>[5,6]</sup>。但是药物应用还是临床治疗的重要手段。鉴于可能的发病机制,临床药物主要包括以吗叮啉为代表的多巴胺受体拮抗剂。以红霉素为代表的胃动素受体激动剂以及以西沙比利(或莫沙必利)为代表的5-HT<sub>4</sub>受体激动剂等。其中红霉素是作为治疗糖尿病性胃轻瘫最为常见的药物,可以有效促进胃肠蠕动,实现正常的胃电节律。但是不宜长期使用,否则会导致胃肠道菌群紊乱。本研究为了减少红霉素的不良反应,特改变以往口服的给药途径,采用静脉滴注的方式,缩短了疗程,由以往的4 wk<sup>[7,8]</sup>缩短为2 wk,属于一处改进点。此外,红霉素同时联合应用两种不同性质的药物对比观察临床疗效,改变了梁伟华<sup>[9]</sup>、沈莹等<sup>[10]</sup>单一药物与联合药物应用的试验设计,是研究的另一改进点。

研究发现,两组患者均有较高的治愈率,分别达到96.8%和86.7%,A组略高于B组,但差异无统计学意义( $\chi^2 = 0.94, P > 0.05$ )。可见联合药物应用的临床治疗效果较为满意。为了进一步比较两种方案对于临床症状的改善情况,遴选出恶心呕吐、腹胀腹痛、暖气反酸三大症状作为主要观察指标。两种方案对于上述症状均有不同程度的改善,但A组恶心呕吐的改善率(92.8%)显著好于B组( $P < 0.01$ ),这可能是由于西沙比利比吗丁啉更能有效的增加胃窦收缩力,有效地促进消化间期移动性运动复合波(migrating motor complex, MMC)恢复正常,且不具备耐受性有关。胃排空时间是本研究另外一项重要观察指标,治疗前两组患者胃排空时间差异无统计学意义,均属于胃排空障碍<sup>[11-13]</sup>。治疗后均比治疗前有显著改善( $t_A = 5.044, t_B = 3.308, P < 0.01$ ),且A组胃排空时间更短,差异有统计学意义( $t = 1.889, P < 0.05$ )。可见红霉素联合西沙比利对于改善胃排空障碍的效果更佳。此结果与丁虹等<sup>[14]</sup>的研究相近。尽管两组患者均出现不同程度的不良反应,但均较为轻微,经过对症处理后不影响治疗的进程,属于可接受的范畴。A组发生腹泻1例,头痛2例,头晕1例,这些主要源自西沙比利。西沙比利还可能引起心脏方面的不良反应,目前临床上已经逐步由莫沙必利或者伊托必利所代替,可有效降低不良反应率。张国等<sup>[15]</sup>所做的“伊托必利与莫沙必利治疗糖尿病性胃轻瘫的疗效比较”也显示出,莫沙必利或者伊托必利

的不良反应更好,这也是今后研究需要进一步深入的地方。

总之,在综合治疗的基础上,采用静脉滴注红霉素联合西沙比利治疗2型糖尿病性胃轻瘫的疗效确定,缩短了疗程,可有效地缓解临床症状,特别是对改善恶心呕吐的效果明显。同时可以有效减少胃排空时间和胃肠道不良反应,值得临床推广应用。

### 4 参考文献

- 1 Xu Y, Wang L, He J, Bi Y, Li M, Wang T, Wang L, Jiang Y, Dai M, Lu J, Xu M, Li Y, Hu N, Li J, Mi S, Chen CS, Li G, Mu Y, Zhao J, Kong L, Chen J, Lai S, Wang W, Zhao W, Ning G. Prevalence and control of diabetes in Chinese adults. *JAMA* 2013; 310: 948-959 [PMID: 24002281 DOI: 10.1001/jama.2013.168118]
- 2 王溪曼. 糖尿病性胃轻瘫30例临床诊治分析. 中国实用医药 2011; 6: 87-88
- 3 Asakawa H, Onishi M, Hayashi I, Fukuda A, Tokunaga K. Comparison between coefficient of R-R interval variation and gastric emptying in type 2 diabetes mellitus patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 1358-1364 [PMID: 16105121 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2005.04025.x]
- 4 Intagliata N, Koch KL. Gastroparesis in type 2 diabetes mellitus: prevalence, etiology, diagnosis, and treatment. *Curr Gastroenterol Rep* 2007; 9: 270-279 [PMID: 17883973]
- 5 雷辉. 糖尿病胃轻瘫发病机制及治疗方法分析. 中国医学创新 2014; 11: 152-153
- 6 Harberson J, Thomas RM, Harbison SP, Parkman HP. Gastric neuromuscular pathology in gastroparesis: analysis of full-thickness antral biopsies. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 359-370 [PMID: 19997975 DOI: 10.1007/s10620-009-1071-2]
- 7 赵发旭. 西沙比利治疗糖尿病性胃轻瘫47例临床分析. 青海医药杂志 2012; 42: 38-39
- 8 李卫红, 罗晋. 多潘立酮联合依帕司他治疗糖尿病性胃轻瘫的临床研究. 医学信息 2011; 6: 2680-2681
- 9 梁伟华. 口服红霉素与吗丁啉联合治疗糖尿病胃轻瘫的临床观察. 中国医药指南 2012; 10: 14, 16
- 10 沈莹, 职小飞. 红霉素联合莫沙比利治疗糖尿病性胃轻瘫的疗效观察. 中国保健营养(中旬刊) 2012; 6: 327
- 11 Larson JM, Tavakkoli A, Drane WE, Toskes PP, Moshiree B. Advantages of azithromycin over erythromycin in improving the gastric emptying half-time in adult patients with gastroparesis. *J Neurogastroenterol Motil* 2010; 16: 407-413 [PMID: 21103422 DOI: 10.5056/jnm.2010.16.4.407]
- 12 Hyett B, Martinez FJ, Gill BM, Mehra S, Lembo A, Kelly CP, Leffler DA. Delayed radionuclide gastric emptying studies predict morbidity in diabetics with symptoms of gastroparesis. *Gastroenterology* 2009; 137: 445-452 [PMID: 19410575 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.04.055]
- 13 Choung RS, Locke GR, Schleck CD, Zinsmeister AR, Melton LJ, Talley NJ. Risk of gastroparesis in subjects with type 1 and 2 diabetes in the general population. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 82-88 [PMID: 22085818 DOI: 10.1038/ajg.2011.310]



- 14 丁虹, 白学松, 张业琼, 严明确. 红霉素联合莫沙比利治疗糖尿病性胃轻瘫的疗效观察. 临床和实验医学杂志 2008; 7: 40-41

- 15 张国安, 汤茵, 区苑清, 梁健. 伊托必利与莫沙比利治疗糖尿病性胃轻瘫的疗效比较. 国际医药卫生导报 2011; 17: 1864-1866

#### ■同行评价

本文设计简单实用, 对临床医师有一定的参考价值.

编辑 韦元涛 电编 闫晋利



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

#### • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

**本刊讯** 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569, Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology], 是一本由来自国内30个省、市、自治区、特别行政区的483位胃肠病学和肝病专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助.

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

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

《世界华人消化杂志》的目标是出版高质量的胃肠病学和肝病领域的专家评论及临床实践和基础研究相结合具有实践意义的文章, 为内科学、外科学、感染病学、中医学、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.

# Tregs在幽门螺杆菌感染中的作用

袁小刚, 黄艳娟, 胡红松

## ■背景资料

CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性T细胞(Treg)可抑制病原微生物感染后机体产生的强烈促炎免疫反应,从而减轻组织的免疫损伤,但与此同时也保护了病原微生物,造成病原微生物的慢性持续感染。

袁小刚, 胡红松, 深圳市龙岗区人民医院消化内科 广东省深圳市 518172

黄艳娟, 深圳市龙岗区人民医院妇产科 广东省深圳市 518172

袁小刚, 住院医师, 主要从事幽门螺杆菌的基础与临床研究。

深圳市龙岗区科技计划基金资助项目, No. YS2013011

作者贡献分布: 此课题由袁小刚与胡红松设计; 研究过程由袁小刚、黄艳娟及胡红松操作完成; 数据采集分析由袁小刚与黄艳娟完成; 本论文撰写由袁小刚与黄艳娟完成。

通讯作者: 胡红松, 副主任医师, 518172, 广东省深圳市龙岗区中心城爱南路53号, 广东省深圳市龙岗区人民医院消化内科。hongsong-hu@hotmail.com

电话: 0755-28932833 传真: 0755-28932321

收稿日期: 2014-06-30 修回日期: 2014-09-10

接受日期: 2014-09-21 在线出版日期: 2014-10-28

## Role of Tregs in *Helicobacter pylori* infection

Xiao-Gang Yuan, Yan-Juan Huang, Hong-Song Hu

Xiao-Gang Yuan, Hong-Song Hu, Department of Gastroenterology, Longgang District People's Hospital of Shenzhen, Shenzhen 518172, Guangdong Province, China

Yan-Juan Huang, Department of Obstetrics and Gynecology, Longgang District People's Hospital of Shenzhen, Shenzhen 518172, Guangdong Province, China

Supported by: the Science and Technology Foundation of Longgang District, Shenzhen, No. YS2013011

Correspondence to: Hong-Song Hu, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Longgang District People's Hospital of Shenzhen, Shenzhen 518172, Guangdong Province, China. hongsong-hu@hotmail.com

Received: 2014-06-30 Revised: 2014-09-10

Accepted: 2014-09-21 Published online: 2014-10-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the role of Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells (Tregs) in *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection.

**METHODS:** By using biopsies from 89 *H. pylori*-positive patients, 60 of whom underwent treatment for eradication of *H. pylori*, and 79 *H. pylori*-negative adults, immunohistochemistry was performed to semi-quantify the number of Tregs in the gastric mucosa.

**RESULTS:** The proportion of Tregs was 2.4% in *H. pylori*-negative individuals, and 8.9% in *H. pylori*-positive patients ( $P < 0.01$ ). After eradication of *H. pylori*, the proportion of Tregs signifi-

cantly declined (3.0%,  $P < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** Tregs actively participate in the immune response to *H. pylori* infection. *H. pylori* chronically colonizes the stomach and increases the frequency of Tregs in the gastric mucosa, thereby suppressing the immune response and contributing to the persistence of *H. pylori* infection. Tregs decrease in the gastric mucosa after eradication of *H. pylori*, and mucosal immune balance is then restored.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Foxp3 positive regulatory T cells; *Helicobacter pylori*; Chronic infection, Immune clearance; Immunohistochemistry

Yuan XG, Huang YJ, Hu HS. Role of Tregs in *Helicobacter pylori* infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(30): 4714-4718 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4714.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4714>

## 摘要

**目的:** 探讨Tregs在人幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染中的作用。

**方法:** 168例胃窦黏膜标本中*H. pylori*阳性89例, *H. pylori*阴性79例; 60例*H. pylori*根除治疗前后患者的胃窦黏膜标本, 均采用免疫组织化学的方法检测病理标本中Foxp3阳性细胞浸润情况。

**结果:** *H. pylori*阳性组胃窦黏膜标本中Tregs浸润程度显著高于*H. pylori*阴性组(8.9% vs 2.4%,  $P < 0.01$ ); *H. pylori*根除治疗前胃窦黏膜标本中Tregs浸润程度显著高于根除治疗后(9.1% vs 3.0%,  $P < 0.01$ )。

**结论:** Tregs参与了*H. pylori*感染的免疫应答, *H. pylori*感染致胃黏膜Tregs浸润数量显著增加, 抑制黏膜局部免疫反应, 减轻免疫损伤的同时导致*H. pylori*逃逸机体的免疫清除, 造成*H. pylori*持续慢性感染及黏膜慢性炎症; 根除

■同行评议者  
李瑜元, 教授, 广州市第一人民医院内科

*H. pylori*后, 胃黏膜Tregs浸润数量显著减少, 黏膜可重新恢复免疫平衡状态。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** Foxp3阳性调节性T细胞; 幽门螺旋杆菌; 慢性感染; 免疫清除; 免疫组织化学

**核心提示:** 本研究显示幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)阳性的胃窦黏膜Treg浸润显著高于*H. pylori*阴性者; 根除*H. pylori*后, Treg细胞浸润密度显著降低。结果提示Tregs参与了*H. pylori*感染的免疫应答, 造成*H. pylori*持续慢性感染, 根除*H. pylori*后, 胃黏膜可重新恢复免疫平衡状态, 从而减轻炎症。

袁小刚, 黄艳娟, 胡红松. Tregs在幽门螺杆菌感染中的作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(30): 4714-4718 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4714.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i30.4714>

## 0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)慢性持续感染是慢性胃炎、消化性溃疡及胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤(mucosa associated lymphadenoma, MALT)及胃癌的主要病因<sup>[1]</sup>。*H. pylori*感染机体后, 可产生一系列的促炎免疫应答反应, 包括宿主固有免疫应答和获得性*H. pylori*特异性T细胞及B细胞相关的免疫应答, 但这些免疫应答却难以清除体内感染的*H. pylori*, 从而导致*H. pylori*持续慢性感染, 甚至持续终生<sup>[2]</sup>。

1995年, Sakaguchi等首先报道CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性T细胞(Treg)亚群具有免疫调节作用, Treg可抑制自身免疫性疾病的发生<sup>[3]</sup>。Treg可通过细胞直接接触及分泌抑制性细胞因子等作用方式发挥其免疫调节作用, 维持自身免疫耐受及免疫平衡。叉状头/翅膀状螺旋转录因子(Foxp3)mRNA及其编码的Scurfy蛋白特异性表达于Treg细胞, 目前认为Foxp3是Treg最具特异性的分子标志, 是Treg获得免疫调节特性的关键转录因子<sup>[4]</sup>。

目前普遍认为Treg可抑制病原微生物感染后机体产生的强烈促炎免疫反应, 从而减轻组织的免疫损伤, 但与此同时也保护了病原微生物, 造成病原微生物的慢性持续感染。这提示Treg可能与*H. pylori*持续慢性感染而不被机体免疫清除及*H. pylori*感染导致的胃黏膜慢性炎症

有关。国外有研究发现Treg能调节小鼠*H. pylori*感染后的胃黏膜炎症, 抑制小鼠对*H. pylori*的免疫清除, 导致*H. pylori*慢性持续感染<sup>[5]</sup>。同时也有研究发现*H. pylori*阳性的胃炎、胃溃疡及胃癌组织中Treg细胞浸润显著增加<sup>[6]</sup>。但也有与此相反的研究结果, Satoh等<sup>[7]</sup>研究发现: *H. pylori*阳性及阴性的患者外周血T细胞无显著差异。至今鲜有报道, 在幽门螺杆菌根除治疗前后, 人的胃黏膜Treg浸润情况是否会发生变化。故本研究以人体胃窦黏膜标本作为研究对象, 采用免疫组织化学的方法, 比较*H. pylori*阳性和阴性及*H. pylori*根除治疗前后的胃窦黏膜标本中Treg浸润差异, 旨在进一步探讨Tregs在人*H. pylori*感染中的作用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 168例胃窦黏膜标本均取自因上消化道症状而就诊的患者, 其内镜及病理诊断为慢性浅表性胃炎或胃溃疡, 在患者行胃镜检查时于幽门前2-3 cm胃窦小弯侧活检胃窦黏膜2-3块, 行改良Gimesa染色, 患者胃镜检查前行<sup>14</sup>C呼气试验检查, 以上两项检查均阳性者判断为*H. pylori*阳性, 以上两项检查均阴性者判断为*H. pylori*阴性; 共纳入*H. pylori*阳性组89例, *H. pylori*阴性组79例; 其中60例*H. pylori*阳性患者在根除*H. pylori*治疗结束, 停药4 wk以上时复查胃镜, 复查胃镜前常规复查<sup>14</sup>C呼气试验检查, 阴性者在复查胃镜时, 再次活检胃窦黏膜2-3块, 同样采用改良Gimesa染色判断*H. pylori*感染情况, 以上两项检查均阴性者确定为*H. pylori*根除治疗成功。试剂: 浓缩型鼠抗人Foxp3单克隆抗体(ab22510, 美国Abcam公司), 工作浓度均为1:300(体积比); PV-9000第二代通用型二步法免疫组织化学染色试剂盒及浓缩型DAB试剂盒(614864A; 3 mL)(北京中杉金桥生物技术有限公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 *H. pylori*检测:** 胃窦黏膜石蜡标本行4 μm厚连续切片, 行病理常规HE染色, 采用改良Gimesa染色方法检测*H. pylori*。Giemsa染液配制: 2 g Giemsa染料, 加入蒸馏水10 mL, 过滤。染色主要步骤: (1)石蜡切片常规脱蜡、水化; (2)蒸馏水洗3遍, 滴染Giemsa染液, 25 min后自来水稍洗, 950 mL/L乙醇分化3次, 无水乙醇分化2次, 自然风干、封片。

**■研发前沿**  
Rad等研究发现Treg能调节小鼠*H. pylori*感染后的胃黏膜炎症, 抑制小鼠对*H. pylori*的免疫清除, 导致*H. pylori*慢性持续感染。

**■相关报道**  
Cho等研究发现*H. pylori*相关性胃炎组织中, *H. pylori*定植密度与Treg浸润密度及胃炎严重程度成正比。



## ■创新盘点

鲜有报道在*H. pylori*根除治疗前后, 人的胃黏膜组织中Treg浸润情况是否会发生变化。

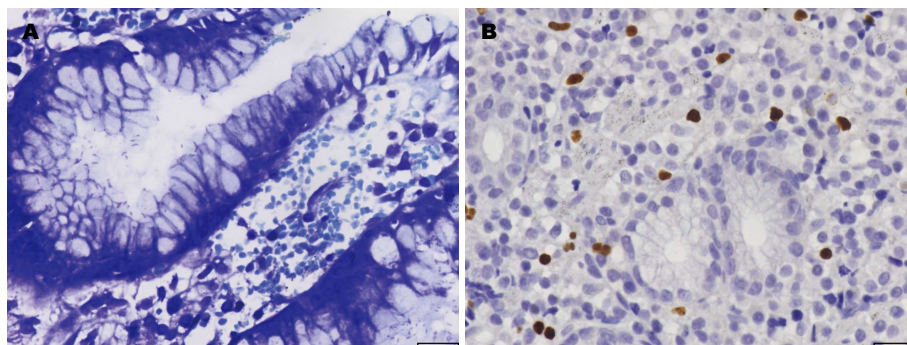


图1 组织标本病理学检测. A: 改良Gimesa染色, 显示*H. pylori*; B: 免疫组织化学, 棕黄色细胞为Treg.

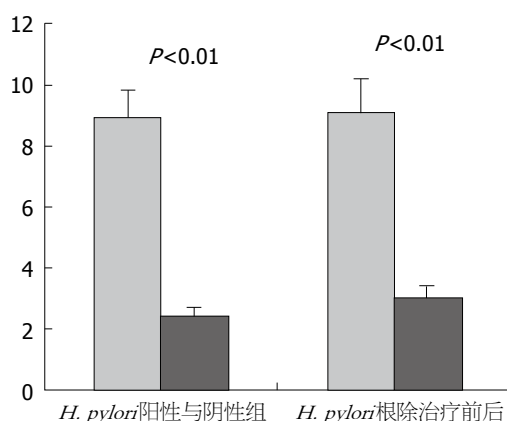


图2 *H. pylori*阳性与阴性组胃黏膜Tregs浸润程度及*H. pylori*根除治疗前后胃黏膜Tregs浸润程度比较。

1.2.2 Treg检测: 采用免疫组织化学二步法, 其主要步骤: (1)石蜡切片常规脱蜡、水化; (2)3%过氧化氢浸泡8 min, 以阻断内源性过氧化物酶; (3)切片置于0.01 mol/L柠檬酸盐缓冲液中, 微波炉热修复抗原15 min; (4)滴加新鲜配制的鼠抗人Foxp3单克隆抗体, 4 °C冰箱恒温过夜; (5)滴加聚合酶辅助剂(Polymer Helper), 37 °C恒温培养箱内孵育30 min; (6)滴加辣根酶标记羊抗兔/小鼠IgG多聚体, 37 °C恒温孵育30 min; (7)DAB显色、苏木素复染、脱水、透明、封片。对照: 淋巴结组织作为阳性对照, 以PBS代替一抗作为阴性对照。

结果判断: Foxp3蛋白以细胞核染成棕黄色为阳性细胞; 每张切片随机观察10个高倍视野, 每个视野分别计数阳性细胞及所有炎症细胞, 以阳性细胞除以总炎症细胞得出Tregs浸润比率, 以该比率的平均值作为Tregs浸润程度。

统计学处理 采用XXXXX软件进行数据处理, 计量资料以mean±SD表示, 组间比较采用t检验,  $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

在普通光学显微镜下, 改良Gimesa染色后*H. pylori*呈弯曲杆状或弧状(图1A), 主要位于胃黏膜黏液层表面。免疫组织化学研究结果显示*H. pylori*阳性组胃黏膜Treg浸润程度( $8.9\% \pm 0.9\%$ )显著高于*H. pylori*阴性组( $2.4\% \pm 0.3\%$ ), 差异具有统计学意义( $P < 0.01$ ); 根除治疗前( $9.1\% \pm 1.1\%$ )显著高于根除治疗后( $3.0\% \pm 0.4\%$ ), 差异具有统计学意义( $P < 0.01$ )(图2)。

## 3 讨论

流行病学研究<sup>[8]</sup>显示, 随着年龄的增长, 儿童*H. pylori*感染率逐渐升高, 故可以推测多数成人*H. pylori*相关性疾病的患者是儿童期即感染了*H. pylori*, 只是机体免疫系统很难将其完全清除。即使目前有许多*H. pylori*根除治疗方案, 但因*H. pylori*耐药以及机体免疫等因素导致现有的治疗方案均难以100%将其根除, 如何防治*H. pylori*感染以及提高防治疗效, 这是摆在广大临床医师面前的一大难题。*H. pylori*是通过什么机制逃逸宿主免疫清除的呢? 通过某种方式适当改变宿主的免疫状态, 是否可提高*H. pylori*根除率呢? 为此, 本研究从免疫作用机制的角度, 以Treg细胞入手, 探讨*H. pylori*慢性持续感染及其致病的作用机制。

研究<sup>[9]</sup>显示*H. pylori*染宿主后定植于胃黏液层及胃黏膜上皮细胞, 激活宿主抗原提呈细胞, 并导致中性粒细胞、单核细胞及巨噬细胞等浸润至胃黏膜层, 诱导以Th1型免疫应答为主的特异性T细胞免疫反应, 与此同时Th2型免疫应答受到抑制, 导致B细胞分泌的IgA减少, 不足以清除*H. pylori*, 导致*H. pylori*持续慢性感染, 甚至终生存在。Th1型免疫应答反应释放了大量的细胞因子如白介素(interleukin, IL)-12、IL-18、肿瘤

坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、干扰素(interferon, IFN)-1等作用于B淋巴细胞、自然杀伤(natural killer, NK)细胞、巨噬细胞,使其在胃黏膜局部增殖、分化、激活,产生特异性和非特异性免疫反应,从而损伤局部胃黏膜组织;同时进一步激活T淋巴细胞,协同促进Th1反应,加重Th1介导的胃黏膜损伤,最终引起胃黏膜不同程度的损伤,导致不同胃十二指肠疾病<sup>[10,11]</sup>。本研究显示*H. pylori*阳性的胃窦黏膜Treg浸润显著高于*H. pylori*阴性者。这与Lundgren等<sup>[12]</sup>研究结论吻合, Lundgren等研究表明胃溃疡、十二指肠球部溃疡患者胃黏膜上和胃外周血中均高表达相同表型的Treg。且有研究<sup>[13]</sup>发现在十二指肠球部溃疡患者中,十二指肠球部胃黏膜化生处Treg细胞浸润数量也显著增加。Cho等<sup>[14]</sup>研究发现*H. pylori*相关性胃炎组织中, *H. pylori*定植密度与Treg浸润密度及胃炎严重程度成正比。 *H. pylori*感染后, 胃窦黏膜Treg浸润密度显著升高可能是机体的一种保护机制, 机体为了维持免疫稳态, 避免Th1型免疫反应过度造成组织损伤, 故通过Treg细胞接触或分泌抑制性细胞因子抑制功能性T细胞, 从而抑制Th1型免疫反应, 增强Th2型免疫反应。但这也同时导致*H. pylori*难以被机体的免疫功能所清除, 造成*H. pylori*慢性持续感染。但当这种免疫稳态再次失衡时, 就可能导致*H. pylori*相关性疾病, 如消化性溃疡等<sup>[15]</sup>。

本研究还显示根除*H. pylori*后, 胃窦黏膜Treg细胞浸润密度显著降低, 胃黏膜炎症程度减轻, 提示根除*H. pylori*后黏膜可重新恢复Th1/Th2的免疫平衡状态。这也进一步提示*H. pylori*感染后可直接增加胃黏膜组织中Treg细胞的浸润, 从而导致胃黏膜免疫功能失衡。

总之, 本研究结果提示Tregs参与了*H. pylori*感染的免疫应答, *H. pylori*感染致胃黏膜Tregs浸润数量显著增加, 抑制黏膜局部免疫反应, 减轻胃黏膜免疫损伤的同时也导致了*H. pylori*逃逸机体的免疫清除作用, 造成*H. pylori*持续慢性感染及黏膜慢性炎症, 根除*H. pylori*后, 胃黏膜可重新恢复一种免疫平衡状态, 从而炎症可减轻。

#### 4 参考文献

- 1 Calvet X, Ramírez Lázaro MJ, Lehours P, Mégraud F. Diagnosis and epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2013; 18 Suppl 1: 5-11 [PMID: 24011238 DOI: 10.1111/hel.12071]

- 2 Peek RM, Fiske C, Wilson KT. Role of innate immunity in *Helicobacter pylori*-induced gastric malignancy. *Physiol Rev* 2010; 90: 831-858 [PMID: 20664074 DOI: 10.1152/physrev.00039.2009]
- 3 Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor  $\alpha$ -chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol* 1995; 155: 1151-1164 [PMID: 7636184]
- 4 van Loosdregt J, Coffey PJ. Post-translational modification networks regulating FOXP3 function. *Trends Immunol* 2014; 35: 368-378 [PMID: 25047417 DOI: 10.1016/j.it.2014.06.005]
- 5 Rad R, Brenner L, Bauer S, Schwendy S, Layland L, da Costa CP, Reindl W, Dossumbekova A, Friedrich M, Saur D, Wagner H, Schmid RM, Prinz C. CD25<sup>+</sup>/Foxp3<sup>+</sup> T cells regulate gastric inflammation and *Helicobacter pylori* colonization in vivo. *Gastroenterology* 2006; 131: 525-537 [PMID: 16890606]
- 6 Cheng HH, Tseng GY, Yang HB, Wang HJ, Lin HJ, Wang WC. Increased numbers of Foxp3-positive regulatory T cells in gastritis, peptic ulcer and gastric adenocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 34-43 [PMID: 22228968 DOI: 10.3748/wjg.v18.i1.34]
- 7 Satoh Y, Ogawara H, Kawamura O, Kusano M, Murakami H. Clinical Significance of Peripheral Blood T Lymphocyte Subsets in *Helicobacter pylori*-Infected Patients. *Gastroenterol Res Pract* 2012; 2012: 819842 [PMID: 22536220 DOI: 10.1155/2012/819842]
- 8 Serrano C, Wright SW, Bimczok D, Shaffer CL, Cover TL, Venegas A, Salazar MG, Smythies LE, Harris PR, Smith PD. Downregulated Th17 responses are associated with reduced gastritis in *Helicobacter pylori*-infected children. *Mucosal Immunol* 2013; 6: 950-959 [PMID: 23299619 DOI: 10.1038/mi.2012.133]
- 9 Koch M, Meyer TF, Moss SF. Inflammation, immunity, vaccines for *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2013; 18 Suppl 1: 18-23 [PMID: 24011240 DOI: 10.1111/hel.12073]
- 10 Bhuiyan TR, Islam MM, Uddin T, Chowdhury MI, Janzon A, Adamsson J, Lundin SB, Qadri F, Lundgren A. Th1 and Th17 responses to *Helicobacter pylori* in Bangladeshi infants, children and adults. *PLoS One* 2014; 9: e93943 [PMID: 24714675 DOI: 10.1371/journal.pone.0093943]
- 11 Moyat M, Velin D. Immune responses to *Helicobacter pylori* infection. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 5583-5593 [PMID: 24914318 DOI: 10.3748/wjg.v20.i19.5583]
- 12 Lundgren A, Strömberg E, Sjöling A, Lindholm C, Enarsson K, Edebo A, Johnsson E, Suri-Payer E, Larsson P, Rudin A, Svennerholm AM, Lundin BS. Mucosal FOXP3-expressing CD4<sup>+</sup> CD25<sup>high</sup> regulatory T cells in *Helicobacter pylori*-infected patients. *Infect Immun* 2005; 73: 523-531 [PMID: 15618192]
- 13 Kindlund B, Sjöling A, Hansson M, Edebo A, Hansson LE, Sjövall H, Svennerholm AM, Lundin BS. FOXP3-expressing CD4<sup>+</sup> T-cell numbers increase in areas of duodenal gastric metaplasia and are associated to CD4<sup>+</sup> T-cell aggregates in the duodenum of *Helicobacter pylori*-infected duodenal ulcer patients. *Helicobacter* 2009; 14: 192-201 [PMID: 19702849 DOI: 10.1111/j.1523-5378]
- 14 Cho KY, Cho MS, Seo JW. FOXP3<sup>+</sup> regulatory T cells in children with *Helicobacter pylori* infection.

#### ■应用要点

Tregs参与了*H. pylori*感染的免疫应答, 导致*H. pylori*逃逸机体的免疫清除; 当根除*H. pylori*后, 胃黏膜Tregs浸润数量显著减少, 黏膜可重新恢复免疫平衡状态。

## ■同行评价

本文具有一定指导意义。

- 15 *Pediatr Dev Pathol* 2012; 15: 118-126 [PMID: 22260624 DOI: 10.2350/11-06-1046-OA.1]  
Robinson K, Kenefeck R, Pidgeon EL, Shakib S, Patel S, Polson RJ, Zaitoun AM, Atherton JC. Heli-

cobacter pylori-induced peptic ulcer disease is associated with inadequate regulatory T cell responses. *Gut* 2008; 57: 1375-1385 [PMID: 18467372 DOI: 10.1136/gut.2007.137539]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

## • 消息 •

## 《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: <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注)。如同一表中另有一套  $P$  值, 则<sup>c</sup> $P < 0.05$ , <sup>d</sup> $P < 0.01$ ; 第 3 套为<sup>e</sup> $P < 0.05$ , <sup>f</sup> $P < 0.01$ 。 $P$  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  $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$  表达。黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片。彩色图片大小  $7.5\text{ cm} \times 4.5\text{ cm}$ , 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴。(5) 志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。



# 《世界华人消化杂志》投稿须知

## 1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病学实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

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

《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

## 2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(*International Committee of Medical Journal Editors*)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(*Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals*)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig。s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P<sup>H</sup>, *H. pylori*不能写成HP,  $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T,  $V_{max}$ 不能Vmax,  $\mu$ 不写为英文u。需排斜体的外文字, 用斜体表示。如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种。如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数K; 一些统计学符号(如样本数n, 均数mean, 标准差SD, F检验, t检验和概率P, 相关系数r); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如N, O, P, S, d, l)如n-(normal, 正), N-(nitrogen, 氮), o-(ortho, 邻), O-(oxygen, 氧, 习惯不译), d-(dextro, 右旋), p-(para, 对), 例如n-butyl acetate(醋酸正丁酯), N-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), o-cresol(邻甲酚), 3-O-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), d-amphetamine(右旋苯丙胺), l-dopa(左旋多巴), p-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸)。拉丁字及缩写in vitro, in vivo, in situ; Ibid, et al, po, vs; 用外文字母代表的物理量, 如m(质量), V(体积), F(力), p(压力), W(功), v(速度), Q(热量), E(电场强度), S(面积), t(时间), z(酶活性, kat), t(摄氏温度, °C), D(吸收剂量, Gy), A(放射性活度, Bq),  $\rho$ (密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L),  $\phi$ (体积分数, mL/L), w(质量分数, mg/g), b(质量摩尔浓度, mol/g), l(长度), b(宽度), h(高度), d(厚度), R(半径), D(直径),  $T_{max}$ ,  $C_{max}$ ,  $V_d$ ,  $T_{1/2}$  CI等。基因符号通常用小写斜体, 如ras, c-myc; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白。

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为 $M_r$  30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即 $A_r$ (A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及后列出。在±前后均要列出, 如 $37.6\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1.2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $45.6\text{岁} \pm 24\text{岁}$ ,  $56.4\text{ d} \pm 0.5\text{ d}$ ,  $3.56 \pm 0.27\text{ pg/ml}$ 应为 $3.56\text{ ng/L} \pm 0.27\text{ ng/L}$ 。BP用kPa(mmHg), RBC数用 $1 \times 10^{12}/\text{L}$ , WBC数用 $1 \times 10^9/\text{L}$ , WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。M<sub>r</sub>明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO<sub>2</sub>结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把 $1 \times 10^{-3}\text{ g}$ 与 $5 \times 10^{-7}\text{ g}$ 之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO<sub>2</sub>, 50 mL/L CO<sub>2</sub>; 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 =  $45 \times 10^{-6}$ ; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)t检验用小写t; (2)F检验用英文大写F; (3)卡方检验用希文小写 $\chi^2$ ; (4)样本的

相关系数用英文小写 $r$ ; (5)自由度用希文小写 $\nu$ ; (6)样本数用英文小写 $n$ ; (7)概率用英文斜体大写 $P$ . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 $\pm$ 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$ , 平均数 $\pm$ 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$ . 统计学显著性用<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则<sup>c</sup> $P < 0.05$ , <sup>d</sup> $P < 0.01$ ; 第三套为<sup>e</sup> $P < 0.05$ , <sup>f</sup> $P < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L  $\pm$  0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6 347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g  $\pm$  420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg  $\pm$  0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm  $\pm$  0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48  $\rightarrow$  23.5  $\rightarrow$  24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 $\leq 100$ , 百分数到个位;  $101 \leq$  分母  $\leq 1000$ , 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之

首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

### 3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入致谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, E-mail: wcjd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com



《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

### 3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象。应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度。研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准。如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 $P$ , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材

料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用:  $^aP<0.05$ ,  $^bP<0.01$  ( $P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP<0.05$ ,  $^dP<0.01$ ; 第3套为 $^eP<0.05$ ,  $^fP<0.01$ 。 $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上角注码号。如马连生<sup>[1]</sup>报告……, 潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认为……;

PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>。文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊: 序号, 作者(列出全体作者), 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传。读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程。

## 4 写作格式实例

### 4.1 述评写作格式实例

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

### 4.2 研究原著写作格式实例

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

### 4.3 焦点论坛写作格式实例

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

### 4.4 文献综述写作格式实例

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

### 4.5 研究快报写作格式实例

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

### 4.6 临床经验写作格式实例

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

### 4.7 病例报告写作格式实例

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

## 5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在线提交的通过[submission@wjgnet.com](mailto:submission@wjgnet.com), 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>。审稿过程平均时间需要14-28天。所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审。

## 6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任。

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有。

### 《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进。

## 2014年国内国际会议预告

2014-03-12/15

2014年亚太肝病研究协会肝病周(APASL)

会议地点: 澳大利亚

联系方式: <http://apasl2014.com/>

2014-04-05/09

2014年美国癌症研究协会大会(AACR)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.aacr.org/home/scientists/meetings--workshops/meetings--workshops-calendar.aspx>

2014-04-09/13

2014年第49届欧洲肝病研究协年会(EASL)

会议地点: 英国

联系方式: [http://www.easl.eu/\\_the-international-liver-congress/general-information](http://www.easl.eu/_the-international-liver-congress/general-information)

2014-04-18/05-20

2014中国超声医学学术大会

会议地点: 北京市

联系方式: <http://www.cuda.org.cn/new/meeting>

2014-04-26/27

中华医学会临床药学会2014年全国学术会议

会议地点: 成都市

联系方式: <http://www.cncscp.org/>

2014-05-04/06

2014年美国消化疾病周(DDW)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.ddw.org/attendees/faqs>

2014-05-16/18

2014第七届世界癌症大会

会议地点: 南京市

联系方式: <http://www.bitlifesciences.com/cancer2014/cn/meeting.asp>

2014-05-23/24

第六届药源性疾病与安全用药中国论坛-消化系统与肝病药物专题研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: [adrhuiyi@126.com](mailto:adrhuiyi@126.com)

2014-05-30/06-03

2014年美国临床肿瘤协会年会(ASCO)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.asco.org/meetings/calendar-events>

2014-06-04/07

2014年第20届国际肝移植协会年会(ILTS)

会议地点: 英国

联系方式: <http://www.ilts.org/meetings/>

2014-06-09/12

2014年第47届欧洲儿科胃肠病、肝病和营养学协会大会(ESPGHAN)

会议地点: 以色列

联系方式: <http://www.espghan2014.org/>

2014-06-18/21

2014年欧洲胃肠与腹部放射学协会肝部成像研讨会(ESGAR)

会议地点: 奥地利

联系方式: <http://www.esgar.org/files/File/ESGAR14>

2014-06-25/28

2014年世界胃肠癌大会(WGIC)

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://worldgicancer.com/WCGI>

2014-06-25/28

2014年第14届欧洲内窥镜手术协会国际大会(EAES)

会议地点: 法国

联系方式: [hdimcs@163.com](mailto:hdimcs@163.com)

2014-06-27/28

2014中华医学会肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 上海市

联系方式: [lilyjia@163.com](mailto:lilyjia@163.com)

2014-07-26/31

2014年世界移植大会

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.wtc2014.org/>

2014-07-28/30

第3届国际肠胃病学与泌尿学大会

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.omicsgroup.com/gastroenterology-urology-conference-2014/registration.php>

2014-09-05/07

2014年第8届国际肝癌协会大会(ILCA)

会议地点: 日本

联系方式: <http://www.ilca2014.org/>

2014-09-26/30

2014年欧洲临床肿瘤协会年会(ESMO)

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/>

2014-10-18/22

2014年第22届欧洲联合胃肠病学周(UEG)

会议地点: 奥地利

联系方式: <http://www.ueg.eu/week/past-future/future-ueg-week/>



## 志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

崔莲花 副教授  
青岛大学医学院公共卫生系

戴朝六 教授  
中国医科大学第二临床学院(盛京医院)肝胆外科

杜奕奇 副教授  
中国人民解放军第二军医大学长海医院

邓庆 副研究员  
上海市中医院

高泽立 副教授  
上海浦东新区周浦医院消化科, 上海交大医学院九院周浦分院

谷俊朝 主任医师  
首都医科大学附属北京友谊医院普外科

康春博 副主任医师  
航天中心医院

李苏宜 教授  
安徽省肿瘤医院肿瘤内科

李涛 副主任医师  
北京大学人民医院肝胆外科

李瑜元 教授  
广州市第一人民医院

李正荣 副教授  
南昌大学附属第一医院胃肠外科

刘宝林 教授  
中国医科大学附属盛京医院

刘杰民 副主任医师  
贵州省人民医院消化内科

刘绍能 主任医师  
中国中医科学院广安门医院

马欣 主任医师  
甘肃省人民医院

牛英才 副研究员  
齐齐哈尔医学院/医药科学研究所

齐清会 教授  
大连医科大学附属第一医院

秦建民 主任医师  
上海中医药大学附属普陀医院

孙学英 教授  
哈尔滨医科大学第一附属医院

王刚 副研究员  
哈尔滨医科大学附属第一医院

王凯 教授  
山东大学齐鲁医院

王娅兰 教授  
重庆医科大学基础医学院病理教研室

王怡 主任医师  
天津市传染病医院, 天津市肝病研究所

吴军 研究员  
中国人民解放军军事医学科学院生物工程研究所

夏冰 教授  
武汉大学中南医院消化内科

肖恩华 教授  
中南大学湘雅二医院

谢敏 主任医师  
南京大学医学院附属鼓楼医院

殷正丰 教授  
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院

张红 教授  
陕西中医学院

张庆瑜 教授  
天津医科大学总医院

## 《中文核心期刊要目总览》收录证书

### 《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士:

我们谨此郑重通知:依据文献计量学的原理和方法,经研究人员对相关文献的检索、统计和分析,以及学科专家评审,贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系,列出了73个学科的核心期刊表,并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括:题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作,是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动,研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊(光盘版)电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究,进一步改进了核心期刊评价方法,使之更趋科学合理,力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标,选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种,统计到的文献数量共计221177余万篇次,涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审,从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是,该研究成果只是一种参考工具书,主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考,例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等,不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂  
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会  
代章:





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**  
8226 Regency Drive, Pleasanton,  
CA 94588, USA  
Fax: +1-925-223-8242  
Telephone: +1-925-223-8243  
E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

