

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

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 4 月 28 日 第 21 卷 第 12 期 (Volume 21 Number 12)



12/2013

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

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

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

总顾问

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

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

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳龙教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张坚圣教授

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

麻勇副研究员

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

石毓君副研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

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

消化感染病学

白浪副教授
陈国凤主任医师
陈红松研究员
陈建杰教授
陈志辉副主任医师

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

消化中医药学

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

邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

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

消化影像学

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

消化内镜及介入治疗学

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

吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

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

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
段义农教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
郭长江研究员
郭俊明教授
何红伟副研究员
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授
黄园教授
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
吴江锋副教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴志强副教授
夏敏教授
徐健副主任医师
徐宁志研究员
许文燮教授
杨晓明教授
阴赓宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
曾柱教授
张红教授
张淑坤副研究员
赵平教授
赵铁建教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
朱益民教授
竺亚斌研究员

消化病理学

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2013 年 4 月 28 日 第 21 卷 第 12 期 (总第416期)

述 评	1055 肝移植后肠源性感染的研究进展 穆靖洲, 陈秋宇, 孙春阳, 吴云红, 朱亮
基础研究	1062 沉默干扰HMGA2对胃癌细胞Wnt/ β -Catenin信号转导通路的影响 姜丹, 赖铭裕, 陈家庄, 韦丽秀 1070 Rac1对胰腺癌增殖的影响及其机制 田锐, 郭兴军, 王敏, 石程剑, 徐盟, 彭丰, 李旭, 江建新, 秦仁义
临床研究	1075 经内镜逆行性胰胆管造影术后胰腺炎的影响因素 袁伟燕, 陆翠华 1080 散发性结直肠癌组织病理学特征及微卫星不稳定状态分析400例 李新霞, 胡晓杰, 吴涛, 胡昌明, 徐炜, 李洪波, 赵彤
文献综述	1090 胃增生性息肉研究进展 宋美玥, 李娟, 焦宇飞 1096 RNA干扰在胃癌多药耐药中的研究进展 廉超, 谢玉波, 肖强
研究快报	1102 二甲双胍、吡格列酮对非酒精性脂肪性肝病大鼠肝脏CYP2E1表达的影响 赵东强, 张松筠, 于红艳, 马俊骥, 魏红, 刘红, 魏东敏, 康亚星, 周晓映 1109 铁螯合剂DFO对胰腺癌细胞株PANC-1增殖率的影响 赵慧贞, 庞慧芳, 赵秋, 覃华
临床经验	1114 沈阳市成年居民脂肪肝的流行病学调查 林连捷, 曹男, 郑长青, 林艳, 王东旭, 金玉 1120 广西婴儿特发性肝内胆汁淤积SLC25A13基因突变的筛查 伍秋频, 王琳琳, 陈秀奇, 唐清, 单庆文, 黄丽, 连淑君, 云翔, 高国鹏, 陈允 1126 温肾方免煎剂联合拉米夫定治疗HBsAg阳性慢性乙型肝炎脾肾阳虚证的疗效时间关系 白松林, 扈晓宇, 余颜 1131 应变率成像对研究肝硬化患者右心室纵向功能的价值 王洁, 顾鹏 1136 悬吊辅助法腹腔镜阑尾切除术42例 郑向欣, 管小青, 吴骥, 顾书成, 吴建强, 陈焰, 张旭旭 1140 巨噬细胞移动抑制因子-173G/C基因多态性与炎性肠疾病的Meta分析 谭诗云, 吴鹏波, 张国, 罗和生, 姚文敏 1146 新诊断2型糖尿病患者外周单核细胞ROCK活性与胰岛素抵抗以及胰岛 β 细胞功能的关系 吴斌, 高倩, 楚晓婧, 张玫, 黄亨建, 李贵星, 王兰兰
病例报告	1152 恶性黑色素瘤胃十二指肠转移1例 许琮, 赵秋, 杨娟, 王渝, 彭思思, 周琦 1156 白塞病合并自发性多发肠穿孔1例 高源, 孙志俭, 张宪祥

附 录	I-V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2013年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	1061 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 1074 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 1079 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 1089 《世界华人消化杂志》修回稿须知 1108 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 1113 《世界华人消化杂志》出版流程 1119 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 1130 《世界华人消化杂志》正文要求 1135 百世登出版集团推出12种开放获取生物医学期刊全部被PubMed和PMC收录 1139 《世界华人消化杂志》参考文献要求 1145 《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) 1151 《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 1155 《世界华人消化杂志》栏目设置 1158 WJG成功通过评审被PMC收录
封面故事	《世界华人消化杂志》编委, 朱亮, 副教授, 副主任医师, 116044, 辽宁省大连市, 大连医科大学生理教研室
本期责任人	编务 马帅; 送审编辑 闫晋利, 鲁亚静; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 黄新珍; 形式规范 审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名
(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2013-04-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

编辑部

田滢, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart
Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

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

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

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

特别声明

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

定价

每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归Baishideng所有

World Chinese Journal of Digestology

April 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 12

EDITORIAL	1055 Current status of research on enterogenic infection following liver transplantation <i>Mu JZ, Chen QY, Sun CY, Wu YH, Zhu L</i>
BASIC RESEARCH	1062 Effect of HMGA2 gene silencing on Wnt/ β -Catenin signaling pathway in gastric cancer cells <i>Jiang D, Lai MY, Chen JZ, Wei LX</i> 1070 Role of rac1 in the proliferation of pancreatic carcinoma cells and possible mechanisms involved <i>Tian R, Guo XJ, Wang M, Shi CJ, Xu M, Peng F, Li X, Jiang JX, Qin RY</i>
CLINICAL RESEARCH	1075 Risk factors for post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis <i>Yuan WY, Lu CH</i> 1080 Histopathologic features and microsatellite instability of sporadic colorectal carcinoma: An analysis of 400 cases <i>Li XX, Hu XJ, Wu T, Hu CM, Xu W, Li HB, Zhao T</i>
REVIEW	1090 An overview of current research of gastric hyperplastic polyps <i>Song MY, Li J, Jiao YF</i> 1096 Role of RNA interference in research of multidrug resistance in gastric cancer <i>Lian C, Xie YB, Xiao Q</i>
RAPID COMMUNICATION	1102 Metformin and pioglitazone reduces CYP2E1 expression in the liver of rats with nonalcoholic fatty liver disease <i>Zhao DQ, Zhang SY, Yu HY, Ma JJ, Wei H, Liu H, Wei DM, Kang YX, Zhou XY</i> 1109 Treatment with deferoxamine inhibits the proliferation of PANC-1 cells <i>Zhao HZ, Pang HF, Zhao Q, Qin H</i>
CLINICAL PRACTICE	1114 An epidemiological survey of prevalence of fatty liver disease in a general adult population in Shenyang <i>Lin LJ, Cao N, Zheng CQ, Lin Y, Wang DX, Jin Y</i> 1120 Screening of SLC25A13 gene mutations in infants with idiopathic intrahepatic cholestasis in Guangxi <i>Wu QP, Wang LL, Chen XQ, Tang Q, Shan QW, Huang L, Lian SJ, Yun X, Gao GP, Chen Y</i> 1126 Wenshenfang without decoction combined with lamivudine for treatment of HBeAg-positive chronic hepatitis B patients with kidney- and spleen-yang deficiency syndrome: Relationship between duration and effect <i>Bai SL, Hu XY, Yu Y</i> 1131 Value of strain rate imaging in research of longitudinal function of the right ventricle in patients with liver cirrhosis <i>Wang J, Gu P</i> 1136 Laparoscopic appendectomy using the hanging and fastening method: An analysis of 42 cases <i>Zheng XX, Guan XQ, Wu J, Gu SC, Wu JQ, Chen Y, Zhang XX</i> 1140 Association between macrophage migration inhibitory factor -173G/C polymorphism and inflammatory bowel disease: A meta-analysis <i>Tan SY, Wu PB, Zhang G, Luo HS, Yao WM</i> 1146 Correlation of insulin resistance, pancreatic β -cell function and insulin sensitivity with increased Rho-associated kinase activity in PBMCs in patients with newly diagnosed type 2 diabetes <i>Wu B, Gao Q, Chu XJ, Zhang M, Huang HJ, Li GX, Wang LL</i>
CASE REPORT	1152 Gastroduodenal metastasis of malignant melanoma: A case report <i>Xu C, Zhao Q, Yang J, Wang Y, Peng SS, Zhou Q</i> 1156 Behcet's disease with multiple spontaneous intestinal perforations: A case report <i>Gao Y, Sun ZJ, Zhang XX</i>

APPENDIX	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2013
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
COVER	Editorial Board Member of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> , Liang Zhu, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Physiology, Dalian Medical University, 9 Lvshun South Road, Dalian 116044, Liaoning Province, China
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: <i>Shuai Ma</i> Review Editor: <i>Jin-Li Yan, Ya-Jing Lu</i> Electronic Page Editor: <i>Jin-Li Yan</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Xin-Zhen Huang</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date April 28, 2013

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

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

EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

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

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

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

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology,

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

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

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

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

EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, Director

World Chinese Journal of Digestology

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-59080035

Fax: +86-10-85381893

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,
315-321 Lockhart Road, Wan Chai,
Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpg@baishideng.com

<http://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue

RMB 2448 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2013 Baishideng. Articles published by this Open Access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT

All articles published in this journal represent the viewpoints of the authors except where indicated otherwise.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

肝移植后肠源性感染的研究进展

穆靖洲, 陈秋宇, 孙春阳, 吴云红, 朱 亮

穆靖洲, 陈秋宇, 朱亮, 大连医科大学生理教研室 辽宁省大连市 116044

孙春阳, 大连医科大学基础医学院 辽宁省大连市 116044

吴云红, 大连医科大学公共卫生学院 辽宁省大连市 116044

朱亮, 副教授, 副主任医师, 主要从事器官移植方面的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30801127

辽宁省教育厅课题基金资助项目, No. 2004F088

作者贡献分布: 穆靖洲与陈秋宇对本文的贡献均等; 穆靖洲、陈秋宇及孙春阳共同完成综述; 吴云红与朱亮负责审校。

通讯作者: 朱亮, 副教授, 副主任医师, 116044, 辽宁省大连市旅顺南路西段9号, 大连医科大学生理教研室。

zhuliang0210@sina.com

收稿日期: 2013-03-05 修回日期: 2013-03-11

接受日期: 2013-04-01 在线出版日期: 2013-04-28

Current status of research on enterogenic infection following liver transplantation

Jing-Zhou Mu, Qiu-Yu Chen, Chun-Yang Sun, Yun-Hong Wu, Liang Zhu

Jing-Zhou Mu, Qiu-Yu Chen, Liang Zhu, Department of Physiology, Dalian Medical University, Dalian 116044, Liaoning Province, China

Chun-Yang Sun, School of Basic Medical Sciences, Dalian Medical University, Dalian 116044, Liaoning Province, China

Yun-Hong Wu, College of Health Administration, Dalian Medical University, Dalian 116044, Liaoning Province, China

Supported by: the National Nature Science Foundation of China, No. 30801127; the Young Scholar Science Fund of Department of Education of Liaoning Province, No. 2004F088

Correspondence to: Liang Zhu, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Physiology, Dalian Medical University, 9 Lvshun South Road, Dalian 116044, Liaoning Province, China. zhuliang0210@sina.com

Received: 2013-03-05 Revised: 2013-03-11

Accepted: 2013-04-01 Published online: 2013-04-28

Abstract

Since the introduction of the Milan criteria in 1996, liver transplantation has become a standard therapy for end-stage liver diseases and hepatocellular carcinoma. In recent years, liver transplantation has developed greatly. Survival rates after liver transplantation have markedly improved as a result of improved operative techniques, use of immunosuppressants, etc. But infection, especially enterogenic infection, is still the most disturbing complication in patients undergoing liver transplantation. This article gives

an overview of infection after liver transplantation and focuses on the discussion of enterogenic infection in terms of its pathophysiology, risk factors, outcome, diagnosis and treatment.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Liver transplantation; Infection; Enterogenic infection

Mu JZ, Chen QY, Sun CY, Wu YH, Zhu L. Current status of research on enterogenic infection following liver transplantation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(12): 1055-1061 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1055.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1055>

摘要

从1996年引进米兰的标准(Milan criteria, MC)来, 肝移植已经成为了一个标准的治疗终末期肝病和肝细胞癌的方法。近年来, 肝移植取得了显著的进步。随着手术方式的改进和免疫抑制剂的应用等, 肝移植后的生存率明显提高。但肝移植术后感染尤其是肠源性感染仍然是术后治疗过程中最棘手的问题之一。我们简要的概括了肝移植后感染的一般情况, 针对肠源性感染的病理生理、危险因素、并发症、诊断以及治疗进行了重点论述。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 肝移植; 感染; 肠源性感染

核心提示: 本文对肝移植术后肠源性感染的相关研究进展进行综述, 对肝移植术后预防此类感染的临床和基础研究有一定的借鉴意义。

穆靖洲, 陈秋宇, 孙春阳, 吴云红, 朱亮. 肝移植后肠源性感染的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(12): 1055-1061 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1055.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1055>

0 引言

自1963年成功开展第1例肝移植手术以来, 肝脏移植已作为治疗终末期肝病的常规手术^[1,2]。从

■背景资料

肝移植是标准的治疗终末期肝病和肝细胞癌的方法。近年来, 随着手术方式的改进和免疫抑制剂的应用, 肝移植术也得到了空前的发展。但肝移植术后的肠源性感染一直是阻碍肝移植术后存活率提高的重要因素。

■同行评议者

徐洪, 副主任医师, 上海复旦大学附属中山医院; 何晓顺, 教授, 中山大学附属第一医院

■ 研发前沿

胰高血糖素样肽-2(GLP-2)等肠上皮特异位生长因子,因其特异性促肠生长的特性和显著改善肠屏障功能的作用,可为治疗肝移植术后肠源性感染提供了新的可行性方法。

1996年引进米兰的标准(Milan criteria, MC)来^[3],肝移植已经成为了一个标准的治疗终末期肝病和肝细胞癌的方法^[4,5]。近年来,肝移植术得到了空前的发展,临床肝移植已取得明显进展。在美国,每年大约有5 000-6 000终末期肝病患者(end-stage liver disease, ESLD)接受肝移植^[6]。在我国,近几年肝移植年完成数量在2 000-2 500例之间^[7]。在过去十年,肝移植后的生存率有了稳步提高,1年生存率超过90%,8年生存率接近70%^[8]。越来越多新型免疫抑制剂的使用,减少了移植后排斥反应的发生率,但同时也增加了患者感染和癌症发生的可能^[9]。现有的研究表明:肝移植受体术后最常见的死因是感染。在Cervera等^[10]的研究中,终末期肝病患者移植术后,细菌感染的发病率为36%(34例),真菌感染的发病率为12%(11例)和巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV)感染的发病率为11%(10例),感染相关性死亡(11例)是死亡(13例)最常见的原因,占85%。肝移植术后发生感染易引发全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)甚至原发性移植肝无功能(primary graft non-function, PNF)及多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)。目前,肝移植术后的肠源性感染成为阻碍肝移植人群存活率提高的重要因素,因此防治肝移植术后的肠源性感染有一定的科学研究意义和重要的临床应用价值。

1 肝移植后感染的一般情况

在肝移植患者中,有将近2/3的患者发生过感染^[11]。在Fishman等^[12]的研究中,肝移植后发生感染的患者中,细菌感染占50%-60%,病毒感染和真菌感染分别占20%-40%和5%-15%。同时,国内也有相似报道肝移植患者术后并发感染率为65.2%-70.9%^[13,14]。在Pfitzmann等^[15]记录了524位原位肝移植术后(orthotopic liver transplantation, OLT)患者的1 049感染(43.3%是女性,56.7%是男性),在治疗880例感染中,464例是细菌感染,有症状的感染642例,其中,病毒感染(主要是CMV感染)108例,真菌感染70例。

对于肝移植术后感染时间来看,肝移植术后早期(0-9 d)感染率为73.1%。细菌感染在术后第1个月最常见,病毒感染多发生在术后的第2、3个月。感染发生在移植后第1个月内,与移植前因素和移植后并发症相关,绝大多数细菌感染在此期。而在移植后1-6 mo时,这时病毒感染开

始增加,如CMV的感染或复发,在移植后6 wk达高峰期,这一时期免疫排斥反应也最强烈。此时也会发生其他一些病毒的感染,但EB病毒的感染会晚一些。肝移植半年后出现感染性疾病较少见,主要为发生慢性免疫排斥的患者和需要用大剂量免疫抑制药维持患者^[12,16]。

2 肝移植后肠源性感染

肝脏与肠道同属消化器官,存在密切的解剖学、生理学关系,肝脏的功能直接影响肠道功能^[17]。肠道内存在大量的微生物,健康完整的肠黏膜屏障能防止肠内细菌和毒素进入循环。肠屏障功能通常用肠黏膜的完整性和通透性两个因素代表。肠道细菌移位(bacterial translocation, BT)是指肠道细菌突破肠道屏障进入肠系膜淋巴结(mesenteric lymph nodes, MLN)或一些原本无菌的部位。发生BT有宿主方面的因素如肠壁通透性增加、免疫力下降,也有细菌方面的因素如菌群失调或过度生长。健康的机体偶有BT发生,但进入MLN或血流的细菌会马上被免疫系统清除,不产生危害。病理情况下,胃肠道黏膜屏障功能被破坏,肠道黏膜通透性增加,胃肠道菌群微生态异常,从而发生BT或内毒素血症,进一步可引起肠源性感染及失控性炎症反应,导致MODS^[18]。

2.1 肝移植后肠源性感染的危险因素 最近有证据表明微生物移位(microbial translocation, MT),不仅肝硬化患者可能会发生,而且在几个肝脏疾病的早期阶段,包括酒精性肝病和非酒精性脂肪性肝病中也会发生。不过机制不同,如小肠细菌过度生长,肠黏膜通透性增加,免疫功能受损,都可能促进MT的发生^[19]。在肝硬化时,由于胃肠道淤血、胆汁流异常、免疫功能下降,存在肠道屏障功能下降、菌群失调现象,可促发细菌穿过肠壁进入MLN或其他原本无菌的部位而发生BT。肝癌患者在肝硬化的基础上,也存在肠黏膜屏障功能障碍,而这些患者是肝移植的主要对象,因此易造成术后感染^[17,20]。肝移植患者多为肝脏病患终末期,术前多数患者为多次住院者,患者往往因为住院时间长而使体内聚集了大量的病原体或者已经发生了某些病原体的隐匿感染。既往有运用抗生素的经历,长期使用广谱抗生素导致正常肠道菌群紊乱。而且,大多都是长期患者,多伴有低蛋白血症、营养不良,这些因素使得患者成为医院感染的易感人群。术中门静脉、腔静脉阻断,加速了肠黏

膜缺血、受损. 手术后使用神经钙蛋白抑制剂环孢素A及FK506可抑制肠道上皮细胞的ATP的合成, 干扰能量代谢^[21], 在减少移植器官排斥反应发生的同时增加了移植受者发生机会感染的危险. 因此, 肝移植术后肠道容易出现组织结构损伤、通透性增加、吸收功能下降, 微生态紊乱, 屏障功能受损, 肠腔内细菌及内毒素移位, 增加术后感染发生的可能^[22,23].

前3 mo感染性并发症是肝移植后发病率和死亡率的重要原因, 因为此时是免疫抑制的最高时段. 对于带有慢性肝病的儿童肝移植时应考虑到接受所有有效地预防措施以避免术后感染. 感染的危险因素还包括磷酸酶抑制剂(他克莫西和环孢菌素)、类固醇、移植肝功能不良、重症监护延长、呼吸机依赖、肠穿孔、再次移植以及为治疗急性排斥的抗淋巴抗体的应用^[24].

对于感染的危险因素, 研究发现, 感染的主要危险与术前状况、手术因素及免疫反应多种因素有关^[25]. 回顾性研究显示术前携带甲氧西林耐药金黄色葡萄球菌者术后易发展为脓毒症, 应视为肝移植高危人群, 是死亡的危险因素^[26]. Hellinger等^[27]进行了一项有关肝移植手术过程感染和移植物衰竭或患者死亡之间的关系研究, 肝移植外科手术后一年内感染患者的状况, 具体方法是用Cox proportional hazards models: 相关危险因素(risk ratio, RR)来估计95%的可信区间(confidence interval, CIs), 来研究危险因素与患者移植物衰竭或患者死亡之间的关系. 结果显示, 研究的370名患者中, 66(18%)例发生了外科手术感染, 57(15%)例死亡或移植后一年内移植物衰竭. 正常情况下供肝质量和受体体质量的比例应>1%, 比例介于1%-3%的生存率为91.8%, 介于0.8%-1.0%的生存率为79.5%, <0.8%的生存率仅为59.7%. 供肝质量和受体体质量的比例<1%(RR = 2.56; 95%CI: 1.17-5.62; $P = 0.019$), 增加手术时间[RR = 1.19(1-hr increase); 95%CI = 1.03-1.37; $P = 0.018$], 这两点都增加了手术感染的风险. 外科手术的感染增加了患者术后一年的移植物衰竭和患者死亡的危险(RR = 3.06; 95%CI: 1.66-5.64; $P < 0.001$). 肝移植术后细菌感染取决于器官缺血时间及是否透析、机械通气. 真菌感染取决于外科手术时间、移植前血浆白蛋白浓度. 侵入性真菌感染取决于输血数量、移植前血浆白蛋白浓度及是否为再次移植. 经过多元分析表明: 输血、透析、静脉营养

时间、外科手术时间过长和出现排斥反应均是感染的危险因素^[28].

2.2 肝移植后肠源性感染致病菌的种类 有文献记载肝移植的术后细菌感染的主要病原菌为肠球菌、阴沟肠杆菌、大肠杆菌等肠道机会致病菌, 提示BT可能是引起肝移植术后感染的一个重要因素. 术后感染部位、病原菌的分布情况随术后时间的推移而有所差异. 早期感染以革兰氏阴性杆菌为主, 感染易发于呼吸道、腹腔; 随着抗感染治疗的进行, 血液、胆道成为易发部位, 肠球菌、真菌、高产AmpC酶与ESBLs酶的阴沟肠杆菌等成为感染的主要病原菌, 而这些细菌具有更大的危害性, 与肝移植术后患者的死亡密切相关^[29]. Kim等^[30]观察了43名儿童患者的74次感染发作, 有42次(57%)发生在肝移植术后1 mo内, 有73次(99%)发生在肝移植术后6 mo内. 在这74次感染中, 41次(55%)为革兰氏阴性菌, 32次(44%)为革兰氏阳性菌, 还有1次(1%)为厌氧菌感染. 而最常见的革兰氏阴性细菌是肠道细菌如肺炎克雷伯氏菌(12次, 16%)、阴沟肠杆菌(7次, 10%)、大肠杆菌(2次, 3%)、弗氏柠檬酸杆菌(2次, 3%)和产气肠杆菌(1次, 1%). 可见, 肝移植术后感染以肠源性感染为主.

2.3 肝移植后肠源性感染的并发症 细菌除能通过肠道移位直接引起感染外, 细菌内毒素也能通过异常的上皮屏障进入血液循环, 在正常情况下, 细菌内毒素可少量吸收入门静脉, 但很快被肝枯否氏细胞清除. 当肠屏障功能受损、肝枯否氏细胞清除能力下降时, 可发生内毒素移位, 引起内毒素血症. 外科手术、创伤、休克等所产生的血流动力学改变, 可导致肠道的低灌注状态, 损害肠道黏膜屏障功能, 进而导致肠腔内常驻菌发生移位进入血液循环, 再侵入组织, 形成所谓内源性感染^[31], 而感染之后既发导致的脓毒血症是肝移植失败主要原因, 参照脓毒血症诊断标准, 又将感染程度分为SIRS、脓毒血症、严重脓毒血症、脓毒血症休克和MODS 5个阶段^[32]. 在脓毒血症治疗中, 约1/3患者体内找不到原发感染灶, 虽经各种抗生素治疗仍不能控制脓毒症发展而发生MODS, 导致死亡. 这类患者和动物模型体内常存在肠道细菌和毒素明显移位, 诱发和促进严重创伤、休克和感染后“二次打击”的发生和发展, 因此, 肠道可能是脓毒血症的感染源, 失控的SIRS是MODS发生、发展的重要病理基础, 而胃肠道可能是促发SIRS失控的重要环节. 许多肝病例如肝硬化造成肠黏

■创新盘点

本文总结了近十年来肝移植术后感染的相关文献, 对肝移植术后感染尤其是肠源性感染从机制、预防、治疗及预后各个方面进行了较为详细完整的阐述.

■名词解释

肠源性感染: 肠道是人体最大的“储菌所”和“内毒素库”。健康情况下肠黏膜有严密的屏蔽功能。肠源性感染指当肠黏膜屏蔽功能受损或衰竭时, 肠内致病菌和内毒素可经肠道移位而导致的全身性感染。

膜屏障损害, 使肠道内毒素和细菌进入血液或腹腔导致脓毒血症、内毒素血症和自发性腹膜炎, 使病情进一步加重, 造成恶性循环^[20]。

2.4 肝移植后肠源性感染的诊断 细菌的鉴定: 首先, 制备革兰氏染色图片去确定他们是否是球菌或杆菌之后确定是革兰氏阳性菌或革兰氏阴性菌; 其次, 通过Vitek-32细菌分析仪进行鉴定。革兰氏阳性球菌用GPI卡检测; 革兰氏阴性杆菌用GNI卡检测; 真菌用YBC卡检测^[33]。

2.5 肝移植后肠源性感染的防治 肠源性感染作为肝脏移植受术体后死亡的最常见原因之一, 应该成为防治肝移植后肠源性感染的重要指标。

2.5.1 抗生素: 抗生素的常规经验性用药, 目前来说, 仍然是预防术后感染的重要手术之一^[34,35]。对于移植术后细菌感染的防治多选择哌拉西林或环丙沙星加阿莫西林, 如有厌氧菌感染加甲硝唑, 有效率达60%^[36]。术后的第1周来自静脉行的革兰氏阳性菌是导致败血症的重要原因, 术中或者术后应用抗生素预防革兰氏阴性菌导致的败血症并不常见^[24]。即使有抗生素的预防, 术后细菌感染仍然很常见, 而且大量广谱抗生素的使用, 导致了多重耐药菌的出现, 但通常认为: 经验性哌拉西林单一疗法是治疗移植后感染的有效药物^[37]。对于术后严重的肠球菌感染(例如菌血症、心内膜炎)需要联合使用抗生素。菌血症最常见来源为腹腔内部; 其次为血管内导管。万古霉素是最重要的治疗药物, 很少出现耐药。替考拉宁是另外一种糖肽类药物。这两种药物对耐甲氧西林葡萄球菌和其他革兰氏阳性球菌均有效^[38]。

2.5.2 营养支持: 将要接受肝切除和肝移植的肝硬化患者, 常常出现营养不良。围术期给予肠内外营养可以减少肝脏手术的并发症和死亡率^[39], 而肝移植术后选择正确的营养支持方式对促进患者尽早康复有着重要的作用。目前研究较多的营养素谷氨酰胺、精氨酸、 ω -3脂肪酸、核苷和核苷酸、膳食纤维、生长激素等^[40]。

谷氨酰胺是肠黏膜和淋巴细胞的重要营养物质, 人体内的谷氨酰胺池的耗竭会导致小肠上皮细胞萎缩, 并可能损害肠屏障, 降低机体免疫功能, 促进细菌移位及感染的发生^[41]。谷氨酰胺通过抑制TLR2、4 mRNA的表达, 减轻肠组织的损伤^[42]。患者静脉输注谷氨酰胺双肽, 可以较好地维护术后血浆蛋白水平, 通过维护应激状态下机体免疫功能及维护肠黏膜通透性, 从而减少感染发生率^[41]。

由肠内营养供给的膳食纤维, 其来源于植物, 是不被小肠中消化酶水解的多糖和极少量木质素的总和。膳食纤维可使黏液产生, 而黏液是肠道防卫功能的主要成分, 能防止细菌黏附于黏膜上皮细胞而形成菌落。膳食纤维对结肠黏膜的完整性有显著的保护作用, 其发酵产生的短链脂肪酸尤其是丁酸, 可刺激黏膜细胞的生长与胰液的分泌, 增加结肠的血流量, 也可以帮助缓解术中肠道淤血造成的肠道黏膜损伤^[31]。

2.5.3 选择性肠道净化: 肠道微生物群落不仅参与营养的消化, 还可以形成一道对抗病原微生物的屏障, 起到局部免疫的作用。肠道微生物紊乱会导致微生物紊乱, 从而诱发感染^[19,43]。选择性肠道净化(selective intestinal decontamination, SID)是一种预防策略, 即是通过口服不被吸收的肠道抗生素, 选择性地清除肠道中可能致病的需氧的革兰氏阴性菌及酵母菌, 同时保留肠道中厌氧菌的定植抵抗力, 以达到预防感染的目的^[44]。使用选择性肠道净化可以调整肠道微生物群, 预防肠道增生和细菌移位^[19,43]。在德国败血症和血液感染的相关领域的工作者也建议通过选择性肠道净化来预防机械通气患者的二次感染^[45]。

2.5.4 胃酸的保持: 胃酸的降低可使胃及十二指肠内的杀菌作用下降, 肠道内细菌过度增生, 从而诱发细菌移位, 引起肠源性感染的发生。Bavishi等^[46]和Bajaj等^[47]的研究证明, 使用质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPIs)后, 胃酸减少, 胃内pH值升高, 使细菌在上消化道定植, 可以引起细菌生长过度 and 移位, 从而增加肠道细菌感染的发生率。因此, 在使用胃黏膜保护剂时尽量使用不降低胃酸的保护剂, 如前列腺素E等^[48]。

2.5.5 益生菌: 益生菌(probiotics)是一类活菌制剂, 一方面促进肠黏膜修复, 维护屏障的完整性, 另一方面参与膜菌群构成坚固的肠生物屏障, 从而抑制腐败菌生长, 减少肠源性内毒素、氨、胶等代谢产物吸收入血。另外, 益生菌可合成多种营养素, 调节机体营养代谢, 促进胃肠蠕动, 调整胃肠功能, 复活机体免疫机制, 提高机体免疫力等。现有的一些实验和临床研究表明, 益生菌(主要是乳酸杆菌)可能会减少肠道机会性致病菌的数量和恢复肠道已紊乱的屏障功能, 能够减少肠道壁的渗透性, 减少细菌移位, 这对于预防肝移植后感染极其重要。对于肝移植后或选择性外科手术后的患者, 在胃肠道上使用不同菌株的益生菌预防, 将使得术后感染率降低3倍^[49-51]。

2.5.6 肠上皮特异性生长因子: 胰高血糖素样肽-2(glucagon-like peptide-2, GLP-2)是新近发现的肠上皮生长因子, 是胰高血糖素原基因在肠道内分泌L细胞特异表达翻译后处理加工的33氨基酸的多肽, 分子量3900 kDa, 大量的动物实验和临床研究表明GLP-2能促进正常小肠的生长和病理损伤肠黏膜的修复^[52,53], 与以往的多肽类生长因子不同, GLP-2的作用具有肠道特异性, 且促生长作用更强. GLP-2的诸多优点显示了GLP-2良好的临床应用前景, 目前GLP-2治疗溃疡性结肠炎和短肠综合征分别进行了Ⅱ期和Ⅲ期临床实验^[54,55]. 我们研究也证明, GLP-2可减轻小肠瘀血-再灌注损伤^[56](肝移植过程中无肝期存在的肠道损伤过程).

3 结论

由于使用免疫抑制药物和手术创伤等因素, 感染性疾病仍旧是肝移植术后患者的一种严重并发症, 术后感染仍是导致死亡的主要原因, 肝移植术后的感染是肝移植领域的重点和难点问题. 肝移植术后的感染一般包括细菌、病毒、真菌等. 肝移植术后感染的发生率为47%-80%, 病死率达13%-36%, 以肠源性感染最为常见, 发生率为35%-70%. 如何维护肝移植后肠黏膜组织结构, 促进其结构的恢复, 保护其屏障功能, 降低术后内源性感染的发生率, 进而促进移植肝功能恢复和患者康复, 这对肝移植术后处于免疫抑制状态的患者有着重要的意义, 是目前临床亟待解决的现实问题. GLP-2等肠上皮特异生长因子, 因其特异性促肠生长的特性和显著改善肠屏障功能的作用, 为治疗肝移植术后肠源性感染提供了新的可行的方法.

4 参考文献

- Levitsky J, Oniscu GC. Meeting report of the International Liver Transplantation Society's 18th annual international congress: Hilton San Francisco Hotel, San Francisco, CA, May 16-19, 2012. *Liver Transpl* 2013; 19: 27-35 [PMID: 23239473 DOI: 10.1002/lt.23562]
- Forrest EH, Lucey MR. Rescue liver transplantation for severe alcoholic hepatitis: arriving where we started? *Hepatology* 2013; 57: 10-12 [PMID: 22806896 DOI: 10.1002/hep.25952]
- Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, Andreola S, Pulvirenti A, Bozzetti F, Montalto F, Ammatuna M, Morabito A, Gennari L. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *N Engl J Med* 1996; 334: 693-699 [PMID: 8594428]
- Dienstag JL, Cosimi AB. Liver transplantation--a vision realized. *N Engl J Med* 2012; 367: 1483-1485 [PMID: 22992048 DOI: 10.1056/NEJMp1210159]
- Forner A, Llovet JM, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2012; 379: 1245-1255 [PMID: 22353262 DOI: 10.1016/S0140-6736(11)61347-0]
- Alqahtani SA. Update in liver transplantation. *Dis-cov Med* 2012; 14: 133-141 [PMID: 22935210]
- 夏强. 肝移植. 肝脏 2012; 17: 537-541, 586
- Deitch EA. Gut-origin sepsis: evolution of a concept. *Surgeon* 2012; 10: 350-356 [PMID: 22534256 DOI: 10.1016/j.surge.2012.03.003]
- Fishman JA. Infection in solid-organ transplant recipients. *N Engl J Med* 2007; 357: 2601-2614 [PMID: 18094380]
- Cervera C, Balderramo D, Suárez B, Prieto J, Fuster F, Linares L, Fuster J, Moreno A, Lozano F, Navasa M. Donor mannose-binding lectin gene polymorphisms influence the outcome of liver transplantation. *Liver Transpl* 2009; 15: 1217-1224 [PMID: 19790141 DOI: 10.1002/lt.21834]
- Echániz A, Pita S, Otero A, Suárez F, Gómez M, Guerrero A. [Incidence, risk factors and influence on survival of infectious complications in liver transplantation]. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2003; 21: 224-231 [PMID: 12732111]
- Fishman JA, Rubin RH. Infection in organ-transplant recipients. *N Engl J Med* 1998; 338: 1741-1751 [PMID: 9624195]
- 周建党, 朱晒红, 郭建军, 陈颖, 成柯. 肝移植术后感染病原菌耐药性分析. 中华器官移植杂志 2005; 26: 455-457
- 沈英皓, 樊嘉, 周俭, 吴志全, 邱双健, 王婷, 黄晓武, 孙健. 原位肝移植术后感染病原菌分布及耐药分析. 复旦学报(医学版) 2007; 34: 683-687
- Pfizzmann R, Nüssler NC, Hippler-Benscheidt M, Neuhaus R, Neuhaus P. Long-term results after liver transplantation. *Transpl Int* 2008; 21: 234-246 [PMID: 18031464]
- Paling RW, Moloo SK, Scott JR, McOdimba FA, Logan-Henfrey LL, Murray M, Williams DJ. Susceptibility of N'Dama and Boran cattle to tsetse-transmitted primary and rechallenger infections with a homologous serodeme of *Trypanosoma congolense*. *Parasite Immunol* 1991; 13: 413-425 [PMID: 1923566 DOI: 10.1055/s-0029-1192058]
- 徐凯进. 肝硬化患者肠道细菌易位的临床研究. 浙江大学, 2006
- Hashimoto T, Fujita T, Yanagisawa N. [Improvement in hemiballism after transient hypoxia in a case of subthalamic hemorrhage]. *Rinsho Shinkeigaku* 1990; 30: 877-882 [PMID: 2253425 DOI: 10.1016/j.surge.2012.03.003]
- Pinzone MR, Celesia BM, Di Rosa M, Cacopardo B, Nunnari G. Microbial translocation in chronic liver diseases. *Int J Microbiol* 2012; 2012: 694629 [PMID: 22848224 DOI: 10.1155/2012/694629]
- 罗显荣, 杨俊, 骆丽敏, 李灼亮, 练宏生, 李颖迪. 肠道通透性改变对肝移植感染影响研究. 中华实用诊断与治疗杂志 2010; 24: 574-576
- 朱亮, 李幼生, 黎介寿. 小肠移植的研究进展. 世界华人消化杂志 2007; 15: 3107-3114
- Swank GM, Deitch EA. Role of the gut in multiple organ failure: bacterial translocation and permeability changes. *World J Surg* 1996; 20: 411-417 [PMID: 8662128]
- 谭远飞, 周杰, 谭永法, 金浩生, 唐浩. 肝移植术后细菌感染的相关因素分析. 南方医科大学学报 2006; 26: 518-520
- Muiesan P, Vergani D, Mieli-Vergani G. Liver trans-

■同行评价

本文具有较好的创新性, 内容较全面, 对肝移植术后肠源性感染的治疗具有一定的指导作用.

- plantation in children. *J Hepatol* 2007; 46: 340-348 [PMID: 17161491]
- 25 张艳杰, 潘景业, 张启瑜, 廖毅, 王均炉, 虞冠锋. 肝移植术后感染及其相应治疗进展. *国外医药抗生素* 2005; 26: 15-18
 - 26 Desai D, Desai N, Nightingale P, Elliott T, Neuberger J. Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* is associated with an increased risk of infection after liver transplantation. *Liver Transpl* 2003; 9: 754-759 [PMID: 12827565]
 - 27 Hellinger WC, Crook JE, Heckman MG, Diehl NN, Shalev JA, Zubair AC, Willingham DL, Hewitt WR, Grewal HP, Nguyen JH, Hughes CB. Surgical site infection after liver transplantation: risk factors and association with graft loss or death. *Transplantation* 2009; 87: 1387-1393 [PMID: 19424041 DOI: 10.1097/TP.0b013e3181a25133]
 - 28 杨春华, 何晓顺, 陈娟. 肝移植术后真菌感染危险因素分析. *中华医学杂志* 2012; 92: 980-981
 - 29 周建党, 朱晒红, 陈颖, 聂新民, 彭怀燕, 成柯. 肝移植术后细菌性感染的病原学特征. *中南大学学报(医学版)* 2005; 30: 430-432
 - 30 Kim JE, Oh SH, Kim KM, Choi BH, Kim DY, Cho HR, Lee YJ, Rhee KW, Park SJ, Lee YJ, Lee SG. Infections after living donor liver transplantation in children. *J Korean Med Sci* 2010; 25: 527-531 [PMID: 20357992 DOI: 10.3346/jkms.2010.25.4.527]
 - 31 鱼晓波. 肝移植术后不同营养方式对肠道细菌易位发生的比较. *国外医学移植与血液净化分册* 2004; 2: 21-24
 - 32 An G, Namas RA, Vodovotz Y. Sepsis: from pattern to mechanism and back. *Crit Rev Biomed Eng* 2012; 40: 341-351 [PMID: 23140124]
 - 33 Zheyu C, Lunan Y. Early changes of small intestine function in rats after liver transplantation. *Transplant Proc* 2006; 38: 1564-1568 [PMID: 16797358]
 - 34 Sganga G, Spanu T, Bianco G, Fiori B, Nure E, Pepe G, D'inzio T, Lirosi MC, Frongillo F, Agnes S. Bacterial bloodstream infections in liver transplantation: etiologic agents and antimicrobial susceptibility profiles. *Transplant Proc* 2012; 44: 1973-1976 [PMID: 22974885 DOI: 10.1016/j.transproceed.2012.06.055]
 - 35 Ikegami T, Shirabe K, Matono R, Yoshizumi T, Soejima Y, Uchiyama H, Kayashima H, Morita K, Maehara Y. Etiologies, risk factors, and outcomes of bacterial pneumonia after living donor liver transplantation. *Liver Transpl* 2012; 18: 1060-1068 [PMID: 22674905 DOI: 10.1002/lt.23483]
 - 36 Philpott-Howard J, Burroughs A, Fisher N, Hastings M, Kibbler C, Mutimer D, Patch D, Rolando N, Wade J, Wendon J, O'Grady J. Piperacillin-tazobactam versus ciprofloxacin plus amoxicillin in the treatment of infective episodes after liver transplantation. *J Antimicrob Chemother* 2003; 52: 993-1000 [PMID: 14585863]
 - 37 Grąt M, Ligocka J, Lewandowski Z, Barski K, Hołowko W, Skalski M, Kornasiewicz O, Usarek P, Zieniewicz K, Młynarczyk G, Krawczyk M. Incidence, pattern and clinical relevance of microbial contamination of preservation fluid in liver transplantation. *Ann Transplant* 2012; 17: 20-28 [PMID: 23018252]
 - 38 Forrest GN, Arnold RS, Gammie JS, Gilliam BL. Single center experience of a vancomycin resistant enterococcal endocarditis cohort. *J Infect* 2011; 63: 420-428 [PMID: 21920382 DOI: 10.1016/j.jinf.2011.08.014]
 - 39 Masuda T, Shirabe K, Yoshiya S, Matono R, Morita K, Hashimoto N, Ikegami T, Yoshizumi T, Baba H, Maehara Y. Nutrition Support and Infections Associated With Hepatic Resection and Liver Transplantation in Patients With Chronic Liver Disease. *JPN J Parenter Enteral Nutr* 2012 Aug 16. [Epub ahead of print] [PMID: 22898793]
 - 40 Ferreira LG, Anastácio LR, Correia MI. The impact of nutrition on cirrhotic patients awaiting liver transplantation. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2010; 13: 554-561 [PMID: 20531175 DOI: 10.1097/MCO.0b013e32833b64d2]
 - 41 梁存河, 蒋朱明, 唐伟松, 马恩陵, 王树慧, 张云. 谷氨酰胺对术后病人肠源性细菌移位及预后影响的随机对照研究. *中国临床营养杂志* 2001; 9: 147-150
 - 42 荆科, 孙梅. 谷氨酰胺对内毒素血症肠组织TLR2、4表达的影响. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 3122-3126
 - 43 Greenwood RD. Early descriptions in medicine: obstetrical complications. *Med State Med J* 1976; 25: 53-55 [PMID: 772331]
 - 44 San-Juan R, Aguado JM, Lumberras C, Fortun J, Len O, Munoz P, Montejo M, Moreno A, Cordero E, Blanes M, Ramos A, Torre-Cisneros J, López-Medrano F, Carratala J, Moreno E. Selective intestinal decontamination with fluoroquinolones for the prevention of early bacterial infections after liver transplantation. *Liver Transpl* 2011; 17: 896-904 [PMID: 21351242 DOI: 10.1002/lt.22284]
 - 45 Kern WV. [Bacteraemia and sepsis]. *Dtsch Med Wochenschr* 2011; 136: 182-185 [PMID: 21271477 DOI: 10.1055/s-0031-1272505]
 - 46 Bavishi C, Dupont HL. Systematic review: the use of proton pump inhibitors and increased susceptibility to enteric infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34: 1269-1281 [PMID: 21999643 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04874.x]
 - 47 Bajaj JS, Zadornova Y, Heuman DM, Hafeezullah M, Hoffmann RG, Sanyal AJ, Saeian K. Association of proton pump inhibitor therapy with spontaneous bacterial peritonitis in cirrhotic patients with ascites. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 1130-1134 [PMID: 19337238 DOI: 10.1038/ajg.2009.80]
 - 48 Kell MR, Barry BD, Redmond HP. Systemic inflammatory response syndrome: a new direction? *Ir J Med Sci* 2003; 172: 7-8 [PMID: 12760454]
 - 49 Lata J, Jurankova J, Kopacova M, Vitek P. Probiotics in hepatology. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 2890-2896 [PMID: 21734800 DOI: 10.3748/wjg.v17.i24.2890]
 - 50 Jeppsson B, Mangell P, Thorlacius H. Use of probiotics as prophylaxis for postoperative infections. *Nutrients* 2011; 3: 604-612 [PMID: 22254113 DOI: 10.3390/nu3050604]
 - 51 Ren ZG, Liu H, Jiang JW, Jiang L, Chen H, Xie HY, Zhou L, Zheng SS. Protective effect of probiotics on intestinal barrier function in malnourished rats after liver transplantation. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2011; 10: 489-496 [PMID: 21947722]
 - 52 Rowland KJ, Trivedi S, Lee D, Wan K, Kulkarni RN, Holzenberger M, Brubaker PL. Loss of glucagon-like peptide-2-induced proliferation following intestinal epithelial insulin-like growth factor-1-receptor deletion. *Gastroenterology* 2011; 141: 2166-2175. e7 [PMID: 21925122 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.09.014]
 - 53 吴云红, 朱亮, 邹原, 李幼生, 朱维铭, 宫德正. 胰高血糖素样肽-2临床应用研究进展. *中国实用外科杂志* 2010; 30: 616-618
 - 54 Bahrami J, Yusta B, Drucker DJ. ErbB activity links

- the glucagon-like peptide-2 receptor to refeeding-induced adaptation in the murine small bowel. *Gastroenterology* 2010; 138: 2447-2456 [PMID: 20226187 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.03.006]
- 55 Wallis K, Walters JR, Forbes A. Review article: glucagon-like peptide 2--current applications and future directions. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25: 365-372 [PMID: 17217448]
- 56 Abstracts of Asian Pacific Digestive Week 2012. December 5-8, 2012. Bangkok, Thailand. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27 Suppl 5: 1-461 [PMID: 23205898 DOI: 10.1111/jgh.12005]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.775

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界华人消化杂志》总被引频次3871次, 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第5位、第7位、第5位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第65位、第238位、第138位; 其他指标: 即年指标0.081, 他引率0.82, 引用刊数526种, 扩散因子13.59, 权威因子1260.02, 被引半衰期4.3, 来源文献量642, 文献选出率0.93, 地区分布数29, 机构分布数302, 基金论文比0.45, 海外论文比0.01。

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

沉默干扰HMGA2对胃癌细胞Wnt/ β -Catenin信号转导通路的影响

姜丹, 赖铭裕, 陈家庄, 韦丽秀

■背景资料

HMGA2与Wnt/ β -Catenin信号通路都是肿瘤发生的研究热点, 他们的表达产物可以调节其他基因的转录, 参与细胞的增殖与凋亡, 有研究表明两者在胃癌中都有异常的激活, 但是有关HMGA2对胃癌细胞的增殖生长和凋亡的影响以及在胃癌的发生机制中尤其是在信号转导通路及其分子机制的研究报道相对较少。

姜丹, 赖铭裕, 陈家庄, 韦丽秀, 广西医科大学第一附属医院老年消化内科 广西壮族自治区南宁市 530021

姜丹, 在读硕士, 主要从事胃癌发病机制方面的研究。

广西医疗卫生重点科研基金资助项目, No. 重2010021

广西自然科学基金资助项目, No. 2010GXNSFA013166

作者贡献分布: 姜丹与赖铭裕对此文所作贡献均等; 本论文写作、数据分析由姜丹与赖铭裕完成; 实验设计、资金申请及论文审阅指导由赖铭裕完成; 实验操作由姜丹、陈家庄及韦丽秀完成。

通讯作者: 赖铭裕, 教授, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院老年消化内科。

laimingyu2005103@yahoo.com.cn

电话: 0771-2665673

收稿日期: 2013-01-31 修回日期: 2013-03-06

接受日期: 2013-04-07 在线出版日期: 2013-04-28

Effect of HMGA2 gene silencing on Wnt/ β -Catenin signaling pathway in gastric cancer cells

Dan Jiang, Ming-Yu Lai, Jia-Zhuang Chen, Li-Xiu Wei

Dan Jiang, Ming-Yu Lai, Jia-Zhuang Chen, Li-Xiu Wei, Department of Geriatric Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Guangxi Medical Health Key Research Project, No. Zhong 2010021; and the Natural Science Foundation of Guangxi, No. 2010GXNSFA013166

Correspondence to: Ming-Yu Lai, Professor, Department of Geriatric Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. laimingyu2005103@yahoo.com.cn

Received: 2013-01-31 Revised: 2013-03-06

Accepted: 2013-04-07 Published online: 2013-04-28

Abstract

AIM: To induce HMGA2 gene silencing with shRNAs in gastric cancer cell line MKN-45 and to study the interaction between HMGA2 and the Wnt/ β -Catenin signaling pathway.

METHODS: A shRNA eukaryotic expression vector that expresses shRNAs of HMGA2 was constructed and transfected into gastric cancer cell line MKN-45. The mRNA and protein expression of HMGA2 was measured by RT-PCR and Western blot 48 h and 72 h after transfection

to evaluate the effect of RNA interference. The mRNA and protein expression of β -Catenin, c-myc and cyclin D1 was also measured by RT-PCR and Western blot.

RESULTS: The expression of HMGA2 mRNA 48 h after transfection was significantly lower in the shHMG-A2-1 group than in the shHMGA2-2 group, shHMGA2-3 group, scrambled group and blank control group (0.58 ± 0.07 vs 0.92 ± 0.13 , 0.90 ± 0.16 , 1.07 ± 0.14 , 1.19 ± 0.09 , all $P < 0.05$), but showed no significant difference among the latter four groups (all $P > 0.05$). Since HMGA2 expression was most significantly silenced in the shHMGA2-1 group (51.3% at 48 h), the plasmid pLLU2G-shHMGA2-1 was chosen for use in subsequent experiments. The expression of HMGA2 protein 72 h after transfection in the shHMGA2-1 group was significantly lower than in the scrambled group and blank group (0.11 ± 0.03 vs 0.48 ± 0.12 , 0.55 ± 0.08 , both $P < 0.05$). The silencing efficiency of transfection of shHMGA2-1 was 80% at 72 h. After silencing the HMGA2 gene, the expression of β -Catenin, c-myc and cyclin D1 mRNA and protein was significantly inhibited in the shHMGA2-1 group compared to the blank control group and the scrambled group (β -Catenin mRNA: 0.53 ± 0.04 vs 1.07 ± 0.02 , 0.91 ± 0.02 ; β -Catenin protein: 0.44 ± 0.05 vs 0.69 ± 0.04 , 0.67 ± 0.10 ; c-myc mRNA: 0.39 ± 0.04 vs 0.88 ± 0.05 , 0.84 ± 0.03 ; c-myc protein: 0.25 ± 0.07 vs 0.75 ± 0.09 , 0.66 ± 0.10 ; cyclin D1 mRNA: 0.31 ± 0.02 vs 0.52 ± 0.03 , 0.51 ± 0.01 ; cyclin D1 protein: 0.12 ± 0.01 vs 0.73 ± 0.12 , 0.61 ± 0.07 ; all $P < 0.05$).

CONCLUSION: The recombinant plasmid PLLU2G-shHMGA2 could effectively inhibit the expression of HMGA2 gene in gastric cancer cell line MKN-45. Silencing of the HMGA2 gene restrained the expression of β -Catenin and its downstream target genes c-myc and cyclin D1. HMGA2 controls the growth and apoptosis of gastric cancer cells possibly *via* the Wnt/ β -Catenin signal pathway.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

■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

Key Words: High mobility protein A2; Gastric cancer cell; Short hairpin RNA; Wnt/ β -Catenin signal pathway

Jiang D, Lai MY, Chen JZ, Wei LX. Effect of HMGA2 gene silencing on Wnt/ β -Catenin signaling pathway in gastric cancer cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(12): 1062-1069 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1062.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1062>

摘要

目的: 观察小分子RNA沉默HMGA2在胃癌细胞株MKN-45的表达, 研究HMGA2对Wnt/ β -Catenin通路中主要分子 β -Catenin以及下游靶分子c-myc、CyclinD1的表达量及转录活性的影响, 探讨HMGA2对Wnt/ β -Catenin信号转导通路的影响。

方法: 构建针对人HMGA2基因的shRNA真核表达载体, 瞬时转染人胃癌细胞株MKN-45, 用RT-PCR、Western blot分别检测转染后shHMGA2组、scrambled组和空白对照组细胞中HMGA2 mRNA和蛋白的表达情况, 评估抑制效应; 分别检测转染后3组细胞中的 β -Catenin、c-myc、CyclinD1 mRNA和蛋白的表达水平。

结果: 转染48 h后shHMGA2-1组的HMGA2 mRNA相对表达量(0.58 ± 0.07), 与shHMGA2-2组(0.92 ± 0.13)、shHMGA2-3组(0.90 ± 0.16)、scrambled组(1.07 ± 0.14)及空白对照组(1.19 ± 0.09)相比有统计学意义($P < 0.05$), 其他4组相比无统计学意义($P > 0.05$); 转染48 h后shHMGA2-1组的HMGA2沉默效果最好, HMGA2 mRNA表达明显下降, 抑制率51.3%; 故选用质粒shHMGA2-1继续后续实验; Western blot结果显示转染72 h后shHMGA2-1组HMGA2蛋白相对表达量为(0.11 ± 0.03), 与scrambled组(0.48 ± 0.12)及空白对照组(0.55 ± 0.08)相比有统计学意义($P < 0.05$), HMGA2蛋白表达明显下降, 抑制率80%; 沉默干扰HMGA2 48 h和72 h后, β -Catenin mRNA和蛋白表达水平在空白对照组(1.07 ± 0.02 , 0.69 ± 0.04)与scrambled组(0.91 ± 0.02 , 0.67 ± 0.10)中无明显差异($P > 0.05$), 而shHMGA2-1组(0.53 ± 0.04 , 0.44 ± 0.05)较之两组有明显的下降($P < 0.05$); shHMGA2-1组中c-myc mRNA和蛋白相对表达量为(0.39 ± 0.04 , 0.25 ± 0.07)较之空白对照组(0.88 ± 0.05 , 0.75 ± 0.09)、scrambled组(0.84 ± 0.03 , 0.66 ± 0.10)有明显下降($P < 0.05$), 后两组相比较无统计学意义($P > 0.05$); shHMGA2-1组中CyclinD1 mRNA和蛋白相对表达量为

(0.31 ± 0.02 , 0.12 ± 0.01)较之空白对照组(0.52 ± 0.03 , 0.73 ± 0.12)、scrambled组(0.51 ± 0.01 , 0.63 ± 0.07)有明显下降($P < 0.05$), 后两组相比较无统计学意义($P > 0.05$)。

结论: RNAi载体能有效地抑制HMGA2在胃癌细胞株MKN-45中的表达, 沉默干扰HMGA2抑制了Wnt/ β -Catenin通路中的主要分子 β -Catenin以及下游靶分子c-myc、CyclinD1的表达, HMGA2基因可能是通过调控Wnt/ β -Catenin通路对胃癌细胞生长和凋亡发挥作用的。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 高迁移率蛋白A2; 胃癌细胞; 短发夹RNA; Wnt/ β -Catenin信号通路

核心提示: HMGA2在胃癌组织中高表达, 而在正常胃组织中几乎不表达。沉默干扰HMGA2基因后, β -Catenin mRNA和蛋白的表达水平受到抑制, 使得 β -Catenin在胞质中降解, Wnt/ β -Catenin信号转导通路下游的靶分子c-myc、CyclinD1 mRNA和蛋白的表达水平也受到抑制, 从而抑制细胞的生长增殖和促进细胞的凋亡。HMGA家族可能通过Wnt/ β -Catenin信号转导通路最终导致胃癌的发生。

姜丹, 赖铭裕, 陈家庄, 韦丽秀. 沉默干扰HMGA2对胃癌细胞Wnt/ β -Catenin信号转导通路的影响. *世界华人消化杂志* 2013; 21(12): 1062-1069 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1062.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1062>

0 引言

胃癌是我国最常见的恶性肿瘤之一, 其死亡率仅次于肺癌、肝癌, 全球每年新发胃癌病例愈百万, 其中41%发生在中国。全球每年因胃癌死亡80万人, 中国占35%^[1]。胃癌的发生、发展与原癌基因的激活、抑癌基因的失活以及凋亡相关基因的异常表达等均有密切的关系。尽管近年来对胃癌的研究取得了进展, 但大多数患者有临床症状时都已处于晚期并出现远处转移。高迁移率蛋白(high mobility group protein, HMG)是广泛存在真核生物中的一系列染色质相关蛋白, 由于其在聚丙烯酰胺凝胶电泳(polyacrylamide gel electrophoresis, PAGE)中迁移能力较高而得名。HMG包括3个家族: HMGA、HMGB、HMGN。HMGA家族由HMGA1a、HMGA1b、HMGA1c、HMGA2 4种蛋白组成。前3种蛋白由同一基因编码, 转录后被剪接成不同长度的蛋白质。HMGA2则由一个断裂基因编码。高迁

■研究前沿

Wnt/ β -Catenin信号通路中 β -Catenin进入细胞核内与TCF/LEF结合, 激活下游一系列的靶分子发生效应。HMGA2作为构架转录因子, 与含有HMG的DNA结合框的TCFs家族TCF/LEF有部分相似结构域。HMGA2可能通过Wnt/ β -Catenin信号转导通路最终导致胃癌的发生。

■相关报道

Akaboshi等研究发现在胃癌细胞中沉默干扰HMGA1能抑制Wnt/ β -Catenin通路激活Wnt/ β -Catenin信号转导通路,最终导致胃癌的发生。

移率蛋白A家族每种蛋白都含有3个AT-钩结构与1个酸性C末端。HMGA2基因定位于人类第12号染色体的q15区,由4个内显子及5个外显子组成,1-3号外显子负责编码AT-钩结构,4号外显子负责编码AT-钩结构与酸性C末端的间隔区,5号外显子则负责编码酸性C末端。HMGA2蛋白HMGA2基因的表达产物,是一种非组蛋白染色体蛋白,本身缺乏转录活性,但能通过AT-钩与DNA结合而改变染色质的结构,或者直接与相关蛋白结合发生作用,调节其他基因的转录,从而影响胚胎形成、组织发育和肿瘤发生等多个过程,又被称为“构架转录因子”。HMGA2在胚胎期以及不成熟组织中大量表达,而在分化成熟的组织中几乎不表达^[2]。研究表明HMGA2蛋白的表达参与人类多种肿瘤的发生,如肺癌^[3]、卵巢癌^[4]、直肠癌^[5]、胰腺癌^[6]、脂肪瘤^[7]等。这些肿瘤的发生、发展均与HMGA2基因表达异常有关,并发现其表达增强与预后有关,是一个潜在肿瘤标志物。Motoyama等^[8]对110例胃癌患者的HMGA2 mRNA的表达研究发现, HMGA2 mRNA的高表达。但是有关HMGA2对胃癌细胞的增殖生长和凋亡的影响以及在胃癌的发生机制中尤其是在信号转导通路及其分子机制的研究报道较少。Wnt/ β -Catenin信号通路,是经典Wnt信号途径,当Wnt信号存在时,Wnt蛋白与卷曲蛋白胞外区结合,在辅助受体低密度脂蛋白受体相关蛋白5和6协同作用下,胞质中Dsh蛋白被募集至胞膜下,使糖原合酶激酶3 β 磷酸化失活并从轴蛋白上脱落,则 β 连环蛋白不能被降解,大量游离的 β 连环蛋白在胞质中聚集并进入胞核内与转录因子T细胞因子/淋巴细胞增强因子结合,启动一系列下游靶分子如c-myc、CyclinD1的表达。下游靶分子大多数是参与细胞的增殖与凋亡。 β -Catenin作为Wnt信号通路的核心分子,他在细胞质中的累积是信号激活的关键。近年国内外研究,Wnt/ β -Catenin信号通路的异常激活与人类多种恶性肿瘤有关,如:胃癌、直肠癌、肝癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、恶性黑色素瘤等。Cheng等^[9]在胃癌组织(包括弥漫型和肠型胃癌)中检测到 β -Catenin异常的核内积聚,而且与淋巴结远处转移及肿瘤分期呈正相关。Ebert等^[10]在部分胃癌组织中发现 β -Catenin表达增高,并检测到 β -Catenin基因突变。HMGA2与Wnt/ β -Catenin信号通路都是肿瘤发生的研究热点,特别在胃癌中都有异常的激活。 β -Catenin进入细胞核内与TCF/LEF结合,激

活下游一系列的下游靶分子发生效应。HMGA2作为构架转录因子,与含有HMG的DNA结合框的TCFs家族TCF/LEF^[11]有一定的相似结构域。我们大胆猜测HMGA2的异常表达可能会激活Wnt/ β -Catenin信号通路,进而促进肿瘤的发生。本研究为观察shRNA沉默HMGA2基因在胃癌细胞株MKN-45的表达,研究HMGA2对Wnt/ β -Catenin信号转导通路中主要分子 β -Catenin以及下游靶分子c-myc、CyclinD1的表达量及转录活性的影响,为HMGA2基因的在胃癌的作用机制做初步探讨,从而给胃癌的HMGA2靶向基因治疗提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料 人胃癌细胞株MKN-45购自ATCC细胞库;DMEM培养基、PVDF膜购自Solarbio公司;胎牛血清购自杭州四季青公司;LipofectamineTM2000购自美国Invitrogen公司;质粒PLL2G-shHMGA2、PLL2G-scrambled均由赛业(广州)生物科技有限公司设计合成;TRIzol抽提试剂购自上海生工生物工程有限公司;M-MLV逆转录试剂盒、Dream Taq Green PCR Master Mix购自Fermentas公司;DNA Marker-B(100-600 bp)购自美国Bio Basic Inc公司;RIPA裂解液(强)、苯甲基磺酰氟、超敏ECL化学发光试剂盒、SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(5 \times)购自碧云天生物科技有限公司;鼠抗人HMGI-C单克隆抗体、鼠抗人 β -Catenin单克隆抗体、鼠抗人c-myc单克隆抗体、鼠抗人CyclinD1单克隆抗体均购自美国Santa Cruz公司;HRP标记山羊抗鼠二抗、鼠抗人 β -Cactin单克隆抗体购自北京中杉金桥有限公司;预染蛋白Marker购自美国BBI公司;琼脂糖粉购自西班牙BIOWEST;丙烯酰胺、N,N-亚甲双丙烯酰胺、过硫酸铵(AP)、Tris碱、甘氨酸、SDS、TEMED、Tween-20、NaCl、显影粉、定影粉、甲醇、氯仿、异丙醇、无水乙醇、DEPC处理水、核酸染料均购自上海生工生物工程有限公司。

1.2 方法

1.2.1 shRNA表达载体的构建和鉴定: 根据NCBI GenBank上登录的人类HMGA2基因mRNA序列资料(登录号: NM-003483),由赛业(广州)生物科技有限公司设计合成设计、合成并鉴定4对shRNAoligo,构建的重组质粒分别命名为PLL2G-shHMGA2-1、PLL2G-shHMGA2-2、PLL2G-shHMGA2-3、PLL2G-scrambled(阴性

对照).

1.2.2 细胞培养及瞬时转染: 人胃癌细胞MKN-45培养在含10%胎牛血清的DMEM培养基, 置于37℃、50 mL/L CO₂培养箱中培养. 转染前1 d, 用0.25%胰酶+EDTA消化细胞并计数, 以 4×10^5 /孔的密度种在6孔板, 用含血清、无双抗的DMEM培养基放在CO₂培养箱培养过夜. 使其在转染当天细胞密度达80%-90%. 分别用250 μ L的DMEM稀释4 μ g质粒、4 μ L Lipofectamine™2000, 5 min后将两者混合, 室温放置20 min后将混合物加入到6孔板中, 用无血清的DMEM培养基继续培养, 6 h后换液. 实验分组: 空白对照组(只加脂质体)、scrambled组(转染阴性质粒)、shHMGA2-1组、shHMGA2-2组、shHMGA2-1组(转染HMGA2的阳性质粒).

1.2.3 逆转录聚合酶链反应RT-PCR检测各组细胞的HMGA2、 β -Catenin、c-myc、CyclinD1的mRNA表达: TRIzol抽提试剂提取细胞总RNA, 测定其浓度及纯度($A_{260-280}$ 为1.8-2.0) 根据GenBank中人类HMGA2(登录号: NM_003483), β -Catenin(登录号: NM_001904), c-myc(登录号: NM_002467), CyclinD1(登录号: NM_053056) 基因序列, 以GAPDH为内参照, 利用引物设计软件Primer5设计引物序列. 引物由上海生物工程技术有限公司合成: HMGA2上游序列: AAGCAGCAGCAAGAACCAAC, 下游序列: AGTCCTCTTCGGCAGACTCTT, 扩增产物大小为230 bp, 退火温度为58℃; β -Catenin上游序列: CCATCATCGTGAGGGCTTAC, 下游序列: TGCTTTCTTGTTGCCATAAG, 扩增产物大小为269 bp, 退火温度为62℃; c-myc上游序列: GAAGTTACAACACCCGAGCAAG, 下游序列: TTCTCCTCTCGTCGCAGTA, 扩增产物大小为264 bp, 退火温度为60℃; CyclinD1上游序列: ATGCCAACCTCCTCAACGACC, 下游序列: TCAGGGGGATGGTCTCTTCA, 扩增产物大小为303 bp, 退火温度为60℃; GAPDH上游序列: GAAGGTGAAGGTCGGAGTC, 下游序列: TCACACCCATGACGAACAT, 扩增产物大小为401 bp, 退火温度为58℃; 以反应总体积25 μ L进行PCR扩增反应. 反应条件: 95℃变性5 min, 94℃变性40 s, 58℃退火40 s, 72℃延伸40 s, 共30个循环, 72℃终末延伸10 min. 取终末产物进行琼脂糖凝胶电泳, 采用Bio-Rad Gel doc2000凝胶成像分析系统扫描, 保存电泳图并分析实验结果. 对电泳结果图像进行条带灰度测定, 最终

以目的基因条带与内参基因条带的灰度值的比值作为该目的基因的表达值.

1.2.4 Western blot检测转染后各组HMGA2、 β -Catenin、c-myc、CyclinD1蛋白的表达: 用RIPA裂解液裂解细胞, 离心, 得到的上清与上样缓冲液4:1混合, 经变性, 即得蛋白质样品, 将样品加入凝胶孔道中进行电泳, 100 mA稳流状态下转膜, 将蛋白转至PVDF膜, 用5%脱脂牛奶封闭, 再把膜置于一抗(1:500)稀释液中摇床冰上孵育过夜, 次日用TBST洗膜后置于二抗(1:10 000)稀释液中室温孵育1 h, 洗膜, 显影, 定影, 以 β -actin为内参照经凝胶分析软件分析其灰度值, 计算HMGA2、 β -Catenin、c-myc、CyclinD1和 β -actin蛋白在各组表达条带的灰度值, 两者灰度值的比值反映各组蛋白的表达.

统计学处理 应用SPSS13.0软件包进行统计学处理, 所有实验数据均以mean \pm SD表示, 对各指标进行单因素方差分析(one-way ANOVA), 两组均数间的比较用SNK检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 HMGA2 mRNA的表达水平 RT-PCR结果显示: 5组实验组均有HMGA2 mRNA和GAPDH mRNA的表达, shHMGA2-2组、shHMGA2-3组以及scrambled组较之于空白对照组没有明显改变($P > 0.05$), shHMGA2-1组的HMGA2 mRNA的表达显著下调($P < 0.05$), 说明质粒PLL2G-shHMGA2-1转染MKN-45细胞成功, 其沉默干扰效果较质粒PLL2G-shHMGA2-2、质粒PLL2G-shHMGA2-3的明显, 其沉默干扰HMGA2 mRNA沉默表达率为51.26%. 后续实验研究即选择质粒PLL2G-shHMGA2-1作为阳性对照组(表1, 图1).

2.2 HMGA2蛋白的表达水平 Western blot结果显示: 与空白对照组相比, scrambled组蛋白的表达相对于空白对照组无明显差异($P > 0.05$), 而shHMGA2-1组的蛋白表达明显下降($P < 0.05$), 其沉默表达下降80%(图2, 表2).

2.3 RT-PCR检测转染HMGA2基因48 h后对 β -Catenin及下游靶分子c-myc、CyclinD1 mRNA表达水平的影响 沉默干扰HMGA2 48 h后, β -Catenin mRNA表达水平在空白对照组(1.07 ± 0.02)与scrambled组(0.91 ± 0.02)中无明显差异($P > 0.05$), 而shHMGA2-1组(0.53 ± 0.04)较之两组有明显的下降($P < 0.05$); c-myc mRNA相对表达量在shHMGA2-1组中为(0.39 ± 0.04)较之

■创新盘点

本研究通过构建shRNA沉默HMGA2基因在胃癌细胞株MKN-45的表达, 研究HMGA2对Wnt/ β -Catenin信号转导通路中主要分子 β -Catenin以及下游靶分子c-myc、CyclinD1的表达量及转录活性的影响, 为HMGA2与Wnt/ β -Catenin信号通路在胃癌的相互作用机制作初步探讨, 从而给胃癌的HMGA2靶向基因治疗提供依据.

■应用要点

本文通过构建针对人HMGA2基因的shRNA真核表达载体,瞬时转染人胃癌细胞株MKN-45,用RT-PCR、Western blot分别检测转染后HMGA2 mRNA和蛋白的表达情况及细胞中的 β -Catenin、c-myc、CyclinD1 mRNA和蛋白的表达水平,以研究HMGA2对Wnt/ β -Catenin信号转导通路中主要分子 β -Catenin以及下游靶分子c-myc、CyclinD1的表达量及转录活性的影响,从而给胃癌的HMGA2靶向基因治疗提供依据。

表 1 转染48 h后不同实验组的HMGA2 mRNA的表达 (mean \pm SD)

分组	HMGA2的平均灰度值
scrambled组	1.07 \pm 0.14
shHMGA2-1组	0.58 \pm 0.07 ^a
shHMGA2-2组	0.92 \pm 0.13
shHMGA2-3组	0.90 \pm 0.16
空白对照组	1.19 \pm 0.09

^a $P < 0.05$ vs 空白对照组。

表 2 转染48 h后不同实验组的HMGA2 mRNA的表达 (mean \pm SD)

分组	HMGA2的平均灰度值
scrambled组	0.48 \pm 0.12
shHMGA2-1组	0.11 \pm 0.03 ^a
空白对照组	0.55 \pm 0.08

^a $P < 0.05$ vs 空白对照组。

空白对照组(0.88 \pm 0.05)、scrambled组(0.84 \pm 0.03)有明显下降($P < 0.05$),后两组相比较无统计学意义($P > 0.05$); CyclinD1 mRNA相对表达量在shHMGA2-1组中为(0.31 \pm 0.02)较之空白对照组(0.52 \pm 0.03)、scrambled组(0.51 \pm 0.01)有明显下降($P < 0.05$),后两组相比较无统计学意义($P > 0.05$)(图3-5)。

2.4 Western blot检测转染HMGA2基因72 h后对 β -Catenin及下游靶分子c-myc、CyclinD1蛋白表达水平的影响 沉默干扰HMGA2 72 h后, β -Catenin蛋白的表达水平在空白对照组(0.69 \pm 0.04)与scrambled组(0.67 \pm 0.10)中无明显差异($P > 0.05$),而shHMGA2-1组(0.44 \pm 0.05)较之两组有明显的下降($P < 0.05$); c-myc蛋白相对表达量在shHMGA2-1组中为(0.25 \pm 0.07)较之空白对照组(0.75 \pm 0.09)、scrambled组(0.66 \pm 0.10)有明显下降($P < 0.05$),后两组相比较无统计学意义($P > 0.05$); CyclinD1蛋白相对表达量在shHMGA2-1组中为(0.12 \pm 0.01)较之空白对照组(0.73 \pm 0.12)、scrambled组(0.61 \pm 0.07)有明显下降($P < 0.05$),后两组相比较无统计学意义($P > 0.05$)(图6-8)。

3 讨论

胃癌是我国最常见的恶性肿瘤之一,其死亡率仅次于肺癌、肝癌。全球每年新发胃癌病例愈百万,其中41%发生在中国。全球每年因胃癌死

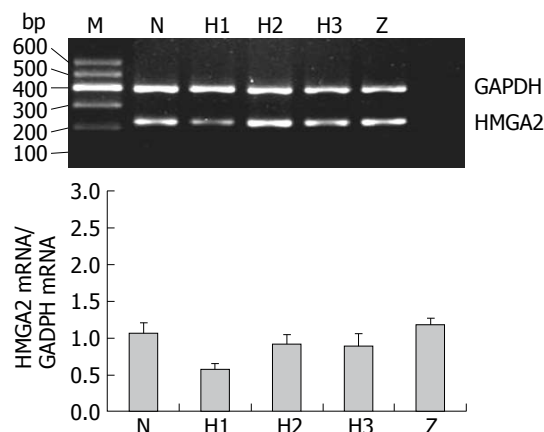


图 1 转染48 h后不同实验组的HMGA2 mRNA的表达. N: scrambled组; H1: shHMGA2-1组; H2: shHMGA2-2组; H3: shHMGA2-3组; Z: 空白对照组; M: Marker。

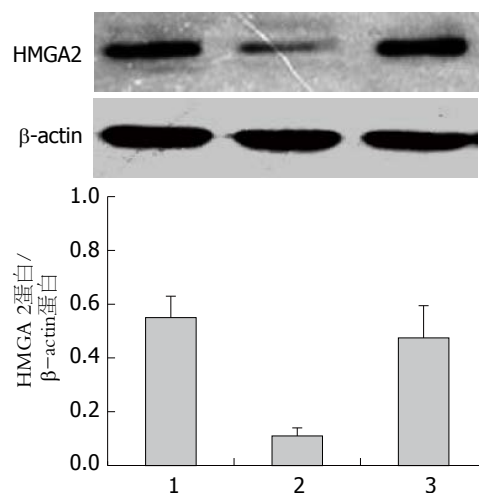


图 2 转染72 h后不同实验组的HMGA2蛋白的表达. 1: 空白对照组; 2: shHMGA2-1组; 3: scrambled组。

亡80万人,中国占35%^[1]。胃癌的治疗要采用个体化、规范化的综合治疗模式,目前治疗手段主要以手术为主,辅助以放化、疗结合免疫治疗、分子生物的靶向治疗和营养支持等。

基因治疗是20世纪80年代发展起来的人类医学分子遗传学中的新领域,发展非常迅速,而安全有效的基因载体是成功进行基因治疗的先决条件,也是目前主要的技术路线。RNAi是近年来发展起来的一项新技术,是由内源性或外源的双链RNA导入细胞而引起同源的mRNA降解,进而抑制其相应的基因表达^[12]。RNAi技术在子宫颈癌、乳腺癌、肝癌等人类肿瘤细胞株体外抑制实验中获得了成功^[13-15]。陈鹏等^[16]应用RNAi技术构建Livin的siRNA载体转染至胃癌细胞,并使用RT-PCR检测胃癌细胞mRNA水平变化,MTT检测细胞增殖,流式细胞仪检测细胞凋亡,结果显示转染siRNA组Livin mRNA表达显著

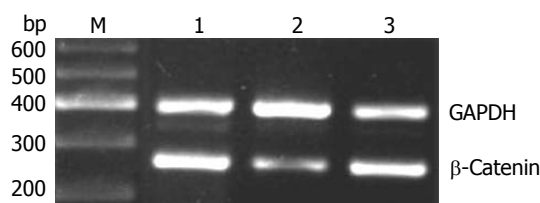


图 3 转染48 h后不同实验组的 β -Catenin mRNA的表达. 1: 空白对照组; 2: shHMGA2-1组; 3: scrambled组; M: Marker.

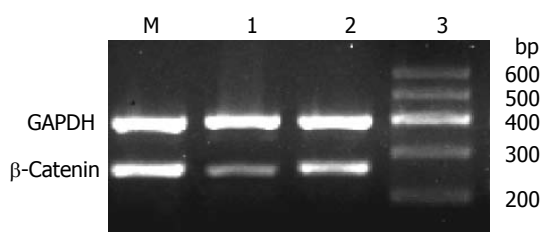


图 4 转染48 h后不同实验组的c-myc mRNA的表达. 1: 空白对照组; 2: shHMGA2-1组; 3: scrambled组; M: Marker.



图 5 转染48 h后不同实验组的CyclinD1 mRNA的表达. 1: 空白对照组; 2: shHMGA2-1组; 3: scrambled组; M: Marker.

低于对照组, 并且胃癌细胞生长明显抑制, 凋亡率显著增加. 它具有特异、高效等突出优点, 现已被广泛用于胃癌基因治疗方面的研究与探索.

本研究通过构建3个针对HMGA2基因的RNAi载体PLL2G-shHMGA2以及1个阴性序列的载体, 经限制性酶切及基因测序证实, 通过细胞内GFP荧光表达, 证实转染效率. 转染胃癌细胞MKN-45成功, 为下一步研究奠定基础.

HMGA2是一种非组蛋白染色体蛋白, 本身缺乏转录活性, 但能通过AT-钩与DNA结合而改变染色质的结构, 或者直接与相关蛋白结合发生作用, 调节其他基因的转录, 从而影响胚胎形成、组织发育和肿瘤发生等多个过程, 又被称为“构架转录因子”^[17-19]. 研究表明HMGA2基因在一些恶性肿瘤中可以作为诊断的分子标志物判断预后的独立因素. Hristov等^[6]认为HMGA2在胰腺导管腺癌中表达量增加, 与淋巴结转移和肿瘤分级呈正相关, 可能是胰腺癌的一个重要的生物标志. Wang等^[20]研究发现HMGA2是大肠癌的重要生物标志物. Meyer等^[21]对34例非小细胞肺癌及相应的正常组织(其中

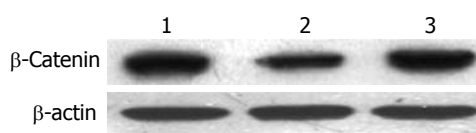


图 6 转染72 h后不同实验组的 β -Catenin蛋白的表达. 1: 空白对照组; 2: shHMGA2-1组; 3: scrambled组.

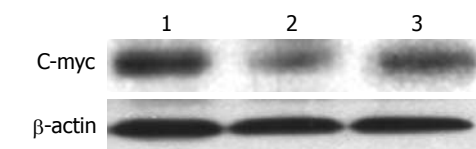


图 7 转染72 h后不同实验组的C-myc蛋白的表达. 1: 空白对照组; 2: shHMGA2-1组; 3: scrambled组.

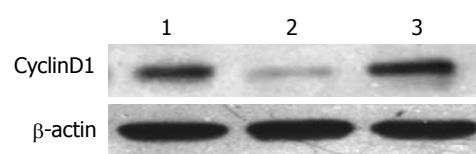


图 8 转染72 h后不同实验组的CyclinD1蛋白的表达. 1: 空白对照组; 2: shHMGA2-1组; 3: scrambled组.

17例腺癌、17例鳞癌)通过定量RT-PCR及免疫组织化学研究发现, HMGA2蛋白明显高于正常组, HMGA2的过表达见于所有的肺癌组织, 因此认为HMGA2是肺癌检测的潜在肿瘤标志物. Malek等^[4]通过基因沉默技术研究HMGA2对卵巢癌细胞株Ovar-3和OAW-42(都有HMGA2的过表达)生存、增殖及细胞周期的影响, 结果显示细胞的生长受到抑制, 凋亡增减, 进入S期的细胞明显减少, 认为HMGA2基因可能为卵巢癌治疗的潜在靶点. Sarhadi等^[22]通过对152例NSCLC患者组织中HMGA1和HMGA2的表达的研究, 评估HMGA作为肺癌标记的可行性. 发现肺癌组织较正常肺组织中HMGA1和HMGA2明显高表达.

研究表明HMGA2在胃癌组织中高表达, 而在正常胃组织中几乎不表达. Motoyama等^[8]对110例胃癌患者的HMGA2 mRNA的表达研究发现, HMGA2 mRNA的高表达与胃癌患者的浆膜浸润淋巴结转移及静脉的浸润成正相关, 但与性别、肿块大小和组织病理的类型无明显相关性. 本研究转染重组质粒后, 用RT-PCR、Western blot检测其各组细胞的沉默效果, 结果显示转染48 h后shHMGA2-1组HMGA2 mRNA的抑制率为51.3%, 而转染72 h后shHMGA2-1组HMGA2蛋白抑制率为80%, 表明沉默效果已经在基因和在蛋白的层面上发挥作用.

■同行评价

本文探讨了沉默干扰HMGA2对Wnt/ β -Catenin信号转导通路的影响, 对HMGA2基因在胃癌发病中的作用及可能的作用机制提供了理论依据.

在胃癌发生发展中, HMGA2的作用的分子机制不是非常清楚, 以往研究认为HMGA2的表达可能与胃癌临床转移和进展能力有关, 而其主要机制可能是HMGA2促进胃癌细胞EMT的发生^[23-25]. Ohshima等^[26]认为HMGA2与let-7家族负向调控, 与胃癌的侵袭性相关. HMGA2通过转化一些分子信号通路, 如: 生长因子 β 信号通路和Ras信号通路来完成的肿瘤的发生. Watanabe等^[27]认为HMGA2表达上调激活Ras信号通路, 从而导致胰腺癌的发生.

Wnt/ β -Catenin通路是经典Wnt信号途径, 越来越多的研究表明, Wnt信号通路不仅在调控胚胎发育中起关键作用, 而且他与人类多种恶性肿瘤的发生和发展也是密切相关. 目前, Wnt信号通路与人类肿瘤的关系备受关注, 是国际前沿的一个研究热点. 在早期的Wnt信号通路的缺陷可导致多种生物发育缺陷, 而癌基因、抑癌基因或Wnt信号通路成分(如APC、 β -Catenin、Axin等)的突变致其不恰当的激活与肿瘤的发生、发展有关, 尤其与消化系肿瘤关系密切^[28]. Horig等^[29]的实验显示: 特异地阻断裸鼠体内人APC突变的CRC细胞系 β -Catenin表达后, 明显抑制裸鼠体内肿瘤生长, 部分肿瘤可消失.

研究表明当Wnt信号存在时, β -Catenin不能被降解, 大量游离的 β -Catenin在胞质中聚集并进入胞核内与转录因子T细胞因子/淋巴细胞增强因子结合, 启动一系列下游靶分子如c-myc、CyclinD1的表达. 下游靶分子大多数是参与细胞的增殖与凋亡. 本研究表明沉默干扰HMGA2基因后, β -Catenin mRNA和蛋白的表达水平受到抑制, Wnt/ β -Catenin信号转导通路下游的靶分子c-myc、CyclinD1 mRNA和蛋白的表达水平也受到抑制. 抑制HMGA2的表达, 使得 β -Catenin在胞质中降解, 抑制Wnt/ β -Catenin信号转导通路下游的靶分子, 从而抑制细胞的生长增殖和促进细胞的凋亡. 而与Akaboshi等^[30]研究发现在胃癌细胞中沉默干扰HMGA1能抑制Wnt/ β -Catenin通路的激活Wnt/ β -Catenin信号转导通路, 最终导致胃癌的发生, 抑制细胞的生长增值和促进细胞的凋亡. 表明HMGA家族可能通过Wnt/ β -Catenin信号转导通路, 最终导致胃癌的发生结果相一致.

但本实验只是针对主要基因 β -Catenin及下游的靶分子c-myc、CyclinD1进行检测, 而Wnt/ β -Catenin通路中还有许多的基因和下游靶基因

没有做相关的检测, 还有就是HMGA2是通过什么机制导致 β -Catenin异常累积等方面没有做相关的研究. 总之探索并阐明这一机制将为临床预测肿瘤患者的诊断、预后、转移等提供参考指标, 同时也能对肿瘤分子靶向治疗和开发新药物提供一个突破点.

4 参考文献

- 1 季加孚, 季鑫. 胃癌治疗的新进展. 循证医学 2011; 11: 82-86
- 2 Cleynen I, Van de Ven WJ. The HMGA proteins: a myriad of functions (Review). *Int J Oncol* 2008; 32: 289-305 [PMID: 18202751]
- 3 Di Cello F, Hillion J, Hristov A, Wood LJ, Mukherjee M, Schuldenfrei A, Kowalski J, Bhattacharya R, Ashfaq R, Resar LM. HMGA2 participates in transformation in human lung cancer. *Mol Cancer Res* 2008; 6: 743-750 [PMID: 18505920 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-07-0095]
- 4 Malek A, Bakhidze E, Noske A, Sers C, Aigner A, Schäfer R, Tchernitsa O. HMGA2 gene is a promising target for ovarian cancer silencing therapy. *Int J Cancer* 2008; 123: 348-356 [PMID: 18452175 DOI: 10.1002/ijc.23491]
- 5 Huang ML, Chen CC, Chang LC. Gene expressions of HMGI-C and HMGI(Y) are associated with stage and metastasis in colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis* 2009; 24: 1281-1286 [PMID: 19609535 DOI: 10.1007/s00384-009-0770-7]
- 6 Hristov AC, Cope L, Reyes MD, Singh M, Iacobuzio-Donahue C, Maitra A, Resar LM. HMGA2 protein expression correlates with lymph node metastasis and increased tumor grade in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Mod Pathol* 2009; 22: 43-49 [PMID: 18843278 DOI: 10.1038/modpathol.2008.140]
- 7 Bartuma H, Panagopoulos I, Collin A, Trombetta D, Domanski HA, Mandahl N, Mertens F. Expression levels of HMGA2 in adipocytic tumors correlate with morphologic and cytogenetic subgroups. *Mol Cancer* 2009; 8: 36 [PMID: 19508721 DOI: 10.1186/1476-4598-8-36]
- 8 Motoyama K, Inoue H, Nakamura Y, Uetake H, Sugihara K, Mori M. Clinical significance of high mobility group A2 in human gastric cancer and its relationship to let-7 microRNA family. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 2334-2340 [PMID: 18413822 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-1013]
- 9 Cheng XX, Wang ZC, Chen XY, Sun Y, Kong QY, Liu J, Li H. Correlation of Wnt-2 expression and beta-catenin intracellular accumulation in Chinese gastric cancers: relevance with tumour dissemination. *Cancer Lett* 2005; 223: 339-347 [PMID: 15896469 DOI: 10.1016/j.canlet.2004.11.013]
- 10 Ebert MP, Fei G, Kahmann S, Müller O, Yu J, Sung JJ, Malfertheiner P. Increased beta-catenin mRNA levels and mutational alterations of the APC and beta-catenin gene are present in intestinal-type gastric cancer. *Carcinogenesis* 2002; 23: 87-91 [PMID: 11756228]
- 11 Watanabe K, Dai X. A WNTer revisit: new faces of β -catenin and TCFs in pluripotency. *Sci Signal* 2011; 4: pe41 [PMID: 21971038 DOI: 10.1126/scisignal.2002436]
- 12 彭小壮, 史良会. RNAi在胃癌基因治疗中的研究. 现

- 代肿瘤医学 2011; 19: 585-587
- 13 Gao Y, Shan ZY, Wang H, Zhang HM, Teng WP. Inhibitory effect of shRNA targeting GPR48 on invasion and metastasis of human cervical carcinoma cell line HeLa. *Ai Zheng* 2009; 28: 104-107 [PMID: 19550120]
 - 14 Bluff JE, Amarzguoui M, Slattery J, Reed MW, Brown NJ, Staton CA. Anti-tissue factor short hairpin RNA inhibits breast cancer growth in vivo. *Breast Cancer Res Treat* 2011; 128: 691-701 [PMID: 20830515 DOI: 10.1007/s10549-010-1149-8]
 - 15 Zhang D, Liu J, Wang Y, Chen J, Chen T. shRNA-mediated silencing of Gli2 gene inhibits proliferation and sensitizes human hepatocellular carcinoma cells towards TRAIL-induced apoptosis. *J Cell Biochem* 2011; 112: 3140-3150 [PMID: 21695716 DOI: 10.1002/jcb.23240]
 - 16 陈鹏, 孔令斌, 王春松, 杨景玉. siRNA沉默Livin基因对胃癌细胞生长、凋亡的影响. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1346-1349
 - 17 Young AR, Narita M. Oncogenic HMGA2: short or small? *Genes Dev* 2007; 21: 1005-1009 [PMID: 17473167 DOI: 10.1101/gad.1554707]
 - 18 Meza-Zepeda LA, Berner JM, Henriksen J, South AP, Pedetour F, Dahlberg AB, Godager LH, Nizetic D, Forus A, Myklebost O. Ectopic sequences from truncated HMGC in liposarcomas are derived from various amplified chromosomal regions. *Genes Chromosomes Cancer* 2001; 31: 264-273 [PMID: 11391797 DOI: 10.1002/gcc.1143]
 - 19 Odero MD, Grand FH, Iqbal S, Ross F, Roman JP, Vizmanos JL, Andrieux J, Lai JL, Calasanz MJ, Cross NC. Disruption and aberrant expression of HMGA2 as a consequence of diverse chromosomal translocations in myeloid malignancies. *Leukemia* 2005; 19: 245-252 [PMID: 15618963 DOI: 10.1038/sj.leu.2403605]
 - 20 Wang X, Liu X, Li AY, Chen L, Lai L, Lin HH, Hu S, Yao L, Peng J, Loera S, Xue L, Zhou B, Zhou L, Zheng S, Chu P, Zhang S, Ann DK, Yen Y. Overexpression of HMGA2 promotes metastasis and impacts survival of colorectal cancers. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 2570-2580 [PMID: 21252160 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-10-2542.]
 - 21 Meyer B, Loeschke S, Schultze A, Weigel T, Sandkamp M, Goldmann T, Vollmer E, Bullerdiek J. HMGA2 overexpression in non-small cell lung cancer. *Mol Carcinog* 2007; 46: 503-511 [PMID: 17477356 DOI: 10.1002/mc.20235.]
 - 22 Sarhadi VK, Wikman H, Salmenkivi K, Kuosma E, Sioris T, Salo J, Karjalainen A, Knuutila S, Anttila S. Increased expression of high mobility group A proteins in lung cancer. *J Pathol* 2006; 209: 206-212 [PMID: 16521118 DOI: 10.1002/path.1960]
 - 23 Thuaud S, Valcourt U, Petersen M, Manfioletti G, Heldin CH, Moustakas A. Transforming growth factor-beta employs HMGA2 to elicit epithelial-mesenchymal transition. *J Cell Biol* 2006; 174: 175-183 [PMID: 16831886 DOI: 10.1083/jcb.200512110]
 - 24 查郎, 王子卫, 张能, 黄镇. HMGA2与胃癌上皮细胞间质转化的相关性及其临床意义. *生命科学研究* 2011; 15: 61-65
 - 25 Zha L, Wang Z, Tang W, Zhang N, Liao G, Huang Z. Genome-wide analysis of HMGA2 transcription factor binding sites by ChIP on chip in gastric carcinoma cells. *Mol Cell Biochem* 2012; 364: 243-251 [PMID: 22246783 DOI: 10.1007/s11010-012-1224-z]
 - 26 Ohshima K, Inoue K, Fujiwara A, Hatakeyama K, Kanto K, Watanabe Y, Muramatsu K, Fukuda Y, Ogura S, Yamaguchi K, Mochizuki T. Let-7 microRNA family is selectively secreted into the extracellular environment via exosomes in a metastatic gastric cancer cell line. *PLoS One* 2010; 5: e13247 [PMID: 20949044 DOI: 10.1371/journal.pone.0013247]
 - 27 Watanabe S, Ueda Y, Akaboshi S, Hino Y, Sekita Y, Nakao M. HMGA2 maintains oncogenic RAS-induced epithelial-mesenchymal transition in human pancreatic cancer cells. *Am J Pathol* 2009; 174: 854-868 [PMID: 19179606 DOI: hmal]
 - 28 McMillan M, Kahn M. Investigating Wnt signaling: a chemogenomic safari. *Drug Discov Today* 2005; 10: 1467-1474 [PMID: 16243267 DOI: 10.1016/S1359-6446(05)03613-5]
 - 29 Hörig H, Wainstein A, Long L, Kahn D, Soni S, Marcus A, Edelmann W, Kucherlapati R, Kaufman HL. A new mouse model for evaluating the immunotherapy of human colorectal cancer. *Cancer Res* 2001; 61: 8520-8526 [PMID: 11731437]
 - 30 Akaboshi S, Watanabe S, Hino Y, Sekita Y, Xi Y, Araki K, Yamamura K, Oshima M, Ito T, Baba H, Nakao M. HMGA1 is induced by Wnt/ β -catenin pathway and maintains cell proliferation in gastric cancer. *Am J Pathol* 2009; 175: 1675-1685 [PMID: 19729480 DOI: 10.2353/ajpath.2009.090069]

编辑 田滢 电编 闫晋利



Rac1对胰腺癌增殖的影响及其机制

田锐, 郭兴军, 王敏, 石程剑, 徐盟, 彭丰, 李旭, 江建新, 秦仁义

■背景资料

RacGTP酶激活蛋白1(Rac GT Pase activating protein1, Rac1)的被证实多种肿瘤细胞系中表达且在肿瘤的发生发展中起到重要作用, 并已经成为药物开发的热点.

田锐, 郭兴军, 王敏, 石程剑, 徐盟, 彭丰, 李旭, 秦仁义, 华中科技大学同济医学院附属同济医院胆胰外科中心 湖北省武汉市 430030

江建新, 贵阳医学院附属医院肝胆外科 贵州省贵阳市 550001

田锐, 主要从事胰腺胆道肿瘤方面的研究.

国家自然科学基金资助项目, No. 81001068; No. 81071775

作者贡献分布: 实验设计由田锐与秦仁义完成; 数据获取由郭兴军、王敏、石程剑及徐盟完成; 数据统计由彭丰、李旭及江建新完成; 论文撰写由田锐与秦仁义完成; 实验监督由秦仁义完成.

通讯作者: 秦仁义, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院胆胰外科中心.

ryqin@tjh.tjmu.edu.cn

收稿日期: 2013-01-25 修回日期: 2013-03-20

接受日期: 2013-04-07 在线出版日期: 2013-04-28

Role of rac1 in the proliferation of pancreatic carcinoma cells and possible mechanisms involved

Rui Tian, Xing-Jun Guo, Min Wang, Cheng-Jian Shi, Meng Xu, Feng Peng, Xu Li, Jian-Xin Jiang, Ren-Yi Qin

Rui Tian, Xing-Jun Guo, Min Wang, Cheng-Jian Shi, Meng Xu, Feng Peng, Xu Li, Ren-Yi Qin, Department of Biliary-Pancreatic Surgery, Tongji Hospital, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Jian-Xin Jiang, Department of Biliary-Hepatic Surgery, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550001, Guizhou Province, China

Correspondence to: Ren-Yi Qin, Department of Biliary-Pancreatic Surgery, Tongji Hospital, Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Avenue, Wuhan 430030, Hubei Province, China. ryqin@tjh.tjmu.edu.cn

Received: 2013-01-25 Revised: 2013-03-20

Accepted: 2013-04-07 Published online: 2013-04-28

Abstract

AIM: To investigate the role of rac1 in the proliferation of pancreatic carcinoma cells and to explore the possible mechanisms involved.

METHODS: The influence of rac1 on the proliferation of pancreatic carcinoma cells was detected by cell counting kit-8 (CCK-8) assay and EDU assay. Real-time PCR was employed to measure the expression of target genes of wnt-β-Catenin signaling pathway. Western blot and immunofluorescence were employed to measure the expression of β-Catenin in the cytoplasm and nucleus.

RESULTS: Disruption of rac1 activity by transfection with si-Rac1 or treatment with NSC23766 inhibited cell proliferation. Suppression of rac1 markedly down-regulated the mRNA expression of c-myc and cyclin D1 and slightly decreased the mRNA expression of c-Jun. Rac1 knockdown did not affect β-Catenin stabilization in the cytoplasm but markedly reduced β-Catenin accumulation in the nucleus. Similar result was also obtained in immunofluorescence experiments.

CONCLUSION: Rac1 amplifies the wnt signaling pathway activity possibly by promoting β-Catenin accumulation in the nucleus and augments wnt target gene transcription in pancreatic carcinoma cells.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Rac1; Pancreatic carcinoma; Proliferation

Tian R, Guo XJ, Wang M, Shi CJ, Xu M, Peng F, Li X, Jiang JX, Qin RY. Role of rac1 in the proliferation of pancreatic carcinoma cells and possible mechanisms involved. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(12): 1070-1074 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1070.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1070>

摘要

目的: 探讨RacGTP酶激活蛋白1(Rac GT Pase activating protein1, Rac1)对胰腺癌细胞增殖的影响及其机制.

方法: 分别采用EDU和CCK-8(cell counting kit-8)方法检测Rac1对胰腺癌细胞增殖的影响; 采用Western blot、免疫荧光等试验探讨Rac1影响胰腺癌增殖的具体机制.

结果: Rac1可以促进胰腺癌细胞的增殖, 沉默Rac1或者Rac1特异性阻滞剂NSC23766可以抑制胰腺癌的增殖, 且进一步的机制研究发现Rac1通过促进β-Catenin进入细胞核, 上调wnt-β-Catenin信号通路靶基因c-myc、c-jun和CyclinD1的表达, 进而促进胰腺癌细胞的增殖.

结论: Rac1通过wnt-β-Catenin信号通路促进胰

■同行评议者

巩鹏, 教授, 大连医科大学附属第一医院普外二科; 赵刚, 副教授, 协和医院胰腺病研究所

腺癌细胞的增殖.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: Rac1; 胰腺癌; 增殖

核心提示: RacGTP酶激活蛋白1(Rac GTPase activating protein1)通过促进 β -Catenin进入细胞核, 上调wnt- β -Catenin信号通路靶基因c-myc、c-jun和CyclinD1的表达, 进而促进胰腺癌细胞的增殖.

田锐, 郭兴军, 王敏, 石程剑, 徐盟, 彭丰, 李旭, 江建新, 秦仁义. Rac1对胰腺癌增殖的影响及其机制. 世界华人消化杂志 2013; 21(12): 1070-1074 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1070.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i12.1070>

0 引言

胰腺癌是消化系统常见的恶性肿瘤之一. 胰腺癌也是根治性切除机会最少、预后最差的恶性肿瘤之一: 85%的患者在确诊时已属中晚期, 多伴有其他脏器肿瘤转移, 其中位生存期仅3-4 mo^[1,2], 而且即使是接受胰腺癌根治性手术的患者, 其总体术后的5年生存率仅为5%左右. RacGTP酶激活蛋白1(Rac GTPase activating protein1, Rac1)的被证实在多种肿瘤细胞系中表达且在肿瘤的发生发展中起到重要作用^[3-6], 并已经成为药物开发的热点, 但Rac1与胰腺癌的关系尚不明确. 本研究将着重探讨Rac1在胰腺癌增殖中的作用.

1 材料和方法

1.1 材料 RPMI 1640培养基购自HyCone公司; 新生牛血清购自HyClone公司; TRIzol试剂购自Invitrogen公司; Reverse Transcription System试剂盒、SYBR Green Realtime PCR Master Mix购自TOYOBO公司; CyclinD1、c-jun和c-myc引物invitrogen公司合成; 浓缩型兔抗人Rac1和 β -Catenin多克隆抗体购自CST公司; Western blot相关试剂购自武汉博士德公司; ECL显色试剂盒购自碧云天公司; 全细胞蛋白提取试剂盒、BCA法测蛋白浓度试剂盒购自碧云天公司; EDU试剂盒购自锐博公司; CCK-8试剂盒购自碧云天公司; Rac1特异性siRNA由锐博公司合成; 转染试剂Lipofectamine 2000购自Invitrogen公司.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 人胰腺癌细胞系BxPC-3为本实验室长期冷冻保存; 采用含10%新生牛血清的

RPMI 1640培养基, 至37 °C、50 mL/L CO₂培养箱内培养.

1.2.2 针对Rac1特异性siRNA转染: 接种适量细胞至六孔板, 确保第2天细胞约30%铺满, 采用Lipofectamine 2000转染, 24 h后更换新鲜培养基, 48 h检测细胞增殖情况, 72 h检测细胞蛋白水平的变化. siRNA靶向Rac1的序列是5'-TGAAGAAGAG-GAAGAGAA-3', siRNA上链序列是5'-UGAAGAAGAGGAAGAGAAAdTdT-3', 下链序列是3'-dTdTACUUCUUCUCCUUCUCUUU-5'.
1.2.3 细胞增殖检测: 细胞增殖采用EDU和CCK-8两种实验方法检测, 具体操作步骤按照试剂盒说明书.

1.2.4 Real-time PCR检测胰腺癌细胞系中Tiam1 mRNA的表达: 参照说明书, 用TRIzol试剂常规提取细胞总RNA. 按照逆转录试剂盒操作程序进行逆转录反应. 反应总体积为20 μ L, 其中样品总RNA 2 μ g、primer mix 1 μ L、5 \times buffer 4 μ L、enzyme 1 μ L, 加DEPC水至20 μ L, 37 °C反应15 min, 98 °C灭活5 min. 管家基因GAPDH为内对照. 通过相对荧光定量PCR方法, 对Tiam1和GAPDH进行检测, 计算出不同样本的目的基因相对表达量. 运用Primer 5.0设计引物, CyclinD1的上游引物为5'-CCGTCCATGCGGAAGATC-3', 下游引物为5'-ATGGCCAGCGGGAAGAC-3'; c-jun上游引物5'-CCAGCCAGGTCGGCAG-TAT-3', 下游引物5'-GGCAGTTAGAAGGT-GAA-3'; c-myc上游引物5'-ATCACAGCCCT-CACTCAC-3', 下游引物5'-ACAGATTCCA-CAAGGTGC-3'. 应用BIO-RAD定量PCR仪进行Real-time PCR实验, 反应条件为95 °C 5 s, 60 °C 15 s, 72 °C 15 s, 40个循环. 以Folds = 2 ^{$\Delta\Delta C_t$} 表示实验组与对照组目的基因表达的倍数比关系, 重复3次实验, 计算平均值.

1.2.5 Western blot检测胰腺癌细胞系中Rac1和 β -Catenin蛋白水平的表达: 细胞膜蛋白、细胞浆蛋白、细胞核蛋白提取采用上海生工全蛋白提取试剂盒(BSP003), 按照试剂盒说明书操作, BCA法测蛋白浓度. 样本加入10%SDS-PAGE凝胶进行电泳, 转膜至硝酸纤维素膜. Rac1一抗浓度为1:1 000, β -Catenin一抗浓度为1:1 000, 4 °C孵育摇床过夜, 二抗(1:2 000)37 °C孵育1 h. ECL化学发光试剂盒显色、曝光、显影、定影.

1.2.6 免疫荧光化学方法检测胰腺癌细胞中的 β -Catenin: 细胞爬片固定, 穿孔封闭, 孵育一抗过夜, β -Catenin抗体工作浓度为1:100, 二抗的

■研发前沿

Rac1已经证实在多种肿瘤的增殖、侵袭转移中发挥着重要的作用, 但也存在着争议. 且Rac1相关的阻滞剂由于药物安全性的考虑, 并不能直接应用于临床, 需要进一步开发相关药物.

■相关报道

Bunogiomo发现Rac1可以协同 β -catenin进入细胞核, 促进wnt- β -catenin信号通路靶基因转录, 进而促进细胞的增殖.

■ 创新盘点

本文首次证明了Rac1有促进胰腺癌细胞增殖的作用,并初步证明Rac1通过经典的wnt信号通路促进胰腺癌的增殖。

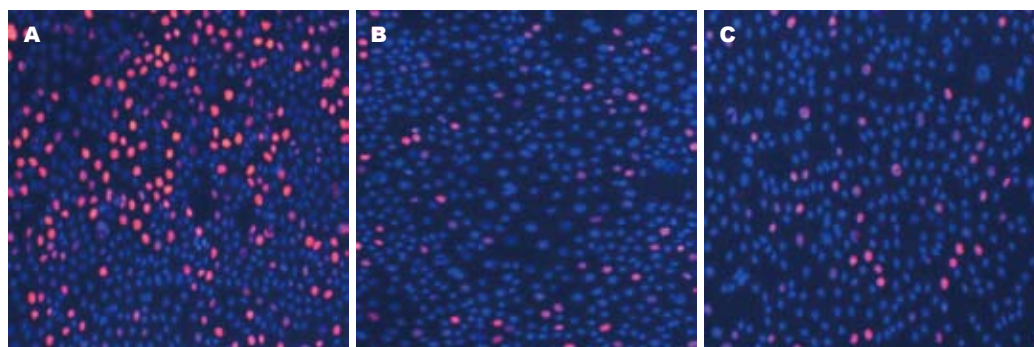


图1 siRNA沉默Rac1或Rac1特异性阻滞剂对胰腺癌增殖的影响。A: 对照组; B: si-Rac1; C: NSC323766。

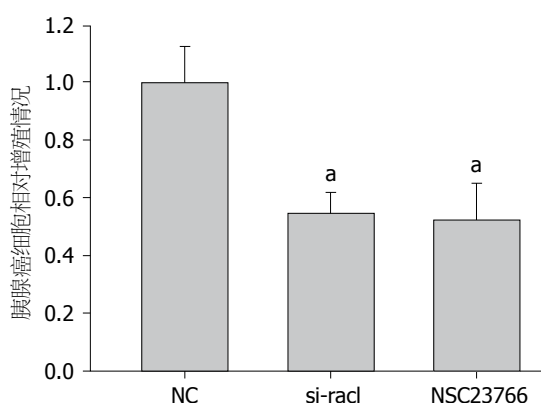


图2 siRNA沉默Rac1或Rac1特异性阻滞剂对胰腺癌增殖的影响。^a $P < 0.05$ vs NC. NC: 正常对照组。

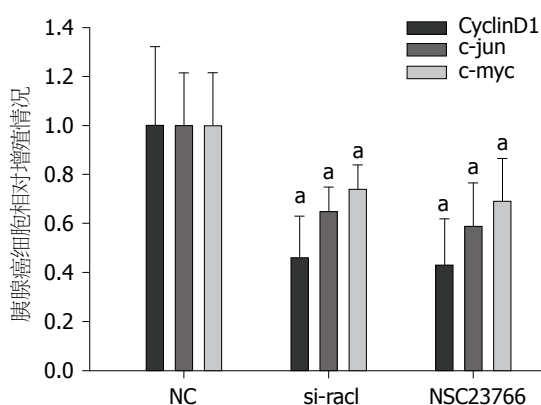


图3 siRNA沉默Rac1或Rac1特异性阻滞剂对wnt-β-catenin信号通路靶基因表达的影响。^a $P < 0.05$ vs NC. NC: 正常对照组。

工作浓度为1:100, 荧光显微镜照相分析。

统计学处理 采用SPSS21.0软件包进行处理, PCR实验结果和CCK-8实验结果采用 t 检验, $P < 0.05$ 具有统计学意义。

2 结果

EDU实验示在siRNA沉默Rac1或者Rac1特异性阻滞剂作用后, 胰腺癌细胞系BxPC-3增殖变慢。CCK-8实验示在siRNA沉默Rac1或者Rac1特异

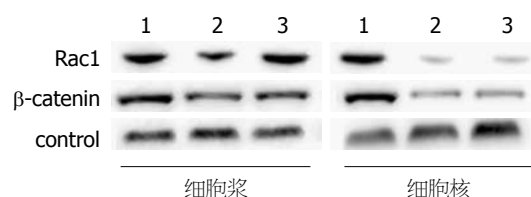


图4 siRNA沉默Rac1或Rac1特异性阻滞剂作用对细胞浆和细胞核内β-catenin表达量的影响。1: NC; 2: si-rac1; 3: NSC23766; 4: NC: 正常对照组。

性阻滞剂作用后, 胰腺癌细胞系BxPC-3增殖变慢($P < 0.05$)。由此可见, Rac1在胰腺癌细胞中活性水平与胰腺癌的增殖能力呈正相关(图1, 2)。

有文献报道Rac1在多种肿瘤中通过wnt-β-Catenin信号通路影响细胞的增殖^[7,8], 于是我们首先检测在siRNA沉默Rac1或者运用Rac1特异性阻滞剂后, wnt-β-Catenin信号通路的靶基因CyclinD1、c-myc和c-jun。结果示在沉默Rac1或者Rac1特异性阻滞剂NSC23766作用后, wnt-β-Catenin信号通路的靶基因CyclinD1($P < 0.01$)、c-myc($P < 0.05$)和c-jun($P < 0.05$)表达明显下降, 尤其以CyclinD1最为明显, 所以我们推测在胰腺癌中Rac1通过wnt-β-Catenin信号通路而影响胰腺癌细胞的增殖(图3)。

β-Catenin进入细胞核是wnt-β-Catenin信号通路关键调节步骤, 且有文献报道Rac1可以协助β-Catenin进入细胞核^[9,10]。所以我们运用Western blotting检测在siRNA沉默Rac1或者Rac1特异性阻滞剂作用后细胞浆和细胞核内β-Catenin的表达量, 结果示在siRNA沉默Rac1或者Rac1特异性阻滞剂作用后, 细胞浆内β-Catenin表达量没有明显的变化, 但细胞核内β-Catenin的表达量明显下降。接着我们用免疫荧光实验进一步检测在siRNA沉默Rac1或者Rac1特异性阻滞剂作用后细胞膜、细胞浆和细胞核内β-Catenin的表达量, 结果示细胞浆内和细胞膜β-Catenin表达量没有明显的变化, 但细胞核内β-Catenin的表

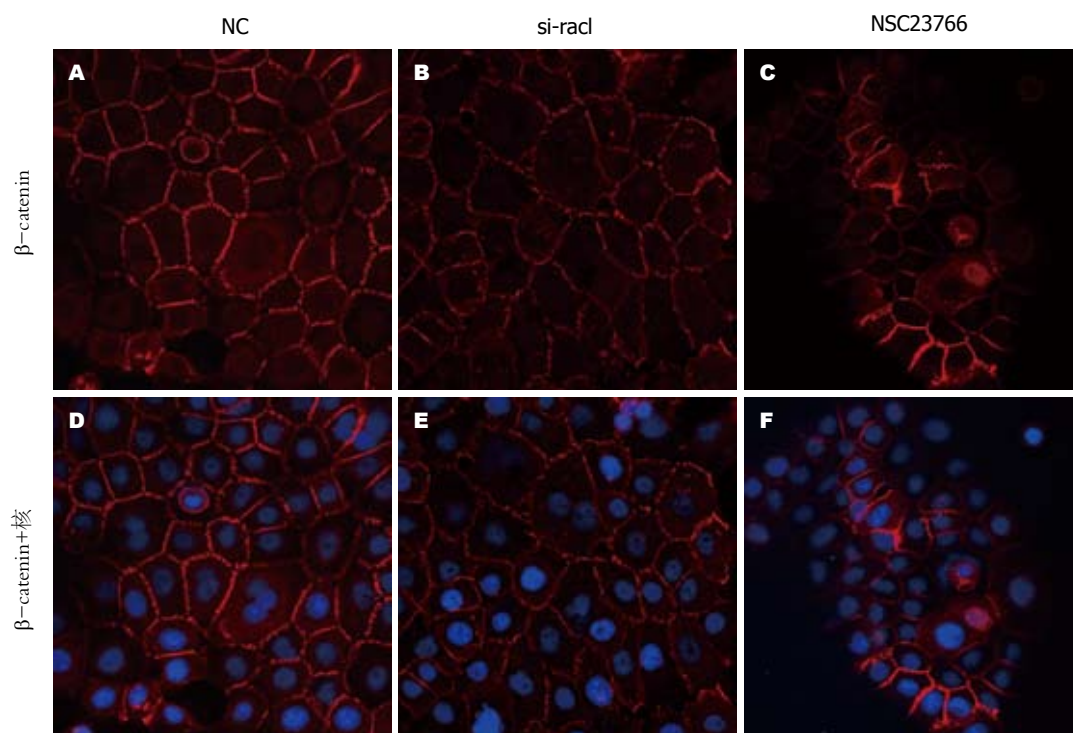


图 5 siRNA沉默Rac1或Rac1特异性阻滞剂作用对细胞膜、细胞浆和细胞核内 β -catenin表达量的影响. NC: 正常对照组.

达量明显下降(图4, 5).

3 讨论

Rac1基因全长29 kb, 包含7个外显子, 位于人染色体7p22. Rac1基因的转录产物有1.2 kb和2.5 kb两种. Rac1具有Rho类型的鸟苷三磷酸酶结合区, 与二磷酸鸟嘌呤核苷GDP和三磷酸鸟嘌呤核苷GTP具有高度的亲和性, 与GDP结合时失活, 与GTP结合时激活, Rac1的生物学功能发挥依赖于此两种活性形式间的转换^[11-17]. Rac1蛋白在人类大部分肿瘤中没有发现突变体, 但在许多肿瘤中发现有活性增高、高表达现象. 在肺癌、结肠癌、胃癌、头颈部肿瘤等报道有Rac1蛋白表达的异常增高. 吴况鹏等^[16]和高丹丹等^[17]发现Rac1可以协同 β -Catenin进入细胞核, 促进wnt- β -Catenin信号通路靶基因转录, 进而促进细胞的增殖. Rac1还可以通过PAK1等信号分子影响细胞的黏附特性.

本研究发现在胰腺癌细胞系中, Rac1蛋白有促进胰腺癌细胞增殖的作用, 沉默Rac1或者运用Rac1特异性阻滞剂均可以抑制胰腺癌的细胞的增殖. 目前研究证实Rac1可以调节细胞的增殖, Rac1在结肠癌、乳腺癌、胃癌的发生发展中起到重要作用, 与肝癌、前列腺癌等肿瘤的预后有明显关系^[18,19], 在Rac1高表达的病例中, 患者的预后明显较差. 这都说明Rac1在各种

肿瘤的发生发展的各个时期都起到重要的作用. 本实验研究提示, 沉默Rac1或者Rac1特异性阻滞剂NSC23766可以抑制胰腺癌的增殖, 与文献报道的结果一致.

我们进一步研究发现Rac1是通过促进 β -Catenin进入细胞核, 激活wnt- β -Catenin信号通路, 促进wnt- β -Catenin信号通路靶基因的转录, 进而促进胰腺癌细胞的增殖. 既往在结肠癌和乳癌中都有报道, 活化的Rac1可以协同 β -Catenin进入细胞核, 促进wnt信号通路靶基因的转录, 进而促进肿瘤的发生发展^[14]. wnt- β -Catenin信号通路是当wnt蛋白于细胞表面Frizzled受体家族结合后的一系列反应, 包括Dishevelled受体家族蛋白质的激活及最终细胞核内 β -Catenin水平的变化. 当“ β -Catenin降解复合物”被抑制后, 胞浆内的 β -Catenin得以稳定存在, 部分 β -Catenin进入细胞核与TCF/LEF转录因子家族作用并促进特定基因的表达. 本研究进一步的证明了Rac1在胰腺癌中也是通过wnt- β -Catenin信号通路作用, 促进胰腺癌的增殖^[8,20-22].

胰腺癌的早期诊断对改善患者的预后非常关键, 但目前缺乏能有效早期辅助诊断的指标. Rac1可以促进胰腺癌细胞的增殖, 很有可能在胰腺癌的发生发展过程中发挥重要的作用. 本实验研究提示, 沉默Rac1或者Rac1特异性阻滞剂NSC23766可以抑制胰腺癌的增殖, 为下一步治

■应用要点

本文对进一步阐述Rac1促进肿瘤的增殖起到积极的作用, 为进一步的药物开发提供了一定的理论依据.

■同行评价

本文首次阐述了Rac1在胰腺癌发病中的作用,并初步探讨了其机制,有一定的创新性和实用性。

疗胰腺癌药物的开发奠定了一定的基础。

4 参考文献

- 1 刘民培, 马景云, 潘伯荣. 中国胰腺癌的研究. 世界华人消化杂志 2001; 9: 1103-1109
- 2 Cui Y, Andersen DK. Diabetes and pancreatic cancer. *Endocr Relat Cancer* 2012; 19: F9-F26 [PMID: 22843556]
- 3 吴明富, 史艳燕, 韩志强, 刘玉兰, 卢运萍, 马丁. 人卵巢癌组织中Tiam1和Rac1的表达与肿瘤侵袭转移的关系. 中国肿瘤临床 2005; 32: 910-914
- 4 郭世洲, 原禄双, 张俊华. Rac1、Cdc42在肿瘤方面的研究. 医学综述 2007; 13: 821-823
- 5 陈保东, 徐如祥, 高永中, 姜晓丹, 蒋太鹏, 丁建军. Rac1基因沉默对髓母细胞瘤细胞侵袭移动的影响. 中华实验外科杂志 2010; 27: 923-925
- 6 Goc A, Abdalla M, Al-Azayzih A, Somanath PR. Rac1 activation driven by 14-3-3 ζ dimerization promotes prostate cancer cell-matrix interactions, motility and transendothelial migration. *PLoS One* 2012; 7: e40594 [PMID: 22808202 DOI: 10.1371/journal.pone.0040594.]
- 7 Wu X, Tu X, Joeng KS, Hilton MJ, Williams DA, Long F. Rac1 activation controls nuclear localization of beta-catenin during canonical Wnt signaling. *Cell* 2008; 133: 340-353 [PMID: 18423204 DOI: 10.1016/j.cell.2008.01.052]
- 8 Buongiorno P, Pethe VV, Charames GS, Esufali S, Bapat B. Rac1 GTPase and the Rac1 exchange factor Tiam1 associate with Wnt-responsive promoters to enhance beta-catenin/TCF-dependent transcription in colorectal cancer cells. *Mol Cancer* 2008; 7: 73 [PMID: 18826597 DOI: 10.1186/1476-4598-7-73]
- 9 Esufali S, Bapat B. Cross-talk between Rac1 GTPase and dysregulated Wnt signaling pathway leads to cellular redistribution of beta-catenin and TCF/LEF-mediated transcriptional activation. *Oncogene* 2004; 23: 8260-8271 [PMID: 15377999 DOI: 10.1038/sj.onc.1208007]
- 10 Esufali S, Charames GS, Bapat B. Suppression of nuclear Wnt signaling leads to stabilization of Rac1 isoforms. *FEBS Lett* 2007; 581: 4850-4856 [PMID: 17888911 DOI: 10.1016/j.febslet.2007.09.013]
- 11 Durán RV, Hall MN. Regulation of TOR by small GTPases. *EMBO Rep* 2012; 13: 121-128 [PMID: 22240970 DOI: 10.1038/embor.2011.257]
- 12 Wertheimer E, Gutierrez-Uzquiza A, Rosemblyt C, Lopez-Haber C, Sosa MS, Kazanietz MG. Rac signaling in breast cancer: a tale of GEFs and GAPs. *Cell Signal* 2012; 24: 353-362 [PMID: 21893191 DOI: 10.1016/j.cellsig.2011.08.011]
- 13 魏世平, 王克猛. 结直肠癌中Rac1的表达研究. 河北医药 2011; 33: 3701-3702
- 14 顾颖, 韩素萍, 张晔. RhoA、RAC1在宫颈癌组织中的表达及其临床意义. 苏州大学学报(医学版) 2008; 28: 115-118
- 15 南清振, 高蕾, 张振书. Rac1活化在大肠癌细胞SW480迁移侵袭中的作用. 中华肿瘤杂志 2007; 29: 666-669
- 16 吴况明, 蒋良友. Rac1和Pak1在胃癌中的表达及意义. 国际病理科学与临床杂志 2010; 30: 469-472
- 17 高丹丹, 续薇, 刘力华, 张明威, 罗微. 荧光定量RT-PCR检测Rac1 mRNA基因及其与胃癌转移的关系. 中华检验医学杂志 2010; 33: 502-506
- 18 黄娟, 郎楠, 刘明, 陈济, 周继陶, 朱亚杰, 刘素蕊, 唐秋琳, 陈向征, 毕锋. Rac1小干扰RNA对胃肠道肿瘤细胞恶性生物学行为的影响. 四川大学学报(医学版) 2009; 40: 588-592
- 19 张淑平, 代嘉莉, 徐州. Rac1和MMP-2在胃癌组织中的表达及其与胃癌浸润转移的关系. 四川医学 2010; 31: 1232-1234
- 20 王燕忠, 王继英, 唐克晶, 王敏, 邢海燕, 田征, 饶青. Rac1介导E-cadherin下调引起的白血病细胞行为改变. 中国病理生理杂志 2010; 26: 1670-1673
- 21 陈保东, 高永中, 蒋太鹏, 丁建军, 姜晓丹, 徐如祥. Rac1在垂体腺瘤组织中的表达及意义. 中国微侵袭神经外科杂志 2010; 15: 268-270
- 22 钟大平, 周进明, 章容, 周琪, 彭秋平, 梁后杰. Tiam1和Rac1在大肠癌组织中的表达及其临床意义. 中华肿瘤防治杂志 2007; 14: 129-132

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

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

经内镜逆行性胰胆管造影术后胰腺炎的影响因素

袁伟燕, 陆翠华

袁伟燕, 陆翠华, 南通大学附属医院消化内科 江苏省南通市 226001

袁伟燕, 主治医师, 主要从事消化内科方面的研究.

作者贡献分布: 本文由袁伟燕与陆翠华共同完成.

通讯作者: 袁伟燕, 主治医师, 江苏省南通市, 南通大学附属医院 消化内科. ywydoc@ntu.edu.cn

传真: 0513-85154406

收稿日期: 2012-12-27 修回日期: 2013-03-14

接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-04-28

Risk factors for post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis

Wei-Yan Yuan, Cui-Hua Lu

Wei-Yan Yuan, Cui-Hua Lu, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Wei-Yan Yuan, Attending Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China. ywydoc@ntu.edu.cn

Received: 2012-12-27 Revised: 2013-03-14

Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-04-28

Abstract

AIM: To investigate potential risk factors for pancreatitis after endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP).

METHODS: One hundred and sixty patients who underwent ERCP were enrolled in this retrospective study. Clinical data, including age, gender, history of pancreatitis, juxtapapillary diverticulum, dilatation of the common bile duct, multiple cannulation attempts, multiple opacification of the pancreatic duct and endoscopic sphincterotomy, were collected and analyzed to assess their relationship with the development of post-ERCP pancreatitis.

RESULTS: History of pancreatitis ($P = 0.003$, $P = 0.0014$), juxtapapillary diverticulum ($P = 0.013$, $P = 0.0137$), multiple cannulation attempts ($P = 0.013$, $P = 0.0010$), and multiple pancreatic duct opacification ($P = 0.000$, $P = 0.0000$) were found to be independent risk factors for post-

ERCP pancreatitis. However, these four factors showed no obvious difference among patients with mild, moderate or severe pancreatitis ($P > 0.05$). Gender, age, dilatation of common bile duct and papillotomy did not significantly affect the occurrence of post-ERCP pancreatitis ($P > 0.05$).

CONCLUSION: History of pancreatitis, juxtapapillary diverticulum, multiple cannulation attempts and multiple pancreatic duct opacification are risk factors for post-ERCP pancreatitis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Endoscopic retrograde cholangiopancreatography; Risk factors; Post-ERCP pancreatitis

Yuan WY, Lu CH. Risk factors for post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(12): 1075-1079 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1075.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1075>

摘要

目的: 探讨经内镜逆行性胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)后胰腺炎发生的影响因素.

方法: 对160例ERCP患者进行回顾性研究其年龄、性别、有无胰腺炎病史、有无十二指肠乳头旁憩室(juxtapapillary diverticulum, JPD)、有无胆总管扩张、有无多次插管、有无多次胰管显影、乳头肌切开等,将以上情况与术后胰腺炎的关系进行评价.

结果: 有胰腺炎病史($P = 0.003$, $P = 0.0014$)、JPD($P = 0.013$, $P = 0.0137$)、多次插管($P = 0.013$, $P = 0.0010$)、多次胰管显影($P = 0.000$, $P = 0.0000$)等均明显增加了ERCP后胰腺炎的发生; 4种因素均是PEP有关的独立风险因素. 4种风险因素与ERCP后胰腺炎的轻、中、重程度之间无明显差异(均 $P > 0.05$). 性别、年龄、胆总管扩张、乳头肌切开等因素均未明显影响ERCP后胰腺炎的发生(均 $P > 0.05$).

■背景资料

经内镜逆行性胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)是目前公认的诊断胰胆管疾病的金标准. 在其基础上介入治疗是胆胰疾病微创治疗的发展趋势.

■同行评议者

刘颖斌, 主任医师, 上海交通大学医学院附属新华医院

■研究前沿

既往胰腺炎病史、多次插管、胰管多次显影等都是PEP的风险因素。

结论: 有胰腺炎病史、JPD、多次插管、多次胰管显影是ERCP后胰腺炎的独立危险因素。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 经内镜逆行性胰胆管造影术; 危险因素; 经内镜逆行性胰胆管造影术后胰腺炎

核心提示: 本研究发现, 既往有胰腺炎病史、乳头旁憩室(juxtapapillary diverticulum, JPD)、多次插管及多次胰管显影等是经内镜逆行性胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)后胰腺炎(post-ERCP pancreatitis, PEP)的4个独立风险因素。基于此研究结果, 建议对临床上实施ERCP的病例选择时, 须注意有胰腺炎病史的或有JPD的患者, 应谨慎选择; 在进行ERCP操作时, 应注意尽量减少插管次数, 尽量减少胰管显影并避免高压注射造影剂, 从而尽可能减少PEP的发生。

袁伟燕, 陆翠华. 经内镜逆行性胰胆管造影术后胰腺炎的影响因素. 世界华人消化杂志 2013; 21(12): 1075-1079 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1075.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1075>

0 引言

经内镜逆行性胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)已广泛应用于胆胰疾病的诊断与治疗。尤其治疗性ERCP相比外科手术具有创伤小恢复快等优点。但同时也潜在一些并发症可能, 包括ERCP后胰腺炎(post-ERCP pancreatitis, PEP)、高淀粉酶血症、胆道感染、出血、穿孔等。其中PEP是其常见的并发症之一, 发生率各家报道不一, 有研究报道PEP的发病率在5%左右^[1,2]。绝大多数PEP为轻症胰腺炎, 但有10%左右的PEP有可能发展为重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP), 甚至引起死亡。因此, 有必要对PEP相关危险因素进行研究以尽量减少PEP的发生。本文旨在通过对我院2009-07/2012-04所有ERCP操作做一回顾性分析, 从中找出PEP可能的危险因素, 为PEP的防治提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2009-07/2012-04在南通大学附属医院拟行ERCP患者160例(胆总管结石153例、胆总管癌2例、壶腹部癌4例、胆总管瘘1例), 其中男63例, 女97例, 年龄21-88岁, 平均62.8岁, <60岁98例, ≥60岁62例; 其他相关临床参数包括: 胰腺炎史(有: 15例; 无: 145例)、乳头旁憩室

(juxtapapillary diverticulum, JPD)(有: 37例; 无: 123例)、胆总管扩张(轻度: 42例; ≥10 mm: 91例; 不扩张: 27例)、插管失败(有: 10例; 无: 150例)、胰管显影(有: 14例; 无: 146例)、内镜下括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST)(有: 147例; 无: 13例)。所有患者术前检查血清淀粉酶均在正常范围内。

1.2 方法

1.2.1 PEP的判断与分级: 根据Cotton等^[1]定义, ERCP后出现持续腹痛且血清淀粉酶高于正常上限的3倍, 持续24 h以上, 同时排除胃肠道穿孔、残余结石嵌顿、急性胆囊炎、急性胆管炎等, 可诊断为PEP。但有研究发现, 仅根据Cotton定义诊断PEP会产生诊断不足, 结合临床诊断胰腺炎标准可以弥补诊断标准上的不足, 使PEP的诊断更趋标准化^[3]。因此, 本研究采用Cotton定义结合临床诊断胰腺炎标准对所有病例进行规范化诊断。对于仅有血清淀粉酶高于正常而无腹痛、恶心、呕吐及腹部压痛者诊断为高淀粉酶血症。根据Cotton共识意见^[1], 将PEP分为轻、中、重3级: (1)轻症PEP: 临床PEP患者, 需入院治疗或较原计划住院时间延长2-3 d; (2)中度PEP: PEP患者, 需住院治疗4-10 d; (3)重症PEP: PEP需住院治疗10 d以上, 出现局部和/或全身并发症, 需转ICU治疗或采用侵入性治疗(比如外科手术)。在160例ERCP中, 成功率93.75%(150/160), 并发高淀粉酶血症129例(发生率80.63%), 并发胰腺炎17例(发生率10.63%), 轻症PEP共10例, 占58.82%; 中度PEP共5例, 占29.41%; 重症PEP仅2例, 占11.76%。

1.2.2 资料收集: 对160例ERCP患者的年龄、性别、是否有胰腺炎病史、有无JPD、是否多次插管失败、是否多次胰管显影、有无胆总管扩张、是否行EST以及并发不同程度PEP等进行统计。

统计学处理 Stata8.0统计软件对结果进行统计分析。采用两种统计方法分析PEP发生与各参数间的关系: PEP在各参数组总发生率的比较采用 χ^2 检验或Fisher's exact法; 轻、中、重度PEP在各参数组间的差异采用秩和检验分析。对有统计学差异的参数组中轻、中、重度PEP发生率的两两比较采用 χ^2 检验或Fisher's exact法。经单因素分析发现PEP可能的风险因素再用Logistic多因素回归分析, 得出OR值及P值。以上统计学分析, 均以 $P < 0.05$ 认为有统计学意义。

2 结果

既往有胰腺炎病史、有十二指肠JPD、术中多

■相关报道

Vandervoort等对1 223例ERCP患者进行前瞻性、单中心研究, 通过单变量分析显示, PEP的5个独立的危险因子为: 复发性胰腺炎、既往有ERCP术后胰腺炎病史者、术中多次插管、胰管刷检、ERCP术中疼痛。

表 1 PEP总发生率及不同发病程度(轻、中、重)与各临床参数间的关系分析

临床参数	<i>n</i>	总发生率 $n(\%)$	<i>P</i> 值 ¹	轻症PEP(<i>n</i>)	中度PEP(<i>n</i>)	重症PEP(<i>n</i>)	<i>P</i> 值 ²
性别			0.716				0.6522
男	63	6(9.5)		5	1	0	
女	97	11(11.3)		5	4	2	
年龄(岁)			0.403				0.4241
< 60	98	12(12.2)		8	2	2	
≥ 60	62	5(8.1)		2	3	0	
胰腺炎史			0.003				0.0014
有	15	5(33.3)		1 ³	2 ³	2 ³	
无	145	12(8.3)		9	3	0	
乳头旁憩室			0.013				0.0137
有	37	8(18.9)		4 ³	3 ³	1 ³	
无	123	9(8.1)		6	2	1	
胆总管扩张			0.458				0.3722
轻度	42	4(9.5)		1	1	2	
≥ 10 mm	91	12(13.2)		8	4	0	
不扩张	27	1(3.7)		1	0	0	
多次插管			0.013				0.0010
有	10	4(40.0)		1 ³	1 ³	2 ³	
无	150	13(8.7)		9	4	0	
胰管多次显影			0.000				0.0000
有	14	6(42.9)		2 ³	2 ³	2 ³	
无	146	11(7.5)		8	3	0	
EST			1.000				0.7569
有	147	16(10.9)		10	4	2	
无	13	1(7.7)		0	1	0	

¹*P*值计算采用 χ^2 检验或Fisher's exact法; ²*P*值计算采用秩和检验; ³各自轻、中、重症PEP发生率间两两比较, 均 $P>0.05$ (χ^2 检验或Fisher's exact法)。

次插管、术中胰管多次显影相应的PEP总发生率分别为33.3%(5/15, 轻、中、重症分别为1例、2例、2例)、18.9%(8/37, 轻、中、重症分别为4例、3例、1例)、40.0%(4/10, 轻、中、重症分别为1例、1例、2例)、42.9%(6/14, 轻、中、重症分别为2例、2例、2例), 均明显高于相应的无胰腺炎病史患者(8.3%)、无十二指肠JPD患者(8.1%)、术中未多次插管患者(8.7%)及术中胰管未多次显影患者(7.5%)。两种统计学方法分析均显示差异有统计学意义(均 $P<0.05$)。且在有胰腺炎史、JPD、多次插管失败、胰管多次显影四种风险因素中, 轻、中、重症PEP发生率间无明显差异(均 $P>0.05$, 表1)。

对表1中经单因素分析发现与PEP有关的4个风险因素进行多因素Logistic回归分析, 结果表明4个风险因素(有胰腺炎病史、有十二指肠JPD、多次插管、反复胰管显影)均有统计学意义(均 $P<0.05$, 表2)。

3 讨论

ERCP作为诊断和治疗胆胰疾病的一种重要手段, 其应用的日趋成熟加速了诊断及治疗性ERCP的开展, 自从1974年Kawai等首次应用EST以来, 治疗性ERCP已逐渐成为胆胰疾病重要的内镜介入治疗技术。但由于ERCP本身的特点加上操作及患者等各方面的因素, ERCP术中及术后会产生一些并发症, PEP是ERCP术后最常见的并发症之一。鉴于PEP有可能加重甚至引起死亡等危险, 临床医师有必要对其发生的风险因素进行探索以期尽量规避风险、减少PEP的发生。

有研究认为, 女性、有胰腺炎病史、困难插管、插管时间 ≥ 10 min、术中胰管显影 ≥ 5 次、十二指肠乳头肌球囊扩张或预切开等均会增加PEP的发生^[4]。且具有以上多个危险因素者PEP的潜在发生率大大增高^[2,5]。Vandervoort等^[6]对1 223例ERCP患者进行前瞻性、单中心研究, 通过单变量分析显示, PEP具有统计学意义的危险

■创新盘点

本文在讨论PEP的可能风险因素的同时, 将不同发病程度(轻、中、重)与各临床参数间的关系作了详细的分析, 发现胰腺炎史、乳头旁憩室(JPD)、多次插管失败、胰管多次显影4种风险因素中, 轻、中、重症PEP发生率间无明显差异。

■名词解释

经内镜逆行性胰胆管造影术: 在内镜下经十二指肠乳头插管注入造影剂, 从而逆行显示胰胆管的造影技术, 是目前公认的诊断胰胆管疾病的标准。

表 2 临床因素与PEP的多因素分析

临床参数	OR值	P值
胰腺炎史	2.7	0.018
乳头旁憩室	3.0	0.006
多次插管	3.9	0.043
反复胰管显影	3.8	0.041

因素有18个, 但经多变量Logistic回归分析发现PEP的5个独立的危险因子为: 复发性胰腺炎、既往有ERCP术后胰腺炎病史者、术中多次插管、胰管刷检、ERCP术中疼痛。本研究发现, 既往有胰腺炎病史、JPD、多次插管及多次胰管显影等均是PEP的风险因素。

胰腺炎病史及JPD均为患者相关的风险因素, 对于ERCP指征的选择和术前风险评估有一定的参考价值。李兆申等^[7]报道, 有胰腺疾病基础的患者ERCP术后胰腺炎发生率(8.5%)显著高于对照组(3.5%)。Cheng等^[8]研究发现, 有过PEP病史是再次发生PEP的风险因素。本组资料显示, 既往有胰腺炎病史患者PEP发生率达33.3%, 相比无胰腺炎病史患者有明显差别($P = 0.003$, $P = 0.0014$), 提示胰腺炎病史是PEP的风险因素之一。究其原因, 可能与胰腺局部及其周围解剖结构及其他方面体质决定了其易患胰腺炎有关。JPD指憩室发生的部位距乳头开口2-3 cm内, 多属于原发性腔外型憩室, 根据憩室与乳头位置、远近关系, 分为憩室内乳头、憩室边缘乳头及憩室周围乳头。有学者认为JPD与胰腺炎的发生密切相关, Uomo等^[9]报道特发性胰腺炎在JPD阳性患者中的发生率(13.7%)显著高于在JPD阴性患者发病率(1.8%)。本组资料显示, 有JPD患者PEP发生率达18.9%, 与没有JPD患者相比有明显差别($P = 0.013$, $P = 0.0137$), 说明JPD是PEP发生的风险因素之一。其可能的原因: 憩室患者Oddis括约肌功能障碍及憩室内食物填塞使其扩张压迫胰管远端致胰管内压力升高。

多次插管指插管次数>5次, 插管次数多少与操作者本身的技能有关, 属于操作相关的风险因素。Vandervoort等^[6]发现, ERCP操作中插管少于5次者, PEP的发生率仅3.3%, 而插管多于20次者, PEP发生率上升至14.9%。近十余年的很多研究发现, 插管困难是引发PEP的独立危险因素^[2,6,10]。Testoni等^[11]研究认为, 在操作相关的危险因素中, 多次插管相对预切开, 后者在早期

(少于10次的插管)较反复多次插管更安全。本研究发现, 多次插管失败患者发生PEP的几率达到40%, 与没有多次插管患者相比差别有显著性($P = 0.013$, $P = 0.0010$), 证实多次插管是PEP的风险因素之一。究其原因, 可能与多次插管后Oddi氏括约肌痉挛, 十二指肠乳头局部水肿, 胰管内压力升高, 影响胆汁及胰液排泄等有关。

胰管多次显影指>5次显影, 亦属于操作相关的风险因素。有荟萃分析发现, 胰管显影是PEP最重要的两大操作相关的危险因素之一^[5,12]。本组资料结果显示, 胰管多次显影患者发生PEP的几率为42.9%, 与没有显影患者相比差异有显著性($P = 0.000$, $P = 0.0000$), 说明多次胰管显影是PEP的风险因素。可能机制为: (1)胰管内高压注射致胰管细胞及腺泡细胞损伤, 使胰管内胰液流入胰腺实质, 胰酶原被激活引起自身消化; (2)胰管内高压影响了胰液排出, 使胰液在腺泡细胞内提前激活。胰管显影者PEP发生率各家报道不一, 赵铭宁等^[13]通过回顾性分析2 824例ERCP患者发现, 胰管显影后PEP发生率为25.12%。造成这种发生率差别较大的原因可能与胰管显影范围大小有关, 有研究表明, 胰管体部显影比仅仅胰管头部显影PEP发生率高, 而整个胰管及腺泡全部显影者PEP发生率更高^[14]。因此, ERCP操作过程中尽量避免胰腺造影及注意注射造影剂的量与注射速度等有助于降低PEP的发生率。

ERCP作为内镜下微创诊疗手段, 其应用价值已得到认可; 但其潜在PEP等并发症风险应引起重视。孙广正等^[15]通过多因素分析发现, 患者自身的高危因素和操作者的经验、技术都可以影响PEP的发生率, 对高危患者应避免诊断性ERCP, 尽可能选择CT或磁共振胰胆管成像(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)等方法明确诊断。对有胰腺炎病史, 尤其是复发性胰腺炎或有过PEP病史的患者, 对ERCP的选择须慎重。对有十二指肠JPD患者, 亦应斟酌后决定是否实施该操作; 或者可以考虑用MRCP替代ERCP从而避免医源性胰腺炎发生。此外, 主观上, 努力提高医师的ERCP操作技术水平, 尽量减少插管次数, 尽可能避免胰管显影和反复高压注药, 根据导丝插入的方向来判断是否胆管或胰管, 可以在很大程度上减少PEP的发生。总之, 尽量避免患者相关的和操作相关的风险因素, 可以减少PEP的发生, 从而推进ERCP诊疗技术的进一步发展。

4 参考文献

- 1 Cotton PB, Lehman G, Vennes J, Geenen JE, Russell RC, Meyers WC, Liguory C, Nickl N. Endoscopic sphincterotomy complications and their management: an attempt at consensus. *Gastrointest Endosc* 1991; 37: 383-393 [PMID: 2070995]
- 2 Freeman ML, DiSario JA, Nelson DB, Fennerty MB, Lee JG, Bjorkman DJ, Overby CS, Aas J, Ryan ME, Bochna GS, Shaw MJ, Snady HW, Erickson RV, Moore JP, Roel JP. Risk factors for post-ERCP pancreatitis: a prospective, multicenter study. *Gastrointest Endosc* 2001; 54: 425-434 [PMID: 11577302]
- 3 Artifon EL, Chu A, Freeman M, Sakai P, Usmani A, Kumar A. A comparison of the consensus and clinical definitions of pancreatitis with a proposal to redefine post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis. *Pancreas* 2010; 39: 530-535 [PMID: 20093992 DOI: 10.1097/MPA.0b013e3181c306c0]
- 4 张文杰, 陶怡菁, 全志伟. ERCP术后胰腺炎的预防. *中华消化内镜杂志* 2010; 27: 670-672
- 5 Masci E, Mariani A, Curioni S, Testoni PA. Risk factors for pancreatitis following endoscopic retrograde cholangiopancreatography: a meta-analysis. *Endoscopy* 2003; 35: 830-834 [PMID: 14551860]
- 6 Vandervoort J, Soetikno RM, Tham TC, Wong RC, Ferrari AP, Montes H, Roston AD, Slivka A, Lichtenstein DR, Ruymann FW, Van Dam J, Hughes M, Carr-Locke DL. Risk factors for complications after performance of ERCP. *Gastrointest Endosc* 2002; 56: 652-656 [PMID: 12397271]
- 7 李兆申, 许国铭, 钱煦岱, 孙振兴. 胰腺疾病患者ERCP术后并发高淀粉酶血症及急性胰腺炎临床对比研究. *中华消化内镜杂志* 1999; 16: 75-77
- 8 Cheng CL, Sherman S, Watkins JL, Barnett J, Freeman M, Geenen J, Ryan M, Parker H, Frakes JT, Fogel EL, Silverman WB, Dua KS, Aliperti G, Yaksh P, Uzer M, Jones W, Goff J, Lazzell-Pannell L, Rashdan A, Temkit M, Lehman GA. Risk factors for post-ERCP pancreatitis: a prospective multicenter study. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 139-147 [PMID: 16405547]
- 9 Uomo G, Manes G, Ragozzino A, Cavallera A, Rabitti PG. Periapillary extraluminal duodenal diverticula and acute pancreatitis: an underestimated etiological association. *Am J Gastroenterol* 1996; 91: 1186-1188 [PMID: 8651168]
- 10 Zhou W, Li Y, Zhang Q, Li X, Meng W, Zhang L, Zhang H, Zhu K, Zhu X. Risk Factors for Postendoscopic Retrograde Cholangiopancreatography Pancreatitis: A Retrospective Analysis of 7168 Cases. *Pancreatology* 2011; 11: 399-405
- 11 Testoni PA, Mariani A, Giussani A, Vailati C, Masci E, Macarri G, Ghezzi L, Familiari L, Giardullo N, Mutignani M, Lombardi G, Talamini G, Spadaccini A, Briglia R, Piazzi L. Risk factors for post-ERCP pancreatitis in high- and low-volume centers and among expert and non-expert operators: a prospective multicenter study. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 1753-1761 [PMID: 20372116 DOI: 10.1038/ajg.2010.136]
- 12 黄应龙, 苏秉忠, 李晓华. ERCP术后胰腺炎相关危险因素探讨. *现代消化及介入诊疗* 2006; 11: 205-207
- 13 赵铭宁, 杨勇, 张文杰, 王雪峰, 顾钧, 庄敏. ERCP后胰腺炎影响因素分析. *肝胆胰外科杂志* 2010; 22: 389-394
- 14 Cheon YK, Cho KB, Watkins JL, McHenry L, Fogel EL, Sherman S, Lehman GA. Frequency and severity of post-ERCP pancreatitis correlated with extent of pancreatic ductal opacification. *Gastrointest Endosc* 2007; 65: 385-393 [PMID: 17321236]
- 15 孙广正, 施正超, 戴华卫. ERCP后胰腺炎高危因素的回顾性研究. *浙江创伤外科* 2009; 14: 519-520

■同行评价

本文探讨ERCP后胰腺炎的影响因素, 数据可靠, 结论可信, 对临床有一定的指导意义。

编辑 李军亮 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费。审稿周期及发表周期不变。(《世界华人消化杂志》编辑部)

散发性结直肠癌组织病理学特征及微卫星不稳定状态分析400例

李新霞, 胡晓杰, 吴涛, 胡昌明, 徐炜, 李洪波, 赵彤

■背景资料

高度微卫星不稳定性(high level of microsatellite instability, MSI-H)结直肠癌患者具有独特临床特征及生物学行为, 识别MSI-H结直肠癌对患者选择个体化治疗方案及制定规范化随访制度具有重要临床意义。

李新霞, 南方医科大学与广州市海珠区科技产业园联合培养博士后工作站 广东省广州市 510515

李新霞, 新疆医科大学第一附属医院病理科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054

胡晓杰, 吴涛, 胡昌明, 徐炜, 李洪波, 广州金域医学检验中心病理科 广东省广州市 510330

赵彤, 南方医科大学附属南方医院病理科 广东省广州市 510515

广东省科技厅对外国际合作基金资助项目, No. 2011B05000010

新疆维吾尔自治区科技计划基金资助项目, No. 201233142

作者贡献分布: 李新霞与胡晓杰对此文所作贡献均等; 此课题由李新霞设计; 研究过程由李新霞、胡晓杰、吴涛、徐炜及胡昌明完成; 研究所用新试剂及分析工具由李洪波提供; 本论文写作由李新霞完成; 论文修改由赵彤完成。

通讯作者: 赵彤, 教授, 主任医师, 510515, 广州市广州大道北路1838号, 南方医科大学附属南方医院病理科。

tongzhao@fimmu.com

收稿日期: 2012-11-06 修回日期: 2013-03-05

接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-04-28

Histopathologic features and microsatellite instability of sporadic colorectal carcinoma: An analysis of 400 cases

Xin-Xia Li, Xiao-Jie Hu, Tao Wu, Chang-Ming Hu, Wei Xu, Hong-Bo Li, Tong Zhao

Xin-Xia Li, Postdoctoral Workstation, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China
Xin-Xia Li, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Xiao-Jie Hu, Tao Wu, Chang-Ming Hu, Wei Xu, Hong-Bo Li, Department of Pathology, the Kingmed Medical Center, Guangzhou 510330, Guangdong Province China
Tong Zhao, Department of Pathology, Affiliated Southern Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China

Supported by: the International Cooperation Project of the Science and Technology of Guangdong Province, No. 2011B05000010; and the Science and Technology Program of Xinjiang Uygur Autonomous Region, No. 201233142

Correspondence to: Tong Zhao, Professor, Chief Physician, Department of Pathology, Affiliated Southern Hospital of Southern Medical University, 1838 Guangzhou Dadao North Road, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China. tong-zhao@fimmu.com

Received: 2012-11-06 Revised: 2013-03-05

Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-04-28

■同行评议者

王娅兰, 教授, 重庆医科大学基础医学院病理教研室



tures of sporadic colorectal carcinoma with high level of microsatellite instability (MSI-H), detect deficient expression of DNA mismatch repair protein, predict tumor microsatellite instability (MSI) status, and create a platform for diagnosis and screening of genetic colorectal carcinoma.

METHODS: Clinical data for 400 cases of sporadic colorectal carcinoma were analyzed. All cases underwent histological assessment. The deficiency expression of mismatch repair protein was detected by immunohistochemistry. The MSI status of carcinoma was predicted and then confirmed by PCR.

RESULTS: Male patients and left-side location predominated in the present series. Of 400 cases of sporadic colorectal carcinoma, 18 cases of MSI-H, 98 cases of MSI-L and 284 cases of MSS were detected by immunohistochemistry. Pathological features of MSI-H colorectal carcinoma included villous and papilloma structures, poor or good differentiation, mucinous type, signet-cell carcinoma or any mucinous differentiation, increased tumor-infiltrating lymphocytes (TIL cells), the presence of Crohn-like reaction, and the lack of necrosis. PCR analysis confirmed that there were 7 cases of MSI-H tumors, 1 case of MSI-L, 6 cases of MSS and 4 cases allele of heterozygosity.

CONCLUSION: Sporadic MSI-H colorectal carcinoma has unique morphology, but shows no correlation with patient age, sex, and tumor size. Morphological assessment with immunohistochemistry can be used as a routine method for screening MSI-H and genetic colorectal carcinoma and guiding individualized treatment.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Sporadic colorectal carcinoma; Immunohistochemistry; DNA mismatch repair protein; PCR; Microsatellite instability

Li XX, Hu XJ, Wu T, Hu CM, Xu W, Li HB, Zhao T.

Histopathologic features and microsatellite instability of sporadic colorectal carcinoma: An analysis of 400 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(12): 1080-1089 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1080.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1080>

摘要

目的: 探讨高度微卫星不稳定性(high level of microsatellite instability, MSI-H)结直肠癌临床病理学特征. 应用免疫组织化学方法检测肿瘤组织中DNA错配修复蛋白缺失表达, 判断肿瘤MSI状态, 建立筛选与遗传相关结直肠癌常规诊断流程.

方法: 分析临床特点, 光镜下观察肿瘤组织形态学特征, 免疫组织化学SP法分析肿瘤DNA错配修复蛋白表达缺失情况, 判断肿瘤MSI状态, 荧光定量PCR法进一步证实肿瘤MSI状态.

结果: 400例散发性结直肠癌, 以男性左半结肠多见, 免疫组织化学方法检测到MSI-H 18例, MSI-L 98例, MSS 284例, MSI-H肿瘤以老年女性左半结肠多见. MSI-H结直肠癌形态学多见绒毛乳头状结构, 高、低分化, 黏液腺癌、印戒细胞癌或伴有黏液分化, 肿瘤上皮内淋巴细胞浸润、肿瘤间质内见crohn样淋巴细胞反应及瘤周淋巴浆细胞浸润明显, 多数缺乏坏死. 荧光定量PCR法进一步对18例MSI-H肿瘤进行分析, 证实MSI-H 7例, MSI-L 1例, MSS 6例, 同时发现4例肿瘤存在等位基因杂合性缺失.

结论: 散发性MSI-H结直肠癌与病理形态学具有明显相关性, 与患者年龄、性别、部位无显著相关. 结合形态学及免疫组织化学检测错配修复蛋白可作为判断MSI-H肿瘤的常规筛查方法, 对患者进行临床监控、个体化治疗及筛选与遗传相关结直肠癌具有重要临床意义, 但对MSI-H肿瘤最终确诊及是否与遗传相关仍需进行分子生物学方法检测进一步证实.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 散发性; 结直肠癌; 免疫组织化学; DNA错配修复蛋白; PCR法; 微卫星不稳定

核心提示: 本文初次报道应用免疫组织化学方法联合4种错配修复基因(mismatch repair gene, MMR)蛋白检测散发性结直肠癌的MMR-d, 为今后进一步阐述肿瘤的分子遗传学机制奠定基础.

李新霞, 胡晓杰, 吴涛, 胡昌明, 徐炜, 李洪波, 赵彤. 散发性结直肠癌组织病理学特征及微卫星不稳定状态分析400例. *世界华人消化杂志* 2013; 21(12): 1080-1089 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1080.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1080>

0 引言

DNA错配修复基因(mismatch repair gene, MMR)在DNA复制过程中修复错配的碱基使DNA精确复制, 保证人类遗传的保守性和稳定性. 当该基因功能丧失则导致细胞在增殖过程中出现的错误掺入和缺失不能修复, 表现出高度微卫星不稳定性(high level of microsatellite instability, MSI-H)^[1,2]. MSI是错配修复基因的突变表型, 80%以上的遗传性非息肉病性结直肠癌(hereditary nonpolyposis colorectal cancer, HNPCC)肿瘤和10%-15%的散发性结直肠癌表现为MSI^[1-3]. 大量文献报道MSI-H结直肠癌的临床病理学特征及生物学行为与MSS/MSI-L肿瘤存在显著差别^[4-6]. 对具有家族史或具有MSI-H肿瘤临床病理特征的结直肠癌患者进行MSI和MMR基因突变检测, 可能筛选出HNPCC综合征, 有助于预测异时多发性结直肠癌的发生, 为指导患者选择个体化化疗方案及肿瘤预后判断, 具有重要临床意义^[7-9]. 目前国内外关于结直肠癌MSI状态的研究主要集中在遗传相关结直肠癌, 散发性结直肠癌MSI的检测均为小样本且缺乏系统性报道^[10-12]. 尤其国内尚缺乏以结直肠癌形态学研究为基础、从蛋白水平检测DNA MMR的大宗病例报道^[11], MSI的检测多为复杂的分子检测^[13], 难以实现肿瘤患者及高危人群的常规筛查. 本课题拟对随机选择的400例散发性结直肠癌的临床病理特征进行观察, 应用免疫组织化学方法检测肿瘤DNA MMR缺失情况, 筛选MSI-H结直肠癌, 再应用PCR技术对该组病例进行MSI分子检测, 以期建立MSI的常规方法, 为指导患者个体化治疗及早期发现与遗传相关结直肠癌肿瘤提供依据.

1 材料和方法

1.1 材料 随机选择广州金域医学检验中心病理科2006-2010年结直肠癌手术根治标本400例, HE切片由两名资深消化病理医师复片, 按照2007年新版WHO消化系统肿瘤组织病理诊断标准进行形态学分型及分级. 临床病理学特征包括病变部位、肿瘤大小、肿瘤边缘、肿瘤出芽、

■研究前沿

微卫星不稳定检测 and 免疫组织化学检测是目前已被证明最有效的两种HNPCC综合征初筛手段. 如何提高免疫组织化学方法检测MSI状态的敏感性和特异性是今后的研究重点.

■创新盘点

本文初次报道应用免疫组织化学方法联合4种MMR蛋白检测散发性结直肠癌的MMR-d, 评估肿瘤MSI状态, 同时意外发现4例MSS结直肠癌中存在等位基因杂合性缺失(allele of heterozygosity, LOH), 但我们没有发现肿瘤组织LOH与MSI共存的现象。

表 1 5对微卫星引物的位置和序列

引物名称	引物序列	扩增片段(bp)
BAT25F	6FAM-TCGCCTCCAAGAATGTAAGT	chr4: 55598151+55598274
BAT25R	TCTGCATTTTAAGTATGGCTC	124
BAT26F	HEX-TGACTACTTTTGACTTCAGCC	chr2: 47641487+47641608
BAT26R	AACCATTCAACATTTTAAACCC	122
APCF(D5S346)	HEX-ACTCACTCTAGTGATAAATCG	chr5: 112213624-112213748
APCR(D5S346)	AGCAGATAAGACAGTATTACTAGTT	125
Mfd26CAF(D17S250)	6FAM-GGAAGAATCAAATAGACAAT	chr17: 37152092-37152243
Mfd26CAR(D17S250)	GCTGGCCATATATATATTTAAACC	152
AFM093xh3F(D2S123)	HEX-AAACAGGATGCCTGCCTTTA	chr2: 51288437+51288647
AFM093xh3R(D2S123)	GGACTTTCCACCTATGGGAC	211

间质类型以及肿瘤周围淋巴细胞反应和克隆样间质反应。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学方法: 所有标本均经40 g/L 甲醛溶液固定, 石蜡包埋, 4 μ m切片, 免疫组织化学SP法染色。所有抗体均购自Novocastra公司。抗体稀释度为: hMLH1: 1 : 600; hMSH2: 1 : 600; MSH6 1 : 800; PSM2抗体1 : 1 000。以距肿瘤组织5 cm以上的正常黏膜上皮和肿瘤内浸润的淋巴细胞为内对照。MSI结果判定: 4个DNA MMR中出现2个或2个以上蛋白失表达者为MSI-H; 出现1个蛋白失表达者为MSI-L; 4个MMR蛋白均表达者为MSS; 由于MSI-L和MSS的临床特征相似, 本组将此两类合并一组统计。

1.2.2 MSI的荧光定量PCR检测: (1)DNA提取: 根据HE染色结果, 对免疫组织化学检测的18例MSI-H病例分别挑选正常和肿瘤组织, 标记出最适合行显微切割的部位(肿瘤组织达80%以上)进行显微切割, 以酚/氯仿/异戊醇法分别提取肿瘤组织和其对应正常组织的DNA(采用QIAGEN QIAamp DNA FFPE Tissue Kit, Cat #56404); (2)微卫星不稳定性检测: 5对微卫星引物的位置和序列见表1(引物序列参考基因数据库(GDB: <http://www.gdb.org>)); (3)微卫星扩增: BAT25、BAT26、APC(D5S346)和AFM093xh3(D2S123): 94 $^{\circ}$ C 2 min; 94 $^{\circ}$ C 20 s, 62 $^{\circ}$ C 20 s, 72 $^{\circ}$ C 30 s; 10个循环; 94 $^{\circ}$ C 20 s, 60 $^{\circ}$ C 20 s, 72 $^{\circ}$ C 30 s; 25个循环; 72 $^{\circ}$ C 5 min; 室温25 $^{\circ}$ C保存。Mfd26CA(D17S250): 94 $^{\circ}$ C 2 min; 94 $^{\circ}$ C 20 s, 55 $^{\circ}$ C 20 s, 72 $^{\circ}$ C 30 s; 35个循环; 72 $^{\circ}$ C 5 min; 室温25 $^{\circ}$ C保存; (4)毛细管电泳进行片段分析(ABI 3130XL): 取2个新PCR管, 标记为1、2管, 其中1管加入BAT25、

AFM093xh3(D2S123)产物各2 μ L, BAT26产物4 μ L, 加入H₂O 42 μ L; 2管加入APC(D5S346)和Mfd26CA(D17S250)产物各2 μ L, 加入H₂O 46 μ L; 震荡混匀后微离。取一新管, 以8.8 μ L: 0.2 μ L的比例加入Hi-Di formamide和500 Liz Size Standards, 混合均匀后, 短暂离心。在96孔板中, 每孔加入9 μ L的Hi-Di formamide和500 Liz Size Standards混合液。于每孔中加入1 μ L混匀后的扩增产物, 震荡混匀后, 短暂离心。盖Plate Septa 96-Well盖, 置于热循环仪上, 95 $^{\circ}$ C变性3 min, 4 $^{\circ}$ C冷却5 min。在ABI 3130xl上进行片段分析。收集数据与结果; (5)电泳结束后实验数据采用片段分析软件Genemapperid V3.2进行数据整理和分析, 确定微卫星状态。MSI结果判定: (1)5个Mark中, 2个或2个以上Mark显示为微卫星序列不稳定时, 结果报告为MSI-H; (2)5个Mark中, 1个Mark显示为微卫星序列不稳定时, 结果报告为MSI-L; (3)5个Mark均显示稳定性, 结果报告为MSS。

统计学处理 采用 χ^2 检验分析组间差异, 应用Spearman等级相关检验分析相关性。采用SPSS10.0软件进行统计分析。

2 结果

2.1 临床病理特征 本组选择的2006-2010年结直肠癌手术切除标本400例, 男242例, 女158例, 年龄分布为22-85岁(中位年龄61岁)。病变部位: 左半结肠包括: 直肠185例、乙状结肠90例、降结肠8例, 共计283例; 右半结肠包括: 升结肠18例、横结肠17例、盲肠5例, 结肠肝曲、脾曲肿瘤77例, 共计117例。

2.2 组织学分型及分级

2.2.1 组织学分型: 本组400例散发性结直肠癌

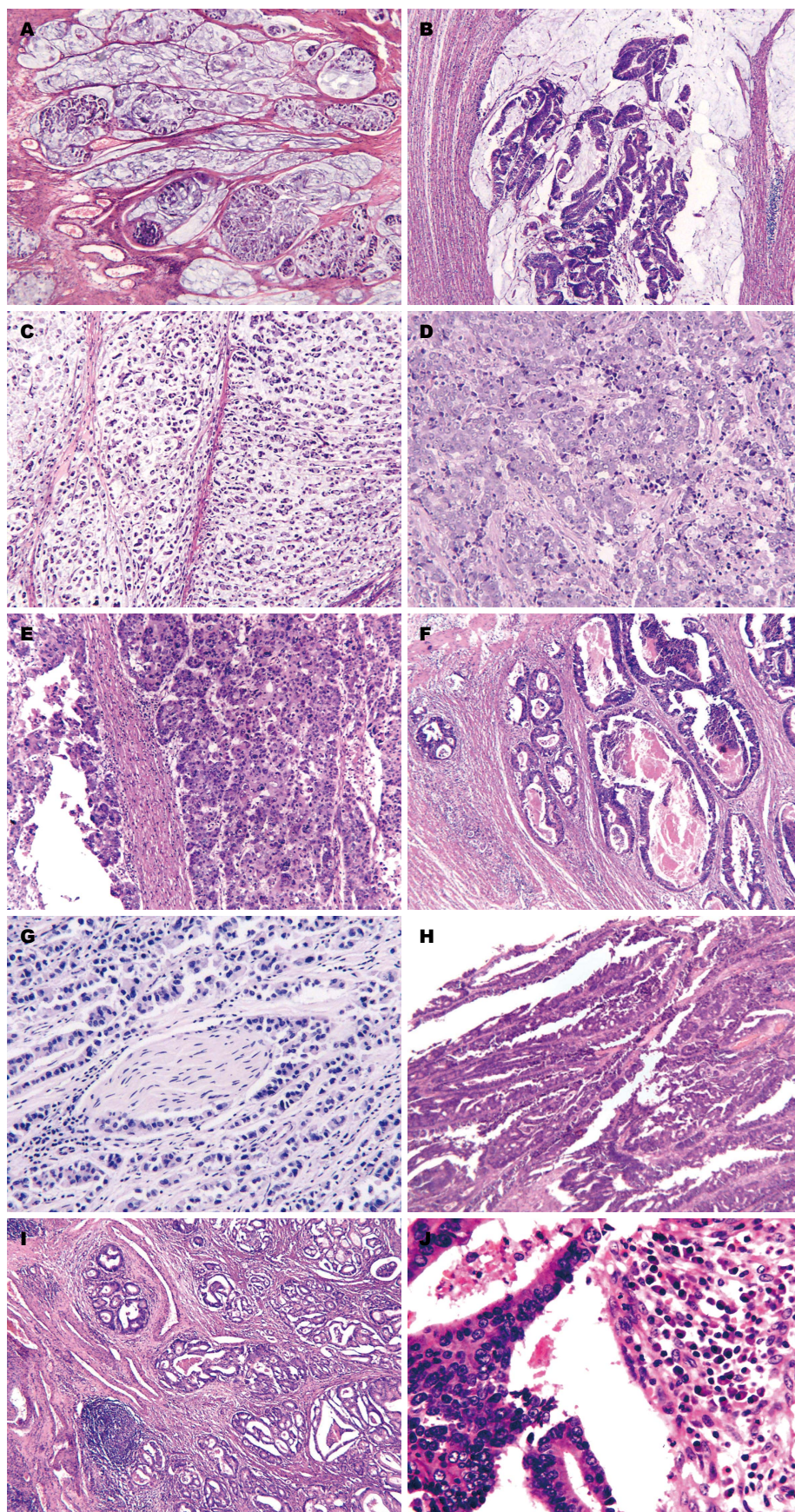


图 1 不同MSI状态肿瘤组织学特征. A: 黏液腺癌(HE, ×200); B: 中分化腺癌伴有黏液成分(HE, ×200). C: 印戒细胞癌(HE, ×200); D: 髓样癌(HE, ×200); E: 肿瘤上皮内淋巴细胞浸润(HE, ×200); F: 腔内坏死(HE, ×200); G: 神经侵犯, 黏液腺癌(HE, ×200); H: 绒毛状结构(HE, ×200); I: 肿瘤间质内克隆样淋巴细胞反应(HE, ×200); J: 间质内较多的浆细胞浸润(HE, ×400).

■应用要点

建立经济、高效、实用、快速的免疫组织化学方法评估结直肠癌的MSI状态, 为患者早期预防、早期诊断及早期治疗起重要作用, 该方法可在基层病理科广泛开展, 有利于结直肠癌患者的大宗病例的筛查.

中, 黏液腺癌53例(超过50%的肿瘤区域内见细胞外黏液, 图1A); 伴有黏液分化21例(肿瘤内可见细胞外黏液的量<50%, 图1B); 印戒细胞癌8例

(超过50%的肿瘤由印戒细胞组成, 图1C); 髓样癌15例(肿瘤细胞弥漫片状生长, 泡状核、显著核仁、胞浆丰富淡染以及明显上皮内淋巴细胞

■同行评价

本文首次在国内应用免疫组织化学方法联合4种常见的MMR蛋白对400例散发性结直肠癌进行了DNA错配修复蛋白的检测,具有一定的推广应用价值。同时发现了4例MSS肿瘤存在LOH,为今后进一步阐述肿瘤的分子发生机制奠定了基础。

表 2 18例MSI表达状态分型

序号	MSI状态				MSI
	MLH1	MSH2	MSH6	PMS2	
1	-	+	-	-	MSI-H
2	+	-	-	+	MSI-H
3	-	+	-	+	MSI-H
4	-	-	-	+	MSI-H
5	-	-	-	+	MSI-H
6	+	-	-	+	MSI-H
7	-	-	-	+	MSI-H
8	+	-	-	+	MSI-H
9	-	-	-	+	MSI-H
10	-	+	-	+	MSI-H
11	-	-	+	-	MSI-H
12	+	-	-	+	MSI-H
13	+	-	+	+	MSI-H
14	-	+	-	+	MSI-H
15	-	-	-	+	MSI-H
16	-	-	-	+	MSI-H
17	+	-	-	+	MSI-H
18	-	-	-	+	MSI-H

MSI: 微卫星不稳定性。

浸润,图1D, E);混合性生长方式者57例(同一张切片内至少存在2种不同的组织学亚型和生长方式)。非特殊类型腺癌:246例。

2.2.2 组织学分级:高分化腺癌23例(腺体成分>95%);中分化腺癌281例(腺体成分占50%-95%);低分化腺癌(腺体成分占5%-50%,包括黏液腺癌和印戒细胞癌,图1H)73例;未分化腺癌23例(腺体成分<5%)。

2.3 免疫组织化学结果

2.3.1 MLH1、MSH2、MSH6和PMS2蛋白表达特征:免疫组织化学染色证实:MSS肿瘤284例,MSI-L肿瘤98例,MSI-H肿瘤18例。其中MLH1-/MSH2-8例;MLH1-/MSH6-11例;MLH1-/PMS2-2例;MSH2-/MSH6-12例;MSH2-/PMS2-1例;MSH6-/PMS2-1例;MLH1-/MSH2-/MSH6-7例(表2)。400例肿瘤组织对应的手术切端正常大肠黏膜的4种抗体均呈阳性表达。

2.3.2 MLH1、MSH2、MSH6和PMS2蛋白表达与散发性结直肠癌临床病理学特征关系:MSS及MSI-L肿瘤组织学多为中分化腺癌,周围常伴腺瘤结构,可见腔内坏死(图1F)以及浸润性穿透性生长模式,常见脉管及神经侵犯(图1G),间质以瘢痕疙瘩样的胶原纤维束C型间质多见。MSI-H肿瘤有18例,男6例,女12例。发病年龄从

27-80岁,其中20-30岁2例;50-60岁3例;60-70岁5例;70-80岁8例。发病部位右半结肠5例;左半结肠13例。9例生长方式为膨胀性生长,9例为浸润性生长。间质反应A型层状纤细的胶原纤维基质、B型厚透明变性的瘢痕样胶原纤维间质及C型黏液基质相关瘢痕疙瘩样的胶原纤维束间质在MSI-H肿瘤组织中均可见。3例腺癌组织中见绒毛状结构(图1H),7例肿瘤浸润性前沿间质内或肿瘤上皮内可见克隆样淋巴细胞反应(图1I),11例伴有黏液成分,12例可见瘤周淋巴细胞增多及间质内浆细胞增多改变(图1G),9例可见肿瘤上皮内淋巴细胞浸润(tumor infiltrating lymphocyte, TIL)>2个/HPF。

2.4 荧光定量PCR检测MSI状态 18例免疫组织化学方法检测的MSI-H病例中,PCR技术检测到MSI-H7例(7/18, 38.9%)(图2),MSI-L 1例(1/18, 5.6%),MSS 6例(6/18, 33.3%),该方法还检测到等位基因杂合性缺失(allele of heterozygosity, LOH)病例4例(4/18, 22.2%)(图3),4例均累及D2S123位点。1例LOH位于D5S346位点;3例LOH位于D17S250位点。LOH的判定标准:肿瘤组织中微卫星DNA两个等位基因的相对强度与正常组织的等位基因相对强度的比值作为判定依据,即 $RF = (P2/P1-T)/(P2/P1-N)$, $RF < 0.667$ 或 > 1.50 时,我们判断该位点发生了LOH。

3 讨论

本组通过对2006-2010年随机选择的400例散发性结直肠癌肿瘤组织首先进行临床特征及形态学观察,男性占入选病例的60.5%(242/400),女性39.5%(158/400),患者中位年龄61岁。组织形态学观察:非特殊类型腺癌以中分化腺癌多见,占总病例数的61.5%(246/400)。其余分别为黏液腺癌53例(13.25%, 53/400),两种或以上混合性生长方式者57例(14.25%, 57/400),伴有黏液分化的腺癌21例(5.25%, 21/400),髓样癌15例(28.75%, 15/400),印戒细胞癌8例(2%, 8/400);免疫组织化学检测MMR蛋白表达,有18例为MSI-H肿瘤,阳性率仅4.5%(18/400),低于文献报道^[14-16],分析原因可能与入选病例以左半结肠老年男性多见,组织学以中分化腺癌为主有一定相关性。本组MSI-H结直肠癌患者中位年龄为67.5岁,略低于文献报道的74岁,但高于修订Bethesda指南推荐的<50岁的诊断年龄,说明需要扩大年龄范围在低龄因素之外去寻找MSI-H

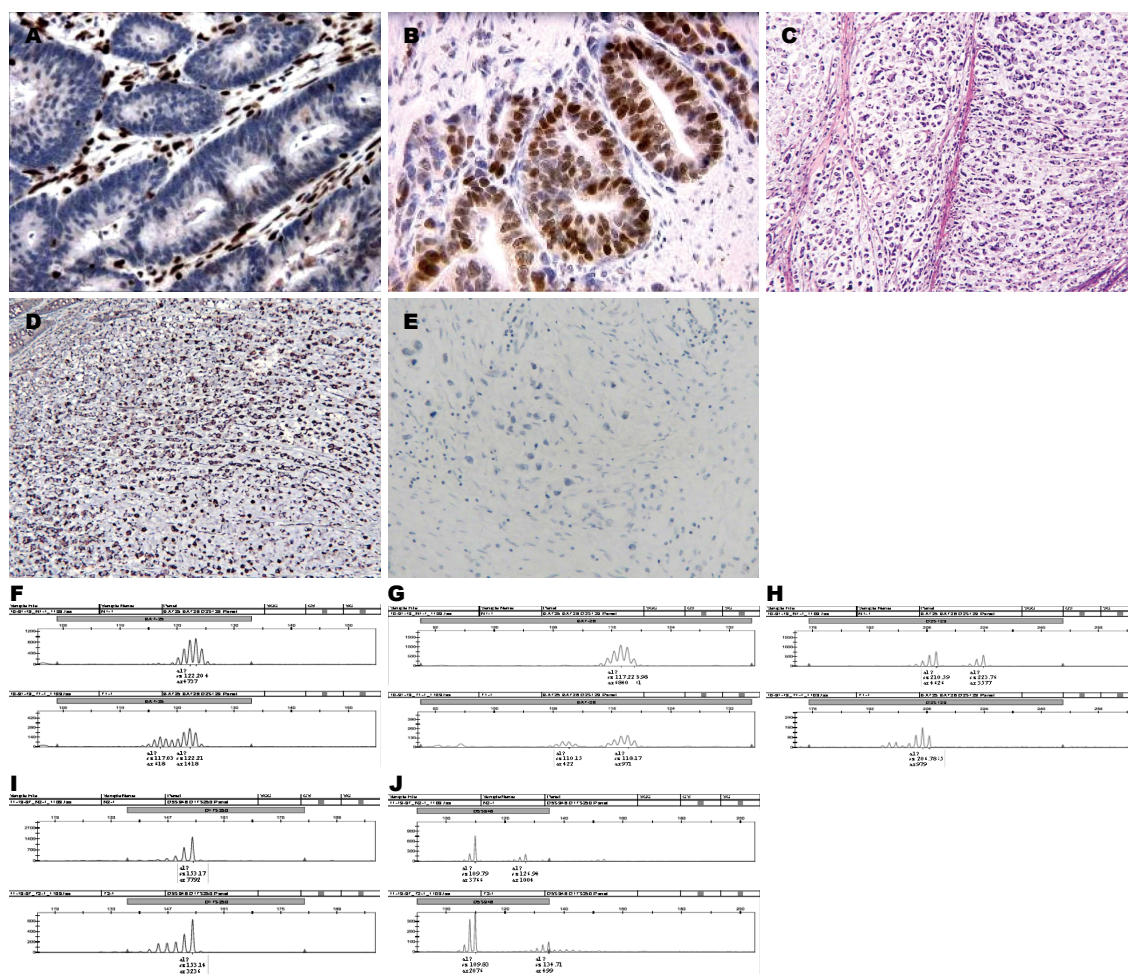


图2 印戒细胞癌。A: 间质内淋巴细胞核阳性(HE, $\times 200$); B: 瘤周正常腺上皮核阳性(HE, $\times 200$); C: 印戒细胞癌(HE, $\times 100$); PSM2+/-MLH1-/MSH2-阴性表达(HE, $\times 200$); D: PSM2蛋白表达(SP, $\times 200$); E: MSH2蛋白表达丢失(SP, $\times 200$); F: BAT25位点电泳图条带发生移位; G: BAT26位点电泳图条带发生移位; H: S123位点电泳图条带发生移位; I: S250位点电泳图未见异常; J: S346位点电泳图条带发生移位。

表型; 在18例MSI-H肿瘤中, 男6例, 女12例, 女性比例66.7%, 与以前报道的比例接近。18例MSI-H表型肿瘤中右半结肠5例; 左半结肠13例。在病理形态学上多表现为低分化且多伴有黏液分化, 黏液腺癌和印戒细胞癌分别有5例, 3例, 多见肿瘤上皮内淋巴细胞TIL、克隆样淋巴细胞间质反应及缺乏结直肠癌腺腔内脏的坏死, 淋巴结转移相对少见、且常出现组织学异质性的混合性形态学特征(7例), 与非特异性中分化腺癌常见腺腔内脏的坏死, 胶原化的癌性间质以及肿瘤周围常见管状腺瘤改变明显不同, 散发性MSI-H结直肠癌肿瘤患者与发病部位、患者年龄及性别无显著相关, 而与病理组织学分型及分级具有明显相关性。病理医生可通过其独特的形态学特征来鉴别微卫星状态、尽早认识HNPCC综合征。校正的Bethesda指导方针也明确指出病理形态学观察的重要性, 对于50-60岁的结直肠癌患者, 如病理医师明确肿

瘤MSI-H形态学特征, 则应推荐患者做进一步的检测, 存在风险的患者即可在肿瘤切除术后的常规病理检查中得到MMR蛋白表达情况的判断, 为今后在临床常规工作中对具有上述组织学特征的结直肠癌患者进行进一步MSI准确的分子检测及筛选与遗传相关结直肠癌起提示作用^[17]。

免疫组织化学法能检测针吸和肠镜活检的微小肿瘤碎块组织, 便于早期筛选HNPCC患者。该方法具有技术简单、费用较低、报告时间短的优点, 利于在基层医院病理科广泛开展^[18,19]。我们应用免疫组织化学方法对400例病例进行MSI检测, 116例(29%)表现出MSI, 其中MSI-H 18例(4.5%), MSI-L 98例(24.5%), MSS为71%。本组MSI-H肿瘤以MLH1、MSH2、MSH6蛋白丢失多见, 但与Kaur等^[17]报道不同MMR蛋白丢失可能具有相应的组织学亚型相比, 并无统计学意义, 与Shia等^[16]研究结果比较, 本组MSI-H肿

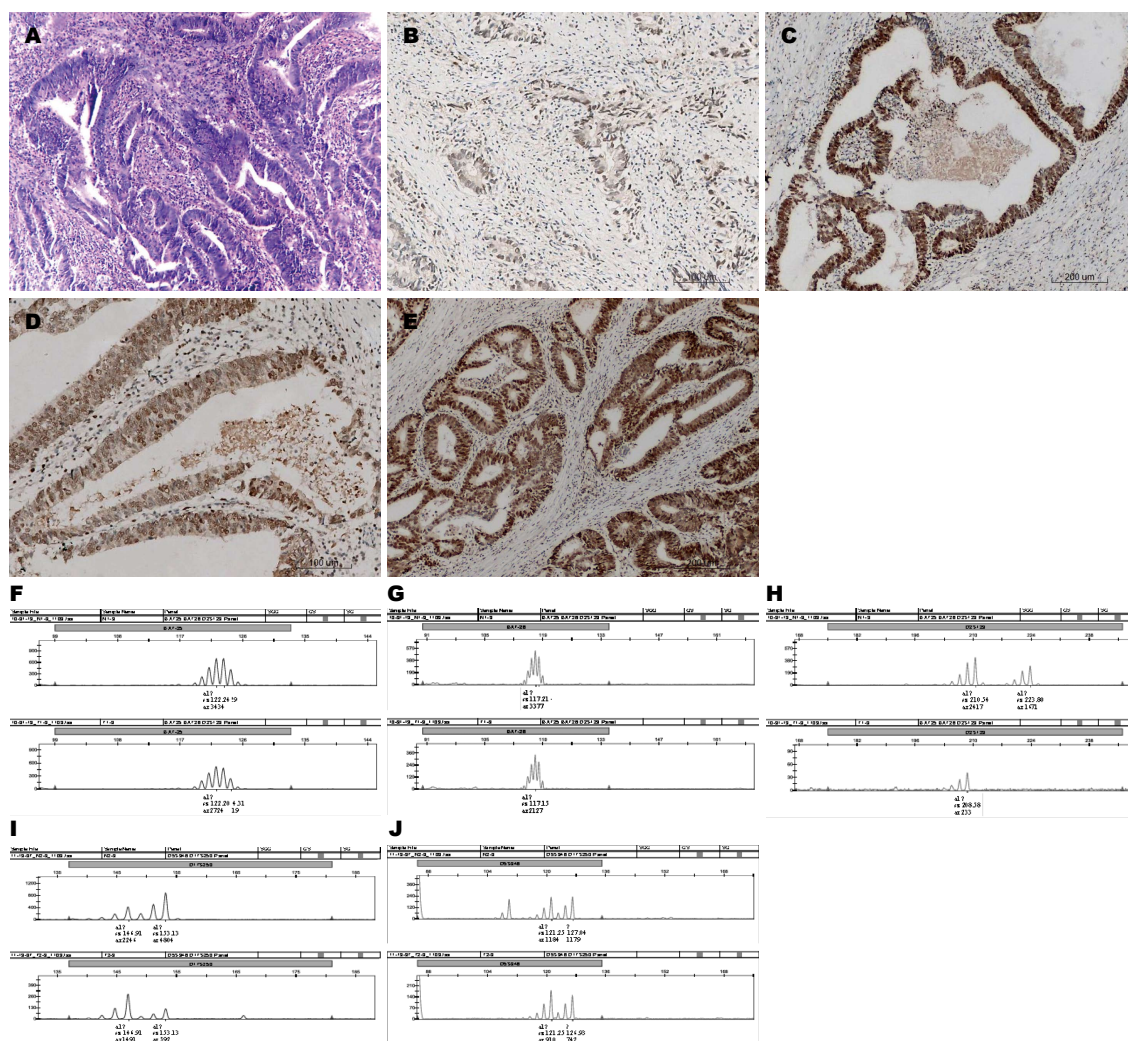


图3 中分化腺癌。A: 中分化腺癌(HE, $\times 100$); B: MLH1蛋白表达(SP, $\times 200$); C: MSH2表达(SP, $\times 200$); D: MSH2蛋白表达(SP, $\times 200$); E: PMS2蛋白表达(SP, $\times 200$); F: BAT25位点电泳图无变化; G: BAT26位点电泳图无变化; H: S123位点; I: S250位点; J: S346位点发生了等位基因杂合性缺失。

瘤发生频率较低。IHC方法能直接显示缺失表达的特殊MMR基因, 可针对目标基因做有效的突变分析, 同时IHC鉴别突变基因的能力也可对一些标准方法检测失败的患者进行补充。同时本组实验联合使用4种MMR蛋白, 可提高预测肿瘤MSI状态的敏感性和特异性。但是我们必须认识到: 虽然目前常见的4种MMR抗体能检测到大多数MMR蛋白缺失病例, 但仍可能存在潜在致病的假定基因, 因此可能会漏掉一些新的MMR蛋白丢失表达的情况, 而MSI的分子检测能检测任何异常致病的MMR基因, 在条件允许的情况下, 临床实践工作中在有MSI-H形态学基础上, 应尽量选择两种方法同时使用。

因此为进一步验证肿瘤MSI状态, 本组对免疫组织化学方法检测的18例MSI-H肿瘤进行了MSI分子检测, MSI-H肿瘤7例; MSI-L肿瘤1例; MSS肿瘤6例; LOH肿瘤4例。其中D2S123变异7

例(38.9%)、D17S250变异7例(38.9%)、D5S346变异5例(27.8%), BAT-25变异4例(22.2%)、BAT-26变异4例(22.2%)、5个标志之间无显著性差异($P>0.0005$)。文献报道HNPCC中单碱基重复序列BAT-26, BAT-25不稳定发生率较高, BAT-26在HNPCC肿瘤中阳性率高达100%, 单纯检测BAT-26即可判断家系成员的MSI状态, 散发性MSI结直肠癌中双碱基重复序列不稳定发生率较高^[20], 本组资料显示BAT-26阳性率为22.2%, 明显低于在HNPCC肿瘤中的检出率。为什么在HNPCC中单碱基重复序列不稳定发生率高, 而在散发性MSI结直肠癌中双碱基重复序列不稳定发生率高, 目前尚无定论。有趣的是: 对本组免疫组织化学检测的18例MSI-H肿瘤组织进行MSI分子检测, 意外发现4例MSS结直肠癌中存在LOH, 其中4例均检出DS123基因的LOH, 3例检出D17S250基因的LOH, 1例检出D5S346基因

的LOH. 但是我们没有发现肿瘤组织LOH与MSI共存的现象, 与文献报道一致^[21]. 是否提示MMR基因通过等位基因杂合性缺失是散发性结直肠癌发生的重要分子遗传途径之一? 有待大样本进一步研究.

微卫星不稳定检测和免疫组织化学检测是目前已被证明最有效的两种HNPCC综合征初筛手段. 既往研究发现, 免疫组织化学检测与MSI检测有很好的一致性, Shia统计了1999-2006年的16篇文献, 发现使用免疫组织化学预测hMLH1和hMSH2胚系突变的总敏感性为85%, 略低于MSI检测的93%, 但在具体的数值上还是具有较好的符合度^[16]. 最近一项研究对这两种方法进行了Meta分析: 发现免疫组织化学法的综合敏感性为82.6%, 诊断优势比为22.537; MSI法的综合敏感性为85.2%, 诊断优势比为33.115; 两种筛查方法效果均较好, 诊断效果无明显差异, 均对HNPCC筛查具有理想的诊断价值^[18]. 我们的研究也显示免疫组织化学作为初筛手段优于MSI检测之处在于其只需常规病理实验室就可进行, 并可应用于大规模的人群筛查; 而MSI检测常需要使用分子生物学实验室, 影响其临床应用. 由于散发性大肠癌发生hMLH1蛋白缺失的病例大部分是由hMLH1基因启动子甲基化引起^[22-24], 而且这样的患者也常发生BRAF基因突变, 因此对免疫组织化学检测到hMLH1蛋白缺失的病例进行hMLH1基因启动子甲基化和BRAF基因突变的检测可以帮助剔除那些非HNPCC病例; 对于未检测到突变的患者, 还可行hMSH6和hPMS2基因的检测及检测大片段缺失的情况, 我们也将在今后的筛查策略中加入这些检测帮助筛选HNPCC.

本研究对MSI-H肿瘤系统分析了临床病理学特征, 发现分化差、黏液分化、绒毛乳头状结构、肿瘤间质Crohn反应和肿瘤上皮内淋巴细胞浸润是MSI-H相对独特的形态学特征. 多数研究证明, 无家族史MSI-H大肠癌主要通过DNA甲基化和BRAF基因突变的锯齿状腺瘤-癌路径^[23,24], 而家族性MSI-H大肠癌是通过MMR基因种系突变及APC、 β -catenin和K-ras频繁突变的传统腺瘤-癌路径. 两者相比, 无家族史MSI-H大肠癌更多地具有女性多见、诊断年龄偏大、低分化、黏液分化、组织学异质性及癌周锯齿状腺瘤多见等特点; 本组检测的18例MSI-H肿瘤形态上符合上述特点. 家族性MSI-H大肠癌更多地具有类Crohn反应、TILs及癌组织周围

传统腺瘤多见等特点. 值得注意的是, 家族性MSI-H大肠癌更像普通型大肠癌, 而无家族史MSI-H大肠癌则具有特殊的形态学特征. 虽然对患者进行MLH1启动子甲基化和BRAF基因突变检测有助于辨别两者, 但本组研究和前期研究均认为对于有遗传倾向肿瘤患者第一步应选择简便、易行、互补、快速的方法, 对有遗传倾向的家系不能仅以阿姆斯特丹标准进行选择, 而应作相对广泛的初筛, 以减少漏诊; 对联合形态学及免疫组织化学方法筛选的MSI-H肿瘤再进行突变基因检测, 即首先检测肿瘤组织中MMR蛋白包括hMSH2、PMS2、hMLH1、MSH6蛋白是否缺失, 对MSI-H或者蛋白表达丢失者再进行hMSH2或hMLH1种系突变检测, 这样不仅可以提高突变检出率, 提高效率, 减少种系突变基因检测的数目, 而且可以减轻患者的经济负担.

结直肠癌MSI检测不仅是筛选HNPCC肿瘤的重要指标, 而且可以使10%-15%的MSI-H表型肿瘤的治疗和预后策略发生改变, 即5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-Fu)是结直肠癌的基础一线化疗药物, MMR-缺陷肿瘤对5-Fu不敏感, 患者无法从5-Fu的化疗药中获益或提高生存率^[25-30]. 因此, 判断结直肠癌MSI状态对提高结直肠癌的预防、诊断和治疗水平, 对降低结直肠癌的发病率和死亡率有着重要意义.

4 参考文献

- 1 Iacopetta B, Grieco F, Amanuel B. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Asia Pac J Clin Oncol* 2010; 6: 260-269 [DOI: 10.1111/j.1743-7563.2010.01335.x]
- 2 Jacob S, Praz F. DNA mismatch repair defects: role in colorectal carcinogenesis. *Biochimie* 2002; 84: 27-47 [PMID: 11900875 DOI: 10.1016/S0300-9084(01)01362-1]
- 3 Douillard JY. Microsatellite instability and mismatch repair genes in colorectal cancer: useful tools for managing patients and counseling their relatives. *Clin Colorectal Cancer* 2010; 9: 193-194 [PMID: 20920989 DOI: 10.3816/CCC.2010.n.028]
- 4 Merok MA, Ahlquist T, Røyrvik EC, Tufeland KF, Hektoen M, Sjø OH, Mala T, Svindland A, Løthe RA, Nesbakken A. Microsatellite instability has a positive prognostic impact on stage II colorectal cancer after complete resection: results from a large, consecutive Norwegian series. *Ann Oncol* 2012 Dec 12. [Epub ahead of print] [PMID: 23235802]
- 5 Jung SB, Lee HI, Oh HK, Shin IH, Jeon CH. Clinicopathologic Parameters for Prediction of Microsatellite Instability in Colorectal Cancer. *Cancer Res Treat* 2012; 44: 179-186 [PMID: 23091444 DOI: 10.4143/crt.2012.44.3.179]
- 6 Hyde A, Fontaine D, Stuckless S, Green R, Pollett A, Simms M, Sipahimalani P, Parfrey P, Young-

- husband B. A histology-based model for predicting microsatellite instability in colorectal cancers. *Am J Surg Pathol* 2010; 34: 1820-1829 [PMID: 21107088 DOI: 10.1097/PAS.0b013e3181f6a912]
- 7 de la Chapelle A, Hampel H. Clinical relevance of microsatellite instability in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: 3380-3387 [PMID: 20516444 DOI: 10.1200/JCO.2009.27.0652]
- 8 Des Guetz G, Schischmanoff O, Nicolas P, Perret GY, Morere JF, Uzzan B. Does microsatellite instability predict the efficacy of adjuvant chemotherapy in colorectal cancer? A systematic review with meta-analysis. *Eur J Cancer* 2009; 45: 1890-1896 [PMID: 19427194 DOI: 10.1016/j.ejca.2009.04.018]
- 9 Greenson JK, Huang SC, Herron C, Moreno V, Bonner JD, Tomsho LP, Ben-Izhak O, Cohen HI, Trougouboff P, Bejhar J, Sova Y, Pinchev M, Rennert G, Gruber SB. Pathologic predictors of microsatellite instability in colorectal cancer. *Am J Surg Pathol* 2009; 33: 126-133 [PMID: 18830122 DOI: 10.1097/PAS.0b013e31817ec2b1]
- 10 郑树, 张苏展, 蔡善荣, 黄彦彦. 大肠癌筛查方案及其实践. *中国肿瘤* 2009; 18: 701-703
- 11 孟文建, 王玲, 于永扬, 李立, 周斌, 周总光. 微卫星不稳定在散发性II、III期直肠癌中的意义. *重庆医学* 2010; 39: 2420-2422
- 12 孟晓明, 盛剑秋, 武子涛, 付蕾, 安贺娟, 韩英, 李世荣. 根据临床病理学特征鉴别无家族史MSI-H大肠癌. *基础医学与临床* 2010; 30: 252-256
- 13 孟晓明, 金鹏, 盛剑秋, 陆晓娟, 付蕾, 范如英, 李恕军, 李世荣. 散发性大肠癌患者中错配修复基因胚系突变筛查策略. *胃肠病学和肝病学杂志* 2010; 19: 604-607
- 14 Greenson JK, Bonner JD, Ben-Yzhak O, Cohen HI, Miselevich I, Resnick MB, Trougouboff P, Tomsho LD, Kim E, Low M, Almog R, Rennert G, Gruber SB. Phenotype of microsatellite unstable colorectal carcinomas: Well-differentiated and focally mucinous tumors and the absence of dirty necrosis correlate with microsatellite instability. *Am J Surg Pathol* 2003; 27: 563-570 [PMID: 12717242 DOI: 10.1097/00000478-200305000-00001]
- 15 Hornick JL, Farraye FA, Odze RD. Clinicopathologic and immunohistochemical study of small apparently "de novo" colorectal adenocarcinomas. *Am J Surg Pathol* 2007; 31: 207-215 [PMID: 17255765 DOI: 10.1097/01.pas.0000213383.17418.a9]
- 16 Shia J, Tang LH, Vakiani E, Guillem JG, Stadler ZK, Soslow RA, Katabi N, Weiser MR, Paty PB, Temple LK, Nash GM, Wong WD, Offit K, Klimstra DS. Immunohistochemistry as first-line screening for detecting colorectal cancer patients at risk for hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome: a 2-antibody panel may be as predictive as a 4-antibody panel. *Am J Surg Pathol* 2009; 33: 1639-1645 [PMID: 19701074 DOI: 10.1097/PAS.0b013e3181b15aa2]
- 17 Kaur G, Masoud A, Raihan N, Radzi M, Khamizar W, Kam LS. Mismatch repair genes expression defects & association with clinicopathological characteristics in colorectal carcinoma. *Indian J Med Res* 2011; 134: 186-192 [PMID: 21911971]
- 18 彭勇, 陈明清, 董坚. 免疫组织化学法筛选遗传性非息肉性大肠癌的研究进展. *实用癌症杂志* 2009; 24: 672-674
- 19 Alkhalidi H, Kfoury H. Status of mismatch repair genes hMSH2 and hMSH6 in colorectal cancer in Saudi patients: an immunohistochemical analysis. *East Mediterr Health J* 2012; 18: 1114-1117 [PMID: 23301373]
- 20 Kria Ben Mahmoud L, Arfaoui A, Khiari M, Chaar I, Lounis A, Sammoud S, Ben Hmida AM, Gharbi L, Mzabi SR, Bouraoui S. Evaluation of microsatellite instability, MLH1 expression and hMLH1 promoter hypermethylation in colorectal carcinomas among Tunisians patients. *Tunis Med* 2012; 90: 646-653 [PMID: 22987381]
- 21 Dietmaier W, Riedlinger W, Kohler A, Wegele P, Beyser K, Sagner G, Wartbichler R, Ruschoff J. Detection of Microsatellite Instability (MSI) and Loss of Heterozygosity (LOH) in Colorectal Tumors by Fluorescence-based Multiplex Microsatellite PCR. *Biochemica* 1999; 2: 43-46
- 22 Suehiro Y, Hinoda Y. [Genetic and epigenetic changes in colorectal cancer and genetic testing for personalized medicine]. *Rinsho Byori* 2012; 60: 976-981 [PMID: 23323463]
- 23 van Roon EH, Boot A, Dihal AA, Ernst RF, van Wezel T, Morreau H, Boer JM. BRAF mutation-specific promoter methylation of FOX genes in colorectal cancer. *Clin Epigenetics* 2013; 5: 2 [PMID: 23324568 DOI: 10.1186/1868-7083-5-2]
- 24 Vlaykova T, Mitkova A, Stancheva G, Kadiyska T, Gulubova M, Yovchev Y, Cirovski G, Chilingirov P, Damyanov D, Kremensky I, Mitev V, Kaneva R. Microsatellite instability and promoter hypermethylation of MLH1 and MSH2 in patients with sporadic colorectal cancer. *J BUON* 2011; 16: 265-273 [PMID: 21766496]
- 25 Jover R, Zapater P, Castells A, Llor X, Andreu M, Cubiella J, Balaguer F, Sempere L, Xicola RM, Bujanda L, Reñé JM, Clofent J, Bessa X, Morillas JD, Nicolás-Pérez D, Pons E, Payá A, Alenda C. The efficacy of adjuvant chemotherapy with 5-fluorouracil in colorectal cancer depends on the mismatch repair status. *Eur J Cancer* 2009; 45: 365-373 [PMID: 18722765 DOI: 10.1016/j.ejca.2008.07.016]
- 26 Min BH, Bae JM, Lee EJ, Yu HS, Kim YH, Chang DK, Kim HC, Park CK, Lee SH, Kim KM, Kang GH. The CpG island methylator phenotype may confer a survival benefit in patients with stage II or III colorectal carcinomas receiving fluoropyrimidine-based adjuvant chemotherapy. *BMC Cancer* 2011; 11: 344 [PMID: 21827707 DOI: 10.1186/1471-2407-11-344]
- 27 Van Cutsem E, Tabernero J, Lakomy R, Prenen H, Prausová J, Macarulla T, Ruff P, van Hazel GA, Moiseyenko V, Ferry D, McKendrick J, Polikoff J, Tellier A, Castan R, Allegra C. Addition of aflibercept to fluorouracil, leucovorin, and irinotecan improves survival in a phase III randomized trial in patients with metastatic colorectal cancer previously treated with an oxaliplatin-based regimen. *J Clin Oncol* 2012; 30: 3499-3506 [PMID: 22949147 DOI: 10.1200/JCO.2012.42.8201]
- 28 Nukatsuka M, Saito H, Sakamoto K, Nakagawa F, Uchida J, Kobunai T, Shiraishi K, Takechi T. Efficacy of combination chemotherapy using oral fluoropyrimidine S-1 with oxaliplatin (SOX) against colorectal cancer in vivo. *Anticancer Res* 2012; 32: 2807-2812 [PMID: 22753741]
- 29 Bao F, Panarelli NC, Rennert H, Sherr DL, Yantiss RK. Neoadjuvant therapy induces loss of MSH6 expression in colorectal carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2010; 34: 1798-1804 [PMID: 21107085 DOI: 10.1097/

PAS.0b013e3181f906cc]
30 Hosokawa A, Ogawa K, Ando T, Suzuki N, Ueda A, Kajiura S, Kobayashi Y, Tsukioka Y, Horikawa N, Yabushita K, Fukuoka J, Sugiyama T. Preventive

effect of traditional Japanese medicine on neurotoxicity of FOLFOX for metastatic colorectal cancer: a multicenter retrospective study. *Anticancer Res* 2012; 32: 2545-2550 [PMID: 22753712]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

1 修回稿信件

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

2 稿件修改

来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 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.

胃增生性息肉研究进展

宋美玥, 李娟, 焦宇飞

■背景资料

胃增生性息肉(GHP)是胃息肉中最常见的息肉样病变之一,目前已证实其具有癌变潜能。GHP发病机制不明,至今仍未发现能特征性提示GHP将发生恶性转变的标志物。

宋美玥, 李娟, 焦宇飞, 哈尔滨医科大学附属第二临床医院病理科, 黑龙江省哈尔滨市 150086

宋美玥, 硕士, 主要从事病理学研究。

作者贡献分布: 本文综述由宋美玥与李娟共同完成; 焦宇飞审核。

通讯作者: 焦宇飞, 教授, 主任医师, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区学府路246号, 哈尔滨医科大学附属第二临床医院病理科, yufeijiao@yahoo.com

电话: 0451-86605803

收稿日期: 2013-01-29 修回日期: 2013-03-04

接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-04-28

An overview of current research of gastric hyperplastic polyps

Mei-Yue Song, Juan Li, Yu-Fei Jiao

Mei-Yue Song, Juan Li, Yu-Fei Jiao, Department of Pathology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China
Correspondence to: Yu-Fei Jiao, Professor, Chief Physician, Department of Pathology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 246 Xuefu Road, Nangang Region, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. yufeijiao@yahoo.com

Received: 2013-01-29 Revised: 2013-03-04

Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-04-28

Abstract

Gastric hyperplastic polyp (GHP) is one of the most common polypoid lesions of the stomach and has the potential of malignant transformation. This article gives a review of recent progress in research of GHP in terms of clinical and pathological factors, pathogenesis, relation with atypical hyperplasia and canceration, molecular biology and mucin expression.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Gastric hyperplastic polyps; Pathogenesis; Molecular biology; Mucin phenotype

Song MY, Li J, Jiao YF. An overview of current research of gastric hyperplastic polyps. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(12): 1090-1095 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1090.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1090>

摘要

胃增生性息肉(gastric hyperplastic polyps, GHP)

是胃息肉中最常见的息肉样病变之一,目前已证实其具有癌变潜能。本文主要从GHP的临床病理学因素、发病机制、GHP与不典型增生和癌变的关系、GHP的分子生物学研究和粘蛋白的表达等方面,对GHP研究进展作一综述。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 胃增生性息肉; 发病机制; 分子生物学; 粘蛋白表型

核心提示: 胃增生性息肉(gastric hyperplastic polyps, GHP)通常被认为是一种良性病变,但是目前越来越多的报道证实其具有癌变潜能。有些研究结果证实GHP的癌变过程为: GHP→不典型增生→局灶癌变。近年来,对GHP中的粘蛋白表达的研究发现粘蛋白可能是在恶性肿瘤的早期阶段的检测、治疗及提示肿瘤预后的良好标志物。研究GHP粘蛋白的表达情况可能是将来研究的重点内容。本文从发病机制、分子生物学、粘蛋白的表达等方面对GHP研究进展进行概述。

宋美玥, 李娟, 焦宇飞. 胃增生性息肉研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(12): 1090-1095 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1090.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1090>

0 引言

胃增生性息肉(gastric hyperplastic polyps, GHP)是胃息肉的主要类型^[1-3], 约占所有胃上皮息肉的70%-90%^[2-6], 在胃窦部多见^[7]。GHP通常被认为是一种良性病变,但是越来越多的实验已证实其具有癌变潜能^[8-12]。

1 GHP的临床病理学因素

GHP患者年龄一般为20-88岁。虽然大多数研究指出,女性发病率略高,但也有报道显示男性略多发。患者可无症状,通常在胃肠道内镜检查时发现息肉^[13-16]。GHP可发生于胃组织的任何部位(贲门、胃体、胃底、胃窦等),但较常见于胃窦部^[7]。GHP大小从几毫米到几厘米不等,大多数GHP的最大径是1 cm,最大的GHP可达12 cm^[17]。

■同行评议者

杜雅莉, 教授, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科



GHP患者中, 20%为多发性GHP, 通常这部分患者同时患有自身免疫性胃炎^[13].

2 病理学表现

大部分GHP是小的广基性息肉, 大的GHP通常可有蒂或有亚蒂. GHP的形态学特点是胃小凹上皮细胞增生, 腺体扭曲伸长, 平滑肌细胞增生以及间质水肿并伴有炎细胞浸润^[18].

3 鉴别诊断

GHP与胃Peutz-Jeghers息肉在组织学上非常相似. 胃Peutz-Jeghers息肉组织病理学特点是平滑肌广泛增生形成树枝状形态, GHP的平滑肌虽然也增生, 但是并不形成如此广泛的增生. 而且, 胃Peutz-Jeghers息肉的间质中通常无炎症细胞浸润. 此外, 胃Peutz-Jeghers息肉非常罕见^[19]. 胃Peutz-Jeghers息肉患者特征性的临床表现为在面部、口唇周围、颊黏膜、指和趾、以及手掌和足底部皮肤等处发生色素斑. 严重者可同时出现腹痛、腹泻、黏液便、便血、便秘、呕血等消化系症状^[20].

4 发病机制

GHP发病机制目前尚不清楚^[21-25], 研究表明, GHP是一种修复再生性的病变. 据报道24.2%的患者随着胃黏膜损伤的愈合, 增生的小凹上皮组织会逐渐消失, 其余将发展为GHP^[21].

4.1 幽门螺杆菌与GHP发生的关系 GHP的发生与各种慢性胃炎具有很大的相关性, 特别是由幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染引起的胃炎和自身免疫性胃炎^[13,22]. 一些研究表明, GHP与*H. pylori*的感染密切相关^[23]. Ohkusa等研究表明根除*H. pylori*能够使一定数量的GHP消失或减退^[16,22-24]. 在Saccá等^[16]的研究中, 虽然70%的患者*H. pylori*根除后GHP消失或减退, 但仍有部分患者*H. pylori*被根除后, GHP依然存在^[16]. 还有一部分*H. pylori*检测阳性的患者未查见GHP的发生, 而*H. pylori*血清学试验阴性的人群也患有GHP. 因此, 有研究表示*H. pylori*与GHP的发生无明显相关性^[3,11,12,25,26]. 这些研究说明还有其他因素导致GHP的持续存在, 其原因还有待于进一步研究.

4.2 自身免疫性胃炎与GHP发生的关系 Dirschmid等^[27]的研究表明, 自身免疫性胃炎与GHP的发生密切相关. 而且长期以来自身免疫性胃炎被认为是一种癌前病变^[20,27].

4.3 长期应用质子泵抑制剂与GHP发生的关系 Pashankar等^[28]研究表明长期应用质子泵抑制剂(特别是儿童), 容易引发胃息肉. 目前大量研究表明长期应用质子泵抑制剂可以诱发胃底腺息肉. 在Carmack等^[25]对美国120 000患者的食管、胃、十二指肠镜检中, 胃息肉的患病率占6.35%, 胃底腺息肉的患病率最高, 占患者数的77%, 但未见肠上皮化生(intestinal metaplasia, IM). GHP的患病率为17%, 其中发生IM占13%. 他们推断胃底腺息肉的患病率明显增高, GHP的患病率显著降低是广泛使用质子泵抑制剂的结果^[25]. *H. pylori*感染率和萎缩性胃炎的患病率持续降低可能是GHP相对降低的原因^[25]. 许多研究表明东亚地区的研究数据可能不能应用于北美的疾病分类学研究中. 有文献同样报道胃息肉的多发类型因地理位置不同而发生改变. 东欧和亚洲GHP的发生率高于西方国家^[29]. Carmack等^[25]研究中也表明, 在西方国家, 胃底腺息肉的患病率逐渐上升, 主要原因是由于长期应用质子泵抑制剂治疗由*H. pylori*感染而引发的胃炎. GHP发生与长期应用质子泵抑制剂的关系尚不清楚. 如果GHP确实与*H. pylori*关系密切, 质子泵抑制剂是根除*H. pylori*的主要治疗方法, 长期应用质子泵抑制剂便可降低GHP的发生率. 但在GHP发生机制还不明确的今天, 此结论还需要进一步论证.

4.4 器官移植与GHP发生的关系 Jewell等^[26]对器官移植受体发生GHP的研究表明, GHP的发生与器官移植有明显的关联性. 由于器官移植受体患者需要在术后应用免疫抑制药物, 自身免疫抑制容易并发感染, 慢性胃炎的发生率高于正常人群, 这可能是GHP容易发生在器官移植受体患者的主要原因. 器官移植受体患者的GHP和非器官移植患者的GHP相比较, 其组织病理学特征无明显差异, 也在一定程度上表明两者的病理学发生极有可能是相同的. 但是器官移植受体患者容易发生GHP的明确发病机制还有待于进一步的研究.

5 GHP不典型增生或癌变

GHP最初通常被认为是一种良性病变, 但是目前越来越多的研究报道GHP伴有不典型增生的发生率是1%-20%^[13,19,30-34], GHP伴有局灶癌变的发生率是0.3%-7.1%^[1,19,32,35,36]. GHP发生局部癌变的癌组织通常是高分化癌, 但也有一些报道证实GHP发生局部癌变的癌组织为印戒细胞癌

■ 研发前沿

靶向治疗是目前分子生物学的研究热点. 通过分子水平对粘蛋白调控作用机制的不断研究, 粘蛋白有可能成为GHP有效的基因靶点.

■相关报道

近期有篇关于粘蛋白的报道,显示在GHP伴低级别不典型增生(LGD)、GHP伴低级别不典型增生(HGD)或癌变的患者中,MUC1的表达模式不同,所有正常的胃黏膜和85.6%的未伴有不典型增生的GHP,MUC1在细胞质和细胞膜弥漫阳性;在80%的GHP伴LGD和100%的GHP伴HGD或癌变其MUC1在腔缘侧细胞膜阳性($P<0.001$).即MUC1表达模式2的GHP更具有恶变潜能.该篇文章从粘蛋白的表达模式揭示GHP的恶变潜能,新颖,有实际意义.

(低分化癌)^[37,38].之前有文献证实,与消化系的其他息肉类似,越大的GHP(特别是>2 cm的GHP)发生癌变的危险性越高^[32,39,40].因此,研究表明>2 cm的GHP应该被完全切除^[41].同时,有文献表明,<2 cm的GHP同样具有癌变潜能^[30,42].另有一些文章表明,>0.5 cm的GHP均应被切除^[43].然而,GHP毕竟是一种癌变率较低的病变,我们还不能将GHP看做是一种癌前病变.但这样的做法可能是不实用的.因此,找出一些在GHP发生癌变时特征性的标志物是GHP研究的重要内容.

6 GHP的分子生物学研究

目前为止,有关GHP的研究均为小样本分析GHP与胃癌发生的特异性通路的关系.有一些学者对伴有不典型增生或局灶癌变的GHP患者进行了相关分子生物学的研究.*p53*抑癌基因通过诱导细胞凋亡抑制癌症的发展.*p53*基因的突变和/或蛋白聚集是人类肿瘤(特别是消化系肿瘤)发生最常见的改变之一.由于杂合子缺失、移码突变等原因,使得*p53*基因失活,肿瘤形成^[44,45].

有研究显示与正常和增生的胃黏膜相比,在不典型增生的区域中P53的阳性率明显增加^[32,35,46-48].并且推测P53的阳性表达在未伴有不典型增生或局灶癌变的GHP发展至GHP伴有不典型增生再发展到GHP伴有局灶癌变(GHP-GHP伴有不典型增生-GHP伴局灶癌变)的过程中是一个晚期事件^[32,35,46-48].Murakami等^[35]的研究显示,在GHP-GHP伴有不典型增生-GHP伴有局灶癌变的过程中,P53的阳性表达率逐渐增加,同时还表明P53的标记指数与GHP的大小具有明显的相关性.但是,P53在GHP中表达的研究仍存在争议.在Dijkhuizen等^[49]的研究中,P53在GHP的表达呈阴性.Dijkhuizen等^[49]同时研究了MDM2以及感染了巨细胞病毒和EB病毒患者的情况,所有这些研究结果*p53*表达均为阴性.以上研究结果的不同可能是由于样本数量不同所造成的.Dijkhuizen等^[49]研究发现GHP中存在*k-ras*基因的突变.Murakami等^[35]的研究显示6%的GHP患者存在*k-ras*基因的突变^[32,49].Dijkhuizen等^[49]推断单独的*k-ras*基因突变并不能引起GHP发生肿瘤性转换,因为在未伴有不典型增生或癌变的GHP中同样检测到了*k-ras*基因的突变.

在GHP伴有不典型增生的患者中,一些学者研究了微卫星的不稳定性(microsatellite instability, MSI),其发生0%-16.7%^[47].虽然Nogueira等^[47]

证实GHP中存在MSI,但是他并不能解释GHP发生恶性转换与MSI的关系.Weiss等^[50]应用基因组杂交方法分析3例GHP和8例腺瘤,发现所有患者均检测到染色体异常.腺瘤的染色体异常发生在7q36、20q12和5q14-q21.GHP的染色体异常见于15q11-14、1p21-31和21q11-21.2.在GHP和腺瘤中均频繁发现9p21.3的染色体缺失.他们表示,在胃的癌前病变的研究中,同样检测到以上染色体的异常,说明以上染色体异常与胃癌的发生相关.因此,他们断言在胃癌的发生中存在双通路概念-GHP通路和腺瘤通路.

Ki-67可作为反映细胞增殖活性的重要指标.通过Ki-67的表达可以帮助我们判断GHP细胞的增殖情况.Murakami等^[35]对GHP细胞中的Ki-67标记指数情况的研究表明,GHP细胞中的Ki-67标记指数明显高于正常胃黏膜细胞,其差异具有统计学意义.在GHP伴高级别不典型增生(high grade dysplasia, HGD)的Ki-67标记指数明显高于未伴有不典型增生的GHP或GHP伴低级别不典型增生(low grade dysplasia, LGD)的Ki-67标记指数,其差异具有统计学意义.在一例对GHP伴印戒细胞癌的研究结果显示,Ki-67在癌组织和癌组织周围的小凹上皮细胞中的阳性率分别为72.3%和70.5%,但是在距癌组织较远处的小凹上皮细胞中的阳性表达率仅4.5%^[11].

Murakami等^[35]研究了p21^{WAF1/CIP1}和cyclin D1在GHP的表达情况.他们证实,在GHP-GHP伴有不典型增生-GHP伴有局灶癌变的过程中,p21^{WAF1/CIP1}和cyclin D1的表达逐渐减少.

其他学者也试图研究其他的标志物(如:ERB-2, APC, DCC, LOH)以阐明GHP发生癌变的机制^[32,47,49].然而,目前为止未发现提示GHP癌变有价值的标志物.

7 GHP与粘蛋白表型的关系

粘蛋白(mucin, MUC)是一类高分子量的糖蛋白,目前已发现20种MUC.根据其结构和功能分为分泌型和膜结合型2大类^[51].分泌型粘蛋白包括MUC2、MUC5AC、MUC5B、MUC6、MUC7、MUC8、MUC9和MUC19.编码前四种蛋白的基因位于染色体11q15.5上.这些MUC在维持胃肠道正常的生理过程、肿瘤的发生、发展及转移中扮演着重要的角色^[51].MUC1是克隆最早的跨膜粘蛋白,定位于染色体1q21-24^[52,53].MUC1在许多分泌型上皮细胞的顶端表达^[51].MUC2主要表达于小肠和结肠

的杯状细胞中^[52,54,55]。MUC3主要表达在胃肠道上皮细胞中,其基因定位于染色体7q22^[51]。胃癌组织中,MUC3的阳性表达与患者的不良预后相关^[56]。MUC5AC主要表达在胃肠道和支气管上皮细胞中,在胃小凹上皮细胞呈高表达^[57]。MUC5B主要表达在支气管、唾液腺和食管上皮中。MUC6主要表达在胃及十二指肠的黏液腺体中^[58,59]。

越来越多的研究报道了胃癌的发生、预后以及临床病理学因素与MUC1、MUC2、MUC3、MUC5AC和MUC6的表达相关^[56,60-68]。也有研究显示在GHP伴LGD、GHP伴HGD和GHP伴局灶癌变的患者中MUC5AC的表达量逐渐减少,与未伴有不典型增生或癌变的GHP相比,MUC2在GHP伴有不典型增生或局部癌变的患者中表达量明显升高^[44,68]。

近期有研究表明在GHP伴LGD、GHP伴HGD或癌变的患者中,MUC1的表达模式不同。在所有正常的胃黏膜和85.6%未伴有不典型增生的GHP中,MUC1为第一种表达模式:在细胞质和细胞膜弥漫阳性。在80%GHP伴LGD和100%GHP伴HGD或癌变中,MUC1为第二种表达模式:在腔缘侧细胞膜阳性($P<0.001$)^[68]。此研究结果还证实,在伴有不典型增生或癌变的GHP中MUC1的表达与未伴有不典型增生或癌变的GHP中相比,MUC1的表达多呈模式2($P<0.01$),但此种表达模式的发生机制还没有明确的结论。

许多研究已经表明在各种炎性或恶性疾病中均可检测到粘蛋白的异常表达。粘蛋白的表达与恶性疾病的进展具有一定的相关性^[51]。粘蛋白可以作为一种区分正常和病变组织的良好标志物^[51]。

8 结论

GHP是胃中最常见的息肉类型,他不同于结肠直肠的增生性息肉。GHP是胃黏膜病变的警钟。近年来一些研究已经证实GHP具有一定的癌变潜能。有一些研究结果提示GHP的癌变过程为:GHP→不典型增生→局灶癌变。从遗传学角度对GHP的研究很少,虽然一些研究试图寻找能特征性提示GHP将发生恶性转变的标志物,但是至今仍未发现。粘蛋白可能是在恶性肿瘤的早期阶段检测、治疗及提示肿瘤预后的良好标志物。研究GHP的遗传学和粘蛋白的表达情况可能是将来研究的重点内容。

9 参考文献

- 1 Jain R, Chetty R. Gastric hyperplastic polyps: a review. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 1839-1846 [PMID: 19037727 DOI: 10.1007/s10620-008-0572-8]
- 2 Borch K, Skarsgård J, Franzén L, Mårdh S, Rehfeld JF. Benign gastric polyps: morphological and functional origin. *Dig Dis Sci* 2003; 48: 1292-1297 [PMID: 12870785]
- 3 Jayawardena S, Anandacoomaraswamy D, Burzyantseva O, Abdullah M. Isolated diffuse hyperplastic gastric polyposis presenting with severe anemia. *Cases J* 2008; 1: 130 [PMID: 18755016 DOI: 10.1186/1757-1626-1-130]
- 4 Snover DC. Benign epithelial polyps of the stomach. *Pathol Annu* 1985; 20: 303-329 [PMID: 3991240]
- 5 Deppisch LM, Rona VT. Gastric epithelial polyps. A 10-year study. *J Clin Gastroenterol* 1989; 11: 110-115 [PMID: 2921485]
- 6 Seifert E, Gail K, Weismüller J. Gastric polypectomy. Long-term results (survey of 23 centres in Germany). *Endoscopy* 1983; 15: 8-11 [PMID: 6822229]
- 7 Ljubić N, Kujundžić M, Ročić G, Banić M, Cupić H, Doko M, Zovak M. Benign epithelial gastric polyps-frequency, location, and age and sex distribution. *Coll Antropol* 2002; 26: 55-60 [PMID: 12137323]
- 8 Mishra R, Stelow EB, Powell S, Shami VM. Poorly differentiated adenocarcinoma arising from a hyperplastic polyp: which polyps should be endoscopically resected? *Dig Dis Sci* 2007; 52: 1586-1588 [PMID: 17415638]
- 9 Hirasaki S, Kanzaki H, Fujita K, Matsumura S, Matsumoto E, Yumoto E, Suzuki S. Papillary adenocarcinoma occurring in a gastric hyperplastic polyp observed by magnifying endoscopy and treated with endoscopic mucosal resection. *Intern Med* 2008; 47: 949-952 [PMID: 18480580]
- 10 Hirasaki S, Suzuki S, Kanzaki H, Fujita K, Matsumura S, Matsumoto E. Minute signet ring cell carcinoma occurring in gastric hyperplastic polyp. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 5779-5780 [PMID: 17963309]
- 11 Hirano H, Yoshida T, Yoshimura H, Fukuoka M, Ohkubo E, Tachibana S, Saito H, Nakasho K, Nishigami T. Poorly differentiated adenocarcinoma with signet-ring cell carcinoma in a hyperplastic polyp of the stomach: report of a case. *Surg Today* 2007; 37: 901-904 [PMID: 17879044]
- 12 Saravanan R, Kamalaporn P, Streutker C, May G, Kandel G, Marcon N, Kortan P. Gastric polyp in pernicious anemia: an argument to remove even when biopsy shows hyperplasia. *Endoscopy* 2008; 40 Suppl 2: E77-E78 [PMID: 18633890 DOI: 10.1055/s-2007-995506]
- 13 Abraham SC, Singh VK, Yardley JH, Wu TT. Hyperplastic polyps of the stomach: associations with histologic patterns of gastritis and gastric atrophy. *Am J Surg Pathol* 2001; 25: 500-507 [PMID: 11257625]
- 14 Morais DJ, Yamanaka A, Zeitune JM, Andreollo NA. Gastric polyps: a retrospective analysis of 26,000 digestive endoscopies. *Arq Gastroenterol* 2007; 44: 14-17 [PMID: 17639176]
- 15 Bonilla Palacios JJ, Miyazaki Y, Kanayuma S, Yasunaga Y, Matsuzawa Y. Serum gastrin, pepsinogens, parietal cell and Helicobacter pylori antibodies in patients with gastric polyps. *Acta Gastroenterol Latinoam* 1994; 24: 77-82 [PMID: 7817697]
- 16 Saccà N. Hyperplastic gastric polyps and Helico-

■创新盘点

粘蛋白在肿瘤的早期诊断、判断预后及临床治疗等方面具有一定意义,可作为判断GHP恶性潜能的参考指标。P伴LGD、GHP伴HGD和GHP伴局灶癌变的患者中MUC5AC的表达量逐渐减少,与未伴有不典型增生或癌变的GHP相比,MUC2在GHP伴有不典型增生或局部癌变的患者中表达量明显升高。粘蛋白在肿瘤的早期诊断、判断预后及临床治疗等方面具有一定意义,可作为判断GHP恶性潜能的参考指标。

■应用要点

研究GHP的发病机制可以揭示GHP的发生、发展规律,在GHP恶变的早期诊断方面具有一定意义。

- 17 Park do Y, Lauwers GY. Gastric polyps: classification and management. *Arch Pathol Lab Med* 2008; 132: 633-640 [PMID: 18384215 DOI: 10.1043/1543-2165]
- 18 Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH. World Health Organization Classification of tumors. Pathology and Genetics Tumours of the Digestive System. Lyon: IARC, 2010
- 19 Lai M. [Preneoplastic and preinvasive lesions of the esophagus and stomach]. *Pathologie* 2011; 32 Suppl 2: 1-2, 195-196 [PMID: 22033681 DOI: 10.1007/s00292-011-1511-6]
- 20 Orłowska J, Jarosz D, Pachlewski J, Butruk E. Malignant transformation of benign epithelial gastric polyps. *Am J Gastroenterol* 1995; 90: 2152-2159 [PMID: 8540506]
- 21 Ljubicić N, Banić M, Kujundzić M, Antić Z, Vrkljan M, Kovacević I, Hrabar D, Doko M, Zovak M, Mihatov S. The effect of eradicating *Helicobacter pylori* infection on the course of adenomatous and hyperplastic gastric polyps. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999; 11: 727-730 [PMID: 10445791]
- 22 Ji F, Wang ZW, Ning JW, Wang QY, Chen JY, Li YM. Effect of drug treatment on hyperplastic gastric polyps infected with *Helicobacter pylori*: a randomized, controlled trial. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 1770-1773 [PMID: 16586550]
- 23 Ohkusa T, Miwa H, Hojo M, Kumagai J, Tanizawa T, Asaoka D, Terai T, Ohkura R, Sato N. Endoscopic, histological and serologic findings of gastric hyperplastic polyps after eradication of *Helicobacter pylori*: comparison between responder and non-responder cases. *Digestion* 2003; 68: 57-62 [PMID: 14581761]
- 24 Isomoto H, Furusu H, Ohnita K, Takehara Y, Wen CY, Kohno S. Effect of *Helicobacter pylori* eradication on gastric hyperplastic polyposis in Cowden's disease. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 1567-1569 [PMID: 15770740]
- 25 Carmack SW, Genta RM, Schuler CM, Saboorian MH. The current spectrum of gastric polyps: a 1-year national study of over 120,000 patients. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 1524-1532 [PMID: 19491866 DOI: 10.1038/ajg.2009.139]
- 26 Jewell KD, Towell DL, Swanson PE, Upton MP, Yeh MM. Gastric hyperplastic polyps in post transplant patients: a clinicopathologic study. *Mod Pathol* 2008; 21: 1108-1112 [PMID: 18500262 DOI: 10.1038/modpathol.2008.87]
- 27 Dirschmid K, Platz-Baudin C, Stolte M. Why is the hyperplastic polyp a marker for the precancerous condition of the gastric mucosa? *Virchows Arch* 2006; 448: 80-84 [PMID: 16189701]
- 28 Pashankar DS, Israel DM. Gastric polyps and nodules in children receiving long-term omeprazole therapy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002; 35: 658-662 [PMID: 12454582]
- 29 Carmack SW, Genta RM, Graham DY, Lauwers GY. Management of gastric polyps: a pathology-based guide for gastroenterologists. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2009; 6: 331-341 [PMID: 19421245 DOI: 10.1038/nrgastro.2009.70]
- 30 Ginsberg GG, Al-Kawas FH, Fleischer DE, Reilly HF, Benjamin SB. Gastric polyps: relationship of size and histology to cancer risk. *Am J Gastroenterol* 1996; 91: 714-717 [PMID: 8677935]
- 31 Hattori T. Morphological range of hyperplastic polyps and carcinomas arising in hyperplastic polyps of the stomach. *J Clin Pathol* 1985; 38: 622-630 [PMID: 4008664]
- 32 Zea-Iriarte WL, Sekine I, Itsuno M, Makiyama K, Naito S, Nakayama T, Nishisawa-Takano JE, Hattori T. Carcinoma in gastric hyperplastic polyps. A phenotypic study. *Dig Dis Sci* 1996; 41: 377-386 [PMID: 8601386]
- 33 Kono T, Imai Y, Ichihara T, Miyagawa K, Kanemitsu K, Ajiki T, Kawasaki K, Kamigaki T, Ikuta H, Ohbayashi C, Yokozaki H, Fujimori T, Kuroda Y. Adenocarcinoma arising in gastric inverted hyperplastic polyp: a case report and review of the literature. *Pathol Res Pract* 2007; 203: 53-56 [PMID: 17097828]
- 34 Okano A, Takakuwa H, Matsubayashi Y. Gastric intramucosal carcinoma in a small hyperplastic foveolar polyp. *Endoscopy* 2004; 36: 1134 [PMID: 15578317]
- 35 Murakami K, Mitomi H, Yamashita K, Tanabe S, Saigenji K, Okayasu I. p53, but not c-Ki-ras, mutation and down-regulation of p21WAF1/CIP1 and cyclin D1 are associated with malignant transformation in gastric hyperplastic polyps. *Am J Clin Pathol* 2001; 115: 224-234 [PMID: 11211611]
- 36 Han AR, Sung CO, Kim KM, Park CK, Min BH, Lee JH, Kim JY, Chang DK, Kim YH, Rhee PL, Rhee JC, Kim JJ. The clinicopathological features of gastric hyperplastic polyps with neoplastic transformations: a suggestion of indication for endoscopic polypectomy. *Gut Liver* 2009; 3: 271-275 [PMID: 20431760 DOI: 10.5009/gnl.2009.3.4.271]
- 37 Long KB, Odze RD. Gastroesophageal junction hyperplastic (inflammatory) polyps: a clinical and pathologic study of 46 cases. *Am J Surg Pathol* 2011; 35: 1038-1044 [PMID: 21606824 DOI: 10.1097/PAS.0b013e3182189425]
- 38 Fry LC, Lazenby AJ, Lee DH, Mönkemüller K. Signet-ring-cell adenocarcinoma arising from a hyperplastic polyp in the stomach. *Gastrointest Endosc* 2005; 61: 493-495 [PMID: 15758936]
- 39 Daibo M, Itabashi M, Hirota T. Malignant transformation of gastric hyperplastic polyps. *Am J Gastroenterol* 1987; 82: 1016-1025 [PMID: 3661508]
- 40 Kamiya T, Morishita T, Asakura H, Munakata Y, Miura S, Tsuchiya M. Histoclinical long-standing follow-up study of hyperplastic polyps of the stomach. *Am J Gastroenterol* 1981; 75: 275-281 [PMID: 7258173]
- 41 Orłowska J, Kupryjanczyk J. Malignant transformation of gastric hyperplastic polyps. *Am J Clin Pathol* 2002; 117: 165-166 [PMID: 11789722]
- 42 Hizawa K, Fuchigami T, Iida M, Aoyagi K, Iwashita A, Daimaru Y, Fujishima M. Possible neoplastic transformation within gastric hyperplastic polyp. Application of endoscopic polypectomy. *Surg Endosc* 1995; 9: 714-718 [PMID: 7482172]
- 43 Muehldorfer SM, Stolte M, Martus P, Hahn EG, Ell C. Diagnostic accuracy of forceps biopsy versus polypectomy for gastric polyps: a prospective multicentre study. *Gut* 2002; 50: 465-470 [PMID: 11889063]
- 44 Stock M, Otto F. Gene deregulation in gastric cancer. *Gene* 2005; 360: 1-19 [PMID: 16154715]
- 45 Weisz L, Oren M, Rotter V. Transcription regulation by mutant p53. *Oncogene* 2007; 26: 2202-2211 [PMID: 17401429]
- 46 Yao T, Kajiwarra M, Kuroiwa S, Iwashita A, Oya

- M, Kabashima A, Tsuneyoshi M. Malignant transformation of gastric hyperplastic polyps: alteration of phenotypes, proliferative activity, and p53 expression. *Hum Pathol* 2002; 33: 1016-1022 [PMID: 12395375]
- 47 Nogueira AM, Carneiro F, Seruca R, Cirmes L, Veiga I, Machado JC, Sobrinho-Simões M. Microsatellite instability in hyperplastic and adenomatous polyps of the stomach. *Cancer* 1999; 86: 1649-1656 [PMID: 10547536]
- 48 Lauwers GY, Wahl SJ, Melamed J, Rojas-Corona RR. p53 expression in precancerous gastric lesions: an immunohistochemical study of PAb 1801 monoclonal antibody on adenomatous and hyperplastic gastric polyps. *Am J Gastroenterol* 1993; 88: 1916-1919 [PMID: 8237942]
- 49 Dijkhuizen SM, Entius MM, Clement MJ, Polak MM, Van den Berg FM, Craanen ME, Slebos RJ, Offerhaus GJ. Multiple hyperplastic polyps in the stomach: evidence for clonality and neoplastic potential. *Gastroenterology* 1997; 112: 561-566 [PMID: 9024310]
- 50 Weiss MM, Kuipers EJ, Postma C, Snijders AM, Stolte M, Vieth M, Pinkel D, Meuwissen SG, Albertson D, Meijer GA. Genome wide array comparative genomic hybridisation analysis of premalignant lesions of the stomach. *Mol Pathol* 2003; 56: 293-298 [PMID: 14514924]
- 51 Rachagani S, Torres MP, Moniaux N, Batra SK. Current status of mucins in the diagnosis and therapy of cancer. *Biofactors* 2009; 35: 509-527 [PMID: 19904814 DOI: 10.1002/biof.64]
- 52 Kufe DW. Mucins in cancer: function, prognosis and therapy. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 874-885 [PMID: 19935676 DOI: 10.1038/nrc2761]
- 53 Hattrup CL, Gendler SJ. Structure and function of the cell surface (tethered) mucins. *Annu Rev Physiol* 2008; 70: 431-457 [PMID: 17850209]
- 54 Holmes K, Egan B, Swan N, O'Morain C. Genetic Mechanisms and Aberrant Gene Expression during the Development of Gastric Intestinal Metaplasia and Adenocarcinoma. *Curr Genomics* 2007; 8: 379-397 [PMID: 19412438 DOI: 10.2174/138920207783406460]
- 55 Kim YS, Ho SB. Intestinal goblet cells and mucins in health and disease: recent insights and progress. *Curr Gastroenterol Rep* 2010; 12: 319-330 [PMID: 20703838 DOI: 10.1007/s11894-010-0131-2]
- 56 Wang RQ, Fang DC. Alterations of MUC1 and MUC3 expression in gastric carcinoma: relevance to patient clinicopathological features. *J Clin Pathol* 2003; 56: 378-384 [PMID: 12719460]
- 57 Reis CA, David L, Nielsen PA, Clausen H, Mirgorodskaya K, Roepstorff P, Sobrinho-Simões M. Immunohistochemical study of MUC5AC expression in human gastric carcinomas using a novel monoclonal antibody. *Int J Cancer* 1997; 74: 112-121 [PMID: 9036879]
- 58 Leteurtre E, Zerimech F, Piessen G, Wacrenier A, Leroy X, Copin MC, Mariette C, Aubert JP, Porchet N, Buisine MP. Relationships between mucinous gastric carcinoma, MUC2 expression and survival. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 3324-3331 [PMID: 16733847]
- 59 Buisine MP, Devisme L, Maunoury V, Deschodt E, Gosselin B, Copin MC, Aubert JP, Porchet N. Developmental mucin gene expression in the gastroduodenal tract and accessory digestive glands. I. Stomach. A relationship to gastric carcinoma. *J Histochem Cytochem* 2000; 48: 1657-1666 [PMID: 11101634]
- 60 Oz Puyan F, Can N, Ozyilmaz F, Usta U, Sut N, Tastekin E, Altaner S. The relationship among PDX1, CDX2, and mucin profiles in gastric carcinomas; correlations with clinicopathologic parameters. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011; 137: 1749-1762 [PMID: 21909647 DOI: 10.1007/s00432-011-1044-7]
- 61 İlhan Ö, Han Ü, Önal B, Çelik SY. Prognostic significance of MUC1, MUC2 and MUC5AC expressions in gastric carcinoma. *Turk J Gastroenterol* 2010; 21: 345-352 [PMID: 21331986]
- 62 Carvalho F, David L, Aubert JP, López-Ferrer A, De Bolós C, Reis CA, Gärtner F, Peixoto A, Alves P, Sobrinho-Simões M. Mucins and mucin-associated carbohydrate antigens expression in gastric carcinoma cell lines. *Virchows Arch* 1999; 435: 479-485 [PMID: 10592051]
- 63 Resende C, Thiel A, Machado JC, Ristimäki A. Gastric cancer: basic aspects. *Helicobacter* 2011; 16 Suppl 1: 38-44 [PMID: 21896084 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2011.00879.x]
- 64 Saeki N, Saito A, Choi IJ, Matsuo K, Ohnami S, Totsuka H, Chiku S, Kuchiba A, Lee YS, Yoon KA, Kook MC, Park SR, Kim YW, Tanaka H, Tajima K, Hirose H, Tanioka F, Matsuno Y, Sugimura H, Kato S, Nakamura T, Nishina T, Yasui W, Aoyagi K, Sasaki H, Yanagihara K, Katai H, Shimoda T, Yoshida T, Nakamura Y, Hirohashi S, Sakamoto H. A functional single nucleotide polymorphism in mucin 1, at chromosome 1q22, determines susceptibility to diffuse-type gastric cancer. *Gastroenterology* 2011; 140: 892-902 [PMID: 21070779 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.10.058]
- 65 Benjamin JB, Jayanthi V, Devaraj H. MUC1 expression and its association with other aetiological factors and localization to mitochondria in pre-neoplastic and neoplastic gastric tissues. *Clin Chim Acta* 2010; 411: 2067-2072 [PMID: 20832392 DOI: 10.1016/j.cca.2010.09.003]
- 66 Satoh Y, Mori K, Kitano K, Kitayama J, Yokota H, Sasaki H, Uozaki H, Fukayama M, Seto Y, Nagawa H, Yatomi Y, Takai D. Analysis for the combination expression of CK20, FABP1 and MUC2 is sensitive for the prediction of peritoneal recurrence in gastric cancer. *Jpn J Clin Oncol* 2012; 42: 148-152 [PMID: 22172348 DOI: 10.1093/jcco/hyr179]
- 67 Jia Y, Persson C, Hou L, Zheng Z, Yeager M, Lisowska J, Chanock SJ, Chow WH, Ye W. A comprehensive analysis of common genetic variation in MUC1, MUC5AC, MUC6 genes and risk of stomach cancer. *Cancer Causes Control* 2010; 21: 313-321 [PMID: 19924550 DOI: 10.1007/s10552-009-9463-3]
- 68 李娟, 吴丽华, 石岩, 焦宇飞. MUC1, MUC2和MUC3在胃增生性息肉中的表达模式. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 3591-3596

同行评价

本文选题很新颖, 具有一定的临床意义。

编辑 李军亮 电编 闫晋利



RNA干扰在胃癌多药耐药中的研究进展

廉超, 谢玉波, 肖强

■背景资料

胃癌是全世界最常见的恶性肿瘤之一, 居癌症病死率第2位。早期胃癌治疗以手术为主, 化疗为辅, 晚期胃癌则以化疗为主要手段。但由于多药耐药的产生, 疗效往往不佳, 直接影响患者预后, 如何逆转胃癌多药耐药性已成为当前研究热点。

廉超, 肖强, 广西医科大学第一附属医院胃肠腺体外科 广西壮族自治区南宁市 530021

谢玉波, 广西医科大学第一附属医院麻醉科 广西壮族自治区南宁市 530021

廉超, 硕士, 主要从事胃癌的基础与临床研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30860273; No. 81060201

广西自然科学基金资助项目, No. 2011GXNSFA018273

广西科学研究与技术开发计划项目, No. 桂科攻1298003-2-6

作者贡献分布: 本文综述由廉超完成; 谢玉波修改; 肖强审校。

通讯作者: 肖强, 教授, 主任医师, 博士生导师, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路22号, 广西医科大学第一附属医院胃肠腺体外科。xiaoqiang20050@yahoo.com.cn

电话: 0771-5358325

收稿日期: 2013-02-21 修回日期: 2013-03-06

接受日期: 2013-04-07 在线出版日期: 2013-04-28

Role of RNA interference in research of multidrug resistance in gastric cancer

Chao Lian, Yu-Bo Xie, Qiang Xiao

Chao Lian, Qiang Xiao, Department of Gastrointestinal Gland Surgery, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Yu-Bo Xie, Department of Anesthesiology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 30860273 and 81060201; the Natural Science Foundation of Guangxi, No. 2011GXNSFA018273; the Science and Technology Development Project of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 1298003-2-6

Correspondence to: Qiang Xiao, Professor, Chief Physician, Department of Gastrointestinal Gland Surgery, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 22 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. xiaoqiang20050@yahoo.com.cn

Received: 2013-02-21 Revised: 2013-03-06

Accepted: 2013-04-07 Published online: 2013-04-28

Abstract

Gastric cancer is one of the most common malignant tumors in the world. Chemotherapy is the main treatment for gastric cancer after operation. However, multidrug resistance of tumor cells always reduces its effectiveness and influences the prognosis of patients directly. For this reason, more and more scientific researchers have been dedicated to the in-depth study of multidrug resistance in gastric cancer. RNA interference allows specific and effective

inhibition of the expression of target genes and has been gradually applied to gene treatment for multidrug resistance in gastric cancer. The widespread use of RNA interference in recent years has led to many achievements. This article aims to review the role of RNA interference in research of multidrug resistance in gastric cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: RNA interference; Gastric cancer; Multidrug resistance

Lian C, Xie YB, Xiao Q. Role of RNA interference in research of multidrug resistance in gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(12): 1096-1101 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1096.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1096>

摘要

胃癌是最常见的恶性肿瘤之一, 化疗是胃癌术后的主要治疗措施, 而多药耐药性的产生常导致化疗失败, 严重阻碍化疗进程, 直接影响患者预后, 因而促使人们对胃癌多药耐药问题进行深入研究。RNA干扰技术能特异、有效地阻断靶基因的表达, 近年来已逐渐应用于胃癌多药耐药的基因治疗, 并取得了较大进展。本文就目前RNA干扰在胃癌多药耐药研究中的相关进展作一综述。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: RNA干扰; 胃癌; 多药耐药

核心提示: 化疗是胃癌术后的主要治疗措施, 而多药耐药性的产生常导致化疗失败, 直接影响患者预后。近年研究证实, 多种基因与胃癌多药耐药密切相关, 而通过RNA干扰技术介导特定耐药相关基因沉默可有效提高胃癌化疗敏感性, 并在一定程度上逆转胃癌多药耐药性。

廉超, 谢玉波, 肖强. RNA干扰在胃癌多药耐药中的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21(12): 1096-1101 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1096.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1096>

■同行评议者

潘阳林, 副教授, 副主任医师, 第四军医大学西京医院消化病医院消化六科; 吴建兵, 教授, 主任医师, 南昌大学第二附属医院肿瘤科

0 引言

胃癌是全世界最常见的恶性肿瘤之一, 居癌症病死率第2位^[1]. 早期胃癌治疗以手术为主, 化疗为辅, 晚期胃癌则以化疗为主要手段. 但由于多药耐药的产生, 疗效往往不佳, 直接影响患者预后, 如何逆转胃癌多药耐药性业已成为当前研究热点^[2]. RNA干扰技术(RNA interference, RNAi)是近年来发展起来的一项新的基因沉默技术, 能特异、有效地阻断靶基因的表达, 因其具有高效、快速、高度特异性、作用区域广泛、操作简易等诸多优点, 目前已被广泛应用于探索基因功能及恶性肿瘤基因治疗领域^[3,4]. 该技术也被认为是逆转肿瘤多药耐药性最有效的方法之一^[5]. 随着国内外学者对胃癌多药耐药性问题的不断深入, RNA干扰技术已逐渐应用于胃癌多药耐药的基因治疗, 并取得了一些突破性的进展. 本文就近年来RNA干扰在胃癌多药耐药研究中的最新进展作一综述.

1 RNAi技术原理

RNA干扰机制迄今仍在不断探索中, 尚未完全阐明, 但公认的基本原理是: 内源或外源性双链RNA(double-stranded RNA, dsRNA)通过细胞膜进入细胞后, 被一种RNA内切酶III(RNA endonuclease III, RNase III)-Dicer酶识别并切割降解成21-23 nt的小RNA双链, 即由正义链、反义链组成的RNAi效应中间产物-小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA). 之后, siRNA与Dicer酶结合形成RNA诱导沉默复合体(RNA induced silencing complex, RISC). 在RNA解旋酶及三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)作用下, siRNA解螺旋, RISC被激活. 活化的RISC以siRNA为模板, 按照碱基互补原则特异地识别与其同源的靶mRNA, 随后Dicer酶即开始对其进行递进式剪切, 形成强有力的瀑布效应, 最终这些断裂的RNA小分子在核酸酶的作用下被完全降解, 从而导致了目的基因的沉默^[6,7].

2 RNAi在胃癌多药耐药研究中的应用

肿瘤多药耐药性(multidrug resistance, MDR)是指肿瘤细胞对一种药物具有耐药性的同时, 对其他结构不同、作用靶点不同的抗肿瘤药物也产生耐药性. 而多药耐药性的产生是导致抗感染药物治疗和肿瘤化疗失败的重要原因之一^[8,9]. 近年来研究发现, 胃癌多药耐药性与某些基因密切相关, 通过调控这些基因的表达可有效提

高胃癌细胞对化疗药物的敏感性, 并在一定程度上逆转胃癌多药耐药性^[10]. 为进一步阐明胃癌多药耐药与相关基因的机制联系, 国内外学者基于RNA干扰技术已做了大量研究. RNAi在胃癌多药耐药研究中的应用主要涉及耐药相关跨膜转运蛋白、耐药相关酶、转录调控因子及凋亡相关基因等4个方面.

2.1 RNAi在耐药相关跨膜转运蛋白中的应用

2.1.1 MDR1/P-gp: 多药耐药基因1(multidrug resistance gene 1, MDR1)是最早发现和最重要的多药耐药相关基因, 而由MDR1编码的P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)作为一种ATP依赖性药物泵, 能将细胞内药物泵出, 降低细胞内药物浓度, 减免细胞内药物毒性, 是导致MDR最直接原因, P-gp介导的MDR也被称为经典多药耐药途径^[11,12]. 近年研究表明, 通过下调MDR1/P-gp表达水平, 可有效逆转胃癌多药耐药性, MDR1/P-gp也被认为是RNA干扰逆转胃癌多药耐药的最佳靶点^[13]. Nieth等^[14]应用RNA干扰技术, 以MDR-1 siRNA转染人胃癌EPG85-257RDB细胞, 结果发现, 转染后胃癌细胞MDR1的表达被明显抑制, 而与转染前相比, 转染后胃癌细胞对柔红霉素的耐药性显著降低, 提示RNAi抑制MDR1的表达可有效逆转由P-gp介导的胃癌多药耐药. 与此同时, Stege等^[15]将针对MDR1/P-gp设计的短发卡RNA(shRNA)成功导入人胃癌细胞EPG85-257RDB, 发现MDR1/P-gp表达水平显著下降, 并使转染组细胞内的蒽环霉素蓄积量大幅提升, 提示RNA干扰介导的MDR1/P-gp下调可有效逆转胃癌细胞多药耐药性.

2.1.2 多药耐药相关蛋白: 多药耐药相关蛋白(multidrug resistance associated-protein, MRP)是继P-gp之后发现的第2个ATP结合盒(ATP binding cassette, ABC)跨膜转运蛋白超家族成员, 也是一种ATP依赖的多药耐药相关药物泵, MRP通过谷胱甘肽(glutathione, GSH)与药物的共价结合实现转运, 从而导致肿瘤细胞的多药耐药^[16,17]. Endo等^[18]应用RT-PCR、Southern blot及免疫组织化学法分别检测4种胃癌细胞株MRP的表达水平, 发现4种胃癌细胞株中有3种MRP表达阳性, 之后通过MTT法分别检测胃癌细胞对阿霉素、顺铂、依托泊甙等化疗药物的敏感性, 研究表明, MRP阴性细胞株对以上3种化疗药物的敏感性均显著高于MRP阳性细胞株, 提示MRP的表达水平与胃癌多药耐药密切相关, 干扰MRP的表达将有可能逆转胃癌多药耐药性. MRP4

■研究前沿

近年来研究发现, 胃癌多药耐药性与某些基因密切相关, 通过调控这些基因的表达可有效提高胃癌细胞对化疗药物的敏感性, 并在一定程度上逆转胃癌多药耐药性. 而RNA干扰技术的问世无疑为胃癌多药耐药研究带来了崭新的契机.

■相关报道

近年来国内外学者基于RNA干扰技术已做了大量研究,发现RNAi介导某些特定基因沉默可有效提高胃癌化疗敏感性,甚至逆转胃癌多药耐药性,其应用范畴主要涉及耐药相关跨膜转运蛋白、耐药相关酶、转录调控因子及凋亡相关基因等4个方面。

是MRP亚家族成员之一,不仅参与调控多种细胞内信号通路,更与胞内药物泵出、促使细胞生存密切相关^[19]。Zhang等^[20]通过RNA干扰技术,将MRP小干扰RNA转染人胃癌耐顺铂细胞SGC-7901/DDP,研究发现,MRP siRNA导入细胞后,MRP蛋白及mRNA的表达水平均显著降低,并成功逆转胃癌耐药细胞多药耐药性。

2.2 RNAi在耐药相关酶中的应用

2.2.1 Akt/PKB: PI3K/Akt通路作为细胞内重要的信号转导系统,广泛存在于细胞中,参与细胞的生长、增殖和分化调节,并与肿瘤发生发展关系密切,而Akt是PI3K/Akt信号通路的中心环节^[21]。Akt是一种丝/苏氨酸蛋白激酶,通常也被称作蛋白激酶B(protein kinase B, PKB)。近年研究表明, Akt不仅与胃癌的发生发展紧密联系,更与胃癌化疗敏感性密切相关^[22]。Han等^[23]通过构建真核质粒载体Akt1 siRNA,将其转入胃癌细胞株AGS,发现转染后Akt1表达量显著降低,并明显提高胃癌细胞AGS对长春新碱(vincristine, VCR)、阿霉素(adriamycin, ADR)、氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)及顺铂(cisplatin, DDP)等多种化疗药物的敏感性。Zhou等^[24]应用RNA干扰技术将Akt1沉默慢病毒成功转入胃癌细胞株SGC-7901和BGC-823,结果发现, Akt1沉默在体外和体内环境下均可显著抑制胃癌细胞增殖并诱导细胞凋亡。此外, Akt表达下调后, SGC-7901及BGC-823对DDP的敏感性均显著提高,并认为其机制可能与Akt下调后使PI3K/Akt1通路失活有关。

2.2.2 GST- π : 谷胱甘肽转移酶(glutathion-S-transferase, GST)是一类多功能药物代谢酶,为细胞抗损伤、抗癌变的主要解毒系统,临床上应用的许多药物都是在GST催化下通过与谷胱甘肽(glutathion, GSH)结合而解毒。谷胱甘肽转移酶有5个亚型,而其中胎盘型GST(GST- π)就占90%左右,是肿瘤细胞和组织中最常见的同功酶。GST- π 由谷胱甘肽转移酶P1(glutathione S-transferase P1, GSTP1)基因编码合成,并与肿瘤发生和耐药均密切相关^[25,26]。Townsend等^[27]研究认为, GST- π 增高导致肿瘤耐药的机制可能有以下几个方面: (1)GST- π 可将化疗药物产生的过氧化物还原为无毒物质; (2)GST- π 可抑制烷化剂等亲电性化疗药物引起的肿瘤细胞DNA交联,从而降低化疗药物对细胞的杀伤作用; (3)GST- π 不仅能够催化亲电物质与谷胱甘肽结合,其本身亦可与亲脂性细胞毒药物结合,并增加其水溶

性,促进其代谢,从而降低化疗药物的细胞毒作用。GST- π 表达越强,化疗药物毒性作用降低越明显,肿瘤细胞对化疗的药物的耐受性就越强。韩杰等^[28]通过对54例胃癌和大肠癌新鲜肿瘤组织及转移淋巴结进行肿瘤细胞培养化疗药敏感性实验并针对原发灶和转移灶中的P-gP和GST- π 行免疫组织化学染色,结果发现,无论是在原发灶还是在转移灶, GST- π 表达程度均与化疗药物5-FU、VCR的抑制率呈明显负相关。Zhang等^[29]则进一步证实,虽同为胃癌细胞株,但MGC-803细胞对顺铂的敏感性却明显高于BGC-823及SGC-7901。之后他们又对3种细胞株GSTP1 mRNA及蛋白的表达水平进行了检测,结果却发现, MGC-803细胞中未能检测到有GSTP1表达,而BGC-823和SGC-7901均有GSTP1表达。研究提示, GSTP1的表达缺失很可能是导致MGC-803胃癌细胞顺铂敏感性显著提高的主要原因,而抑制GSTP1的表达将可能从整体上提高胃癌细胞对化疗药物的敏感性。在前列腺癌研究领域,金鹏等^[30]已率先采用RNA干扰技术,将针对GSTP1设计的短发卡RNA(shRNA)转染人前列腺癌细胞株Du145介导GSTP1基因沉默,发现细胞增殖活性受到明显抑制,诱导凋亡,并显著提高Du145细胞对5-FU的化疗敏感性。虽然目前尚无RNA干扰胃癌GSTP1表达的化疗敏感性研究,但其潜在的可行性已为我们指明了未来的研究方向。

2.3 RNAi在转录调控因子中的应用

2.3.1 RUNX3: RUNT相关转录因子3(runt-related transcription factor3, RUNX3)作为RUNT基因家族成员之一,在细胞增殖和分化中起重要作用。RUNT与人类多种恶性肿瘤的发生发展密切相关,被认为是一种肿瘤抑制基因^[31]。Guo等^[32]研究发现, RUNX3 siRNA可明显介导胃癌细胞SGC-7901多药耐药的发生,相反, RUNX过表达则使胃癌细胞SGC-7901对多种化疗药物的敏感性显著提高,并明显下调耐药基因MDR1、MRP及抗凋亡基因白蛋白-2(B cell lymphoma/leukemia-2, *Bcl-2*),从而有效逆转胃癌细胞多药耐药性。

2.3.2 ZNRD1: 转录相关锌带蛋白基因(zinc ribbon domain-containing 1 protein, ZNRD1)是2000年Fan等^[33]从6p21.3 MHC I区克隆出的一个新的锌带基因,近年研究证实, ZNRD1基因不仅参与调控细胞周期、细胞凋亡等多种细胞生物学进程,更与肿瘤发生发展及多药耐药密切相关^[34]。

Shi等^[35]将ZNRD1过表达真核质粒载体转染人胃癌细胞株SGC-7901,发现ZNRD1过表达可显著上调P-gp蛋白的表达,并认为ZNRD1过表达可能是促使胃癌产生多药耐药性的原因之一。为进一步明确ZNRD1与胃癌多药耐药间的关系,Hong等^[36]成功构建ZNRD1 siRNA真核质粒载体并转染人胃癌耐药细胞株SGC-7901/VCR,结果发现,ZNRD1沉默可显著提高SGC-7901/VCR对化疗药物长春新碱、阿霉素及依托泊苷的化疗敏感性。

2.4 RNAi在凋亡相关基因中的应用 肿瘤细胞对化疗药物的凋亡抵抗是MDR的重要机制之一,通过调控凋亡相关基因的表达可直接影响肿瘤细胞对化疗药物的敏感性^[37]。檀碧波等^[38]应用免疫组织化学技术对63例胃癌标本中Survivin、Bcl-2的蛋白表达水平进行了检测,并以MTT法检测其体外化疗药物敏感性,研究发现,凋亡相关基因Survivin及Bcl-2强表达时,多种化疗药物对胃癌细胞的抑制率均显著降低,提示Survivin、Bcl-2表达水平与胃癌化疗敏感性密切相关。Survivin作为凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis protein, IAP)家族成员之一,被认为是迄今为止发现的最强的凋亡抑制因子^[39]。方雷等^[40]最新研究表明, Survivin特异性siRNA可明显抑制胃癌细胞MGC-803中Survivin的表达,抑制细胞增殖,并显著提高MGC-803细胞对化疗药物塞来昔布的敏感性。Shen等^[41]则进一步证实,转染针对Survivin设计的shRNA后可有效抑制Survivin在胃癌细胞SGC-7901中的表达,且无论是在体外还是体内环境下, Survivin沉默均可显著提高胃癌细胞SGC-7901对化疗药物DDP及5-FU的敏感性。Bcl-2家族是目前已知的细胞凋亡中最重要的调控因子。Bcl-2家族具体分为促凋亡亚家族和抗凋亡亚家族两大类, Bcl-2和Mcl-1均为抗凋亡亚家族成员,其主要作用是保持线粒体膜的完整,抑制细胞色素C的释放,从而促进细胞生存,抑制细胞凋亡^[42,43]。而他们所具有的凋亡抵抗作用亦被认为是肿瘤发生和导致耐药的主要原因之一^[44]。沈方臻等^[45]等成功筛选出稳定转染Bcl-2 shRNA质粒的胃癌细胞株SGC-7901,并将其作用于不同浓度的DDP和5-FU,结果表明,转染后Bcl-2 mRNA的表达能够在长时间内受到抑制,胃癌SGC-7901细胞株对化疗药物DDP及5-FU的敏感性亦显著提高。此外, Akagi等^[46]通过RNAi技术以腺病毒介导Mcl-1基因沉默,发现Mcl-1表达抑制后可明显

促进化疗药物诱导的线粒体细胞色素C的释放,并激活Caspase凋亡信号通路,诱导细胞凋亡,从而有效提高胃癌细胞化疗敏感性。细胞因子诱导的凋亡抑制分子1(cytokine-induced apoptosis inhibitor 1, CIAPIN1)是2004年Shibayama等^[47]通过克隆表达的方法鉴定的凋亡抑制分子,他们还证实, CIAPIN1是独立于凋亡调节分子Bcl-2家族及Caspase家族之外的ras信号转导通路的一个新的调节分子。近年研究发现, CIAPIN1与多种恶性肿瘤的发生发展及多药耐药密切相关,认为CIAPIN1可作为未来抗癌治疗的潜在新靶点^[48]。Hao等^[49]应用cDNA转染技术和RNA干扰技术分别介导胃癌细胞CIAPIN1基因过表达和沉默,发现CIAPIN1过表达可诱导胃癌细胞SGC-7901产生多药耐药性,而CIAPIN1沉默则可有效提高胃癌细胞SGC-7901及胃癌耐药细胞SGC-7901/ADR对多种化疗药物的敏感性,明显诱导凋亡,且CIAPIN1沉默后,MDR1及MRP的表达水平均显著下调。Li等^[50]应用RNA干扰技术,将CIAPIN1 siRNA转染人胃癌耐药细胞株SGC-7901/VCR,发现转染组CIAPIN1表达水平显著降低,MTT法分别检测3组对多种化疗药物敏感性,结果显示,抑制CIAPIN1表达可有效提高胃癌耐药细胞SGC-7901/VCR对VCR、ADR及VP-16的化疗敏感性。

3 结论

RNAi作为一项沉默特异基因序列的新兴技术,因其具有高效、快速、高度特异性、作用区域广泛、操作简易等诸多优点,近年来已逐渐替代反义核酸技术及基因剔除技术在基因功能研究领域的主导地位。在沉默效果方面, RNAi所产生的沉默效应已远远超过传统的反义核酸技术,而在作用范围方面, siRNA拥有广泛的作用区域,可作用于mRNA的任何部位,而不是像miRNA主要局限于靶基因3'-UTR区。值得注意的是, RNAi的序列是需要针对目的基因来特殊设计的,之后仍需根据实验目的选择构建不同的载体。目前实现RNAi的载体工具和方法主要有:化学合成、质粒载体、慢病毒载体及腺病毒载体等4大类。而在肿瘤多药耐药研究领域, RNAi更被认为是逆转肿瘤多药耐药性最有效的方法之一,显示出其广阔的应用前景。尽管目前研究距离临床应用仍有较大差距,尚有很多问题亟待解决,但可以肯定的是,随着RNAi研究的不断深入与完善,胃癌多药耐药研究必将翻开崭新的一页。

■创新盘点

随着国内外学者对胃癌多药耐药性问题研究的不断深入, RNAi已逐渐应用于胃癌多药耐药的基因治疗,本文搜集了大量关于RNAi在胃癌多药耐药研究中的最新进展,并将应用范畴划分为4个板块分别进行阐述,从而为未来胃癌多药耐药相关研究奠定可靠的理论基础。

■应用要点

RNA干扰技术能特异、有效地阻断靶基因的表达,被认为是逆转肿瘤多药耐药性最有效的方法之一。尽管目前研究距离临床应用仍有较大差距,尚有很多问题亟待解决,但可以肯定的是,随着RNAi研究的不断深入与完善,胃癌多药耐药研究必将翻开崭新的一页。

4 参考文献

- Jemal A, Center MM, DeSantis C, Ward EM. Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19: 1893-1907 [PMID: 20647400 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-10-0437]
- Zhang D, Fan D. New insights into the mechanisms of gastric cancer multidrug resistance and future perspectives. *Future Oncol* 2010; 6: 527-537 [PMID: 20373867 DOI: 10.2217/fon.10.21]
- Davidson BL, McCray PB. Current prospects for RNA interference-based therapies. *Nat Rev Genet* 2011; 12: 329-340 [PMID: 21499294 DOI: 10.1038/nrg2968]
- Pecot CV, Calin GA, Coleman RL, Lopez-Berestein G, Sood AK. RNA interference in the clinic: challenges and future directions. *Nat Rev Cancer* 2011; 11: 59-67 [PMID: 21160526 DOI: 10.1038/nrc2966]
- Lage H. Therapeutic potential of RNA interference in drug-resistant cancers. *Future Oncol* 2009; 5: 169-185 [PMID: 19284376 DOI: 10.2217/14796694.5.2.169]
- Tijsterman M, Plasterk RH. Dicers at RISC; the mechanism of RNAi. *Cell* 2004; 117: 1-3 [PMID: 15066275]
- Mello CC, Conte D. Revealing the world of RNA interference. *Nature* 2004; 431: 338-342 [PMID: 15372040 DOI: 10.1038/nature02872]
- Lage H. An overview of cancer multidrug resistance: a still unsolved problem. *Cell Mol Life Sci* 2008; 65: 3145-3167 [PMID: 18581055 DOI: 10.1007/s00018-008-8111-5]
- Türk D, Szakács G. Relevance of multidrug resistance in the age of targeted therapy. *Curr Opin Drug Discov Devel* 2009; 12: 246-252 [PMID: 19333870]
- Zhang D, Fan D. Multidrug resistance in gastric cancer: recent research advances and ongoing therapeutic challenges. *Expert Rev Anticancer Ther* 2007; 7: 1369-1378 [PMID: 17944563 DOI: 10.1586/14737140.7.10.1369]
- Kimura Y, Morita SY, Matsuo M, Ueda K. Mechanism of multidrug recognition by MDR1/ABCB1. *Cancer Sci* 2007; 98: 1303-1310 [PMID: 17608770 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2007.00538.x]
- Li Y, Yuan H, Yang K, Xu W, Tang W, Li X. The structure and functions of P-glycoprotein. *Curr Med Chem* 2010; 17: 786-800 [PMID: 20088754]
- Lage H. MDR1/P-glycoprotein (ABCB1) as target for RNA interference-mediated reversal of multidrug resistance. *Curr Drug Targets* 2006; 7: 813-821 [PMID: 16842213]
- Nieth C, Priebisch A, Stege A, Lage H. Modulation of the classical multidrug resistance (MDR) phenotype by RNA interference (RNAi). *FEBS Lett* 2003; 545: 144-150 [PMID: 12804765]
- Stege A, Priebisch A, Nieth C, Lage H. Stable and complete overcoming of MDR1/P-glycoprotein-mediated multidrug resistance in human gastric carcinoma cells by RNA interference. *Cancer Gene Ther* 2004; 11: 699-706 [PMID: 15375376 DOI: 10.1038/sj.cgt.7700751]
- Pérez-Tomás R. Multidrug resistance: retrospect and prospects in anti-cancer drug treatment. *Curr Med Chem* 2006; 13: 1859-1876 [PMID: 16842198]
- Tomonaga M, Oka M, Narasaki F, Fukuda M, Nakano R, Takatani H, Ikeda K, Terashi K, Matsuo I, Soda H, Cowan KH, Kohno S. The multidrug resistance-associated protein gene confers drug resistance in human gastric and colon cancers. *Jpn J Cancer Res* 1996; 87: 1263-1270 [PMID: 9045962]
- Endo K, Maehara Y, Kusumoto T, Ichiyoshi Y, Kuwano M, Sugimachi K. Expression of multidrug-resistance-associated protein (MRP) and chemosensitivity in human gastric cancer. *Int J Cancer* 1996; 68: 372-377 [PMID: 8903480]
- Russel FG, Koenderink JB, Masereeuw R. Multidrug resistance protein 4 (MRP4/ABCC4): a versatile efflux transporter for drugs and signalling molecules. *Trends Pharmacol Sci* 2008; 29: 200-207 [PMID: 18353444 DOI: 10.1016/j.tips.2008.01.006]
- Zhang YH, Wu Q, Xiao XY, Li DW, Wang XP. Silencing MRP4 by small interfering RNA reverses acquired DDP resistance of gastric cancer cell. *Cancer Lett* 2010; 291: 76-82 [PMID: 19883972 DOI: 10.1016/j.canlet.2009.10.003]
- Toker A, Yoeli-Lerner M. Akt signaling and cancer: surviving but not moving on. *Cancer Res* 2006; 66: 3963-3966 [PMID: 16618711 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-0743]
- Almhanna K, Strosberg J, Malafa M. Targeting AKT protein kinase in gastric cancer. *Anticancer Res* 2011; 31: 4387-4392 [PMID: 22199303]
- Han Z, Hong L, Wu K, Han S, Shen H, Liu C, Han Y, Liu Z, Han Y, Fan D. Reversal of multidrug resistance of gastric cancer cells by downregulation of Akt1 with Akt1 siRNA. *J Exp Clin Cancer Res* 2006; 25: 601-606 [PMID: 17310852]
- Zhou W, Fu XQ, Liu J, Yu HG. RNAi knockdown of the Akt1 gene increases the chemosensitivity of gastric cancer cells to cisplatin both in vitro and in vivo. *Regul Pept* 2012; 176: 13-21 [PMID: 22387880 DOI: 10.1016/j.regpep.2012.02.003]
- Tew KD, Manevich Y, Grek C, Xiong Y, Uys J, Townsend DM. The role of glutathione S-transferase P in signaling pathways and S-glutathionylation in cancer. *Free Radic Biol Med* 2011; 51: 299-313 [PMID: 21558000 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.04.013]
- Morgan AS, Ciaccio PJ, Tew KD, Kauvar LM. Isozyme-specific glutathione S-transferase inhibitors potentiate drug sensitivity in cultured human tumor cell lines. *Cancer Chemother Pharmacol* 1996; 37: 363-370 [PMID: 8548883]
- Townsend DM, Tew KD. The role of glutathione-S-transferase in anti-cancer drug resistance. *Oncogene* 2003; 22: 7369-7375 [PMID: 14576844 DOI: 10.1038/sj.onc.1206940]
- 韩杰, 檀碧波, 赵建辉, 王安峰, 吕炳蓉, 耿玮. 消化道肿瘤转移淋巴结中P糖蛋白和谷胱甘肽S转移酶 π 的表达与肿瘤化疗药物敏感性的关系. *中华普通外科杂志* 2009; 24: 573-576
- Zhang Y, Qu X, Jing W, Hu X, Yang X, Hou K, Teng Y, Zhang J, Liu Y. GSTP1 determines cis-platinum cytotoxicity in gastric adenocarcinoma MGC803 cells: regulation by promoter methylation and extracellular regulated kinase signaling. *Anticancer Drugs* 2009; 20: 208-214 [PMID: 19396019 DOI: 10.1097/CAD.0b013e328322fbaa]
- 金鹏, 谢晋良, 朱向荣, 周成, 丁翔, 杨罗艳. shRNA介导GSTP1基因沉默对激素非依赖性前列腺癌细胞株DU145的影响. *中南大学学报(医学版)* 2012; 37: 807-816
- Subramaniam MM, Chan JY, Yeoh KG, Quek T, Ito K, Salto-Tellez M. Molecular pathology of RUNX3

- in human carcinogenesis. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1796: 315-331 [PMID: 19682550 DOI: 10.1016/j.bbcan.2009.07.004]
- 32 Guo C, Ding J, Yao L, Sun L, Lin T, Song Y, Sun L, Fan D. Tumor suppressor gene Runx3 sensitizes gastric cancer cells to chemotherapeutic drugs by downregulating Bcl-2, MDR-1 and MRP-1. *Int J Cancer* 2005; 116: 155-160 [PMID: 15756676 DOI: 10.1002/ijc.20919]
- 33 Fan W, Wang Z, Kyzysztot F, Prange C, Lennon G. A new zinc ribbon gene (ZNRD1) is cloned from the human MHC class I region. *Genomics* 2000; 63: 139-141 [PMID: 10662553 DOI: 10.1006/geno.1999.6040]
- 34 Hong L, Chen Z, Zhang X, Xia L, Han Z, Lu Y, Jin H, Song J, Qiao T, Fan D. Zinc ribbon domain containing 1 protein: modulator of multidrug resistance, tumorigenesis and cell cycle. *Exp Oncol* 2006; 28: 258-262 [PMID: 17285107]
- 35 Shi Y, Zhang Y, Zhao Y, Hong L, Liu N, Jin X, Pan Y, Fan D. Overexpression of ZNRD1 promotes multidrug-resistant phenotype of gastric cancer cells through upregulation of P-glycoprotein. *Cancer Biol Ther* 2004; 3: 377-381 [PMID: 14726695]
- 36 Hong L, Ning X, Shi Y, Shen H, Zhang Y, Lan M, Liang S, Wang J, Fan D. Reversal of multidrug resistance of gastric cancer cells by down-regulation of ZNRD1 with ZNRD1 siRNA. *Br J Biomed Sci* 2004; 61: 206-210 [PMID: 15649014]
- 37 Baguley BC. Multiple drug resistance mechanisms in cancer. *Mol Biotechnol* 2010; 46: 308-316 [PMID: 20717753 DOI: 10.1007/s12033-010-9321-2]
- 38 檀碧波, 李勇, 范立侨, 赵群, 刘羽, 赵雪峰. 胃癌凋亡相关蛋白Survivin、B淋巴细胞/白血病-2、bax表达与肿瘤细胞体外化疗敏感性的关系. *中华实验外科杂志* 2012; 29: 1315-1317
- 39 Rödel F, Sprenger T, Kaina B, Liersch T, Rödel C, Fulda S, Hehlhans S. Survivin as a prognostic/predictive marker and molecular target in cancer therapy. *Curr Med Chem* 2012; 19: 3679-3688 [PMID: 22680927]
- 40 方雷, 吴海滨, 陈晓岗. Survivin基因沉默抑制胃癌MGC-803细胞增殖并增强其对塞来昔布的敏感性. *南方医科大学学报* 2011; 31: 1944-1948
- 41 Shen X, Zheng JY, Shi H, Zhang Z, Wang WZ. Survivin knockdown enhances gastric cancer cell sensitivity to radiation and chemotherapy in vitro and in nude mice. *Am J Med Sci* 2012; 344: 52-58 [PMID: 22261621 DOI: 10.1097/MAJ.0b013e318239c4ee]
- 42 Hardwick JM, Youle RJ. SnapShot: BCL-2 proteins. *Cell* 2009; 138: 404, 404. e1 [PMID: 19632186 DOI: 10.1016/j.cell.2009.07.003]
- 43 Akgul C. Mcl-1 is a potential therapeutic target in multiple types of cancer. *Cell Mol Life Sci* 2009; 66: 1326-1336 [PMID: 19099185 DOI: 10.1007/s00018-008-8637-6]
- 44 Letai A. Pharmacological manipulation of Bcl-2 family members to control cell death. *J Clin Invest* 2005; 115: 2648-2655 [PMID: 16200198 DOI: 10.1172/JCI26250]
- 45 沈方臻, 朱静娟, 林明刚, 肖文静, 王宁宁. 稳定转染Bcl-2 shRNA对胃癌细胞SGC-7901化疗敏感性的影响. *中华肿瘤防治杂志* 2010; 17: 1908-1911
- 46 Akagi H, Higuchi H, Sumimoto H, Igarashi T, Kabashima A, Mizuguchi H, Izumiya M, Sakai G, Adachi M, Funakoshi S, Nakamura S, Hamamoto Y, Kanai T, Takaishi H, Kawakami Y, Hibi T. Suppression of myeloid cell leukemia-1 (Mcl-1) enhances chemotherapy-associated apoptosis in gastric cancer cells. *Gastric Cancer* 2013; 16: 100-110 [PMID: 22527182 DOI: 10.1007/s10120-012-0153-6]
- 47 Shibayama H, Takai E, Matsumura I, Kouno M, Morii E, Kitamura Y, Takeda J, Kanakura Y. Identification of a cytokine-induced antiapoptotic molecule anamorsin essential for definitive hematopoiesis. *J Exp Med* 2004; 199: 581-592 [PMID: 14970183 DOI: 10.1084/jem.20031858]
- 48 Li X, Wu K, Fan D. CIAPIN1 as a therapeutic target in cancer. *Expert Opin Ther Targets* 2010; 14: 603-610 [PMID: 20367238 DOI: 10.1517/14728221003774127]
- 49 Hao Z, Li X, Qiao T, Du R, Hong L, Fan D. CIAPIN1 confers multidrug resistance by upregulating the expression of MDR-1 and MRP-1 in gastric cancer cells. *Cancer Biol Ther* 2006; 5: 261-266 [PMID: 16410721]
- 50 Li X, Fan R, Zou X, Hong L, Gao L, Jin H, Du R, He L, Xia L, Fan D. [Reversal of multidrug resistance of gastric cancer cells by down-regulation of CIAPIN1 with CIAPIN1 siRNA]. *Mol Biol (Mosk)* 2008; 42: 102-109 [PMID: 18389626]

同行评价

本文就目前RNA干扰在胃癌多药耐药研究中的相关进展做了较为详细的综述, 对理解胃癌的多药耐药及开发新型的相关治疗方法有较好的学术价值, 对于其他恶性肿瘤的多药耐药研究有一定的借鉴意义。

编辑 田滢 电编 闫晋利



二甲双胍、吡格列酮对非酒精性脂肪性肝病大鼠肝脏CYP2E1表达的影响

赵东强, 张松筠, 于红艳, 马俊骥, 魏红, 刘红, 魏东敏, 康亚星, 周晓映

■背景资料

肥胖、高血脂、代谢综合征、糖尿病患者易并发非酒精性脂肪性肝病(NAFLD), 目前普遍认为胰岛素抵抗参与其发生发展过程, 二甲双胍和吡格列酮可从不同途径增加胰岛素敏感性, 改善胰岛素抵抗。

赵东强, 马俊骥, 河北医科大学第二医院消化内科, 河北省消化病实验室 河北省石家庄市 050000

张松筠, 康亚星, 河北医科大学第二医院内分泌科 河北省石家庄市 050000

于红艳, 魏东敏, 河北工程大学附属医院呼吸科 河北省邯郸市 056002

魏红, 河北工程大学附属医院神经内科 河北省邯郸市 056002

刘红, 河北工程大学附属医院心内科 河北省邯郸市 056002

周晓映, 河北省胸科医院心内科 河北省石家庄市 050041

赵东强, 副主任医师, 主要从事脂肪肝、消化疾病的内镜诊治及介入治疗的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81200311

河北省科技计划基金资助项目, No. 08276101D_12

作者贡献分布: 此课题由赵东强、张松筠及于红艳共同设计; 研究过程由赵东强、张松筠、于红艳、马俊骥、魏红、刘红、魏东敏、康亚星及周晓映共同操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由张松筠与于红艳提供; 数据分析由赵东强与张松筠完成; 本论文写作由张松筠、于红艳、魏红、刘红、魏东敏、康亚星、赵东强及周晓映共同完成。

通讯作者: 张松筠, 教授, 主任医师, 050000, 河北省石家庄市新华区和平西路215号, 河北医科大学第二医院内分泌科。

zhangsongyun@163.com

电话: 0311-66002831

收稿日期: 2013-01-23 修回日期: 2013-03-06

接受日期: 2013-04-07 在线出版日期: 2013-04-28

Metformin and pioglitazone reduces CYP2E1 expression in the liver of rats with nonalcoholic fatty liver disease

Dong-Qiang Zhao, Song-Yun Zhang, Hong-Yan Yu, Jun-Ji Ma, Hong Wei, Hong Liu, Dong-Min Wei, Ya-Xing Kang, Xiao-Ying Zhou

Dong-Qiang Zhao, Jun-Ji Ma, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University; Hebei Key Laboratory of Gastroenterology; Hebei Institute of Gastroenterology, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Song-Yun Zhang, Ya-Xing Kang, Department of Endocrinology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Hong-Yan Yu, Dong-Min Wei, Department of Respiratory Medicine, the Affiliated Hospital of Hebei University of Engineering, Handan 056002, Hebei Province, China

Hong Wei, Department of Neurology, the Affiliated Hospital of Hebei University of Engineering, Handan 056002, Hebei Province, China

Hong Liu, Department of Cardiology, the Affiliated Hospital of Hebei University of Engineering, Handan 056002, Hebei Province, China

Xiao-Ying Zhou, Department of Cardiology, Hebei Chest Hospital, Shijiazhuang 050041, Hebei Province, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81200311; and the Science and Technology

Project of Hebei Province, No. 08276101D_12

Correspondence to: Song-Yun Zhang, Professor, Chief Physician, Department of Endocrinology, the Second Hospital of Hebei Medical University, 215 Heping West Road, Xinhua District, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. zhangsongyun@163.com

Received: 2013-01-23 Revised: 2013-03-06

Accepted: 2013-04-07 Published online: 2013-04-28

Abstract

AIM: To observe the preventive effects of metformin and pioglitazone on nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and their influence on CYP2E1 expression in the liver.

METHODS: SD rats were randomly divided into four groups: normal control group (fed a normal diet), NAFLD group (fed a fat-rich diet), metformin group [fed a fat-rich diet and intragastrically given metformin 500 mg/(kg·d)], pioglitazone group [fed a fat-rich diet and intragastrically given pioglitazone 15 mg/(kg·d)]. The rats were killed at the end of 12 wk. The contents of alanine transferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), bioactive alkaline phosphatase (ALP), total cholesterol (TC), total glyceride (TG), and floating free acid (FFA) were determined. Fasting blood sugar (FBG) level and insulin (FINS) level were measured to calculate the insulin resistance index (HOMA-IR). HE staining and Masson staining were carried out to observe the pathological changes in the liver. The expression levels of CYP2E1 mRNA and protein in the liver were determined by RT-PCR and immunohistochemistry, respectively.

RESULTS: Compared to the NAFLD group, treatment with metformin significantly reduced the bioactivity of ALT (79.86 U/L ± 10.40 U/L vs 143.80 U/L ± 26.34 U/L), AST (221.30 U/L ± 34.21 U/L vs 358.76 U/L ± 97.20 U/L), and ALP (153.32 U/L ± 24.20 U/L vs 207.47 U/L ± 35.39 U/L), the contents of TC (1.70 mmol/L ± 0.34 mmol/L vs 2.76 mmol/L ± 0.28 mmol/L), TG (3.96 mmol/L ± 0.23 mmol/L vs 5.67 mmol/L ± 0.54 mmol/L), and FFA (493.19 μmol/L ± 38.89 μmol/L vs 654.40 μmol/L ± 71.74 μmol/L), FBG

■同行评议者

党双锁, 教授, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

(5.47 mmol/L \pm 0.42 mmol/L vs 8.05 mmol/L \pm 0.48 mmol/L), FINS (20.89 mU/L \pm 3.12 mU/L vs 27.51 mU/L \pm 4.02 mU/L), and HOMA-IR (5.08 \pm 1.20 vs 9.84 \pm 2.11) (all $P < 0.05$); treatment with pioglitazone significantly reduced the bioactivity of ALT (84.73 U/L \pm 9.18 U/L vs 143.80 U/L \pm 26.34 U/L), AST (235.23 U/L \pm 33.62 U/L vs 358.76 U/L \pm 97.20 U/L), and ALP (160.02 U/L \pm 25.32 U/L vs 207.47 U/L \pm 35.39 U/L), the contents of TC (1.68 mmol/L \pm 0.26 mmol/L vs 2.76 mmol/L \pm 0.28 mmol/L), TG (3.60 mmol/L \pm 0.30 mmol/L vs 5.67 mmol/L \pm 0.54 mmol/L), and FFA (495.21 μ mol/L \pm 43.67 μ mol/L vs 654.40 μ mol/L \pm 71.74 μ mol/L), FBG (5.32 mmol/L \pm 0.37 mmol/L vs 8.05 mmol/L \pm 0.48 mmol/L), FINS (21.01 mU/L \pm 2.86 mU/L vs 27.51 mU/L \pm 4.02 mU/L), and HOMA-IR (4.97 \pm 0.97 vs 9.84 \pm 2.11) (all $P < 0.05$). Treatment with both metformin and pioglitazone ameliorated pathological changes in the liver and reduced the expression levels of CYP2E1 mRNA and protein in the liver (both $P < 0.05$). However, there were no significant differences in the above parameters between the two groups (all $P > 0.05$).

CONCLUSION: Both metformin and pioglitazone can prevent the occurrence of NAFLD by reducing the expression of CYP2E1.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Metformin; Pioglitazone hydrochloride tablets; Nonalcoholic fatty liver disease; Cytochrome P4502E1

Zhao DQ, Zhang SY, Yu HY, Ma JJ, Wei H, Liu H, Wei DM, Kang YX, Zhou XY. Metformin and pioglitazone reduces CYP2E1 expression in the liver of rats with nonalcoholic fatty liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(12): 1102-1108 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1102.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcj.v21.i12.1102>

摘要

目的: 观察二甲双胍、吡格列酮对非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)大鼠肝脏细胞色素P4502E1(CYP2E1)的影响。

方法: SD大鼠随机分为正常对照组(普通饲料喂养)、非酒精性脂肪肝组(高脂饮食喂养)、二甲双胍干预组[高脂饮食喂养加二甲双胍500 mg/(kg·d)灌胃]、吡格列酮干预组[高脂饮食喂养加吡格列酮15 mg/(kg·d)]。饲养12 wk末处死大鼠,检测血清丙氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、碱

性磷酸酶(bioactive alkaline phosphatase, ALP)活性、总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(total glyceride, TG)、游离脂肪酸(floating free acid, FFA)含量;测量空腹血糖(fasting blood-sugar, FBG)及胰岛素(level and insulin, FINS),计算胰岛素抵抗指数(insulin resistance index, HOMA-IR);采用HE染色及Masson染色(显示胶原纤维),观察肝脏病理形态学的改变;采用RT-qPCR和免疫组织化学法分别检测肝脏中CYP2E1 mRNA及蛋白的表达。

结果: 与非酒精性脂肪肝组相比,二甲双胍干预组的ALT(79.86 U/L \pm 10.40 U/L vs 143.80 U/L \pm 26.34 U/L)、AST(221.30 U/L \pm 34.21 U/L vs 358.76 \pm 97.20 U/L)、ALP(153.32 U/L \pm 24.20 U/L vs 207.47 U/L \pm 35.39 U/L)、TC(1.70 mmol/L \pm 0.34 mmol/L vs 2.76 mmol/L \pm 0.28 mmol/L)、TG(3.96 mmol/L \pm 0.23 mmol/L vs 5.67 mmol/L \pm 0.54 mmol/L)、FFA(493.19 μ mol/L \pm 38.89 μ mol/L vs 654.40 μ mol/L \pm 71.74 μ mol/L)以及FBG(5.47 mmol/L \pm 0.42 mmol/L vs 8.05 mmol/L \pm 0.48 mmol/L)、FINS(20.89 mU/L \pm 3.12 mU/L vs 27.51 mU/L \pm 4.02 mU/L)、HOMA-IR(5.08 \pm 1.20 vs 9.84 \pm 2.11)均明显降低($P < 0.05$),吡格列酮干预组的ALT(84.73 U/L \pm 9.18 U/L vs 143.80 U/L \pm 26.34 U/L)、AST(235.23 U/L \pm 33.62 U/L vs 358.76 U/L \pm 97.20 U/L)、ALP(160.02 U/L \pm 25.32 U/L vs 207.47 U/L \pm 35.39 U/L)、TC(1.68 mmol/L \pm 0.26 mmol/L vs 2.76 mmol/L \pm 0.28 mmol/L)、TG(3.60 mmol/L \pm 0.30 mmol/L vs 5.67 mmol/L \pm 0.54 mmol/L)、FFA(495.21 μ mol/L \pm 43.67 μ mol/L vs 654.40 μ mol/L \pm 71.74 μ mol/L)以及FBG(5.32 mmol/L \pm 0.37 mmol/L vs 8.05 mmol/L \pm 0.48 mmol/L)、FINS(21.01 mU/L \pm 2.86 mU/L vs 27.51 mU/L \pm 4.02 mU/L)、HOMA-IR(4.97 \pm 0.97 vs 9.84 \pm 2.11)均明显降低($P < 0.05$),肝脏脂肪变性及纤维化程度均明显改善,CYP2E1 mRNA及蛋白的表达明显降低($P < 0.05$),且两干预组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。

结论: 二甲双胍、吡格列酮均通过降低CYP2E1的表达,预防NAFLD的发生。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 二甲双胍; 吡格列酮; 非酒精性脂肪性肝病; CYP2E1

核心提示: 二甲双胍、吡格列酮均可通过降低CYP2E1的表达,预防非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease)的发生。

■ 研发前沿

NAFLD与代谢综合征有关,但是其具体发病机制尚未完全明确,因此探讨NAFLD发病机制及有效的防治措施是目前研究的热点和重点。

■相关报道

Day等提出了NAFLD发病的“二次打击学说”。初次打击为胰岛素抵抗导致肝脏脂肪沉积,肝细胞脂肪变性;第二次打击为各种原因引起的氧化应激,使肝细胞膜发生脂质过氧化损伤,伴随CYP2E1增加,最终导致肝细胞坏死。

赵东强, 张松筠, 于红艳, 马俊骥, 魏红, 刘红, 魏东敏, 康亚星, 周晓映. 二甲双胍、吡格列酮对非酒精性脂肪性肝病大鼠肝脏CYP2E1表达的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(12): 1102-1108 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1102.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1102>

0 引言

近年来,肥胖、高血脂、代谢综合征、糖尿病患者越来越多,由此引发的非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)发病率日益升高,其发病机制尚未完全明确,但目前普遍认为胰岛素抵抗参与其发生发展过程^[1-4]。二甲双胍和吡格列酮可从不同途径增加胰岛素敏感性,改善胰岛素抵抗。本实验以高脂饮食建立NAFLD大鼠模型,观察CYP2E1在肝脏中的表达及二甲双胍、吡格列酮对NAFLD的预防作用。

1 材料和方法

1.1 材料 ♂ SD大鼠40只,清洁级,体质量180 g±10 g,购自河北医科大学动物实验中心,许可证号: SCXK(冀)2008-1-003。分笼喂养,动物房内通风良好,室温保持在18℃-25℃,湿度40%-60%,光照时间12 h/d。盐酸二甲双胍片,500 mg/片,上海施贵宝公司生产;盐酸吡格列酮片,15 mg/片,天津武田药品有限公司生产;血清丙氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)试剂盒:北京柏定生物工程有限公司;碱性磷酸酶(bioactive alkaline phosphatase, ALP)试剂盒:北京利德曼生化技术有限公司;血糖测定采用葡萄糖氧化酶法;胰岛素放免试剂盒购自北京福瑞生物工程公司;总胆固醇(total Cholesterol, TC)、甘油三酯(total glyceride, TG)、游离脂肪酸(floating free acid, FFA)试剂盒购自南京建成生物工程研究所;CYP2E1多克隆抗体及DAB显色液购自武汉博士德公司;TRIzol试剂盒购自Invitrogen公司;TaKaRa RNA LA PCRTM Kit试剂盒购自日本TaKaRa有限公司。

1.2 方法

1.2.1 动物模型建立与分组:将大鼠随机分为:正常对照组(NC组, $n = 10$),普通饲料喂养12 wk;非酒精性脂肪肝病(NF组, $n = 10$),高脂饮食喂养12 wk,高脂饮食配料包括:80.5%基础饲料、2%高胆固醇、7%猪油、10%蛋黄粉及0.5%胆盐;二甲双胍干预组(MN组, $n = 10$),高脂饮食喂养同时加用二甲双胍500 mg/(kg·d)灌胃12 wk;吡格列酮干预组(PN组, $n = 10$),高脂饮食喂养同时

加用吡格列酮15 mg/(kg·d)灌胃12 wk。

1.2.2 标本制备与保存:饲养12 wk,大鼠禁食12 h,麻醉后下腔静脉取血,分离血清, -70℃保存,以检测血清学指标。迅速取出肝脏,称质量,切取数块右叶肝组织保存于液氮内,以提取蛋白及总RNA,并取右叶肝组织固定于10%甲醛内,用于病理学检查。

1.2.3 观察指标与检测方法:ALT、AST、ALP、TG、TC、FFA、空腹血糖均严格按照试剂说明书由自动生化仪进行测定,胰岛素采用放射免疫法测定,计算胰岛素抵抗指数($HOMA-IR = FBG \times FINS / 22.5$)^[5]。

1.2.4 组织病理学观察:将取出的肝组织浸泡在10%甲醛溶液内固定,石蜡包埋,切片,行HE染色及Masson染色观察肝细胞脂肪变性程度、炎性活动度及肝纤维化的程度,相关标准参照Musso等^[6]提出的肝细胞脂肪变分级方法及2000年全国肝病会议通过的肝纤维化分期方法^[7]。

1.2.5 CYP2E1免疫组织化学的检测:按照SP试剂盒操作说明进行,石蜡切片常规脱蜡、水化,置1 mmol/L Tris/EDTA缓冲液中进行微波抗原修复,凉至室温;30 g/L H₂O₂孵育10 min以消除内源性过氧化物酶活性,滴加100 mL/L正常兔血清封闭非特异性抗原,倾去血清,滴加1:100稀释的CYP2E1一抗,4℃放置过夜, PBS冲洗3 min×5 min,滴加生物素化二抗,37℃孵育10 min, PBS冲洗3 min×5 min;滴加辣根过氧化物酶标记的卵白素工作液,37℃孵育15 min;DAB显色,苏木素复染,脱水中性树脂封片。

1.2.6 CYP2E1 mRNA的测定:提取肝组织标本总RNA,依照试剂盒提供的说明书进行逆转录反应,PCR引物序列:5'-CTCCTCGTCATATC-CATCTG-3', 5'-GCAGCCAATCAGAAATG-3'。PCR反应条件:94℃预变性5 min, 94℃变性30 s, 56℃退火1 min, 72℃延伸1 min, 25个循环,最后72℃延伸8 min。产物分析:PCR扩增产物10 μL加入1%琼脂凝胶中电泳,紫外透射分光仪下观察结果并摄片,用β-actin校正半定量,凝胶图像分析系统测定各电泳带灰度值。

统计学处理 采用SPSS13.0进行数据统计,统计结果用mean±SD表示,计量资料采用单因素方差分析,计数资料采用秩和检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组FBG、FINS及HOMA-IR的比较 与正

■创新盘点

本文通过大鼠模型研究二甲双胍、吡格列酮对非酒精性脂肪肝的预防作用, 发现其作用机制可能与调节CYP2E1的水平有关。

表 1 各组大鼠空腹血糖、胰岛素及胰岛素抵抗指数的比较 (mean ± SD)

分组	空腹血糖(mmol/L)	胰岛素(mU/L)	胰岛素抵抗指数
正常对照组	6.62 ± 0.87	21.13 ± 3.98	6.22 ± 1.84
非酒精性脂肪肝组	8.05 ± 0.48	27.51 ± 4.02 ^a	9.84 ± 2.11 ^a
二甲双胍干预组	5.47 ± 0.42 ^c	20.89 ± 3.12 ^c	5.08 ± 1.20 ^c
吡格列酮干预组	5.32 ± 0.37 ^c	21.01 ± 2.86 ^c	4.97 ± 0.97 ^c

^a $P < 0.05$ vs 正常对照组; ^c $P < 0.05$ vs 非酒精性脂肪肝组。

表 2 各组大鼠丙氨酸氨基转移酶、天冬氨酸氨基转移酶、碱性磷酸酶的变化 (mean ± SD, U/L)

分组	丙氨酸氨基转移酶	天冬氨酸氨基转移酶	碱性磷酸酶
正常对照组	52.56 ± 6.78	196.34 ± 12.97	144.54 ± 23.48
非酒精性脂肪肝组	143.80 ± 26.34 ^a	358.76 ± 97.20 ^a	207.47 ± 35.39 ^a
二甲双胍干预组	79.86 ± 10.40 ^c	221.30 ± 34.21 ^c	153.32 ± 24.20 ^c
吡格列酮干预组	84.73 ± 9.18 ^c	235.23 ± 33.62 ^c	160.02 ± 25.32 ^c

^a $P < 0.05$ vs 正常对照组; ^c $P < 0.05$ vs 非酒精性脂肪肝组。

表 3 各组大鼠甘油三酯、总胆固醇、游离脂肪酸的变化 (mean ± SD)

分组	甘油三酯(mmol/L)	总胆固醇(mmol/L)	游离脂肪酸(μmol/L)
正常对照组	2.70 ± 0.32	0.98 ± 0.25	408.63 ± 31.80
非酒精性脂肪肝组	5.67 ± 0.54 ^a	2.76 ± 0.28 ^a	654.40 ± 71.74 ^a
二甲双胍干预组	3.96 ± 0.23 ^c	1.70 ± 0.34 ^c	493.19 ± 38.89 ^c
吡格列酮干预组	3.60 ± 0.30 ^c	1.68 ± 0.26 ^c	495.21 ± 43.67 ^c

^a $P < 0.05$ vs 正常对照组; ^c $P < 0.05$ vs 非酒精性脂肪肝组。

常对照组相比, 非酒精性脂肪肝组中FINS、HOMA-IR均有明显的上升趋势($P < 0.05$); 与非酒精性脂肪肝组相比, 二甲双胍干预组、吡格列酮干预组FINS、HOMA-IR均有明显的下降($P < 0.05$), 但后两组相比差异无统计学意义(表1)。

2.2 各组大鼠ALT、AST、ALP及TG、TC、FFA的变化 与正常对照组相比, 非酒精性脂肪肝组ALT、AST、ALP活性及TG、TC、FFA含量均有明显升高($P < 0.05$); 与非酒精性脂肪肝组相比, 二甲双胍干预组、吡格列酮干预组ALT、AST、ALP活性及TG、TC、FFA含量均有明显下降($P < 0.05$), 而后两组相比差异无统计学意义(表2, 3)。

2.3 肝组织病理HE染色 正常对照组HE染色可见正常肝小叶结构, 未见肝细胞脂肪变性或坏死及炎性细胞浸润; 非酒精性脂肪肝组HE染色后可见肝小叶结构紊乱或消失, 肝细胞肿大, 出现中重度脂肪变性; 二甲双胍干预组、吡格列酮

干预组HE染色介于正常对照组与非酒精性脂肪肝组(图1)。

2.4 肝组织病理Masson染色 正常对照组肝组织Masson染色可见正常的肝小叶结构, 窦周隙可见少量增生的胶原纤维; 非酒精性脂肪肝组Masson染色可见肝小叶结构紊乱或消失、肝细胞坏死和纤维组织增生, 窦周隙纤维增生明显, 汇管区、肝小叶间、肝小叶中心可见粗条索状纤维组织。二甲双胍干预组、吡格列酮干预组亦可见纤维组织增生, 程度较非酒精性脂肪肝组明显减轻, 两干预组间无明显差异(图2)。

2.5 各组CYP2E1 mRNA及蛋白表达的比较 RT-PCR测定结果显示: 与正常对照组相比, 非酒精性脂肪肝组CYP2E1 mRNA表达量均有明显增多($P < 0.05$)。与非酒精性脂肪肝组相比, 二甲双胍干预组、吡格列酮干预组CYP2E1 mRNA表达量均有明显减少($P < 0.05$), 而后两组相比差异

■应用要点

认真分析临床非酒精性脂肪肝患者的实际情况,可以建议其服用二甲双胍或吡格列酮防治脂肪肝病情的进展。

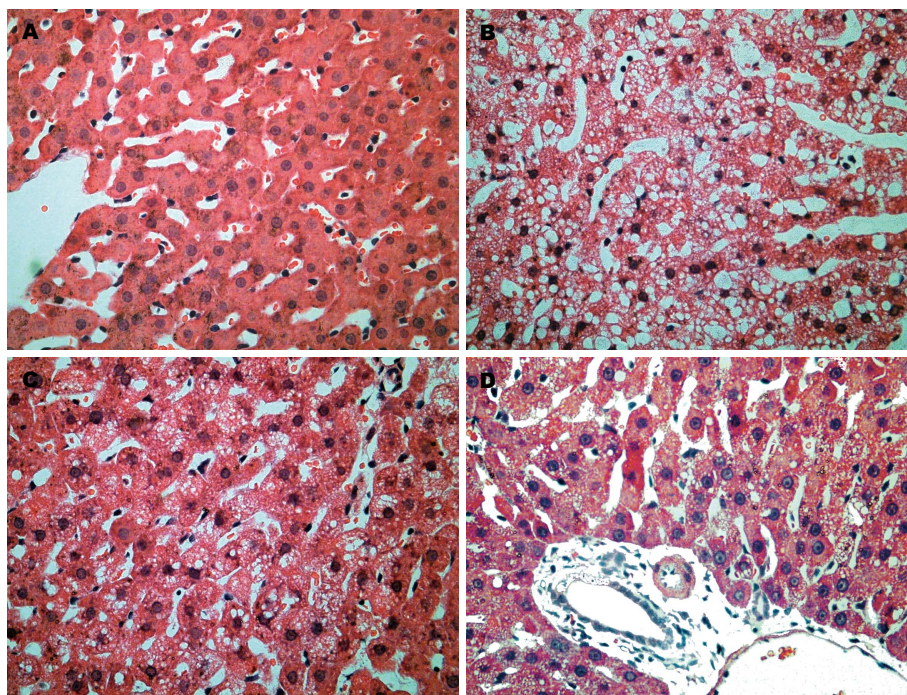


图 1 各组大鼠肝脏的HE染色($\times 400$).

A: 正常对照组; B: 非酒精性脂肪肝组; C: 二甲双胍干预组; D: 吡格列酮干预组.

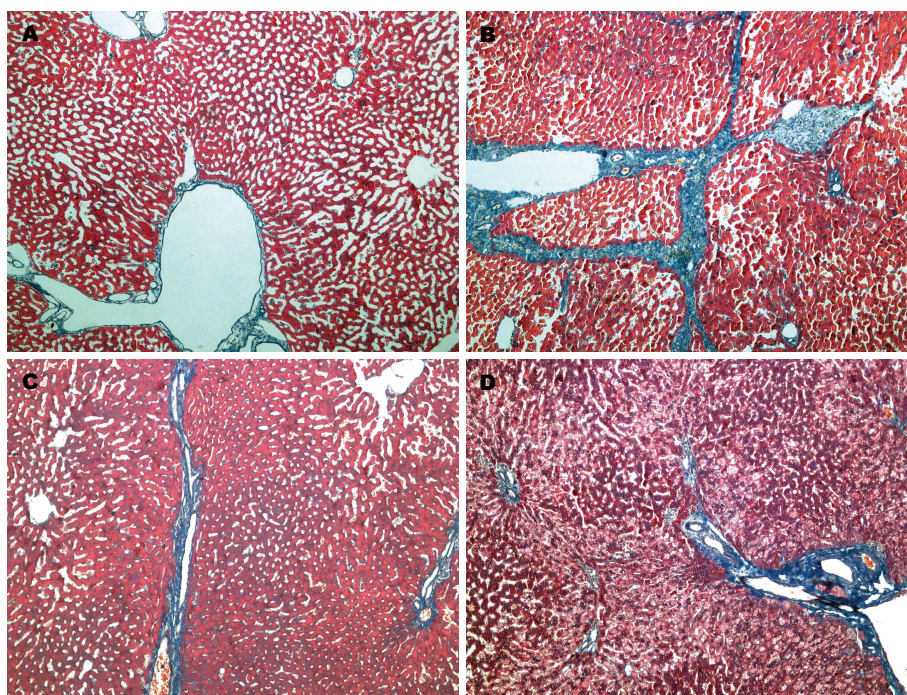


图 2 各组大鼠肝脏的Masson染色($\times 400$).

A: 正常对照组; B: 非酒精性脂肪肝组; C: 二甲双胍干预组; D: 吡格列酮干预组.

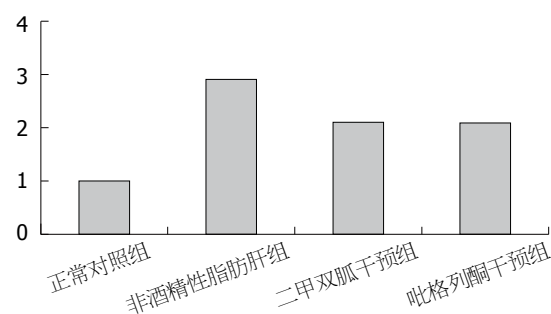


图 3 各组大鼠CYP2E1 mRNA的变化.

无统计学意义($P>0.05$, 图3, 4).

免疫组织化学染色法示: 正常对照组CYP2E1阳性细胞极少, 阳性率为0; 与正常对照组相比, 非酒精性脂肪肝组CYP2E1阳性细胞显著增加, 棕黄色颗粒主要分布于中央静脉周围, 与脂肪变一致($P<0.05$). 与非酒精性脂肪肝组相比, 二甲双胍干预组、吡格列酮干预组CYP2E1阳性细胞明显减少($P<0.05$), 后两组相比差异无统计学意义.

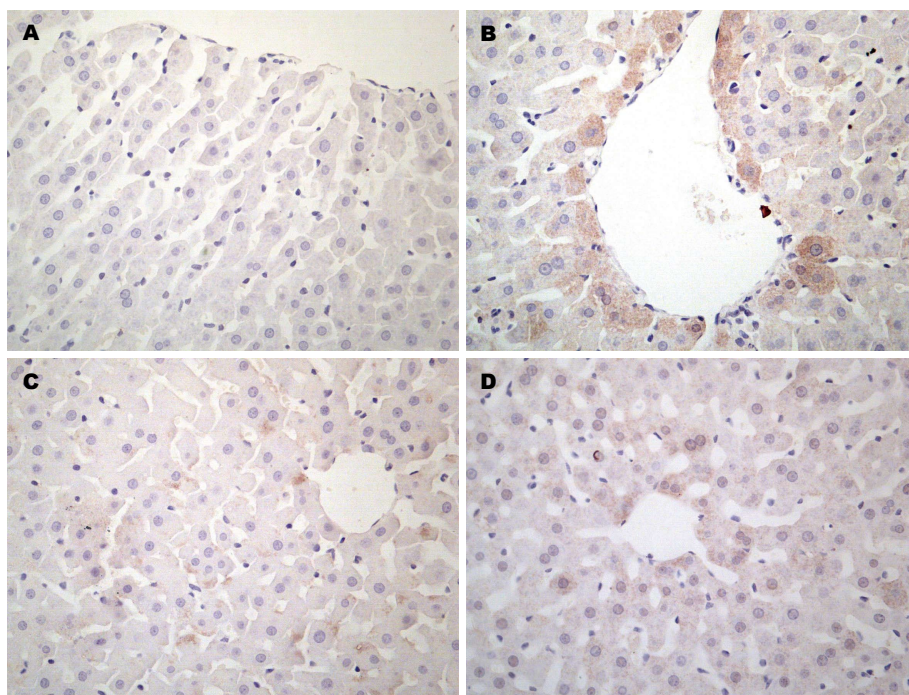


图 4 各组大鼠肝脏CYP2E1阳性细胞变化($\times 400$)。A: 正常对照组; B: 非酒精性脂肪肝病组; C: 二甲双胍干预组; D: 吡格列酮干预组。

■同行评价

本文方案设计可行, 方法得当, 结果分析合理。为临床应用二甲双胍、吡格列酮干预NAFLD的进展提供了实验依据。

3 讨论

目前, NAFLD发病机制尚未完全明确, 但人们普遍接受Nagata等^[8]提出的“二次打击学说”。初次打击为胰岛素抵抗导致的肝脏脂肪沉积, 肝细胞脂肪变性; 第二次打击为各种原因引起的氧化应激, 使肝细胞膜发生脂质过氧化损伤, 最终导致肝细胞坏死。CYP2E1是细胞色素P450的2E1亚型, 为微粒体混合功能氧化酶系中最重要的氧化酶, 参与肝脏的代谢与解毒, 高表达后可使肝细胞中氧化反应增强, 造成肝细胞膜脂质过氧化, 降低抗氧化系统的保护作用, 损伤肝细胞^[9,10]。研究发现NAFLD肝细胞中CYP2E1表达增多, 参与NAFLD的形成^[11,12]。机体处于胰岛素抵抗状态时, 胰岛素将会失去对CYP2E1的抑制作用, 使其含量增多, 活性增强, 导致氧化应激产物增多, 激活肝星状细胞, 出现肝纤维化^[13,14]。实验亦证实^[15]: CYP2E1过度表达可导致氧化应激增强, 减少糖原储备, 促进葡萄糖的合成, 脂肪蓄积增多, 减少肝脏中胰岛素信号, 增强胰岛素抵抗, 加重肝脏损伤。故在非酒精性脂肪性肝病中胰岛素抵抗和CYP2E1是相互独立又相互作用的两个因素。

二甲双胍及吡格列酮可分别通过不同的作用机制改善胰岛素敏感性, 减轻胰岛素抵抗。本实验中, 我们以高脂饮食饲养大鼠, 同时应用二甲双胍及吡格列酮进行干预, 实验结果显示: 二甲双胍干预组及吡格列酮干预组大鼠肝脏病理改变较非酒精性脂肪肝病组均减轻, 血清AST、

ALT、ALP、TG、TC、FFA及胰岛素抵抗指数均低于非酒精性脂肪肝病组。非酒精性脂肪肝病组CYP2E1的表达水平明显高于正常对照组, 而干预组CYP2E1表达水平均有明显的下降趋势, 但干预组间没有明显的区别, 提示二甲双胍、吡格列酮对非酒精性脂肪肝的预防作用相当, 其作用机制可能与调节CYP2E1的水平有关。

4 参考文献

- 1 Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34: 274-285 [PMID: 21623852 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04724.x]
- 2 Bellentani S, Scaglioni F, Marino M, Bedogni G. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease. *Dig Dis* 2010; 28: 155-161 [PMID: 20460905 DOI: 10.1159/000282080]
- 3 中华医学会内分泌学会肝病与代谢学组(筹). 中华医学会内分泌学会“非酒精性脂肪性肝病与相关代谢紊乱诊疗共识”. *中华内分泌代谢杂志* 2010; 26: 531-534
- 4 Bugianesi E, Moscatiello S, Ciaravella MF, Marchesini G. Insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *Curr Pharm Des* 2010; 16: 1941-1951 [PMID: 20370677 DOI: 10.2174/138161210791208875]
- 5 Negami M, Takahashi E, Otsuka H, Moriyama K. Prediction of homeostasis model assessment of insulin resistance in Japanese subjects. *Tokai J Exp Clin Med* 2012; 37: 102-106 [PMID: 23238901]
- 6 Musso G, Gambino R, Cassader M, Pagano G. A meta-analysis of randomized trials for the treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2010; 52: 79-104 [PMID: 20578268 DOI: 10.1002/hep.23623]
- 7 中华医学会, 传染病与寄生虫病学分会. 病毒性肝炎

- 防治方案. 中华内科杂志 2001; 40: 62-68
- 8 Nagata K, Suzuki H, Sakaguchi S. Common pathogenic mechanism in development progression of liver injury caused by non-alcoholic or alcoholic steatohepatitis. *J Toxicol Sci* 2007; 32: 453-468 [PMID: 18198478 DOI: 10.2131/jts.32.453]
- 9 Aroor AR, Roy LJ, Restrepo RJ, Mooney BP, Shukla SD. A proteomic analysis of liver after ethanol binge in chronically ethanol treated rats. *Proteome Sci* 2012; 10: 29 [PMID: 22545783 DOI: 10.1186/1477-5956-10-29]
- 10 Sakaguchi S, Takahashi S, Sasaki T, Kumagai T, Nagata K. Progression of alcoholic and non-alcoholic steatohepatitis: common metabolic aspects of innate immune system and oxidative stress. *Drug Metab Pharmacokinet* 2011; 26: 30-46 [PMID: 21150132 DOI: 10.2133/dmpk.DMPK-10-RV-087]
- 11 Orellana M, Rodrigo R, Varela N, Araya J, Poniachik J, Csendes A, Smok G, Videla LA. Relationship between in vivo chlorzoxazone hydroxylation, hepatic cytochrome P450 2E1 content and liver injury in obese non-alcoholic fatty liver disease patients. *Hepatol Res* 2006; 34: 57-63 [PMID: 16321567 DOI: 10.1016/j.hepres.2005.10.001]
- 12 Videla LA. Oxidative stress signaling underlying liver disease and hepatoprotective mechanisms. *World J Hepatol* 2009; 1: 72-78 [PMID: 21160968 DOI: 10.4254/wjh.v1.i1.72]
- 13 Chiang DJ, Pritchard MT, Nagy LE. Obesity, diabetes mellitus, and liver fibrosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2011; 300: G697-G702 [PMID: 21350183 DOI: 10.1152/ajpgi.00426.2010]
- 14 Bosserhoff A, Hellerbrand C. Obesity and fatty liver are 'grease' for the machinery of hepatic fibrosis. *Dig Dis* 2011; 29: 377-383 [PMID: 21894008 DOI: 10.1159/000329800]
- 15 Kathirvel E, Morgan K, French SW, Morgan TR. Overexpression of liver-specific cytochrome P4502E1 impairs hepatic insulin signaling in a transgenic mouse model of nonalcoholic fatty liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2009; 21: 973-983 [PMID: 19307976 DOI: 10.1097/MEG.0b013e328328f461]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界胃肠病学杂志(英文版)》总被引频次6 979次, 影响因子0.873, 综合评价总分88.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第1位、第3位、第1位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第11位、第156位、第18位; 其他指标: 即年指标0.219, 他引率0.89, 引用刊数619种, 扩散因子8.84, 权威因子2 144.57, 被引半衰期4.7, 来源文献量758, 文献选出率0.94, 地区分布数26, 机构分布数1, 基金论文比0.45, 海外论文比0.71。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界胃肠病学杂志(英文版)》再度被收录为“中国科技核心期刊”(中国科技论文统计源期刊)。根据2011年度中国科技论文与引文数据库(CSTPCD 2011)统计结果,《世界胃肠病学杂志(英文版)》荣获2011年“百种中国杰出学术期刊”称号。

铁螯合剂DFO对胰腺癌细胞株PANC-1增殖率的影响

赵慧贞, 庞慧芳, 赵秋, 覃华

赵慧贞, 庞慧芳, 赵秋, 覃华, 华中科技大学同济医学院附属
同济医院消化内科 湖北省武汉市 430030

赵慧贞, 硕士, 主要从事胰腺癌相关的基础研究.

作者贡献分布: 此研究由覃华与赵秋设计; 研究过程由赵慧贞与
庞慧芳完成; 数据分析由覃华与赵慧贞完成; 本论文写作由覃华
与赵慧贞完成.

通讯作者: 覃华, 主治医师, 430030, 湖北省武汉市解放大道
1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科.
drqinhua@163.com

收稿日期: 2013-01-13 修回日期: 2013-03-06

接受日期: 2013-04-07 在线出版日期: 2013-04-28

Treatment with deferoxamine inhibits the proliferation of PANC-1 cells

Hui-Zhen Zhao, Hui-Fang Pang, Qiu Zhao, Hua Qin

Hui-Zhen Zhao, Hui-Fang Pang, Qiu Zhao, Hua Qin,
Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji
Medical College, Huazhong University of Science and
Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Correspondence to: Hua Qin, Attending Physician, De-
partment of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Med-
ical College, Huazhong University of Science and Technol-
ogy, 1095 Jiefang Dadao, Wuhan 430030, Hubei Province,
China. drqinhua@163.com

Received: 2013-01-13 Revised: 2013-03-06

Accepted: 2013-04-07 Published online: 2013-04-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of treatment with deferoxamine (DFO), an iron chelator, on cell proliferation in pancreatic cancer cell line PANC-1, and to provide an experimental basis for the possible use of DFO for the treatment of pancreatic cancer.

METHODS: Cultured PANC-1 cells were treated with DFO 200 $\mu\text{mol/L}$, gemcitabine (GEM) 10 $\mu\text{mol/L}$, or DFO 200 $\mu\text{mol/L}$ + GEM 10 $\mu\text{mol/L}$ for 24 h. The proliferation of the PANC-1 cells was determined by MTT Assay. GEM-resistant PANC-1 cells were cultured in vitro and treated with DFO at 100 $\mu\text{mol/L}$ or 200 $\mu\text{mol/L}$ for 24 h. The proliferation of GEM-resistant PANC-1 cells was assessed by MTT assay.

RESULTS: After treatment with DFO (200 $\mu\text{mol/L}$) and GEM (10 $\mu\text{mol/L}$) for 24 h, the proliferation rates of PANC-1 cells were 94.9% and

97.3%, respectively, and the reduced rates of cell proliferation were 4.25% and 2.28%. After treatment with DFO (200 $\mu\text{mol/L}$) + GEM (10 $\mu\text{mol/L}$) for 24 h, the proliferation rate of PANC-1 cells was 91.9%, and the reduced rate of cell proliferation was 6.67%. DFO and GEM significantly inhibited the proliferation of PANC-1 cells ($P < 0.05$), and they had a synergistic effect on PANC-1 cell proliferation. After treatment with DFO (100 $\mu\text{mol/L}$ and 200 $\mu\text{mol/L}$) for 24 h, the proliferation rates of GEM-resistant PANC-1 cells were 40.0% and 35.8%, and reduced rate of cell proliferation were 22.5% and 27.7%, respectively. DFO also significantly inhibited the proliferation of GEM-resistant PANC-1 cells.

CONCLUSION: Treatment with DFO can significantly inhibit the proliferation of PANC-1 cells, and DFO has a synergistic effect with GEM. DFO can also significantly inhibit the proliferation of GEM-resistant PANC-1 cells.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Iron chelator; Deferoxamine; Gemcitabine; Pancreatic cancer; Proliferation

Zhao HZ, Pang HF, Zhao Q, Qin H. Treatment with deferoxamine inhibits the proliferation of PANC-1 cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(12): 1109-1113
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1109.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1109>

摘要

目的: 研究铁螯合剂去铁胺(deferoxamine, DFO)对胰腺癌PANC-1细胞增殖率的影响, 为进一步探讨DFO用于治疗胰腺癌提供实验基础.

方法: 体外培养胰腺癌PANC-1细胞, 分别以DFO 200 $\mu\text{mol/L}$ 、吉西他滨(gemcitabine, GEM)10 $\mu\text{mol/L}$ 、DFO 200 $\mu\text{mol/L}$ +GEM 10 $\mu\text{mol/L}$ 作用于PANC-1细胞, 24 h后收获细胞用MTT试剂盒检测PANC-1细胞的增殖率; 以GEM筛选GEM耐药PANC-1细胞, 分别以DFO 100 $\mu\text{mol/L}$ 及200 $\mu\text{mol/L}$ 处理24 h后收获细胞, 用MTT试剂盒检测GEM耐药PANC-1细胞的

■背景资料

胰腺癌是一种恶性程度高、易早期转移、预后极差的消化系统肿瘤, 其早期诊断十分困难, 多数患者在确诊时因已发生肿瘤局部浸润和/或远处转移而失去最佳治疗时机, 且胰腺癌对传统的放疗和化疗并不敏感, 即使采用综合治疗其5年生存率不到5%.

■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

■ 研发前沿

铁超载可加快肿瘤细胞的生长速度, 铁整合剂铁剥夺后可抑制肺癌、肝癌细胞的生长。

增殖率。

结果: 经DFO 200 $\mu\text{mol/L}$ 、GEM 10 $\mu\text{mol/L}$ 处理24 h后, PANC-1细胞增殖率分别为94.9%和97.3%, DFO及GEM对细胞增殖的抑制率分别为4.25%和2.28%, 经DFO 200 $\mu\text{mol/L}$ +GEM 10 $\mu\text{mol/L}$ 处理24 h后, PANC-1细胞增殖率为91.9%, 其对PANC-1细胞增殖抑制率为6.67%。DFO及GEM对PANC-1细胞增殖均有明显的抑制作用($P<0.05$), 二者联用具有协同作用。GEM耐药PANC-1细胞经DFO 100 $\mu\text{mol/L}$ 和200 $\mu\text{mol/L}$ 处理24 h后其增殖率分别为40.0%和35.8%, DFO 100 $\mu\text{mol/L}$ 和200 $\mu\text{mol/L}$ 对GEM耐药PANC-1细胞增殖抑制率分别为22.5%和27.7%。DFO可明显抑制GEM耐药PANC-1细胞的增殖。

结论: 铁整合剂DFO对胰腺癌PANC-1细胞株的增殖有明显的抑制作用, 与GEM具有协同作用; DFO对GEM耐药PANC-1细胞的增殖亦有明显的抑制作用。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 铁整合剂; 去铁胺; 吉西他滨; 胰腺癌; 增殖

核心提示: 铁整合剂去铁胺(deferoxamine, DFO)对胰腺癌PANC-1细胞株的增殖有明显的抑制作用, 与吉西他滨(gemcitabine, GEM)具有协同作用; DFO对GEM耐药PANC-1细胞的增殖亦有明显的抑制作用。

赵慧贞, 庞慧芳, 赵秋, 覃华. 铁整合剂DFO对胰腺癌细胞株PANC-1增殖率的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(12): 1109-1113 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1109>. asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1109>

0 引言

铁是机体中重要的微量元素之一, 细胞内多种酶均含有铁且其活性与铁含量相关, 机体铁代谢异常可导致多种疾病^[1]. 铁参与机体氧气转运、电子传递、DNA合成以及细胞免疫应答等多种生理机能^[2,3], 在细胞新陈代谢过程中起着重要的作用. 铁可调节细胞周期蛋白、凋亡相关基因的表达, 在肿瘤细胞生长和分化过程中亦起着重要的作用^[4-6]. 国外研究发现铁超载可加快肿瘤细胞的生长速度, 铁整合剂剥夺细胞内铁后可抑制肺癌、肝癌细胞的生长^[7-9]. 胰腺癌是一种恶性程度高、易早期转移、预后极差的消化系肿瘤, 其早期诊断十分困难, 多

数患者在确诊时因已发生肿瘤局部浸润和/或远处转移而失去最佳治疗时机, 且胰腺癌对放疗和化疗并不敏感, 即使采用综合治疗其5年生存率不到5%^[10], 预后极差. 因此, 寻求新的治疗药物成为胰腺癌的研究热点, 本研究在细胞水平观察铁整合剂去铁胺(deferoxamine, DFO)对人胰腺癌PANC-1细胞增殖的影响, 为进一步探讨DFO用于胰腺癌的临床治疗提供实验基础。

1 材料和方法

1.1 材料 PANC-1细胞由本实验室保存; 胎牛血清购自杭州四季青生物工程材料公司; RPMI培养基购自Gibco公司; DFO购自诺华公司; 盐酸吉西他滨(gemcitabine, GEM)购自江苏豪森药业股份有限公司; MTT试剂盒购自碧云天公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: PANC-1细胞用含10%胎牛血清、青霉素100 U/mL和链霉素100 U/mL的RPMI培养液, 置于37 °C、5%CO₂培养箱中培养, 根据细胞生长状态, 观察培养基颜色更换新鲜培养基. 按Shah等^[11]报道的方法筛选、培养GEM耐药PANC-1细胞。

1.2.2 MTT法检测细胞增殖: 分别收集对数期PANC-1细胞及吉西他滨筛选后的耐吉西他滨PANC-1细胞, 收集至10 mL离心管, 1 200 r/min离心5 min去除培养基, 以培养基悬浮细胞后接种于96孔板(4×10³细胞/孔), 96孔周边孔添加无菌PBS溶液, 减少细胞培养基挥发, 待细胞贴壁, 细胞密度长至60%-80%后, 吸去培养基, 保留空白孔和对照孔, 实验孔分别加入含DFO、GEM或DFO+GEM的培养基. 本研究中PANC-1细胞分为4组: 对照组、DFO 200 $\mu\text{mol/L}$ 组、GEM 10 $\mu\text{mol/L}$ 组及DFO 200 $\mu\text{mol/L}$ +GEM 10 $\mu\text{mol/L}$ 组; GEM耐药PANC-1细胞分为3组: 对照组、DFO 100 $\mu\text{mol/L}$ 及DFO 200 $\mu\text{mol/L}$ 组. 每个实验组设定6个复孔, 37 °C、5%CO₂培养24 h. 按照每孔100 μL 培养基加入10 μL MTT工作液, 避光微量振荡器上震荡均匀, 后置于37 °C、5%CO₂培养箱, 2 h后于450 nm波长测吸光度。

统计学处理 用SPSS17.0统计软件进行分析, 用Graphpad prism作图. DFO、GEM及DFO+GEM等处理组与对照组之间的差异采用 t 检验分析, $P<0.05$ 表示有显著统计学差异。

2 结果

胰腺癌PANC-1细胞经DFO 200 $\mu\text{mol/L}$ 、GEM

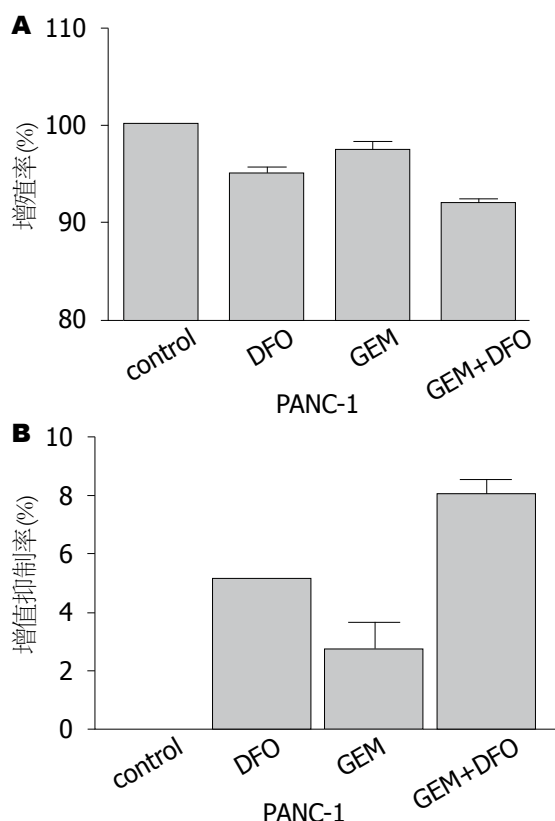


图 1 DFO、GEM及DFO+GEM对PANC-1细胞增殖率的影响。A: PANC-1细胞经DFO 200 $\mu\text{mol/L}$ 、GEM 10 $\mu\text{mol/L}$ 及DFO 200 $\mu\text{mol/L}$ +GEM 10 $\mu\text{mol/L}$ 处理24 h; B: DFO 200 $\mu\text{mol/L}$ 、GEM 10 $\mu\text{mol/L}$ 及DFO 200 $\mu\text{mol/L}$ +GEM 10 $\mu\text{mol/L}$ 处理对PANC-1细胞增值的影响。DFO: 铁螯合剂去铁胺; GEM: 吉西他滨。

10 $\mu\text{mol/L}$ 及DFO 200 $\mu\text{mol/L}$ +GEM 10 $\mu\text{mol/L}$ 处理24 h后, 其增殖率分别为94.9%、97.3%和91.9%, 与对照组相比PANC-1细胞增殖率均明显降低($P = 0.0009, 0.0476, <0.0001$)。GEM 10 $\mu\text{mol/L}$ 与DFO 200 $\mu\text{mol/L}$ 组无统计学意义($P>0.05$), DFO 200 $\mu\text{mol/L}$ +GEM 10 $\mu\text{mol/L}$ 与DFO 200 $\mu\text{mol/L}$ 、GEM 10 $\mu\text{mol/L}$ 相比细胞增值率明显下降($P = 0.0082, 0.0094$)。DFO 200 $\mu\text{mol/L}$ 、GEM 10 $\mu\text{mol/L}$ 及DFO 200 $\mu\text{mol/L}$ +GEM 10 $\mu\text{mol/L}$ 对PANC-1细胞增值抑制率分别为4.25%、2.28%和6.67%, DFO 200 $\mu\text{mol/L}$ 与GEM 10 $\mu\text{mol/L}$ 可明显抑制PANC-1细胞的增殖, 且二者具有协同作用(图1)。

吉西他滨耐药PANC-1细胞经DFO 100 $\mu\text{mol/L}$ 及200 $\mu\text{mol/L}$ 处理24 h后, 其增殖率分别为40.0%和35.8%, 与对照组相比PANC-1细胞增殖率均明显降低($P<0.0001, <0.0001$); DFO 100 $\mu\text{mol/L}$ 与DFO 200 $\mu\text{mol/L}$ 相比有统计学意义($P = 0.0017$)DFO可明显抑制吉西他滨耐药PANC-1细胞增殖, DFO 100 $\mu\text{mol/L}$ 及200 $\mu\text{mol/L}$ 对

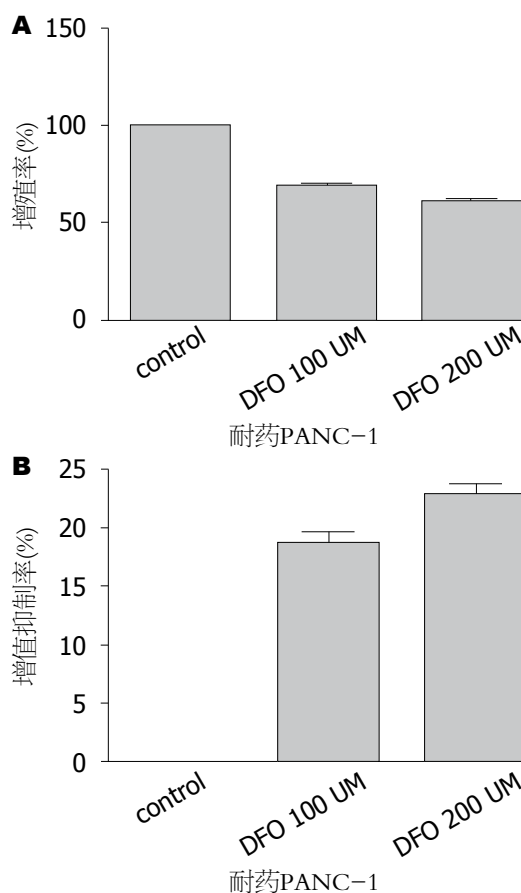


图 2 DFO对GEM耐药PANC-1细胞增殖率的影响。A: GEM耐药PANC-1细胞经DFO 100 $\mu\text{mol/L}$ 及200 $\mu\text{mol/L}$ 处理24 h; B: DFO 100 $\mu\text{mol/L}$ 及200 $\mu\text{mol/L}$ 对GEM耐药PANC-1细胞增值的影响。DFO: 铁螯合剂去铁胺。

PANC-1细胞增值抑制率分别为18.5%和22.68%, 其抑制作用强度与DFO剂量相关(图2)。

3 讨论

去铁胺被认为是降低机体铁负荷的“金标准”, 主要用于治疗血红蛋白病及 β -地中海贫血合并铁负荷过重者^[9]。DFO与游离或蛋白结合的 Fe^{3+} 形成稳定、无毒的水溶性铁胺复合物随尿排出体外而降低机体铁负荷。DFO对转铁蛋白中的铁离子清除作用不强, 亦不能清除血红蛋白、肌球蛋白和细胞色素中的铁离子, 因而DFO对血红蛋白、肌红蛋白及细胞色素无不良影响。

本研究中胰腺癌PANC-1细胞经DFO 200 $\mu\text{mol/L}$ 处理24 h后, 其增殖率与对照组相比明显降低($P<0.05$), 与GEM组相近, 二者联用可进一步抑制PANC-1细胞的增殖, 两者具有协同作用。因此, 在胰腺癌综合治疗中可以将铁螯合剂作为新的选择。DFO抑制肿瘤细胞增殖的确切机制尚未明了, 其可能机制包括以下几个方面: (1)肿

■创新盘点
目前铁螯合剂对胰腺癌细胞的增殖作用国内外研究不多, 此研究给胰腺癌患者带来希望。

■应用要点

本研究给胰腺癌患者带来希望,也为进一步研究胰腺癌的发病机制与DFO抗肿瘤机制提供实验基础。

瘤细胞快速增殖过程中合成DNA时需要大量的铁, DFO可通过螯合作用降低肿瘤细胞内铁水平, 从而影响肿瘤细胞DNA合成^[9]; (2)核苷酸还原酶(ribonucleotide reductase, RR)是DNA合成的限速酶, RR在DNA修复中亦起着重要作用, 其活性中心包含一个Fe-O-Fe结构, DFO可降低肿瘤细胞内铁水平进而降低RR活性^[12,13]抑制DNA合成; (3)DFO螯合肿瘤细胞内铁后下调细胞周期蛋白cyclin D1、cdk2的表达致使肿瘤细胞G₁/S期停滞, 上调p53及Ndrp1水平导致肿瘤细胞生长周期停滞或诱导细胞凋亡^[4,14,15]。与此同时, 有研究发现DFO可通过上调肿瘤细胞内Ndrp1水平而减弱TGF- β 诱导的上皮细胞间质转分化, 降低结肠癌HT29及DM145细胞的迁移和侵袭力^[5,16]。我们同期的研究发现胰腺癌ASPC-1细胞经DFO 50、100、200 μ mol/L处理24 h后, 其增殖率分别为95.52%、93.65%、94.29%, 和对照组相比无统计学意义, 组间相比亦无统计学意义, 其原因有待于进一步研究。

胰腺癌为消化系常见肿瘤, 其恶性度高、进展快、预后差, 5年存活率仅为1%-3%。随着诊疗技术的改进, 胰腺癌诊断率及手术切除率均有所提高, 围手术期死亡率及并发症发生率亦有显著降低, 但其治疗效果仍不理想, 分析其原因主要与胰腺癌细胞多药耐药有关。GEM是治疗胰腺癌的首选化疗药物, 由于胰腺癌细胞获得性或内在的耐药性致使其总体有效率不足20%, 近年来GEM联合非细胞毒性药物以增强其化疗敏感性成为研究的热点, 王若天等^[17]研究发现联合应用姜黄素与GEM可显著抑制PANC-1细胞增殖率, 且呈时间依赖性。曾勇等^[18]研究发现大黄素与GEM联用可显著抑制BxPC-3细胞增殖率, 其抑制作用强于任一单用药物。本研究发现DFO及GEM均可明显抑制PANC-1细胞增殖率, 二者联用可进一步抑制PANC-1细胞的增殖, 两者具有协同作用。对于GEM耐药PANC-1细胞, 即使将GEM浓度提高至100 μ mol/L对其增殖率亦无明显影响, 但DFO可显著抑制其增殖。因此, 我们认为DFO可作为胰腺癌综合治疗的一种新的选择, 特别是GEM耐药胰腺癌患者。

总之, 本研究结果显示铁螯合剂DFO对胰腺癌PANC-1细胞株的增殖有明显的抑制作用, 而且与GEM具有协同作用; 对于GEM耐药PANC-1细胞DFO亦可明显抑制其增殖, 虽然其确切机制尚未明了, 铁螯合剂仍有望作为胰腺癌综合

治疗的一种新的选择, 特别是GEM耐药的患者, 为胰腺癌患者带来新的希望。

4 参考文献

- 1 Chua AC, Graham RM, Trinder D, Olynyk JK. The regulation of cellular iron metabolism. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2007; 44: 413-459 [PMID: 17943492]
- 2 Zhang AS, Enns CA. Molecular mechanisms of normal iron homeostasis. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2009; 207-214 [PMID: 20008200 DOI: 10.1182/asheducation-2009.1.207]
- 3 Muñoz M, Villar I, García-Erce JA. An update on iron physiology. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 4617-4626 [PMID: 19787824]
- 4 Le NT, Richardson DR. The role of iron in cell cycle progression and the proliferation of neoplastic cells. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1603: 31-46 [PMID: 12242109]
- 5 Yu Y, Kovacevic Z, Richardson DR. Tuning cell cycle regulation with an iron key. *Cell Cycle* 2007; 6: 1982-1994 [PMID: 17721086]
- 6 Bohnsack BL, Hirschi KK. Nutrient regulation of cell cycle progression. *Annu Rev Nutr* 2004; 24: 433-453 [PMID: 15189127 DOI: 10.1371/journal.pone.0040594]
- 7 Huang X. Iron overload and its association with cancer risk in humans: evidence for iron as a carcinogenic metal. *Mutat Res* 2003; 533: 153-171 [PMID: 14643418 DOI: 10.1016/j.cell.2008.01.052]
- 8 Toyokuni S. Role of iron in carcinogenesis: cancer as a ferrotoxic disease. *Cancer Sci* 2009; 100: 9-16 [PMID: 19018762 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2008.01001.x]
- 9 Yu Y, Gutierrez E, Kovacevic Z, Saletta F, Obeid P, Suryo Rahmanto Y, Richardson DR. Iron chelators for the treatment of cancer. *Curr Med Chem* 2012; 19: 2689-2702 [PMID: 22455580 DOI: 10.1038/sj.onc.1208007]
- 10 Hidalgo M. Pancreatic cancer. *N Engl J Med* 2010; 362: 1605-1617 [PMID: 20427809 DOI: 10.1056/NEJMra0901557]
- 11 Shah AN, Summy JM, Zhang J, Park SI, Parikh NU, Gallick GE. Development and characterization of gemcitabine-resistant pancreatic tumor cells. *Ann Surg Oncol* 2007; 14: 3629-3637 [PMID: 17909916 DOI: 10.1038/embor.2011.257]
- 12 Dayani PN, Bishop MC, Black K, Zeltzer PM. Desferoxamine (DFO)--mediated iron chelation: rationale for a novel approach to therapy for brain cancer. *J Neurooncol* 2004; 67: 367-377 [PMID: 15164994 DOI: 10.1016/j.cellsig.2011.08.011]
- 13 Shao J, Zhou B, Chu B, Yen Y. Ribonucleotide reductase inhibitors and future drug design. *Curr Cancer Drug Targets* 2006; 6: 409-431 [PMID: 16918309]
- 14 Gao J, Richardson DR. The potential of iron chelators of the pyridoxal isonicotinoyl hydrazone class as effective antiproliferative agents, IV: The mechanisms involved in inhibiting cell-cycle progression. *Blood* 2001; 98: 842-850 [PMID: 11468187]
- 15 汤有才, 贾国存, 李丰益, 廖清奎, 张冬梅, 王军. 铁剥夺抗K562细胞的增殖作用及机制. *实用儿科临床杂志* 2007; 22: 180-182
- 16 Saletta F, Suryo Rahmanto Y, Noursri E, Richardson DR. Iron chelator-mediated alterations in gene expression: identification of novel iron-regulated molecules that are molecular targets of hypoxia-inducible factor-1 alpha and p53. *Mol Pharmacol*

- 2010; 77: 443-458 [PMID: 20023006 DOI: 10.1124/mol.109.061028]
- 17 王若天, 钱明, 田园. 姜黄素联合吉西他滨对人胰腺癌Panc-1细胞增殖的影响. 中国生化药物杂志 2012; 33:

- 449-451
- 18 曾勇, 刘岸, 童洪飞, 邱麦轩, 林胜璋. 大黄素联合吉西他滨对体外人胰腺癌细胞株BxPC-3生长及凋亡的影响. 中国中西医结合杂志 2011; 31: 552-554

编辑 田滢 电编 闫晋利



■同行评价

本文有一定创新性, 目前未见铁螯合剂对胰腺癌作用方面的研究, 仅在其他肿瘤中有报道, 研究结果数据较为可靠, 讨论分析恰当, 本文的结果对于阐明肿瘤细胞的耗铁机制有一定参考价值。

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》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核对, 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)

沈阳市成年居民脂肪肝的流行病学调查

林连捷, 曹男, 郑长青, 林艳, 王东旭, 金玉

■背景资料

脂肪肝是由多种病因引起的肝内脂肪蓄积过多的病理学状态, 包括单纯脂肪性肝病、脂肪性肝炎、肝纤维化或肝硬化, 可以发展至终末期肝病, 随着饮食结构和生活方式的转变, 脂肪肝在一般人群中的发病率呈现逐年上升趋势。

林连捷, 曹男, 郑长青, 林艳, 王东旭, 金玉, 中国医科大学附属盛京医院消化内科 辽宁省沈阳市 110004

林连捷, 副教授, 副主任医师, 主要从事肝病的相关研究。

辽宁省科学技术基金资助项目, No. 2010225008

辽宁省博士科研启动基金资助项目, No. 20081048

沈阳市科学技术基金资助项目, No. F10-205-1-17

作者贡献分布: 林连捷与曹男对此文所作贡献均等; 此课题由林连捷与曹男设计; 研究过程由林连捷、曹男、郑长青、林艳、王东旭及金玉完成; 数据分析由林连捷完成; 本论文写作由林连捷与曹男完成。

通讯作者: 林连捷, 副教授, 副主任医师, 110004, 辽宁省沈阳市铁西区滑翔路39号, 中国医科大学附属盛京医院消化内科。

audreylin73@hotmail.com

收稿日期: 2013-03-11 修回日期: 2013-03-21

接受日期: 2013-04-13 在线出版日期: 2013-04-28

An epidemiological survey of prevalence of fatty liver disease in a general adult population in Shenyang

Lian-Jie Lin, Nan Cao, Chang-Qing Zheng, Yan Lin, Dong-Xu Wang, Yu Jin

Lian-Jie Lin, Nan Cao, Chang-Qing Zheng, Yan Lin, Dong-Xu Wang, Yu Jin, Department of Gastroenterology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China

Supported by: the Science and Technology Foundation of Liaoning Province, No. 2010225008; the Doctoral Scientific Research Foundation of Liaoning Province, No. 20081048; the Shenyang Municipal Science and Technology Foundation, No. F10-205-1-17

Correspondence to: Lian-Jie Lin, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Shengjing Hospital of China Medical University, 39 Huaxiang Road, Tiexi District, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. audreylin73@hotmail.com

Received: 2013-03-11 Revised: 2013-03-21

Accepted: 2013-04-13 Published online: 2013-04-28

Abstract

AIM: To investigate the prevalence of and major risk factors for fatty liver in adult residents in Shenyang.

METHODS: A total of 1 100 subjects who underwent physical examination in our center from August 2011 to November 2011 were included in this study. The survey included questionnaire investigation, physical examination, laboratory examination, and ultrasonic abdomen examination. The diagnosis of fatty liver disease was

based on criteria adopted by the China Institute of Liver Disease and Alcoholic Liver Disease Group, and the prevalence of and major risk factors for fatty liver disease were investigated.

RESULTS: The prevalence of fatty liver in 1 100 detected cases was 41.64%. Males had a higher prevalence than females (45.15% vs 37.45%, $\chi^2 = 6.557$, $P < 0.05$). Age between 41 and 50 years is still the peak age for the development of the disease (47.92%), while the prevalence of fatty liver has a significantly increased trend in the age group of 21-30 years and 31-40 years (33.33% and 46.25%). The difference in the prevalence of fatty liver disease between the city's different regions was not significant ($\chi^2 = 0.336$, $P > 0.05$). There was a higher incidence of the disease in workers, civil servants, and general staff ($\chi^2 = 72.381$, $P < 0.05$). The mean age, body mass index (BMI), systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP), uric acid (UA), triglycerides (TG), fasting-serum glucose level (GLUO), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and liver enzyme indicators (including γ -glutamyl transpeptidase, γ -GT, aspartate transaminase, (alanine aminotransferase and alkaline phosphatase) were significantly higher in the fatty liver group than in the group without fatty liver disease ($\chi^2 = 285.521$, $P < 0.001$). The proportion of fatty liver was significantly increased with the increase in BMI. Logistic regression analysis demonstrated a close correlation between fatty liver disease and age, sex (male), BMI, SBP, DBP, UA, apoB, LDL-C, TG and GLUO.

CONCLUSION: The prevalence of fatty liver disease was high, especially in middle-aged persons in Shenyang region. Age, sex, overweight or obesity, hypertension, glucose metabolism disorders, dyslipidemia and hyperuricemia were closely associated with the development of fatty liver disease.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Fatty liver disease; Epidemiological; Risk factors

Lin LJ, Cao N, Zheng CQ, Lin Y, Wang DX, Jin Y. An

■同行评议者

迟宝荣, 教授, 吉林大学第一医院
消化内科

epidemiological survey of prevalence of fatty liver disease in a general adult population in Shenyang. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(12): 1114-1119 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1114.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1114>

摘要

目的: 了解沈阳市成年居民脂肪肝的患病情况及相关危险因素。

方法: 选取2011-08/2011-11于我院体检的人员1 100例, 内容涉及问卷调查、体格检查、实验室检测及腹部超声检查。采用2010年中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组规定的脂肪肝诊断标准, 统计被纳入对象的脂肪肝患病情况, 并对其各项指标进行比较, 分析其可能的危险因素。

结果: 沈阳市居民脂肪肝的患病率41.64%, 男性患病率明显高于女性(45.15% vs 37.45%, $\chi^2 = 6.557$, $P < 0.05$), 研究发现41-50岁仍然是此病发病的高峰年龄段(47.92%), 但21-30岁、31-40岁脂肪肝的患病率有明显增高趋势, 分别占33.33%, 46.25%。对比市内5区与大东区、于洪区、浑南新区及苏家屯区等地区的脂肪肝患病率, 差异无显著性($\chi^2 = 0.336$, $P > 0.05$)。分析研究对象职业分布显示工人、公务员、普通职员脂肪肝发病率较高($\chi^2 = 72.381$, $P < 0.05$)。单因素分析显示, 体质指数(body mass index, BMI)、收缩压(systolic blood pressure, SBP)、舒张压(diastolic blood pressure, DBP)、尿酸(uric acid, UA)、甘油三酯(triglyceride, TG)、空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)、低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)以及肝脏酶学指标, 包括 γ -谷氨酰转肽酶(γ -glutamyl transpeptidase, γ -GT)、天冬氨酸氨基转移酶(aspartate transaminase, AST)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)均显著高于非脂肪肝组(均 $P < 0.001$)。研究脂肪肝与BMI之间的关系我们发现随着体质指数的增加, 脂肪肝所占的比例呈明显增高趋势($\chi^2 = 285.521$, $P < 0.001$)。进一步多因素Logistic回归结果显示年龄、性别(男)、BMI、SBP、DBP、UA、apoB、LDL-C、TG、FPG等9项指标与脂肪肝发病明显相关。

结论: 沈阳市居民脂肪肝的患病率较高, 其中以中年人居多, 并与性别、超体质量、肥胖、高血压、糖代谢紊乱、血脂异常、高尿酸血症等密切相关。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 脂肪肝; 流行病学; 危险因素

核心提示: 沈阳市居民脂肪肝的患病率较高, 其中以中年人居多, 并与性别、超体质量、肥胖、高血压、糖代谢紊乱、血脂异常、高尿酸血症等密切相关, 我们应该引起对脂肪肝的重视, 从改变生活习惯及饮食习惯开始, 更好地预防脂肪肝疾病的发生。

林连捷, 曹男, 郑长青, 林艳, 王东旭, 金玉. 沈阳市成年居民脂肪肝的流行病学调查. 世界华人消化杂志 2013; 21(12): 1114-1119 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1114.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1114>

0 引言

脂肪肝是由多种病因引起的肝内脂肪蓄积过多的病理学状态, 包括单纯脂肪性肝病、脂肪性肝炎、肝纤维化或肝硬化, 可以发展至终末期肝病, 随着饮食结构和生活方式的转变, 脂肪肝在一般人群中的发病率呈现逐年上升趋势^[1]。沈阳是东北地区重要的中心城市, 是政治、经济、文化、交通、商贸、科技和信息中心。拥有数百万的人口, 近几年, 关于各省市地区脂肪肝的流行病学调查研究也越来越多, 但对沈阳市居民脂肪肝患病情况的调查尚无相关研究, 本研究旨在对沈阳市成年居民脂肪肝患病状况及危险因素进行调查分析, 从而更有效的预防脂肪性肝病的发生。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2011-08/2011-11具有完整资料的中国医科大学附属盛京医院体检中心的健康体检者1 100例, 均来自沈阳市内5区(沈河区、和平区、铁西区、皇姑区、大东区)以及周边东陵区、于洪区和浑南新区和苏家屯区4个区。其中男598例(54.36%), 女502例(45.63%), 男女比例1.19:1.00, 年龄21-60岁, 平均45.33岁 \pm 12.82岁, 职业涉及工人、农民、教师、记者、普通职员、管理人员及公务员等十多个行业。

1.2 方法

1.2.1 资料收集标准: (1)采用统一设计的调查表, 由专业医生对体检人员进行规范讲解, 通过其知情同意进行问卷调查, 包括年龄、性别、工作性质、既往史与用药史、烟酒史、饮食及生活习惯等; (2)由经过专业培训的医师按照统一标准进行体格检查, 详细记录。采用统一身高体重测量仪进行测量, 测量时空腹、赤脚、双

■ 研发前沿

关于沈阳市居民脂肪肝患病情况的调查尚无相关研究, 本研究旨在对沈阳市成年居民脂肪肝患病状况及危险因素进行调查分析, 从而更有效的预防当地人群脂肪性肝病的发生。

■相关报道

2010年O'Shea等通过研究指出脂肪肝不仅可导致肝病相关残疾和死亡,而且与动脉粥样硬化性心脑血管事件的高发密切相关。

足并拢、挺胸直立,体质量精确到0.1 kg,身高精确到0.1 cm,体质量指数(body mass index, BMI) = 体质量(kg)/身高²(m²);采用全自动电子血压计测量静息10 min以上的血压;(3)所有研究对象均禁食水8 h以上接受肝胆脾超声检查及空腹血清标本测定肝功、肝炎病毒、空腹血糖、血脂、肾功,全血标本测定血白细胞数、红细胞数、血小板数和血红蛋白。

1.2.2 资料分组:将所有纳入对象1 100例分为脂肪肝组(458例)和非脂肪肝组(642例);在458例脂肪肝中,分成酒精性脂肪肝组(373例)和非酒精性脂肪肝组(85例)两个亚组。

1.2.3 排除标准:恶性肿瘤、病毒性肝炎标志物阳性、慢性胰腺炎、肝硬化失代偿期、孕妇及哺乳期妇女。

1.2.4 诊断标准:(1)脂肪肝的诊断依据中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组2010年修订的非酒精性脂肪性肝病诊断标准和酒精性肝病诊断标准^[2,3];(2)血糖分级参照1999年WHO专家委员会报告及2003年国际糖尿病专家委员会建议:空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)3.9-5.5 mmol/L为正常, FPG 5.6-6.9 mmol/L为空腹血糖调节受损(impaired fasting glucose, IFG), FPG ≥ 7.0为糖尿病;(3)高血压病参照1999年WHO标准:收缩压(systolic blood pressure, SBP) ≥ 140 mmHg或舒张压(diastolic blood pressure, DBP) ≥ 90 mmHg;(4)血脂异常参照2007年中华心血管学会制定的血脂异常防治指南^[4];(5)高尿酸血症诊断标准为:男>420 μmol/L,女>360 μmol/L;(6)BMI分级采用中国肥胖问题工作组数据汇总分析协作组的诊断标准^[5]。BMI < 18.5为体质量过低, 18.5 ≤ BMI < 24为正常, 24 ≤ BMI < 28为超重, BMI ≥ 28为肥胖;(7)慢性饮酒:饮酒50 g/d以上,连续5年以上;吸烟:至少吸1支/d且连续6 mo以上;喜甜食或甜食:至少有3 d/wk吃肥肉或甜食;经常锻炼:锻炼3次/wk以上,且每次超过30 min。

统计学处理 采用SPSS17.0软件,计量资料结果以mean ± SD表示,计数资料采用 χ^2 检验,危险因素分析采用Logistic多元回归分析,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料 在1 100例研究对象中,男女之间年龄差异无显著性。根据诊断标准,超声诊断出脂肪肝患者458例(41.64%),非脂肪肝患者652例

表1 各组间患病率的比较

分组		脂肪肝	
		n	百分比(%)
总体		458	41.64
地区	市内五区	267	42.38
	其他地区	191	40.64
年龄(岁)	21-30	80	33.33
	31-40	148	46.25
	41-50	127	47.92
	51-60	48	31.58
	61-70	55	25.00

(59.27%)。在脂肪肝患者中,男270例,女188例。其中男性脂肪肝患病率明显高于女性(45.15% vs 37.45%, $\chi^2 = 6.557$, $P < 0.05$)。对年龄进行划分,发现31-40岁组、41-50岁组的脂肪肝患病率最高,21-30岁的发病率也有明显提高($\chi^2 = 23.967$, $P < 0.01$)。与大东区、于洪区、浑南新区及苏家屯区等地区相比,市内5区人群脂肪肝的患病率略有增高,但差异无统计学意义($\chi^2 = 0.336$, $P > 0.05$, 表1)。本科及本科以上学历共868例,脂肪肝占38.25%(332例),本科以下学历共232例,脂肪肝占47.41%(110例);月收入3 000及以上者579例,脂肪肝占49.05%(284例),月收入3 000以下者521例,脂肪肝占34.36%(179例),差异均有显著性。

2.2 脂肪肝在不同职业的分布 分析所有研究对象职业分布,结果显示不同职业脂肪肝的发病率不同,差异有显著性,其中工人、公务员、普通职员脂肪肝发病率较高(表2)。

2.3 各项指标在脂肪肝组与非脂肪肝组的比较 单因素分析显示,总胆红素(total bilirubin, TBIL)、直接胆红素(direct bilirubin, DBIL)、间接胆红素(indirect bilirubin, IBIL)在脂肪肝组和非脂肪肝组均无明显差异(均 $P > 0.05$), BMI、SBP、DBP、UA、TG、FPG以及肝脏酶学指标,包括 γ -谷氨酰转肽酶(γ -glutamyl transpeptidase, γ -GT)、谷草转氨酶(glutamic-oxaloacetic transaminase, ASP)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)均显著高于非脂肪肝组(均 $P < 0.001$),而HDL-C、载脂蛋白A1则显著低于非脂肪肝组(均 $P < 0.001$, 表3)。其中,我们进一步研究了脂肪肝和BMI的关系,结果发现随着体质量指数的增加,脂肪肝所占的比例呈明显增高趋势(表4)。

2.4 脂肪肝多因素Logistic回归分析 应用二项分

表 2 不同职业脂肪肝的患病率比较

	工人	农民	教师	公务员	普通职员	记者	外勤人员	技术人员	其他
脂肪肝数	68	18	32	110	126	29	22	23	30
n(%)	(40.72)	(31.03)	(31.07)	(54.46)	(58.33)	(33.33)	(24.44)	(23.96)	(37.04)
总数	167	58	103	202	216	87	90	96	81

$\chi^2 = 72.381, P < 0.05$.

表 3 脂肪肝组与非脂肪肝组各项指标间的比较 (mean \pm SD)

指标	脂肪肝组	非脂肪肝组	t值	P值
年龄(岁)	39.46 \pm 9.10	36.33 \pm 8.72	4.413	0.000
体质指数(kg/m ²)	27.05 \pm 2.95	22.97 \pm 2.94	16.510	0.000
收缩压(mmHg)	134.46 \pm 18.85	119.63 \pm 17.23	10.267	0.000
舒张压(mmHg)	83.96 \pm 12.87	74.46 \pm 11.73	9.671	0.000
载脂蛋白B(g/L)	1.00 \pm 0.24	0.89 \pm 0.23	5.797	0.000
载脂蛋白A1(g/L)	1.13 \pm 1.99	1.22 \pm 0.20	-5.593	0.000
总蛋白(g/L)	73.88 \pm 5.09	72.56 \pm 6.45	2.698	0.007
白蛋白(g/L)	45.41 \pm 2.24	44.48 \pm 3.60	3.562	0.000
前白蛋白(g/L)	0.35 \pm 0.37	0.29 \pm 0.18	2.580	0.010
低密度脂蛋白胆固醇(mmol/L)	3.03 \pm 0.79	2.82 \pm 0.73	3.391	0.001
高密度脂蛋白胆固醇(mmol/L)	1.17 \pm 0.27	1.46 \pm 0.45	-8.696	0.000
空腹血糖(mmol/L)	6.03 \pm 1.20	5.56 \pm 1.00	5.315	0.000
甘油三酯(mmol/L)	2.67 \pm 2.02	1.43 \pm 1.15	10.010	0.000
总胆固醇(mmol/L)	4.84 \pm 0.82	4.53 \pm 0.78	4.669	0.000
总胆红素(μ mol/L)	14.07 \pm 6.00	13.82 \pm 5.84	0.525	0.600
间接胆红素(μ mol/L)	9.85 \pm 4.27	9.33 \pm 3.93	1.569	0.117
直接胆红素(μ mol/L)	4.25 \pm 1.78	4.49 \pm 2.07	1.504	0.133
γ -谷氨酰转肽酶(U/L)	46.34 \pm 34.38	28.37 \pm 33.09	5.315	0.000
胆碱酯酶(U/L)	10 355.48 \pm 1 749.47	8 628.89 \pm 1 774.23	12.018	0.000
谷草转氨酶(U/L)	26.09 \pm 9.73	20.43 \pm 7.15	8.575	0.000
谷丙转氨酶(U/L)	38.17 \pm 23.46	20.59 \pm 13.77	12.227	0.000
碱性磷酸酶(U/L)	79.71 \pm 29.24	69.87 \pm 19.89	6.047	0.000
尿酸(μ mol/L)	404.18 \pm 101.81	321.64 \pm 96.07	10.064	0.000

■同行评价

我国脂肪肝发病率呈上升趋势, 本文在对沈阳市成年居民脂肪肝患病状况及危险因素进行调查分析, 研究结果体现该地区脂肪肝患病数据, 文章结构清晰, 结果、结论明确, 对临床工作及患者的健康教育有一定指导意义。

类变量Logistic回归模型对上述各项指标进行逐步回归分析, 结果显示年龄、性别(男)、BMI、SBP、DBP、UA、apoB、LDL-C、TG、GLUO等9项指标与脂肪肝明显相关(表5)。

3 讨论

脂肪肝是由多种因素和疾病引起的肝脏脂肪性变, 近几年来, 正如国外报道, 脂肪肝的发病率在逐年上升^[6]。本资料显示, 本市成年居民脂肪肝患病率41.64%, 男性患病率明显高于女性(45.15% vs 37.45%), 与以往的文献报道基本一致^[7]。而且发病年龄有明显年轻化趋势, 对年龄进行划分, 发现31-40岁组、41-50岁组的脂肪肝患病率最高, 而且调查发现21-30岁的发病率也

表 4 脂肪肝与体质指数的关系

体质指数	总人数	脂肪肝	所占比例(%)
<24	388	39	10.05
≥ 24	396	192	48.48
≥ 28	316	227	71.84
合计	1 100	458	41.64

$\chi^2 = 285.521, P < 0.001$.

有明显提高($\chi^2 = 23.967, P < 0.01$), 对于高收入者和从事工人、公务员、普通职员等职业的脂肪肝发病率比较高, 可能与从事这些行业的人平时不健康的生活习惯有关。另外, 本调查对沈阳市各区居民进行调查, 发现市内五区人群脂肪

表 5 脂肪肝组患病多因素Logistic回归分析

	回归系数	标准误	Wald	P值	OR值	95%CI
年龄	0.037	0.016	5.443	0.020	1.038	1.006-1.071
性别	1.939	0.472	16.857	0.000	6.951	2.755-17.540
体质指数	0.372	0.055	45.043	0.000	1.451	1.301-1.617
收缩压	0.025	0.004	47.811	0.000	1.021	1.019-1.045
舒张压	0.046	0.011	18.494	0.000	1.047	1.026-1.070
载脂蛋白B	1.274	0.589	4.681	0.031	3.576	1.127-11.344
尿酸	0.007	0.001	22.553	0.000	1.007	1.004-1.010
甘油三酯	0.690	0.072	92.671	0.000	1.999	1.732-2.294
低密度脂蛋白胆固醇	0.346	0.087	18.344	0.000	1.448	1.251-1.718
空腹血糖	0.599	0.153	15.363	0.000	1.821	1.349-2.457

肝的患病率比大东区、于洪区、浑南新区及苏家屯区等地区的患病率高,但差异并无统计学意义($\chi^2 = 0.336, P > 0.05$).而对于本市周边的一些地区和城乡之间的差别本调查并没有涉及,若想得到更为确切的结果,有待于进一步研究.

调查发现,40-50岁是本病发病的一个高峰年龄.以往的研究都表明脂肪肝与肥胖、高血糖、高血脂、高血压、高尿酸血症密切相关^[8-10],对脂肪肝组和非脂肪肝组各项指标进行比较,发现BMI、SBP、DBP、UA、TG、FPG以及肝脏酶学指标,包括 γ -GT、ASP、ALP、ALP均显著高于非脂肪肝组(均 $P < 0.001$),提示脂肪肝与胰岛素抵抗为中心的多元代谢紊乱密切相关,与有关报道一致^[11].

对脂肪肝组和非脂肪肝组对比有显著差别的指标进一步进行多元Logistic回归分析,结果显示脂肪肝的危险因素包括年龄、性别(男)、BMI、SBP、DBP、UA、apoB、LDL-C、TG、GLUO等9项指标与脂肪肝明显相关.在脂肪肝的发病过程中,肥胖、血糖、血脂都是重要因素,高血糖可以刺激胰岛素分泌增加,引起高胰岛素血症,使肝脏合成甘油三酯和极低密度脂蛋白的量增加,导致血中甘油三酯升高,逐渐聚积在肝内,形成脂肪肝.曾有学者Marchesini等^[12]研究发现胰岛素抵抗是脂肪肝形成的独立危险因素,胰岛素抵抗发生时,脂肪动员就会增加,血中FFA会跟着显著增加,导致甘油三酯在肝脏中沉积.高脂血症中高甘油三酯是脂肪肝形成的主要因素^[13],而高密度胆固醇是脂肪肝的保护因素.肥胖仍然是脂肪肝的最常见的危险因素,本研究进一步对脂肪肝与BMI的关系做了分析,结果显示随着体质指数的增加,脂肪肝所占的比例呈明显增高趋势.据统计

肥胖合并高血压的人患脂肪肝的概率是正常人的2.68倍^[14],因此我们更要重视脂肪肝相关危险因素防治.

脂肪肝不仅可导致肝病相关残疾和死亡,而且与动脉粥样硬化性心脑血管事件的高发关系密切^[15].单纯脂肪肝变性呈现良性、非进展性经过,而脂肪性肝炎则可演进为肝硬化、肝衰竭甚至肝癌.现代生活水平的提高、饮食结果的改变和缺乏体育锻炼是导致肥胖的主要原因,体力劳动或者运动过少,会导致体内能量大量过剩,脂肪聚积.但是由于脂肪肝早期缺乏特异的临床症状和表现,使人们不易察觉,对其潜在危害更是认识不足.

因此,通过本文的研究,我们应该加强对脂肪肝的重视,从改变生活及饮食习惯开始,更好地预防脂肪性肝病的发生.

4 参考文献

- Cheng HY, Cheng DQ. [Advances of studies on relative evaluation indexes for acupuncture and moxibustion treatment of senile dementia]. *Zhongguo Zhenjiu* 2006; 26: 605-608 [PMID: 16941987 DOI: 10.1002/hep.21347]
- 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南. *中华肝脏病杂志* 2010; 18: 163-166
- 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 酒精性肝病诊疗指南. *中华肝脏病杂志* 2010; 8: 167-170
- 中国成人血脂异常防治指南制定联合委员会. 中国成人血脂异常防治指南. *中华心血管病杂志* 2007; 35: 390-409
- 中国肥胖问题工作组数据汇总分析协作组. 我国成人人体质量指数和腰围对相关疾病危险因素异常的预测价值: 适宜体质量指数和腰围切点的研究. *中华流行病学杂志* 2002; 23: 5-10
- Chen CH, Huang MH, Yang JC, Nien CK, Yang CC, Yeh YH, Yueh SK. Prevalence and etiology of elevated serum alanine aminotransferase level in an adult population in Taiwan. *J Gastroenterol Hepatol*

- 2007; 22: 1482-1489 [PMID: 17716352 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2006.04615.x]
- 7 Fan JG, Farrell GC. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease in China. *J Hepatol* 2009; 50: 204-210 [PMID: 19014878 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.10.010]
 - 8 Lee YJ, Lee HR, Lee JH, Shin YH, Shim JY. Association between serum uric acid and non-alcoholic fatty liver disease in Korean adults. *Clin Chem Lab Med* 2010; 48: 175-180 [PMID: 19961393 DOI: 10.1515/CCLM.2010.037]
 - 9 Diehl AM. Hepatic complications of obesity. *Gastroenterol Clin North Am* 2005; 34: 45-61 [PMID: 15823438 DOI: 10.1016/j.gtc.2004.12.012]
 - 10 Jimba S, Nakagami T, Takahashi M, Wakamatsu T, Hirota Y, Iwamoto Y, Wasada T. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease and its association with impaired glucose metabolism in Japanese adults. *Diabet Med* 2005; 22: 1141-1145 [PMID: 16108839 DOI: 10.1111/j.1464-5491.2005.01582.x]
 - 11 厉有名, 陈卫星, 虞朝辉, 乐敏, 刘有特, 徐根云, 李峰, 李舒丹. 浙江省酒精性肝病流行病学调查概况. *中华肝脏病杂志* 2003; 11: 647-649
 - 12 Marchesini G, Brizi M, Morselli-Labate AM, Bianchi G, Bugianesi E, McCullough AJ, Forlani G, Melchionda N. Association of nonalcoholic fatty liver disease with insulin resistance. *Am J Med* 1999; 107: 450-455 [PMID: 10569299]
 - 13 Hamaguchi M, Kojima T, Takeda N, Nakagawa T, Taniguchi H, Fujii K, Omatsu T, Nakajima T, Sarui H, Shimazaki M, Kato T, Okuda J, Ida K. The metabolic syndrome as a predictor of nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Intern Med* 2005; 143: 722-728 [PMID: 16287793]
 - 14 Zhou YJ, Li YY, Nie YQ, Ma JX, Lu LG, Shi SL, Chen MH, Hu PJ. Prevalence of fatty liver disease and its risk factors in the population of South China. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 6419-6424 [PMID: 18081233]
 - 15 O'Shea RS, Dasarathy S, McCullough AJ. Alcoholic liver disease. *Hepatology* 2010; 51: 307-328 [PMID: 20034030 DOI: 10.1002/hep.23258]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

本刊讯 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569, Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology], 是一本由来自国内30个省、市、自治区、特别行政区的483位胃肠病学和肝病专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

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

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

《世界华人消化杂志》的目标是出版高质量的胃肠病学和肝病领域的专家评论及临床实践和基础研究相结合具有实践意义的文章, 为内科学、外科学、感染病学、中医医学、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。

广西婴儿特发性肝内胆汁淤积SLC25A13基因突变的筛查

伍秋频, 王琳琳, 陈秀奇, 唐清, 单庆文, 黄丽, 连淑君, 云翔, 高国鹏, 陈允

■背景资料

目前证实SLC25A13突变可导致成人发病Ⅱ型瓜氨酸血症(CTLN2)及柠檬素(Citrin, SLC25A13基因编码产物)缺乏性新生儿肝内胆汁淤积症(NICCD)两大类常染色体隐性遗传病。国内外相关研究表明, SLC25A13基因的热点突变呈现明显的地域和种族差异, 不同人群中SLC25A13基因的突变形式和频率有很大差别。

伍秋频, 王琳琳, 陈秀奇, 唐清, 单庆文, 黄丽, 连淑君, 云翔, 高国鹏, 陈允, 广西医科大学第一附属医院儿科 广西壮族自治区南宁市 530021

伍秋频, 在读硕士, 主要从事儿科消化系统疾病的相关研究。

广西自然科学基金资助项目, No. 2011jjA40108

作者贡献分布: 此课题由王琳琳、伍秋频、陈秀奇、唐清、单庆文、黄丽、连淑君、云翔、高国鹏及陈允设计; 病历资料收集及把关由王琳琳、伍秋频、唐清、陈秀奇、单庆文、黄丽、连淑君、云翔、高国鹏及陈允完成; 研究过程由伍秋频操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由王琳琳与唐清提供; 数据分析由伍秋频与王琳琳完成; 本论文写作由伍秋频与王琳琳完成。

通讯作者: 王琳琳, 教授, 主任医师, 博士生导师, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院儿科, wll276@yahoo.com.cn

电话: 0771-5356505

收稿日期: 2013-02-21 修回日期: 2013-03-11

接受日期: 2013-03-29 在线出版日期: 2013-04-28

Screening of SLC25A13 gene mutations in infants with idiopathic intrahepatic cholestasis in Guangxi

Qiu-Pin Wu, Lin-Lin Wang, Xiu-Qi Chen, Qing Tang, Qing-Wen Shan, Li Huang, Shu-Jun Lian, Xiang Yun, Guo-Peng Gao, Yun Chen

Qiu-Pin Wu, Lin-Lin Wang, Xiu-Qi Chen, Qing Tang, Qing-Wen Shan, Li Huang, Shu-Jun Lian, Xiang Yun, Guo-Peng Gao, Yun Chen, Department of Pediatrics, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Guangxi, No. 2011jjA40108

Correspondence to: Lin-Lin Wang, Professor, Chief Physician, Department of Pediatrics, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. wll276@yahoo.com.cn

Received: 2013-02-21 Revised: 2013-03-11

Accepted: 2013-03-29 Published online: 2013-04-28

Abstract

AIM: To screen SLC25A13 gene mutations in idiopathic infantile hepatitis cholestasis in Guangxi, China.

METHODS: Sixty-three patients with idiopathic infantile cholestasis, who were hospitalized in the Department of Pediatrics of the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University from September 2010 to June 2012, and 50 infants

without intrahepatic cholestasis were included in this study. Genomic DNA was prepared from peripheral blood of all subjects for further analysis. For the case group, Citrin deficiency was screened using the tandem mass spectrometry (MS-MS, using blood samples) and gas chromatography mass spectrometry (GC-MS, using urine samples). Direct gene sequencing was performed in patients who were suspected to have Citrin deficiency. Twelve common SLC25A13 gene hot-spot mutations were screened by polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP) in the remaining patients and controls.

RESULTS: MS-MS and GC-MS analyses suggested that five patients were suspected to have Citrin deficiency, but the 12 common SLC25A13 gene hot-spot mutations were not detected in these patients in a further DNA sequencing analysis. The 12 common SLC25A13 gene hot-spot mutations were also not detected by PCR-SSCP in the remaining patients and controls.

CONCLUSION: The 12 common SLC25A13 gene hot-spot mutations were not found in both patients who were suspected to have Citrin deficiency and the other patients and controls. Other rare SLC25A13 gene mutations should be screened in more patients.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Infants; Idiopathic intrahepatic cholestasis; SLC25A13; NICCD; Polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism

Wu QP, Wang LL, Chen XQ, Tang Q, Shan QW, Huang L, Lian SJ, Yun X, Gao GP, Chen Y. Screening of SLC25A13 gene mutations in infants with idiopathic intrahepatic cholestasis in Guangxi. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(12): 1120-1125 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1120.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1120>

摘要

目的: 对广西婴儿特发性肝内胆汁淤积的患者进行SLC25A13基因筛查, 了解有无突变。

■同行评议者

樊红, 教授, 东南大学医学院发育与疾病相关基因教育部重点实验室; 莫发荣, 副教授, 广西医科大学组织学与胚胎学教研室

方法: 收集2010-09/2012-06就诊于广西医科大学第一附属医院的婴儿特发性肝内胆汁淤积的患者63例作为病例组,另选取50例无肝内胆汁淤积,肝功能正常的婴儿为对照组。病例组患者送检血串联质谱、尿气相质谱分析筛查,对串联质谱怀疑为Citrin病的病例全部直接进行DNA测序分析。同时对阴性病例组及对照组采用聚合酶链反应-单链构象多态性(polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism, PCR-SSCP)联合DNA测序技术对SLC25A13基因国内外报道最常见的12种热点突变进行筛查,了解有无SLC25A13基因突变。

结果: 在病例组进行蛋白质串联质谱分析有5例考虑为Citrin缺陷病,在进一步的DNA序列直接测序当中,未发现SLC25A13基因的12种常见突变。在其余病例组和正常组当中,PCR-SSCP筛查当中,均未发现相关的12种常见突变。

结论: 串联质谱分析考虑为Citrin缺陷病的5例患者、其余病例组患者及正常对照组当中均未发现SLC25A13基因常见的12种突变,广西婴儿特发性肝内胆汁淤积是否存在SLC25A13基因的其他少见突变,仍需进一步的研究证实,包括纳入更多的样本研究及对其他未报道过的外显子进行研究。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 婴儿特发性肝内胆汁淤积; SLC25A13; NICCD; 聚合酶链反应-单链构象多态性

核心提示: 本文对5例高度怀疑为Citrin缺陷病的患者进行研究,其他病例组及对照组在经过聚合酶链反应-单链构象多态性(polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism)和DNA直接测序突变筛查研究中都没有发现SLC25A13基因12种常见突变,这可能与地域和种族差异有关。

伍秋频, 王琳琳, 陈秀奇, 唐清, 单庆文, 黄丽, 连淑君, 云翔, 高国鹏, 陈允. 广西婴儿特发性肝内胆汁淤积SLC25A13基因突变的筛查. 世界华人消化杂志 2013; 21(12): 1120-1125 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1120.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i12.1120>

0 引言

婴儿肝内胆汁淤积发病率约为1/2 500-1/5 000,是儿童最常见的肝病类型之一。我国一些地区进行的遗传代谢选择性筛查研究结果^[1]表明,在中国遗传代谢病高危患者中阳性率居第

2位,仅次于甲基丙二酸血症。尽管新的诊断技术不断发展,大概有70%的婴儿肝内胆汁淤积目前仍找不到确切的发病原因,被称为特发性婴儿肝内胆汁淤积,相关研究认为遗传代谢扮演一定的作用,随着技术发展将来可能被逐渐阐明。Ohura等在2001年首先在日本对婴儿肝内胆汁淤积症患者进行遗传代谢病筛查发现存在SLC25A13基因突变,目前证实SLC25A13突变可导致II型瓜氨酸血症(adult-onset-type II citrullinemia, CTLN2)及柠檬素(Citrin, SLC25A13基因编码产物)缺乏性新生儿肝内胆汁淤积症(neonatal intrahepatic cholestasis caused by Citrin deficiency, NICCD)两大类常染色体隐性遗传病^[2,3]。国内外相关研究表明,SLC25A13基因的热点突变呈现明显的地域和种族差异^[4]。不同人群中SLC25A13基因的突变形式和频率有很大差别,日本的报道以突变[I] 851del4和[II] IVSII+1G>A居多,中国人群常见的突变类型为[I] 851-854del4、[III] 1638ins23、[X] IVS6 + 5G>A。日本健康人群中SLC25A13基因突变携带者率为1/65;韩国健康人群中突变携带者率为1/108;中国健康人群中突变携带者率1/63^[5]。Lu等^[6]对正常中国人突变筛查显示851del4(70%),1638ins23(3%)和IVS6+5G>A(23%)突变在中国人中多见。此外,以长江为界,南方人群的突变携带率明显高于北方人群^[7]。其中南方人群中以湖南、广东、香港多见。本研究通过PCR-单链构象多态性(polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism, PCR-SSCP)和DNA直接测序技术,对广西患者的特发性婴儿肝内胆汁淤积患者进行SLC25A13基因的常见12种热点突变筛查研究,了解广西患者特发性婴儿肝内胆汁淤积有无SLC25A13基因突变情况。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2010-09/2012-06在广西医科大学第一附属医院儿科住院的特发性婴儿肝内胆汁淤积性肝炎患者63例。病例组纳入标准^[8]: 婴儿期(包括新生儿期)起病;黄疸难消退或退而复升,黄疸属于肝细胞性,血清结合胆红素和未结合胆红素均可升高,但以结合胆红素增高为主;肝大和/或脾大,质地改变;肝功能损害:以丙氨酸转氨酶、门冬氨酸转移酶及胆汁酸升高为主;除外胆道闭锁,肝炎病毒、巨细胞病毒、梅毒螺旋体、结核杆菌、弓形虫及人类免疫缺陷病毒感染等。病例组全部进行串联质谱检查;所有

■ 相关报道

邱文娟等在2007年对就诊于上海交通大学医学院附属新华医院和上海儿童医学中心治疗并随访的NICCD患者12例进行基因测序,结果12例患者只发现5例携带有SLC25A13基因的致病突变。

■创新盘点

SLC25A13基因的热点突变呈现明显的地域和种族差异。不同人群中SLC25A13基因的突变形式和频率有很大差别。本研究采用PCR-SSCP和DNA直接测序技术探讨广西婴儿特发性肝内胆汁淤积症患者有无SLC25A13基因的12种常见热点突变。

表 1 PCR扩增SLC25A13外显子的基因序列

突变类型	引物序列	外显子	产物长度(bp)
[I]851-854del	上游5'-AAAGGAGGTTAGGAGGAGGGC-3' 下游5'-GGCAACTGCAAGTGGAAACAGG-3'	9	321
[II]IVS11+1G>A	上游5'-TGCAGAACCAACGATCAACTG-3' 下游5'-ACGCAGTCTTGCTAATTCATGT-3'	11	205
[III]1638-1660dup23	上游5'-TGTTGTGTCTCTCCTGCAGG-3' 下游5'-GCAGTCTATCACTCCGCTGT-3'	16	123
[IV]S225X	上游5'-GGAGAGTACAAGTTCTGGTC-3' 下游5'-ACTAGTTGCCTTCTTACCC-3'	7	426
[V]IVS13+1G>A	上游5'-GTGAACGATTTTGTGAGGGATA-3' 下游5'-CCTAGTAGACTCTGCCCTTG-3'	13	210
[VI]1800-1801insA	上游5'-CTAATTATATCTGTGATTCTCCA-3' 下游5'-GGAGTTGATACATTCTCATCAG-3'	17	307
[VII]R605X	上游5'-CTAATTATATCTGTGATTCTCCA-3' 下游5'-GGAGTTGATACATTCTCATCAG-3'	17	307
[VIII]E601X	上游5'-CTAATTATATCTGTGATTCTCCA-3' 下游5'-GGAGTTGATACATTCTCATCAG-3'	17	307
[IX]E601K	上游5'-CTAATTATATCTGTGATTCTCCA-3' 下游5'-GGAGTTGATACATTCTCATCAG-3'	17	307
[X]IVS6+5G>A	上游5'-TGAGGGCTTGTTAGATCAAGAT-3' 下游5'-TTACCCAGACAACAAATTAACCT-3'	6	467
[XI]R184X	上游5'-TGAGGGCTTGTTAGATCAAGAT-3' 下游5'-TTACCCAGACAACAAATTAACCT-3'	6	467
[XIV]IV+1G>C	上游5'-TGAGGGCTTGTTAGATCAAGAT-3' 下游5'-TTACCCAGACAACAAATTAACCT-3'	6	467

患者均进行上述检查, 纳入研究对象严格参照上述标准执行。同期随机在广西医科大学第一附属医院选取相同年龄段且肝功能正常且家属无肝炎病史的患者50例为对照组。所有受检对象均签署由医院伦理委员会批准的知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 血串联质谱分析: 患者全血标本采集用干血滤纸片法, 滴于专用采血滤纸(S&S903#)上晾干后送检。样品处理: 采用文献报道的方法, 干血滤纸片经含酰基肉碱和氨基酸内标的甲醇萃取, 盐酸正丁醇衍生后, 加入80%乙腈100 μ L溶解, 即可上样检测。仪器采用美国生物应用系统公司串联质谱仪(API 200型), 高效液相仪采用美国安捷仑公司(Agilent 1100)产品。定量分析采用美国应用生物系统公司软件ChemoView 1.2版本。采用美国疾病控制和预防中心(centers for disease control and prevention, CDC)新生儿筛查质控部门提供的串联质谱酰基肉碱血滤纸片。串联质谱检测的肉碱和氨基酸正常上、下限值取1 480例健康儿童的第99.8和0.002百分位, 参考美国CDC报告的参考值设定。

1.2.2 尿气相色谱质谱有机酸分析: 收集63例患者新鲜尿液5-10 mL。样品处理: 采用文献报道的方法, 尿样中加入尿素酶后, 37 $^{\circ}$ C温育30 min, 加入托品酸、17烷酸、24酸, 加入盐酸羟胺、氢氧化钠, 混匀后室温静置60 min。加入盐酸, 离心分取上清液, 加入乙酸乙酯, 离心分取上清液, 再加入乙酸乙酯5 mL, 分取上清液。加入无水硫酸, 离心除去水分, 再次分取上清液, 60 $^{\circ}$ C下用氮气仪吹干。最后加入BSTFA与TMCS混合物80 $^{\circ}$ C衍生30 min, 移至日本岛津GCMS2QP 2010分析仪分析。

1.2.3 基因组DNA提取: 在清晨空腹状态下受试者分别抽取外周血2 mL, EDTA抗凝, 用DNA提取试剂盒(天根生物科技北京有限公司), 严格按照说明书操作, 提取DNA。

1.2.4 SLC25A13基因的扩增: 选择亚洲人中最常见的12种SLC25A13基因突变并设计引物, 引物均来源于文献[9,10], 引物见表1(引物由上海生工生物工程有限公司合成)。PCR反应体系为: Premix Tap(CWBIO)13 μ L, DNA模板1 μ L, 上下游引物各0.5 μ mol/L, ddH₂O补充体积至25 μ L,

表 2 PCR扩增SLC25A13外显子的反应条件

扩增子	预变性(°C, min)	变性(°C, s)	退火(°C)	延伸(°C, min)	循环次数
外显子6	94, 3	94, 30	55	72, 1	35
外显子7	94, 3	94, 30	56	72, 1	35
外显子9	94, 3	94, 30	62	72, 1	30
外显子11	94, 3	94, 30	50	72, 1	40
外显子13	94, 3	94, 30	57	72, 1	35
外显子16	94, 3	94, 30	60	72, 1	35
外显子17	94, 3	94, 30	54	72, 1	35

最后一个循环延伸4 min.

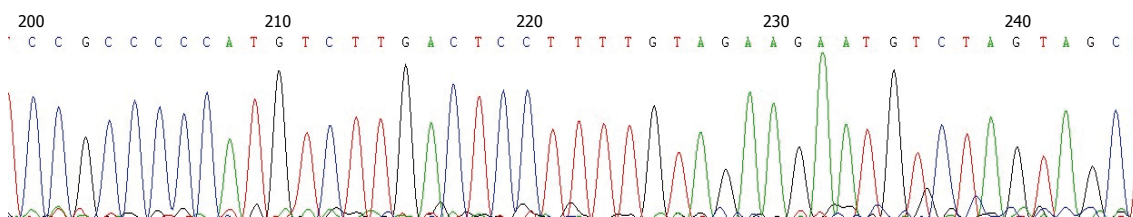


图 1 DNA外显子5正常测序图.

具体扩增条件见表2.

1.2.5 PCR-SSCP: 取PCR产物3 μ L加入上样缓冲液9 μ L混匀, 经98 $^{\circ}$ C变性10 min后迅速放入散冰中5-10 min, 室温条件下在非变性聚丙烯酰胺凝胶(39:1)下进行电泳5-7 h. 聚丙烯酰胺凝胶的染色与显色分析; 电泳后的聚丙烯酰胺凝胶用固定液浸泡5-10 min, 用染色液(0.2%的AgNO₃、1%的冰醋酸、10%的无水乙醇)进行银染10 min, 蒸馏水漂洗2次, 加入显影液(3%的无水NaOH, 每200 mL溶液加1 mL甲醛)进行显色, 最后直接用蒸馏水直接终止显色^[11].

1.2.6 Citrin缺陷病基因测序分析: 病例组患者送检血串联质谱、尿气相质谱分析筛查, 对串联质谱筛查怀疑为Citrin病的病例直接进行测序分析. 其余经PCR-SSCP分析. PCR产物用ABI-PRISM3730进行测序分析. 所得的序列结果与GenBank基因库上所提供的SLC25A13基因正常序列进行比对, 以发现突变位点, 并验证PCR扩增产物均为目的基因片段. PCR-SSCP未发现异常条带的外显子也分别进行直接测序, 以验证PCR扩增的产物均为目的基因片段.

2 结果

2.1 经血串联质谱、尿气相质谱分析怀疑为NICCD的患者肝功能检测结果见表3.

2.2 血串联质谱分析和尿气相质谱有机酸分析结果见表4.

5例患者血串联质谱检测氨基酸和酰基肉碱结果(μ mol/L)及尿气相质谱分析. 经血串联质谱检测, 所有患者甲硫氨酸、瓜氨酸、苏氨酸均升高, 除2号外酪氨酸都升高, 并有长链C14-1、C16-1升高. C18-1有2例患者增高. 经尿气相质谱分析, 所有患者的苯乳酸-2、4-羟基苯乳酸都升高, 除4号外4-羟基苯乙酸-2都升高, 2号患者未测到4-羟基苯丙酮酸, 其余均升高(表4). 其余病例组及正常组儿童的7个外显子PCR产物均进行SSCP筛查, 7个外显子均未发现异常条带. 未发现异常条带的外显子也分别抽取进行测序. 均未发现相关的12种常见突变, 测序结果见图1.

3 讨论

人类SLC25A13基因位于染色体7q21.3, 此基因含18个外显子, 长度约为200 kb. 由675个氨基酸组成, 编码的蛋白质称希特林蛋白(Citrin)^[12], 相对分子质量为74 000. 研究表明, Citrin是主要表达于肝细胞线粒体内膜的一种钙调节蛋白, 含有4个EF手模体和6个跨膜结构域, 其功能主要是作为线粒体中天冬氨酸/谷氨酸载体, 将线粒体内合成的天冬氨酸转运到胞质, 同时把胞质中的谷氨酸和质子转运进线粒体内.

研究证实Citrin缺陷症是我国婴儿肝内胆汁淤积症的重要原因之一^[13], 大部分合并多种氨基酸谱异常的肝内胆汁淤积症均因Citrin缺陷引起^[14]. 到2010年为止SLC25A13基因已经报

应用要点

本文可为婴儿肝内胆汁淤积的病因提供实验室数据. SLC25A13基因常见的12种热点突变可能并非本地区的常见突变位点, 突变位点可能存在于其他外显子和/或内含子邻近区域突变.

■同行评价

本文针对广西婴儿特发性肝内胆汁淤积的患者进行SLC25A13基因筛查,具有地域和种族特色。结果提示并不是全部怀疑为Citrin缺陷的患者都存在SLC25A13基因突变。实验方法可靠,实验数据可信,可为婴儿肝内胆汁淤积的病因提供实验室数据。

表 3 5例疑似为新生儿肝内胆汁淤积症患儿肝功能

项目	1	2	3	4	5	mean ± SD	参考范围
总胆红素(μmol/L)	153.9	118.7	91.8	230.8	115.6	143.24 ± 54.62	3.00–22.00
直接总胆汁酸(μmol/L)	57.7	68	71.9	171.1	70.3	87.80 ± 46.80	0.00–6.00
胆红素(μmol/L)	244.8	196.7	103.5	226.8	211	196.56 ± 55.02	0.00–10.00
谷丙转氨酶(U/L)	22	78	88	42	25	51.00 ± 30.39	5.00–40.00
谷草转氨酶(U/L)	98	201	117	118	132	133.20 ± 39.78	8.00–45.00
谷氨酰转氨酶(U/L)	183	343	1007	58	94	337.00 ± 390.36	0.00–50.00
血乳酸(mmol/L)	3.04	4.69	–	3.19	4.9	3.95 ± 0.97	0.63–2.44
血氨(μg/dL)	183	101	130	177	151	148.40 ± 33.93	0.00–75.00

表 4 5例考虑为Citrin缺陷病患儿血串联质谱和尿气相质谱分析

项目	1	2	3	4	5	mean ± SD	参考范围
血串联质谱							
甲硫氨酸	107.44	90.4	58.5	54.54	98.7	81.91 ± 23.99	8–35
酪氨酸	114.17	53.57	195.34	142.25	132.7	127.54 ± 51.20	20–100
瓜氨酸	127.36	101.0	71.06	75.09	90.53	93.00 ± 22.64	7–35
苏氨酸	117.7	115.18	106.34	108.74	121.2	113.83 ± 6.18	15–100
C14–1	0.29	0.37	0.39	0.38	0.31	0.34 ± 0.04	0.02–0.25
C16–1	3.57	2.84	5.27	2.4	4.13	3.64 ± 1.12	0.3–2
C18–1	1.23	0.68	1.67	0.56	0.76	0.98 ± 0.46	0.2–1.2
尿气相质谱分析							
苯乳酸–2	17.98	8.92	32.61	7.74	13.25	16.1 ± 10.07	0–4.9
4-羟基苯乙酸	326.03	87.9	465.8	62.95	97.5	208.03 ± 178.93	8.6–73.2
4-羟基苯乳酸–2	2 656.56	963.02	487.53	2 218.3	1 784.3	1 621.9 ± 890.7	0–7
4-羟基苯丙酮酸	12.55	–	26.83	2.78	4.75	11.72 ± 10.91	0–0.9

道了54种突变,包括17种错义,14种剪切突变,13种无义5种插入,5种缺失^[15,16]。其中12种突变为热点突变,国内外相关研究表明,SLC25A13基因的热点突变呈现明显的地域和种族差异。目前国内文献报道851del4、1638ins23和IVS6+5G>A突变在中国人中多见。本研究中,病例组行血串联质谱分析、尿气相质谱分析筛查出5例怀疑为Citrin蛋白缺陷症, DNA测序直接分析报道的最常见的12种常见热点均未发现突变。患者临床体征、血生化和蛋白质酰基肉碱谱分析对诊断NICCD有重要的作用^[17],但NICCD的确诊仍然只有依赖基因诊断,即检测SLC25A13基因有无突变,但有文献报道大约仍有5%-6%的病例监测不到突变。与有关的文献报道相似,并不是全部怀疑为Citrin缺陷的患者都存在SLC25A13基因突变。邱文娟等^[18]在2007年对就诊于上海交通大学医学院附属新华医院和上海儿童医学中心治疗并随访的NICCD患者12例进行基因测序,结果12例患者只发现5例携带有SLC25A13基因的致病突变。

本研究从亚洲人群中报道的SLC25A13常见的12种热点突变着手探讨特发性婴儿肝内胆汁淤积SLC25A13基因突变情况,对经串联质谱分析结果:1号患者甲硫氨酸、酪氨酸、瓜氨酸显著增高,伴多种长链酰基肉碱增高,4-羟基苯乳酸、4-羟基苯丙酮酸增高,提示Citrin蛋白缺乏,提示酪氨酸尿;2号患者蛋氨酸、亮氨酸、缬氨酸、瓜氨酸、苏氨酸升高,需除外Citrin缺乏症(NICCD),进一步可行基因明确诊断。4-羟基苯乳酸显著增高,结合串联质谱结果提示Citrin蛋白缺乏;3号患者蛋氨酸、瓜氨酸、酪氨酸、苏氨酸增高,多种长链酰基肉碱偏高,考虑Citrin蛋白缺陷所致新生儿肝内胆汁淤积症可能。苯乳酸、4-羟基苯乳酸、4-羟基苯丙酮酸增高,结合串联质谱,提示NICCD;4号患者蛋氨酸、酪氨酸、瓜氨酸、苏氨酸明显升高,结合病史,考虑Citrin蛋白缺陷症。4-羟基苯乳酸明显升高,结合串联质谱结果,符合Citrin蛋白缺陷症;5号患者蛋氨酸、酪氨酸、瓜氨酸、苏氨酸明显升高,考虑Citrin蛋白缺乏症。苯乳酸、4-

羟基苯乳酸, 结合串联质谱分析, 符合Citrin缺乏症。对高度怀疑为Citrin缺陷病的5例患者进行DNA直接测序分析, 未发现SLC25A13基因的12种常见突变, 同时在正常患者对照组及其他黄疸患者的DNA突变筛查研究也没有发现SLC25A13基因突变。这可能与地域和种族差异有关。SLC25A13基因常见的12种热点突变可能并非本地区的常见突变位点, 突变位点可能存在于其他外显子和/或内含子邻近区域突变。因此, 广西特发性婴儿肝内胆汁淤积患者是否存在其他SLC25A13基因突变需要进一步的研究证实。我们将进一步扩大研究, 对SLC25A13基因全部外显子进行筛查, 同时用更大的样本量来证实这一观点。

4 参考文献

- 1 Song YZ, Li BX, Hao H, Xin RL, Zhang T, Zhang CH, Kobayashi K, Wang ZN, Zheng XY. Selective screening for inborn errors of metabolism and secondary methylmalonic aciduria in pregnancy at high risk district of neural tube defects: a human metabolome study by GC-MS in China. *Clin Biochem* 2008; 41: 616-620 [PMID: 18291102 DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2008.01.025.]
- 2 Ohura T, Kobayashi K, Tazawa Y, Nishi I, Abukawa D, Sakamoto O, Iinuma K, Saheki T. Neonatal presentation of adult-onset type II citrullinemia. *Hum Genet* 2001; 108: 87-90 [PMID: 11281457]
- 3 Saheki T, Kobayashi K. Mitochondrial aspartate glutamate carrier (citrin) deficiency as the cause of adult-onset type II citrullinemia (CTLN2) and idiopathic neonatal hepatitis (NICCD). *J Hum Genet* 2002; 47: 333-341 [PMID: 12111366 DOI: 10.1007/s100380200046]
- 4 佐伯武赖, 小林圭子, 张春花, 王建设. Citrin缺陷病及其研究带来的启示. *中国循证儿科杂志* 2010; 5: 401-403
- 5 Yasuda T, Yamaguchi N, Kobayashi K, Nishi I, Horinouchi H, Jalil MA, Li MX, Ushikai M, Iijima M, Kondo I, Saheki T. Identification of two novel mutations in the SLC25A13 gene and detection of seven mutations in 102 patients with adult-onset type II citrullinemia. *Hum Genet* 2000; 107: 537-545 [PMID: 11153906 DOI: 10.1007/s004390000430]
- 6 Lu YB, Kobayashi K, Ushikai M, Tabata A, Iijima M, Li MX, Lei L, Kawabe K, Taura S, Yang Y, Liu TT, Chiang SH, Hsiao KJ, Lau YL, Tsui LC, Lee DH, Saheki T. Frequency and distribution in East Asia of 12 mutations identified in the SLC25A13 gene of Japanese patients with citrin deficiency. *J Hum Genet* 2005; 50: 338-346 [PMID: 16059747 DOI: 10.1007/s10038-005-0262-8]
- 7 Tabata A, Sheng JS, Ushikai M, Song YZ, Gao HZ, Lu YB, Okumura F, Iijima M, Mutoh K, Kishida S, Saheki T, Kobayashi K. Identification of 13 novel mutations including a retrotransposal insertion in SLC25A13 gene and frequency of 30 mutations found in patients with citrin deficiency. *J Hum Genet* 2008; 53: 534-545 [PMID: 18392553 DOI: 10.1007/s10038-008-0282-2.]
- 8 邓亚楠, 王琳琳, 陈秀奇, 唐清, 高国鹏, 单庆文, 云翔. 胆盐输出泵基因多态性与特发性婴儿肝炎肝内胆汁淤积的关系. *实用儿科临床杂志* 2011; 26: 1497-1505
- 9 张绍仁, 王晓红, 朱启镨, 刘丽艳, 王建设. 婴儿肝内胆汁淤积症SLC25A13基因突变分析. *中国循证儿科杂志* 2008; 3: 190-195
- 10 温鹏强, 王国兵, 陈占玲, 崔冬, 袁泉, 宋萍, 陈淑丽, 廖建湘, 李成荣. Citrin缺陷导致的新生儿肝内胆汁淤积症SLC25A13基因分析. *中国当代儿科杂志* 2011; 13: 330-338
- 11 梁宏伟, 王长忠, 李忠, 罗相忠, 邹桂伟. 聚丙烯酰胺凝胶快速、高效银染方法的建立. *遗传* 2008; 30: 1379-1382
- 12 Kobayashi K, Sinasac DS, Iijima M, Boright AP, Begum L, Lee JR, Yasuda T, Ikeda S, Hirano R, Terazone H, Crackower MA, Kondo I, Tsui LC, Scherer SW, Saheki T. The gene mutated in adult-onset type II citrullinaemia encodes a putative mitochondrial carrier protein. *Nat Genet* 1999; 22: 159-163 [PMID: 10369257 DOI: 10.1038/9667]
- 13 Fu HY, Zhang SR, Yu H, Wang XH, Zhu QR, Wang JS. Most common SLC25A13 mutation in 400 Chinese infants with intrahepatic cholestasis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 2278-2282 [PMID: 20458766 DOI: 10.3748/wjg.v16.i18.2278.]
- 14 Fu HY, Zhang SR, Wang XH, Saheki T, Kobayashi K, Wang JS. The mutation spectrum of the SLC25A13 gene in Chinese infants with intrahepatic cholestasis and aminoacidemia. *J Gastroenterol* 2011; 46: 510-518 [PMID: 20927635 DOI: 10.1007/s00535-010-0329-y]
- 15 宋元宗, 牛饲美晴, 盛建胜, 胡务亮, 张春花, 小林圭子. Citrin缺陷导致的新生儿肝内胆汁淤积症SLC25A13基因三个新突变的识别及诊断. *中华儿科杂志* 2008; 46: 411-415
- 16 Dimmock D, Kobayashi K, Iijima M, Tabata A, Wong LJ, Saheki T, Lee B, Scaglia F. Citrin deficiency: a novel cause of failure to thrive that responds to a high-protein, low-carbohydrate diet. *Pediatrics* 2007; 119: e773-e777 [PMID: 17332192 DOI: 10.1542/peds.2006-1950]
- 17 Ohura T, Kobayashi K, Tazawa Y, Abukawa D, Sakamoto O, Tsuchiya S, Saheki T. Clinical pictures of 75 patients with neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency (NICCD). *J Inherit Metab Dis* 2007; 30: 139-144 [PMID: 17323144 DOI: 10.1007/s10545-007-0506-1]
- 18 邱文娟, 叶军, 韩连书, 高晓岚, 王瑜, 杨培蓉, 何振娟, 顾学范. citrin缺陷导致的新生儿肝内胆汁淤积症12例临床和实验室研究. *临床儿科杂志* 2007; 25: 983-987

编辑 田滢 电编 闫晋利



温肾方免煎剂联合拉米夫定治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎脾肾阳虚证的疗效时间关系

白松林, 扈晓宇, 余 颜

■背景资料

拉米夫定(LAM)可明显抑制HBV DNA水平; HBeAg血清学转换率随治疗时间延长而提高, 治疗1、2、3、4和5年时分别为16%、17%、23%、28%和35%, 而LAM变异一般出现在LAM治疗后第(11.07±3.65)个月, 最早第5个月, 最迟第17个月。增加疗效和缩短疗程是抗病毒能否取效的关键。

白松林, 余颜, 成都中医药大学第二附属医院 四川省成都市 610041

扈晓宇, 四川省中医院肝病科 四川省成都市 610072

白松林, 主治医师, 主要从事肝病的相关研究。

作者贡献分布: 本课题由白松林与扈晓宇共同设计; 本文由白松林完成; 余颜完成数据分析; 扈晓宇负责审校。

通讯作者: 扈晓宇, 教授, 610072, 四川省成都市金牛区十二桥路39号, 四川省中医院肝病科, meddmail@yahoo.com.cn

收稿日期: 2013-02-20 修回日期: 2013-03-12

接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-04-28

Wenshenfang without decoction combined with lamivudine for treatment of HBeAg-positive chronic hepatitis B patients with kidney- and spleen-yang deficiency syndrome: Relationship between duration and effect

Song-Lin Bai, Xiao-Yu Hu, Yan Yu

Song-Lin Bai, Yan Yu, the Second Affiliated Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Xiao-Yu Hu, Sichuan Provincial Traditional Chinese Medicine Hospital, Chengdu 610072, Sichuan Province, China

Correspondence to: Xiao-Yu Hu, Professor, Sichuan Provincial Traditional Chinese Medicine Hospital, 39 Shierqiao Road, Jinniu District, Chengdu 610072, Sichuan Province, China. meddmail@yahoo.com.cn

Received: 2013-02-20 Revised: 2013-03-12

Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-04-28

Abstract

AIM: To observe the relation between time and curative effect of Wenshenfang without Decoction in combination with lamivudine in the treatment of HBeAg-positive chronic hepatitis B patients with syndrome of deficiency of kidney- and spleen-YANG to find optimal therapy time.

METHODS: Sixty-four HBeAg+ chronic hepatitis B patients with syndrome of deficiency of kidney- and spleen-YANG were equally and

randomly divided into a treatment group and a control group. The control group was treated with lamivudine only, while the treatment group was treated with Wenshenfang without decoction in combination with lamivudine. Therapeutic effect was observed at 3, 6, 9, and 12 mo after treatment. The changes in HBeAg and anti-HbeAg were monitored.

RESULTS: Compared to the control group, the HBeAg conversion rate at 6 mo was significantly increased in the treatment group ($P = 0.031$).

CONCLUSION: Wenshenfang without decoction in combination with lamivudine could significantly increase the HBeAg conversion rate. The optimal therapy time is 6 mo.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Wenshenfang; Lamivudine; Chronic hepatitis B; Curative effect; Time; Kidney- and spleen-YANG deficiency

Bai SL, Hu XY, Yu Y. Wenshenfang without decoction combined with lamivudine for treatment of HBeAg-positive chronic hepatitis B patients with kidney- and spleen-yang deficiency syndrome: Relationship between duration and effect. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(12): 1126-1130 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1126.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1126>

摘要

目的: 研究温肾方免煎剂联合拉米夫定治疗慢性乙型肝炎脾肾阳虚证疗效与时间的关系, 探讨中医“既病防变”干预慢性乙型肝炎的合适时间。

方法: 64例慢性乙型肝炎脾肾阳虚证(HBeAg阳性患者), 以DPS v8.01版软件随机分为治疗组和对照组, 治疗组给予温肾方免煎剂联合拉米夫定治疗, 对照组单用拉米夫定治疗, 疗程1年, 每组32例。两组均在3、6、9、12 mo观察HBeAg、Anti-Hbe。

■同行评议者

白浪, 副教授, 四川大学华西医院感染性疾病中心

结果: 最终纳入63例患者, 研究中有1例对照组患者脱落, 在6 mo时两组比较, 治疗组HBeAg血清学转换率高于对照组, 差异有统计学意义($P = 0.031$), 其余各时间段比较差异没有统计学意义。

结论: 温肾方免煎剂联合抗病毒治疗可以提高HBeAg血清学转换率, 其联合抗病毒的时间在耐药株尚未产生之前, 时间以6 mo较为适宜。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 温肾方; 拉米夫定; 慢性乙型肝炎; 脾肾阳虚证; 疗效; 时间

核心提示: 温肾方免煎剂联合拉米夫定(lamivudine)初始治疗6 mo可以促进HBeAg早期阴转, 提高血清学应答率, 缩短抗病毒疗程。

白松林, 扈晓宇, 余颜. 温肾方免煎剂联合拉米夫定治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎脾肾阳虚证的疗效时间关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(12): 1126-1130 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1126.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i12.1126>

0 引言

目前在慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)的诸多治疗措施当中, 抗病毒治疗是治疗的关键已经达成共识. 核苷(酸)类似物是主要的抗病毒类药物之一, 其最突出的问题是耐药, 随着用药时间的延长病毒变异率逐年增加, 这种抗病毒作用所带来的益处将被变异所取消, 甚至出现灾难性的治疗后果-导致肝功能衰竭的发生. 由于核苷(酸)类似物不能彻底清除肝细胞核内的cccDNA, 所以长期用药在所难免^[1]. 拉米夫定(lamivudine, LAM)是在我国上市最早的核苷(酸)类似物, 用于CHB的抗病毒治疗, 疗效确切, 很多患者因该药的使用而从中受益, 肝功能改善, 肝脏组织病理学好转, 病情得到缓解, 但是随着用药时间的延长而逐渐出现耐药, 常见的耐药突变点位为乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)聚合酶催化反应区YMDD序列变异为YIDD(rtM204v), 并常伴有rtL180M变异^[2-4]一旦变异株被筛选出来, 他们可能持续存在, 而这些变异株的出现, 形成了乙型肝炎病毒的准种, 并影响到后续核苷(酸)类似物的治疗. 在一项研究中发现由于发生拉米夫定变异后停用4年仍然可以检测出拉米夫定的耐药株, 有研究表明在患者接受核苷(酸)类似物的序贯治疗过程中,

很有可能导致多重耐药株的出现^[5-7], 所以可以考虑及早预防病毒变异, 在病毒发生变异之前尽可能早的联合用药, 缩短抗病毒疗程, 从而减少变异的发生. 而理想联合的药物应是具有抗病毒疗效而耐药率极低的药物.

大量研究表明中药具有较强的抗乙型肝炎病毒的复制作用, 目前尚无使用中药产生耐药变异的报道. 中医有“未病先防”的理论基础, 在CHB产生耐药株之前早期联合应用中药是否可以减少耐药的产生以及联合中药抗病毒疗效和时间的关系有待研究. 本研究使用附子理中免煎剂联合拉米夫定治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎脾肾阳虚证患者, 观察两种不同干预措施在不同时间可能出现的差异.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2011-11-10/2012-11-10就诊于成都中医药大学附属医院肝病门诊和住院患者, 中医肝炎脾肾阳虚证诊断符合《中药新药临床研究指导原则》^[8], 西医诊断符合慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)^[9], 并符合以下入选条件: 血清HBsAg持续阳性6 mo或以上, 具有肝炎症状、体征及肝功能异常, $2 \times$ 正常值上限(ULN) \leq ALT $\leq 10 \times$ ULN; 胆红素 $< 85.5 \mu\text{mol/L}$ 者; HBeAg阳性者且 $10^5 \text{copies/mL} \leq \text{HBV-DNA} \leq 10^9 \text{copies/mL}$ 具有抗病毒治疗的一般适应症, 排除以下病例: 有拉米夫定服用史者, 妊娠或准备妊娠妇女、男性准备生育者、哺乳期妇女, 合并肝癌、肝性脑病以及严重的心脑血管、肺、肾、内分泌和造血系统严重原发疾病、精神病患者, 合并有其他肝炎病毒感染及各种原因引起的肝硬化, 筛选前一年用过抗病毒药、免疫调节剂或抑制剂、细胞毒药物或类固醇激素, 均予排除. 剔除终止标准如下: 纳入后发现不符合纳入标准的病例, 对药物过敏的患者, 受试者依从性差, 未按规定用药, 无法判断疗效或资料不全者, 病情较治疗前明显恶化, 或者医生认为必须退出者, 发生严重不良事件应中止试验, 出现严重并发症或病情迅速恶化者应中止试验, 发生并发症、研究者根据具体情况需停药者, 特殊生理变化(患者怀孕)不宜继续接受试验, 患者因某些个人原因决定中止治疗及失访者. 最终选取64例病例.

1.2 方法 对照组病例包括男27例, 女5例, 年龄为18-52岁, 平均年龄 33.84 ± 9.96 岁. 研究中有1例对照组患者因某些个人原因决定中止治疗,

■ 研究前沿

大量研究认为温肾中药具有显著的免疫调节作用, 温肾法有助于乙型肝炎病毒的清除、提高核苷类药物的抗病毒疗效, 以温肾中药抗病毒是目前的研究热点。

■相关报道

陈英杰等补肾健脾方对HBeAg阳性HBV携带者的抗病毒疗效不错,其采用多中心、随机、双盲、安慰剂对照的临床研究方法。

表 1 两组患者人口学、基线生化、病毒指标比较

分组	对照组	治疗组	P值
<i>n</i>	31	32	
年龄(岁)	31.35 ± 9.08	33.84 ± 9.96	0.305
体质量(kg)	71.65 ± 5.94	72.96 ± 6.38	0.398
身高(m)	1.66 ± 0.6	1.67 ± 0.58	0.722
病程(年)	10.49 ± 5.44	10.52 ± 5.37	0.986
ALT(U/L)	139.3 ± 32.25	141.16 ± 31.36	0.823
AST(U/L)	127.45 ± 32.20	129.43 ± 31.96	0.807
TBIL(μmol/L)	14.37 ± 10.55	16.94 ± 10.55	0.213
PTA(%)	0.77 ± 0.11	0.76 ± 0.11	0.83
ALB(g/L)	38.59 ± 4.88	36.88 ± 3.40	0.107
HBV-DNA(Log拷贝/mL)	6.14 ± 1.15	6.21 ± 1.07	0.473

脱落率为3.12%,共有63例患者(治疗组32例、对照组31例)。按研究方案完成1年治疗及1年随访,患者依从性良好。两组患者人口学、基线生化、病毒指标差异无统计学意义。以DPS v8.01版软件随机分为温肾方免煎剂联合拉米夫定治疗组和单用拉米夫定对照组,疗程1年。每组32例,治疗组:以温肾方免煎剂,药物组成:制附片6 g、巴戟天30 g、菟丝子15 g、淫羊藿15 g、黄芪20 g、熟地黄15 g、桑寄生15 g、黄芩30 g、青蒿9 g、炙甘草5 g,1次/d,po,连用12 mo,同时加服LMD 0.1 g,1次/d,po,连用12 mo,共1年,100 mg/片。免煎剂由四川绿色药业科技发展股份有限公司提供。LMD由苏州葛兰素威康制药有限公司提供。对照组:仅服用拉米夫定,其剂型、规格、用法、疗程,均与治疗组相同。

统计学处理 数据采用SPSS11.5统计分析软件处理,计数资料采用 χ^2 检验,计量资料以Shapiro-Wilk检验,符合正态分布、方差齐性则采用 t 检验,方差不齐采用 t' 检验;不符合正态分布采用秩和检验。数据以mean ± SD表示。 $P \leq 0.05$ 将被认为所检验的差别有统计学意义。

2 结果

两组患者人口学、基线生化、病毒指标差异无统计学意义(表1)。两组患者治疗3、6、9、12 mo后HBeAg血清学指标的变化比较,在6 mo时两组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),其余各时间段比较差异没有统计学意义。研究表明:6 mo时能明显提高血清学应答率。在随后治疗时间延长至9 mo,应答率虽然有提高,但两组间没有统计学意义。延长至12 mo,应答率没有提高。初步得出结论:初始联合治疗6 mo是提高血清学应

答的敏感时间(表2)。

治疗组产生血清学应答的最早时间是在第6个月。对照组产生血清学应答的最早是在第9个月,表明中药的联合干预可以缩短疗程(表3, 4)。

治疗过程中两组的血常规、尿常规、大便常规、肾功能、ECG等安全性检测均无异常改变。

3 讨论

目前核苷类似物的联合用药尚不成熟,对于LAM出现耐药后的处理,ADV目前已成为YMDD变异的首选治疗措施,然而由于ADV肾毒性的不良反应,其剂量控制在10 mg,1次/d,使其对乙型肝炎病毒的抑制作用较弱,不能强有力的抑制病毒,导致LAM和ADV的联合耐药株出现,使后续治疗失败^[7],在LAM变异的患者中应用恩替卡韦后续治疗导致很高的耐药率发生。而对HBeAg阳性CHB的抗病毒治疗,以HBeAg/抗HBe血清转换及其持久性作为评价疗效的重要指标。持久的血清学转换,如伴有HBV-DNA保持阴性或低水平,往往提示疾病缓解,并发生减轻^[10],因此促进HBeAg早期阴转是缩短LAM疗程,降低YMDD耐药变异发生率的关键。不同的抗病毒药物对HBV有不同的作用靶位,通过不同的作用靶位,可以抑制HBV的复制和表达^[11]。中药有抗病毒作用,联合中药可以通过不同的作用靶位,抑制HBV的复制和表达,提高抗病毒疗效,缩短疗程,降低YMDD变异。

适宜温肾方免煎剂患者的病因病机多种多样,或其人素有阳虚之体,寒湿内盛,感受湿热而寒化,或本有阳虚而后触冒寒湿者,或其人先有湿热而后过用苦寒,究其病程长,无论因实致

表 2 治疗后两组血清学指标的变化比较 $n(\%)$

治疗时间	分组	n	HBeAg转阴	HBeAg血清学转换
3 mo	对照组	31	0(0)	0(0)
	治疗组	32	2(6.2)	1(3.1)
	$\chi^2 = 2.613, P = 0.363$			
6 mo	对照组	31	1(3.2)	0(0)
	治疗组	32	5(15.6) ^a	3(9.4) ^a
	$\chi^2 = 5.742, P = 0.040$			
9 mo	对照组	31	6(19.4)	5(16.1)
	治疗组	32	9(28.1)	7(21.9)
	$\chi^2 = 1.362, P = 0.506$			
12 mo	对照组	31	6(19.4)	5(16.1)
	治疗组	32	9(28.1)	7(21.9)
	$\chi^2 = 1.362, P = 0.506$			

^a $P < 0.05$ vs 6 mo对照组.

表 3 治疗组治疗前后血清学指标变化的比较

疗程比较	HBeAg转阴/HBeAg血清学转换	
	χ^2 值	P 值
3 mo	2.708	0.238
6 mo	8.607	0.005
9 mo	22.458	0.000
12 mo	22.458	0.000

表 4 对照组治疗前后血清学指标变化的比较

疗程比较	HBeAg转阴/HBeAg血清学转换	
	χ^2 值	P 值
3 mo	0.000	1.000
6 mo	1.016	0.313
9 mo	13.291	0.000
12 mo	13.291	0.000

虚或因虚致实, 日积月累, 脏腑功能日衰, 终致脾肾阳气虚损, 而成脾肾阳虚证。而湿邪是贯穿CHB病变过程始终的致病因子和病理产物, 同时湿邪久稽, 未有不伤阳者。加之目前治疗CHB多以清利湿热立法, 苦寒清热之药长期应用往往导致脾阳虚损, 病久延及于肾。药理学研究证明^[12-14]巴戟天、桑寄生、黄芪、黄芩等均有较好的免疫调节、保护肝细胞、抑制HBV病毒的功能。有人认为, 温肾中药具有显著的免疫调节作用: 温肾法可明显降低部分免疫耐受期CHB患者外周血中CD4⁺CD25⁺Tregs/CD4⁺T细胞的比例和FoxP3的基因表达水平, 明显改善患者外周血DC共刺激分子CD86、CD80、CD40、CD11c

表达, 从而有助于HBV的清除、提高核苷类药物的抗病毒疗效^[15]。

LAM变异一般出现在LAM治疗后第(11.07±3.65)个月, 最早第5个月, 最迟第17个月^[16], 即到第24周已经出现病毒学突破, LAM耐药突变将有可能对其他核苷类似物的后续治疗带来无药物可用的尴尬局面。可见第24周之前的一段时间符合中医治疗未病的范畴。

本研究结果显示: 温肾方免煎剂联合LAM初始治疗6 mo可以促进HBeAg早期阴转, 提高血清学应答率, 缩短抗病毒疗程, 从而减少耐药株的产生。因此早期初始联合中药抗病毒可能是应对耐药株产生的策略之一。中药干预的好处是不会产生双重耐药, 即增加了抗病毒疗效又避免了单药续贯治疗的危害, 为后续治疗留下空间。

4 参考文献

- Lok AS. Navigating the maze of hepatitis B treatments. *Gastroenterology* 2007; 132: 1586-1594 [PMID: 17408643 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.02.040]
- Liaw YF, Sung JJ, Chow WC, Farrell G, Lee CZ, Yuen H, Tanwandee T, Tao QM, Shue K, Keene ON, Dixon JS, Gray DF, Sabbat J; Cirrhosis Asian Lamivudine Multicentre Study Group. Lamivudine for patients with chronic hepatitis B and advanced liver disease. *N Engl J Med* 2004; 351: 1521-1531 [DOI: 10.1056/NEJMoa033364]
- Allen MI, Deslauriers M, Andrews CW, Tipples GA, Walters KA, Tyrrell DL, Brown N, Condreay LD. Identification and characterization of mutations in hepatitis B virus resistant to lamivudine. *Lamivudine Clinical Investigation Group. Hepatology* 1998; 27: 1670-1677 [PMID: 9620341 DOI: 10.1002/hep.510270628]
- Chen CJ, Yang HI, Su J, Jen CL, You SL, Lu SN, Huang GT, Iloeje UH. Risk of hepatocellular carcinoma

■创新盘点

本研究认为6 mo的时间可能已经产生了变异, 错过“治未病”时间, 把中医“治未病的思想”应用于慢性乙型肝炎的治疗, 即在选用疗效肯定的西药抗病毒治疗外, 加用中药的恰当干预预防病毒耐药株的产生。

■同行评价

本文立意新颖, 设计严谨, 结论可信, 对于将来联合中药抗病毒具有很好的参考意义和临床价值。

- noma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level. *JAMA* 2006; 295: 65-73 [PMID: 16391218 DOI: 10.1001/jama.295.1.65]
- 5 Yim HJ, Hussain M, Liu Y, Wong SN, Fung SK, Lok AS. Evolution of multi-drug resistant hepatitis B virus during sequential therapy. *Hepatology* 2006; 44: 703-712 [PMID: 16941700 DOI: 10.1002/hep.21290]
- 6 Villet S, Pichoud C, Villeneuve JP, Trépo C, Zoulim F. Selection of a multiple drug-resistant hepatitis B virus strain in a liver-transplanted patient. *Gastroenterology* 2006; 131: 1253-1261 [PMID: 17030194 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.08.013]
- 7 Villet S, Ollivet A, Pichoud C, Barraud L, Villeneuve JP, Trépo C, Zoulim F. Stepwise process for the development of entecavir resistance in a chronic hepatitis B virus infected patient. *J Hepatol* 2007; 46: 531-538 [PMID: 17239478 DOI: 10.1016/j.jhep.2006.11.016]
- 8 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 147
- 9 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010年版). 肝脏 2011; 16: 2-16
- 10 Liaw YF, Leung N, Guan R, Lau GK, Merican I, McCaughan G, Kane E, Kao JH, Omata M. Asian-Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: a 2005 update. *Liver Int* 2005; 25: 472-489 [PMID: 15910483 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2005.01134.x]
- 11 斯崇文. 从HBV的复制过程中认识抗HBV药物的作用、效果和抗HBV的策略. 临床肝胆病杂志 2000; 16: 131
- 12 Josephs MD, Bahjat FR, Fukuzuka K, Ksontini R, Solorzano CC, Edwards CK, Tannahill CL, MacKay SL, Copeland EM, Moldawer LL. Lipopolysaccharide and D-galactosamine-induced hepatic injury is mediated by TNF-alpha and not by Fas ligand. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000; 278: R1196-R1201 [PMID: 10801287]
- 13 徐超斗, 张永祥, 杨明, 窦振国. 巴戟天寡糖的促免疫活性作用. 解放军药学报 2003; 19: 466-468
- 14 李筠, 杨慧银. 复方黄芪颗粒治疗慢性乙型肝炎疗效与疗程的相关性. 中医杂志 2006; 47: 763
- 15 高月求. 中医药调控免疫是治疗慢性乙型肝炎优势环节. 中西医结合肝病杂志 2010; 20: 129-130
- 16 Leung NW, Lai CL, Chang TT, Guan R, Lee CM, Ng KY, Lim SG, Wu PC, Dent JC, Edmundson S, Condreay LD, Chien RN. Extended lamivudine treatment in patients with chronic hepatitis B enhances hepatitis B e antigen seroconversion rates: results after 3 years of therapy. *Hepatology* 2001; 33: 1527-1532 [PMID: 11391543 DOI: 10.1053/jhep.2001.25084]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

本刊讯 本刊正文标题层次为 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空 1 格写标题; 2 级标题后空 1 格接正文. 以下逐条陈述: (1) 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系. (2) 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可. (3) 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论. (4) 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾. 图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图 1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ... 曲线图可按 ●、○、■、□、▲、△ 顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$; 第 3 套为 ^e $P < 0.05$, ^f $P < 0.01$. P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P < 0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、- 应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达. 黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小 $7.5\text{ cm} \times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴. (5) 志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

应变率成像对研究肝硬化患者右心室纵向功能的价值

王洁, 顾鹏

王洁, 顾鹏, 川北医学院附属医院超声科 四川省南充市 637000

王洁, 在读硕士, 主要从事超声对肝硬化心脏功能的研究。

作者贡献分布: 此课题设计由顾鹏设计; 资料收集与数据分析由王洁完成; 本论文写作由王洁与顾鹏完成。

通讯作者: 顾鹏, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 637000, 四川省南充市顺庆区文化路63号, 川北医学院附属医院超声科, 四川省影像医学重点实验室。linda2621@sina.com

收稿日期: 2013-02-25 修回日期: 2013-03-23

接受日期: 2013-04-07 在线出版日期: 2013-04-28

Value of strain rate imaging in research of longitudinal function of the right ventricle in patients with liver cirrhosis

Jie Wang, Peng Gu

Jie Wang, Peng Gu, Department of Ultrasound, the Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, Sichuan Province, China

Correspondence to: Peng Gu, Professor, Chief Physician, Key Laboratory of Medical Imaging of Sichuan Province, Department of Ultrasound, the Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, 63 Wenhua Road, Shunqing District, Nanchong, 637000, Sichuan Province, China. linda2621@sina.com

Received: 2013-02-25 Revised: 2013-03-23

Accepted: 2013-04-07 Published online: 2013-04-28

Abstract

AIM: To assess the value of ultrasound strain rate imaging in research of longitudinal function of the right ventricle (RV) in patients with liver cirrhosis.

METHODS: Sixty-two patients with liver cirrhosis were selected as an experimental group and were divided into three subgroups based on the Child-Hugh grade: level A ($n = 20$), level B ($n = 22$) and level C ($n = 20$), and another 30 healthy volunteers were included in a control group. The systolic peak strain rate (SRS), early diastolic peak strain rate (SRE) and atrial systole peak strain rate (SRA) of three segments of the RV free wall were measured. Tissue Doppler imaging was used to measure the Em and Am at the posterior tricuspid annuli.

RESULTS: The SRS, SRA and SRE of the base

segment of the RV free wall were significantly decreased in the experimental group compared to the control group ($-1.93 \text{ s}^{-1} \pm 0.11 \text{ s}^{-1}$ vs $-2.51 \text{ s}^{-1} \pm 0.88 \text{ s}^{-1}$, $1.43 \text{ s}^{-1} \pm 0.11 \text{ s}^{-1}$ vs $1.59 \text{ s}^{-1} \pm 0.04 \text{ s}^{-1}$, $2.17 \text{ s}^{-1} \pm 0.08 \text{ s}^{-1}$ vs $2.37 \text{ s}^{-1} \pm 0.13 \text{ s}^{-1}$; all $P < 0.05$). The SRS, SRE and SRA of the middle segment of the RV free wall were also significantly decreased in the experimental group compared to the control group ($-1.69 \text{ s}^{-1} \pm 0.56 \text{ s}^{-1}$ vs $-1.97 \text{ s}^{-1} \pm 0.60 \text{ s}^{-1}$, $1.38 \text{ s}^{-1} \pm 0.38 \text{ s}^{-1}$ vs $2.26 \text{ s}^{-1} \pm 0.70 \text{ s}^{-1}$, $1.36 \text{ s}^{-1} \pm 0.88 \text{ s}^{-1}$ vs $1.49 \text{ s}^{-1} \pm 0.04 \text{ s}^{-1}$; all $P < 0.05$). The SRS, SRE and SRA of the apex cordis segment of the RV free wall were also significantly decreased in the experimental group compared to the control group ($-1.36 \text{ s}^{-1} \pm 0.31 \text{ s}^{-1}$ vs $-2.37 \text{ s}^{-1} \pm 0.78 \text{ s}^{-1}$, $1.47 \text{ s}^{-1} \pm 0.05 \text{ s}^{-1}$ vs $1.79 \text{ s}^{-1} \pm 0.12 \text{ s}^{-1}$, $1.22 \text{ s}^{-1} \pm 0.05 \text{ s}^{-1}$ vs $1.37 \text{ s}^{-1} \pm 0.10 \text{ s}^{-1}$; all $P < 0.05$). The peak early diastolic velocity and peak late diastolic velocity at the posterior tricuspid annuli in the experimental group were markedly decreased compared with those in the control group ($0.12 \text{ m/s} \pm 0.03 \text{ m/s}$ vs $0.19 \text{ m/s} \pm 0.02 \text{ m/s}$, $0.15 \text{ m/s} \pm 0.04 \text{ m/s}$ vs $0.17 \text{ m/s} \pm 0.02 \text{ m/s}$, both $P < 0.05$).

CONCLUSION: Ultrasonic strain rate imaging allows for more accurate evaluation of longitudinal systolic and diastolic function of the RV in patients with liver cirrhosis and can help evaluate therapeutic effects and prognosis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Ultrasound strain rate imaging; Liver cirrhosis; Right ventricle function

Wang J, Gu P. Value of strain rate imaging in research of longitudinal function of the right ventricle in patients with liver cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(12): 1131-1135 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1131.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1131>

摘要

目的: 探讨运用超声应变率成像(strain rate imaging, SRI)观察肝硬化患者右心纵向功能改变的研究价值。

方法: 将62名肝硬化患者(排除了具有器质性

■背景资料

肝硬化是指各种原因所致的肝脏组织炎症、坏死发生的肝脏纤维化和残存肝细胞炎症、坏死发生的肝脏纤维化和残存肝细胞结节性再生。肝硬化可发生多种并发症, 其中心血管并发症常导致患者预后较差, 因此肝硬化患者的心功能研究应受到高度重视。

■同行评议者

庄林, 主任医师, 昆明市第三人民医院肝病科

■研发前沿

肝硬化性左心功能受损方面的研究报道较多,右心功能受损方面的报道相对较少,但是,在临床工作中肝硬化性右心功能受损的情况不少见,而应用超声应变率成像测量右心功能是值得深入和系统研究的课题。

心脏病、糖尿病、高血压等疾病的患者)作为实验组。另外30名排除了具有器质性心脏病、糖尿病、高血压等疾病的健康成人作为正常对照组。分别测量右心室游离壁3个节段收缩期峰值应变率(systolic peak strain rate, SRS)、舒张早期峰值应变率(early diastolic peak strain rate, SRE)及房缩期峰值应变率(atrial systole peak strain rate, SRA),并运用常规测量右心功能的方法组织多普勒技术(tissue doppler imaging, TDI)测量三尖瓣前叶瓣环处舒张早期心肌运动速度(peak early diastolic velocity, V_e)、舒张晚期心肌运动速度(peak late diastolic velocity, V_a)。

结果: (1)肝硬化组右心室游离壁基底段SRS低于正常组(分别为: $-1.93 \text{ s}^{-1} \pm 0.11 \text{ s}^{-1}$ 、 $-2.51 \text{ s}^{-1} \pm 0.88 \text{ s}^{-1}$, $P < 0.05$), SRE低于正常组(分别为: $2.17 \text{ s}^{-1} \pm 0.08 \text{ s}^{-1}$ 、 $2.37 \text{ s}^{-1} \pm 0.13 \text{ s}^{-1}$, $P < 0.0001$), SRA低于正常组(分别为: $1.43 \text{ s}^{-1} \pm 0.11 \text{ s}^{-1}$ 、 $1.59 \text{ s}^{-1} \pm 0.04 \text{ s}^{-1}$, $P < 0.05$); (2)肝硬化组右心室游离壁中间段SRS低于正常组(分别为: $-1.69 \text{ s}^{-1} \pm 0.56 \text{ s}^{-1}$ 、 $-1.97 \text{ s}^{-1} \pm 0.60 \text{ s}^{-1}$, $P < 0.05$), SRE低于正常组(分别为: $1.38 \text{ s}^{-1} \pm 0.38 \text{ s}^{-1}$ 、 $2.26 \text{ s}^{-1} \pm 0.70 \text{ s}^{-1}$, $P < 0.05$), SRA低于正常组(分别为: $1.36 \text{ s}^{-1} \pm 0.88 \text{ s}^{-1}$ 、 $1.49 \text{ s}^{-1} \pm 0.04 \text{ s}^{-1}$, $P < 0.05$); (3)肝硬化组心尖段SRS低于正常组(分别为: $-1.36 \text{ s}^{-1} \pm 0.31 \text{ s}^{-1}$ 、 $-2.37 \text{ s}^{-1} \pm 0.78 \text{ s}^{-1}$, $P < 0.0001$), SRE低于正常组(分别为: $1.47 \text{ s}^{-1} \pm 0.05 \text{ s}^{-1}$ 、 $1.79 \text{ s}^{-1} \pm 0.12 \text{ s}^{-1}$, $P < 0.05$), SRA低于正常组(分别为: $1.22 \text{ s}^{-1} \pm 0.05 \text{ s}^{-1}$ 、 $1.37 \text{ s}^{-1} \pm 0.10 \text{ s}^{-1}$, $P < 0.05$); (4)三尖瓣前叶瓣环处 V_e 及 V_a 均低于正常组(肝硬化组 V_e 、 V_a 分别为: $0.12 \text{ m/s} \pm 0.03 \text{ m/s}$ 、 $0.15 \text{ m/s} \pm 0.04 \text{ m/s}$; 正常组 V_e 、 V_a 分别为 $0.19 \text{ m/s} \pm 0.02 \text{ m/s}$ 、 $0.17 \text{ m/s} \pm 0.02 \text{ m/s}$ ($P < 0.05$, $P < 0.01$))。

结论: 超声应变率成像可以更准确的评价肝硬化患者右心室的纵向收缩及舒张功能,为临床医生的治疗及判断预后提供有力的证据。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 超声应变率成像; 肝硬化; 右心室功能

核心提示: 本文运用应变率成像技术测量肝硬化患者右心功能,旨在探讨肝硬化患者右心功能变化情况及应变率成像在测量心功能方面的研究价值。

王洁, 顾鹏. 应变率成像对研究肝硬化患者右心室纵向功能的价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(12): 1131-1135 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1131.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1131>

0 引言

肝硬化(liver cirrhosis)是一种常见的慢性肝病,

可由于一种或多种原因引起肝脏进行性、弥漫性损害及纤维性变^[1,2]。肝硬化临床表现明显,可发生多种并发症,其中心血管并发症常导致患者预后较差。早在五十多年前就有学者^[3]证实肝硬化患者的心输出量(cardiac output)增强,随后越来越多的研究和报道指出肝硬化患者存在心功能衰竭,包括外周血管阻力下降、动脉血压下降、心脏收缩功能及舒张功能的降低,这一系列的改变医学上叫做肝硬化性心肌病(cirrhotic cardiomyopathy, CCM)^[4]。目前对肝硬化左心功能的研究报道较多^[5-7],肝硬化患者右心功能到底有无改变,目前报道很少。随着超声新技术的快速发展,越来越多的新技术应用于多种疾病的心功能检测中,二维超声应变率反映了心肌发生变形的速度,在评价心肌功能方面有显著的优势。本研究主要讨论运用超声应变率成像评价肝硬化患者右心功能的纵向收缩功能。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2011-10/2012-08月川北医学院附属医院肝炎肝硬化患者62例(男47例,女15例),患者年龄24-78岁,平均年龄 $50.80 \text{ 岁} \pm 1.73 \text{ 岁}$,所有患者均符合2000-09西安会议《病毒性肝炎防治方案》(中华医学会传染病与寄生虫分会、肝病学会联合修订)中肝硬化的诊断标准,并同时排除器质性心脏病、糖尿病、高血压等疾病的患者。选取排除了具有器质性心脏病的健康成人30例(男21例,女9例),年龄20-68岁,平均年龄 $48.55 \text{ 岁} \pm 2.15 \text{ 岁}$ 作为正常对照组。两组年龄差异无统计学意义。

1.2 方法 仪器使用GE公司vivid E9型彩色超声诊断仪,凸阵探头M5S,频率1.5-4.5 Hz,帧频为40-90帧/s。受试者平静呼吸,常规连接心电图并采取左侧卧位采集心尖四腔心切面3个心动周期动态图并储存,将图像转入Echo PAC工作站进行脱机分析。工作站将右心室游离壁分为基底段、中间段及心尖段3个节段,对室壁运动进行追踪分析。启动组织多普勒,并于心尖四腔心切面将取样容积置于三尖瓣前叶瓣环处,在受试者呼气末三尖瓣前叶瓣环处运动频谱,并测量舒张早期心肌运动速度(peak early diastolic velocity, V_e)及舒张晚期心肌运动速度(peak late diastolic velocity, V_a)。

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件,所得数据资料以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示,组间参数比较采用独立样本 t 检验,以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

■相关报道

Meluzin等通过运用多普勒技术(DTI)对44例肝硬化患者及30例健康志愿者的心功能进行测量并比较得出肝硬化患者的心功能出现改变。



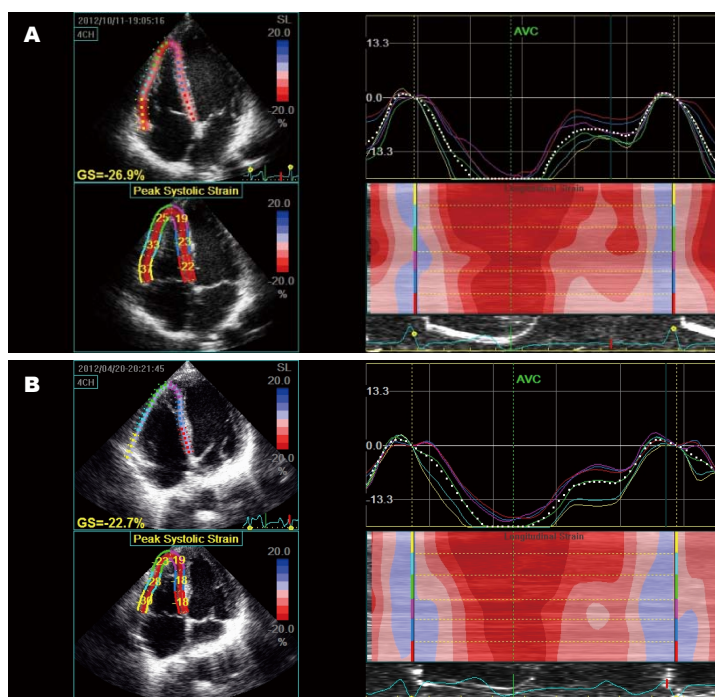


图 1 右心室应变率. A: 正常组右心室应变率; B: 肝硬化组右心室应变率.

■创新盘点

本文应用超声应变率测量右心功能, 克服了以往用于测量右心功能方法出现的角度依赖的缺陷, 因此更能准确的反映右心功能.

表 1 62例肝硬化患者与30例正常对照组右室游离壁应变率比较 (s^{-1})

分组	应变率		
	收缩期	舒张早期	房缩期
基底段			
肝硬化组	-1.93 ± 0.11^a	2.17 ± 0.08^b	1.43 ± 0.11^a
正常组	-2.51 ± 0.88	2.37 ± 0.13	1.59 ± 0.04
中间段			
肝硬化组	-1.69 ± 0.56^a	1.38 ± 0.38^a	1.36 ± 0.88^a
正常组	-1.97 ± 0.60	2.26 ± 0.70	1.49 ± 0.04
心尖段			
肝硬化组	-1.36 ± 0.31^b	1.47 ± 0.05^a	1.22 ± 0.05^a
正常组	-2.37 ± 0.78	1.79 ± 0.12	1.37 ± 0.10

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 正常组.

2 结果

肝硬化组右心室游离壁基底段SRS(图1B)低于正常组(图1A)(分别为: $-1.93 s^{-1} \pm 0.11 s^{-1}$ 、 $-2.51 s^{-1} \pm 0.88 s^{-1}$, $P < 0.05$), SRE低于正常组(分别为: $2.17 s^{-1} \pm 0.08 s^{-1}$ 、 $2.37 s^{-1} \pm 0.13 s^{-1}$, $P < 0.0001$), SRA低于正常组(分别为: $1.43 s^{-1} \pm 0.11 s^{-1}$ 、 $1.59 s^{-1} \pm 0.04 s^{-1}$, $P < 0.05$).

肝硬化组右心室游离壁中间段SRS低于正常组(分别为: $-1.69 s^{-1} \pm 0.56 s^{-1}$ 、 $-1.97 s^{-1} \pm 0.60 s^{-1}$, $P < 0.05$), SRE低于正常组(分别为: $1.38 s^{-1} \pm 0.38 s^{-1}$ 、 $2.26 s^{-1} \pm 0.70 s^{-1}$, $P < 0.05$), SRA低于正常组(分别为: $1.36 s^{-1} \pm 0.88 s^{-1}$ 、 $1.49 s^{-1} \pm 0.04 s^{-1}$, $P < 0.05$).

肝硬化组心尖段SRS低于正常组(分别

为: $-1.36 s^{-1} \pm 0.31 s^{-1}$ 、 $-2.37 s^{-1} \pm 0.78 s^{-1}$, $P < 0.0001$), SRE低于正常组(分别为: $1.47 s^{-1} \pm 0.05 s^{-1}$ 、 $1.79 s^{-1} \pm 0.12 s^{-1}$, $P < 0.05$), SRA低于正常组(分别为: $1.22 s^{-1} \pm 0.05 s^{-1}$ 、 $1.37 s^{-1} \pm 0.10 s^{-1}$, $P < 0.05$)(表1).

三尖瓣前叶瓣环处Ve及Va均低于正常组(肝硬化组Ve、Va分别为: $0.12 m/s \pm 0.03 m/s$ 、 $0.15 m/s \pm 0.04 m/s$; 正常组Ve、Va分别为: $0.19 m/s \pm 0.02 m/s$ 、 $0.17 m/s \pm 0.02 m/s$, ($P < 0.05$, $P < 0.01$)(表2).

3 讨论

肝硬化患者心血管系统异常主要表现为高动力循环状态^[8], 其发生主要与以下因素有关: (1)由

■应用要点

对于肝硬化患者, 可以应用超声应变率成像较早且准确的测量出其心功能, 为临床的治疗判断预后提供及时准确的信息。

表 2 62例肝硬化患者与30例正常对照组右室心肌运动速度比较 (mean \pm SD, m/s)

分组	早期心肌运动速度	晚期心肌运动速度
肝硬化组	0.12 \pm 0.03 ^a	0.15 \pm 0.04 ^b
正常组	0.19 \pm 0.02	0.17 \pm 0.02

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 正常组。

于肝脏功能障碍, 门静脉高压导致门-体分流, 从而使肝脏供血减少, 门静脉血量增多, 造成高动力循环状态; (2)肝硬化的高动力循环与钠水潴留及血浆容量增加有关; (3)近年来大量研究^[9]表明, 很多扩血管活性物质如白介素等进入体循环, 激活诱导型一氧化氮合酶, 诱导心肌产生过多的一氧化氮, 也能造成肝硬化患者心脏收缩功能的障碍。王爱鱼等^[10]通过对96例无器质性心脏病的肝硬化患者进行解剖, 发现其中有39例患者心脏存在形态学改变, 心脏主要表现为心肌坏死、心室肥大等。肝硬化患者若右心室功能降低, 将导致右房内压力增高, 使肝静脉回流受阻, 最终导致肝淤血, 从而加速肝硬化患者腹水等并发症的发生, 因此肝硬化患者的右心功能研究应受到高度重视, 所以本实验基于上述原因, 专门用超声应变率成像进行肝硬化患者的右心功能研究。

心室肌层纤维由环形心肌纤维及纵形心肌纤维组成, 而右心室主要以纵形方向的浅层螺旋状肌肉为主, 贯穿于心尖与右房室环之间, 在心室射血中起重要作用, 收缩期右室在浅层肌纤维牵拉下心底不移向心尖部并靠向室间隔, 同时在室间隔协同作用下把右心室的血液挤向肺循环^[11,12], 因此测定右心室长轴功能更能代表右室的射血功能, 右室肌层纵向运动对于评价右室功能具有重要意义。过去常用于评价局部心肌功能的主要是组织多普勒技术(tissue doppler imaging, TDI), Dini等^[13]通过研究证明三尖瓣瓣环处心肌运动速度可以反映右心室的长轴心功能, 但其角度依赖性较大, 而SRI是近年发展迅速的超声新技术, 是在二维动态灰阶图像中选取感兴趣的室壁范围, 然后运用软件自动跟踪感兴趣区内的心肌组织信号, 从而计算出感兴趣区内心肌变形的程度^[14,15], 其克服了组织多普勒的角度依赖的缺陷, 因此更能准确的映心肌的功能。本实验通过对肝硬化患者右室游离壁3个节段的心肌纵

向运动进行追踪, 得出以下结论: (1)肝硬化患者右心室收缩功能降低; (2)通过对应变率成像与TDI两种超声技术得出的统计学结果进行比较, 虽然TDI也能反映右心室长轴收缩功能, 但是SRI通过统计学方法得出的 P 值较TDI更小, 因此得出SRI较TDI能更好的反映右心室长轴的收缩功能。

综上所述, 超声应变率成像能较早较准确的评价肝硬化患者的右室心肌功能的变化, 为临床的治疗判断预后提供及时及准确的信息。

4 参考文献

- Meluzin J, Spinarová L, Bakala J, Toman J, Krejčí J, Hude P, Kára T, Soucek M. Pulsed Doppler tissue imaging of the velocity of tricuspid annular systolic motion; a new, rapid, and non-invasive method of evaluating right ventricular systolic function. *Eur Heart J* 2001; 22: 340-348 [PMID: 11161953 DOI: 10.1053/euhj.2000.2296]
- Pinzani M, Rosselli M, Zuckermann M. Liver cirrhosis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2011; 25: 281-290 [PMID: 21497745 DOI: 10.1016/j.bpg.2011.02.009]
- Baik SK, Fouad TR, Lee SS. Cirrhotic cardiomyopathy. *Orphanet J Rare Dis* 2007; 2: 15 [PMID: 17389039 DOI: 10.1186/1750-1172-2-15]
- Møller S, Hove JD, Diken U, Bendtsen F. New insights into cirrhotic cardiomyopathy. *Int J Cardiol* 2012 Oct 4. [Epub ahead of print] [PMID: 23041091 DOI: 10.1016/j.ijcard.2012.09.089]
- 焦荣红, 刘欣, 于明月, 黄冬霞. 超声心动图技术评价肝硬化患者左心功能的研究. *现代中西医结合杂志* 2012; 21: 74-75
- Abd-El-Aziz TA, Abdou M, Fathy A, Wafaie M. Evaluation of cardiac function in patients with liver cirrhosis. *Intern Med* 2010; 49: 2547-2552 [PMID: 21139291 DOI: 10.2169/internalmedicine.49.3520]
- Finucci G, Desideri A, Sacerdoti D, Bolognesi M, Merkel C, Angeli P, Gatta A. Left ventricular diastolic function in liver cirrhosis. *Scand J Gastroenterol* 1996; 31: 279-284 [PMID: 8833359 DOI: 10.3109/00365529609004879]
- Liu H, Gaskari SA, Lee SS. Cardiac and vascular changes in cirrhosis: pathogenic mechanisms. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 837-842 [PMID: 16521209]
- Alqahtani SA, Fouad TR, Lee SS. Cirrhotic cardiomyopathy. *Semin Liver Dis* 2008; 28: 59-69 [PMID: 18293277 DOI: 10.1055/s-2008-1040321]
- 王爱鱼, 侯培珍, 高军. 肝硬化所致心脏损害-附96例尸解分析. *中华消化杂志* 1998; 18: 184
- 管雨洁, 高秋琦, 吴琪, 倪显达, 胡元平, 陈斌. 组织多普勒成像评价右心室收缩和舒张功能作用的研究进展. *中国全科医学* 2010; 13: 1946-1949
- Mertens LL, Friedberg MK. Imaging the right ventricle--current state of the art. *Nat Rev Cardiol* 2010; 7: 551-563 [PMID: 20697412 DOI: 10.1038/nrcardio.2010.118]
- Dini FL, Galderisi M, Mondillo S, De Tommasi SM. [The right ventricle: role of Doppler echocardiography in clinical practice]. *Ital Heart J Suppl* 2004; 5: 757-769 [PMID: 15615347]
- Artis NJ, Oxborough DL, Williams G, Pepper CB,

Tan LB. Two-dimensional strain imaging: a new echocardiographic advance with research and clinical applications. *Int J Cardiol* 2008; 123: 240-248

15

[PMID: 17477993 DOI: 10.1016/j.ijcard.2007.02.046]
杨颖, 陈峰, 张宝妮. 二维应变对左心室整体应变与应变率的研究. *中国医学影像技术* 2006; 22: 1018-1020

编辑 田滢 电编 闫晋利



■同行评价

本文有一定科学性、创新性和可读性, 能反映我国该领域临床研究水平, 具有一定指导意义。

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

• 消息 •

百世登出版集团推出 12 种开放获取生物医学期刊全部被 PubMed 和 PMC 收录

本刊讯 由美国国立医学图书馆(U.S. National Library of Medicine, 简称NLM), 美国国立生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, 简称NCBI)和美国国立卫生研究院(National Institutes of Health, 简称NIH), 共同于2010-2011年, 收录了百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group Co., Limited, 简称BPG)出版的12种开放获取生物医学期刊。12种期刊被NLM, NCBI和NIH共同主办的PubMed Central和PubMed平台, 公开面向全球发布, 读者免费阅读和下载全文。12种期刊被收录的名称及网址如下:

- 1 World Journal of Biological Chemistry (世界生物化学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1495/>
- 2 World Journal of Cardiology (世界心脏病学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1320/>
- 3 World Journal of Clinical Oncology (世界临床肿瘤学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1494/>
- 4 World Journal of Diabetes (世界糖尿病杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1498/>
- 5 World Journal of Gastrointestinal Endoscopy (世界胃肠内镜杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1323/>
- 6 World Journal of Gastrointestinal Oncology (世界胃肠肿瘤学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1324/>
- 7 World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology (世界胃肠病理生理学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1496/>
- 8 World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics (世界胃肠药理学与治疗杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1497/>
- 9 World Journal of Gastrointestinal Surgery (世界胃肠外科杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1325/>
- 10 World Journal of Hepatology (世界肝病学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1321/>
- 11 World Journal of Radiology (世界放射学杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1322/>
- 12 World Journal of Stem Cells (世界干细胞杂志)
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1470/>

(总编辑: 马连生2011-05-30)

悬吊辅助法腹腔镜阑尾切除术42例

郑向欣, 管小青, 吴骥, 顾书成, 吴建强, 陈焰, 张旭旭

■背景资料

阑尾炎是普外科常见的一类急腹症, 手术治疗为阑尾切除术。以往我们对此类患者主要实施开腹阑尾切除术, 近年来随着腹腔镜外科的迅速发展, 腹腔镜阑尾切除术已成为阑尾炎患者常用的手术方案, 主要有三孔、双孔及单孔等术式, 手术创伤较开腹手术减小, 恢复时间缩短, 被临床医生及患者所接受。

郑向欣, 管小青, 吴骥, 顾书成, 吴建强, 陈焰, 张旭旭, 南京鼓楼医院集团宿迁市人民医院普外科 江苏省宿迁市 223800 郑向欣, 主治医师, 主要从事普外科的临床及科研工作。

作者贡献分布: 此课题由郑向欣与管小青设计; 研究过程由郑向欣、管小青、吴骥、顾书成、吴建强、陈焰及张旭旭操作完成; 资料收集与数据分析由郑向欣、吴骥、顾书成及张旭旭完成; 本论文写作由郑向欣与管小青完成。

通讯作者: 管小青, 主任医师, 223800, 江苏省宿迁市黄河南路138号, 南京鼓楼医院集团宿迁市人民医院普外科。

guan_dr@163.com

电话: 0527-84239293

收稿日期: 2013-01-04 修回日期: 2013-02-28

接受日期: 2013-04-13 在线出版日期: 2013-04-28

Laparoscopic appendectomy using the hanging and fastening method: An analysis of 42 cases

Xiang-Xin Zheng, Xiao-Qing Guan, Ji Wu, Shu-Cheng Gu, Jian-Qiang Wu, Yan Chen, Xu-Xu Zhang

Xiang-Xin Zheng, Xiao-Qing Guan, Ji Wu, Shu-Cheng Gu, Jian-Qiang Wu, Yan Chen, Xu-Xu Zhang, Department of General Surgery, Suqian People's Hospital of Nanjing Drum-tower Hospital Group, Suqian 223800, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Xiao-Qing Guan, Chief Physician, Department of General Surgery, Suqian People's Hospital of Nanjing Drum-tower Hospital Group, 138 Huanghe South Road, Suqian 223800, Jiangsu Province, China. guan_dr@163.com

Received: 2013-01-04 Revised: 2013-02-28

Accepted: 2013-04-13 Published online: 2013-04-28

Abstract

AIM: To explore the feasibility and advantages of hanging and fastening method in laparoscopic appendectomy.

METHODS: Forty-two patients underwent laparoscopic appendectomy using the hanging and fastening method. An epidural puncture trocar with a thread was used to pierce the abdominal cavity. After tightening the thread and relatively fixing the appendix, appendectomy was performed.

RESULTS: The operative was successful in all 42 patients. The operative time was 30-90 min (mean, 50 min). Intraoperative blood loss was

5-50 mL (mean, 20 mL). The patients got out of bed 8 hours after operation. The gastrointestinal function recovered within 12-24 h (mean, 15 h). The hospital stay was 3-7 d (mean, 4 d). There were no major complications including incision infection, bleeding and intestinal obstruction. All patients were discharged.

CONCLUSION: Laparoscopic appendectomy using the hanging and fastening method is safe, feasible and simple, with little surgical trauma.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Appendicitis; Appendectomy; Laparoscopy; Hanging and fastening

Zheng XX, Guan XQ, Wu J, Gu SC, Wu JQ, Chen Y, Zhang XX. Laparoscopic appendectomy using the hanging and fastening method: An analysis of 42 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(12): 1136-1139 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1136.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1136>

摘要

目的: 探讨悬吊辅助施行腹腔镜阑尾切除术的可行性与优点。

方法: 应用悬吊固定法, 实施腹腔镜阑尾切除术42例。将带线硬膜外穿刺针自腹壁刺入腹腔内, 收紧腹腔外缝线, 使阑尾游离端相对固定, 然后行阑尾切除术。

结果: 42例患者均顺利完成手术, 手术时间30-90 min, 平均50 min, 术中出血5-50 mL, 平均20 mL, 术后8 h患者下床活动, 12-24 h恢复胃肠功能, 平均15 h, 住院3-7 d, 平均4 d, 无切口感染, 出血, 肠梗阻并发症出现, 所有患者痊愈出院。

结论: 悬吊固定法阑尾切除术安全、可行, 并且操作简单, 创伤小。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 阑尾炎; 阑尾切除术; 腹腔镜; 悬吊固定

■同行评议者

王刚, 副研究员, 哈尔滨医科大学附属第一医院肝胆外科(普外二科)

核心提示: 双孔悬吊辅助法腹腔镜阑尾切除术是在三孔基础上, 结合双孔及三孔的优点, 应用带线硬膜外穿刺针刺入腹腔, 悬吊固定阑尾, 予以实施阑尾切除术。本方法中穿刺针的作用相当于三孔中的无损伤肠钳, 手术创伤小, 操作简单, 疤痕小, 适合在临床中推广。

郑向欣, 管小青, 吴骥, 顾书成, 吴建强, 陈焰, 张旭旭. 悬吊辅助法腹腔镜阑尾切除术42例. 世界华人消化杂志 2013; 21(12): 1136-1139 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1136.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1136>

0 引言

近年来随着外科技术的快速发展及微创观念的进步, 腹部手术向经自然腔道内镜外科手术(natural orifice transluminal endoscopic surgery, NOTES)^[1]转变的趋向已经显现。腹腔镜阑尾切除术因其具有创伤小, 恢复快, 还可探查术前诊断不明的外科急腹症等优点^[2], 现已成为外科医生和阑尾炎患者首选的术式。目前我们在三孔腹腔镜阑尾切除术基础上对其作了一点改进, 采用悬吊辅助法对42例患者实施腹腔镜阑尾切除术, 取得了较好的疗效, 现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 本组42例患者中, 男27例, 女15例, 17-59岁, 平均31岁, 均无下腹部手术史, 其中急性单纯性阑尾炎9例, 急性化脓性阑尾炎17例, 急性坏疽性阑尾炎4例, 慢性阑尾炎急性发作12例。急性发作时间8-96 h, 平均20 h。主要临床表现为腹痛, 右下腹固定压痛, 全腹未触及包块, 伴有发热及恶心或呕吐症状, 血象增高, 腹部彩超排除泌尿系统, 子宫附件及阑尾周围脓肿及回盲部肿块等疾病, 部分病例彩超提示盆腔积液或阑尾区探及条索状包块。全组病例无严重心肺疾患及凝血功能障碍, 所有切除标本均经病理确诊。

1.2 方法

1.2.1 手术: 术前准备一次性硬膜外麻醉穿刺包(穿刺针规格: 1.8 mm×80.0 mm), 取出穿刺针, 将7号线对折后穿过, 留作备用(图1)。所有患者术前禁食6 h, 排空膀胱, 不留置胃管及尿管。手术均采用气管插管全身麻醉, 脐缘作1.0 cm皮肤切口, 穿刺10 mm Trocar, 建立CO₂气腹, 压力维持在12-15 mmHg, 置入10 mm Trocar为观察孔, 置入腹腔镜, 患者取头低脚高位, 手术台向左倾斜15-20度, 于脐与耻骨联合中点平行左侧腹直

肌外缘置入10 mm Trocar, 作为操作孔, 放入无损伤肠钳进行全面探查, 吸出脓液或腹腔渗液, 找到阑尾, 分离其与周边的粘连, 于阑尾根部上方相应腹壁将带线硬膜外穿刺针穿入腹腔, 分离钳将阑尾放入线环后, 收紧丝线, 将阑尾提起, 此时阑尾已悬吊固定于穿刺针上, 可以前后左右调整方向, 用分离钳紧贴阑尾分离系膜, 病例中阑尾水肿较轻者, 于阑尾根部系膜侧用钛夹或锁扣夹结扎阑尾系膜及血管, 同样方法于阑尾根部双重结扎阑尾; 阑尾及系膜水肿明显者, 由操作孔引入7号线, 用腔内打结法, 分段结扎阑尾系膜, 双重结扎阑尾根部, 距结扎远端约0.5 cm剪断并电灼阑尾残端, 不做荷包缝合, 撤除悬吊线, 将阑尾放入橡胶手套中自10 mm Trocar取出。探查腹腔无活动性出血, 无肠管损伤后, 释放气腹, 关闭切口。术中可以根据阑尾周围炎症渗出情况, 决定是否放置引流管。

1.2.2 手术适应证及禁忌证: (1)适应证: 急性单纯性阑尾炎、慢性阑尾炎急性发作, 急性化脓性阑尾炎、急性坏疽性阑尾炎(头部及部分体部)和部分异位阑尾炎(阑尾可以直接提起者); (2)禁忌证: 严重心肺疾患及凝血功能障碍患者、下腹部手术者, 急性阑尾炎伴阑尾周围脓肿、急性坏疽穿孔性阑尾炎(根部及部分体部)、腹膜后位阑尾炎、浆膜下阑尾炎、部分异位阑尾炎(无法直接提起者)及回盲部肿瘤并阑尾炎。

2 结果

42例患者均顺利完成手术, 无中转开腹者, 手术时间30-90 min, 平均50 min, 术中出血5-50 mL, 平均20 mL, 术后8 h患者下床活动, 12-24 h恢复胃肠功能, 平均15 h, 住院3-7 d, 平均4 d, 全组无切口感染, 出血, 肠梗阻等并发症出现, 所有患者痊愈出院, 切口愈合良好, 美容效果好(图2, 3)。

3 讨论

自1983年德国医师Semm首次报道腹腔镜阑尾切除术(laparoscopic appendectomy, LA)^[3]以来, 因其具有损伤小、机体的应激反应轻、免疫抑制少、康复快、切口感染率低、住院时间短等优点^[4-9], 现已成为治疗急慢性阑尾炎的常规手术^[10,11]。

随着LA手术方式的不断改进, 目前临床上出现了三孔, 双孔及单孔等术式^[12-15]。单孔术式操作空间相对较小, 器械易出现“筷子效应”, 手术难度相对较大, 基层医院应用相对较少, 而

■研究前沿

随着NOTES理论及“无痛无瘢痕”手术理念的提出, 腹腔镜阑尾切除术越来越受到临床医生及患者的认可, 其视野开阔, 利于探查, 手术创伤较小, 恢复快, 特别适合肥胖, 年轻女性及经常出差患者。如何在增加手术难度的基础上, 减少手术创伤, 增加美容效果, 已成为微创外科的一大热点。

■创新盘点

本文主要是在应用三孔腹腔镜阑尾切除术的基础上,采用带线麻醉穿刺针取代无损伤肠钳将阑尾提起,减少一戳孔,从而减少手术创伤,并未增加手术难度,手术效果较好。

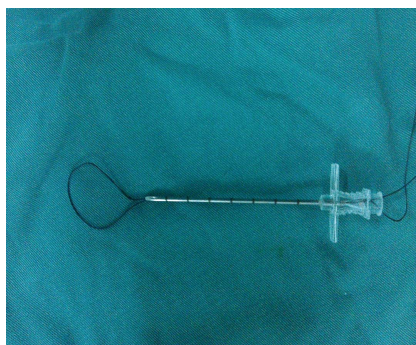


图1 带线麻醉穿刺针。

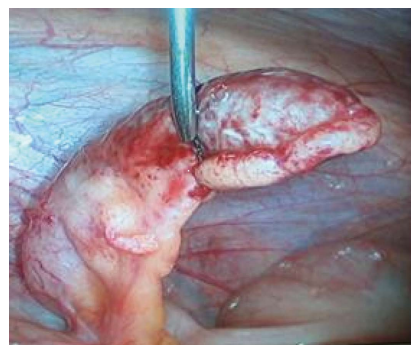


图2 悬吊固定的阑尾。

三孔及双孔术式视野开阔,操作相对简单,大部分临床医生常采用这两类术式。本文对三孔术式作了一点改进,结合双孔法和三孔法的优点^[16],采用双孔悬吊术式行阑尾切除术,即将带线的硬膜外麻醉穿刺针于阑尾根部体表投影区穿入腹腔,将阑尾提起,这样既可以将阑尾悬吊固定,进一步探查阑尾及周围组织情况,又减少了一个戳孔,使得操作简单,创伤小,恢复快,切口感染发生率低,而且该方法技术难度较小,比单孔法更简单,费用相对较低,也利于术者操作,适合在基层医院应用。

临床中大部分阑尾炎患者就诊时,病情都相对较重,术中我们探查发现阑尾大都已充血水肿或化脓,有的甚至出现坏疽,部分阑尾呈扭曲状,大网膜下移包裹阑尾。因此,充分显露阑尾是手术当中至关重要的一环。之前我们在实施三孔LA时,应用无损伤肠钳提起阑尾,来显露阑尾及周围组织情况,然后行阑尾切除术。在此基础上我们思考在不增加手术难度的前提下,能否减少一戳孔来完成手术,从而减少手术创伤。有文献报道^[17]应用悬吊线将阑尾固定于腹壁行阑尾切除术能达到这一效果,但我们发现该术式只能通过牵拉调整阑尾高低,不能前后左右调整方向,不利于阑尾及系膜的处理。本文我们通过悬吊,将阑尾提起,同时将阑尾固定在穿刺针上,这样既可以将阑尾显露明显,又可以四周调整方向,利于阑尾及其系膜的处理,达到了我们预想的效果。术中我们分离好阑尾系膜后,将丝线自操作孔引入,左手拽住线尾,右手持针器行腔内打结,结扎切断系膜,同法处理阑尾;而对于阑尾炎症较轻者,我们可以应用钛夹或锁扣夹直接结扎切断。该术式中我们应用的带线穿刺针相当于三孔操作时的无损伤肠钳,从而扩大了手术适应症,简化了手术操作,缩短了手术时间,同时减少了一戳孔,使得手术创伤相应减小;整



图3 术后第2天腹部切口。

个手术我们均可在一把器械下完成,也避免了“筷子效应”。本文采用的这一方法手术创伤有所减小,我们发现患者术后脐部切口不明显,只有左下腹一小切口,美容效果好,而且手术费用也相对减少,具有可行性,值得临床推广。

值得注意的是,对于临床中遇到的如根部坏疽穿孔性阑尾炎或阑尾炎伴阑尾周围脓肿等病情较重者,我们应及时增加戳孔或中转开腹,避免肠痿等并发症的发生;如果术中直视下探查未发现阑尾,应考虑腹膜后位阑尾,浆膜下阑尾,异位阑尾及阑尾缺如,盲肠根部炎症等可能,若异位阑尾能直接提起,可以应用悬吊法实施手术,其他病例我们也应及时增加戳孔或中转开腹;如果术中探查伴有回盲部或升结肠肿瘤,无腹腔广泛转移者,我们将在腹腔镜下行右半结肠切除术;若伴有降结肠肿瘤,我们将同时予以行左半结肠切除,同期行横结肠造痿。因此,我们在实施手术时,一定要严格遵照适应证,充分探查腹腔,不能一味为了追求微创手术,而忽略了手术禁忌证及并发症,必要时及时中转开腹或扩大手术,这样才能显示出LA应有的应用价值。

4 参考文献

- 1 Palanivelu C, Rajan PS, Rangarajan M, Parthasarathi

- R, Senthilnathan P, Prasad M. Transvaginal endoscopic appendectomy in humans: a unique approach to NOTES--world's first report. *Surg Endosc* 2008; 22: 1343-1347 [PMID: 18347865]
- 2 Milewicz M, Michalik M, Ciesielski M. A prospective, randomized, unicenter study comparing laparoscopic and open treatments of acute appendicitis. *Surg Endosc* 2003; 17: 1023-1028 [PMID: 12728377]
- 3 Semm K. Endoscopic appendectomy. *Endoscopy* 1983; 15: 59-64 [PMID: 6221925]
- 4 Shaikh AR, Sangrasi AK, Shaikh GA. Clinical outcomes of laparoscopic versus open appendectomy. *JLS* 2009; 13: 574-580 [PMID: 20202400]
- 5 任培土, 沈志宏. 腹腔镜阑尾切除术的适应证探讨. *腹腔镜外科杂志* 2010; 15: 146-148
- 6 覃兴尤, 李智勇, 陈卫民, 丁虹. 慢性阑尾炎腹腔镜与开腹手术切除阑尾对机体免疫功能影响的比较. *中国内镜杂志* 2008; 14: 539-541
- 7 李鹏, 郭正团, 徐泉, 张宪生, 高亚, 纪宗正. 小儿腹腔镜阑尾切除术与传统阑尾切除术创伤反应的对比研究. *中华普通外科杂志* 2005; 20: 589-590
- 8 Esposito C, Borzi P, Valla JS, Mekki M, Nouri A, Becmeur F, Allal H, Settini A, Shier F, Sabin MG, Mastroianni L. Laparoscopic versus open appendectomy in children: a retrospective comparative study of 2,332 cases. *World J Surg* 2007; 31: 750-755 [PMID: 17361358 DOI: 10.1007/s00268-006-0699-8]
- 9 王宇鹏, 吴晔明. 腹腔镜治疗儿童阑尾炎的系统评价. *中华小儿外科杂志* 2008; 29: 317-320
- 10 巫文岗, 李夏鲁, 莫启章. 阑尾炎腹腔镜阑尾切除术126例的临床分析. *微创医学* 2009; 4: 68-69
- 11 Caravaggio C, Hauters P, Malvaux P, Landenne J, Janssen P. Is laparoscopic appendectomy an effective procedure? *Acta Chir Belg* 2007; 107: 368-372 [PMID: 17966527]
- 12 Visnjic S. Transumbilical laparoscopically assisted appendectomy in children: high-tech low-budget surgery. *Surg Endosc* 2008; 22: 1667-1671 [PMID: 18074182 DOI: 10.1007/s00464-007-9680-3]
- 13 骆元国. 腹腔镜阑尾切除术68例体会. *微创医学* 2012; 7: 310-311
- 14 姜万里, 孙良, 李云. 经脐单孔腹腔镜阑尾切除术的临床应用. *腹腔镜外科杂志* 2012; 17: 513-515
- 15 刘从礼. 两孔法腹腔镜阑尾切除术50例报告. *腹腔镜外科杂志* 2012; 17: 614-615
- 16 凌幸发, 曾锋. 腹腔镜阑尾切除术的临床分析(附109例报道). *中国普外基础与临床杂志* 2009; 16: 319-320
- 17 罗蓬, 张庭澍, 李利波, 曹云, 陈建民, 程化. 阑尾腹壁悬吊在腹腔镜阑尾切除术中的应用. *中国微创外科杂志* 2007; 7: 370-371

■同行评价

本文对42例急性阑尾炎患者进行了悬吊辅助法腹腔镜阑尾切除术, 该法安全、可行, 并且操作简单, 创伤小, 具有一定的临床应用价值。

编辑 李军亮 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

巨噬细胞移动抑制因子_{-173G/C}基因多态性与炎症肠疾病的Meta分析

谭诗云, 吴鹏波, 张国, 罗和生, 姚文敏

■背景资料

炎症肠疾病(inflammatory bowel disease, IBD)是常见的慢性胃肠道非特异性炎症疾病, 目前对于IBD的病因和发病机制尚未完全明了, 其发生可能与精神心理因素、感染、免疫异常、等多种因素有关。巨噬细胞移动抑制因子(migration inhibitory factor, MIF)的功能基因多态性可以通过影响其表达高低调节宿主炎症反应强弱及炎症转归结果, 最终改变其罹患IBD的风险。

谭诗云, 吴鹏波, 罗和生, 武汉大学人民医院消化内科 湖北省武汉市 430060

张国, 姚文敏, 广西壮族自治区人民医院消化内科 广西壮族自治区南宁市 530021

谭诗云, 教授, 主任医师, 博士生导师, 主要从事消化内科方面的研究。

作者贡献分布: 此课题由谭诗云与张国策划设计; 吴鹏波与姚文敏负责资料收集、分析研究; 数据分析由吴鹏波完成; 本论文写作由吴鹏波与谭诗云完成; 罗和生与张国审阅。

通讯作者: 张国, 教授, 主任医师, 530021, 广西壮族自治区南宁市桃源路6号, 广西壮族自治区人民医院消化内科。

zhangguogx@hotmail.com

电话: 0771-2186184

收稿日期: 2012-11-03 修回日期: 2012-12-20

接受日期: 2013-04-01 在线出版日期: 2013-04-28

Association between macrophage migration inhibitory factor -173G/C polymorphism and inflammatory bowel disease: A meta-analysis

Shi-Yun Tan, Peng-Bo Wu, Guo Zhang, He-Sheng Luo, Wen-Min Yao

Shi-Yun Tan, Peng-Bo Wu, He-Sheng Luo, Department of Gastroenterology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China

Guo Zhang, Wen-Min Yao, Department of Gastroenterology, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Correspondence to: Guo Zhang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. zhangguogx@hotmail.com

Received: 2012-11-03 Revised: 2012-12-20

Accepted: 2013-04-01 Published online: 2013-04-28

Abstract

AIM: To explore the association between macrophage migration inhibitory factor (MIF) -173G/C polymorphism and susceptibility to inflammatory bowel disease.

METHODS: Searches of electronic databases CBM, CNKI, PubMed and Embase were performed to retrieve published case-control stud-

ies investigating the association between MIF -173G/C polymorphism and susceptibility to ulcerative colitis (UC) or Crohn's disease (CD). The pooled odds ratios (ORs) with 95% confidence intervals (95% CIs) were performed using fixed-effect or random-effect methods based on the absence or presence of significant heterogeneity. Publication bias was assessed. All statistical analyses were conducted with STATA10.0 software.

RESULTS: Increased risk of UC was associated with MIF -173G/C polymorphism in the dominant genetic model (GG/C + C/C vs G/G: OR = 1.15, 95% CI: 1.00, 1.32), the homozygote comparison (C/C vs G/G: OR = 1.54, 95% CI: 1.08, 2.19) and recessive model (C/C vs G/C + G/G: OR = 1.52, 95% CI: 1.07, 2.17). However, no association was found between MIF -173G/C polymorphism and susceptibility to CD.

CONCLUSION: Our meta-analysis strongly suggests that MIF -173G/C polymorphism is associated with susceptibility to UC. However, current studies do not support a direct relationship between MIF -173G/C polymorphism and susceptibility to CD.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Macrophage migration inhibitory factor; 173G/C; Polymorphism; Inflammatory bowel disease; Meta-analysis

Tan SY, Wu PB, Zhang G, Luo HS, Yao WM. Association between macrophage migration inhibitory factor -173G/C polymorphism and inflammatory bowel disease: A meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(12): 1140-1145 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1140.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1140>

摘要

目的: 探讨巨噬细胞移动抑制因子(macrophage migration inhibitory factor, MIF)_{-173G/C}基因多态性与炎症肠疾病(inflammatory bowel disease, IBD)易感性的关系。

■同行评议者

万军, 教授, 中国人民解放军总医院南楼老年消化科

方法: 计算机检索CBM、CNKI、PubMed和EMbase数据库, 收集关于MIF_173G/C基因多态性与溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)或克罗恩病(Crohn's disease, CD)的易感性病例-对照研究, 以IBD组与对照组人群基因型分布的比值比(odds ratio, *OR*)及95%CI可信区间(confidence interval, 95%CI)其为效应指标, 采用固定或随机效应模型进行合并分析, 并进行偏倚评估. 应用STATA10.0软件进行统计学处.

结果: 纯合子比较模型, 显性遗传模型, 隐性遗传模型Meta分析表明MIF_173G/C基因多态性与UC易感性有统计学意义(*C/C* vs *G/G*: *OR* = 1.54, 95%CI: 1.08, 2.19; 显性遗传模型: *OR* = 1.15, 95%CI: 1.00, 1.32; 隐性遗传模型: *OR* = 1.52, 95%CI: 1.07, 2.17); 各遗传模型Meta分析结果显示: MIF_173G/C基因多态性与CD的易感性无统计学意义.

结论: 基于目前研究结果显示, MIF_173G/C可能是UC的易感性基因, 但与CD无明显相关性. 受纳入研究质量和数量限制, 上述结论尚待开展更多高质量的前瞻性研究进一步验证.

© 2013年版权归Baishideng所有.

核心提示: 目前关于巨噬细胞移动抑制因子_173G/C基因多态性与炎症肠疾病关联性结论不一, 本文通过Meta分析显示: MIF_173G/C可能是UC的易感性基因, 但与CD无明显相关性.

关键词: 巨噬细胞移动抑制因子; 173G/C; 基因多态性; 炎症肠疾病; Meta分析

谭诗云, 吴鹏波, 张 国, 罗和生, 姚文敏. 巨噬细胞移动抑制因子_173G/C基因多态性与炎症肠疾病的Meta分析. 世界华人消化杂志 2013; 21(12): 1140-1145 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1140.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i12.1140>

0 引言

炎症肠疾病(inflammatory bowel disease, IBD)是一类肠道非特异性慢性炎症疾病, 包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD). 据报道, UC世界每年发生率为1.85/100 000, CD发生率为0.70/100 000^[1]. 然而, IBD的发病机制尚不清楚, 但一致认为其发病与环境、遗传、微生物、免疫等因素有关. IBD的家族聚集现象和发病的种族差异性提示遗传因素在IBD的发生发展过程中起着不容忽视的作用. 近年来, 已有大量有关单核苷酸多态性和

IBD发生风险之间关系的研究也证实这一观点^[2-4].

巨噬细胞移动抑制因子(macrophage migration inhibitory factor, MIF)是巨噬细胞自分泌的一种重促炎因子, 它能够抑制巨噬细胞的游走, 促使巨噬细胞在炎症部位浸润、聚集, 在细胞介导的免疫反应中发挥重要作用^[5]. 基于MIF与免疫及炎症密切相关, 并可能成为治疗炎症疾病的潜在靶点, 国内外学者对MIF基因多态性与IBD易感性的关系进行了大量的研究. MIF编码基因位于人类染色体22q11.2, 目前已发现他在-173G/C、+254T/C、+656C/G处存在多态位点, 其中以MIF-173G/C多态性与IBD的关系最为紧密. 目前, 单个研究样本量小和地区差异, 导致各研究结论不一. 为解决这些分歧, 我们对已发表的相关研究进行Meta分析, 以明确MIF-173G/C多态性与IBD风险的相关性.

1 材料和方法

1.1 材料: 计算机检索EMbase、PubMed、CBM和CNKI, 检索时间均为1990/2012-10. 英文检索式: “Inflammatory bowel disease OR ulcerative colitis OR Crohn's disease OR IBD” AND “mutation OR variant OR polymorphism” AND “MIF OR macrophage migration inhibitory”; 中文检索式: “巨噬细胞移动抑制因子或MIF”和“基因多态性或突变”和“克罗恩病、UC或炎症性肠病”. 所有研究的研究对象限人类, 文种限中、英文, 同时追溯所获文献的参考文献以及手工检索相关杂志.

1.2 方法

1.2.1 纳入标准: (1)涉及MIF_173G/C多态性与CD或者UC相关性的文献; (2)公开发表的病例对照研究或巢式病例对照研究; (3)全文发表; (4)文献中数据完整, 能直接或间接提供统计指标比值比(odds ratio, *OR*)及95%CI可信区间(confidence interval, 95%CI); (5)病例均为经确诊CD或者UC患者, 其诊断符合符合文诊断标准, 或者临床表现、影像学、病理检查以及内镜联合诊断^[6,7].

1.2.2 排除标准: (1)研究未设立对照组; (2)具体数据描述不清; (3)重复报道; (4)克罗恩病或者UC相关的综述以及动物实验.

1.2.3 资料提取: 由2位评价者独立根据纳入标准, 对文献进行筛选, 通过讨论达成一致. 两位评阅人独立完成对原始文献记录数据的收集. 对检出的文献提取以下一般信息: 第一作者姓

■ 相关报道

我国学者张启芳报道MIF参与溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的发病机制, 可能是UC活动的指标, 控制MIF的产生可能有治疗的作用.

■创新盘点

近年来,有大量关于MIF_173G/C基因多态性与IBD患者易感性的关系的研究,但结论不一致,所以本文就此进行研究,分析MIF_173G/C基因多态性与IBD易感性的关系。

表 1 纳入研究的一般情况以及基因型分布

作者	地区	病种	发表年份	病例组			对照组			NOS评分	P_{H-W}
				TT	TC	CC	TT	TC	CC		
Nohara等 ^[19]	Japan	UC	2004	10	76	135	14	96	202	8	0.55
Oliver等 ^[20]	Italy	UC	2007	22	171	441	18	188	681	5	0.24
Griga等 ^[16]	Germany	UC	2007	2	28	72	15	156	318	8	0.43
Fei等 ^[15]	China	UC	2008	13	27	44	8	55	79	8	0.70
Shiroeda等 ^[14]	Japan	UC	2010	5	37	69	7	76	126	8	0.27
Przybyłowska等 ^[13]	Spain	UC	2011	1	19	38	1	23	99	6	0.79
Sivaram等 ^[12]	India	UC	2011	12	30	97	9	39	128	7	0.02
Oliver等 ^[20]	Italy	CD	2007	23	172	466	18	188	681	5	0.24
Dambacher等 ^[17]	Germany	CD	2007	7	45	146	6	45	108	7	0.63
Núñez等 ^[18]	Spain	CD	2007	10	149	372	18	188	681	6	0.24
Griga等 ^[16]	Germany	CD	2007	2	39	116	15	156	318	8	0.43
Fei等 ^[15]	China	CD	2008	2	5	8	8	55	79	8	0.70
Przybyłowska等 ^[13]	Spain	CD	2011	1	12	28	1	23	99	6	0.79

P_{H-W} : H-W平衡 P 值; UC: 溃疡性结肠炎; CD: 克罗恩病。

名、出版年份、国家、病例组对照组基因型分布及其频率、对照组是否符合H-W平衡($P<0.05$ 认为不符合H-W平衡)。

1.2.4 质量评价: 采用NOS(newcastle-ottawa scale)标准^[8]评价纳入各个研究的质量。该评分系统采取星级对3部分进行评价: (1)病例组和对照组研究对象选择; (2)病例组和对照组研究对象的可比性; (3)危险因素的暴露情况。得分 ≥ 7 的研究为高质量。

统计学处理 合并效应量选用OR及其95%CI。OR值的计算分别根据纯合子比较模型C/C vs G/G、杂合子比较模型G/C vs G/G、显性遗传模型(GC+CC vs GG)和隐性遗传模型(CC vs GC+GG)。对纳入研究进行异质性检验,各研究结果间无异质性采用固定效应模型进行合并分析,否则采用随机效应模型进行合并分析。各研究结果间的异质性检验采用Q检验和 I^2 统计量, $P<0.1$ 提示各研究间存在异质性, I^2 用来衡量异质性大小程度^[9]。敏感性分析为依次排除单个文献后重新进行Meta分析,通过相关图片评估其对综合效应量的影响。发表偏倚通过Egger回归法^[10]、Begg秩相关法^[11]进行量化检测, $P<0.05$ 认为存在发表偏倚。上述分析以及H-W平衡均运用Stata11.0软件完成分析。

2 结果

2.1 文献检索结果 根据检索策略,初检出41篇文献,其中中文4篇,英文37篇。通过初步阅读文

和摘要,排除26篇不符合纳入标准的文献经初步筛查。进一步阅读全文,1篇中文文献重复报道,5篇文献涉及动物研究。最终纳入9篇文献^[12-20],且Oliver等^[20]一项研究中涉及到二组研究。在纳入的9篇文献中分别有6、7篇文献涉及到MIF-173G/C多态性与CD、UC易感性研究。9篇文献中Sivaram^[12]对照组不遵守H-W平衡,考虑做敏感性分析,该项研究不予以剔除。纳入的研究时间分布2004-2011年,研究人群主要分布亚洲、欧洲。各个纳入研究的基本特征见表1。

2.2 Meta分析结果 Meta分析的结果如表1所示,NOS评分结果显示平均得分为7(5-8分),提示纳入的研究质量较好。MIF_173G/C基因多态性与UC易感性关系Meta分析结果除杂合子比较模型外其他模型均有统计学意义(杂合子比较模型: $OR = 1.22$, 95%CI: 0.82, 1.82; 纯合子比较模型: $OR = 1.54$, 95%CI: 1.08, 2.19; 显性遗传模型: $OR = 1.15$, 95%CI: 1.00, 1.32; 隐性遗传模型: $OR = 1.52$, 95%CI: 1.07, 2.17); MIF_173G/C基因多态性与CD易感性关系Meta分析结果显示个遗传模型均无统计学意义(杂合子比较模型: $OR = 1.15$, 95%CI: 0.99, 1.32; 纯合子比较模型: $OR = 1.22$, 95%CI: 0.82, 1.82; 显性遗传模型: $OR = 1.09$, 95%CI: 0.88, 1.36; 隐性遗传模型: $OR = 1.19$, 95%CI: 0.80, 1.77; 表2)

2.3 发表偏倚分析 如表2所示,在CD和UC病例组,不论何种遗传模型比较Egger回归法、Begg秩相关法检验发表偏倚显示均 $P>0.05$,提示无发

表 2 巨噬细胞移动抑制因子_173G/C基因多态性与炎症肠疾病的Meta分析

病种	基因模型	关联性检验			异质性检验		发表偏倚检验	
		OR(95%CI)	Z值	P值	I ² %	P _{het}	P _{Begg's}	P _{Egger's}
溃疡性结肠炎	CC vs GG	1.54 [1.08, 2.19]	2.73	0.02	0	0.70	0.76	0.59
	GC vs GG	1.13 [1.07, 1.31]	1.59	0.04	0	0.45	1.00	0.41
	GC+CC vs GG	1.15 [1.00, 1.32]	1.99	0.04	0	0.46	1.00	0.52
	CC vs GC+GG	1.52 [1.07, 2.17]	2.34	0.02	0	0.66	0.76	0.66
克罗恩病	CC vs GG	1.22 [0.82, 1.82]	0.96	0.34	9.6	0.36	1.00	0.75
	GC vs GG	1.15 [0.99, 1.32]	1.87	0.06	44.3	0.11	0.71	0.45
	GC+CC vs GG	1.09 [0.88, 1.36]	0.80	0.42	48.2	0.09	0.71	0.62
	CC vs GC+GG	1.19 [0.80, 1.77]	0.84	0.40	0	0.43	1.00	0.85

P_{het}: Meta分析纳入研究的异质性检验P值; P_{Begg's}: 论文发表偏倚Begg秩相关法P值; P_{Egger's}: 论文发表偏倚Egger回归法P值。

表偏倚存在(表2)。

2.4 敏感性分析 依次单独剔除1篇文献后, 在UC病例组, 纯合子比较模型分析时剔除研究^[12-14,16,19], 杂合子比较模型分析时剔除研究^[14-16], 显性遗传模型分析剔除研究^[12,13,15,19,20], 隐性遗传剔除研究^[12-15,20]时总效应量出现改变。在CD病例组, 杂合子比较模型分析时剔除研究^[15-17], 显性遗传模型分析剔除研究^[16,17]时总效应量出现改变。

3 讨论

MIF蛋白是一种相对分子质量为12.5 kDa非糖基化蛋白, 他由114个氨基酸残基组成的。他参与免疫、炎症、机体感染等众多的生理功能的调节^[21-23], 在各种炎症疾病中的促炎作用得到得到广泛的重视^[24,25]。其促炎作用可能机制是MIF可以拮抗机体内糖皮质激素诱导的I-κB产生, 减弱核因子(Nuclear factor κB, NF-κB)和I-κB复合物对靶基因NF-B转录活性的抑制作用, 最终使炎症细胞因子基因表达的重要调节因子NF-κB表达增加^[26,27]。

众所周知, IBD的发病是由于肠道黏膜内环境紊乱导致促进和抑制炎症反应二者失衡造成的。鉴于MIF在机体炎症过程中的扮演着重要角色, MI在IBD的发生和发展的作用得到前所未有的重视。Ohkawara等^[28]学者发现在正常大鼠结肠的上皮细胞有微量的MIF的表达, 且硫酸葡聚糖钠诱导的结肠炎中MIF表达量明显增加。Murakami^[29]发现UC患者血清中的MIF水平明显高于正常对照组, 且与病情活动性有关, 而克隆病患者血清MIF水平与正常对照组没有明显差异。我国学者张启芳^[30]发现UC患者体内MIF较克罗

恩患者明显上升。

MIF-173G/C多态性可通过影响机体内MIF水平的高低影响疾病的易感性^[31,32], 本文结果分析显示MIF-173G/C多态性与UC发病风险明显相关, 但与CD发病风险无明显相关。造成这种差异可能与二种疾病发病机制不同有关。本研究虽然设计了科学研究方案, 本次分析仍存在一定的局限性, 其原因如下: (1)本Meta分析只检索了国内外几个代表性数据库, 检索语言仅为中文和英文, 且只限于公开发表的文献, 影响了纳入研究的全面性; (2)纳入研究的人群分布限于亚洲、欧洲, 未根据遗传背景做亚组分析; (3)饮食和社会环境是影响肠道疾病的易感性的重要因素, 本文纳入病例-健康对照组的研究往往忽略上述因素。

Meta分析能够将研究目的相同的多个病例一对照研究结果进行定量合并分析和综合评价, 以提高统计检验功效, 解决研究结果不一致的问题, 他克服了单个研究样本量小、地区局限的不足^[33]。敏感性分析是Meta分析结果质量衡量的一个重要手段^[34], 常见的影响Meta分析结果稳定性的原因是各个纳入研究的样本量大小不一, 大样本研究对Meta分析结果影响较大, 小样本研究对Meta分析影响较小。在这种情况下进行Meta分析其结果很容易向大样本研究结论偏倚。本文通过敏感性分析发现多数基因模型Meta分析结果不稳定。因而, 对于其结果我们应当甚至慎重对待。

基于上述研究结果, MIF_173G/C可能是UC的易感性基因, 但与CD无明显相关性。然而, 受研究数量所限, 仍需开展更多高质量、大样

■应用要点

相同的基因位点, 不同的研究结论可能与样本量大小、环境因素及种族遗传变异有关。本文将MIF_173G/C位点与IBD的功能基因多态性文章进行荟萃分析, 为以后科研和临床研究提供一定的思路。

同行评价

本文选题较为新颖, 纳入的文献质量较高, 统计学方法选择正确, 讨论合理, 结论客观, 具有一定的代表性和临床应用价值。

本、包括不同种族群体的针对MIF_173G/C多态性和CD易感性之间关系的研究以进一步验证173G/C多态性与CD易感性的关系。

参考文献

- Edwards CN, Griffith SG, Hennis AJ, Hambleton IR. Inflammatory bowel disease: incidence, prevalence, and disease characteristics in Barbados, West Indies. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 1419-1424 [PMID: 18484668 DOI: 10.1002/ibd.20495]
- Wang Z, Hu J, Fan R, Zhou J, Zhong J. Association between CD14 gene C-260T polymorphism and inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *PLoS One* 2012; 7: e45144 [PMID: 23049772 DOI: 10.1371/journal.pone.0045144]
- Zhang ZF, Yang N, Zhao G, Zhu L, Wang LX. Association between the Pro12Ala polymorphism of peroxisome proliferator-activated receptor gamma 2 and inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *PLoS One* 2012; 7: e30551 [PMID: 22276212 DOI: 10.1371/journal.pone.0030551]
- Latiano A, Palmieri O, Latiano T, Corritore G, Bossa F, Martino G, Biscaglia G, Scimeca D, Valvano MR, Pastore M, Marseglia A, D'Incà R, Andriulli A, Annese V. Investigation of multiple susceptibility loci for inflammatory bowel disease in an Italian cohort of patients. *PLoS One* 2011; 6: e22688 [PMID: 21818367 DOI: 10.1371/journal.pone.0022688]
- Metz CN, Bucala R. Role of macrophage migration inhibitory factor in the regulation of the immune response. *Adv Immunol* 1997; 66: 197-223 [PMID: 9328642 DOI: 10.1016/S0065-2776(08)60598-2]
- Podolsky DK. Inflammatory bowel disease (2). *N Engl J Med* 1991; 325: 1008-1016 [PMID: 1886623 DOI: 10.1056/NEJM199110033251406]
- Lennard-Jones JE. Classification of inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1989; 170: 2-6; discussion 16-19 [PMID: 2617184 DOI: 10.3109/00365528909091339]
- Stang A. Critical evaluation of the Newcastle-Ottawa scale for the assessment of the quality of nonrandomized studies in meta-analyses. *Eur J Epidemiol* 2010; 25: 603-605 [PMID: 20652370 DOI: 10.1007/s10654-010-9491-z]
- Higgins JP, Thompson SG, Deeks JJ, Altman DG. Measuring inconsistency in meta-analyses. *BMJ* 2003; 327: 557-560 [PMID: 12958120 DOI: 10.1136/bmj.327.7414.557]
- Begg CB, Mazumdar M. Operating characteristics of a rank correlation test for publication bias. *Biometrics* 1994; 50: 1088-1101 [PMID: 7786990 DOI: 10.2307/2533446]
- Egger M, Davey Smith G, Schneider M, Minder C. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *BMJ* 1997; 315: 629-634 [PMID: 9310563 DOI: 10.1136/bmj.315.7109.629]
- Sivaram G, Tiwari SK, Bardia A, Anjum F, Vishnu-priya S, Habeeb A, Khan AA. Macrophage migration inhibitory factor, Toll-like receptor 4, and CD14 polymorphisms with altered expression levels in patients with ulcerative colitis. *Hum Immunol* 2012; 73: 201-205 [PMID: 22192785 DOI: 10.1016/j.humimm.2011.12.006]
- Przybyłowska K, Mrowicki J, Sygut A, Narbutt P, Dzikowski Ł, Dzikowski A, Majsterek I. Contribution of the -173 G/C polymorphism of macrophage migration inhibitory factor gene to the risk of inflammatory bowel diseases. *Pol Przegl Chir* 2011; 83: 76-80 [PMID: 22166284 DOI: 10.2478/v10035-011-0012-x]
- Shiroeda H, Tahara T, Nakamura M, Shibata T, Nomura T, Yamada H, Hayashi R, Saito T, Yamada M, Fukuyama T, Otsuka T, Yano H, Ozaki K, Tsuchishima M, Tsutsumi M, Arisawa T. Association between functional promoter polymorphisms of macrophage migration inhibitory factor (MIF) gene and ulcerative colitis in Japan. *Cytokine* 2010; 51: 173-177 [PMID: 20621719 DOI: 10.1016/j.cyto.2010.05.003]
- Fei BY, Lv HX, Yang JM, Ye ZY. Association of MIF-173 gene polymorphism with inflammatory bowel disease in Chinese Han population. *Cytokine* 2008; 41: 44-47 [PMID: 18054247 DOI: 10.1016/j.cyto.2007.10.010]
- Griga T, Wilkens C, Wirkus N, Epplen J, Schmiegel W, Klein W. A polymorphism in the macrophage migration inhibitory factor gene is involved in the genetic predisposition of Crohn's disease and associated with cumulative steroid doses. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 784-786 [PMID: 17591062]
- Dambacher J, Staudinger T, Seiderer J, Sisic Z, Schnitzler F, Pfennig S, Hofbauer K, Konrad A, Tilkack C, Otte JM, Diebold J, Göke B, Ochsenkühn T, Lohse P, Brand S. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) -173G/C promoter polymorphism influences upper gastrointestinal tract involvement and disease activity in patients with Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 71-82 [PMID: 17206642 DOI: 10.1002/ibd.20008]
- Núñez C, Rueda B, Martínez A, López-Nevot MA, Fernández-Arquero M, de la Concha EG, Martín J, Urcelay E. Involvement of macrophage migration inhibitory factor gene in celiac disease susceptibility. *Genes Immun* 2007; 8: 168-170 [PMID: 17215861 DOI: 10.1038/sj.gene.6364365]
- Nohara H, Okayama N, Inoue N, Koike Y, Fujimura K, Suehiro Y, Hamanaka Y, Higaki S, Yanai H, Yoshida T, Hibi T, Okita K, Hinoda Y. Association of the -173 G/C polymorphism of the macrophage migration inhibitory factor gene with ulcerative colitis. *J Gastroenterol* 2004; 39: 242-246 [PMID: 15065001 DOI: 10.1007/s00535-003-1284-7]
- Oliver J, Márquez A, Gómez-García M, Martínez A, Mendoza JL, Vilchez JR, López-Nevot MA, Piñero A, de la Concha EG, Nieto A, Urcelay E, Martín J. Association of the macrophage migration inhibitory factor gene polymorphisms with inflammatory bowel disease. *Gut* 2007; 56: 150-151 [PMID: 17172590 DOI: 10.1136/gut.2006.107649]
- Rosado Jde D, Rodriguez-Sosa M. Macrophage migration inhibitory factor (MIF): a key player in protozoan infections. *Int J Biol Sci* 2011; 7: 1239-1256 [PMID: 22110378 DOI: 10.7150/ijbs.7.1239]
- Grieb G, Merk M, Bernhagen J, Bucala R. Macrophage migration inhibitory factor (MIF): a promising biomarker. *Drug News Perspect* 2010; 23: 257-264 [PMID: 20520854 DOI: 10.1358/dnp.2010.23.4.1453629]
- Bach JP, Rinn B, Meyer B, Dodel R, Bacher M. Role of MIF in inflammation and tumorigenesis. *Oncology* 2008; 75: 127-133 [PMID: 18791328 DOI: 10.1159/000155223]
- Wong BL, Zhu SL, Huang XR, Ma J, Xia HH, Bucala R, Wong BC, Lan HY. Essential role for macrophage

- migration inhibitory factor in gastritis induced by *Helicobacter pylori*. *Am J Pathol* 2009; 174: 1319-1328 [PMID: 19286569 DOI: 10.2353/ajpath.2009.080708]
- 25 Makhija R, Kingsnorth A, Demaine A. Gene polymorphisms of the macrophage migration inhibitory factor and acute pancreatitis. *JOP* 2007; 8: 289-295 [PMID: 17495357]
- 26 Denking CM, Metz C, Fingerle-Rowson G, Denking MD, Forsthuber T. Macrophage migration inhibitory factor and its role in autoimmune diseases. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2004; 52: 389-400 [PMID: 15577740]
- 27 Daun JM, Cannon JG. Macrophage migration inhibitory factor antagonizes hydrocortisone-induced increases in cytosolic IkappaBalpha. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000; 279: R1043-R1049 [PMID: 10956264]
- 28 Ohkawara T, Takeda H, Nishihira J, Miyashita K, Nihiwaki M, Ishiguro Y, Takeda K, Akira S, Iwanaga T, Sugiyama T, Asaka M. Macrophage migration inhibitory factor contributes to the development of acute dextran sulphate sodium-induced colitis in Toll-like receptor 4 knockout mice. *Clin Exp Immunol* 2005; 141: 412-421 [PMID: 16045730]
- 29 Murakami H, Akbar SM, Matsui H, Onji M. Macrophage migration inhibitory factor in the sera and at the colonic mucosa in patients with ulcerative colitis: clinical implications and pathogenic significance. *Eur J Clin Invest* 2001; 31: 337-343 [PMID: 11298781]
- 30 张启芳, 邱小芬, 张翠萍, 杨建彬, 陈卓琳. 巨噬细胞移动抑制因子在炎症性肠病发病中的作用. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 1645-1648
- 31 Akyildiz M, Gunsar F, Nart D, Sahin O, Yilmaz F, Akay S, Ersoz G, Karasu Z, Ilter T, Batur Y, Berdeli A, Akarca U. Macrophage migration inhibitory factor expression and MIF gene -173 G/C polymorphism in nonalcoholic fatty liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2010; 22: 192-198 [PMID: 19829123]
- 31 Herder C, Klopp N, Baumert J, Müller M, Khuseynova N, Meisinger C, Martin S, Illig T, Koenig W, Thorand B. Effect of macrophage migration inhibitory factor (MIF) gene variants and MIF serum concentrations on the risk of type 2 diabetes: results from the MONICA/KORA Augsburg Case-Cohort Study, 1984-2002. *Diabetologia* 2008; 51: 276-284 [PMID: 17712545]
- 33 Copas J, Shi JQ. Meta-analysis, funnel plots and sensitivity analysis. *Biostatistics* 2000; 1: 247-262 [PMID: 12933507]
- 34 Chootrakool H, Shi JQ, Yue R. Meta-analysis and sensitivity analysis for multi-arm trials with selection bias. *Stat Med* 2011; 30: 1183-1198 [PMID: 21538449]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》
(2011年版)

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

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被引量、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)

新诊断2型糖尿病患者外周单核细胞ROCK活性与胰岛素抵抗以及胰岛β细胞功能的关系

吴斌, 高倩, 楚晓婧, 张玫, 黄亨建, 李贵星, 王兰兰

■背景资料

Rho相关激酶常用于预测心血管疾病, 包括动脉粥样硬化和心肌缺血再灌注损伤。现在的观点认为心血管疾病患者若合并糖尿病, 心血管事件的发生率显著性上升。

吴斌, 四川大学华西医院实验医学科 四川省成都市 610041
高倩, 卫生部临床检验中心, 北京协和医学院研究生院 北京市 100730

楚晓婧, 华中科技大学同济医学院附属同济医院内分泌科 湖北省武汉市 430030

张玫, 黄亨建, 李贵星, 王兰兰, 四川大学华西医院实验医学科 四川省成都市 610041

吴斌, 主要从事消化系和糖尿病并发症的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81101326

四川省科技支撑计划基金资助项目, No. 2010SZ0252

作者贡献分布: 吴斌与高倩对此文所作贡献均等; 此课题由吴斌设计; 病例收集由楚晓婧与张玫共同完成; 研究所用新试剂与分析工具由李贵星提供; 数据分析由吴斌、高倩及王兰兰完成; 本论文写作由吴斌完成。

通讯作者: 王兰兰, 教授, 主任检验师, 博士生导师, 610041, 四川省成都市外南国学巷37号, 四川大学华西医院实验医学科。wchcbc@yahoo.com.cn

电话: 028-85422615 传真: 028-85423496

收稿日期: 2013-02-20 修回日期: 2013-03-18

接受日期: 2013-04-13 在线出版日期: 2013-04-28

Correlation of insulin resistance, pancreatic β-cell function and insulin sensitivity with increased Rho-associated kinase activity in PBMCs in patients with newly diagnosed type 2 diabetes

Bin Wu, Qian Gao, Xiao-Jing Chu, Mei Zhang,
Heng-Jian Huang, Gui-Xing Li, Lan-Lan Wang

Bin Wu, Department of Laboratory Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Qian Gao, National Center for Clinical Laboratories, Chinese Academy of Medical Science and Peking Union Medical College, Beijing 100730, China

Xiao-Jing Chu, Department of Endocrinology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Mei Zhang, Heng-Jian Huang, Gui-Xing Li, Lan-Lan Wang, Department of Laboratory Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Supported by: National Nature Science Foundation of China, No. 81101326; the Sichuan Provincial Scientific Plan Foundation, No. 2010SZ0252

Correspondence to: Lan-Lan Wang, Professor, Chief Technician, Department of Laboratory Medicine, West China Hospital, Sichuan University, 37 Wainan Guoxuexiang, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. wchcbc@yahoo.com.cn

Received: 2013-02-20 Revised: 2013-03-18

Accepted: 2013-04-13 Published online: 2013-04-28

Abstract

AIM: To observe the correlation of peripheral mononuclear cells' Rho-associated kinase activity in peripheral mononuclear cells with HOMA-IR, HOMA-%S and HOMA-%B in patients with newly diagnosed type 2 diabetes (T2D) and healthy subjects.

METHODS: For this study, 33 patients with T2D and 33 healthy participants were enrolled and evaluated for clinical and metabolic parameters. Biochemical quantifications and fasting plasma insulin measurement were performed with ROCHE DDP and E601 auto-analyzers, respectively. Rho-associated kinase activity was evaluated in peripheral mononuclear cells by Western blot and defined as the ratio of phosphor myosin-binding subunit on myosin light chain phosphatase to total myosin-binding subunit. HOMA-IR, HOMA-%S and HOMA-%B were calculated with a HOMA2 calculator.

RESULTS: The levels of total cholesterol, LDL-cholesterol, triglycerides and fasting glucose were significantly raised (5.4 ± 0.8 vs 4.1 ± 0.6 , 3.7 ± 0.8 vs 2.8 ± 0.6 , 1.7 ± 0.3 vs 1.1 ± 0.2 , 8.1 ± 0.9 vs 5.4 ± 0.4 , all $P < 0.001$) and HDL-cholesterol significantly decreased (0.7 ± 0.1 vs 1.2 ± 0.1 , $P < 0.001$) in T2D subjects compared with healthy subjects. HOMR-IR significantly increased (4.3 ± 1.5 vs 2.4 ± 1.1 , $P < 0.001$) and HOMA-%B and HOMA-%S significantly declined (95.5 ± 21.4 vs 118.2 ± 16.9 , 40.2 ± 11.9 vs 65.9 ± 7.7 , both $P < 0.001$) in T2D subjects compared with healthy subjects. ROCK activity was more markedly raised in T2D subjects than in healthy subjects (0.63 ± 0.15 vs 0.40 ± 0.12 , $P < 0.05$). The expression of total MBS, ROCK1 and ROCK2 did not differ significantly between the two groups. In diabetic subjects, ROCK activity was positively correlated with HOMA-IR and negatively with HOMA-%B.

CONCLUSION: Our findings suggest that pan-

■同行评议者

于颀, 主任医师, 天津医科大学代
谢病医院; 傅志
仁, 主任医师, 上海长征医院器官
移植科

creatic β-cell dysfunction and the development of type 2 diabetes are associated with ROCK activity in peripheral mononuclear cells.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Rho-associated kinase; Diabetes; Insulin resistance; Correlation

Wu B, Gao Q, Chu XJ, Zhang M, Huang HJ, Li GX, Wang LL. Correlation of insulin resistance, pancreatic β-cell function and insulin sensitivity with increased Rho-associated kinase activity in PBMCs in patients with newly diagnosed type 2 diabetes. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(12): 1146-1151 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1146.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1146>

摘要

目的: 探讨外周单核细胞Rho相关激酶(Rho-associated kinases, ROCKs)与胰岛素抵抗、胰岛β细胞功能的关系。

方法: 研究对象来自于2010-10/2010-12被明确诊断为糖尿病的门诊与体检患者, 受试者均为采用空腹血糖检查和高效液相法测定糖化血红蛋白水平。应用Western blot检测新诊断2型糖尿病患者外周单核细胞磷酸化肌球蛋白亚基(phosphor-myosin-binding subunit, p-MBS)与总肌球蛋白亚基(total myosin-binding subunit, t-MBS)蛋白水平, 并借由两者的比率反映ROCK活性, 分析其与稳态胰岛素评价指数(HOMA-IR)、胰岛素分泌功能指数(HOMA-%B)和胰岛素敏感指数(HOMA-%S)间相关关系。

结果: 与健康对照组相比, 糖尿病组总胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、甘油三酯和空腹血糖水平显著升高(5.4 ± 0.8 vs 4.1 ± 0.6 , 3.7 ± 0.8 vs 2.8 ± 0.6 , 1.7 ± 0.3 vs 1.1 ± 0.2 , 8.1 ± 0.9 vs 5.4 ± 0.4 , $P < 0.001$), 高密度脂蛋白胆固醇水平则显著降低(0.7 ± 0.1 vs 1.2 ± 0.1 , $P < 0.001$); 与健康对照组相比, 糖尿病组HOMA-IR显著增高(4.3 ± 1.5 vs 2.4 ± 1.1 , $P < 0.001$), 而HOMA-%B与HOMA-%S则显著降低(95.5 ± 21.4 vs 118.2 ± 16.9 , 40.2 ± 11.9 vs 65.9 ± 7.7 , $P < 0.001$); 糖尿病组与健康组相比ROCK活性显著升高(0.63 ± 0.15 vs 0.40 ± 0.12 , $P < 0.05$); total-MBS、ROCK1和ROCK2表达水平两者间无显著性差异; 在糖尿病患者中, ROCK活性与HOMA-IR呈正相关、与HOMA-%B/HOMA-%S则呈负相关。

结论: 2型糖尿病的胰岛β-细胞功能障碍与

Rho相关激酶活性密切相关。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: Rho相关激酶; 糖尿病; 胰岛素抵抗; 相关性

核心提示: 本研究结果提示在糖尿病患者中, Rho相关激酶与HOMA-IR呈正相关、与HOMA-%B/HOMA-%S则呈负相关。我们认为2型糖尿病的胰岛β-细胞功能障碍与Rho相关激酶活性密切相关。

吴斌, 高倩, 楚晓婧, 张玫, 黄亨建, 李贵星, 王兰兰. 新诊断2型糖尿病患者外周单核细胞ROCK活性与胰岛素抵抗以及胰岛β细胞功能的关系. *世界华人消化杂志* 2013; 21(12): 1146-1151 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1146.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1146>

0 引言

Rho相关激酶(Rho-associated kinases, ROCKs)属于丝氨酸/苏氨酸激酶家族, 是小GTP酶RhoA下游反应信号蛋白^[1]. ROCKs在肌动蛋白细胞骨架的组织起着重要的作用, 涉及范围广泛的基本细胞功能, 如收缩, 黏附, 迁移, 增殖和基因表达^[2]. Rho相关激酶有两个亚型, ROCK1和ROCK2, 一般认为两个亚型为功能上基本一致, 依据是两者具有类似的酶激动剂、高度同源结构域^[3]. Liao等^[4]证实化学抑制剂Y27632(法舒地尔, fasudil)能够有效的抑制ROCK1和ROCK2. Rho相关激酶常用于预测心血管疾病, 包括动脉粥样硬化和心肌缺血再灌注损伤. 现在的观点认为心血管疾病患者若合并糖尿病, 心血管事件的发生率显著性上升. 在糖尿病动物模型中ROCKs参与了糖尿病所致的心脏损伤^[5], 然而我们现在不确定ROCKs活性变化是否在糖尿病发生早期出现显著变化, 是否与胰岛素抵抗, 胰岛β-细胞功能和胰岛素敏感性相关. 因此, 我们的目的是观察初诊2型糖尿病的患者和正常健康志愿者外周单核细胞ROCKs活性同HOMA-IR, HOMA-%S与HOMA-%B等相关性, 以此为ROCKs激酶在2型糖尿病患者糖尿病初诊后的治疗和病理生理变化提供初步的研究结果。

1 材料和方法

1.1 材料 2型糖尿病患者33例, 依照世界卫生组织1999年诊断标准在四川大学华西医院内分泌代谢科和华中科技大学同济医学院附属同济医院内分泌科确诊, 其中男17例, 女16例, 平均年龄 51.9 ± 4.8 岁, 体质量指数 $24.1 \text{ kg/m}^2 \pm$

■ 研发前沿

ROCKs活性的增加可能抑制胰岛β细胞功能和/或导致肝脏、骨骼肌、脂肪组织、血管和心脏等对胰岛素的作用产生抵抗. 然而, Rho相关激酶在糖尿病临床诊断、治疗方面的研究较少, 是否可以作为诊断生物标志物或观察治疗效果的靶点尚不确定。

■相关报道

Soga等的研究提示不断累积心血管疾病的风险可能会增加ROCK活性、引起内皮功能障碍,导致严重的心血管疾病进展和转归。哈佛大学学者发现Rho相关激酶活性的变化可以用来判断动脉粥样硬化患者服用锐伐他汀和阿托伐他汀的治疗效果;日本的研究小组则将Rho相关激酶作为诊断血管痉挛性心绞痛的实用型生物标志物。

表 1 研究对象一般资料

变量	健康人群	2型糖尿病患者	P值
年龄(岁)	52.9±4.6	51.9±4.8	>0.05
质量指数(kg/m ²)	23.8±3.3	24.1±4.2	>0.05
腰围(cm)	81.2±8.1	82.3±8.7	>0.05
腰臀比	0.88±0.07	0.88±0.08	>0.05
收缩压(mmHg)	125±15	130±12	<0.001
舒张压(mmHg)	79±5	83±7	<0.001
糖化血红蛋白(%)	5.5±0.3	7.3±0.5	<0.001
总胆固醇(mmol/L)	4.1±0.6	5.4±0.8	<0.001
低密度脂蛋白-胆固醇(mmol/L)	2.8±0.6	3.7±0.8	<0.001
高密度脂蛋白-胆固醇(mmol/L)	1.2±0.1	0.7±0.1	<0.001
甘油三酯(mmol/L)	1.1±0.2	1.7±0.3	<0.001
空腹血糖(mmol/L)	5.4±0.4	8.1±0.9	<0.001
胰岛素(uIU/mL)	13.3±1.5	23.6±2.1	<0.001
胰岛素评价指数	2.4±1.1	4.3±1.5	<0.001
胰岛素分泌指数	118.2±16.9	95.5±21.4	<0.001
胰岛素敏感指数	65.9±7.7	40.2±11.9	<0.001

4.2 kg/m²。

正常对照组33名来自四川大学华西医院健康体检中心,与2型糖尿病患者年龄、性别匹配,其中男17名,女16名,年龄52.9岁±4.6岁,体质质量指数23.8 kg/m²±3.3 kg/m²。选自无糖尿病、自身免疫性疾病及其相关家族史的体检志愿者。75 g OGTT空腹血糖<5.6 mmol/L,糖负荷2 h血糖<7.8 mmol/L。所有研究对象均知情同意。

淋巴细胞分离液、DTT和蛋白酶抑制剂购自Sigma-Aldrich公司;fasudil购自Asshi Chemical公司;M199培养基购自Life technology公司;phosphor-Thr853-MBS抗体、抗T-MBS抗体、抗Tubulin抗体、ROCK1和ROCK2抗体购自Cell Signaling公司;三氯乙酸购自国药集团化学试剂北京有限公司。

1.2 方法

1.2.1 标本收集:收集符合入选条件的正常对照者和2型糖尿病患者外周血40-80 mL,同时进行详尽的病史采集、体格检查、实验室检查。使用淋巴细胞分离液,其中加入10 nmol/L fasudil并按照Ficoll-Hypaque密度梯度离心法分离PBMC。采用M199培养基重悬PBMC,镜检后将细胞稀释至5×10⁶个/mL。配制固定液(50%三氯乙酸、50 mmol/L DTT和蛋白酶抑制剂)按比例加入细胞悬液分装冻存于超低温冰箱(-80 ℃)^[6],以备Western blot分析。

1.2.2 p-MBS/t-MBS和ROCK1/ROCK2检测:如前所述进行Western blot分析,使用phospho-

Thr853-MBS抗体或抗-MBS抗体、ROCK1和ROCK2抗体^[6]。NIH 3T3细胞裂解物用作阳性对照。Rho激酶活性表示为:

ROCK活性 = (Ap-MBS-样品/Ap-MBS-阳性对照)/(At-MBS-样品/At-MBS-阳性对照),其中A为灰度扫描所得数值。

统计学处理 采用SPSS13.0分析,数据以means±SE表示。本研究所采用的统计方法:两组数据之间的比较采用独立样本t检验。通过Pearson相关分析ROCK激酶活性与HOMA-IR(反映胰岛素抵抗水平)、HOMA-%B(反映胰岛β细胞功能)、HOMA-%S(反映胰岛素敏感性)之间的关系, $P<0.05$ 表示为统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象的一般情况 从表1可知,与正常对照组相比,2型糖尿病患者收缩压和舒张压水平则显著增高($P<0.001$)。初诊2型糖尿病的患者HbA1c%、总胆固醇、LDL-C、甘油三酯、空腹血糖、血浆胰岛素等水平显著高于正常健康志愿者($P<0.001$,表1);HDL-C水平则显著降低($P<0.001$,表1)。根据以上实验室指标计算胰岛功能相关指数,入选的33名健康志愿者的HOMA-%B/HOMA-%S明显高于初诊的2型糖尿病患者,而2型糖尿病患者的HOMA-IR指数则显著升高($P<0.001$,表1)。初诊为2型糖尿病的患者与正常对照志愿者相比,年龄、体质质量指数(body mass index, BMI)、腰围和腰臀比等指标

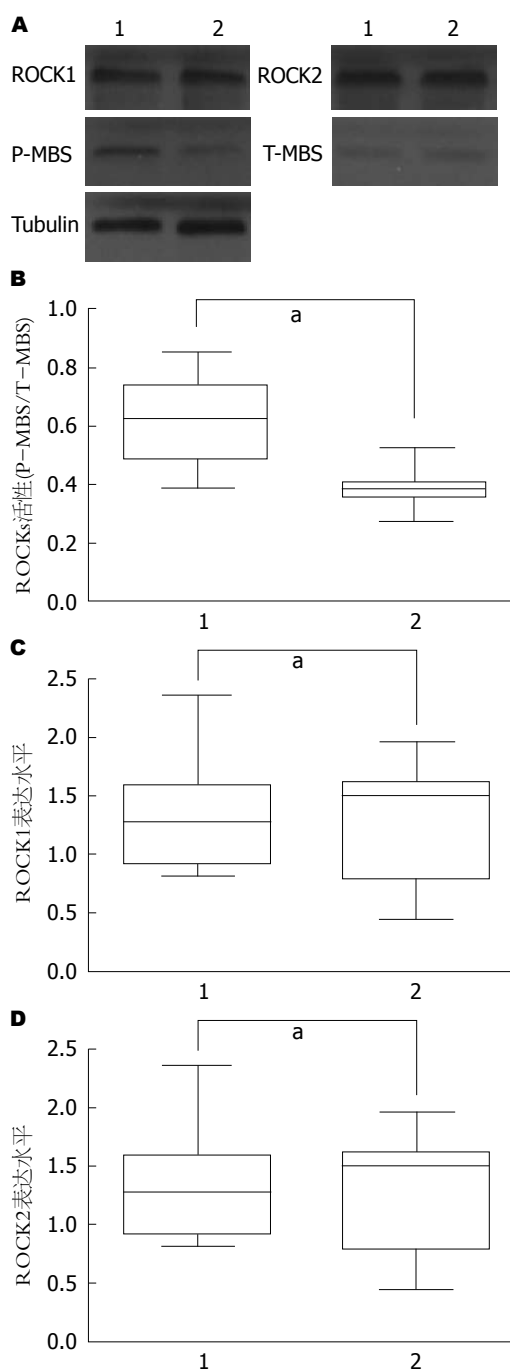


图1 2型糖尿病患者与正常健康人外周单核细胞ROCK1、ROCK2、P-MBS和T-MBS蛋白水平分析. A: Western blot分析外周单核细胞ROCK1、ROCK2、P-MBS和T-MBS蛋白; B: ROCKs活性分析; C: ROCK1表达水平分析; D: ROCK2表达水平分析; 1: 2型糖尿病患者; 2: 正常健康人; * $P < 0.05$ vs 正常健康人.

均为无明显差异($P > 0.05$, 表1).

2.2 初诊2型糖尿病组与正常对照组外周单核细胞ROCK激酶活性比较 与正常对照组ROCK活性(0.40 ± 0.12)比较, 初诊2型糖尿病患者组外周单核细胞ROCK活性(0.63 ± 0.15)显著升高($P < 0.001$, 图1), 而ROCK1与ROCK2蛋白表达水平两者无明显差异($P > 0.05$, 图1).

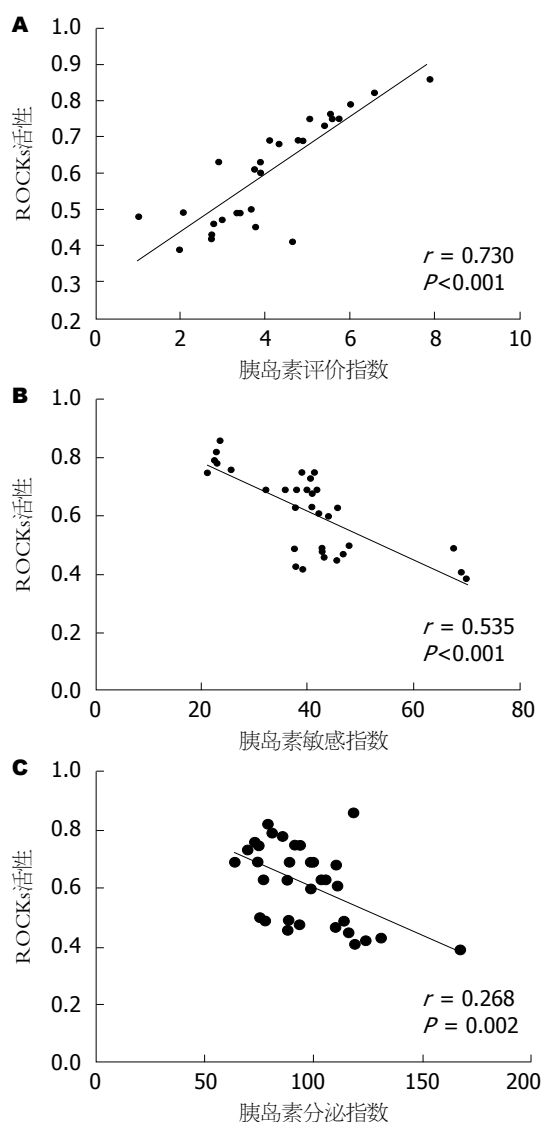


图2 ROCKs激酶活性与胰岛相关功能指数相关性分析. A: ROCKs活性与胰岛素抵抗评价指数相关性分析; B: ROCKs活性与胰岛素敏感指数相关性分析; C: ROCKs活性与胰岛素分泌指数相关性分析. 每名受试者(2型糖尿病患者)表示符号(黑点), r = 皮尔森相关系数, $P < 0.01$ 为差异有统计学意义.

2.3 初诊2型糖尿病患者ROCK活性与胰岛相关功能指数相关性分析 Pearson相关分析显示(图2), 2型糖尿病患者外周单核细胞ROCK活性与HOMA-IR呈正相关($r = 0.730$, $P < 0.001$), 与HOMA-%B、HOMA-%S呈负相关($r = 0.535$, $P < 0.001$; $r = 0.268$, $P = 0.002$).

3 讨论

我们发现初诊为2型糖尿病的患者外周单核细胞ROCK1与ROCK2蛋白表达水平并无明显差异, 依此推测, ROCKs激酶蛋白表达水平与糖尿病发生早期的胰岛功能的变化相关性不明显. 然而, ROCK活性改变则显著升高, 导致其相关信号通路变化, 从而引起胰岛素信号途径异常

■ 创新盘点

已有众多的基于糖尿病动物模型的研究报道, 但将Rho相关激酶用于预测、判断和分析其与初诊2型糖尿病患者早期胰岛素抵抗、胰岛功能和胰岛素敏感等指标的临床小样本研究则相对较少. 本研究提示可进一步将其作为早期糖尿病诊断或相应治疗的生物标志物.

■应用要点

检测外周血Rho相关激酶活性的技术方法相当简便、成熟;若能将其运用在分析不同糖尿病治疗药物(例如:各种类型胰岛素、磺脲类、双胍类和GLP-1等)效果方面前景相当广阔。

或诱发炎症等。本研究也证实, ROCK活性与胰岛素抵抗指数明显呈正相关, 即胰岛素抵抗程度愈严重, ROCK活性则愈强, 两者间相互作用则进一步加重胰岛素抵抗, 导致糖尿病症状的加重。ROCKs活性的增加则可能抑制胰岛β细胞功能和/或导致肝脏、骨骼肌、脂肪组织、血管和心脏等对胰岛素的作用产生抵抗。

最近, Rho/Rho激酶信号通路吸引了大量的关注并因此开展了众多糖尿病并发症的相关研究^[7]。1型或2型糖尿病的动物模型与高浓度葡萄糖刺激体外培养细胞等均发Rho相关激酶的活性和基因表达的上调^[8-10]; 另一方面, Zucker肥胖型大鼠在口服ROCKs抑制剂盐酸法舒地尔后可以显著性抑制肌肉组织胰岛素受体底物-1丝氨酸磷酸化从而改善胰岛素抵抗^[11]。同样的研究证据亦显示糖尿病小鼠模型口服Rho相关激酶抑制剂显著改善糖尿病所致的肾小球基底膜增厚和保护足细胞, 从而改善肾小球硬化和间质纤维化^[12]。Chun等^[13]的研究则提示健康人与肥胖人群肌肉ROCK1活性变化与大剂量胰岛素刺激呈正相关, 而2型糖尿病患者肌肉组织则恰好相反。那么, 是否可以认为2型糖尿病影响了体内胰岛素对ROCKs相关激酶活性的调节, 导致ROCKs活性发生缺陷? 这可能需要我们进一步提供相关临床研究证据。

伴随对Rho相关激酶的深入研究, 越来越多的研究者将重点从剖析Rho相关激酶的生物功能转向其作为临床治疗靶点、各类相关疾病生物标志物等方面。哈佛大学医学院James和Liao等发现Rho相关激酶活性的变化可以用来判断动脉粥样硬化患者服用锐速伐他汀和阿托伐他汀的治疗效果^[14]; Kikuchi等^[15]则认为中性粒细胞Rho相关激酶是作为诊断血管痉挛性心绞痛的实用型生物标志物。

总之, 我们认为通过检测外周单核细胞ROCKs活性变化可以来判断早期糖尿病治疗效果。我们进一步发现ROCK活性变化同胰岛素抵抗指数HOMA-IR呈正相关、与胰岛素敏感指数呈负相关, 那么是否可以对注射不同类型胰岛素或服用双胍类、磺脲类以及最近正在临床逐步使用的GLP-1、DPP-4抑制剂等糖尿病患者, 检测外周ROCK活性以判断该药物的使用情况和状态。将该指标纳入会更加有利于专科医师为患者提供个体化治疗的方案。我们相信ROCK作为重要的角色作为2型糖尿病病理生理研究、诊断和治疗将愈加明显。

参考文献

- Breitenlechner C, Gassel M, Engh R, Bossemeyer D. Structural insights into AGC kinase inhibition. *Oncol Res* 2004; 14: 267-278 [PMID: 15206489]
- Wettschureck N, Offermanns S. Rho/Rho-kinase mediated signaling in physiology and pathophysiology. *J Mol Med (Berl)* 2002; 80: 629-638 [PMID: 12395147 DOI: 10.1007/s00109-002-0370-2]
- Shi J, Wei L. Rho kinase in the regulation of cell death and survival. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2007; 55: 61-75 [PMID: 17347801 DOI: 10.1007/s00005-007-0009-7]
- Liao JK, Seto M, Noma K. Rho kinase (ROCK) inhibitors. *J Cardiovasc Pharmacol* 2007; 50: 17-24 [PMID: 17666911 DOI: 10.1097/FJC.0b013e318070d1bd]
- Zhou H, Li YJ, Wang M, Zhang LH, Guo BY, Zhao ZS, Meng FL, Deng YG, Wang RY. Involvement of RhoA/ROCK in myocardial fibrosis in a rat model of type 2 diabetes. *Acta Pharmacol Sin* 2011; 32: 999-1008 [PMID: 21743486 DOI: 10.1038/aps.2011.54]
- Nohria A, Grunert ME, Rikitake Y, Noma K, Prsic A, Ganz P, Liao JK, Creager MA. Rho kinase inhibition improves endothelial function in human subjects with coronary artery disease. *Circ Res* 2006; 99: 1426-1432 [PMID: 17095725 DOI: 10.1161/01.RES.0000251668.39526.c7]
- Rajagopalan LE, Davies MS, Kahn LE, Kornmeier CM, Shimada H, Steiner TA, Zweifel BS, Wendling JM, Payne MA, Loeffler RF, Case BL, Norton MB, Parikh MD, Nemirovskiy OV, Mourey RJ, Masferrer JL, Misko TP, Kolodziej SA. Biochemical, cellular, and anti-inflammatory properties of a potent, selective, orally bioavailable benzamide inhibitor of Rho kinase activity. *J Pharmacol Exp Ther* 2010; 333: 707-716 [PMID: 20228155 DOI: 10.1124/jpet.110.166033]
- Didion SP, Lynch CM, Baumbach GL, Faraci FM. Impaired endothelium-dependent responses and enhanced influence of Rho-kinase in cerebral arterioles in type II diabetes. *Stroke* 2005; 36: 342-347 [PMID: 15637328 DOI: 10.1161/01.STR.0000152952.42730.92]
- Didion SP, Lynch CM, Faraci FM. Cerebral vascular dysfunction in TallyHo mice: a new model of Type II diabetes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 292: H1579-H1583 [PMID: 17122191 DOI: 10.1152/ajp-heart.00939.2006]
- Naik JS, Xiang L, Hester RL. Enhanced role for RhoA-associated kinase in adrenergic-mediated vasoconstriction in gracilis arteries from obese Zucker rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006; 290: R154-R161 [PMID: 16141308 DOI: 10.1152/ajp-regu.00245.2005]
- Kanda T, Wakino S, Homma K, Yoshioka K, Tatematsu S, Hasegawa K, Takamatsu I, Sugano N, Hayashi K, Saruta T. Rho-kinase as a molecular target for insulin resistance and hypertension. *FASEB J* 2006; 20: 169-171 [PMID: 16267124 DOI: 10.1096/fj.05-4197fje]
- Komers R, Oyama TT, Beard DR, Tikellis C, Xu B, Lotspeich DF, Anderson S. Rho kinase inhibition protects kidneys from diabetic nephropathy without reducing blood pressure. *Kidney Int* 2011; 79: 432-442 [PMID: 20962741 DOI: 10.1038/ki.2010.428]
- Chun KH, Choi KD, Lee DH, Jung Y, Henry RR, Ciaraldi TP, Kim YB. In vivo activation of ROCK1 by insulin is impaired in skeletal muscle of humans with type 2 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol*

- 14 Metab 2011; 300: E536-E542 [PMID: 21189360 DOI: 10.1152/ajpendo.00538.2010]
- 15 Liu B, Cao HM, Li GY, Liu M, Feng J, Li J, Wang Q. Effects of rosuvastatin versus atorvastatin on rho-associated coiled-coil containing protein kinase activity and endothelial function in patients with atherosclerosis. *J Int Med Res* 2011; 39: 2314-2322 [PMID: 22289549]
- Kikuchi Y, Yasuda S, Aizawa K, Tsuburaya R, Ito Y, Takeda M, Nakayama M, Ito K, Takahashi J, Shimokawa H. Enhanced Rho-kinase activity in circulating neutrophils of patients with vasospastic angina: a possible biomarker for diagnosis and disease activity assessment. *J Am Coll Cardiol* 2011; 58: 1231-1237 [PMID: 21903056 DOI: 10.1016/j.jacc.2011.05.046]

■同行评价

本文研究了2型糖尿病患者外周ROCK活性与胰岛素抵抗及胰岛β细胞功能的关系,具有一定的新颖性及研究价值。

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

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

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

恶性黑色素瘤胃十二指肠转移1例

许琮, 赵秋, 杨娟, 王渝, 彭思思, 周琦

■背景资料

恶性黑色素瘤(malignant melanoma, MM)是来源于黑色素细胞的恶性肿瘤, 恶性程度极高, 早期易转移, 国内外针对此类病例的报道多属个案报道。

许琮, 赵秋, 杨娟, 彭思思, 周琦, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科 湖北省武汉市 430030

王渝, 华中科技大学同济医学院附属同济医院病理科 湖北省武汉市 430030

许琮, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤研究

作者贡献分布: 此课题由周琦、赵秋及许琮设计; 文献检索、数据分析由许琮完成; 论文撰写由许琮与周琦完成; 病理诊断及免疫组织化学染色由王渝完成; 部分数据收集由彭思思与杨娟完成。
通讯作者: 周琦, 副教授, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院。

zhouqi1973@hotmail.com

电话: 027-83663208

收稿日期: 2013-01-30 修回日期: 2013-02-28

接受日期: 2013-04-07 在线出版日期: 2013-04-28

Gastroduodenal metastasis of malignant melanoma: A case report

Cong Xu, Qiu Zhao, Juan Yang, Yu Wang, Si-Si Peng, Qi Zhou

Cong Xu, Qiu Zhao, Juan Yang, Si-Si Peng, Qi Zhou, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Yu Wang, Department of Pathology, Tongji Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Correspondence to: Qi Zhou, Associate Professor, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Avenue, Hankou District, Wuhan 430030, Hubei Province, China. zhouqi1973@hotmail.com
Received: 2013-01-30 Revised: 2013-02-28
Accepted: 2013-04-07 Published online: 2013-04-28

Abstract

Malignant melanoma metastasis to the gastroduodenal tract is a rare, likely misdiagnosed entity. Here we report a case of choroidal melanoma lesion metastatic to the alimentary canal which was confirmed by digestive endoscopy and histopathology. Besides, we also reviewed the related literatures and summarized the endoscopic manifestations, clinicopathological characteristics and prognosis of this disease. Physicians should raise awareness of the endoscopic manifestation and histological characteristics of this rare clinical condition.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Malignant melanoma; Gastroduodenal

metastasis

Xu C, Zhao Q, Yang J, Wang Y, Peng SS, Zhou Q. Gastroduodenal metastasis of malignant melanoma: A case report. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(12): 1152-1155
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1152.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1152>

摘要

恶性黑色素瘤(malignant melanoma, MM)转移到胃、十二指肠等部位相对少见且易造成误诊。为了探讨此种疾病临床病理学特点及内镜下表现。本文报道了1例脉络膜恶性MM消化系统转移的病例, 通过胃镜检查及活组织病理检查明确诊断, 并对相关的文献进行复习。因此, 原发灶切除后临床医生要做到定期随访同时加强对其内镜下表现和病理学特征的认识。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 恶性黑色素瘤; 胃十二指肠转移

核心提示: 本文报道了1例恶性黑色素瘤(malignant melanoma)发生胃十二指肠转移的病例, 同时复习以往相关文献报道, 总结该种特殊而又恶性程度极高的疾病的内镜下表现、病理诊断以及其他临床资料, 以期在今后的临床工作中提高对此种疾病的早期诊断和治疗。

许琮, 赵秋, 杨娟, 王渝, 彭思思, 周琦. 恶性黑色素瘤胃十二指肠转移1例. 世界华人消化杂志 2013; 21(12): 1152-1155
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1152.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1152>

0 引言

恶性黑色素瘤(malignant melanoma, MM)是一种临床上较为常见的恶性肿瘤之一, 虽然在世界范围包括我国的发病率并不高, 但却是所有恶性肿瘤中发病率增长最快的, 2000年我国的发病率统计仅为0.2/10万, 到2005-2007年我国发病率增长到1/10万, 每年新发病例约2万例^[1]。又因其是一种恶性程度极高的肿瘤, 发生早期转移的情况多见, 定期随访患者, 及时掌握患者的临床资料对发现是否存在其他部位的转移尤为重要。

■同行评议者

倪润洲, 教授, 南通大学附属医院
消化内科

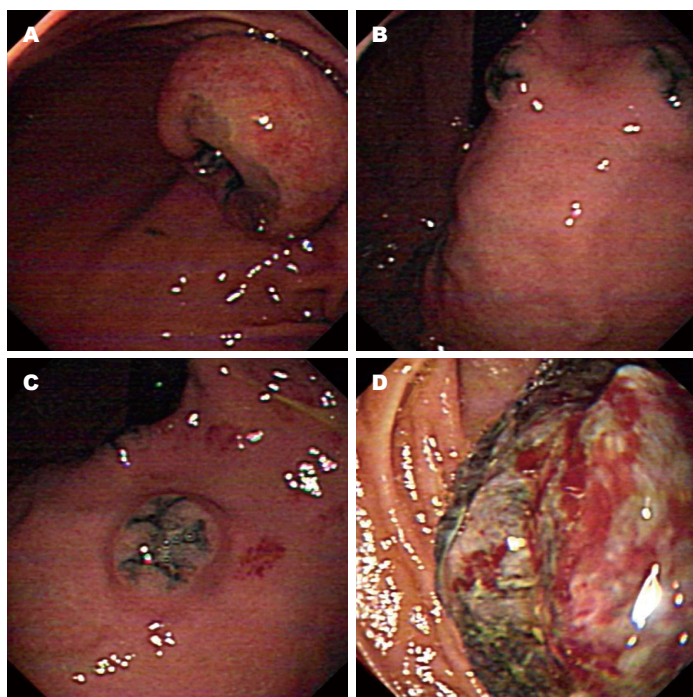


图1 内镜下表现: A: 窦体交界处见一约2.0 cm×3.0 cm顶端黑色隆起病变; B: 胃底多发隆起性病变, 表面青黑色, 周边黏膜可见片状糜烂灶; C: 胃底隆起性病变, 顶端溃疡形成, 表面青黑色; D: 十二指肠降段见一巨大污秽血凝块。

■相关报道

国内报道的相关文献中, 有1例是肢端雀斑样痣黑色素瘤发生胃及十二指肠同时转移的恶性MM患者, 未做任何治疗后出院, 随访不祥。

1 病例报告

男, 54岁, 2010-08曾因“左眼视物模糊3 mo, 加重1 mo”来我院就诊, 后行左眼磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)检查后考虑可能为MM伴视网膜剥离, 2010-09-10行左眼手术摘除, 术后病理证实为脉络膜MM。2年来定期复查未见明显异常。2012-08因诉“乏力、食欲下降3 mo余”来我院, 体格检查发现腹部及腋下有多处体表隆起, 最大直径约3 cm×2 cm, 表面呈浅淡蓝色, 质地较硬, 与周围组织无明显粘连。后经细胞学穿刺检查证实为转移性MM(细胞编号2012-11695)。行胃镜检查, 发现胃底、胃体有多处隆起溃疡性病变, 周边堤样隆起, 表面呈青黑色, 污秽苔, 结节样, 活检质软。窦体交界处可见一大小约2.0 cm×3.0 cm隆起, 顶端溃疡形成, 表面黏膜糜烂。十二指肠降段可见一巨大污秽血凝块, 基底显示不清(图1)活检送病理检查, HE染色后镜下见黏膜浅层有2小灶异型细胞巢, 核分裂可见, 伴有少许棕褐色色素。免疫组织化学显示肿瘤细胞HMB45、Melan-A及S-100强阳性, Ki-67增殖指数约为70%, 肿瘤细胞不表达CK8/18、PCK及LCA(图2)。进一步完善相关检查发现, 患者右中、下肺多个结节影, 考虑转移可能。全身骨扫描后发现肿瘤多发骨转移可能。头颅MRI检查后亦发现双侧额叶及半卵圆中心转移灶可能。综合分析患者病情, 诊断为视网膜MM复发(腹壁、胃、十二指肠、腹腔、骨、肺、脑)患者经济能力有限, 拒绝任何放化疗等

治疗, 2012-08-30自动出院。电话随访得知, 患者于2013-01-03因多器官功能衰竭去世。

2 讨论

MM是来源于黑色素细胞的恶性肿瘤, 大约65%MM都可归因于一个单纯的、可控制的危险因素(日光暴露)^[2]。最常见的原发灶多位于足跟、手掌、指趾和甲下等, 即肢端型MM, 我国统计资料显示约占有所有MM的60%-70%, 其次为原发于黏膜的MM, 如直肠、肛门、眼、鼻咽部等, 占有所有MM的22.6%^[1]。

发生于消化系的MM相对较罕见, 季政一^[3]在1篇综述中总结, MM发生胃肠道转移者中仅约1%-4%可以在生前得到确诊, 且此种患者往往伴有其他内脏器官的转移。Panagiotou等^[4]曾做过一项针对385例MM患者的回顾性研究, 其发现肢端型MM患者、原发灶为结节状者与发生胃肠道转移之间有一定相关性。本例患者的原发灶是2010年发现的脉络膜MM, 属于原发于黏膜的MM, 不同于肢端型MM, 其致病因素尚未完全阐明, 有些文献报道发现, 甲醛也许是一种致病因素^[5,6]。此外, 已有研究证实位于9号染色体短臂的p16或CDKN2A的基因突变可能是MM高遗传易感性的主要原因^[7]。不恰当的处理因素可能与肿瘤迅速发展也有关系。

关于MM发生胃肠道转移的大多数综述以及相关文献复习中都曾提出过, MM转移到胃肠道的情况中多以小肠、结肠和肛直肠多见, 但

■创新盘点

本文中所描述的病例通过电子胃镜及病理免疫组织化学染色等方法诊断为MM胃肠道转移,同时结合国内外检索的临床资料进行分析,总结此种高度恶性疾病的病因、临床病理特征、内镜下表现及治疗方法。

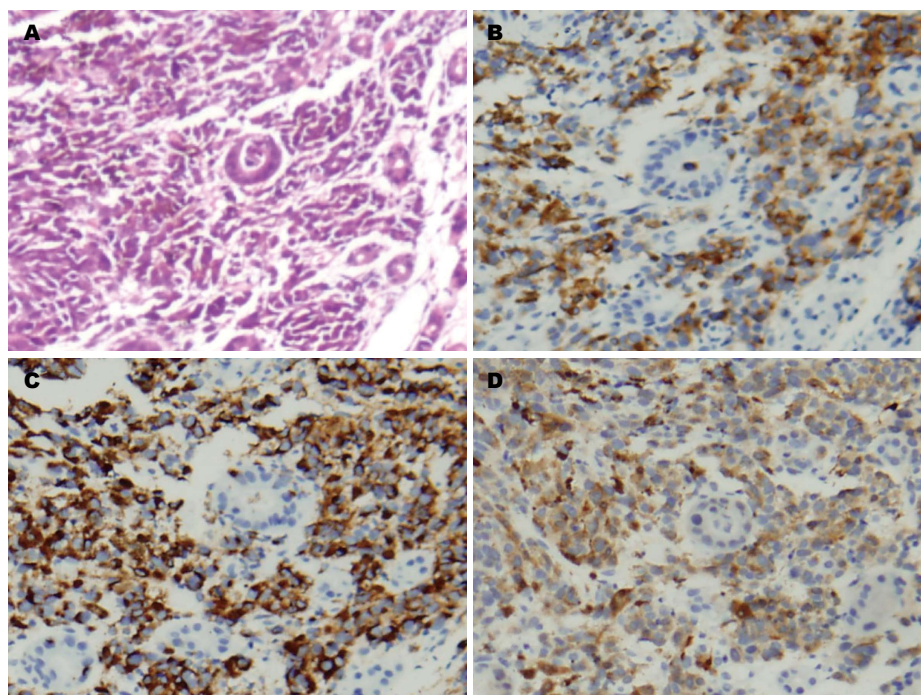


图2 胃体隆起性病变活检+免疫组织化学。病理(Ⅱ12-30828×100)可见异型细胞巢,伴有少许棕褐色色素;免疫组织化学检查显示Melan-A(+), HMB45(+), S-100(+). A: HE染色,可见异型细胞巢,伴有少许棕褐色色素;B: 免疫组织化学染色, Melan-A(+); C: 免疫组织化学染色, HMB45(+); D: 免疫组织化学染色, S-100(+).

是随着近几年肿瘤患者的预后情况明显改善后,导致此种病例碰到的机会明显增加^[8].我国对此种胃肠道转移性MM病例的描述仍以个案报道多见,我们检索中国知网及万方中文数据库中1998-2013年所报道的发生胃和/或十二指肠恶性MM病例共计38例,男27例,女11例,平均年龄约60岁,基本符合MM男性发病率高于女性,多见于中老年患者的规律,其中同时发生胃及十二指肠转移的病例共计9例,几乎都以多发隆起溃疡为主要内镜下表现.胃肠道MM患者的临床表现并不典型,以非特异性症状如食欲减退、慢性胃肠出血等为主,常常容易被忽略.针对这一特点,过去有的文献提出,对有症状患者进行腹部CT检查有很大必要性,但尚有很大一部分患者无任何胃肠道症状.最近几年随着消化内镜检查的优势逐渐显现,掌握内镜下胃肠道MM的特点可以对诊断有很重要的辅助作用.胡伟等^[9]发表的一篇病例报告中有类似于本病例的胃和十二指肠同时发生转移的情况,对肿瘤内镜下表现进行了很好的总结.

与临床病史资料同样重要的还有病理检查,同大多数肿瘤一样,病理诊断仍为MM诊断的金标准.胃镜检查除了能够发现病变的外观形态上的变化之外,活检也是优势之一.恶性MM常见病理类型有浅表扩散型、结节型、恶性雀斑样、肢端雀斑样MM,欧美国家中白种人以浅表扩散型为主,亚非国家中的黄种人以肢端雀斑样MM多见^[10].根据文献报道,普通HE染色观察

诊断该病有限,使用免疫组织化学检查的方法则可以很好的发现该疾病. S-100蛋白对MM的诊断敏感性较高,但特异性较差, HBM-45对MM的特异性较高^[11],两者结合可以提高诊断的准确性.本例患者免疫组织化学结果显示: HMB45(+), Melan-A(+), S-100(+)支持恶黑胃内转移的诊断.孙静阳等^[12]尚在1篇文章中从病理检查角度分析了恶性MM胃内转移与原发胃内肿瘤的鉴别方法,其思路方法清晰,很值得借鉴学习.

MM因其恶性程度极高,手术切除仍然是早期阶段治疗的首选^[13].本例患者在脉络膜恶性MM确诊后的两年后出现胃肠道症状时,进一步完善相关检查发现已存在全身转移的征象,已属于晚期阶段.国内外诊疗指南中都指出此阶段可以采用化疗的方法治疗,可以采用细胞毒性的化疗方案.氮稀咪胺(DTIC)为30年前被美国FDA批准使用的烷化剂,其治疗恶黑有效率20%^[14].最近几年的研究发现Ipilimumab(抗CTLA-4单抗)及Vemurafenib(BRAFV600抑制剂)^[15,16]可以延长晚期恶性MM患者的生存期,其中Ipilimumab也是近10年来唯一一个获得FDA批准用于晚期恶性MM的药物,然而遗憾的是这种药物目前国内尚未上市.可以真正使用的化疗药物有限且费用高昂,故临床工作中晚期阶段的患者预后及生存期限都不乐观.

根据中国诊治指南中提出, MM的5年生存率大约为5%-19%^[1],其预后与性别、年龄、部位、肿瘤厚度、淋巴结转移个数及乳酸脱氢

酶水平等相关^[17]. 对于临床工作者而言, 早期发现、早期诊断及治疗恶性MM, 提高患者的预后及生存率, 仍然任重而道远.

3 参考文献

- 1 CSCO黑色素瘤专家委员会. 中国恶性黑色素瘤诊治指南2011版(修改版). 临床肿瘤学杂志 2012; 17: 159-171
- 2 Yang Q, Wei WB, Yang WL, Li B, Wang GL. Choroidal malignant melanoma in patients with oculodermal melanocytosis: report of three cases. *Chin Med J (Engl)* 2010; 123: 111-113 [PMID: 20137587]
- 3 季政一. 胃肠道黑色素瘤. 中国普通外科杂志 2000; 9: 362-364
- 4 Panagiotou I, Brountzos EN, Bafaloukos D, Stoupis C, Brestas P, Kelekis DA. Malignant melanoma metastatic to the gastrointestinal tract. *Melanoma Res* 2002; 12: 169-173 [PMID: 11930114 DOI: 10.1097/00008390-200204000-00010]
- 5 Holmstrom M, Lund VJ. Malignant melanomas of the nasal cavity after occupational exposure to formaldehyde. *Br J Ind Med* 1991; 48: 9-11 [PMID: 1993163]
- 6 Thompson LD, Wieneke JA, Miettinen M. Sinonasal tract and nasopharyngeal melanomas: a clinicopathologic study of 115 cases with a proposed staging system. *Am J Surg Pathol* 2003; 27: 594-611 [PMID: 12717245 DOI: 10.1097/00000478-200305000-00004]
- 7 High WA, Robinson WA. Genetic mutations involved in melanoma: a summary of our current understanding. *Adv Dermatol* 2007; 23: 61-79 [PMID: 18159896 DOI: 10.1016/j.yadr.2007.07.009]
- 8 De Palma GD, Masone S, Rega M, Simeoli I, Donisi M, Addeo P, Iannone L, Pilone V, Persico G. Metastatic tumors to the stomach: clinical and endoscopic features. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 7326-7328 [PMID: 17143949]
- 9 胡伟, 时昭红, 毛德华, 于皆平, 吴玉芳. 胃十二指肠转移性黑色素瘤1例. 世界华人消化杂志 2007; 15: 3152-3153
- 10 Mueller CS, Reichrath J. Histology of melanoma and nonmelanoma skin cancer. *Adv Exp Med Biol* 2008; 624: 215-226 [PMID: 18348459 DOI: 10.1007/978-0-387-77574-6_17]
- 11 陈春梅, 夏和顺, 吴昌鸣. 黏膜恶性黑色素瘤病理学和免疫组织化学研究. 肿瘤防治研究 2000; 27: 378-379
- 12 孙静阳, 胡波, 于晶功, 裴笑月. 胃转移性恶性黑色素瘤1例. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1928-1931
- 13 Margo CE. The Collaborative Ocular Melanoma Study: an overview. *Cancer Control* 2004; 11: 304-309 [PMID: 15377989]
- 14 高永良. 女性生殖道黑色素瘤的诊疗进展. 国外医学·妇产科学分册 1997; 24: 195-198
- 15 Harding JJ, Pulitzer M, Chapman PB. Vemurafenib sensitivity skin reaction after ipilimumab. *N Engl J Med* 2012; 366: 866-868 [PMID: 22375995 DOI: 10.1056/NEJMc1114329]
- 16 Rochet NM, Kottschade LA, Markovic SN. Vemurafenib for melanoma metastases to the brain. *N Engl J Med* 2011; 365: 2439-2441 [PMID: 22188003 DOI: 10.1056/NEJMc1111672]
- 17 Essner R, Lee JH, Wanek LA, Itakura H, Morton DL. Contemporary surgical treatment of advanced-stage melanoma. *Arch Surg* 2004; 139: 961-966; discussion 966-967 [PMID: 15381613 DOI: 10.1001/archsurg.139.9.961]

■同行评价

本文报道了1例脉络膜恶性MM胃十二指肠转移的病例, 结合复习文献, 对恶性MM胃十二指肠转移的内镜下表现以及本病的病因、临床特征、病理表现及治疗方法进行了介绍, 有助于提高临床医生对本病的诊治水平.

编辑 李军亮 电编 闫晋利



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

● 消息 ●

《世界华人消化杂志》栏目设置

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

白塞病合并自发性多发肠穿孔1例

高源, 孙志俭, 张宪祥

■背景资料

白塞病(BD)作为一种全身性免疫系统疾病,累及器官众多,给临床诊断带来困难,极易发生误诊。

高源, 孙志俭, 张宪祥, 青岛大学医学院附属医院黄岛院区外一科 山东省青岛市 266500

高源, 主要从事胃肠方面的研究。

作者贡献分布: 本文由高源与孙志俭收集资料; 高源负责文章的撰写; 孙志俭与张宪祥审核。

通讯作者: 高源, 266500, 山东省青岛市开发区五台山路1677号, 青岛大学医学院附属医院黄岛院区外一科。

gyatqy025@163.com

收稿日期: 2013-01-21 修回日期: 2013-03-19

接受日期: 2013-04-13 在线出版日期: 2013-04-28

Behcet's disease with multiple spontaneous intestinal perforations: A case report

Yuan Gao, Zhi-Jian Sun, Xian-Xiang Zhang

Yuan Gao, Zhi-Jian Sun, Xian-Xiang Zhang, Department of Surgery (Division I), the Huangdao Branch of Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, Qingdao 266500, Shandong Province, China

Correspondence to: Yuan Gao, Department of Surgery (Division I), the Huangdao Branch of Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, 1677 Wutaishan Road, Qingdao 266500, Shandong Province, China. gyatqy025@163.com

Received: 2013-01-21 Revised: 2013-03-19

Accepted: 2013-04-13 Published online: 2013-04-28

Abstract

Behcet's disease may lead to perforation of the intestine, which is often misdiagnosed. Surgical operation is the main treatment, but intestinal fistula is an important postoperative complication. Therefore, surgical treatment of Behcet's disease requires reasonable operation planning, unobstructed drainage and effective postoperative treatment.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Behcet's disease; Intestinal perforation; Surgical operation

Gao Y, Sun ZJ, Zhang XX. Behcet's disease with multiple spontaneous intestinal perforations: A case report. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(12): 1156-1158 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1156.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1156>

摘要

白塞病累及消化系统时,易造成肠穿孔,临床

上常发生误诊,手术是主要治疗手段,但疗效欠佳,术后易并发肠瘘。所以本病的外科治疗需制定合理的手术方案,通畅引流,术后积极进行长期有效的内科治疗。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: 白塞病; 肠穿孔; 手术

核心提示: 白塞病(Behcet's disease)是一种病程迁延、多脏器受累的全身性疾病。因此,完善的辅助检查及仔细的体格检查尤为重要,手术时合理制定手术方案,通畅引流,术后进行适当的内科治疗,并应对患者进行长期随访。

高源, 孙志俭, 张宪祥. 白塞病合并自发性多发肠穿孔1例. 世界华人消化杂志 2013; 21(12): 1156-1158 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1156.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1156>

0 引言

白塞病(Behcet's disease, BD)是一种慢性反复发作并累及全身的血管炎性疾病。临床表现主要为口腔溃疡、生殖器溃疡、眼炎及皮肤损害。对于累及消化系统,并证实发生溃疡病变者则称为肠白塞病(intestinal Behcet's disease, IBD)。在临床工作中,IBD往往认识不够,容易出现误诊误治。我们结合近期诊治的1例以自发性肠多发溃疡并穿孔为主要表现的肠型白塞病,复习文献并对肠型白塞病的临床病理特点及诊断治疗进行以下总结。

1 病例报告

男,46岁,因“阑尾切除术后13 d”于2012-7-23入院。查体: T 36.5℃, P 72次/min, R 18次/min, BP 120/84 mmHg(1 mmHg = 0.133 kPa)。神志清,精神差,贫血貌;腹部平坦,对称,右下腹见引流管,引流出深黄色肠液,腹部切口下部见一大小约1.5 cm×1.5 cm残腔,深及皮下,腹部柔软,右侧腹轻压痛、无反跳痛,腹部叩诊呈鼓音,肝肾区无叩击痛,无移动性浊音。肠鸣音正

■同行评议者

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;王学美,研究员,北京大学第一医院中西医结合研究室

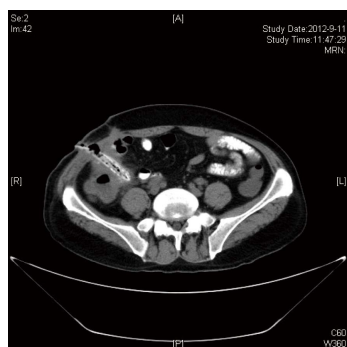


图 1 术后腹部CT结果.

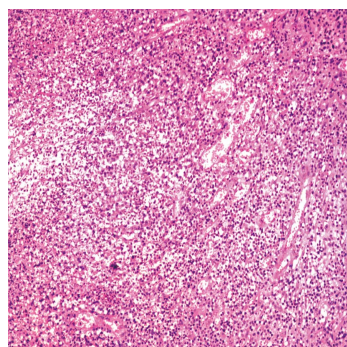


图 2 术后病理检查结果(HE, × 100).

常, 5次/min. 辅助检查: 血常规示白血球 $3.11 \times 10^9/L$, N 42.84%, 红血球 $2.46 \times 10^{12}/L$, 血红蛋白78.00 g/L, 血细胞比容25.90%; 血沉46.3 mm/h; C反应蛋白72.81 mg/L; 免疫球蛋白中度升高, 抗核抗体、结核抗体、类风湿因子、抗中性粒细胞胞浆抗体及补体检查均为阴性. 引流液细菌培养示: 粪肠球菌; 腹部CT检查示: 右下腹局部见引流管影, 可见对比剂进入引流管内; 右下腹回盲部结构紊乱, 壁增厚, 周围脂肪间隙密度增高(图1). 既往史: 患者患有口腔及会阴部多发反复性溃疡、关节酸痛、毛囊炎样皮疹5年余, 13 d前因“右侧腹部疼痛不适反复性发作10 d余”在当地医院以“腹痛待诊: 急性阑尾炎?”行急诊剖腹探查. 术中所见: 腹腔内较多黄色积液, 探查阑尾时发现肠内容物溢出, 仔细探查见距回盲部约50 cm回肠肠壁水肿, 可见多发穿孔, 直径大者约3.0 cm, 并见肠壁多发结节状肿物, 给予多处回肠穿孔修补+回肠肿物切除活检术. 术后病理我院会诊示: 回肠壁符合炎性肠病表现(图2). 术后第2天出低热, 术后第9天引流管流出深黄色肠液样液体, 遂转入我院行进一步治疗. 在我科给予无渣流质饮食, 每天给予口服甲泼尼龙片16 mg及沙利度胺片50 mg, 并辅以保护胃黏膜药物及钙片治疗, 肠瘘口给予滴水双套管持续冲洗, 瘘口逐渐关闭, 1 wk前患者肠瘘治愈出院, 并嘱规律服药控制白塞病, 目前患者正在随访中.

2 讨论

2.1 发病原因及临床、病理表现 BD是由土耳其医生Behcet于1937年首次报道的, 是一种慢性并累及全身性的血管性疾病, 目前多认为是一种基于遗传易感性并由感染或其他环境因素诱发的自身免疫性疾病. 除口、眼、生殖器损害外, 此病还可导致关节、皮肤、心、肺、血管、神经系统、消化系病变, 临床可分为血管型、神经型和肠型等. 以消化系损害为主要表现时称为肠型白塞病, 10%-50%白塞病有肠型表现, 常在白塞病发病后4.0-6.0年出现, 可累及从口腔到肛门的全消化系, 病变主要以单发或多发溃疡为主, 溃疡过深及反复发作可继发胃肠道穿孔和消化道出血等. 病理改变主要以侵蚀小动脉、小静脉及微血管为主, 病损的血管和周围组织中可见到淋巴细胞和单核细胞浸润、血管壁坏死、扩张、破裂, 腔内血栓形成或纤维增生造成管腔狭窄.

2.2 鉴别诊断 本病的肠型极易误诊, 大多数患者伴发肠穿孔时急症入院, 临床表现与急性阑尾炎伴穿孔相似, 术中探查阑尾正常, 可于回盲部发现穿孔部位, 术后吻合口愈合困难, 易发生肠痿. 另外, 本病还应跟其他一些以右下腹痛为主要临床表现的疾病相鉴别, 如克罗恩病、肠结核、缺血性肠炎、结肠憩室炎等^[1].

2.3 治疗 本病伴发穿孔时, 外科手术为主要治疗手段, 常用手术方式为穿孔修补术、回盲部切除术、右半结肠切除术等. 但无论选择何种手术方式, 均易再次发生肠痿, 所以术中引流管的放置十分重要, 建议滴水双套管引流, 术后积极营养支持治疗. 内科治疗分为局部治疗和全身治疗, 局部治疗主要针对以皮肤黏膜溃疡为主要表现者, 全身治疗主要针对有神经、大血管及肠道病变的患者, 常用药物为糖皮质激素、非甾体抗炎药、免疫抑制剂等, 另外, 严重的口腔或生殖器溃疡可加用沙利度胺. 有学者强调早期手术的必要性^[2], 但我们在临床上总结, 手术时机的选择十分重要, 过分强调手术容易造成疾病的迁延不愈, 只有做到“因人制宜”, 才能达到最佳治疗效果.

总之, 白塞病是一种病程迁延、多脏器受累的全身性疾病, 当伴发肠穿孔时极易发生误诊. 所以, 完善的辅助检查及仔细的体格检查尤为重要, 手术时合理制定手术方案, 通畅引流, 术后进行适当的内科治疗, 对患者进行长期随访.

■创新盘点

白塞病的诊断极易发生误诊, 本文结合1例以自发性肠多发溃疡并穿孔为主要表现的肠型白塞病对肠型白塞病的临床病理特点及诊断治疗进行总结, 对临床有一定指导作用.

■同行评价

该病历罕见, 相关病例记录完整, 有一定指导意义.

3 参考文献

- 1 Jung YS, Cheon JH, Park SJ, Hong SP, Kim TI, Kim WH. Long-term clinical outcomes of Crohn's disease and intestinal Behcet's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2013;

19: 99-105 [PMID: 22508364 DOI: 10.1002/ibd.22991]

- 2 Jung YS, Hong SP, Kim TI, Kim WH, Cheon JH. Early versus late surgery in patients with intestinal Behcet disease. *Dis Colon Rectum* 2012; 55: 65-71 [PMID: 22156869 DOI: 10.1097/DCR.0b013e318238b57e]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

WJG 成功通过评审被 PMC 收录

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

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

《世界华人消化杂志》投稿须知

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569) 是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

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

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(*International Committee of Medical Journal Editors*)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(*Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals*)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig。s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P^H, *H. pylori*不能写成HP, $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T, V_{max} 不能Vmax, μ 不写为英文u。需排斜体的外文字, 用斜体表示。如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种。如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数K; 一些统计学符号(如样本数n, 均数mean, 标准差SD, F检验, t检验和概率P, 相关系数r); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如N, O, P, S, d, l)如n-(normal, 正), N-(nitrogen, 氮), o-(ortho, 邻), O-(oxygen, 氧, 习惯不译), d-(dextro, 右旋), p-(para, 对), 例如n-butyl acetate(醋酸正丁酯), N-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), o-cresol(邻甲酚), 3-O-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), d-amphetamine(右旋苯丙胺), l-dopa(左旋多巴), p-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸)。拉丁字及缩写in vitro, in vivo, in situ; Ibid, et al, po, vs; 用外文字母代表的物理量, 如m(质量), V(体积), F(力), p(压力), W(功), v(速度), Q(热量), E(电场强度), S(面积), t(时间), z(酶活性, kat), t(摄氏温度, °C), D(吸收剂量, Gy), A(放射性活度, Bq), ρ (密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L), ϕ (体积分数, mL/L), w(质量分数, mg/g), b(质量摩尔浓度, mol/g), l(长度), b(宽度), h(高度), d(厚度), R(半径), D(直径), T_{max} , C_{max} , Vd, $T_{1/2}$ CI等。基因符号通常用小写斜体, 如ras, c-myc; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白。

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为 M_r 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即 A_r (A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及后列出。在±前后均要列出, 如 $37.6\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1.2\text{ }^{\circ}\text{C}$, $45.6\text{岁} \pm 24\text{岁}$, $56.4\text{ d} \pm 0.5\text{ d}$, $3.56 \pm 0.27\text{ pg/ml}$ 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_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把 $1 \times 10^{-3}\text{ g}$ 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% CO₂, 50 mL/L CO₂; 1:1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6} ; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)t检验用小写t; (2)F检验用英文大写F; (3)卡方检验用希文小写 χ^2 ; (4)样本的

相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (6)样本数用英文小写 n ; (7)概率用英文斜体大写 P . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 \pm 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$, 平均数 \pm 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$. 统计学显著性用 $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP < 0.05$, $^dP < 0.01$; 第三套为 $^eP < 0.05$, $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L \pm 0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g \pm 420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg \pm 0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm \pm 0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48 \rightarrow 23.5 \rightarrow 24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 ≤ 100 , 百分数到个位; $101 \leq$ 分母 $\leq 1\,000$, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度, 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 P , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$; 第3套为^e $P<0.05$, ^f $P<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

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

角注码号。如马连生^[1]报告……, 潘伯荣等^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]。文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊: 序号, 作者(列出全体作者)。文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传。读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程。

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

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

4.2 研究原著写作格式实例

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

4.3 焦点论坛写作格式实例

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

4.4 文献综述写作格式实例

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

4.5 研究快报写作格式实例

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

4.6 临床经验写作格式实例

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

4.7 病例报告写作格式实例

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

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>。审稿过程平均时间需要14-28天。所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审。

6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任。

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有。

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进。

2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26

美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会

会议地点: 美国旧金山

联系方式: www.gicasym.org

2013-02-10/15

2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia 会议

会议地点: 美国

联系方式: info@keystonesymposia.org

2013-02-09/12

美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)

会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城

联系方式: <http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508>

2013-02-22/23

国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会

会议地点: 美国休斯顿

联系方式: [http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11\[1\]](http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1])

2013-02-22/23

迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议

会议地点: 美国

联系方式: cme.med.miami.edu/x88.xml

2013-03-01/31

2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2013-03-01/04

2013加拿大消化疾病周(CDDW)

会议地点: 加拿大

联系方式: www.cag-acg.org/cddw

2013-03-07/10

亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议

会议地点: 新加坡

联系方式: www.apaslconference.org

2013-03-15/17

2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛

会议地点: 深圳市

联系方式: ewancool@hotmail.com

2013-03-14/16

中部外科学会(CSA)2013年会

会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛

联系方式: <http://www.centraalsurg.org/meeting/futuremtgs.html>

2013-04-12/14

2013中国肛肠创新论坛(CICS)

会议地点: 北京市

联系方式: www.crdinnovation.com

2013-04-19/23

2013第2届国际肿瘤学论坛

会议地点: 瑞士

联系方式: cihexpo@163.com

2013-05-23/25

2013第六届世界癌症大会

会议地点: 西安市

联系方式: bithuiyi@163.com

2013-05-20/22

2013年第三届内分泌与代谢大会

会议地点: 西安市

联系方式: nancy@bitconferences.cn

2013-05-31/06-04

2013美国临床肿瘤协会年会

会议地点: 美国芝加哥

联系方式: yangxinxue999@163.com

2013-06-07/09

中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议

会议地点: 武汉市

联系方式: csonsc@VIP.163.com

2013-06-21/23

中国消化科学论坛

会议地点: 张家界市

联系方式: casgmail@126.com

2013-07-13/14

中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 银川市

联系方式: lilyjia@163.com

2014-09-26/30

第39届欧洲临床肿瘤学会年会

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html>

2013-10-18/20

第二十二届亚太抗癌大会

会议地点: 天津市

联系方式: secretariat@apcc2013.com

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

杜奕奇 副教授
中国人民解放军第二军医大学长海医院

林志辉 教授
福建省立医院消化内科

樊红 教授
东南大学基础医学院遗传与发育生物学系

倪才方 教授
苏州大学附属第一医院介入科

冯志杰 主任医师
河北医科大学第二医院消化内科

彭宗根 副研究员
中国医学科学院北京协和医学院医药生物技术研究所

傅思源 副教授
东方肝胆外科医院肝外三科

邱伟华 主任医师
上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科

韩天权 教授
上海交通大学医学院附属瑞金医院外科, 上海消化外科研究所

秦春宏 副主任医师
南华大学附属第二医院普外科

何向辉 教授
天津医科大学总医院普通外科

孙文兵 教授
首都医科大学附属北京朝阳医院肝胆胰脾外科

黄志勇 教授
华中科技大学同济医院普外科

汤华 研究员
重庆医科大学感染性疾病分子生物学教育部重点实验室

金瑞 教授
首都医科大学附属北京佑安医院消化科

王道荣 主任医师
江苏省苏北人民医院胃肠外科

姜波健 教授
上海交通大学医学院附属第三人民医院普通外科

王文跃 主任医师
中日友好医院普通外科

姜慧卿 教授
河北医科大学第二医院消化科

魏睦新 教授
南京医科大学第一附属医院

郝立强 副教授
上海长海医院普外二科

许剑民 教授
复旦大学附属中山医院普外科

何松 教授
重庆医科大学附属第二医院

袁建业 副研究员
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

李革 副教授
延边大学附属医院

张占卿 主任医师
上海市复旦大学公共卫生中心肝脏病学、传染病学

李升平 教授
中山大学肿瘤医院肝胆科

张志坚 教授
福州总医院消化内科

李志霞 教授
首都医科大学附属北京同仁医院普外科

周国雄 主任医师
南通大学附属医院消化内科

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会
代章：





Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,
315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

