

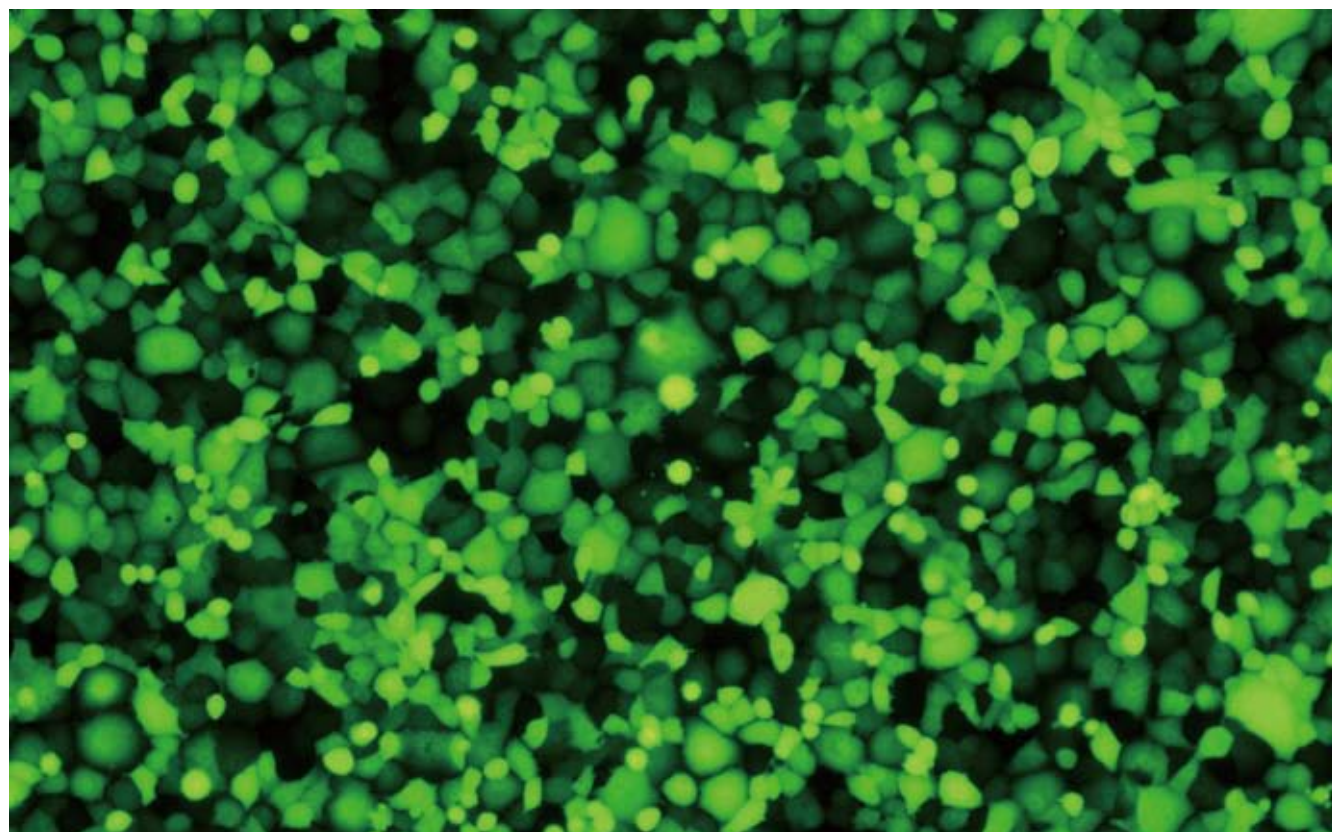
ISSN 1009-3079 (print)
ISSN 2219-2859 (online)
CN 14-1260/R

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2012 年 2 月 18 日 第 20 卷 第 5 期 (Volume 20 Number 5)



5/2012

ISSN 1009-3079



《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被美国《化学文摘》，荷兰《医学文摘库/医学文摘》和俄罗斯《文摘杂志》收录。

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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
张宗明教授
姚登福教授

编委

消化内科学

白爱平副教授
陈国忠主任医师
陈洪副教授
陈其奎教授
陈卫昌教授
陈贻胜教授
程斌教授
迟宝荣教授
崔立红教授
丁士刚教授
董蕾教授
杜雅菊主任医师
杜奕奇副教授
樊晓明教授
房静远教授
冯志杰主任医师
傅春彬主任医师
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
何松教授

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

林志辉教授
刘冰熔教授
刘凤斌教授
刘改芳主任医师
刘海峰主任医师
刘海林主任医师
陆伦根教授
马红主任医师
马欣主任医师
毛高平教授
孟庆华教授
倪润洲教授
欧希龙副教授
潘秀珍教授
朴云峰教授
秦成勇教授
任粉玉教授
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
宛新建副教授
王邦茂教授
王炳元教授
王承党教授
王江滨教授
王俊平教授
王晓艳副教授
夏冰教授
夏时海副教授
徐可树教授
杨建民教授

姚树坤教授
张国梁主任医师
张军教授
张小晋主任医师
张筱茵副教授
张志坚教授
郑培永副教授
郑鹏远教授
郑素军副主任医师
周国雄主任医师
周宇教授
邹晓平主任医师
诸琦教授
于珮主任医师

消化外科学

白雪巍副主任医师
蔡开琳副教授
蔡三军主任医师
曹杰主任医师
陈光教授
陈海龙教授
陈积圣教授
陈进宏副主任医师
陈凇教授
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
崔云南教授
戴朝六教授
戴冬秋教授
丁义涛教授
杜顺达副教授
房林副教授
傅红副教授
傅华群教授
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
何晓顺教授
何裕隆教授
黄志勇教授

季加孚教授
莫卫东教授
姜波健教授
金山主任医师
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
李胜研究员
李涛副主任医师
李文岗教授
李旭副教授
李永翔教授
李志霞教授
李宗芳教授
梁力建教授
刘宝林教授
刘超教授
刘建教授
刘颖斌主任医师
陆云飞教授
禄韶英副教授
吕云福教授
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
单云峰副主任医师
沈柏用副教授
施宝民教授
施诚仁教授
施晓雷副主任医师
石毓君研究员
宋振顺教授
孙诚谊教授
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
王德盛副主任医师
王凤山教授
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
徐泐副主任医师
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
于则利教授
禹正杨副教授
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
赵刚副教授
智绪亭教授
周伟平教授
邹小明教授

消化感染病学

陈国凤主任医师
陈红松研究员
陈建杰教授
陈志辉副主任医师
丁惠国教授
范建高教授
范小玲主任医师
范学工教授
高润平教授
高泽立副教授
龚国忠教授
管世鹤副教授
胡国信主任医师
靳雪源主任医师
刘正稳教授
钱林学主任医师

世界华人消化杂志®

编辑委员会

孙殿兴主任医师
谭德明教授
汤华研究员
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
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
南极星教授
牛英才研究员
王富春教授
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
李璦教授
刘宝瑞教授
刘平教授
刘云鹏教授
沈克平主任医师
王阁教授
向德兵副教授
肖文华主任医师
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
赵卫主任医师

消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师
茅爱武教授
孙明军教授
万军教授
袁友红副教授

消化中西医结合学

唐文富副教授
王学美研究员
魏睦新教授
杨钦河教授
张春虎副教授

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员

陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授

黄园教授
李刚教授
李君文研究员
李增山副教授
刘克辛教授
刘森副教授
任超世研究员
任浩副教授
任晓峰副教授
台桂香教授
谭学瑞教授
田文静副教授
汪思应教授
王钦红教授
魏继福研究员
吴道澄教授
吴军研究员

吴俊华副教授
徐宁志研究员
许文燮教授
阴赅宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师

消化病理学

杜祥教授
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
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 ● 2012年2月18日 第20卷 第5期 (总第373期)

基础研究

- 361 黄芪、三七及其配伍对萎缩性胃炎大鼠血清PGE₂、GAS、PG II 和EGF的影响
史瑞, 李晓红, 刘礼剑, 李健, 方蕾, 蔡大勇, 李军祥
- 368 塞来昔布对胃癌MGC-803细胞RECK、MMP-2、MMP-9基因表达的影响
钟鹰, 李国庆, 黄靓, 毛振江, 王恩湘, 钟茹, 粟滔
- 374 靶向胰腺癌PANC-1细胞整合素连接激酶基因RNA干扰质粒的构建及鉴定
刘宁, 刘伟, 马刚, 郭克建, 宋少伟

文献综述

- 380 中医“胃不和则卧不安”理论与消化系统疾病及失眠的关系
张压西, 石松
- 385 肝癌的综合治疗及肿瘤抗血管联合疗法
常宗宏, 汪泳, 吴汉平
- 389 食物敏感与肠易激综合征研究进展
唐吟菡, 许树长, 吴萍
- 394 大肠癌与抑癌基因相关性的研究现状
项芳芳, 毛高平
- 399 γ -氨基丁酸及其受体在肿瘤发生发展中的作用
施言, 王少慧, 张发明

研究快报

- 405 尼美舒利抑制乙基硝基亚硝基胍诱导大鼠胃癌癌前病变的作用机制
张丽, 刘文忠, 陆红, 陈晓宇, 彭延申
- 410 参苓白术散对脾虚湿困型溃疡性结肠炎大鼠血清EGF、SOD、MDA的影响
李姿慧, 王键, 王又闻, 蔡荣林, 孙娟, 叶铭钢
- 414 5-氟尿嘧啶/纳米蒙脱土缓释药物的制备及性能
田智慧, 路新卫, 朱全红, 朱志博, 韦莉萍, 丁婷, 周春琼

临床经验

- 418 中国藏族PSCA基因rs2294008多态性与胃癌遗传易感性的关系
赵久达, 耿排力, 赵君慧, 王丽娟, 姬发祥, 李进章, 曹成珠, 贺菊香
- 422 食管隆起病灶EMR术后创面出血内镜治疗33例
龚勇, 全巧云, 朱宗耀
- 425 超声内镜弹性成像在良恶性胰腺病变鉴别中的应用价值
徐凯, 徐萍, 任大宾, 李清华, 杨静, 于海滨
- 430 胶囊内镜下小肠黏膜特征分析53例
谢宏民, 李佳璇, 杨新魁
- 434 内镜套扎治疗结肠黏膜下肿瘤40例
徐博, 赵志峰, 赵云峰, 张宁, 麻树人, 宫照杰, 田浩洋, 金晓龙
- 438 婴幼儿轮状病毒性肠炎多干预措施的荟萃分析
倪容华, 唐惠林, 翟所迪, 李在玲

附 录	444 《世界华人消化杂志》投稿须知 449 2012年国内国际会议预告
志 谢	450 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	367 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.694 379 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 404 《世界华人消化杂志》外文字符标准 409 《世界华人消化杂志》正文要求 413 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 417 《世界华人消化杂志》参考文献要求 424 2011年度《世界华人消化杂志》发文情况 429 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 433 《世界华人消化杂志》入选《中国学术期刊评价研究报告-RCCSE权威、核心期刊排行榜与指南》 437 《世界华人消化杂志》修回稿须知
封面故事	刘宁, 刘伟, 马刚, 郭克建, 宋少伟. 靶向胰腺癌PANC-1细胞整合素连接激酶基因RNA干扰质粒的构建及鉴定. 世界华人消化杂志 2012; 20(5): 374-379 http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/374.asp
本期责任人	编务 周媛; 送审编辑 李军亮, 张姗姗; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 张姗姗; 形式规范审核编辑部主任 李军亮; 最终清样审核总编辑 马连生

<p>世界华人消化杂志</p> <p>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</p> <p>吴阶平 题写封面刊名 陈可冀 题写版权刊名 (旬刊)</p> <p>创 刊 1993-01-15 改 刊 1998-01-25 出 版 2012-02-18 原刊名 新消化病学杂志</p> <p>期 刊 名 称 世界华人消化杂志 主 管 单 位 山西省科学技术厅 主 办 单 位 太原消化病防治中心</p> <p>编 辑 世界华人消化杂志编辑委员会 030001, 山西省太原市双塔西街77号 电话: 0351-4078656 E-mail: wcjd@wjgnet.com http://www.wjgnet.com</p> <p>出 版 世界华人消化杂志编辑部 030001, 山西省太原市双塔西街77号 电话: 0351-4078656 E-mail: wcjd@wjgnet.com http://www.wjgnet.com</p>	<p>主 编 程英升, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心 党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科 江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科 刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科 刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院胃肠内科 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</p> <p>编 辑 部 主 任 李军亮</p>	<p>印刷 北京科信印刷厂 发行 国内: 北京报刊发行局 国外: 中国国际图书贸易总公司 (100044, 北京市399信箱) 订购 全国各地邮电局</p> <p>《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊, 是一份被《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊.《世界华人消化杂志》的英文摘要被美国《化学文摘》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘》和俄罗斯《文摘杂志》收录.</p> <p>《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者、编者之间的信息反馈交流.</p> <p>特别声明 本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.</p> <p>2012年版权归世界华人消化杂志所有</p>
---	--	---

World Chinese Journal of Digestology

February 2012 Contents in Brief Volume 20 Number 5

BASIC RESEARCH	<p>361 Effect of Astragalus, Panax notoginseng and their compatibility on serum levels of prostaglandin E2, gastrin, pepsinogen II, and epidermal growth factor in rats with atrophic gastritis <i>Shi R, Li XH, Liu LJ, Li J, Fang L, Cai DY, Li JX</i></p> <p>368 Celecoxib down-regulates RECK expression and up-regulates MMP-2 and MMP-9 expression in human gastric cancer cell line MGC-803 <i>Zhong Y, Li GQ, Huang L, Mao ZJ, Wang EX, Zhong R, Su T</i></p> <p>374 Construction and identification of plasmids carrying small interfering RNAs targeting the ILK gene <i>Liu N, Liu W, Ma G, Guo KJ, Song SW</i></p>
REVIEW	<p>380 Correlation between digestive diseases and insomnia based on the "Insomnia Following Stomach Disorders" theory in traditional Chinese medicine <i>Zhang YX, Shi S</i></p> <p>385 Anti-angiogenesis-based combined therapy for primary liver cancer <i>Chang ZH, Wang Y, Wu HP</i></p> <p>389 Irritable bowel syndrome and food allergy <i>Tang YH, Xu SC, Wu P</i></p> <p>394 Association between colorectal cancer and tumor suppressor genes: recent research progress <i>Xiang FF, Mao GP</i></p> <p>399 Role of γ-aminobutyric acid and its receptors in carcinogenesis <i>Shi Y, Wang SH, Zhang FM</i></p>
RAPID COMMUNICATION	<p>405 Inhibitory effect of nimesulide on the development of N-ethyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine-induced gastric precancerous lesions in rats <i>Zhang L, Liu WZ, Lu H, Chen XY, Peng YS</i></p> <p>410 Effect of Shenlingbaizhu powder on serum levels of EGF, SOD and MDA in ulcerative colitis rats with syndrome of dampness stagnancy due to spleen deficiency <i>Li ZH, Wang J, Wang YW, Cai RL, Sun J, Ye MG</i></p> <p>414 Sustained-release 5-fluorouracil/nano montmorillonite: preparation and property evaluation <i>Tian ZH, Lu XW, Zhu QH, Zhu ZB, Wei LP, Ding T, Zhou CQ</i></p>
CLINICAL PRACTICE	<p>418 Relationship between the rs2294008 polymorphism of the PSCA gene and susceptibility to gastric cancer in Tibetans <i>Zhao JD, Geng PL, Zhao JH, Wang LJ, Ji FX, Li JZ, Cao CZ, He JX</i></p> <p>422 Endoscopic treatment of wound bleeding after EMR for protuberant lesions of the esophagus: an analysis of 33 cases <i>Gong Y, Tong QY, Zhu ZY</i></p> <p>425 EUS elastography for the differential diagnosis of pancreatic masses <i>Xu K, Xu P, Ren DB, Li QH, Yang J, Yu HB</i></p> <p>430 Characteristics of the small intestine revealed by capsule endoscopy in 53 patients with gastrointestinal disorders <i>Xie HM, Li JX, Yang XK</i></p> <p>434 Treatment of submucosal tumors of the colon by loop ligature: an analysis of 40 cases <i>Xu B, Zhao ZF, Zhao YF, Zhang N, Ma SR, Gong ZJ, Tian HY, Jin XL</i></p> <p>438 Multiple treatments for infantile rotavirus enteritis: a network meta-analysis <i>Ni RH, Tang HL, Zhai SD, Li ZL</i></p>

APPENDIX	444 Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> 449 Meeting events calendar in 2012
ACKNOWLEDGMENT	450 Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
COVER	<i>Liu N, Liu W, Ma G, Guo KJ, Song SW.</i> Construction and identification of plasmids carrying small interfering RNAs targeting the ILK gene. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2012; 20(5): 374-379 http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/374.asp
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: <i>Yuan Zhou</i> Review Editor: <i>Jun-Liang Li, Shan-Shan Zhang</i> Electronic Page Editor: <i>Jin-Li Yan</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Shan-Shan Zhang</i> Proof Editor: <i>Jun-Liang Li</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date February 18, 2012

NAME OF JOURNAL
World Chinese Journal of Digestology

RESPONSIBLE INSTITUTION
Department of Science and Technology
of Shanxi Province

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

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

PRINTING
Beijing Kexin Printing House

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

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

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, Hangzhou 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

SCIENCE EDITORS

Director: Jun-Liang Li

SUBSCRIPTION

RMB 68 Yuan for each issue
RMB 2448 Yuan for one year

CSSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
CN 14-1260/R

COPYRIGHT

© 2012 Published by *World Chinese Journal of Digestology (WCJD)*. All rights reserved; no part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise without the prior permission of *WCJD*. Authors are required to grant *WCJD* an exclusive licence to publish.

SPECIAL STATEMENT

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

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

Copyright © 2012 by Editorial Department of *World Chinese Journal of Digestology*

黄芪、三七及其配伍对萎缩性胃炎大鼠血清PGE₂、GAS、PG II和EGF的影响

史瑞, 李晓红, 刘礼剑, 李健, 方蕾, 蔡大勇, 李军祥

史瑞, 李晓红, 刘礼剑, 李军祥, 北京中医药大学东方医院 北京市 100078

李健, 北京中医药大学基础医学院组织与胚胎学教研室 北京市 100029

方蕾, 蔡大勇, 中国医学科学院/中国协和医科大学药用植物研究所 北京市 100193

史瑞, 主治医师, 主要从事中医药防治脾胃病的研究.

国家自然科学基金资助项目, No. 30973741

作者贡献分布: 本课题由史瑞与李军祥共同设计; 研究过程由史瑞、李晓红及刘礼剑共同完成; 数据分析由史瑞、方蕾及蔡大勇共同完成; 写作由史瑞完成, 李晓红修改, 李健与李军祥指导.

通讯作者: 李军祥, 教授, 主任医师, 博士生导师, 100078, 北京市, 北京中医药大学东方医院消化内科. lijx970508@sohu.com
电话: 010-67689766

收稿日期: 2011-07-29 修回日期: 2011-12-19

接受日期: 2012-02-16 在线出版日期: 2012-02-18

Effect of Astragalus, Panax notoginseng and their compatibility on serum levels of prostaglandin E₂, gastrin, pepsinogen II, and epidermal growth factor in rats with atrophic gastritis

Rui Shi, Xiao-Hong Li, Li-Jian Liu, Jian Li, Lei Fang, Da-Yong Cai, Jun-Xiang Li

Rui Shi, Xiao-Hong Li, Li-Jian Liu, Jun-Xiang Li, Beijing University of Chinese Medicine Subsidiary Dongfang Hospital, Beijing 100078, China

Jian Li, Department of Histology, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Lei Fang, Da-Yong Cai, Institute of Medicinal Plant Development, Peking Union Medical College, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100193, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30973741

Correspondence to: Jun-Xiang Li, Professor, Department of Gastroenterology, Beijing University of Chinese Medicine Subsidiary Dongfang Hospital, Beijing 100078, China. lijx970508@sohu.com

Received: 2011-07-29 Revised: 2011-12-19

Accepted: 2012-02-16 Published online: 2012-02-18

Abstract

AIM: To evaluate the effect of Astragalus, Panax notoginseng and their compatibility on serum levels of prostaglandin E₂ (PGE₂), gastrin (GAS), pepsinogen II (PGII), and epidermal growth factor (EGF) in rats with atrophic gastritis.

METHODS: Forty healthy male Wistar rats were randomized into 7 groups: control group, sham operation group, model group, teprenone group, Astragalus group, Panax notoginseng group, and Astragalus plus Panax notoginseng group. Atrophic gastritis was induced by implanting a pylorus spring and intragastrically administering hot salty starch paste. In the one-month therapeutic phase, the control, sham operation and model groups were given normal saline 2 mL daily. The Astragalus group was given water decoction of Astragalus containing crude drug 3.5 g/(kg·d). The Panax notoginseng group was infused with Panax notoginseng powder containing crude drug 0.7 g/(kg·d). The Astragalus plus Panax notoginseng group was given both Panax notoginseng powder and Astragalus water decoction. The teprenone group was given teprenone water suspension containing teprenone 200 mg/(kg·d). All drugs were given by gavage for one month. Serum levels of PGE₂, gastrin, EGF and PGII were measured by radioimmunoassay or ELISA. Pathological assessment of stomach mucosa was performed using hematoxylin and eosin staining method.

RESULTS: Serum levels of EGF had no significant differences among different groups. Serum levels of PGE₂ in the Panax notoginseng group and Astragalus plus Panax notoginseng group were significantly higher than that in the model group (41.511 ng/L ± 5.666 ng/L, 42.033 ng/L ± 5.150 ng/L vs 30.896 ng/L ± 5.964 ng/L, $P < 0.01$ and 0.05). Serum level of GAS in the Astragalus group was significantly higher than that in the model group (99.732 ng/L ± 16.123 ng/L vs 68.207 ng/L ± 5.866 ng/L, $P < 0.01$). Serum levels of PGII in the Astragalus group and Panax notoginseng group were significantly higher than that in the model group (9.275 μg/L ± 0.506 μg/L, 9.268 μg/L ± 0.931 μg/L vs 7.026 μg/L ± 0.638 μg/L, both $P < 0.01$). Gastric mucosal volume constituent ratio (GMVR) increased in the Astragalus group, Panax notoginseng group and Astragalus plus Panax notoginseng group compared to the model group, but showed no statistical difference

■背景资料

萎缩性胃炎(atrophic gastritis, AG)为我国的常见病和疑难病, 黄芪、三七分别为健脾益气和活血化瘀药的代表药, 多用于治疗AG, 但在临床实践中多以复方形式存在.

■同行评议者

任建林, 教授, 厦门大学附属中山医院消化内科; 郑鹏远, 教授, 郑州大学第二附属医院消化科

■研究前沿

黄芪与三七单用和配伍用于纠正AG大鼠胃黏膜萎缩,其疗效相似,但配伍后的作用机制并不是二药机制的简单叠加,也不是二药各自机制的简单增强,二药配伍后的作用机制可能是二药各自多种成分更复杂的相互作用的结果,有待于进一步研究。

with that in the teprenone group (all $P > 0.05$).

CONCLUSION: Astragalus, Panax notoginseng and their compatibility improve mucosal atrophy possibly by increasing serum levels of PGE2, GAS and PGII in rats with atrophic gastritis.

Key Words: Atrophic gastritis; Astragalus; Panax notoginseng; Prostaglandin E2; Gastrin; Pepsinogen; Epidermal growth factor

Shi R, Li XH, Liu LJ, Li J, Fang L, Cai DY, Li JX. Effect of Astragalus, Panax notoginseng and their compatibility on serum levels of prostaglandin E2, gastrin, pepsinogen II, and epidermal growth factor in rats with atrophic gastritis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(5): 361-367

摘要

目的: 阐明黄芪、三七及其配伍对萎缩性胃炎大鼠血清前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2)、胃泌素(gastrin, GAS)、胃蛋白酶原II(pepsinogen II, PG II)、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)的影响。

方法: 清洁级♂Wistar大鼠40只,随机分为空白组、假手术组、模型组、替普瑞酮组、黄芪组、三七组、黄芪+三七组。运用幽门弹簧法制备萎缩性胃炎模型,灌胃治疗1 mo,空白组、假手术组、模型组予生理盐水2 mL/d;黄芪组予黄芪水煎剂3.5 g/(kg·d);三七组予三七粉冲剂0.7 g/(kg·d);黄芪+三七组予黄芪三七溶液(黄芪3.5 g/(kg·d),三七0.7 g/(kg·d));替普瑞酮组予替普瑞酮200 mg/(kg·d),治疗结束后,放射免疫法测定血清PGE2、GAS、EGF水平,ELISA法测定血清PG II水平,HE染色观察胃黏膜病理改变。

结果: 血清EGF水平各组间无显著差异。与模型组比较,黄芪+三七组、三七组血清PGE2升高(41.511 ng/L \pm 5.666 ng/L, 42.033 ng/L \pm 5.150 ng/L vs 30.896 ng/L \pm 5.964 ng/L, $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);黄芪组血清GAS升高(99.732 ng/L \pm 16.123 ng/L vs 68.207 ng/L \pm 5.866 ng/L, $P < 0.01$),黄芪、三七组血清PG II升高(9.275 μ g/L \pm 0.506 μ g/L, 9.268 μ g/L \pm 0.931 μ g/L vs 7.026 μ g/L \pm 0.638 μ g/L, $P < 0.01$),黄芪组、三七组和黄芪+三七组胃黏膜体积构成比升高($P < 0.01$),与替普瑞酮比较,差异无统计学差异($P > 0.05$),三个治疗组间亦无统计学差异($P > 0.05$)。

结论: 黄芪、三七及其配伍均可改善萎缩性胃炎大鼠胃黏膜萎缩,其治疗机制与升高血清

PGE2、GAS、PG II水平相关,但3种组合的治疗机制各有侧重。

关键词: 萎缩性胃炎; 黄芪; 三七; 前列腺素E2; 胃泌素; 胃蛋白酶原II; 表皮生长因子

史瑞, 李晓红, 刘礼剑, 李健, 方蕾, 蔡大勇, 李军祥. 黄芪、三七及其配伍对萎缩性胃炎大鼠血清PGE2、GAS、PG II和EGF的影响. *世界华人消化杂志* 2012; 20(5): 361-367

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/361.asp>

0 引言

萎缩性胃炎(atrophic gastritis, AG)为我国的常见病和疑难病,症状多见胃脘隐痛、喜温喜按、面色不华、倦怠乏力、食少便溏、舌淡胖、边有齿痕、脉沉细无力等脾虚证表现。久病多瘀,AG患者也兼见胃脘隐痛、痛有定处,舌有瘀斑,舌下脉络曲张等血瘀证表现,胃镜下黏膜萎缩呈颗粒状、皱褶变平、血管透见、可有灰色肠上皮化生结节,故脾胃气虚,瘀血内停证为AG的常见证型之一。黄芪、三七分别为健脾益气 and 活血化瘀药的代表药,多用于治疗AG,但在临床实践中多以复方形式存在。为了阐明黄芪、三七及其配伍治疗萎缩性胃炎的机制,本文运用黄芪、三七及二者配伍治疗大鼠AG,旨在阐明黄芪、三七及其配伍对萎缩性胃炎大鼠血清前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2)、胃泌素(gastrin, GAS)、胃蛋白酶原II(pepsinogen II, PG II)、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)的影响,为治疗AG新药开发奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料 Wistar大鼠,40只,♂,体质量200 g \pm 20 g,清洁级,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,实验动物许可证编号:SCXK(京)2006-0009。黄芪:产自内蒙古,三七粉:产自云南,均购自北京同仁堂药材有限公司;替普瑞酮胶囊:由卫材(中国)药业有限公司生产;PGE2放射免疫分析试剂盒、GAS放免测定盒(北京华英生物技术研究所)、EGF放免盒均购自北京华英生物技术研究所;大鼠PG II定量检测试剂盒(ELISA)(Rapidbio,美国)。

1.2 方法

1.2.1 造模: 造模时间为4 mo,参考史瑞等^[1]研究。

1.2.2 分组及给药: Wistar大鼠,按体质量随机区组设计法随机分为空白组、假手术组、模型组。

表 1 各组大鼠血清PGE2、GAS、EGF、PG II 水平 (mean ± SD)

分组	n	PGE2(ng/L)	GAS(ng/L)	EGF(μg/L)	PG II (μg/L)
空白组	5	38.702 ± 6.197	88.104 ± 20.752	0.995 ± 0.341	9.047 ± 0.514
假手术组	6	41.509 ± 3.891	96.499 ± 14.127	1.087 ± 0.380	9.212 ± 1.739
模型组	6	30.896 ± 5.964 ^b	68.207 ± 5.866 ^a	1.044 ± 0.269	7.026 ± 0.638 ^b
替普瑞酮组	7	37.742 ± 5.026 ^c	108.895 ± 17.935 ^d	0.827 ± 0.230	9.095 ± 1.002 ^d
黄芪组	6	36.612 ± 3.931	99.732 ± 16.123 ^d	0.723 ± 0.179	9.275 ± 0.506 ^d
三七组	5	42.033 ± 5.150 ^d	86.931 ± 26.574	0.767 ± 0.136	9.268 ± 0.931 ^d
黄芪+三七组	5	41.511 ± 5.666 ^d	81.989 ± 24.913	0.669 ± 0.185	7.987 ± 1.197

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 假手术组; ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$ vs 模型组.

空白组予生理盐水2 mL/d灌胃; 假手术组(未植入幽门弹簧, 余同模型组)予生理盐水2 mL/d灌胃; 模型组模型制备参见史瑞等^[1]幽门弹簧置入联合高盐热淀粉糊灌胃法, 模型成功后, 将模型组大鼠按体质量随机区组设计法随机分为模型组、黄芪组、三七组、黄芪+三七组、替普瑞酮组. 模型组予生理盐水2 mL/d灌胃; 黄芪组予黄芪水煎剂3.5 g/(kg·d)灌胃; 三七组予三七粉冲剂0.7 g/(kg·d)灌胃; 黄芪+三七组予黄芪三七溶液灌胃(其中黄芪3.5 g/(kg·d), 三七0.7 g/(kg·d)), 替普瑞酮组予替普瑞酮200 mg/(kg·d), 治疗期为1 mo.

统计学处理 计量资料采用mean ± SD表示, 采用单因素方差分析, 数据采用SPSS16.0统计软件包进行统计分析.

2 结果

2.1 肉眼观察 空白组和假手术组: 前胃无明显变化, 腺胃黏膜被覆较多黏液, 黏膜红润, 胃壁质地柔软有弹性; 模型组: 前胃无明显变化, 腺胃黏膜表面黄染, 暴露黏膜颜色较空白组和假手术组略白, 胃壁质地较僵硬, 弹性下降, 个别大鼠胃黏膜有瘀点或/和溃疡. 各治疗组大鼠胃黏膜变薄, 黏膜颜色略苍白, 较模型组稍红润, 质地较空白组及假手术组僵硬, 但好于模型组.

2.2 血清学评价

2.2.1 PGE2: 模型组血清PGE2水平明显低于假手术组($P < 0.01$); 阳性药物替普瑞酮可以明显升高AG大鼠血清PGE2水平($P < 0.05$). 三七、黄芪+三七也可使AG大鼠血清PGE2水平升高($P < 0.01$), 且该效应与替普瑞酮比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 黄芪对血清PGE2的影响无统计学差异($P > 0.05$, 表1).

2.2.2 GAS: 模型组血清GAS水平明显低于假手术组($P < 0.05$), 阳性药物替普瑞酮治疗1 mo可以显著提高AG大鼠血清GAS水平($P < 0.01$); 黄芪

与替普瑞酮作用相似($P > 0.05$), 亦可提高AG大鼠血清GAS水平($P < 0.01$), 但三七和黄芪+三七对GAS的影响无统计学意义($P > 0.05$, 表1).

2.2.3 EGF: 各组大鼠血清EGF水平无统计学差异($P < 0.05$, 表1).

2.2.4 PG II: 模型组与假手术组比较, 血清PG II水平明显下降($P < 0.01$), 阳性药物替普瑞酮可以明显提高AG大鼠血清PG II($P < 0.01$), 黄芪、三七均可显著提高AG大鼠血清PG II水平($P < 0.01$), 黄芪+三七组中血清中PG II浓度与模型组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$). 黄芪、三七、替普瑞酮之间比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$, 表1).

2.3 病理学评价

2.3.1 HE染色光镜下观察: (1)空白组: 胃黏膜分为上皮、固有层、黏膜肌层, 层次分明, 结构清晰; 固有层胃底腺主细胞数量最多, 主要分布于腺的体、底部, 细胞呈柱状、核圆形, 位于基部; 胞质基部呈强嗜碱性, 壁细胞主要分布于在腺的颈、体部, 此细胞较大, 多呈圆锥形, 核圆而深染, 居中, 可有双核, 胞质呈均质而明显的嗜酸性(图1A); (2)假手术组: 正常胃黏膜, 胃黏膜分为上皮、固有层、黏膜肌层, 层次分明, 结构清晰; 固有层胃底腺主细胞数量最多, 主要分布于腺的体、底部, 细胞呈柱状、核圆形, 位于基部; 胞质基部呈强嗜碱性, 壁细胞主要分布于在腺的颈、体部, 此细胞较大, 多呈圆锥形, 核圆而深染, 居中, 可有双核, 胞质呈均质而明显的嗜酸性(图1B); (3)模型组: 出现胃黏膜萎缩基本病变. 100倍镜下从黏膜肌层到被覆上皮的腺体显著变薄, 黏膜肌层及黏膜下层结缔组织显著增厚; 200倍镜下从黏膜肌层到被覆上皮的腺体变薄, 腺腔扩大而腺体变小, 内容物质稀薄, 黏膜肌层及黏膜下层结缔组织增厚且血管有不同程度玻璃样变; 被覆上皮连续性缺失、无明显

■ 相关报道

中医理论认为, 黄芪性甘, 微温, 归肺、脾经. 日华子云: “黄芪, 助气壮筋骨, 长肉, 补血, 破癰”. 《名医别录》认为其“无毒, 逐五脏间恶血, 补丈夫虚损, 五劳羸瘦, 腹痛泄利, 益气, 利阴气”.

■应用要点

AG患者中进行胃蛋白酶原Ⅰ和Ⅱ检测以及胃蛋白酶原Ⅰ与胃蛋白酶原Ⅱ比值的连续测定,有助于评价治疗的有效性,胃蛋白酶原一定程度上反应胃黏膜萎缩程度。

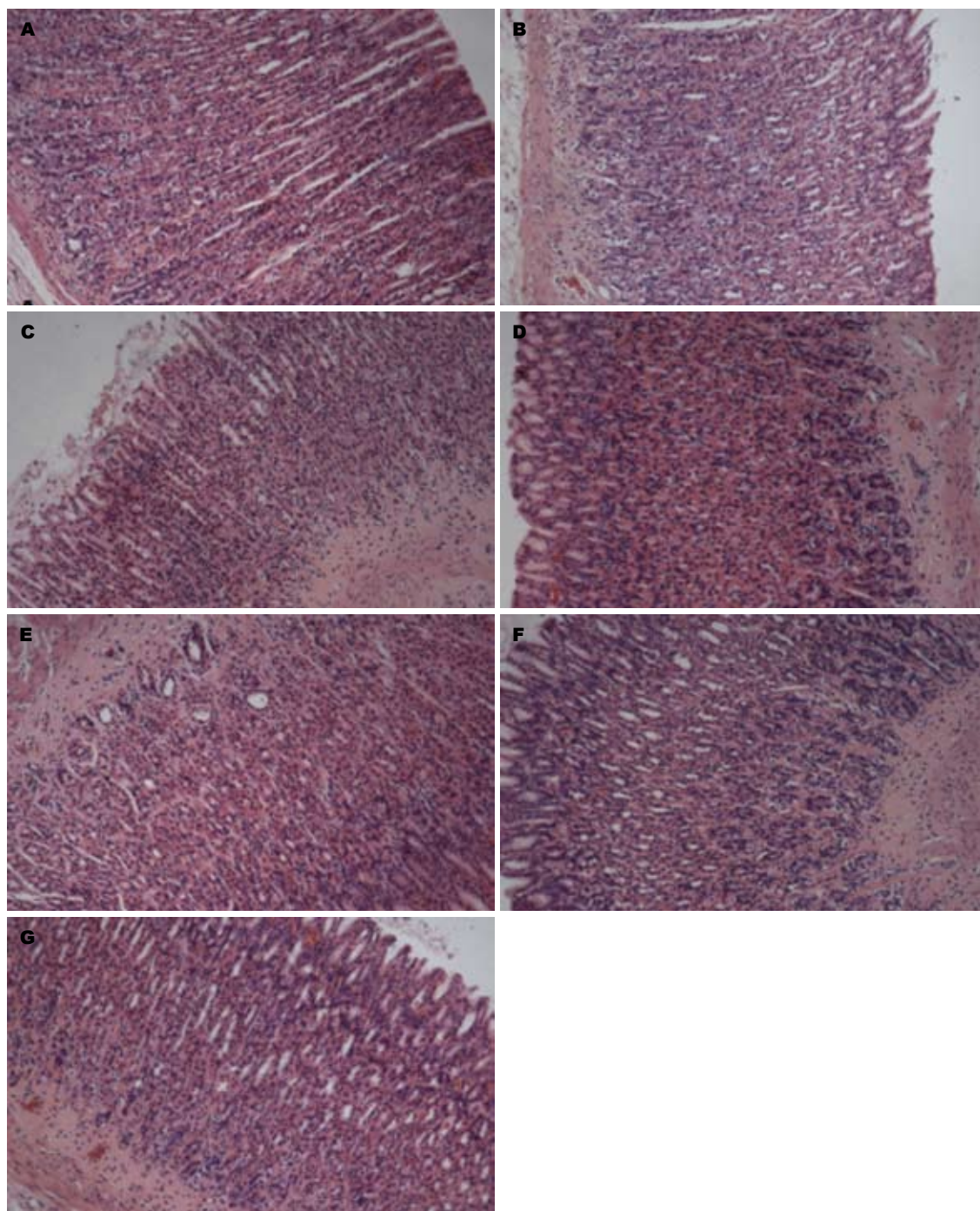


图1 各组大鼠胃黏膜石蜡切片HE染色($\times 100$). A: 空白组; B: 假手术组; C: 模型组; D: 替普瑞酮组; E: 黄芪组; F: 三七组; G: 黄芪+三七组。

溃疡形成; 400倍镜下萎缩腺体壁细胞数量显著减少, 出现空泡变; 萎缩腺体主细胞数量显著减少; 被覆上皮可找到杯状细胞样细胞和刷状缘明显的小肠样柱状上皮, 管状腺体体部的壁细胞和主细胞显著减少, 管状腺体颈部的未分化细胞数量有增多趋势, 管状腺体底部的增生细胞构成比有增大趋势; 固有层和黏膜下层有浆细胞与淋巴细胞浸润, 很少见到淋巴滤泡样结构; 黏膜下层血管内膜增生性炎症-静脉性充血-

水肿-黏膜肌层增厚; 黏膜下层神经纤维束无明显变化(图1C); (4)替普瑞酮组: 固有层细胞萎缩病变改善, 从黏膜肌层到被覆上皮的腺体厚度较薄, 黏膜肌层及黏膜下层较厚, 上皮连续; 管状腺体体部的壁细胞和主细胞减少程度显著减轻, 空泡变少见; 黏膜下层见浆细胞与淋巴细胞浸润, 固有层淋巴细胞浸润不明显(图1D); (5)黄芪组: 固有层细胞萎缩病变改善, 从黏膜肌层到被覆上皮的腺体厚度较薄, 黏膜肌层及黏膜下

层较厚, 上皮连续; 管状腺体体部的壁细胞和主细胞减少程度显著减轻, 空泡变少见; 黏膜下层见浆细胞与淋巴细胞浸润, 固有层淋巴细胞浸润不明显(图1E); (6)三七组: 黏膜肌层增厚病变改善, 从黏膜肌层到被覆上皮的腺体厚度较薄, 黏膜肌层及黏膜下层增厚显著改善, 上皮连续性较好; 管状腺体体部的壁细胞和主细胞减少, 空泡变少见; 黏膜下层见浆细胞与淋巴细胞浸润, 固有层淋巴细胞浸润不明显(图1F); (7)黄芪+三七组: 固有层细胞萎缩病变改善, 从黏膜肌层到被覆上皮的腺体厚度较薄, 黏膜肌层及黏膜下层较厚, 上皮连续性较好; 管状腺体体部的壁细胞和主细胞减少, 可见空泡变; 固有层和黏膜下层见浆细胞与淋巴细胞散在浸润(图1G)。

2.3.2 形态计量: 胃黏膜体积构成比越小, 其黏膜萎缩程度越重。治疗萎缩性胃炎1 mo后, 胃黏膜体积构成比空白组 0.8464 ± 0.0377 , 假手术组 0.8300 ± 0.0353 , 模型组 0.6747 ± 0.0143 , 替普瑞酮组 0.7430 ± 0.0332 , 黄芪组 0.7512 ± 0.0257 , 三七 0.7467 ± 0.0227 , 黄芪+三七 0.7370 ± 0.0171 , 假手术组与空白组相比, 差异无统计学意义($P>0.05$), 说明假手术对胃黏膜的体积构成比没有显著影响, 胃黏膜萎缩的改善, 均来自药物的影响。模型组与假手术组相比, 其胃黏膜体积构成比明显下降($P<0.01$); 替普瑞酮可以明显改善萎缩性胃炎大鼠胃黏膜的萎缩状态($P<0.01$), 黄芪、三七和黄芪+三七均能明显改善胃黏膜的萎缩状态($P<0.01$), 与替普瑞酮比较, 差异不显著($P>0.05$)。黄芪、三七、黄芪+三七各组之间亦无显著差异($P>0.05$)。

3 讨论

黄芪和三七分别是益气健脾法和活血化瘀法的代表中药, 二药配伍是益气活血法的代表。本实验结果显示, 黄芪、三七均可提高AG大鼠胃黏膜的体积构成比, 即改善胃黏膜萎缩病变, 二药单用与配伍使用相比, 其改善萎缩的程度并无统计学差异。中医理论认为, 黄芪性甘, 微温, 归肺、脾经。日华子云: “黄芪, 助气壮筋骨, 长肉, 补血, 破癥瘕”。《名医别录》认为其“无毒, 逐五脏间恶血, 补丈夫虚损, 五劳羸瘦, 腹痛泄利, 益气, 利阴气”。从以上本草记载可知, 黄芪有益气健脾、补虚生肌、“破癥瘕”的功效。AG患者多脾胃亏虚, 日久气虚运血无力, 血行迟滞致瘀, 遂致胃黏膜萎缩。黄芪一味兼具益气健脾、活血化瘀的功效, 与AG的基本病机相吻合,

故能改善胃黏膜萎缩。三七性甘、微苦, 温, 归肝、胃经, 能散瘀止血, 消肿定痛。《本草纲目拾遗》云“人参补气第一, 三七补血第一, 味同而功亦等, 故称人参三七, 为中药之最珍贵者”, 说明三七除了活血化瘀之外, 还有补血的作用。事实上, 三七与人参同属五加科植物, 其有效成分有多种类似, 如人参和三七均含有人参皂苷Rg1, 人参皂苷Re, 人参皂苷Rb1, 三七还有较好的滋补强壮作用, 如《药性蒙求》记载“三七, 味甘苦同人参, 故人并称曰参三七, 去疲损, 止吐衄, 补而不峻”, 所以三七在活血散瘀的基础上, 还有一定的健益脾胃之效, 从而改善胃黏膜萎缩。故黄芪、三七及二药配伍均可体现了益气活血的治疗原则, 直接针对AG脾胃气虚, 瘀血内阻的病机, 故可改善AG胃黏膜萎缩。

AG发生时伴随胃分泌功能下降, 本实验显示AG大鼠血清PGE₂、GAS、PG II水平明显低于假手术组, 而AG萎缩改善后, 其分泌功能亦有恢复, 如阳性药物替普瑞酮可以提高AG大鼠血清PGE₂、GAS、PG II水平, 改善胃黏膜萎缩。血清PGE₂、GAS、PG II水平的提高与萎缩的改善是同步的。黄芪、三七以及二药配伍在改善AG大鼠胃黏膜萎缩的同时, 对胃的分泌功能亦有改善。黄芪与三七均能提高AG大鼠PG II水平, 同时黄芪还可促进GAS分泌, 三七可促进PGE₂分泌, 二药纠正萎缩的机制不尽相同。黄芪三七配伍可以通过提高血清PGE₂水平改善胃黏膜萎缩。AG模型大鼠血清PGE₂、GAS、PG II较假手术组降低, 三七、黄芪+三七可提高其血清PGE₂水平, 黄芪可提高GAS水平, 黄芪、三七均能提高PG II水平, 而该法制备的AG大鼠模型, 其血清EGF水平与假手术组比较无明显变化。

PG II为主细胞和黏液颈细胞分泌, 主要功能是合成胃蛋白酶原这一胃蛋白酶的前体, 间接提高胃消化蛋白的能力, 同时目前测定血清胃蛋白酶原水平已成为评价胃黏膜萎缩的标志物之一^[2]。人类有2种胃蛋白酶原由主细胞和黏液颈细胞分泌, PG I由泌酸腺分泌, PG II由泌酸黏膜和胃窦黏膜分泌。有阳性胃癌家族史时低血清胃蛋白酶原反应胃萎缩, 可能作为筛选胃癌高危人群的标志物^[3]。AG患者中进行PG I和PG II检测以及PG I与PG II比值的连续测定, 有助于评价治疗的有效性^[4], 血清胃蛋白酶原一定程度上反应胃黏膜萎缩程度。同时, 因为大鼠体内并没有与人同源的PG I, 只有PG II^[5], 故单纯测定PG II。黄芪和三七均能促进PG II的合成,

■同行评价

本研究设计合理, 方法先进, 具有一定的理论意义和潜在的临床价值。

进而促进蛋白消化,改善其暖气、腹胀、痞满等消化不良的症状。

前列腺素是胃黏膜局部防御机制中的重要因素^[6],内源性PGE2主要来源于膜甘油磷脂,甘油磷脂在环氧合酶(COX-1或COX-2)的作用下生成PGH₂,PGH₂在前列腺素E合成酶(PGE synthase, PGES)的作用下生成PGE₂,其对胃酸分泌和胃黏膜营养、保护等方面起着重要作用^[7,8]。PGE₂有4个不同的受体,EP₁, EP₂, EP₃, EP₄^[9],该受体为G蛋白耦联受体,PGE₂发挥不同的功能其利用的受体不同。PGE₂的细胞保护表现在直接抑制壁细胞分泌胃酸(EP₃)^[10],间接抑制组胺引起的胃酸分泌^[11,12],直接舒张胃黏膜血管^[13],增加胃黏膜血流量^[14],促进生成黏液^[15](EP₄)^[16],保护胃黏膜免于胃酸损伤^[17],促进碳酸氢盐分泌^[18](EP₁)^[19],在胃上皮表面形成黏液-碳酸氢盐保护层^[20],中和氢离子,防止胃腔氢离子反向弥散到胃黏膜,PGE₂促进黏液及碳酸氢盐的剂量远低于抑制胃酸的剂量。胃黏膜表面上皮细胞一旦受损,PGE₂即促进胃黏膜细胞从未损伤的小凹和颈腺区移动到损伤部位进行快速重建^[21,22],并且迅速使表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)磷酸化,激活细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase 2, ERK2)-有丝分裂(mitogenic)信号通路,该受体及其所介导的信号转导参与调节胃黏膜上皮更新和修复过程^[23],可以营养胃黏膜细胞^[24]。

GAS由胃窦部G细胞分泌,由于胃窦黏膜的萎缩,G细胞数量减少,胃泌素的分泌也下降^[25],可以反映胃黏膜萎缩的情况^[26-28]。GAS主要功能为促进胃酸分泌,生理剂量的胃酸可以使胃蛋白酶原活化成胃蛋白酶,促进蛋白消化,同时还可以促进食物中铁质、钙质和维生素B₁₂的吸收,防止细菌过度生长、防止肠源性感染、减少或消除食物的致敏性^[29]。还具有营养,保护胃黏膜,增强胃黏膜保护因子,增强胃动力的作用^[30-32]。可见黄芪和三七均可提高AG大鼠胃黏膜的胃蛋白酶原合成能力,黄芪还可促进胃酸分泌,三七对胃黏膜细胞有保护作用。二者纠正胃黏膜萎缩的机制各有偏重。

黄芪与三七单用和配伍用于纠正AG大鼠胃黏膜萎缩,其疗效相似,但配伍后的作用机制并不是二药机制的简单叠加,也不是二药各自机制的简单增强,二药配伍后的作用机制可能是二药各自多种成分更复杂的相互作用的结果,有待于进一步研究。

4 参考文献

- 1 史瑞,李晓红,方蕾,李健,蔡大勇,李军祥,刘礼剑. 弹簧幽门植入术结合高盐热淀粉糊灌胃诱导大鼠萎缩性胃炎模型的方法及评价. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1001-1008
- 2 Lomba-Viana R, Dinis-Ribeiro M, Fonseca F, Vieira AS, Bento MJ, Lomba-Viana H. Serum pepsinogen test for early detection of gastric cancer in a European country. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2012; 24: 37-41
- 3 Fock KM, Talley NJ, Moayyedi P, Hunt R, Azuma T, Sugano K, Xiao SD, Lam SK, Goh KL, Chiba T, Uemura N, Kim JG, Kim N, Ang TL, Mahachai V, Mitchell H, Rani AA, Liou JM, Vilaichone RK, Sollano J. Asia-Pacific consensus guidelines on gastric cancer prevention. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 351-365
- 4 Xiaoping Lin, Qingsheng Wang. Application of meta-analysis in evidence-based oncology. *Chin J Clin Oncol* 2008; 5: 1-9
- 5 Lai KH, Wyckoff JB, Samloff IM. Aspartic proteinases in gastric mucosa of the rat: absence of pepsinogen I, genetic polymorphism of pepsinogen II, and presence of slow-moving proteinase. *Gastroenterology* 1988; 95: 295-301
- 6 Izgüt-Uysal VN, Derin N, Ağaç A. Protective effect of L-carnitine on gastric mucosal barrier in rats exposed to cold-restraint stress. *Indian J Gastroenterol* 2001; 20: 148-150
- 7 Cryer B. Mucosal defense and repair. Role of prostaglandins in the stomach and duodenum. *Gastroenterol Clin North Am* 2001; 30: 877-94, v-vi
- 8 Wallace JL. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and the gastrointestinal tract. Mechanisms of protection and healing: current knowledge and future research. *Am J Med* 2001; 110: 19S-23S
- 9 Simmons DL, Botting RM, Hla T. Cyclooxygenase isozymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition. *Pharmacol Rev* 2004; 56: 387-437
- 10 Holm L, Jägar A. Role of prostaglandins in regulation of gastric mucosal blood flow and acid secretion. *Am J Physiol* 1992; 263: G446-G451
- 11 Konturek PC, Brzozowski T, Raithel M, Sliwowski Z, Konturek SJ, Neurath MF. Acute gastric lesions induced by the administration of histamine to rats with partial vascular occlusion: evidence for the gastroprotective effect of prostaglandin. *Inflamm Res* 2010; 59 Suppl 2: S239-S241
- 12 Robert A, Nezamis JE, Lancaster C, Hanchar AJ. Cytoprotection by prostaglandins in rats. Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl, and thermal injury. *Gastroenterology* 1979; 77: 433-443
- 13 Konturek SJ, Robert A, Hanchar AJ, Nezamis JE. Comparison of prostacyclin and prostaglandin E₂ on gastric secretion, gastrin release, and mucosal blood flow in dogs. *Dig Dis Sci* 1980; 25: 673-679
- 14 Whittle BJ, Boughton-Smith NK, Moncada S, Vane JR. Actions of prostacyclin (PGI₂) and its product, 6-oxo-PGF₁α on the rat gastric mucosa in vivo and in vitro. *Prostaglandins* 1978; 15: 955-967
- 15 Johansson C, Kollberg B. Stimulation by intragastrically administered E₂ prostaglandins of human gastric mucus output. *Eur J Clin Invest* 1979; 9: 229-232
- 16 Takahashi S, Takeuchi K, Okabe S. EP₄ receptor mediation of prostaglandin E₂-stimulated mucus secretion by rabbit gastric epithelial cells. *Biochem Pharmacol* 1999; 58: 1997-2002

- 17 Allen A, Garner A. Mucus and bicarbonate secretion in the stomach and their possible role in mucosal protection. *Gut* 1980; 21: 249-262
- 18 Takeuchi K, Ukawa H, Kato S, Furukawa O, Araki H, Sugimoto Y, Ichikawa A, Ushikubi F, Narumiya S. Impaired duodenal bicarbonate secretion and mucosal integrity in mice lacking prostaglandin E-receptor subtype EP(3). *Gastroenterology* 1999; 117: 1128-1135
- 19 Takeuchi K, Tanaka A, Kato S, Aihara E, Amagase K. Effect of (S)-4-(1-(5-chloro-2-(4-fluorophenoxy)benzamido)ethyl) benzoic acid (CJ-42794), a selective antagonist of prostaglandin E receptor subtype 4, on ulcerogenic and healing responses in rat gastrointestinal mucosa. *J Pharmacol Exp Ther* 2007; 322: 903-912
- 20 Bahari HM, Ross IN, Turnberg LA. Demonstration of a pH gradient across the mucus layer on the surface of human gastric mucosa in vitro. *Gut* 1982; 23: 513-516
- 21 Lacy ER, Ito S. Microscopic analysis of ethanol damage to rat gastric mucosa after treatment with a prostaglandin. *Gastroenterology* 1982; 83: 619-625
- 22 Tarnawski A, Hollander D, Stachura J, Krause WJ, Gergely H. Prostaglandin protection of the gastric mucosa against alcohol injury--a dynamic time-related process. Role of the mucosal proliferative zone. *Gastroenterology* 1985; 88: 334-352
- 23 钟艳, 严洁. 表皮生长因子受体与胃粘膜损伤修复的研究进展. *中外健康文摘* 2008; 5: 175-177
- 24 Pai R, Soreghan B, Szabo IL, Pavelka M, Baatar D, Tarnawski AS. Prostaglandin E2 transactivates EGF receptor: a novel mechanism for promoting colon cancer growth and gastrointestinal hypertrophy. *Nat Med* 2002; 8: 289-293
- 25 Germaná B, Di Mario F, Cavallaro LG, Moussa AM, Lecis P, Liatoupolou S, Comparato G, Carloni C, Bertiato G, Battiestel M, Papa N, Aragona G, Cavestro GM, Iori V, Merli R, Bertolini S, Caruana P, Franzé A. Clinical usefulness of serum pepsinogens I and II, gastrin-17 and anti-Helicobacterpylori antibodies in the management of dyspeptic patients in primary care. *Dig Liver Dis* 2005; 37: 501-508
- 26 Broutet N, Plebani M, Sakarovitch C, Sipponen P, Mégraud F. Pepsinogen A, pepsinogen C, and gastrin as markers of atrophic chronic gastritis in European dyspeptics. *Br J Cancer* 2003; 88: 1239-1247
- 27 Mårdh E, Mårdh S, Mårdh B, Borch K. Diagnosis of gastritis by means of a combination of serological analyses. *Clin Chim Acta* 2002; 320: 17-27
- 28 李红涛, 吴开春, 李彩宁, 乔泰东, 郭学刚, 王新, 郝志明, 宋瑛, 丁杰, 樊代明. 血清胃泌素对老年人慢性萎缩性胃炎的诊断. *中华老年医学杂志* 2004; 23: 238-240
- 29 Schubert ML. Gastric exocrine and endocrine secretion. *Curr Opin Gastroenterol* 2009; 25: 529-536
- 30 Adamu MA, Weck MN, Gao L, Brenner H. Incidence of chronic atrophic gastritis: systematic review and meta-analysis of follow-up studies. *Eur J Epidemiol* 2010; 25: 439-448
- 31 张忠, 孙丽萍, 宫月华, 张萌, 刘瑾, 王旭光, 袁媛. 胃粘膜癌变过程中血清胃泌素水平的变化及其影响因素的研究. *中国实用内科杂志* 2006; 26: 1878-1880
- 32 刘海鹰. 胃肠激素对中医脾胃学说的影响. *现代中西医结合杂志* 2006; 15: 1547-1549

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

• 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 0.694

本刊讯 2011-12-02, 一年一度的中国科技论文统计结果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, 2010年《世界华人消化杂志》总被引频次3458次, 影响因子0.694, 综合评价总分60.6分, 分别位居内科学类49种期刊的第5位、第7位、第6位, 分别位居1 998种中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)的第79位、第320位、第190位; 其他指标: 他引率0.83, 被引半衰期4.9, 来源文献量712, 文献选出率0.90, 参考文献量17963, 平均引文数25.23, 平均作者数4.35, 地区分布数29, 机构分布数349, 基金论文比0.45, 海外论文比0.01. (编辑部主任: 李军亮 2012-01-01)

塞来昔布对胃癌MGC-803细胞RECK、MMP-2、MMP-9基因表达的影响

钟鹰, 李国庆, 黄靛, 毛振江, 王恩湘, 钟茹, 栗滔

■背景资料

近年胃癌的治疗技术虽有明显提高,但其愈合仍然欠佳,癌细胞侵袭及转移是制约临床治疗效果的常见因素,是涉及众多基因变化的一系列复杂过程。

钟鹰, 王恩湘, 钟茹, 栗滔, 南华大学附属湘潭医院消化内科 湖南省湘潭市 411100

李国庆, 黄靛, 毛振江, 南华大学附属第二医院消化内科 湖南省衡阳市 421001

钟鹰, 硕士, 主治医师, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 钟鹰与李国庆对此文所作贡献均等; 此课题由钟鹰设计; 李国庆指导; 研究过程由钟鹰、黄靛及毛振江操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由钟鹰提供; 数据分析由钟鹰、王恩湘、钟茹及栗滔完成; 本论文写作由钟鹰、王恩湘、钟茹及栗滔完成, 李国庆指导。

通讯作者: 李国庆, 教授, 主任医师, 421001, 湖南省衡阳市, 南华大学附属第二医院消化内科. ligq1970@yahoo.com.cn 电话: 0734-8288962

收稿日期: 2011-08-25 修回日期: 2011-10-18

接受日期: 2011-11-04 在线出版日期: 2012-02-18

Celecoxib down-regulates RECK expression and up-regulates MMP-2 and MMP-9 expression in human gastric cancer cell line MGC-803

Ying Zhong, Guo-Qing Li, Liang Huang, Zhen-Jiang Mao, En-Xiang Wang, Ru Zhong, Tao Su

Ying Zhong, En-Xiang Wang, Ru Zhong, Tao Su, Department of Gastroenterology, the Affiliated Xiangtan Hospital of Nanhua University, Xiangtan 411100, Hunan Province, China

Guo-Qing Li, Liang Huang, Zhen-Jiang Mao, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Nanhua University, Hengyang 421001, Hunan Province, China

Correspondence to: Guo-Qing Li, Professor, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Nanhua University, Hengyang 421001, Hunan Province, China. ligq1970@yahoo.com.cn

Received: 2011-08-25 Revised: 2011-10-18

Accepted: 2011-11-04 Published online: 2012-02-18

Abstract

AIM: To explore the antitumor mechanisms of celecoxib by investigating the impact of non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) celecoxib on the expression of RECK, MMP-2 and MMP-9 in human gastric cancer cell line MGC-803.

METHODS: MGC-803 cells were starved in serum-free medium for 24 h and treated with different concentrations of celecoxib (25, 50, and 100 $\mu\text{g/L}$) for different durations (12, 24,

and 48 h). Cell proliferation was determined by MTT assay. The expression of MMP-9, MMP-2 and RECK mRNAs and proteins was detected by RT-PCR and Western blot, respectively.

RESULTS: Celecoxib inhibited MGC-803 cell proliferation in a concentration-dependent manner at 24 and 48 h but not at 12 h. The inhibitory effect was also time-dependent. Cell proliferation was mostly inhibited after treatment with celecoxib at a concentration of 100 $\mu\text{g/L}$ for 48 h. The expression of RECK, MMP-2 and MMP-9 mRNAs showed no significant differences (all $P > 0.05$) among cells treated with different concentrations of celecoxib for 12 h. After 12 h, celecoxib increased RECK mRNA expression in a concentration- and time-dependent manner, but decreased the expression of MMP-2 and MMP-9. Similar results were also obtained for RECK, MMP-2 and MMP-9 protein expression.

CONCLUSION: Celecoxib inhibits the proliferation and metastasis of MGC-803 cells possibly via mechanisms associated with up-regulation of RECK expression and down-regulation of MMP-2 and MMP-9 expression.

Key Words: Celecoxib; Gastric cancer; Cell proliferation; Matrix metalloproteinase; Reversion-inducing-cysteine-rich protein with kazal motifs

Zhong Y, Li GQ, Huang L, Mao ZJ, Wang EX, Zhong R, Su T. Celecoxib down-regulates RECK expression and up-regulates MMP-2 and MMP-9 expression in human gastric cancer cell line MGC-803. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(5): 368-373

摘要

目的: 研究非甾体类抗炎药(NSAID)塞来昔布对胃癌细胞MGC-803的抑制作用和对RECK、MMP-2、MMP-9基因表达的影响,以探讨塞来昔布的抗肿瘤机制。

方法: 培养胃癌MGC-803细胞,实验用不同浓度的塞来昔布(25、50、100 $\mu\text{g/L}$)分别处理MGC-803细胞不同时间(12、24 h、48 h),无

■同行评议者

傅春彬, 主任医师, 吉化集团公司总医院一院消化内科

血清培养基饥饿24 h达同步化后, MTT(噻唑蓝比色法)观察MGC-803细胞增殖; RT-PCR法检测细胞周期调控因子MMP-9、MMP-2、RECK mRNA的表达; Western blot法检测MMP-9、MMP-2、RECK mRNA蛋白的表达。

结果: MTT法显示塞来昔布能抑制胃癌MGC-803细胞增殖, 作用12 h时, 随着塞来昔布处理浓度的增高, 其抑制作用不明显, 组间比较差异不显著($P>0.05$), 在作用24、48 h时呈浓度依赖性(25-100 $\mu\text{g/L}$), 在25、50、100 $\mu\text{g/L}$ 作用浓度呈时间依赖性(24-48 h)。塞来昔布在100 $\mu\text{g/L}$ 浓度作用细胞48 h时抑制。RT-PCR法检测结果显示, 在12 h的作用时间点, 随着塞来昔布处理浓度的增高, RECK基因及MMP-2、MMP-9 mRNA变化不是很明显, 组间比较无显著差异($P>0.05$), 在12 h后, 塞来昔布能增加胃癌细胞RECK mRNA和蛋白表达, 作用呈浓度(25-100 $\mu\text{g/L}$)和时间依赖性(24-48 h), MMP-2、MMP-9表达则下降。Western blot法检测结果显示, 作用12 h时, 随着塞来昔布处理浓度的增高, 其RECK蛋白及MMP-2、MMP-9蛋白改变不明显, 组间比较差异不显著($P>0.05$), 在12 h以后, 塞来昔布能增加RECK mRNA和蛋白表达并减少MMP-2、MMP-9表达, 且作用呈浓度依赖性和时间依赖。

结论: 塞来昔布可抑制人胃癌MGC-803细胞增殖与转移; 其可能是通过上调RECK基因, 进而下调MMP-2、MMP-9来抑制胃癌细胞MGC-803的增殖与转移。

关键词: 塞来昔布; 胃癌; 细胞增殖; 基质金属蛋白酶; RECK基因

钟鹰, 李国庆, 黄靓, 毛振江, 王恩湘, 钟茹, 栗滔. 塞来昔布对胃癌MGC-803细胞RECK、MMP-2、MMP-9基因表达的影响. 世界华人消化杂志 2012; 20(5): 368-373

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/368.asp>

0 引言

胃癌是最常见的消化系统恶性肿瘤, 在中国, 胃癌死亡率已居主要恶性肿瘤(胃癌、肝癌、肺癌、食管癌)死亡的首位^[1]。胃癌的预后不佳, 其5年生存率低于20%。目前, 胃癌的治疗仍以手术干预、化疗以及放化疗联合的综合治疗为主, 虽然近年的治疗技术有明显提高, 但其治疗效果仍欠佳^[2]。非类甾体类抗炎药(nonsteroidal anti-inflammatory drugs, NSAID)对直肠癌^[3,4]、食管癌^[5,6]、头颈癌^[7]、胃癌^[8-10]、胰腺癌^[11-13]、肺癌^[14]等多种肿瘤均有抑制作用。众多体内及体外实验

均表明NSAID具有抗血管及抗转移活性, 其阻断血管形成及抗转移的机制与MMP活性有关^[15,16]。

RECK(reversion-inducing-cysteine-rich protein with kazal motifs)基因是1998年Takahashi等^[17]在v-Ki-ras转染的NIH3T3细胞中发现的一种新基因。RECK基因是新发现的一种MMP抑制剂, 其能在转录后水平抑制至少3种MMP(MMP-2, MMP-9及MT1-MMP)表达进而抑制肿瘤的血管形成及转移。RECK基因在大部分正常细胞株及正常组织中均表达, 但在多种肿瘤组织及细胞株中不表达。在正常人纤维细胞系MRC-5中, RECK基因高表达, 而在纤维肉瘤转化的细胞系HT-1080中, RECK基因表达量很低^[17]。实验表明, 在结肠癌^[18]、乳腺癌^[19-21]、胰腺癌^[22,23]等组织中其RECK基因表达量较相应的癌旁组织明显下降。研究表明, 将RECK基因转移到肿瘤细胞中去(如HT1080纤维肉瘤细胞株^[24,25]或B16黑色素瘤细胞株^[26]), 其侵袭及转移能力明显受到抑制^[27]。因此NSAID是否通过诱导RECK基因的表达, 抑制MMP的活性, 从而起到抗肿瘤活性成为研究的热点。

1 材料和方法

1.1 材料 1640细胞培养基购自美国Gibco公司; 胎牛、小牛血清购自杭州四季青生物有限公司; 质粒提取试剂盒购自天根生化科技(北京)有限公司; 总RNA提取试剂盒(TRIzol法)购自北京百泰克生物技术有限公司; RT试剂盒购自美国MBI公司; PCR试剂盒购自天根生化科技有限公司; MMP-9、MMP-2、RECK基因引物购自上海生工生物技术公司合成; 兔抗MMP-2、MMP-9、RECK单克隆抗体购自美国Santa Cruz公司等。

1.2 方法

1.2.1 MGC-803的细胞培养: MGC-803细胞在含有100 mL/L胎牛血清(FBS)的RPMI-1640培养基中贴壁生长, 置于37 °C、含50 mL/L CO₂的孵箱中培养。

1.2.2 分组: 每次实验均在呈指数生长的细胞中进行。接种 2×10^5 - 3×10^5 个细胞于25 cm²玻璃培养瓶, 培养箱中孵育至细胞接近70%融合时, 弃培养液, 换含0.1%FBS的RPMI-1640培养液, 继续培养24 h, 使细胞基本同步化于G₀期后再进行分组。

1.2.3 MTT法检测细胞增殖: 取对数生长期MGC-803细胞, 以 1.0×10^4 个/mL接种于96孔板(每孔200 μL), 细胞长至70%-80%融合后, 换无

■ 研发前沿

目前对于胃癌确切的病因学、发病机制仍未完全明了。非甾体类抗炎药与RECK、MMP-9、MMP-2, 以及RECK与MMP-9、MMP-2之间相互作用有待进一步的研究。

■相关报道

RECK这种新型的膜表面锚定的MMP抑制基因,是影响肿瘤转移及侵袭能力的主要因素,且其下降的幅度与肿瘤侵袭转移能力成明显正相关。

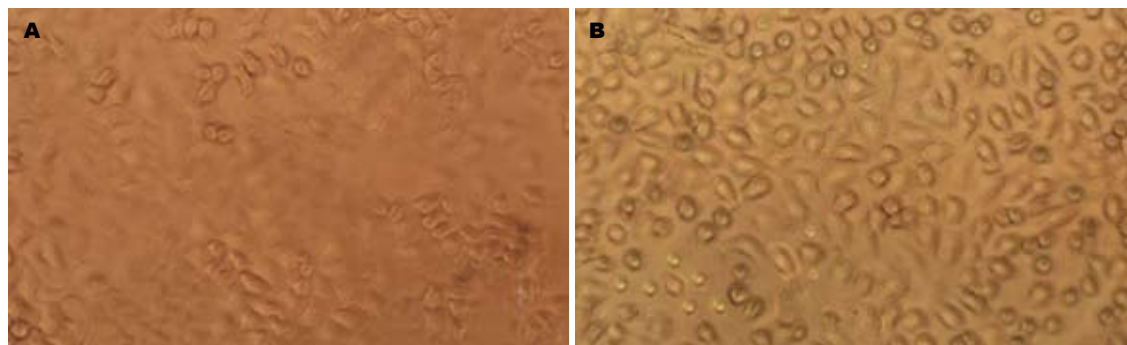


图1 人胃癌细胞株MGC-803形态图($\times 200$)。A: 正常MGC-803细胞组; B: 塞来昔布组(100 $\mu\text{g/L}$)处理24 h组。

血清的RPMI 1640培养液饥饿24 h, 按分组加入不同的处理因素继续培养, 倒置显微镜下动态观察细胞生长情况。在孵育结束前4 h每孔加入5 g/L的MTT 20 μL , 培养4 h后吸弃孔内培养液, 每孔各加入DMSO 150 μL , 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育15 min后振荡混匀, 用酶联免疫检测仪测定吸光度(A , 检测波长570 nm), 绘制细胞生长曲线。实验重复3次, 每组设6个复孔, 统计数据取4值均值。

1.2.4 RT-PCR检测mRNA表达: 待细胞长至70%-80%融合状态时, 无血清的RPMI-1640培养基同步化饥饿细胞24 h, 按分组加入不同的处理因素继续培养至一定时间后收集细胞, 提取总RNA, 进行RT-PCR反应。每组实验重复3次。人RECK基因和MMP-2、MMP-9、GAPDH(内参)的引物由上海生工合成, 序列分别如下: RECK: 上游: 5'-CCTCAGTGAG-CACAGTTCAGA-3', 下游5'-GCAGCACACACTGCTGTA-3'; MMP-2: 上游5'-AG-ATCTTCTTCTTCAAGGACCGGT-3', 下游5'-GGCTGGTCAGTGGCTTGGGGTA-3', MMP-9: 上游5'-GCGGAGATTGGGAAC-CAGCTGT-3', 下游GACGCGCCTGTGTACACCCACA-3'; GAPDH: 上游5'-GGACCTGACAGACTACCTC-3', 下游5'-CGTACTCCTGCTTGCTGAT-3'。PCR产物长度分别为150 bp、225 bp、208 bp和486 bp。具体反应条件如下: 94 $^{\circ}\text{C}$ 30 min, 随后95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s。共30循环, 最后72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸7 min。

1.2.5 Western blot检测蛋白定量表达: 待细胞长至70%-80%融合状态时, 无血清的RPMI-1640培养基同步化饥饿细胞24 h, 按分组加入不同的处理因素继续培养至实验所需时间后收集细胞, 提取总蛋白进行实验。每组实验重复3次。

统计学处理 各组实验数据以mean \pm SD表示, 采用SPSS16.0统计软件进行单因素方差分

析, 组间均数比较采用LSD或者Dunnett's T3检验, 用 $P<0.05$ 判断统计差异有无显著性。

2 结果

2.1 加药前后细胞形态的观察 MGC-803细胞在培养瓶中呈单层贴壁生长, 多呈梭形或多角形, 少数呈类圆形, 核大, 核分裂象多见, 胞体小, 突起少而短。培养基中加入100 $\mu\text{g/L}$ 塞来昔布处理细胞24 h后, 与对照组比较, 细胞增殖不明显, 小圆形细胞增多, 常成对、成团出现, 为分裂期或刚完成分裂的细胞(图1)。

2.2 塞来昔布对MGC-803细胞抑制的影响 MTT法测定结果显示, 用不同浓度的塞来昔布(终末浓度为25、50、100 $\mu\text{g/L}$)处理人胃癌MGC-803细胞不同时间(12、24、48 h), 与对照组(0.1%FBS)相比, 其增殖活性在12 h的作用时间点, 随着塞来昔布处理浓度的增高, 其抑制作用不明显, 组间比较差异不显著($P>0.05$); 在24 h和48 h 2个时间点, 随着塞来昔布浓度的逐渐增加, 其抑制作用逐渐增强, 组间比较差异显著($P<0.05$)。当塞来昔布作用浓度为100 $\mu\text{g/L}$, 时间为48 h时, MGC-803细胞抑制作用最明显(48 h, 增殖抑制率47.22%, $P<0.01$, 图2)。IC₅₀为(50.35 \pm 4.28) $\mu\text{g/L}$ 。

2.3 MTT法绘制生长曲线 选取处于对数生长期的细胞, 用无血清的1640培养基同步化24 h。0.25%胰蛋白酶消化细胞制成细胞悬液, 以每孔 3×10^4 个细胞接种于24孔培养板中, 每孔加500 μL 培养基。将细胞放入37 $^{\circ}\text{C}$ 、50 mL/L CO₂培养箱中培养。在12、24、48、96 h 4个时间用血球计数板计数并记录, 绘制细胞生长曲线。由结果可以得出, 随着塞来昔布药物浓度的增加, 其对胃癌MGC-803细胞的抑制作用逐渐增强, 并具有时间依赖性(图3)。

2.4 塞来昔布对MGC-803细胞RECK、MMP-2、

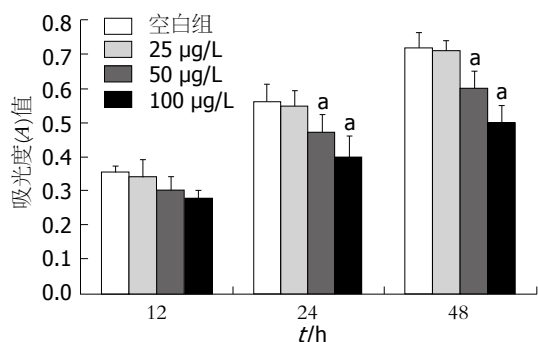


图2 不同浓度的塞来昔布处理人胃癌MGC-803细胞后细胞增殖情况。* $P < 0.05$ vs 空白组。

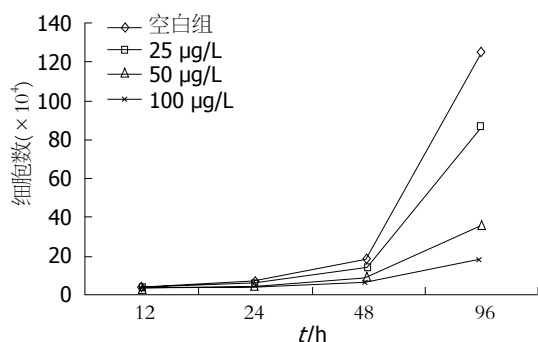


图3 不同浓度的塞来昔布处理人胃癌MGC-803细胞后细胞生长曲线。

MMP-9蛋白表达的影响 Western blot法检测分析不同浓度塞来昔布处理胃癌MGC-803细胞不同时间后, MMP-2、MMP-9和RECK蛋白的表达情况。灰度扫描定量分析显示, 与对照组比较, 在12 h的作用时间点, 随着塞来昔布处理浓度的增高RECK蛋白、MMP-2、MMP-9没有显著性差异, 但在处理24 h后, RECK蛋白表达呈浓度依赖性增加, 与对照组比较差异显著($P < 0.05$)。MMP-2和MMP-9呈浓度依赖性递减, 采用50 µg/L塞来昔布分别处理细胞12、24和48 h后, RECK蛋白表达呈时间依赖性增加, 与对照组比较差异显著($P < 0.05$), MMP-2和MMP-9的表达呈时间依赖性减少, 与对照组比较差异显著($P < 0.05$, 图4)。

2.5 塞来昔布对MGC-803细胞MMP-2、MMP-9、RECK mRNA表达的影响 RT-PCR检测不同浓度塞来昔布处理胃癌MGC-803细胞不同时间后, MMP-2、MMP-9和RECK mRNA表达水平的变化情况。灰度扫描定量分析显示, 25、50、100 µg/L塞来昔布处理细胞24 h后, RECK基因mRNA表达呈浓度依赖性增加, MMP-2、MMP-9 mRNA表达呈浓度依赖性下降, 与对照组比较差异显著($P < 0.05$)。采用50 µg/L塞来昔布分别处理细胞12 h、24 h和48 h后, RECK mRNA呈时间依赖性增加, MMP-2、MMP-9 mRNA表

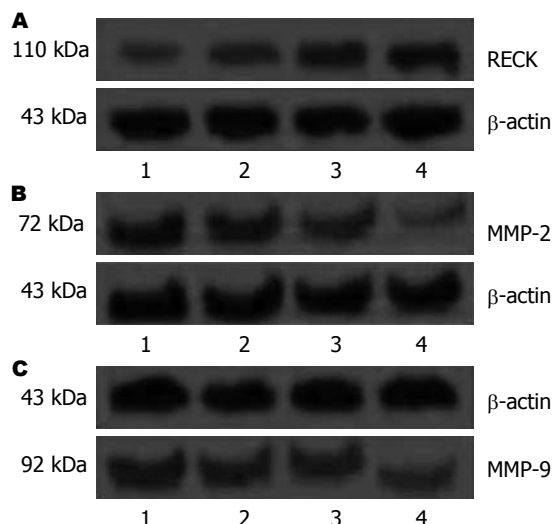


图4 Western blot法检测分析50 µg/L塞来昔布处理胃癌MGC-803细胞不同时间后的RECK、MMP-2、MMP-9蛋白表达变化。A: RECK; B: MMP-2; C: MMP-9。1: 空白组; 2: 12 h组; 3: 24 h组; 4: 48 h组。

达呈时间依赖性下降, 与对照组比较差异显著($P < 0.05$, 图5)。

3 讨论

胃癌是我国高发的恶性肿瘤之一, 但目前我们对胃癌的发病机制尚缺乏全面和深入的了解。现有研究证明, NSAID通过对RECK基因的调节, 抑制肿瘤的发生与转移。本文通过实验证实塞来昔布使得MGC-803细胞的增殖速率受到了抑制; 在人胃癌细胞MGC-803中, 通过对RECK、MMP-2、MMP-9蛋白测定, 进一步发现, NSAID对MGC-803细胞增殖的抑制作用至少部分是通过调节RECK基因实现的。

最近一项研究表明, 有规律的服用阿司匹林或NSAID, 可使结肠癌的发生率降低40%-50%^[28]。有研究表明, 每月有规律地服用阿司匹林或其他NSAID 16次以上, 可使结肠癌的患病相对危险度减少40%-50%; 舒林酸似乎可减少家族性息肉病腺瘤息肉的数量和体积^[29]。Harris与Nelson^[30]调查了NSAID与前列腺癌的关系, 通过对417例前列腺癌患者及控制组的调查发现, 每天有规律地使用阿司匹林或布洛芬可以降低危险性66%(相对危险度为0.34), 曾经用过NSAID的男性前列腺癌发病可能性也显著降低。塞来昔布属于NSAID, 是特异性COX-2抑制剂, 目前发现其对消化系恶性肿瘤、乳腺癌、卵巢癌及前列腺癌等有明显的防治作用。NSAID通过激活RECK基因高表达, 其转录产物抑制至少3种基质金属蛋白酶(MMP-2,

■同行评价

本文阐述了塞来昔布对RECK、MMP-2、MMP-9的调节作用, 对临床指导胃癌或有胃癌前病变患者的药物治疗或预防具有一定意义。

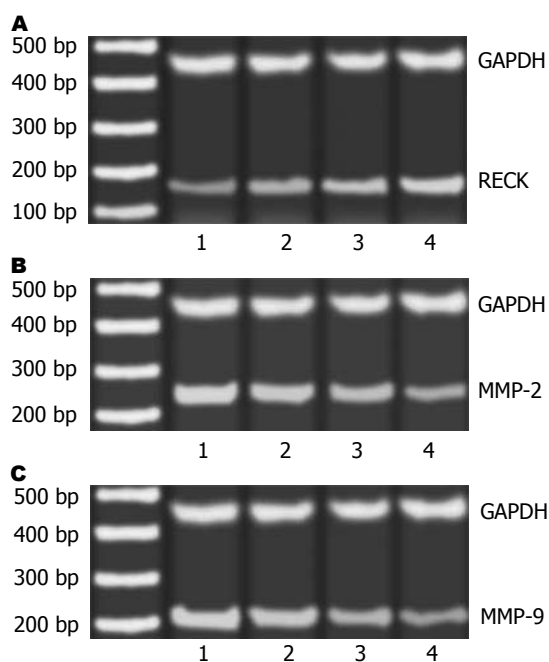


图 5 RT-PCR检测50 µg/L塞来昔布处理胃癌MGC-803细胞不同时间后的 MMP-2、MMP-9和RECK mRNA表达变化。A: RECK; B: MMP-2; C: MMP-9。1: 空白组; 2: 12 h组; 3: 24 h组; 4: 48 h组。

MMP-9及MT1-MMP), 进而抑制肿瘤的血管形成及转移。

实验中, 我们选取RECK、MMP-2、MMP-9为研究对象, 观察塞来昔布对RECK、MMP-2、MMP-9的调节作用。通过MTT法、RT-PCR、Western blot法结果表明: 塞来昔布对MGC-803细胞增殖的抑制作用呈剂量和时间依赖性。随着塞来昔布浓度增加, 可明显增加RECK基因的表达, 降低MMP-2和MMP-9的表达, 进而MMP-2和MMP-9的mRNA和蛋白表达均降低。

本实验进一步证实提示, 塞来昔布能够抑制MMP-2、MMP-9的转录和翻译水平, 是一种有用的降低肿瘤侵袭转移力的药物。有研究表明, 将CL-1肺癌细胞株在有或无NSAID的条件下分别培养48 h后, RT-PCR检测其基因表达水平。结果表明, NSAID可以明显提高细胞中RECK的表达水平, 且MMP-2活性成分明显减少, 而MMP-2的前体成分却明显增加。先前的研究表明, NSAID可以直接抑制MMP-2的表达, 因此, NSAID抑制MMP-2的表达可能通过以下途径: (1)通过干扰ERK/Sp1信号途径直接抑制MMP-2的表达; (2)通过诱导RECK的表达, 从而阻碍前体MMP-2向活性MMP-2的转换。此外, 有研究表明NSAID明显降低RECK基因的甲基化, 并能通过抑制NF-κB的活性从而间接提高RECK基因

的表达水平。

RECK基因是新发现的抑癌基因, 其在多种肿瘤组织中表达下降, 如何提高其表达水平是抑制肿瘤侵袭转移的重点之一。已有的研究表明多种NSAID可诱导RECK基因表达, 从而抑制肿瘤的侵袭和转移, 本研究在细胞层面表明对于胃癌细胞株MGC803, 塞来昔布有明显的诱导RECK基因表达的作用, 且明显抑制MMP-2和MMP-9的表达。关于其机制的研究有待于进一步阐明。

4 参考文献

- Mitchell RA. Mechanisms and effectors of MIF-dependent promotion of tumorigenesis. *Cell Signal* 2004; 16: 13-19
- Petrenko O, Moll UM. Macrophage migration inhibitory factor MIF interferes with the Rb-E2F pathway. *Mol Cell* 2005; 17: 225-236
- Hopkins MH, Owen J, Ahearn T, Fedirko V, Flanders WD, Jones DP, Bostick RM. Effects of supplemental vitamin D and calcium on biomarkers of inflammation in colorectal adenoma patients: a randomized, controlled clinical trial. *Cancer Prev Res (Phila)* 2011; 4: 1645-1654
- Passarelli MN, Coghil AE, Hutter CM, Zheng Y, Makar KW, Potter JD, Newcomb PA. Common colorectal cancer risk variants in SMAD7 are associated with survival among prediagnostic nonsteroidal anti-inflammatory drug users: a population-based study of postmenopausal women. *Genes Chromosomes Cancer* 2011; 50: 875-886
- Pandeya N, Webb PM, Sadeghi S, Green AC, Whiteman DC. Gastro-oesophageal reflux symptoms and the risks of oesophageal cancer: are the effects modified by smoking, NSAIDs or acid suppressants? *Gut* 2010; 59: 31-38
- Abnet CC, Freedman ND, Kamangar F, Leitzmann MF, Hollenbeck AR, Schatzkin A. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and risk of gastric and oesophageal adenocarcinomas: results from a cohort study and a meta-analysis. *Br J Cancer* 2009; 100: 551-557
- Wilson JC, Anderson LA, Murray LJ, Hughes CM. Non-steroidal anti-inflammatory drug and aspirin use and the risk of head and neck cancer: a systematic review. *Cancer Causes Control* 2011; 22: 803-810
- Wu CY, Wu MS, Kuo KN, Wang CB, Chen YJ, Lin JT. Effective reduction of gastric cancer risk with regular use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in Helicobacter pylori-infected patients. *J Clin Oncol* 2010; 28: 2952-2957
- Tian W, Zhao Y, Liu S, Li X. Meta-analysis on the relationship between nonsteroidal anti-inflammatory drug use and gastric cancer. *Eur J Cancer Prev* 2010; 19: 288-298
- Epplein M, Nomura AM, Wilkens LR, Henderson BE, Kolonel LN. Nonsteroidal antiinflammatory drugs and risk of gastric adenocarcinoma: the multiethnic cohort study. *Am J Epidemiol* 2009; 170: 507-514
- Bradley MC, Hughes CM, Cantwell MM, Napolitano G, Murray LJ. Non-steroidal anti-inflammatory

- drugs and pancreatic cancer risk: a nested case-control study. *Br J Cancer* 2010; 102: 1415-1421
- 12 Zhang Z, Huang L, Zhao W, Rigas B. Annexin 1 induced by anti-inflammatory drugs binds to NF-kappaB and inhibits its activation: anticancer effects in vitro and in vivo. *Cancer Res* 2010; 70: 2379-2388
- 13 Capurso G, Schünemann HJ, Terrenato I, Moretti A, Koch M, Muti P, Capurso L, Delle Fave G. Meta-analysis: the use of non-steroidal anti-inflammatory drugs and pancreatic cancer risk for different exposure categories. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 26: 1089-1099
- 14 Johnson CC, Hayes RB, Schoen RE, Gunter MJ, Huang WY. Non-steroidal anti-inflammatory drug use and colorectal polyps in the Prostate, Lung, Colorectal, And Ovarian Cancer Screening Trial. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 2646-2655
- 15 Sternlicht MD, Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2001; 17: 463-516
- 16 Leeman MF, Curran S, Murray GI. New insights into the roles of matrix metalloproteinases in colorectal cancer development and progression. *J Pathol* 2003; 201: 528-534
- 17 Takahashi C, Sheng Z, Horan TP, Kitayama H, Maki M, Hitomi K, Kitaura Y, Takai S, Sasahara RM, Horimoto A, Ikawa Y, Ratzkin BJ, Arakawa T, Noda M. Regulation of matrix metalloproteinase-9 and inhibition of tumor invasion by the membrane-anchored glycoprotein RECK. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 13221-13226
- 18 Cho CY, Wang JH, Chang HC, Chang CK, Hung WC. Epigenetic inactivation of the metastasis suppressor RECK enhances invasion of human colon cancer cells. *J Cell Physiol* 2007; 213: 65-69
- 19 Liu BB, Wei J, Fu L. [Updates on genes related to breast cancer metastasis]. *Zhonghua Binglixue Zazhi* 2008; 37: 266-269
- 20 Span PN, Sweep CG, Manders P, Beex LV, Leppert D, Lindberg RL. Matrix metalloproteinase inhibitor reversion-inducing cysteine-rich protein with Kazal motifs: a prognostic marker for good clinical outcome in human breast carcinoma. *Cancer* 2003; 97: 2710-2715
- 21 Lei H, Hemminki K, Altieri A, Johansson R, Enquist K, Hallmans G, Lenner P, Försti A. Promoter polymorphisms in matrix metalloproteinases and their inhibitors: few associations with breast cancer susceptibility and progression. *Breast Cancer Res Treat* 2007; 103: 61-69
- 22 Masui T, Doi R, Koshiba T, Fujimoto K, Tsuji S, Nakajima S, Koizumi M, Toyoda E, Tulachan S, Ito D, Kami K, Mori T, Wada M, Noda M, Imamura M. RECK expression in pancreatic cancer: its correlation with lower invasiveness and better prognosis. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 1779-1784
- 23 Kim NY, Lee JE, Chang HJ, Lim CS, Nam DH, Min BH, Park GH, Oh JS. Gamma-irradiation enhances RECK protein levels in Panc-1 pancreatic cancer cells. *Mol Cells* 2008; 25: 105-111
- 24 Tian QS, Li DC. Lentivirus-mediated reversion-inducing cysteine-rich protein with Kazal motifs gene transfer suppresses pancreatic cancer invasion in vitro. *Saudi Med J* 2010; 31: 752-758
- 25 Takagi S, Simizu S, Osada H. RECK negatively regulates matrix metalloproteinase-9 transcription. *Cancer Res* 2009; 69: 1502-1508
- 26 Hurley LH, Reck T, Thurston DE, Langley DR, Holden KG, Hertzberg RP, Hoover JR, Gallagher G, Faucette LF, Mong SM. Pyrrolo[1,4]benzodiazepine antitumor antibiotics: relationship of DNA alkylation and sequence specificity to the biological activity of natural and synthetic compounds. *Chem Res Toxicol* 1988; 1: 258-268
- 27 Furumoto K, Arii S, Mori A, Furuyama H, Gorin Rivas MJ, Nakao T, Isobe N, Murata T, Takahashi C, Noda M, Imamura M. RECK gene expression in hepatocellular carcinoma: correlation with invasion-related clinicopathological factors and its clinical significance. Reverse-inducing--cysteine-rich protein with Kazal motifs. *Hepatology* 2001; 33: 189-195
- 28 Smalley W, Ray WA, Daugherty J, Griffin MR. Use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and incidence of colorectal cancer: a population-based study. *Arch Intern Med* 1999; 159: 161-166
- 29 Masferrer JL, Leahy KM, Koki AT, Zweifel BS, Settle SL, Woerner BM, Edwards DA, Flickinger AG, Moore RJ, Seibert K. Antiangiogenic and antitumor activities of cyclooxygenase-2 inhibitors. *Cancer Res* 2000; 60: 1306-1311
- 30 Nelson JE, Harris RE. Inverse association of prostate cancer and non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): results of a case-control study. *Oncol Rep* 2000; 7: 169-170

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

靶向胰腺癌PANC-1细胞整合素连接激酶基因RNA干扰质粒的构建及鉴定

刘宁, 刘伟, 马刚, 郭克建, 宋少伟

■背景资料

RNA干扰是一种转录后基因沉默机制, 现已成为研究基因功能和寻找药物靶点的重要工具。研究表明ILK与包括胰腺癌在内的多种消化系统肿瘤的形成、生长、侵袭、转移、复发关系密切。

刘宁, 刘伟, 马刚, 郭克建, 宋少伟, 中国医科大学附属第一医院普通外科胰腺外科 辽宁省沈阳市 110001

刘宁, 硕士, 讲师, 主要从事胰腺癌综合治疗工作。

辽宁省教育厅基金资助项目, No. 2009A783

辽宁省科技厅基金资助项目, No. 2011225019

沈阳市科技厅基金资助项目, No. F11-264-1-09

作者贡献分布: 刘宁与宋少伟对此文所作贡献均等; 本课题由刘宁、刘伟、马刚、郭克建及宋少伟设计; 研究过程由刘宁与刘伟操作完成; 研究所用新试剂与数据分析由刘宁、刘伟、马刚、郭克建及宋少伟提供; 论文写作由刘宁与宋少伟完成。

通讯作者: 宋少伟, 教授, 110001, 辽宁省沈阳市和平区南京北街155号, 中国医科大学附属第一医院普通外科教研室胰腺外科。songsw10@hotmail.com

电话: 024-83283330

收稿日期: 2011-11-22 修回日期: 2012-01-04

接受日期: 2012-02-16 在线出版日期: 2012-02-18

Construction and identification of plasmids carrying small interfering RNAs targeting the ILK gene

Ning Liu, Wei Liu, Gang Ma, Ke-Jian Guo, Shao-Wei Song

Ning Liu, Wei Liu, Gang Ma, Ke-Jian Guo, Shao-Wei Song, Department of General Surgery and Pancreatic Surgery, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Supported by: the Foundation of Liaoning Provincial Education Agency, No. 2009A783; the Foundation of Liaoning Provincial Science and Technology Agency, No. 2011225019; the Foundation of Shenyang City Science and Technology Agency, No. F11-264-1-09

Correspondence to: Shao-Wei Song, Professor, Department of General Surgery and Pancreatic Surgery, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. songsw10@hotmail.com

Received: 2011-11-22 Revised: 2012-01-04

Accepted: 2012-02-16 Published online: 2012-02-18

Abstract

AIM: To construct plasmids carrying small interfering RNAs (siRNAs) targeting the integrin-linked kinase (ILK) gene and assess their effect on ILK expression in pancreatic cancer cells.

METHODS: Three pairs of siRNAs for ILK were designed and used to construct plasmids carrying siRNAs targeting the ILK gene. The recombinant plasmids and negative control plasmids were stably transfected into Panc-1 cells using cationic

liposome Lipofectamine. After transfection, ILK mRNA and protein expression was detected by RT-PCR and Western blotting, respectively.

RESULTS: DNA sequencing results indicated that the recombinant plasmids were constructed correctly. After stable transfection of the recombinant plasmids into Panc-1 cells, ILK mRNA and protein expression was significantly inhibited. Transfection of the recombinant plasmid that had the highest knockdown efficiency reduced ILK mRNA and protein expression by 93.01% and 65.69%, respectively. Compared to the non-transfected group and empty plasmid-transfected group, ILK mRNA expression was significantly down-regulated in the experimental group (0.090 ± 0.009 vs 1.147 ± 0.110 , 1.005 ± 0.121 , both $P < 0.01$).

CONCLUSION: Three plasmids carrying siRNAs targeting the ILK gene have been constructed successfully and provide a useful tool for studying the function of ILK.

Key Words: Pancreatic cancer; Integrin-linked kinase; RNAi; Gene therapy

Liu N, Liu W, Ma G, Guo KJ, Song SW. Construction and identification of plasmids carrying small interfering RNAs targeting the ILK gene. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(5): 374-379

摘要

目的: 构建整合素连接激酶(integrin-linked kinase, ILK)基因RNA干扰(RNA interference, RNAi)重组质粒并检测其对胰腺癌PANC-1细胞ILK基因表达的干扰效率, 为进一步研究胰腺癌中ILK基因功能奠定实验基础和理论依据。

方法: 设计并构建3条含有针对ILK基因的小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)序列的重组质粒并进行DNA测序。通过阳离子脂质体Lipofectamine 2000将重组质粒转入胰腺癌细胞株Panc-1细胞中, G418压力筛选至得到稳定转染细胞克隆, 利用Real-Time PCR和Western blot检测ILK基因的表达抑制情况。筛

■同行评议者

高国全, 教授, 中山大学中山医学院生化系; 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

选出干扰效率最高的重组质粒。

结果: 经DNA测序证实胰腺癌PANC-1细胞ILK基因的RNA干扰重组质粒构建成功;重组质粒稳定转染Panc-1细胞后(各组转染效率均>90%),各实验组ILK基因表达均被有效地抑制,其中重组质粒-2的干扰效率最高,其mRNA及ILK表达显著下调,其抑制率分别为93.01%和65.69%;ILK mRNA表达较阴性对照组、空质粒组表达量显著下降(0.090 ± 0.009 vs 1.147 ± 0.110 , 1.005 ± 0.121 , $P < 0.01$)。

结论: 成功构建ILK基因RNA干扰重组质粒,重组质粒能有效抑制胰腺癌Panc-1细胞ILK基因表达,为进一步研究ILK在胰腺癌中的基因功能奠定基础。

关键词: 胰腺癌;整合素连接激酶;RNA干扰;基因治疗

刘宁, 刘伟, 马刚, 郭建建, 宋少伟. 靶向胰腺癌PANC-1细胞整合素连接激酶基因RNA干扰质粒的构建及鉴定. 世界华人消化杂志 2012; 20(5): 374-379
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/374.asp>

0 引言

胰腺癌是恶性程度最高的致死性肿瘤之一,致死率位居美国癌症相关死亡的第4位^[1]。其发生、发展和侵袭转移机制尚未阐明。研究发现整合素连接激酶(integrin-linked kinase, ILK)作为整合素和生长因子受体信号转导途径中的一个重要效应物,调节着细胞的黏附、生存、分化和凋亡,对肿瘤的发展、转移及预后等发挥着重要作用^[2-8]。在人类神经源性肿瘤、胃癌、前列腺癌、卵巢肿瘤、黑色素瘤、肺癌中,ILK表达明显增高且表达量与肿瘤的恶性程度及转移显著正相关^[9-15]。有效地抑制ILK表达或降低其生物学活性是抗肿瘤治疗的关键^[16]。因此,构建针对ILK的RNA干扰质粒用于研究胰腺癌ILK功能有重要价值。

1 材料和方法

1.1 材料 人胰腺癌细胞株Panc-1(北京肿瘤研究所);DMEM高糖培养基(美国Gibco公司),胎牛血清(海克隆生物化学制品北京有限公司),Lipofectamine 2000、TRIzol试剂、Real Time-PCR试剂盒和G418(Invitrogen公司);ILK抗体(Sigma公司),质粒提取试剂盒(QIAGEN公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: Panc-1细胞培养于含150 mL/L

胎牛血清的高糖DMEM培养液中,置于37℃、含50 mL/L CO₂的培养箱中。细胞贴壁生长良好,3 d后按1:3进行传代,对数生长期细胞用于实验。

1.2.2 ILK干扰质粒构建: 参照siRNA的设计原则,根据GeneBank中报道的ILK mRNA核苷酸序列,应用siSearch和sFold两种在线设计软件设计3对针对ILK mRNA的siRNA,作用靶点分别位于ILK基因第7外显子和第10外显子,长度均为19 bp,该序列均通过基因Blast筛查证实与人类基因外显子无同源性。由上海吉凯基因化学技术有限公司采用化学合成方法合成以pGCSi-U6/Neo/GFP质粒为骨架的3个干扰载体和1个空白对照载体,并提取DNA进行测序鉴定。siRNA序列如下: ILK-1 sense: GATCCCAAGCTCAACGAGAATCACTCTTTCAAGAGAAGAGTGATTCTCGTTGAGCTTTTTTTGGAT; Antisense: CTAGGGTTCGAGTTGCTCTTAGTGAGAAAGTTCTCTTCTCACTAAGAGCAACTCGAAAAAACCTA. ILK-2 sense: GATCCCGACGAAGCTCAACGAGAATCATTCAAGAGATGATTCTCGTTGAGCTTCGTCTTTTTGGAT; Antisense: CTAGGGCTGCTTCGAGTTGCTCTTAGTAAGTTCTCTACTAAGAGCAACTCGAAGCAGAAAAACCTA. ILK-3 sense: GATCCCTAGCCGTAGTGTAATGATTGATTCAAGAGATCAATCATTACACTACGGCTATTTTTGGAT; Antisense: CTAGGGATCGGCATCACATTACTAAGTTCTCTAGTTAGTAATGTGATGCCGATAAAAACCTA.

1.2.3 细胞转染及稳定转染细胞株的筛选: 用于转染的试剂及其他物品必须经严格高温高压灭菌,转染前24 h将约 5×10^5 个Panc-1细胞接种至6孔板,转染时细胞融合度达70%-90%,每孔终体积2 mL。转染步骤严格按照Invitrogen的Lipofectamine 2000产品使用说明书操作。培养8 h后弃去转染液,换新鲜培养液继续培养。转染后的细胞用含G418浓度600 mg/L(G418浓度梯度试验所得筛选浓度)的DMEM培养液,于37℃、含50 mL/L CO₂的培养箱中继续培养、传代。4 wk后荧光显微镜下可看到成团荧光时挑取阳性单克隆细胞,用含G418浓度600 μg/mL的DMEM培养液继续培养4 wk。此组细胞命名为Panc-1/pGCSi-ILK。相同操作步骤转染空白对照质粒(empty vector)并对转染细胞行筛选、挑

■ 研发前沿

近年来,很多学者将RNAi技术用于治疗胰腺肿瘤的研究领域。该技术在胰腺肿瘤研究内容涉及肿瘤的发生发展、侵袭与转移、信号传导、周期调控、调亡和治疗等方面。

■相关报道

研究证明,使用RNAi方法可降低结肠癌、前列腺癌、膀胱癌等恶性肿瘤中ILK的表达,并一定程度上抑制了肿瘤的生长。

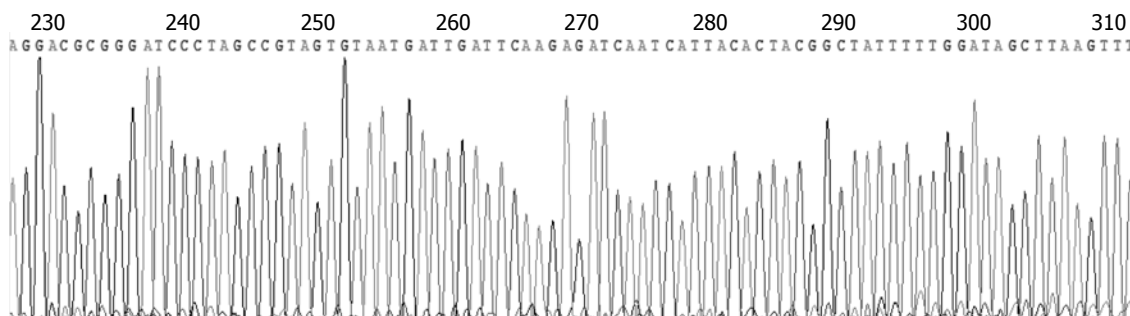


图1 pGCsi-ILK-2部分测序结果。

取阳性单克隆扩大培养和检测,此组细胞命名Panc-1/pGCsi-Non。各组细胞均继续用含G418浓度200 $\mu\text{g/mL}$ 的DMEM培养液培养于37 $^{\circ}\text{C}$ 、含50 mL/L CO_2 的培养箱中压力筛选培养,直至获得稳定转染单克隆细胞株,再传至培养瓶中扩大培养。倒置荧光显微镜下观察绿色荧光计算GFP表达率。

1.2.4 Real-Time PCR检测ILK mRNA: TRIzol一步法对3个稳定转染实验组、2个对照组5组细胞分别进行总RNA提取,具体操作根据Invitrogen公司的TRIzol操作说明书进行。经紫外分光光度仪测定、计算RNA含量并根据Promega公司的M-MLV操作说明书逆转录为cDNA。ILK引物和GAPDH引物采用软件Beacon designer 2设计,引物序列信息如下: ILK-F: TCCACCTGCTCCTCATCC; ILK-R: CCTCATCAATCAT-TACACTACGG; GAPDH-F: TGAAGTTCACAGCGACACCCA; GAPDH-R: CACCCTGTTGCTGTAGCCAAA。设定程序为两步法Real-Time PCR: 预变性95 $^{\circ}\text{C}$, 15 s; 之后每一步变性95 $^{\circ}\text{C}$, 5 s; 退火延伸60 $^{\circ}\text{C}$, 30 s; 共进行45个循环。每次在延伸阶段读取吸光度值。制作熔解曲线: PCR结束后, 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性1 min, 然后冷却至55 $^{\circ}\text{C}$, 使DNA双链充分结合。从55 $^{\circ}\text{C}$ 开始到95 $^{\circ}\text{C}$, 每一步增加0.5 $^{\circ}\text{C}$, 保持4 s, 同时读取吸光度值。以Panc-1/pGCsi-Non为阴性对照组, 用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 分析法进行Real-Time PCR数值分析。

1.2.5 Western blot定量检测ILK蛋白的表达: 分别收集足量稳定转染的3个实验组、2个对照组细胞, 裂解提取总蛋白, 测定蛋白浓度, 所得总蛋白经SDS-PAGE凝胶电泳、转膜、牛奶封闭, 一抗、二抗孵育, 增强化学发光显色系统显色, Bio-Rad软件对条带的吸光度值作分析, 以 β -actin作为内参照, 每个样本重复3次。

统计学处理 采用SPSS13.0软件进行数据统计分析, 以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 重组质粒测序鉴定 将重组子pGCsi-ILK测序, 测得DNA序列证实含有目的片段序列, 表示质粒构建成功。截取部分pGCsi-ILK-2测序结果见图1。

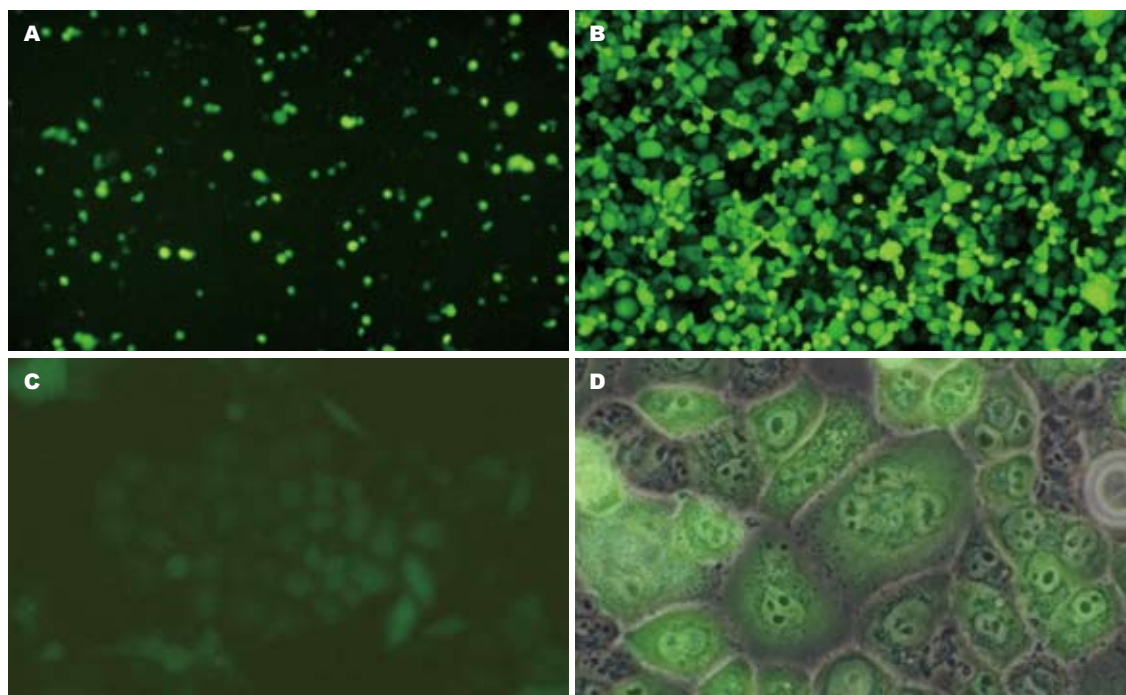
2.2 干扰质粒转染PANC-1细胞荧光检测及GFP表达率检测 转染24 h后, 通过倒置荧光显微镜观察到各组均有绿色荧光蛋白表达, 提示均转染成功(图2A)。用600 $\mu\text{g/mL}$ 终浓度G418筛选4 wk, 挑取转染阳性单克隆细胞培养4 wk, 荧光显微镜下观察计数并用流式细胞仪检测, Panc-1/pGCsi-Non的GFP表达率为94.3%, Panc-1/pGCsi-ILK的GFP表达率分别为96.7%, 97.9%, 93.7%(图2B, C, D)。

2.3 Real-Time PCR结果 以GAPDH作为内参照, 用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 分析法进行Real-time PCR数值分析。3组Panc-1/pGCsi-ILK ILK mRNA表达均低于Panc-1/pGCsi-Non和Panc-1。其中Panc-1/pGCsi-ILK-2 ILK mRNA表达最低, 实验组、阴性对照组、空白对照组ILK扩增产物的强度与内对照GAPDH的比值分别为: 0.090 ± 0.009 , 1.147 ± 0.110 , 1.005 ± 0.121 , 与空白对照组Panc-1/pGCsi-Non相比表达水平差异有统计学意义($P < 0.01$), ILK mRNA表达抑制率为93.01%; 阴性对照组PANC-1和空白对照组Panc-1/pGCsi-Non中ILK mRNA表达水平差异无统计学意义($P > 0.05$, 图3)。

2.4 Western blot 以 β -actin作为内参照, 进行灰度值分析。3组Panc-1/pGCsi-ILK ILK表达均低于Panc-1和Panc-1/pGCsi-Non, 其中Panc-1/pGCsi-ILK-2的ILK表达最低, 与空白对照组Panc-1/pGCsi-Non相比表达水平差异有统计学意义($P < 0.01$), ILK蛋白表达抑制率为65.69%。阴性对照组PANC-1和空白对照组Panc-1/pGCsi-Non中ILK表达水平差异无统计学意义($P > 0.05$, 图4)。

3 讨论

ILK作为一种丝/苏氨酸蛋白激酶, 是多种致癌相



■创新盘点

本文利用RNA干扰技术研究其对胰腺癌细胞中ILK表达的影响, 为RNAi技术在胰腺癌中进行基因治疗和新药研发开辟新途径。

图2 转染si-ILK-2的Panc-1/pGC si-ILK-2细胞系筛选。A: 转染24 h Panc-1/pGC si-ILK-2细胞GFP表达($\times 100$); B: 阳性单克隆Panc-1/pGC si-ILK-2细胞GFP表达率($\times 100$); C: 经G418压力筛选2 wk后形成的单克隆($\times 200$); D: Panc-1/pGC si-ILK-2荧光、可见光合图效果($\times 400$)。

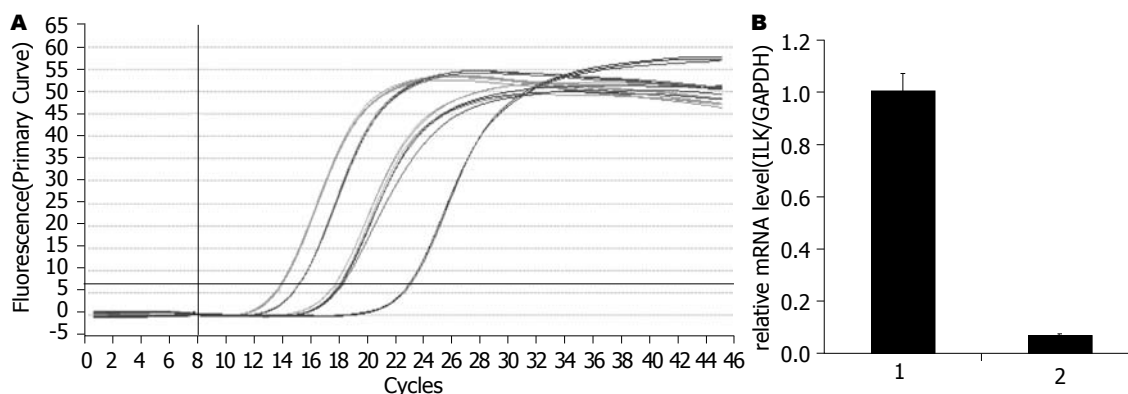


图3 Real-Time PCR检测Panc-1/pGC si-ILK-2细胞中ILK表达。A: 扩增曲线; B: 数据分析统计。1: 阴性对照组; 2: ILK干扰组。

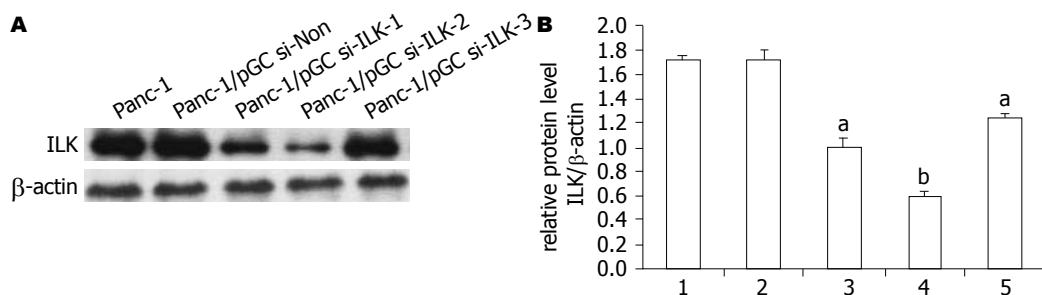


图4 Western blot检测各组细胞ILK蛋白表达。A: 电泳图; B: 数据统计分析。* $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs Panc-1组和Panc-1/pGC si-Non组。1: Panc-1; 2: Panc-1/pGC si-Non; 3: Panc-1/pGC si-ILK-1; 4: Panc-1/pGC si-ILK-2; 5: Panc-1/pGC si-ILK-3。

关因素的上游交叉点, 与肿瘤的形成、血管生成、侵袭转移和肿瘤细胞的恶性增殖、凋亡不足密切相关, 成为近年来的又一个研究热点^[2-8]。

目前发现, ILK在多种人类肿瘤中表达显著增高。Ito等^[17]发现ILK在胃癌中高度表达, 而在正常胃黏膜中表达低下, 且表达与肿瘤浸润深度

■应用要点

本文应用RNA干扰技术从mRNA和蛋白水平上显著地抑制了胰腺癌PANC-1细胞ILK基因表达,为RNAi技术在胰腺癌体内抗ILK基因作用研究提供了实验基础和理论依据。

及淋巴结转移呈正相关。Graff等^[15]认为ILK表达增高加速了不依赖雄激素的人类前列腺癌细胞系进程,与前列腺肿瘤的分级相关,而且ILK表达的增加还与前列腺癌患者的预后相联系,与患者的5年生存率成反比例关系。Ahmed等^[11]则发现ILK在卵巢癌中高度表达,与癌的分级相关。Takanami等^[18]亦认为ILK促进非小细胞肺癌的生长、侵袭,ILK高表达是非小细胞肺癌的不良预后因素,ILK高表达患者生存情况较ILK低表达者差。对经治疗的肿瘤患者的观察发现其血清中ILK有下调现象发生,例如经卡铂治疗后卵巢癌患者血清ILK含量明显下降,甚至基本达到健康者的正常水平^[19]。上述研究提示ILK作为整合素和生长因子受体信号转导途径中的一个重要效应物,调节着细胞的黏附、生存、分化和凋亡,对肿瘤的发展、转移及预后等发挥着重要作用。因此有效抑制ILK的表达或降低其生物学活性是抗肿瘤治疗的关键。

RNA干扰作为最近发展起来的一项革命性技术,是一种重要的转录后基因沉默机制,是指由双链RNA介导的可高效特异降解对应序列mRNA,从而特异性地抑制相应基因表达的技术。它具有高度的序列专一性,能够特异地使目的基因沉默,获得功能丧失,同时不影响其他基因^[20-22]。RNA干扰具有效果强、持续时间长,在细胞内表达的稳定性、可传递性等优点。给人们带来了治疗肿瘤和艾滋病的新希望。

杨凤武等^[23]成功构建ILK基因的特异性RNA干扰重组质粒,并稳定转染结肠癌HT-29细胞,特异、有效地干扰了ILK基因mRNA和蛋白的表达,抑制了结肠癌细胞HT-29的增殖,并诱导其凋亡。陈亮等^[24]在前期证实ILK在膀胱正常组织中表达极低,而在膀胱癌组织中高度表达,并且与肿瘤的分级、分期呈正相关,该研究组针对ILK设计了干扰质粒,并稳定转染膀胱癌BIU-87细胞,有效地抑制BIU-87细胞mRNA和蛋白表达,并通过流式细胞术、MTT比色法检测发现膀胱癌BIU-87细胞的恶性增殖表型逆转。吕磊等^[25]也发现以ILK为靶向的siRNA能够有效下调ILK基因的mRNA和蛋白表达水平,显著抑制前列腺癌PC3细胞的增殖,并能在一定程度上诱导其凋亡。

本课题组前期检测了60例胰腺癌组织和32例癌旁胰腺组织中ILK的表达并分析了其与临床病理参数的关系。研究发现ILK在胰腺癌组织中的表达明显高于癌旁胰腺组织,且与肿瘤淋

巴结转移和肿瘤临床分期正相关。这与ILK在其他恶性肿瘤中表达的研究结果是一致的^[26]。我们推测ILK在胰腺癌的侵袭和转移中起了重要的作用,并与肿瘤的恶性程度相关。其作为一种肿瘤相关抗原,具有潜在的生物标记功能,可能作为一种新的肿瘤标志物。临床应用ILK多克隆抗体,可以通过对细胞内ILK表达量的测定,作为某些肿瘤初筛诊断及临床治疗效果监测的指标。而ILK表达急速增高则可能作为某些肿瘤复发的有力指标。随后我们在PANC-1、SW1990、Capan-2、AsPC-1 4株胰腺癌细胞株中检测发现ILK均有较高表达,其中PANC-1细胞株ILK表达量最高。因此我们设计构建并鉴定了针对ILK基因的特异性RNA干扰重组质粒,并在胰腺癌PANC-1细胞株中成功阻断ILK基因的表达以达到基因沉默的效果,为研究ILK基因在胰腺癌的作用开辟了新的途径。

4 参考文献

- 1 Raimondi S, Maisonneuve P, Lowenfels AB. Epidemiology of pancreatic cancer: an overview. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2009; 6: 699-708
- 2 Hannigan GE, Leung-Hagesteijn C, Fitz-Gibbon L, Coppolino MG, Radeva G, Filmus J, Bell JC, Dedhar S. Regulation of cell adhesion and anchorage-dependent growth by a new beta 1-integrin-linked protein kinase. *Nature* 1996; 379: 91-96
- 3 Abboud ER, Coffelt SB, Figueroa YG, Zvezdaryk KJ, Nelson AB, Sullivan DE, Morris CB, Tang Y, Beckman BS, Scandurro AB. Integrin-linked kinase: a hypoxia-induced anti-apoptotic factor exploited by cancer cells. *Int J Oncol* 2007; 30: 113-122
- 4 Assi K, Mills J, Owen D, Ong C, St Arnaud R, Dedhar S, Salh B. Integrin-linked kinase regulates cell proliferation and tumour growth in murine colitis-associated carcinogenesis. *Gut* 2008; 57: 931-940
- 5 Belvindrah R, Nalbant P, Ding S, Wu C, Bokoch GM, Müller U. Integrin-linked kinase regulates Bergmann glial differentiation during cerebellar development. *Mol Cell Neurosci* 2006; 33: 109-125
- 6 Blattner SM, Kretzler M. Integrin-linked kinase in renal disease: connecting cell-matrix interaction to the cytoskeleton. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2005; 14: 404-410
- 7 Dai DL, Makretsov N, Campos EI, Huang C, Zhou Y, Huntsman D, Martinka M, Li G. Increased expression of integrin-linked kinase is correlated with melanoma progression and poor patient survival. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 4409-4414
- 8 Friedrich EB, Liu E, Sinha S, Cook S, Milstone DS, MacRae CA, Mariotti M, Kuhlencordt PJ, Force T, Rosenzweig A, St-Arnaud R, Dedhar S, Gerszten RE. Integrin-linked kinase regulates endothelial cell survival and vascular development. *Mol Cell Biol* 2004; 24: 8134-8144
- 9 Marotta A, Parhar K, Owen D, Dedhar S, Salh B. Characterisation of integrin-linked kinase signalling in sporadic human colon cancer. *Br J Cancer* 2003; 88: 1755-1762

- 10 Oloumi A, Syam S, Dedhar S. Modulation of Wnt3a-mediated nuclear beta-catenin accumulation and activation by integrin-linked kinase in mammalian cells. *Oncogene* 2006; 25: 7747-7757
- 11 Ahmed N, Riley C, Oliva K, Stutt E, Rice GE, Quinn MA. Integrin-linked kinase expression increases with ovarian tumour grade and is sustained by peritoneal tumour fluid. *J Pathol* 2003; 201: 229-237
- 12 Koul D, Shen R, Bergh S, Lu Y, de Groot JF, Liu TJ, Mills GB, Yung WK. Targeting integrin-linked kinase inhibits Akt signaling pathways and decreases tumor progression of human glioblastoma. *Mol Cancer Ther* 2005; 4: 1681-1688
- 13 Troussard AA, McDonald PC, Wederell ED, Mawji NM, Filipenko NR, Gelmon KA, Kucab JE, Dunn SE, Emerman JT, Bally MB, Dedhar S. Preferential dependence of breast cancer cells versus normal cells on integrin-linked kinase for protein kinase B/Akt activation and cell survival. *Cancer Res* 2006; 66: 393-403
- 14 Liu J, Costello PC, Pham NA, Pintillie M, Jabali M, Sanghera J, Tsao MS, Johnston MR. Integrin-linked kinase inhibitor KP-392 demonstrates clinical benefits in an orthotopic human non-small cell lung cancer model. *J Thorac Oncol* 2006; 1: 771-779
- 15 Graff JR, Deddens JA, Konicek BW, Colligan BM, Hurst BM, Carter HW, Carter JH. Integrin-linked kinase expression increases with prostate tumor grade. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 1987-1991
- 16 Blattner SM, Kretzler M. Kinase: a cancer therapeutic target unique among its ILK. *Nat Rev Cancer* 2005; 5: 51-63
- 17 Ito R, Oue N, Zhu X, Yoshida K, Nakayama H, Yokozaki H, Yasui W. Expression of integrin-linked kinase is closely correlated with invasion and metastasis of gastric carcinoma. *Virchows Arch* 2003; 442: 118-123
- 18 Takanami I. Increased expression of integrin-linked kinase is associated with shorter survival in non-small cell lung cancer. *BMC Cancer* 2005; 5: 1
- 19 Ahmed N, Oliva K, Rice GE, Quinn MA. Cell-free 59 kDa immunoreactive integrin-linked kinase: a novel marker for ovarian carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 2415-2420
- 20 Elbashir SM, Lendeckel W, Tuschl T. RNA interference is mediated by 21- and 22-nucleotide RNAs. *Genes Dev* 2001; 15: 188-200
- 21 Pai SI, Lin YY, Macaes B, Meneshian A, Hung CF, Wu TC. Prospects of RNA interference therapy for cancer. *Gene Ther* 2006; 13: 464-477
- 22 Jorgensen R. Altered gene expression in plants due to trans interactions between homologous genes. *Trends Biotechnol* 1990; 8: 340-344
- 23 杨凤武, 梁后杰. RNAi沉默整合素连接激酶基因表达对结肠癌细胞HT-29增殖的影响. *临床肿瘤学杂志* 2007; 12: 246-250
- 24 陈亮, 王德林, 黄飏. RNAi沉默整合素连接激酶基因表达对膀胱癌细胞BIU-87增殖的影响. *生命科学研究* 2010; 14: 528-533
- 25 吕磊, 曾普青, 朱朝辉, 董锐, 黄露麒. siRNA特异性沉默整合素连接激酶对前列腺癌PC3细胞凋亡的影响. *中国肿瘤* 2009; 18: 908-911
- 26 刘伟, 宋少伟, 马刚, 石蕊, 程颖, 刘宁, 郭建建. 整合素连接激酶在胰腺癌中的表达及意义. *中华胰腺病杂志* 2010; 10: 30-33

■同行评价

本研究立题较好, 研究方法先进可靠, 文章逻辑层次清楚。

编辑 张姗姗 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

本刊讯 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), 国内统一刊号CN 14-1260/R, Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology], 是一本由来自国内23个省、市、自治区、特别行政区的370位胃肠病学和肝病专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

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

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

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

中医“胃不和则卧不安”理论与消化系统疾病及失眠的关系

张压西, 石松

■背景资料

中医很早就提出“胃不和则卧不安”的理论, 通过临床观察发现, 消化系统疾病与失眠之间存在着一定的关系, 本文总结近年来相关资料, 为睡眠障碍的临床治疗提供新的依据和思路。

张压西, 武汉市中医医院消化内科 湖北省武汉市 430014
石松, 湖北中医药大学 湖北省武汉市 430061
国家自然科学基金资助项目, No. 30973687
张压西, 主任医师, 主要从事肝胆及消化系统疾病临床及实验研究。
作者贡献分布: 本文综述由张压西整体构思及撰写; 石松负责中英文摘要写作与修改。
通讯作者: 张压西, 教授, 430014, 湖北省武汉市, 武汉市中医医院消化内科. 2004wyjs@163.com
电话: 027-82852235
收稿日期: 2011-09-15 修回日期: 2011-12-19
接受日期: 2012-02-16 在线出版日期: 2012-02-18

Correlation between digestive diseases and insomnia based on the “Insomnia Following Stomach Disorders” theory in traditional Chinese medicine

Ya-Xi Zhang, Song Shi

Ya-Xi Zhang, Department of Gastroenterology, Wuhan Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430014, Hubei Province, China
Song Shi, Hubei University of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430061, Hubei Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30973687
Correspondence to: Ya-Xi Zhang, Professor, Department of Gastroenterology, Wuhan Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430014, Hubei Province, China. 2004wyjs@163.com
Received: 2011-09-15 Revised: 2011-12-19
Accepted: 2012-02-16 Published online: 2012-02-18

Abstract

Based on the classical theory of “Insomnia Following Stomach Disorders” in traditional Chinese medicine, this review summarizes the domestic literature on the theoretical approach, scientific study and clinical treatment of insomnia that started from the gastrointestinal system. We analyze the clinical features, pathogenesis and therapeutic methods for insomnia in patients with gastrointestinal disorders, approaching the theoretical connotation of the “Insomnia Following Stomach Disorders” theory. We propose that sleep-disorder is not an independent disease and that our research angle to sleep disorders should not be only confined to neuroscience itself since sleep disorders have close connection with many

other diseases. The gastrointestinal tract has an abundant distribution of autonomic nerve fibers. There are intermediary materials, such as autonomic nerves, hormones and neurotransmitters, that communicate between psychological stress and physiological reaction and regulate gastrointestinal function, which would provide a good thought for the research of correlation between digestive system disease and insomnia.

Key Words: Gastrointestinal system; Insomnia; Integrated Chinese and Western medicine

Zhang YX, Shi S. Correlation between digestive diseases and insomnia based on the “Insomnia Following Stomach Disorders” theory in traditional Chinese medicine. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(5): 380-384

摘要

基于中医“胃不和则卧不安”经典理论, 本文综述国内外近年来中西医从消化系统入手对失眠的理论探讨、科学研究和临床治疗的文献, 分析消化系统疾病患者失眠的临床特征、发病机制和治疗方法, 探讨“胃不和则卧不安”的理论内涵。睡眠障碍并非一个独立的疾病, 对睡眠障碍的研究视角已突破神经科学本身, 其与多种疾病有密切联系。消化系统中的胃、肠器官有丰富的自主神经纤维分布, 心理应激与生理反应之间通过自主神经、激素、神经递质等中介物质沟通调节胃肠功能, 这将为“胃不和则卧不安”消化系统疾病患者睡眠相关性研究, 提供一个好的思路。

关键词: 消化系统; 失眠; 中西结合

张压西, 石松. 中医“胃不和则卧不安”理论与消化系统疾病及失眠的关系. *世界华人消化杂志* 2012; 20(5): 380-384
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/380.asp>

0 引言

失眠是指睡眠的始发和(或)睡眠的维持发生障碍, 导致睡眠时间或睡眠质量不能满足个体生理需要, 并且影响患者白天的生活。失眠包括入睡困难、易醒(夜醒2次或2次以上)、早醒和睡

■同行评议者
沈克平, 主任医师, 上海中医药大学附属龙华医院

睡眠质量下降等。失眠已成为困扰人们日常生活的常见疾病。WHO的一项研究表明, 全球约有27%的人遭受睡眠病症的困扰^[1]。2002年由国际精神卫生和神经科学基金会(IFMHN)主办的“全球睡眠调查”结果显示, 在我国人群中有45.5%的人存在睡眠问题(其中28%失眠, 17.4%可疑失眠)^[2], 失眠影响精力和体力的恢复, 从而影响白天的工作和生活, 并增加事故和差错的发生率, 严重的失眠还会诱发一些身心性疾病, 尤其是导致抑郁或焦虑症, 甚至可引起自杀行为。Eliassen^[3]通过调查研究发现晚上的行为与饮食将直接或者间接的干扰自然睡眠节律。失眠属中医学“不寐”“目不瞑”“不得眠”等范畴。失眠可以以一个独立的临床表现出现, 也可以伴随有其他一些躯体性疾病。中医认为, 五脏六腑功能失调均能导致失眠, 某医院专科门诊调查1 102例失眠症患者, 也发现单纯性失眠症只占30%左右, 其余的失眠症均与疾病相关^[4]。在国际睡眠障碍分类中, 消化性溃疡作为一种睡眠障碍性疾病列在“与其他疾病相关性睡眠障碍”项下。有报道, 消化系统心身疾病的病种和发病率居内科心身疾病的首位, 患者存在着明显的睡眠障碍和精神心理异常, 因此消化系统疾病伴失眠目前已引起临床医生的重视。姚宏昌^[5]在10年前统计, 消化系统心身疾病占本系统所有疾病的42%, 而近年来又呈逐渐上升趋势。刘春江^[6]观察发现180例功能性消化不良患者中有焦虑、抑郁、恐惧、失眠等精神症状60例, 占33.3%。中医理论认为消化系统疾病患者不寐的原因常常是因为胃气失于和降, 胃脘搅扰不适, 浊气上泛, 扰动心神而卧不安寐, 既“胃不和则卧不安”。

1 “胃不和则卧不安”的临床特征

消化系统疾病伴失眠的患者临床上常伴有早饱、腹胀、嗝气、反酸、大便异常等临床特征, 较少以独立的失眠为主诉。中医已经认识到这个特征, 沈金鳌等^[7]提出了以不寐所兼见症来辨别五脏病。不寐“在肝则不快之状多见左; 在肺则不快之状多见上; 在心则不快之状多见于上部之中; 在胃则不快之状多见于胸腹之中; 在肾则不快之状多见于下中”。张小河^[8]观察了350例焦虑症患者(广泛性焦虑和惊恐障碍), 其中以躯体症状为主诉的焦虑症共200例, 占同期焦虑症患者的57.1%, 几乎所有患者均难以入睡, 易惊醒, 梦多, 常感疲劳, 11%常有恶梦, 本组病例中几乎100%

患者有消化系统表现, 尤其是上消化道不适的表现, 如腹胀、腹痛、反酸、嗝气、胃气上逆、上腹填塞感等, 此为本组病例突出特点。

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)患者^[9]常在腹胀、大便溏而不爽、大便不尽感、神疲乏力及胃纳减少等临床表现的同时, 也常表现出失眠多梦、焦虑不安、情绪抑郁等多种情志异常的症状。沈峰等^[10]采用患者自行完成兹堡睡眠质量指数(PSQI)、随机抽取部分患者于2 wk后重测, 分析IBS患者睡眠质量的信度、效度和反应度, 结果显示IBS患者的总失眠率为25.9%。华建平等^[11]调查IBS患者心理障碍时发现, 48%患者存在不同程度的心理障碍, 而腹胀不适、排便次数与性质的改变与精神情绪的变化密切相关, 其中抑郁、焦虑、神经敏感较为突出, 多表现为躯体症状, 如头晕、心慌、失眠多梦、乏力等。何剑琴等^[12]研究IBS患者睡眠质量特征时发现, IBS组患者的睡眠质量、睡眠障碍、安眠药物、日间功能积分均显著高于正常组, 提示患者存在不同于正常人的睡眠障碍, 表现为睡眠质量差。另外, Tan等^[13]对其学校看似健康的学生, 通过收集问卷调查的方式总结发现, 533份完整的答复中有84(15.8%)名学生症状与IBS的诊断是一致的, 主要是女性, 其中自我感觉报告中焦虑症状 $P = 0.02$, 失眠、头痛症状 $P = 0.04$, 提示IBS与焦虑失眠有关联。Sato等^[14]研究发现使用精神科药物能有效治疗IBS, 有40.6%(对照组11/32, 治疗组13/32)功能性消化不良的患者伴失眠^[15], 其临床特征主要表现为嗝气、恶心、腹胀、腹痛、腹泻、便秘、失眠。贾绮宾等^[16]对其医院消化科1 320例就诊患者进行统计发现, 失眠多梦、烦躁、多虑、乏力、精神不集中、记忆力衰退等为主诉症状者占80%以上, 其中功能性消化不良患者焦虑抑郁情绪发生率较正常人群显著升高。Koloski等^[17]认为心理行为因素是影响功能性消化不良患者症状严重程度和就诊频率的重要因素, 进而影响到卫生资源的利用和患者的生活质量。高应珍^[18]对78例既往有明确消化性溃疡病史并经胃镜检查确诊者, 发现伴精神心理因素(精神紧张、失眠多梦、焦虑等)37例, 占47.44%。

失眠是消化系统肿瘤患者中最常见的睡眠障碍, 是影响患者身心健康和生活质量的一个重要因素。Shinno等^[19]提到癌症患者睡眠异常, 消化系肿瘤患者的焦虑情绪与其积极应对方式呈负相关^[20]。苏茜等^[21]调查了451例消化系统肿瘤患

■研发前沿

消化系统中的胃肠器官有丰富的自主神经纤维分布, 心理应激与生理反应之间通过自主神经、激素、神经递质等中介物质沟通调节胃肠功能。亟待发现这些中介物质以及明确其作用机制。

■相关报道

脑肠肽的发现为消化系统疾病与睡眠障碍的关系提供了有利依据。

■创新盘点

睡眠障碍是临床常见病, 发病率非常高, 多伴随各种疾病和精神情志因素出现, 单纯失眠则比较少见。作者通过临床观察发现不同疾病所引发的睡眠障碍特点各不相同。

者术前焦虑情况, 其中149例(33.0%)的患者伴发焦虑情绪, 除表现为气促、便秘、腹泻外, 还表现为失眠、食欲丧失。另外, Alexandra等^[22]调查61例恶性腹水患者腹腔穿刺术后和其中44例后续问卷的情况, 发现腹水症状得到改善, 最令患者难受的症状也得到很大改善, 如: 腹胀改善率42%-54%, 呼吸困难改善率33%-43%, 失眠改善率29%-31%等。通过治疗睡眠可以改善胃癌患者的精神症状^[23]。

2 “胃不和则卧不安”的发生机制

情志为五脏所主, 故情志活动与脏腑关系密切, 胃肠功能紊乱, 是导致失眠的机制之一。脾胃乃后天之本。脾气主升, 胃气主降。脾胃相合, 一升一降, 相反相成, 通降上下气机。饮食劳倦则导致脾胃气机升降紊乱, 脾气升举清阳无道, 胃气通降下行失常, 上气不得下, 下气不得上, 中焦气机停滞上下失通, 扰乱营卫气血循行, 阴阳失和, 心神不宁, 则“卧不安”。虽然失眠的病因是多方面的, 也往往是多种病因的复合作用, 但从脾胃方面进行分析, 不“和”则为其总的病机。卢世秀等^[24]认为五脏功能失调皆可引起五神的变化而发生不寐, 而五脏之中, 尤以脾(胃)脏最为重要。脾胃病变或脾胃虚弱, 气血不足, 心神失养, 或中焦失运, 蕴湿成痰, 痰热扰心等, 均可导致心神不宁而不寐。于海亭提出“胃不和则卧不安”是躯体化障碍的症候之一, 并认为《内经》所引“胃不和则卧不安”是指饮食所伤导致的胃失和降, 以及肝郁所致的脾胃不和引起的失眠和情绪郁闷等。湛剑飞等^[25]采用¹⁴C呼气试验对90例失眠伴明显消化系统症状者进行幽门螺杆菌测定, 并与30位健康患者作自身胃镜检查, 以判定疾病性质。结果观察组(失眠组)幽门螺杆菌感染阳性率显著大于对照组($P<0.01$)。认为失眠与幽门螺杆菌感染密切相关, 提出“胃不和则卧不安”经典理论, 应注入“卧不安亦胃不和”新的观点。

Farssone-Pellegrini等^[26]在手术切除的胃体大弯侧黏膜和黏膜下层发现大量TRPV1阳性神经元和神经纤维。现代医学的大量研究表明^[27], 功能性胃肠病患者对胃肠道充盈、扩张、肠肌收缩等生理现象极为敏感, 甚至在正常状态下肠蠕动亦较常人更易感觉到, 对于一些较轻的病理变化, 则易感觉到腹痛, 即痛阈降低, 胃底的痛觉感增高。胃肠道的动力、感觉和分泌功能主要受自主神经和内分泌系统的调节, 易受

内外环境的刺激及情绪因素影响, 胃肠道是心身相关最敏感的器官。这些说法似乎可以作为中医对胃不和(胃中的一些正常或不正常)状态所导致的失眠、心烦、反复不宁的一种现代解释。

功能性消化不良^[27]和抑郁、焦虑情绪障碍之间可能有2类不同的情况: 一是心理异常为主因, 胃肠症状是其躯体症状的一部分, 称“原发性”心理异常; 另一类是胃肠病症状为主导, 经久不愈后引起心理异常称“继发性”心理异常。刘汶等^[28]推测, 情志不遂, 精神心理失衡, 导致肝气郁结, 肝失疏泄, 肝气不能正常升发, 津血不能正常为五脏六腑及脑所用, 以致脑失所充、脾失所养, 终致消化不良。

精神因素可通过迷走神经反射使胃酸分泌增多, 胃运动加强; 通过交感神经兴奋则使胃黏膜血管收缩而缺血, 胃运动减弱; 通过下丘脑-垂体-肾上腺轴而使皮质酮释放促进胃酸分泌而减少胃黏液分泌^[29], 而使溃疡发作或加重。又因溃疡形成后疼痛而加重焦虑、恐惧等负性情绪, 形成恶性循环。

近年来随着研究的不断深入, 证实抑郁、焦虑等心理因素通过脑-肠交通轴使胃肠运动及内分泌发生紊乱和内脏敏感性增高。胃动力不足应是功能性消化不良发生的始动因素, 胃食管反流可能是造成患者胃肠道症状加重的促发因素, 以失眠、抑郁为代表的精神症状则可能是病情反复的诱发因素。李绍旦等^[30]提出亚健康失眠最主要的直接因素就是现代生活方式改变和饮食结构习惯变化, 从而引起人体脾胃、肠道的消化功能紊乱, 意即众多亚健康失眠者多存在“胃不和”。采用和胃安神法临床加減遣方治疗亚健康失眠, 在治疗总有效率方面, 试验组和胃安神法(92.0%)明显高于对照组养心安神法(71.2%), 有统计学意义($P<0.01$), 而且通过PSQI量表的检测发现, 对亚健康失眠者的睡眠质量完全改善率, 和胃安神法(81.3%)效果明显优于养心安神法(64.4%), 有统计学意义($P<0.05$)。韩国翰林大学医学院专家Kang等^[31]在使用芬特明治疗肥胖病的过程中发现, 口干、失眠是最常见的不良事件, 只是表现轻重程度不同。从中医角度分析, 通过药物抑制食欲, 出现不思饮食等症状则是“胃不和”的表现。从侧面更进一步说明了“胃不和则卧不安”的道理。

3 理气和胃, 促进睡眠

通常对失眠的治疗, 常常选用酸枣仁、夜交

■应用要求

本文为失眠的临床特征、病因机制分析和治疗提供了依据, 拓宽了思路。

藤、茯神等具有安神作用的药物, 而对于“胃不和”所致的失眠, 则常以理气和胃、疏肝达到调节睡眠的目的。《内经》中半夏秫米汤、《伤寒论》中四逆散均是治疗胃气不和, 夜不得眠的典型方剂。

曹田梅等^[32]还注重祛邪及气机阴阳的调理, 对内经“胃不和则卧不安”一理论有创造性的理解和应用, 他认为: “胃不和”不仅指饮食不节, 停食停饮, 凡脾胃不和, 中焦气机不畅, 痰浊水饮中阻, 均可致“卧不安”。因此凡大便不畅、干结、嗝气、脘闷纳呆、胁肋胀满者, 均加枳实、竹茹、陈皮等理气导滞之品, 以调理胃肠气机; 以茯苓、甘草等药合用, 寓温胆汤之意, 导滞泄浊, 使湿、痰、食等邪外出; 对大便秘结者, 必当兼顾调理, 否则, 大便不通, 睡眠难安。此外, 重视阴阳调理, 在临床多用重剂龙骨、珍珠母等以潜镇阳气, 使阳入于阴, 阴阳和, 则寐自安。于丰彦等^[33]以疏肝健脾、安神和胃法组方康泰方(主要由白术、白芍、元胡、夜交藤等中药组成), 对32例IBS伴失眠、心烦焦虑受试对象进行治疗, 并同时与得舒特(匹维溴铵片), 进行对比。疏肝健脾, 安神和胃法在中医证候改善及生存质量方面优于对照组。陈昆等^[34]以保和汤加味治疗顽固性失眠73例, 总有效率75.5%。郭满红等^[35]对60例经罗马诊标III进行筛选, 并用SCL-90项对其心理健康状况测评的FD患者, 应用中国传统思想与西方心理治疗相结合的方法进行治疗; 对照组进行消化系统常规的对症治疗, 结果治疗组90%患者FD症状消失或部分消失, 总有效率90%以上, 跟踪随访一年, 复发率9%, 对照组复发率60%比较, 该疗法治愈率高、且复发率低。肖丽飞等^[36]综合运用反射疗法治疗不寐, 在全足施术基础上, 重点取与消化系统有关反射区、与神经系统有反射区及俞穴取穴, 运用反射疗法共观察治疗了80例不寐患者, 效果显著, 并发现本类病证有以下特点: 在诊疗中大多数患者有关脏器病变检查阴性, 唯独头颈肩部伤筋体征及消化系统体征阳性, 提示头颈肩部伤筋及消化系统疾病可能继发失眠, 试行运用反射疗法针对性治疗, 结果伤筋及消化系统病变好转, 失眠也随之消失。

4 镇静安神, 促进胃和

近20年来, 随着生理学研究的深入, 发现许多过去认为只存在于脑内的肽类也出现在胃肠道, 而一些被认为只存在于胃肠道的激素也存在

于脑内, 人们将这种双重分布的肽类称为脑肠肽。脑肠肽在神经系统除了可以作为神经递质起作用外, 还可为神经调节起作用。脑肠肽的名称在不断增加, CCK是其中被发现较早的一种。消化系统中整个小肠黏膜都含有可以合成和分泌CCK的内分泌细胞, 但以十二指肠和空肠上部最为丰富。因此调节神经内分泌可缓解消化系统疾病症状, 消化系统症状的缓解也可促进失眠的调节。最近确定一种循环生长激素释放和诱发食欲的脑肠肽, 并命名为GOAT(ghrelin O-acyltransferase)。GOAT mRNA表达分布在人体各种组织中, 但在胃和肠道表达最高, 为最主要的GOAT分泌组织^[37]。

张润顺^[38]以镇静安神为主, 结合分型辨证论治, 治疗呃逆伴睡眠障碍32例, 并与常规辨证分型论治组进行比较, 结果显示, 以镇静安神为主结合辨证论治组总有效率达93.75%(30/32), 而对照组有效率为71.43%(20/28), 两组比较有显著性差异($P<0.05$)。张润顺^[38]认为, 凡脾胃肠病症中病因与情志因素有关, 临床见失眠、多梦、心悸、烦躁易怒等心神不宁症状, 或症状醒则加重, 入睡则减轻者, 均可以安神为主进行治疗, 或结合安神方药, 通过镇静安神, 可达宁心以安胃气之功, 神宁则气平不逆, 呃逆自止。常用药物有朱砂、酸枣仁、柏子仁、合欢花、合欢皮、鸡血藤等。陈凯^[39]在多潘立酮的基础上加用奥氮平治疗功能性消化不良伴抑郁及焦虑患者, 对照组予多潘立酮治疗, 治疗组患者暖气、恶心、腹胀、腹痛、纳差、失眠主要症状明显缓解, 治疗组的总改善率为85.2%(109/128), 明显高于对照组49.5%(59/111), 差异有统计学意义($P<0.01$)。利培酮低剂量1.7 mg/d治疗肝癌患者谵妄的有效率为80%^[40]。

5 结论

中医“胃不和则卧不安”这一经典理论, 现在越来越显示其理论和实际价值, 综述近年文献, 消化系统疾病与失眠的相关性越来越多地得到证实, 理气和胃, 促进睡眠在临床治疗上起到良好效果。睡眠障碍并非一个独立的疾病, 对睡眠障碍的研究视角已突破神经科学本身, 认识到了睡眠障碍与多种疾病有密切联系, 临床各科患者都可并存睡眠障碍, 各科疾病都可并发睡眠障碍^[41]。但是消化系统疾病与失眠之间的因果关系尚不完全明确, 精神医学中素有“胃肠是情绪的器官”之称。消化系统中的胃肠器官有

■同行评价

本文从文献综述的角度探讨了消化系统疾病与失眠的关系, 确认理气和胃、促进睡眠治则, 并提出镇静安神、促进胃和的治疗原则, 为更好地治疗消化系统疾病及失眠提供了新的思路, 具有较好的学术价值。

丰富的自主神经纤维分布, 心理应激与生理反应之间通过自主神经、激素、神经递质等中介物质沟通调节胃肠功能^[42], 也许这将为“胃不和则卧不安”消化系统疾病患者睡眠相关性研究, 提供一个好的思路。

6 参考文献

- Taylor DJ, Lichstein KL, Durrence HH. Insomnia as a health risk factor. *Behav Sleep Med* 2003; 1: 227-247
- 赵忠新. 临床睡眠障碍学. 上海: 第二军医大学出版社, 2003: 121
- Eliassen CF. Behavioral Strategies. *Alternative & complementary therapies* 2010; 16: 244
- 滕晶, 张继香. 谈失眠从心肝. *山东中医杂志* 2005; 24: 6-7
- 姚宏昌. 重视消化系统心身疾病的研究. *中华消化杂志* 2001; 21: 133-134
- 刘春江. 180例功能性消化不良的临床分析. *中国实用医刊* 2008; 35: 58-59
- 沈金鳌. 杂病源流犀烛. 第1版. 北京: 中国中医药出版社, 1999: 116
- 张小河. 以躯体症状为主诉的焦虑障碍200例诊治探讨. *临床与实践* 2009; 13: 781-784
- 黄文伟, 周福生. 肠易激综合征发病机制研究新进展. *广州中医药大学学报* 2006; 23: 85-88
- 沈峰, 周惠清, 陈光榆, 宋立升, 刘燕, 杨琳, 陈丽丽, 李国定. 匹兹堡睡眠质量指数在肠易激综合征患者中的应用评价. *胃肠病学* 2011; 16: 19-21
- 华建平, 姚宏昌, 张秋寅. 心理障碍在肠易激综合征发病中的作用. *胃肠病学* 2003; 8: A17-A18
- 何剑琴, 王伟岸, 胡品津. 肠易激综合征患者睡眠质量特征分析. *胃肠病学* 2003; 8: A18
- Tan YM, Goh KL, Muhidayah R, Ooi CL, Salem O. Prevalence of irritable bowel syndrome in young adult Malaysians: a survey among medical students. *J Gastroenterol Hepatol* 2003; 18: 1412-1416
- Sato M, Murakami M. [Treatment for irritable bowel syndrome--psychotropic drugs, antidepressants and so on]. *Nihon Rinsho* 2006; 64: 1495-1500
- 陈凯. 小剂量奥氮平对功能性消化不良伴抑郁及焦虑患者的治疗研究. *中国医药* 2010; 5: 38-39
- 贾绮宾, 李笠, 阴英, 樊宇靖, 蓝宇. 具心理障碍的功能性消化不良41例临床分析. *中华全科医师杂志* 2011; 10: 207-209
- Koloski NA, Talley NJ, Boyce PM. Predictors of health care seeking for irritable bowel syndrome and nonulcer dyspepsia: a critical review of the literature on symptom and psychosocial factors. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 1340-1349
- 高应珍. 消化性溃疡复发原因分析及预防对策. *基层医学论坛* 2011; 15: 220-221
- Shinno H, Kamei M, Maegawa T, Satake A, Inami Y, Horiguchi J, Nakamura Y. Three patients with cancer who developed rapid-eye-movement sleep behavior disorder. *J Pain Symptom Manage* 2010; 40: 449-452
- Montazeri A. Health-related quality of life in breast cancer patients: a bibliographic review of the literature from 1974 to 2007. *J Exp Clin Cancer Res* 2008; 27: 32
- 苏茜, 王维利. 治疗性沟通系统在消化系统恶性肿瘤患者术前焦虑中的运用. *中华护理杂志* 2010; 45: 869-872
- Easson AM, Bezjak A, Ross S, Wright JG. The ability of existing questionnaires to measure symptom change after paracentesis for symptomatic ascites. *Ann Surg Oncol* 2007; 14: 2348-2357
- Hideto Shinno, Tatsuo Matsuoka, Osamu Yamamoto, Yoko Noma, Satoshi Hikasa, Minoru Takebayashi, Jun Horiguchi. Successful treatment with quetiapine for delirium in terminally ill cancer patients. *PSYCHOGERIATRICS* 2007; 7: 64-68
- 卢世秀, 苏凤哲. 路志正从脾胃论治失眠. *北京中医药* 2011; 30: 15-16
- 湛剑飞, 谭薇, 严颂琴, 刘小鹏, 段素静. 失眠与幽门螺旋杆菌感染关系研究及中西医病机探讨. *中华中医药学刊* 2007; 25: 2466-2467
- Faussone-Pellegrini MS, Taddei A, Bizzoco E, Lazzeri M, Vannucchi MG, Bechi P. Distribution of the vanilloid (capsaicin) receptor type 1 in the human stomach. *Histochem Cell Biol* 2005; 124: 61-68
- 李姝, 段丽萍. TRPV1与功能性胃肠病内脏高敏感关系研究进展. *北京大学学报(医学版)* 2011; 43: 311-314
- 刘汶, 范萌, 王仲霞, 韩偲偲, 夏志伟. 功能性消化不良中医证型与情绪的关系. *中医杂志* 2008; 49: 825-827
- 高应珍. 消化性溃疡复发原因分析及预防对策. *基层医学论坛* 2011; 15: 220-221
- 李绍旦, 杨明会. 和胃安神法治疗亚健康失眠的临床研究. *临床合理用药杂志* 2011; 4: 69-71
- Kang JG, Park CY, Kang JH, Park YW, Park SW. Randomized controlled trial to investigate the effects of a newly developed formulation of phentermine diffuse-controlled release for obesity. *Diabetes Obes Metab* 2010; 12: 876-882
- 曹田梅. 夏洪生教授临床验案实录. *深圳市中西医结合杂志* 2004; 14: 79-80, 90
- 于丰彦, 陶双友, 罗琦, 周福生, 廖荣鑫. 疏肝健脾安神和胃法对D-IBS结肠HO-1和iNOS的影响. *现代消化及介入诊疗* 2010; 15: 288-290
- 陈昆, 马丽群. 保和汤加味治疗顽固性失眠73例. *现代医药卫生* 2003; 19: 748-749
- 郭满红, 张书琴, 李樱. 中国传统思想与西方心理治疗结合疗法在功能性消化不良中的应用. *中国中医药现代远程教育* 2010; 8: 93-94
- 肖丽飞, 周业强, 肖丽娟, 肖义航. 综合运用反射疗法治疗不寐80例疗效观察. *双足与保健* 2005; 13: 40-41
- Lim CT, Kola B, Grossman A, Korbonits M. The expression of ghrelin O-acyltransferase (GOAT) in human tissues. *Endocr J* 2011; 58: 707-710
- 张润顺. 镇静安神为主治疗顽固性呃逆临床观察. *山西中医学院学报* 2003; 4: 34-35
- 陈凯. 小剂量奥氮平对功能性消化不良伴抑郁及焦虑患者的治疗研究. *中国医药* 2010; 5: 38-39
- Horikawa N, Yamazaki T, Miyamoto K, Kurosawa A, Oiso H, Matsumoto F, Nishimura K, Karasawa K, Takamatsu K. Treatment for delirium with risperidone: results of a prospective open trial with 10 patients. *Gen Hosp Psychiatry* 2003; 25: 289-292
- 赵忠新. 临床睡眠障碍学. 上海: 第二军医大学出版社, 2003: 12
- 李天心. 医学心理学. 北京: 北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社, 1998: 314

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

肝癌的综合治疗及肿瘤抗血管联合疗法

常宗宏, 汪泳, 吴汉平

常宗宏, 汪泳, 吴汉平, 中国人民解放军兰州军区兰州总医院消化内科 甘肃省兰州市 730050

常宗宏, 医师, 主要从事消化系统疾病诊治及消化内镜工作。

作者贡献分布: 本论文写作由常宗宏完成; 文献检索由汪泳完成; 吴汉平完成英文翻译。

通讯作者: 常宗宏, 医师, 甘肃省兰州市, 中国人民解放军兰州军区兰州总医院消化内科, changzonghong@163.com

收稿日期: 2011-05-16 修回日期: 2011-12-19

接受日期: 2012-02-17 在线出版日期: 2012-02-18

Anti-angiogenesis-based combined therapy for primary liver cancer

Zong-Hong Chang, Yong Wang, Han-Ping Wu

Zong-Hong Chang, Yong Wang, Han-Ping Wu, Department of Gastroenterology, Lanzhou General Hospital, Lanzhou Military Area Command of Chinese PLA, Lanzhou 730050, Gansu Province, China

Correspondence to: Zong-Hong Chang, Physician, Department of Gastroenterology, Lanzhou General Hospital, Lanzhou Military Area Command of Chinese PLA, Lanzhou 730050, Gansu Province, China. changzonghong@163.com
Received: 2011-05-16 Revised: 2011-12-19

Accepted: 2012-02-17 Published online: 2012-02-18

Abstract

Primary liver cancer (PLC) is a form of cancer with a high mortality rate, and nearly eighty-five percent of PLC patients can not tolerate operation due to the combination with cirrhosis. Transcatheter arterial chemoembolization (TACE) is the first choice to cure unresectable liver cancer, but its effect is limited by portal vein blood supply. TACE cannot induce the necrosis of all tumor cells, and the residual tumor cells after operation is the source of relapse. Radiotherapy is a common therapy, but it may promote tumor angiogenesis and induce large hepatocellular carcinoma resistance and relapse. In this context, anti-angiogenesis therapy comes into focus. Researchers have studied to combine anti-angiogenesis therapy (achieved by antagonizing vascular endothelial growth factor (VEGF) and endothelial progenitor cells (EPCs)) with chemotherapy or radiotherapy to improve prognosis. The data from several groups show that anti-angiogenesis therapy restrains tumor grow and metastasis both in vitro and in vivo.

Anti-angiogenesis-based combined therapy can increase survival and improve prognosis.

Key Words: Primary liver cancer; Antiangiogenesis therapy; Vascular endothelial cell growth factor; Chemotherapy; Radiotherapy

Chang ZH, Wang Y, Wu HP. Anti-angiogenesis-based combined therapy for primary liver cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(5): 385-388

摘要

肝癌死亡率极高, 发病隐匿, 且85%合并肝硬化不能耐受手术。肝动脉化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)是不能手术切除肝癌的首选治疗方法之一, 但由于门静脉血供的残存, 单纯TACE难以使肿瘤细胞完全坏死, 术后癌细胞残留是复发的根源。放疗亦作为治疗肝癌的常规手段, 但其促进肿瘤血管新生, 因而促使大肝癌放疗抗拒和放疗后复发、转移。而抗血管治疗能够抑制肿瘤血管形成, 降低血管通透性, 提高内皮细胞对放射的敏感性及促进瘤细胞凋亡和减少肿瘤内的乏氧细胞数, 从而抵抗放射抗拒。综上, 与单一的手术、化疗、放疗及抗血管治疗相比, 肝癌的综合治疗能提高患者生存率, 改善预后。治疗策略的制定需要掌握不同肿瘤的生物特性, 权衡各种治疗方案的利弊。

关键词: 肝癌; 抗血管治疗; 血管内皮细胞生长因子; 化疗; 放疗

常宗宏, 汪泳, 吴汉平. 肝癌的综合治疗及肿瘤抗血管联合疗法. *世界华人消化杂志* 2012; 20(5): 385-388

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/385.asp>

0 引言

肝癌是一种病死率极高, 对血管依赖性强的实体性肿瘤^[1]。全世界范围内, 每年大约有50万人死于此病, 占肿瘤致死原因的第4位和肿瘤发病率的第8位^[2]。我国肝癌每年的新发病例约13万, 占全世界新发病例的45%, 死亡率仅次于胃、食管而居第3位, 部分农村地区占第2位, 仅次于

■背景资料

肝癌是一种病死率极高, 对血管依赖性强的实体性肿瘤。对于肝癌的治疗已经向多种方法的序贯综合治疗发展。

■同行评议者

高润平, 教授, 吉林大学第一医院肝病科

■ 研发前沿

肝癌的治疗从最初的单一手术治疗到手术联合化疗至放射治疗的出现, 综合治疗在一定程度上改善了预后, 延长了生存期, 然而肝癌仍严重威胁着患者的生命。

胃癌^[3,4]、乙型肝炎、丙型肝炎病毒感染及肝炎性肝硬化、酒精性肝硬化、黄曲霉素B1等是肝癌发病的主要危险因素。对于肝癌的治疗已向多种方法的序贯综合治疗发展。目前, 肝癌治疗措施主要包括手术、介入、热消融、冷冻消融、化学消融、放射治疗、免疫、基因、中药和近来热点关注的抗血管生成治疗^[5]。然而由于个体差异性及肝癌组织细胞生物学上的差异, 使得单纯一种治疗方法很难达到彻底破坏肿瘤组织的目的^[6]。肝癌的复发、转移、死亡率仍严重威胁着肝癌患者的生命。肝癌手术治疗无疑是最有效的根治性措施^[7], 但肝癌发病隐匿, 病变程度与临床症状往往不相称, 即可能无临床症状者病变分期已较晚, 因此仅有15%-30%的肝癌患者可行手术治疗^[6-8]。且肝癌手术后仍呈现复发、转移率高的特点, 故此需要制定合理、个体化的治疗方案。无法切除的原发性肝癌, 应根据患者个体病情, 采用多种方法互补实施治疗, 一旦治疗后肝癌有手术切除指征, 应尽早手术探查, 争取手术切除, 以求根治^[6]。

1 手术治疗

对肝脏储备功能尚好, 全身情况良好或肿瘤不大, 特别是小肝癌, 无其他手术禁忌证者手术为首选, 肝门附近的大肝癌随着术式和技巧的不断改进和完善, 手术治疗也可作为首选^[9]。肿瘤包膜完整、无子灶的巨大肝癌即便位于下腔静脉、主肝静脉、肝短静脉处也应争取手术治疗^[10]。肝动脉化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)已成为治疗中晚期原发性肝癌及不能手术切除肝癌的首选方法^[11]。不能切除的肝癌经TACE后Ⅱ期手术切除5年生存率可达50%以上, 但对于临床状况较差, 或合并肝外转移的中、晚期肝癌、弥漫型肝癌及术后肝内广泛复发者则不宜再采用手术治疗。关于肝移植术, 1996年Milan标准认为, 单个肿瘤直径<5 cm, 或多个肿瘤直径<3 cm、结节少于3个、意外癌、纤维板层型癌等并且无血管侵犯者, 肝移植术可达到长期无瘤生存的治疗效果。而门静脉近胰腺侧主干存在癌栓应为肝移植的绝对禁忌证, 肝外远处转移的原发性肝癌(primary liver cancer, PLC)患者, 也是肝癌移植术的禁忌证。我国符合肝移植术的患者大都符合手术切除的条件。

对于不能手术或术后怀疑有残存癌细胞及复发迹象的患者, 就必须参照临床、病理、生

化、影像学指标采取如化疗、放疗和生物治疗等更进一步的综合疗法。除评估肿瘤大小、原发肿瘤的数目、有无包膜、转移、病理分级或临床分期及传统的监测甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)和定期影像学检查外, 还需要更早且可靠的预示肿瘤复发或转移的一种指标。有实验数据表明间质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinases-2, MMP-2)是肝癌复发和转移的促进因素, 而血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial cell growth factor, VEGF)、低氧诱导因子- α (hypoxia inducible factor- α , HIF- α)与MMP-2两两间具有相关性, 即一个因素的表达诱导另一个因素的表达^[12-14]。是否可以监测此3项指标作为提示预后和制定综合治疗策略的参考, 及其是否早于影像学及其他指标而优先预示肝癌的复发、转移有待于临床进一步研究验证。

2 化疗、放疗与抗血管疗法

我国以大肝癌为主, 约80%的患者在确诊时已失去手术机会, 85%合并肝硬化, 导致不能耐受半肝切除术, 其独特的病理可能与内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)的功能和分布相关^[4,15]。Yu等^[16,17]在研究肝癌和肝硬化中EPCs招募到邻近的非肿瘤组织中完成新生血管机制的报道中指出, 肝癌和肝硬化都使前血管生成因子表达增加, 导致EPCs动员、招募、归巢到邻近的非肿瘤组织形成新生血管以利于肿瘤生长转移, 并可使组织结构紊乱导致肝硬化^[18]。肿瘤的生长、恶化、浸润和转移都与血管生成息息相关。无血管期(avascular phase)的肿瘤直径很少超过1-2 mm, 基本处于休眠期, 血管期(vascular phase)肿瘤细胞通过分泌某些特异性促血管生成因子, 诱发新的毛细血管从其周围组织内的宿主血管壁长出, 这样就为肿瘤的限制生长、转移提供了条件, 最终出现恶化、并发症及二次瘤的形成^[19,20]。肿瘤的血管新生是任意方向的, 受多因素、多环节调节, 因而抗血管治疗具有多靶点性, 包括影响肿瘤血管新生的各个环节, 最近研究比较多的是抗VEGF和以EPC为载体基因转染策略^[21-23]。

2.1 抗血管疗法联合化疗 肝癌先天性高表达多耐药基因^[7], 全身化疗对原发性肝癌的疗效不理想, 有效率一般不超过10%^[8], 目前TACE已成为治疗中晚期原发性肝癌及不能手术肝癌的首选方法^[2,6,24,25]。但由于动脉栓塞后侧支循环的建立及门脉血供的存在, 单纯的TACE难以使肿瘤细

胞完全坏死, 故此TACE后常见癌细胞残留是复发的根源^[24]. 因此设想TACE与抗血管药物序贯疗法能取得增益的疗效. 基于此种设想的理论涉及肿瘤血管新生. 肿瘤血管由内皮细胞、周细胞/平滑肌细胞和基底膜组成. 肿瘤新生血管的数量和功能是肿瘤的独立预后因素, 周细胞主要通过VEGF和PDGF/PDGFR与内皮细胞的相互作用在肿瘤血管发展、稳定、成熟及重塑过程中发挥着重要作用^[26]. Zhang等^[27]实验用胸苷激酶(TK)基因修饰的EPCs在体外多次静脉注入, 结果表明抑制血管再生, 明显增加了化疗药物的抗肿瘤效果. 此外, Espinoza^[15]提出抵抗内皮细胞招募而增加化疗药物活性的治疗策略. 即使内皮细胞凋亡, 周细胞也能单独启动血管生成, 所以抗血管生成应该同时作用于内皮细胞和周细胞, 从而完全抑制肿瘤血管生成, 减少成熟血管比例, 破坏未成熟肿瘤血管, 抑制正在形成的肿瘤血管, 弥补化疗栓塞术后血管阻断的不完全性, 更彻底的阻断肿瘤血管新生达到更好的肿瘤治疗效果^[26].

2.2 抗血管疗法联合放疗 肝脏是放射敏感组织, 而肝癌细胞对于放疗不甚敏感^[7]. 肝癌远处转移率仅5%左右, 由于放疗设备和三维适形技术的进步, 肝癌的放疗疗效有了极大的提高, 故肝癌的局部放疗越来越受到重视^[28-30]. 但肝癌复发和转移仍是导致放疗后患者死亡的主要原因. 由于放疗可以引起肿瘤组织细胞由于缺氧而导致的放射抗拒影响治疗效果, 即“氧固定假说”, 过大的肿瘤组织会显示周边瘤细胞凋亡明显, 而组织中央细胞会出现乏氧导致瘤细胞凋亡显著减少, 放射治疗对氧饱和较好的细胞毒性作用较大, 治疗效果好, 而对于中央乏氧的肿瘤细胞则显示出明显的放射抗拒, 即放疗致瘤细胞缺氧, 缺氧进一步导致HIF- α 表达升高, 致使VEGF血液水平升高招募EPCs、周细胞促进肿瘤血管新生, 表现出肿瘤生长并为肿瘤的血道转移提供通路^[31,32]. 这可能是肿瘤放疗抗拒和放疗后复发、转移的机制之一. 抗VEGF能够抑制肿瘤血管形成, 降低血管通透性, 提高内皮细胞对放射的敏感性, 及促进瘤细胞凋亡和减少肿瘤内的乏氧细胞数, 从而抵抗由于放疗引起的瘤细胞乏氧后HIF- α 水平升高对治疗抗拒的作用, 故抗VEGF与放疗联合可以增强肿瘤对放疗的反应. Raskopf等^[33]用腺病毒转染VEGF Flk-1抑制基因, 阻断VEGF的血管形成作用, 数据显示对肝癌裸鼠原位及转移瘤均有明显的抑

制作用^[33]. 目前应用于临床的VEGF单克隆抗体有贝伐单抗和兰尼单抗两种药物. 贝伐单抗是2004-02首个获美国FDA批准用于抑制血管生成的药物, 由基因泰克公司研发. 贝伐单抗与5-FU联合获准用于转移性结直肠癌的一线 and 二线治疗; 与含铂类的两药化疗方案联合用于中晚期NSCLC的一线治疗^[34]. 此外还有小分子受体酪氨酸激酶抑制剂舒尼替尼和索拉非尼^[35]. VEGF治疗肝癌的临床药物还有干扰素- α (interferon- α IFN- α), 临床常用于治疗乙型、丙型肝炎, 间接地减少了肝癌的发生, 还可以降低肝癌移植瘤VEGF的表达从而抑制肝癌实验模型的转移和复发. 国内有报道, 将人肝癌细胞SMMC-7721植入裸鼠皮下造模, 放疗联合抗VEGF mAb治疗, 实验结果表明这种联合疗法较单一疗法抑制肿瘤生长的作用要更显著, 而且在放射剂量30Gy加抗体实验组, 肿瘤不再生长, 两者的协同作用最为有效^[3]. 虽然还未有临床应用抗血管联合放疗治疗人肝癌的具体研究报道, 但这些研究数据为我们提供了一些可用的信息和联合治疗可行性的理论指导.

2.3 放疗联合TACE 肿瘤体积过大会导致在放疗过程中乏氧细胞的积累而产生放疗抗拒, TACE能很好地减少肿瘤细胞, 然而TACE即使将肿瘤的动脉完全栓塞, 门静脉血供仍存, 残留的肿瘤细胞成为日后复发、转移的根源^[36]. 因此, 介入栓塞化疗结合放疗, 可以弥补单纯介入治疗的不足也可改善巨大肿瘤的放疗抗拒. 同时, 通过TACE和放疗缩小肿瘤体积后, 肿瘤患者还可有望获得手术治疗的机会.

3 结论

肝癌的治疗从最初的单一手术治疗到手术联合化疗至放射治疗的出现, 综合治疗在一定程度上改善了预后, 延长了生存期^[37], 然而肝癌仍严重威胁着患者的生命. 生物治疗作为肝癌治疗的第4模式, 主要包括免疫治疗与基因治疗, 尤其是后者的发展使人类看到了肝癌治愈的希望, 然而在实际临床治疗中尚未达到理论预期的效果, 这主要涉及人体复杂的调控系统中网状的信号通路. 肝癌作为一种富含血管的实体瘤有其独特的病理特征, 虽然目前仍以手术、化疗及放疗模式为主^[38], 手术治疗仍为首选, 但多种抗血管疗法已取得了一定的疗效, 改善了预后, 并且可能通过一级预防阻止肝癌的发生. 综合治疗模式的制定需要全面考虑肿瘤患者的自身

■ 相关报道

Raskopf等用腺病毒转染VEGF Flk-1抑制基因, 阻断VEGF的血管形成作用, 数据显示对肝癌裸鼠原位及转移瘤均有明显的抑制作用.

同行评价

本文就肝癌综合治疗及肝癌抑制血管再生治疗的国内外现状进行综述, 文章论述的内容比较新颖, 且对临床实际工作具有指导意义。

状况及肿瘤的生物学特性, 而不是越多越好。肿瘤病因的探索及其进展机制的研究能更好地指导临床治疗策略的制定。

参考文献

- 赵志成, 郑树森. 肝癌血管生成机理探讨及EGCG抑制血管生成的实验研究. 浙江大学, 2004: 1-101
- 王传玺, 吴德华, 孙爱民, 陈龙华. 低分割三维适形放疗联合肝动脉化疗栓塞治疗中晚期原发性肝癌的疗效评价. 中华肿瘤防治杂志 2010; 17: 245-248
- 郑青平. 肝癌抗血管形成和放射治疗的实验与临床研究. 第一军医大学, 2006: 1-109
- 黄华忠, 梁世雄, 李业飞. 肝脏放射耐受剂量的研究进展. 广西医学 2009; 31: 1018-1020
- 黎海亮, 胡鸿涛. 肝癌的非手术治疗进展. 河南医学研究 2008; 17: 266-269
- 张宁, 司爽, 陈曙光. 多种方法联合互补治疗无法切除的原发性肝癌. 中国肿瘤临床与康复 2010; 17: 230-232
- 彭磷基, 陆大祥. 多种方法联合互补治疗无法切除的原发性肝癌. 中国老年学杂志 2009; 29: 628-631
- 梨功. 现代放疗在原发性肝癌治疗中的作用. 胃肠病学和肝胆病学杂志 2008; 17: 355-357
- 陈星明, 官成浓. 原发肝癌的综合治疗. 医学研究杂志 2008; 37: 18-22
- 张志伟. 应合理选择肝癌综合治疗方法. 肝胆外科杂志 2010; 18: 1-2
- 施海彬. 介入放射诊疗策略. 北京: 科学出版社, 2008: 174
- Favaro E, Nardo G, Persano L, Masiero M, Moserle L, Zamarchi R, Rossi E, Esposito G, Plebani M, Sattler U, Mann T, Mueller-Klieser W, Ciminale V, Amadori A, Indraccolo S. Hypoxia inducible factor-1alpha inactivation unveils a link between tumor cell metabolism and hypoxia-induced cell death. *Am J Pathol* 2008; 173: 1186-1201
- Li T, Zeng ZC, Wang L, Qiu SJ, Zhou JW, Zhi XT, Yu HH, Tang ZY. Radiation enhances long-term metastasis potential of residual hepatocellular carcinoma in nude mice through TMPRSS4-induced epithelial-mesenchymal transition. *Cancer Gene Ther* 2011; 18: 617-626
- Niers TM, Richel DJ, Meijers JC, Schlingemann RO. Vascular endothelial growth factor in the circulation in cancer patients may not be a relevant biomarker. *PLoS One* 2011; 6: e19873
- Espinoza LR. Novel therapeutic approach to counter the recruitment of circulating endothelial progenitor cells to tumors. *Expert Rev Clin Immunol* 2006; 2: 845-848
- Yu DC, Chen J, Sun XT, Zhuang LY, Jiang CP, Ding YT. Mechanism of endothelial progenitor cell recruitment into neo-vessels in adjacent non-tumor tissues in hepatocellular carcinoma. *BMC Cancer* 2010; 10: 435
- Doyle B, Metharom P, Caplice NM. Endothelial progenitor cells. *Endothelium* 2006; 13: 403-410
- Sieghart W, Fellner S, Reiberger T, Ulbrich G, Ferlitsch A, Wacheck V, Peck-Radosavljevic M. Differential role of circulating endothelial progenitor cells in cirrhotic patients with or without hepatocellular carcinoma. *Dig Liver Dis* 2009; 41: 902-906
- Carmeliet P. Angiogenesis in life, disease and medicine. *Nature* 2005; 438: 932-936
- Bergers G, Benjamin LE. Tumorigenesis and the angiogenic switch. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 401-410
- Kalka C, Masuda H, Takahashi T, Gordon R, Teppe O, Gravelleaux E, Pieczek A, Iwaguro H, Hayashi SI, Isner JM, Asahara T. Vascular endothelial growth factor(165) gene transfer augments circulating endothelial progenitor cells in human subjects. *Circ Res* 2000; 86: 1198-1202
- Dong F, Ha XQ. Effect of endothelial progenitor cells in neovascularization and their application in tumor therapy. *Chin Med J (Engl)* 2010; 123: 2454-2460
- Gao D, Nolan DJ, Mellick AS, Bambino K, McDonnell K, Mittal V. Endothelial progenitor cells control the angiogenic switch in mouse lung metastasis. *Science* 2008; 319: 195-198
- 陈卫, 陆忠华, 邓俊, 杨小娟, 黄利华. 原发性肝癌双灌注介入治疗前后血清TNF- α 和sFas水平的改变及意义探讨. 临床肝胆病杂志 2010; 26: 52-54
- 周信达. 重视原发性肝癌的综合治疗. 肝胆外科杂志 2000; 8: 401-402
- 张令, 戈伟. 周细胞在抗肿瘤血管生成中的研究进展. 微循环学杂志 2010; 20: 49-51
- Zhang JX, Kang CS, Shi L, Zhao P, Liu N, You YP. Use of thymidine kinase gene-modified endothelial progenitor cells as a vector targeting angiogenesis in glioma gene therapy. *Oncology* 2010; 78: 94-102
- 卢金利, 杨芳. 原发性肝癌术中放射治疗研究. 南方医科大学学报 2010; 30: 1673-4254
- 黄华忠, 梁世雄, 李业飞. 肝脏放射耐受剂量的研究进展. 广西医学 2009; 31: 1018-1020
- 李甸源, 高松涛, 石永刚, 郭跃信, 樊锐太. 原发性肝癌96例三维适形放疗疗效分析. 郑州大学学报(医学版) 2009; 44: 1075-1076
- Lee SP, Youn SW, Cho HJ, Li L, Kim TY, Yook HS, Chung JW, Hur J, Yoon CH, Park KW, Oh BH, Park YB, Kim HS. Integrin-linked kinase, a hypoxia-responsive molecule, controls postnatal vasculogenesis by recruitment of endothelial progenitor cells to ischemic tissue. *Circulation* 2006; 114: 150-159
- 姜萌, 王彬尧, 王长谦, 何奔, 范华骅, 邵琴. 静脉注射携带缺氧诱导因子的内皮祖细胞对裸鼠缺血下肢血管新生的作用. 中国动脉硬化杂志 2007; 15: 580-584
- Raskopf E, Dzienisowicz C, Hilbert T, Rabe C, Leifeld L, Wernert N, Sauerbruch T, Prieto J, Qian C, Caselmann WH, Schmitz V. Effective angiostatic treatment in a murine metastatic and orthotopic hepatoma model. *Hepatology* 2005; 41: 1233-1240
- Grothey A, Ellis LM. Targeting angiogenesis driven by vascular endothelial growth factors using antibody-based therapies. *Cancer J* 2008; 14: 170-177
- Zosia Chustacka. Sunitinib and Sorafenib Confirm Efficacy in Renal Cell Carcinoma J. *N Engl J Med* 2007; 356: 115
- 曾昭冲. 肝细胞肝癌放射治疗现状与展望. 中华肿瘤防治杂志 2009; 16: 961-965
- Livraghi T, Goldberg SN, Lazzaroni S, Meloni F, Ierace T, Solbiati L, Gazelle GS. Hepatocellular carcinoma: radio-frequency ablation of medium and large lesions. *Radiology* 2000; 214: 761-768
- 彭磷基, 陆大祥. 肝癌治疗学的研究进展. 中国老年学杂志 2009; 29: 628-631

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

食物敏感与肠易激综合征研究进展

唐吟茵, 许树长, 吴萍

唐吟茵, 许树长, 上海同济大学附属同济医院消化科 上海市 200065

吴萍, 上海同济大学附属同济医院营养科 上海市 200065
唐吟茵, 在读硕士, 主要从事食物与肠易激综合征关系的研究。

作者贡献分布: 本文综述由唐吟茵完成; 许树长与吴萍审核。

通讯作者: 许树长, 主任医师, 200065, 上海市, 上海同济大学附属同济医院消化科. xschang@163.com

收稿日期: 2011-10-29 修回日期: 2011-11-15

接受日期: 2011-11-25 在线出版日期: 2012-02-18

Irritable bowel syndrome and food allergy

Yin-Han Tang, Shu-Chang Xu, Ping Wu

Yin-Han Tang, Shu-Chang Xu, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji University School of Medicine, Shanghai 200065, China

Ping Wu, Department of Nutriology, Tongji Hospital, Tongji University School of Medicine, Shanghai 200065, China

Correspondence to: Shu-Chang Xu, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji University School of Medicine, Shanghai 200065, China. xschang@163.com

Received: 2011-10-29 Revised: 2011-11-15

Accepted: 2011-11-25 Published online: 2012-02-18

Abstract

Irritable bowel syndrome (IBS) is a kind of functional gastrointestinal disease characterized by abdominal pain or discomfort associated with changes in bowel habits. The alternating symptoms of IBS seriously affect the patients' quality of life. Some studies have found that food could cause or aggravate the symptoms of IBS possibly by inducing food allergy and food intolerance. However, the specific mechanisms have not been established yet. Currently there are "bacterial 'toxin' hypothesis", "immune or inflammatory response hypothesis" and "physical or chemical irritation hypothesis" explaining the role of food in the pathogenesis of IBS. It has been known that food factors play a very important role in the pathogenesis of IBS. This article reviews food allergy and the possible mechanisms, diagnosis and treatment of IBS caused by food.

Key Words: Irritable bowel syndrome; Food allergy; Food intolerance; Food-specific IgG

Tang YH, Xu SC, Wu P. Irritable bowel syndrome and

food allergy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(5): 389-393

摘要

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种以腹痛或腹部不适伴排便习惯改变为特征的功能性胃肠病, 其症状反复, 严重地影响了患者的生活质量。研究发现, 食物可引发或加重IBS患者的症状, 其实质即食物过敏和食物不耐受, 但具体的发病机制尚未得到肯定, 目前包括细菌“代谢‘毒物’假说”、“免疫或炎症反应假说”、“物理或化学刺激假说”等。因此食物因素在IBS发病中的作用越来越受到重视, 成为当前研究IBS病因的热点之一, 本文将对食物敏感及食物引发IBS的可能机制、检测方法及干预措施的研究进展作一综述。

关键词: 肠易激综合征; 食物敏感; 食物不耐受; 食物特异性IgG

唐吟茵, 许树长, 吴萍. 食物敏感与肠易激综合征研究进展. *世界华人消化杂志* 2012; 20(5): 389-393

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/389.asp>

0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种以腹痛或腹部不适伴排便习惯改变为特征的功能性胃肠病, 须经检查排除可引起这些症状的器质性疾病^[1,2]。本病是最常见的一种功能性肠道疾病, 据报道其在亚洲国家的患病率已由2.9%增至15.6%^[3]。IBS症状反复, 严重地影响了患者的生活质量。研究发现, 食物可引发或加重IBS患者的症状^[3], 因此食物因素在IBS发病中的作用越来越受到重视, 成为当前研究IBS病因的热点之一^[4]。本文将对食物敏感及食物引发IBS的机制、检测及干预的研究进展作一综述。

1 概述

近年来, 食物在IBS发病中的作用逐渐受到人们的关注。国内外多项科学实验^[5-7]研究结果提示

■背景资料

肠易激综合征是最常见的一种功能性肠道疾病, 近年来在亚洲国家的患病率逐渐升高。其症状反复, 且由食物引发者不易诊断, 造成治疗上的困难, 严重地影响了患者的生活质量。

■同行评议者

白爱平, 副教授, 江西省南昌大学第一附属医院消化病研究所

■研究前沿

食物因素在IBS患病中的作用越来越受到重视,但食物引发IBS具体的分子机制仍未得到肯定,还有待进一步研究,该问题也成为目前研究IBS病因的热点之一;在诊断上,尚无公认、客观的诊断方法;在治疗上,讲究个体化,目前也无特效的治疗药物。

食物敏感是IBS发病的一个重要因素,充分证实了IBS是患者食用了特定的食物所引起的症状,食物敏感在IBS发病中具有重要的作用。在IBS患者中,20%-67%的患者存在食物敏感现象,普遍高于其在普通人群中所占的比例(5%-45%)^[8]。食物诱发或加重IBS患者症状的实质系食物过敏和食物不耐受。食物过敏(food allergy, FA)是指由于某种食物或食品添加剂等引起的IgE或非IgE介导的免疫反应,从而导致消化系统内或全身性的变态反应。IgE介导的食物变态反应临床症状出现较快,可在进食后几分钟到1-2 h。

食物不耐受(food intolerance, FI)是指当机体缺乏一些消化酶而无法完全消化利用某种食物或所含的成分时,未被完全消化的蛋白便以多肽等大分子形式透过肠道进入血液或淋巴液中,成为可被机体免疫系统识别的抗原,刺激机体产生食物特异性IgG抗体,导致机体对进入人体内的某种或多种食物产生过度保护性免疫反应^[9]。这种IgG抗体介导的迟发型变态反应常由多种食物引起,一般在摄入不耐受食物24 h至几天后发作,在食物引发的IBS中占主要地位。食物不耐受不但可诱发腹泻或便秘等IBS症状,还可引起所有组织(包括血管)发生炎症反应,并表现为胃肠道以外各系统的症状与疾病^[10-12]。

2 食物引发IBS的可能机制

IBS可由内脏高敏感、肠动力异常、基因易感性、肠黏膜屏障、感染及免疫、精神心理因素等多种机制引起^[13],食物引发IBS的可能机制包括以下不同假说。

2.1 代谢“毒物”假说 细菌代谢“毒物”假说^[14]提出:食用不耐受食物可使肠道菌群产生一系列糖的无氧酵解代谢物,包括酒精、二醇(如丁烷)、酮类、酸、醛类(如丙酮醛)^[15,16],这些代谢物未能被小肠所吸收,他们通过影响肠道菌群的钙信号转导,并对其基因的表达和生长产生影响,同时还对神经元、骨骼、心肌细胞、肥大细胞、免疫细胞和一些其他类型细胞产生影响,致使肠道内菌群的平衡发生了改变,生成代谢毒物,从而产生了IBS及与食物不耐受相关的各系统症状。以下4方面的证据支持了细菌代谢“毒物”假说:(1)肠道菌群能产生丙酮醛等一系列糖的无氧酵解代谢物,因其含有合成和降解这些代谢物的酶^[17];(2)有相当多的证据表明这些代谢物会影响细菌基因的生长和表达^[17,18];(3)在人类血浆中可检测到这些代谢毒物;(4)这

些代谢毒物亦可影响人体细胞的生理活动^[19,20]。然而,丙酮醛及其他代谢毒物影响细菌并导致肠易激综合征及食物不耐受的一系列症状的分子机制仍有待进一步研究^[14]。

2.2 免疫或炎症反应假说 迷走神经传入通路广泛分布于肠道中,不仅调节着胃肠道的分泌和蠕动,还参与传导和调控与IBS相关的内脏感觉。临床数据表明,迷走神经功能紊乱可见于一部分IBS患者^[21]。同时,IBS患者的肠道黏膜,尤其是近端肠神经中,可发现肥大细胞及其所释放的介质数量明显增多^[22]。肠腔内的化学或机械刺激可诱使黏膜肠嗜铬细胞和免疫细胞释放5-羟色胺(5-HT)^[23]。5-HT是重要的神经递质,通过激活神经元上的特异性受体,参与肠道的运动和分泌反射及大脑的疼痛调节^[24]。迷走神经传入通路上的5-HT₃受体可调控内脏感觉^[25],5-HT₃受体拮抗剂能有效缓解腹泻型IBS患者的上腹疼痛症状^[26,27]。Chen等^[28]通过研究提出了免疫或炎症反应假说:在食物过敏原刺激肠道的早期阶段,5-HT(主要由黏膜肥大细胞分泌)水平的升高可通过激活迷走神经通路上的5-HT₃受体,并上调其亚基的表达,降低了迷走神经的镇痛能力。然而,过高的5-HT水平触发了兴奋性毒性,可损伤迷走神经的调控能力,最终导致了内脏的高度敏感^[29-32]。同时,过敏原亦可改变胃排空、肠道渗透压及提高胃肠道激素水平,这些反应均可引起内脏感觉的异常。该假说阐明了IBS患者迷走神经功能紊乱的机制,但并不能排除肥大细胞释放的其他具有生物活性介质的作用。另外,脊髓传入通路和5-HT₃受体在慢性阶段对内脏感觉的作用,及其与IBS的关系仍需进一步研究。

2.3 物理或化学刺激假说 食物在进入胃肠道后,应当被消化至氨基酸、甘油和单糖水平,这样才能完全转化为能量提供人体所需。然而,不耐受食物因缺乏相应的酶而无法被机体完全消化和吸收时,以多肽或其他分子的形式进入肠道,成为可被机体免疫系统识别的抗原,刺激机体产生食物特异性IgG抗体,与食物抗原形成免疫复合物(immune complex, IC),刺激了肠道黏膜,导致肠蠕动增加、肠黏膜渗透压增高、功能紊乱,引起肠道分泌和运动的异常,导致一系列腹痛、腹泻等IBS症状^[8,33,34]。

3 食物引发IBS的诊断

3.1 IBS的诊断 诊断IBS须结合病史、临床症状等,目前普遍参考Rome III标准,同时应警惕报

警症状^[35-37](年龄>45岁, 便血, 不明原因的体质量下降, 夜间症状, 发热, 可触及腹部肿块, 腹水, 有结直肠癌家族史, 贫血)以排除器质性病变。Rome III标准: 最近3 mo内, 每个月至少有3 d出现反复发作的腹痛或不适症状, 并具有下列中的2项及以上: (1)排便后症状缓解; (2)伴随排便频率的改变; (3)伴随粪便性状的改变^[38-41]。分型: 便秘型(C-irritable bowel syndrome, IBS-C); 腹泻型(diarrhea-predominant irritable bowel syndrome, IBS-D); 混合型(IBS-M); 未定型(IBS-A)。

3.2 食物敏感的诊断 首先, 询问患者的饮食情况, 如是否经常食用辛辣食物、咖啡、浓茶、酒精等刺激性食物, 另外, 患者的过敏史及是否患有其他过敏性疾病对诊断食物不耐受亦有一定的帮助。检测血清食物特异性IgG可帮助诊断食物不耐受^[42-45]。目前多采用14种常见食物特异性IgG抗体检测, 使用酶联免疫吸附法, 可以判断患者是否存在食物不耐受以及不耐受食物的种类, 是一种快速、有效的检测方法。另有研究表明某些食物抗原皮肤划痕试验阳性率较高^[46], 也可作为诊断食物不耐受的一项客观依据。另外, 氢呼气试验、粪便化验等检测可帮助判断是否存在消化吸收不良。发生食物不耐受的患者可同时多种食物产生不耐受现象, 而不同人对于同一种食物不耐受时所表现的症状也不尽相同, 多方面的原因均造成了诊断上的困难, 因此, 目前尚无公认的、客观的诊断方法。

4 食物引发IBS的干预

4.1 饮食治疗 了解饮食习惯, 科学地调整饮食结构有利于症状的改善^[3,47]。患者可通过记录每天的饮食内容以及根据食物特异性IgG抗体的检测结果来明确不耐受食物的种类, 将其从饮食中剔除, 可从一定程度上改善肠道症状^[43,48,49]。

4.2 药物治疗 肥大细胞稳定剂通过肥大细胞的脱颗粒过程, 使其释放的生物介质减少, 作用于肠道神经元的作用减弱, 从而能预防IgG阳性食物引起的IBS症状^[50]。有多项研究表明, 益生菌能改善IBS患者的临床症状, 提高生活质量^[51-57]。但IBS有不同的亚型, 菌群失调的种类也不同^[58], 因此, 各种益生菌制剂的疗效不尽相同, 并可能存在安慰剂效应^[59], 故益生菌对IBS疗效的证据仍需进一步深入^[60]。另外, 根据患者的具体症状可联合应用解痉、止泻、导泻、促动力的药物进行个体化治疗。但在用药过程中需注意药物的疗效及不良反应, 如导泻剂可缓解便秘型IBS

患者的便秘症状但同时可能引起腹痛等不良反应, 止泻药物能控制腹泻症状但没有能改善腹痛、腹胀等症状的证据^[3]。最近研究表明, 小剂量应用抗抑郁药物(如三环类抗抑郁剂和5-HT再摄取抑制剂)亦可有效治疗伴或不伴精神疾病诊断的IBS患者^[3,61-66]。

5 结论

随着人们对IBS研究的深入, 食物因素越来越受到广泛的关注。虽然目前已明确了食物敏感对IBS的作用, 但对其产生的分子机制仍未得到肯定; 而在诊断上, 食物抗原的种类、检出率等方面仍有局限性; 在治疗上, 讲究个体化, 目前也无特效的治疗药物。但若在现有基础上进一步深入研究, 相信在不久的将来, 食物引发的IBS患者定能得到有效的治疗, 以达到缓解症状、改善生活质量的目的^[67-70]。

6 参考文献

- 1 Jiang X, Locke GR, Choung RS, Zinsmeister AR, Schleck CD, Talley NJ. Prevalence and risk factors for abdominal bloating and visible distention: a population-based study. *Gut* 2008; 57: 756-763
- 2 Tuteja AK, Talley NJ, Joos SK, Tolman KG, Hickam DH. Abdominal bloating in employed adults: prevalence, risk factors, and association with other bowel disorders. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 1241-1248
- 3 Gwee KA, Bak YT, Ghoshal UC, Gonlachanvit S, Lee OY, Fock KM, Chua AS, Lu CL, Goh KL, Kositchaiwat C, Makharia G, Park HJ, Chang FY, Fukudo S, Choi MG, Bhatia S, Ke M, Hou X, Hongo M. Asian consensus on irritable bowel syndrome. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 1189-1205
- 4 谢志贤, 刘倩. 食物不耐受与相关性疾病. *中华内科杂志* 2006; 45: 150-151
- 5 Gremse DA. Alternative approach to IBS and migraine is winning over providers. *Dis Manag Adv* 2004; 10: 6-10, 1
- 6 Dainese R, Patoureaux S, Vivinus MH, Saint Paul MC, Nano JL, Bernard A, Lannelli A, Hébuterne X, Neunlist M, Piche T. W1695 Influence of Gastrointestinal Food Allergy On Colonic Immune Activation and Barrier Integrity in the Irritable Bowel Syndrome. *Gastroenterology* 2009; 136: A719-A719
- 7 陈云峰, 张伟, 王德旭, 周忠明, 毕仕强. 肠易激综合征与食物过敏关系的研究. *中华消化杂志* 2008; 28: 850-851
- 8 Eswaran S, Tack J, Chey WD. Food: the forgotten factor in the irritable bowel syndrome. *Gastroenterol Clin North Am* 2011; 40: 141-162
- 9 戴夫, 甘惠中, 彭琼, 夏云玲. 剔除特异性IgG阳性食物治疗腹泻型肠易激综合征效果观察. *安徽医药* 2011; 15: 590-592
- 10 Matthews SB, Campbell AK. When sugar is not so sweet. *Lancet* 2000; 355: 1330
- 11 Matthews SB, Waud JP, Roberts AG, Campbell AK. Systemic lactose intolerance: a new perspective on an old problem. *Postgrad Med J* 2005; 81: 167-173
- 12 Waud JP, Matthews SB, Campbell AK. Measurement of breath hydrogen and methane, together

■应用要点

此文可以帮助研究者在现有基础上对食物引发IBS的分子机制进行进一步的深入研究。另外, 根据目前的方法辅助诊断食物不耐受, 并有待普及更准确、简便的检测方法; 在饮食治疗的同时, 注意药物副反应, 选择最合理的治疗方法。

■同行评价

食物与IBS发病关系密切,但具体的机制尚不十分明了。该文对食物敏感及食物引发IBS的机制、检测及干预的研究进展进行了综述,论据较充分,结论可靠。

- with lactase genotype, defines the current best practice for investigation of lactose sensitivity. *Ann Clin Biochem* 2008; 45: 50-58
- 13 罗小雨, 钟良. 肠易激综合征发病机制的研究进展. *国际消化病杂志* 2010; 30: 321-324
- 14 Campbell AK, Matthews SB, Vassel N, Cox CD, Naseem R, Chaichi J, Holland IB, Green J, Wann KT. Bacterial metabolic 'toxins': a new mechanism for lactose and food intolerance, and irritable bowel syndrome. *Toxicology* 2010; 278: 268-276
- 15 Campbell AK, Waud JP, Matthews SB. The molecular basis of lactose intolerance. *Sci Prog* 2005; 88: 157-202
- 16 Campbell AK, Waud JP, Matthews SB. The molecular basis of lactose intolerance. *Sci Prog* 2009; 92: 241-287
- 17 Ward RA, McLeish KR. Methylglyoxal: a stimulus to neutrophil oxygen radical production in chronic renal failure? *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 1702-1707
- 18 Jia X, Olson DJ, Ross AR, Wu L. Structural and functional changes in human insulin induced by methylglyoxal. *FASEB J* 2006; 20: 1555-1557
- 19 Riboulet-Chavey A, Pierron A, Durand I, Murdaca J, Giudicelli J, Van Obberghen E. Methylglyoxal impairs the insulin signaling pathways independently of the formation of intracellular reactive oxygen species. *Diabetes* 2006; 55: 1289-1299
- 20 Guo Q, Mori T, Jiang Y, Hu C, Osaki Y, Yoneki Y, Sun Y, Hosoya T, Kawamata A, Ogawa S, Nakayama M, Miyata T, Ito S. Methylglyoxal contributes to the development of insulin resistance and salt sensitivity in Sprague-Dawley rats. *J Hypertens* 2009; 27: 1664-1671
- 21 Spaziani R, Bayati A, Redmond K, Bajaj H, Mazzadi S, Bienenstock J, Collins SM, Kamath MV. Vagal dysfunction in irritable bowel syndrome assessed by rectal distension and baroreceptor sensitivity. *Neurogastroenterol Motil* 2008; 20: 336-342
- 22 Kalliomäki MA. Food allergy and irritable bowel syndrome. *Curr Opin Gastroenterol* 2005; 21: 708-711
- 23 Spiller R. Serotonin and GI clinical disorders. *Neuropharmacology* 2008; 55: 1072-1080
- 24 Greenwood-van Meerveld B. Importance of 5-hydroxytryptamine receptors on intestinal afferents in the regulation of visceral sensitivity. *Neurogastroenterol Motil* 2007; 19 Suppl 2: 13-18
- 25 Bradesi S, Lao L, McLean PG, Winchester WJ, Lee K, Hicks GA, Mayer EA. Dual role of 5-HT₃ receptors in a rat model of delayed stress-induced visceral hyperalgesia. *Pain* 2007; 130: 56-65
- 26 Matsueda K, Harasawa S, Hongo M, Hiwatashi N, Sasaki D. A phase II trial of the novel serotonin type 3 receptor antagonist ramosetron in Japanese male and female patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Digestion* 2008; 77: 225-235
- 27 Andresen V, Montori VM, Keller J, West CP, Layer P, Camilleri M. Effects of 5-hydroxytryptamine (serotonin) type 3 antagonists on symptom relief and constipation in nonconstipated irritable bowel syndrome: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008; 6: 545-555
- 28 Chen S, Li J, Zhang L, Dong X, Gao W, Mo J, Chen H, Xiao S, Li Y. 5-HT₃ receptors mediate the time-dependent vagal afferent modulation of nociception during chronic food allergen-sensitized visceral hyperalgesia in rats. *Neurogastroenterol Motil* 2009; 21: 1222-e113
- 29 Kirsch R, Riddell RH. Histopathological alterations in irritable bowel syndrome. *Mod Pathol* 2006; 19: 1638-1645
- 30 Bhuiyan MR, Majumder TK, Raihan AA, Roy PK, Farha N, Kamal M. Histopathological alterations in post-infectious irritable bowel syndrome in Bangladeshi population. *Mymensingh Med J* 2010; 19: 275-281
- 31 Spiller RC. Role of infection in irritable bowel syndrome. *J Gastroenterol* 2007; 42 Suppl 17: 41-47
- 32 Monsbakken KW, Vandvik PO, Farup PG. Perceived food intolerance in subjects with irritable bowel syndrome--etiology, prevalence and consequences. *Eur J Clin Nutr* 2006; 60: 667-672
- 33 Shanahan F, Whorwell PJ. IgG-mediated food intolerance in irritable bowel syndrome: a real phenomenon or an epiphenomenon? *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 1558-1559
- 34 曾黎明, 杨光. 食物不耐受与肠易激综合征研究进展. *国际消化病杂志* 2008; 28: 289-291
- 35 Liebrechts T, Adam B, Bredack C, Röth A, Heinzel S, Lester S, Downie-Doyle S, Smith E, Drew P, Talley NJ, Holtmann G. Immune activation in patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2007; 132: 913-920
- 36 Gwee KA, Lu CL, Ghoshal UC. Epidemiology of irritable bowel syndrome in Asia: something old, something new, something borrowed. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 1601-1607
- 37 Seifert B, Rubin G, de Wit N, Lionis C, Hall N, Hungin P, Jones R, Palka M, Mendive J. The management of common gastrointestinal disorders in general practice A survey by the European Society for Primary Care Gastroenterology (ESPCG) in six European countries. *Dig Liver Dis* 2008; 40: 659-666
- 38 Miwa H. Prevalence of irritable bowel syndrome in Japan: Internet survey using Rome III criteria. *Patient Prefer Adherence* 2008; 2: 143-147
- 39 Ghoshal UC, Abraham P, Bhatt C, Choudhuri G, Bhatia SJ, Shenoy KT, Banka NH, Bose K, Bohidar NP, Chakravarty K, Shekhar NC, Desai N, Dutta U, Das G, Dutta S, Dixit VK, Goswami BD, Jain RK, Jain S, Jayanthi V, Kochhar R, Kumar A, Makharja G, Mukewar SV, Mohan Prasad VG, Mohanty A, Mohan AT, Sathyaprakash BS, Prabhakar B, Philip M, Veerajay EP, Ray G, Rai RR, Seth AK, Sachdeva A, Singh SP, Sood A, Thomas V, Tiwari S, Tandan M, Upadhyay R, Vij JC. Epidemiological and clinical profile of irritable bowel syndrome in India: report of the Indian Society of Gastroenterology Task Force. *Indian J Gastroenterol* 2008; 27: 22-28
- 40 Gwee KA, Hwang JE, Ho KY, Yeoh KG, Lum CF, Ang PK. In-practice predictors of response to proton pump inhibitor therapy in primary care patients with dyspepsia in an Asian population. *J Clin Gastroenterol* 2008; 42: 134-138
- 41 Jeong JJ, Choi MG, Cho YS, Lee SG, Oh JH, Park JM, Cho YK, Lee IS, Kim SW, Han SW, Choi KY, Chung IS. Chronic gastrointestinal symptoms and quality of life in the Korean population. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 6388-6394
- 42 Zuo XL, Li YQ, Li WJ, Guo YT, Lu XF, Li JM, Desmond PV. Alterations of food antigen-specific serum immunoglobulins G and E antibodies in patients with irritable bowel syndrome and functional dyspepsia. *Clin Exp Allergy* 2007; 37: 823-830
- 43 Atkinson W, Sheldon TA, Shaath N, Whorwell PJ.

- Food elimination based on IgG antibodies in irritable bowel syndrome: a randomised controlled trial. *Gut* 2004; 53: 1459-1464
- 44 Zar S, Benson MJ, Kumar D. Food-specific serum IgG4 and IgE titers to common food antigens in irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 1550-1557
- 45 Zar S, Mincher L, Benson MJ, Kumar D. Food-specific IgG4 antibody-guided exclusion diet improves symptoms and rectal compliance in irritable bowel syndrome. *Scand J Gastroenterol* 2005; 40: 800-807
- 46 Jun DW, Lee OY, Yoon HJ, Lee SH, Lee HL, Choi HS, Yoon BC, Lee MH, Lee DH, Cho SH. Food intolerance and skin prick test in treated and untreated irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2382-2387
- 47 Morcos A, Dinan T, Quigley EM. Irritable bowel syndrome: role of food in pathogenesis and management. *J Dig Dis* 2009; 10: 237-246
- 48 Whorwell P, Lea R. Dietary Treatment of the Irritable Bowel Syndrome. *Curr Treat Options Gastroenterol* 2004; 7: 307-316
- 49 李汉华, 韩盛玺, 董巍. 肠易激综合征患者食物不耐受临床研究. *实用医院临床杂志* 2008; 5: 30-31
- 50 杨崇美, 李延青. 色甘酸钠防治肠易激综合征患者的临床研究. *中华消化杂志* 2007; 27: 566-567
- 51 Hoveyda N, Heneghan C, Mahtani KR, Perera R, Roberts N, Glasziou P. A systematic review and meta-analysis: probiotics in the treatment of irritable bowel syndrome. *BMC Gastroenterol* 2009; 9: 15
- 52 Zeng J, Li YQ, Zuo XL, Zhen YB, Yang J, Liu CH. Clinical trial: effect of active lactic acid bacteria on mucosal barrier function in patients with diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 28: 994-1002
- 53 Sinn DH, Song JH, Kim HJ, Lee JH, Son HJ, Chang DK, Kim YH, Kim JJ, Rhee JC, Rhee PL. Therapeutic effect of *Lactobacillus acidophilus*-SDC 2012, 2013 in patients with irritable bowel syndrome. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 2714-2718
- 54 朱丽明, 柯美云, 周丽雅, 袁耀宗, 罗金燕, 侯晓华, 陈雯湖. 益生菌治疗腹泻型肠易激综合征. *基础医学与临床* 2008; 28: 1071-1074
- 55 Tsuchiya J, Barreto R, Okura R, Kawakita S, Fesce E, Marotta F. Single-blind follow-up study on the effectiveness of a symbiotic preparation in irritable bowel syndrome. *Chin J Dig Dis* 2004; 5: 169-174
- 56 Kim YG, Moon JT, Lee KM, Chon NR, Park H. [The effects of probiotics on symptoms of irritable bowel syndrome]. *Korean J Gastroenterol* 2006; 47: 413-419
- 57 McFarland LV, Dublin S. Meta-analysis of probiotics for the treatment of irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 2650-2661
- 58 Kassinen A, Krogius-Kurikka L, Mäkituokko H, Rinttilä T, Paulin L, Corander J, Malinen E, Apajalahti J, Palva A. The fecal microbiota of irritable bowel syndrome patients differs significantly from that of healthy subjects. *Gastroenterology* 2007; 133: 24-33
- 59 Williams EA, Stimpson J, Wang D, Plummer S, Garaiova I, Barker ME, Corfe BM. Clinical trial: a multistrain probiotic preparation significantly reduces symptoms of irritable bowel syndrome in a double-blind placebo-controlled study. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 29: 97-103
- 60 赵威, 柯美云. 益生菌治疗肠易激综合征的研究现状和进展. *中华消化杂志* 2010; 30: 131-134
- 61 Ford AC, Talley NJ, Schoenfeld PS, Quigley EM, Moayyedi P. Efficacy of antidepressants and psychological therapies in irritable bowel syndrome: systematic review and meta-analysis. *Gut* 2009; 58: 367-378
- 62 Vahedi H, Merat S, Momtahan S, Kazzazi AS, Ghafari N, Olfati G, Malekzadeh R. Clinical trial: the effect of amitriptyline in patients with diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 27: 678-684
- 63 Bahar RJ, Collins BS, Steinmetz B, Ament ME. Double-blind placebo-controlled trial of amitriptyline for the treatment of irritable bowel syndrome in adolescents. *J Pediatr* 2008; 152: 685-689
- 64 Blanchard EB, Lackner JM, Jaccard J, Rowell D, Carosella AM, Powell C, Sanders K, Krasner S, Kuhn E. The role of stress in symptom exacerbation among IBS patients. *J Psychosom Res* 2008; 64: 119-128
- 65 Hertig VL, Cain KC, Jarrett ME, Burr RL, Heitkemper MM. Daily stress and gastrointestinal symptoms in women with irritable bowel syndrome. *Nurs Res* 2007; 56: 399-406
- 66 Park HJ, Jarrett M, Cain K, Heitkemper M. Psychological distress and GI symptoms are related to severity of bloating in women with irritable bowel syndrome. *Res Nurs Health* 2008; 31: 98-107
- 67 Husain N, Chaudhry IB, Jafri F, Niaz SK, Tomenson B, Creed F. A population-based study of irritable bowel syndrome in a non-Western population. *Neurogastroenterol Motil* 2008; 20: 1022-1029
- 68 Rey E, García-Alonso MO, Moreno-Ortega M, Alvarez-Sanchez A, Diaz-Rubio M. Determinants of quality of life in irritable bowel syndrome. *J Clin Gastroenterol* 2008; 42: 1003-1009
- 69 Park JM, Choi MG, Kim YS, Choi CH, Choi SC, Hong SJ, Jeong JJ, Lee DH, Lee JS, Lee KJ, Son HJ, Sung IK. Quality of life of patients with irritable bowel syndrome in Korea. *Qual Life Res* 2009; 18: 435-446
- 70 Huang WW, Zhou FS, Bushnell DM, Diakite C, Yang XH. Cultural adaptation and application of the IBS-QOL in China: a disease-specific quality-of-life questionnaire. *Qual Life Res* 2007; 16: 991-996

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

大肠癌与抑癌基因相关性的研究现状

项芳芳, 毛高平

■背景资料

大肠癌的发生是一系列的抑癌基因与癌基因共同作用的结果, 在大肠腺瘤发展至大肠癌的进程中, 纠正任何一个抑癌基因的缺陷亦可能足以抑制肿瘤的发生。

项芳芳, 安徽医科大学研究生学院 安徽省合肥市 230032
毛高平, 中国人民解放军空军总医院消化内科 北京市 100036
项芳芳, 主要从事消化系统疾病的诊治和研究。
作者贡献分布: 本文综述由项芳芳完成; 毛高平审校。
通讯作者: 毛高平, 主任医师, 硕士生导师, 100036, 北京市, 中国人民解放军空军总医院消化内科. maogaoping@medmail.com.cn
电话: 010-66928232
收稿日期: 2011-10-23 修回日期: 2011-11-20
接受日期: 2012-02-16 在线出版日期: 2012-02-18

Association between colorectal cancer and tumor suppressor genes: recent research progress

Fang-Fang Xiang, Gao-Ping Mao

Fang-Fang Xiang, Graduate School of Anhui Medical University, Hefei 230032, Anhui Province, China
Gao-Ping Mao, Department of Gastroenterology, Air Force General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100036, China
Correspondence to: Gao-Ping Mao, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Air Force General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100036, China. maogaoping@medmail.com.cn
Received: 2011-10-23 Revised: 2011-11-20
Accepted: 2012-02-16 Published online: 2012-02-18

Abstract

Colorectal cancer is a common high-risk gastrointestinal cancer, and approximately 1.2 million new cases are diagnosed each year worldwide. In recent years, due to the improvement of people's living standards and changes in dietary habits and structure, the incidence and mortality rate of colorectal cancer increase rapidly in China. Moreover, patients have a significantly earlier age of onset. At present, the median age of colorectal cancer onset in China is 58 years old, 12 to 18 years earlier than other countries in Europe and America. The development of colorectal cancer is a complex multi-stage process involving multiple genetic alterations. Many studies have shown that colorectal carcinogenesis involves activation of oncogenes and inactivation of tumor suppressor genes. Tumor suppressor genes associated with colorectal carcinogenesis include *p53*, *APC*, *DCC*, and *MMR*, and proto-oncogenes include *K-ras* and

c-myc. In this paper, we discuss the association between tumor suppressor genes and colorectal carcinogenesis.

Key Words: Colorectal cancer; Tumor suppressor gene; Adenomatous polyposis coli gene; Mismatch repair gene; *p53*; *k-ras*

Xiang FF, Mao GP. Association between colorectal cancer and tumor suppressor genes: recent research progress. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(5): 394-398

摘要

大肠癌是常见的高危害消化系恶性肿瘤, 全球每年新发病例约为120万例。近年来, 随着人们生活水平的提高, 饮食习惯和结构的改变, 我国大肠癌的发病率和死亡率增长迅速, 而且, 发病年龄明显提前, 目前, 我国大肠癌中位发病年龄为58岁, 比欧美等国家提前12-18年。大肠癌的发生是一个多阶段多步骤的、涉及多个基因改变的复杂过程。许多研究表明, 结直肠癌变是一个涉及原癌基因激活、抑癌基因失活等多基因、多阶段、多步骤渐进演化的积累过程。与结直肠癌相关的抑癌基因有*p53*、*APC*、*DCC*、*MMR*等, 原癌基因有*k-ras*、*c-myc*等。本文就以上基因改变与大肠癌的发生发展相关性的研究现状作一简单复习。

关键词: 大肠癌; 抑癌基因; *APC*基因; 错配修复基因; *p53*基因; *k-ras*基因

项芳芳, 毛高平. 大肠癌与抑癌基因相关性的研究现状. 世界华人消化杂志 2012; 20(5): 394-398
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/394.asp>

0 引言

大肠息肉是大肠常见疾病, 半数以上的大肠癌(colorectal cancer, CRC)来源于大肠腺瘤性息肉^[1,2], 但近年也发现约30%以上大肠癌发生于平坦的大肠黏膜^[3]。不论何种学说, 大肠癌的发生发展是大肠黏膜上皮在致癌物的作用下, 经过DNA甲基化、DNA受损、多个抑癌基因和抑

■同行评议者

李淑德, 教授, 中国人民解放军第二军医大学长海医院消化内科

癌基因的改变所致的多步骤过程, 而抑癌基因的突变或缺失是大肠癌发生发展的主要分子遗传学改变^[4-6]. 近年来, 国内外对其研究非常活跃, 现就与大肠癌相关的主要的抑癌基因研究现状作一综述.

1 大肠腺瘤-大肠癌发生过程中各阶段抑癌基因的表达

1.1 大肠息肉分类及特殊类型息肉与癌变的关系 大肠息肉在组织学上分为肿瘤性和非肿瘤性两类. 肿瘤性可分为管状腺瘤、混合性腺瘤、绒毛状腺瘤; 非肿瘤性可分为增生性、炎症性、幼年性和错构瘤性, 但均能分化转变为腺瘤^[7]. 大肠腺瘤性息肉是重要的癌前期病变, 与大肠癌的好发部位一致, 多为直肠和乙状结肠, 且息肉越大, 癌变率越高; 家族性腺瘤性息肉和绒毛状腺瘤的癌变率更高^[8]. 息肉发生癌变的因素主要是息肉的大小和病理组织学表型. 息肉直径越大, 异型增生程度越明显, 癌变的危险性越高^[9,10]. 但是, 息肉 ≤ 5 mm时, 也有1.5%的癌变率^[11]. 因此, 在肠镜检查过程中对于小的扁平腺瘤也应尽量予以切除^[12]. 在组织类型方面, 绒毛状腺瘤的癌变率最高, 管状腺瘤的癌变率较低, 绒毛管状腺瘤的癌变率介于两者之间^[13]. 其机制可能与管状腺瘤细胞凋亡率高、生长缓慢, 绒毛状腺瘤细胞凋亡水平低、生长相对较快有关. 一般来说, 息肉越大, 异型增生程度越重、绒毛成分越多, 则癌变的危险性越高. 有关报告认为^[14], 直径 >10 mm的息肉恶变率为10%, >20 mm的息肉恶变率为30%. 锯齿状腺瘤性息肉(serrated adenomas, SA)是近年逐渐被认识的一类特殊病理形态的大肠腺瘤. 2000年世界卫生组织(WHO)已正式将其作为单独的疾病类型列入结直肠肿瘤中, 其定义为由锯齿状腺体组成的腺瘤, 在低倍显微镜下SA特点类似增生性(化生性)息肉的锯齿牙齿样形态, 但被覆隐窝上部和腺腔表面的上皮存在异型增生^[15,16].

近年来, 增生性息肉-锯齿状腺瘤-癌的结直肠癌发生发展途径已逐渐被认识并引起人们重视, 目前普遍认为SA是微卫星不稳定性(microsatellite instability, MSI)散发性大肠癌的癌前病变, 国内外都已有报道SA存在高级别异型增生和癌变^[17], 但SA恶变率要比传统腺瘤性息肉低约0.6%-1.3%^[18]. 有研究表明^[19], SA的腺瘤性腺体与传统腺瘤性息肉腺体一样有较强合成CEA的能力, 其瘤细胞亦具备一定的恶变潜能^[20].

1.2 腺瘤-大肠癌发生过程中的各个阶段中抑癌基因的表达

1.2.1 腺瘤阶段: 一般认为大肠腺瘤性息肉的发生与APC基因(adenomatous polyposis coli gene)突变有关, APC基因突变可引发大肠腺瘤性息肉, 而在非肿瘤性息肉中则未检出APC基因突变. APC基因突变可直接导致家族性腺瘤性息肉病(familial adenomatous polyposis, FAP)发生^[21], 但其作用实际并不只限于FAP, 在非FAP的散发性大肠腺瘤中同样观察到了APC基因的突变^[22]. 在 <1 cm的腺瘤中也检测出APC基因的突变, 提示APC基因突变是大肠肿瘤发生的早期事件^[23]. APC蛋白表达的缺失或降低可能导致 β -catenin免于降解, 游离的 β -catenin在胞浆内集聚并进入核内, 激活相关靶癌基因, 导致细胞癌变的发生^[24-26]. 错配修复基因(mismatch repair, MMR)发生突变, 表达产生带有缺陷的错配修复蛋白, 不能发挥其正常的错配修复功能, 导致微卫星不稳定或DNA复制错误, 细胞基因组不稳定, 引起细胞增殖及分化异常, 促进家族性非息肉病性大肠癌(hereditary nonpolyposis colorectal cancer, HNPCC)和部分散发性大肠癌(sporadic colorectal cancer, SCC)的发生和发展^[27,28], MMR基因突变也是大肠癌发生的早期事件之一^[29,30]. 结直肠癌缺失基因(deleted in colorectal carcinoma, DCC)变化发生在中期腺瘤向晚期腺瘤转化阶段, 在时间上, 他的出现略晚于APC基因^[31]. 在大多数正常组织包括结肠上皮细胞中均有DCC表达, 而在50%以上大肠癌组织和腺瘤中发现有DCC表达缺失或下调^[32]. 在大肠癌中, DCC基因表达缺失与大肠癌患者的性别、年龄、肿瘤部位无明显相关性, 与分化程度有关, 分化程度越低突变率越高, 提示DCC基因突变相对于APC基因为晚期事件, 其表达缺失与大肠癌的发生及侵袭、转移能力增强有关^[33,34]. DCC基因启动子甲基化可能是大肠癌中DCC失表达的主要机制之一. RAS基因家族中以*k-ras*基因在大肠癌中的突变发生频率最高. 已报道的*k-ras*基因突变为30%-68%^[35]. 有研究表明^[36-41], Ras蛋白过度表达是细胞增生的标志, 其基因突变常在肿瘤恶性进展前就已发生, 因此认为改变可能为大肠癌发生的早期事件, *k-ras*的基因突变更赋予肿瘤极大的浸润与转移倾向的可能. Ras蛋白在癌旁黏膜中的表达也说明癌旁黏膜中存在一种潜在的癌变状态. 研究表明*k-ras*的突变也存在于正常的大肠黏膜上皮细胞. 上皮的异常增生仅

■研究前沿

尽管国内外对大肠癌相关的各种抑癌基因的研究已经非常重视, 但由于技术的成熟和费用的昂贵, 真正能够用于临床治疗的研究成果仍然很有限.

■应用要点

针对在腺瘤发展成癌的各个阶段根据不同的基因表达,应用相应的检测方法,早期筛选出高危人群,可根据各种基因表达情况,确定相应的预防、治疗及判断预后的个体化方案。

在*k-ras*基因合并其他抑癌基因如APC基因均突变的情况下才发生,因此,*k-ras*基因的突变不是一个独立的发病因素,而需要其他基因的协同作用^[42]。

1.2.2 癌变早期阶段:在大肠肿瘤中,*p53*突变主要发生在晚期腺瘤向癌转变的最后阶段,提示*p53*突变可能是腺瘤向癌转化的最关键因素^[43]。大肠癌中*p53*基因突变和P53蛋白过表达的检出率为40%-75%^[44,45]。*p53*的改变与侵袭性病理学及生物学特征显著相关,包括肿瘤的病期、非整倍体程度、肿瘤低分化和血管浸润与转移^[46-48]。*p53*基因突变还与大肠癌的预后相关,可以作为一个独立的预后指标^[49,50]。Gerdes等^[51]应用曲线分析大肠癌患者的生存率与各基因改变的关系,发现*p53*基因异常者生存时间较短,表明*p53*基因异常具有预后意义。

1.2.3 转移阶段及预后:有研究表明^[52],K-Ras蛋白阳性表达与患者性别、年龄、癌变程度及浸润深度,有无淋巴结转移及远处转移无关,而与癌组织分化程度有关,分化程度越低,Ras蛋白阳性表达越多。*k-ras*基因突变、血清CEA水平与结直肠癌肝脏转移有密切相关,联合检测癌组织*k-ras*基因突变和血清CEA水平可作为预测结直肠癌肝转移的指标之一^[53-55]。DCC基因突变是结肠癌发生的相对晚期事件,且DCC基因的表达缺失与大肠癌的侵袭、转移能力增强有关^[56]。最近研究显示^[57],201密码子是DCC基因热点突变部位,其主要与大肠癌淋巴结侵犯及转移能力增强密切相关,可作为大肠癌预后判断的一个重要指标^[58]。Cohn等报道在大肠癌中,nm23的等位基因缺失与大肠癌术后发生远处转移相关。Leone等^[59]发现nm23H1的表达与直肠癌浸润深度及分期呈负相关,与淋巴结及肝脏等脏器转移和术后生存期呈正相关,认为nm23基因在直肠癌浸润和转移过程中发挥负性调控作用,检测直肠癌组织中nm23H1的表达有助于预测直肠癌的生物学行为判断^[60,61]。近年国内外的研究结果表明,*p53*基因突变与患者的年龄、性别、分化和浸润程度、淋巴结转移、分期无显著相关性。而P53蛋白的阳性表达与大肠癌组织浸润肠壁的深度、淋巴结转移呈正相关,并认为P53蛋白的阳性表达可作为预测大肠癌患者预后的一项指标。有研究显示^[62],96%(24/25)的大肠癌存在*p53*抑癌途径的阻断。突变型*p53*过表达不仅与大肠癌的发生密切相关,还与癌细胞的转移、浸润相关。Okubo等^[63]通过自动测序检测了110例大肠

癌患者突变型*p53*基因与临床病理的关系,有突变*p53*基因的病例尤其远端大肠癌更易发生淋巴结或远处转移;而且存在突变*p53*基因的直肠癌患者常发生化疗失败。因此,检测大肠癌患者突变*p53*水平对其诊断及治疗都有积极意义。

2 抑癌基因与大肠癌诊断、治疗及预后

检测APC基因对于大肠癌的恶性程度、病情轻重及预后的判断无明显价值,但检测APC基因有助于大肠癌的早期诊断和治疗^[64,65],尤其对FAP,早期检测出APC基因的患者,进行预防性结肠切除,可预防息肉癌变^[64]。目前HNPCC的筛查主要依靠MMR基因突变和MSI的检测^[66,67]。虽然MMR基因突变的检测是诊断HNPCC的金标准,但由于目前MMR基因突变的检测技术及费用昂贵尚不能应用于临床^[68,69]。有研究中大肠癌标本中有21.2%检出DCC基因的突变,且突变随分级、分期的加重呈递增趋势,说明DCC的突变与大肠癌的恶性程度、病情轻重及预后成正比。检测组织中DCC基因的突变程度,可能对大肠癌的早期诊断和预后判断具有一定意义^[70]。*p53*基因突变及转移抑制基因nm23低表达为大肠癌的分子学诊断提供了必要的监测指标。nm23、*p53*检测,可作为病理形态学上难以鉴别的早期大肠腺瘤癌变和腺癌的重要辅助诊断指标^[71]。其次,*p53*基因、转移抑制基因nm23表达水平的改变可作为判断肠癌预后的指标,P53蛋白高表达而nm23蛋白低表达的患者常有淋巴转移及远处转移,肿瘤分化程度低,提示预后不良。因此,联合检测P53、nm23有利于更好地评价及判断患者的预后^[72]。

3 结论

近年研究表明,虽然大肠癌中同时存在几种其他基因的异常,但纠正任何一个抑癌基因的缺陷亦可能足以抑制肿瘤的发生。有研究将APC基因分别导入转染3种不同的人大肠癌细胞株,结果这些细胞形态学发生改变,致瘤性下降。这为APC基因在大肠癌基因治疗中的应用研究开辟了一个新的方向。将APC基因或者部分功能性APC基因片段导入大肠癌细胞中,可部分逆转由于APC基因缺失造成的癌基因过度表达,抑制肿瘤细胞的生长。该方法或许可成为大肠癌基因治疗的新方法。

4 参考文献

- 1 王向阳,张克难,冯安明,龚治林,黄烨,庞典付.大肠

- 癌粪便p53、K-ras基因及端粒酶活性联合检测的临床研究. 实用医学杂志 2010; 26: 2566-2568
- 2 徐艳松, 唐卫中, 高枫龙, 陈艳. 散发性结直肠癌APC、K-ras、p53、MMR基因突变检测. 结直肠肛门外科 2009; 15: 229-232
- 3 朱敏, 李明阳, 王志强. 色素内镜、窄带成像内镜对大肠平坦型病变检出的对比性研究. 现代生物医学进展 2010; 10: 4683-4686
- 4 翟荣林, 王国斌, 蔡开琳. 结直肠癌相关基因甲基化研究现状和进展. 中华肿瘤防治杂志 2008; 15: 556-558
- 5 张元颖, 陈森清, 朱明, 李金田, 马国建, 张晓梅, 周建农. 家族性腺瘤性息肉病患者APC基因启动子区异常甲基化及大片段结构异常. 中华医学遗传学杂志 2008; 25: 378-381
- 6 张云昌, 曲华, 王凤安. WWOX及P53基因在大肠癌中的表达及与肿瘤浸润的关系. 河北医药 2010; 32: 2959-2961
- 7 萧树东, 许国铭. 中华胃肠病学. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 569-574
- 8 路亮, 许建明, 韦俊超. 大肠息肉癌变因素的初步研究. 安徽医学 2008; 29: 29-30, 36
- 9 Park DH, Kim HS, Kim WH, Kim TI, Kim YH, Park DI, Kim HJ, Yang SK, Byeon JS, Lee MS, Chung IK, Jung SA, Jeon YT, Choi JH, Choi H, Han DS. Clinicopathologic characteristics and malignant potential of colorectal flat neoplasia compared with that of polypoid neoplasia. *Dis Colon Rectum* 2008; 51: 43-49; discussion 49
- 10 Arebi N, Swain D, Suzuki N, Fraser C, Price A, Saunders BP. Endoscopic mucosal resection of 161 cases of large sessile or flat colorectal polyps. *Scand J Gastroenterol* 2007; 42: 859-866
- 11 张明刚, 李靖涛, 赵拥军, 赵洪川. 大肠腺瘤性息肉癌变因素分析. 中日友好医院学报 2003; 17: 136-138
- 12 张丽娟, 魏万里, 王芳, 陈芸, 李梅, 杨承纲. APC、 β -catenin及c-myc在大肠腺瘤-癌组织序列中的表达及其意义. 实用癌症杂志 2008; 23: 3-7
- 13 李方儒. 腺瘤息肉与结直肠癌. 中国医师进修杂志 2006; 29: 4-5
- 14 Pickhardt PJ, Hain KS, Kim DH, Hassan C. Low rates of cancer or high-grade dysplasia in colorectal polyps collected from computed tomography colonography screening. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010; 8: 610-615
- 15 刘成霞, 贾兴芳. 结直肠锯齿状腺瘤内镜表现和病理学特征分析. 胃肠病学和肝病学杂志 2009; 18: 24-26
- 16 张婉雯, 任宝军, 童华生, 张亚历, 姜泊. 结直肠锯齿状腺瘤内镜和病理形态特征分析. 中华消化内镜杂志 2006; 23: 81-85
- 17 Sweetser S, Smyrk TC, Sugumar A. Serrated polyps: critical precursors to colorectal cancer. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2011; 5: 627-635
- 18 吴晓华. 锯齿状腺瘤研究进展. 肿瘤防治研究 2007; 34: 537-539
- 19 杨绮红, 黎铭恩, 张文茹, 梁少娟, 王红利, 陈玉花, 肖冠英. 大肠锯齿状腺瘤的内镜表现和癌胚抗原表达. 中华消化内镜杂志 2009; 26: 423-426
- 20 崔海宏, 韩英, 王继恒, 曹建彪, 李恕军, 杨欣艳, 范如英. 细胞核和线粒体微卫星不稳在大肠癌发生中的作用及两者的关系. 世界华人消化杂志 2009; 17: 433-436
- 21 Järvinen HJ, Peltomäki P. The complex genotype-phenotype relationship in familial adenomatous polyposis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004; 16: 5-8
- 22 Andresen PA, Heimdal K, Aaberg K, Eklo K, Ariansen S, Sylve A, Fausa O, Aabakken L, Aretz S, Eide TJ, Gedde-Dahl T. APC mutation spectrum of Norwegian familial adenomatous polyposis families: high ratio of novel mutations. *J Cancer Res Clin Oncol* 2009; 135: 1463-1470
- 23 唐卫中, 高枫, 李卫, 唐宗江. 中国人散发性大肠癌APC基因突变的研究. 中华实验外科杂志 2005; 22: 1357-1359
- 24 Valvezan AJ, Zhang F, Diehl JA, Klein PS. Adenomatous Polyposis Coli (APC) Regulates Multiple Signaling Pathways by Enhancing Glycogen Synthase Kinase-3 (GSK-3) Activity. *J Biol Chem* 2012; 287: 3823-3832
- 25 Cleary SP, Kim H, Croitoru ME, Redston M, Knight JA, Gallinger S, Gryfe R. Missense polymorphisms in the adenomatous polyposis coli gene and colorectal cancer risk. *Dis Colon Rectum* 2008; 51: 1467-1473; discussion 1467-1473
- 26 张慧琴, 李胜棉. 抑癌基因APC、RASSF1A、WIF-1启动子区域甲基化与消化系统肿瘤. 临床肝胆病杂志 2011; 27: 429-432
- 27 刘晓茹, 崔娴维. 胃癌DNA错配修复基因hMSH2突变研究. 解放军医学杂志 2000; 25: 125-126
- 28 刘文志, 金锋, 王舒宝. 遗传性非息肉病性大肠癌和普遍遗传性大肠癌临床表型分析. 中国肿瘤临床 2005; 32: 811-813
- 29 Peng J, Jian-qiu S, Ying-hui Z, Ai-qin L, Zi-tao W, Shi-rong L. Expression of cyclooxygenase-2 and its relationship with mismatch repair and microsatellite instability in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Chin Med Sci J* 2010; 25: 206-210
- 30 郑建云, 任天顺, 刘冰, 王美妮, 廖之和. 错配修复基因hMLH1和hMSH2在散发性大肠癌中的表达及其意义. 中华肿瘤杂志 2010; 32: 590-594
- 31 Saegusa M, Machida D, Okayasu I. Loss of DCC gene expression during ovarian tumorigenesis: relation to tumour differentiation and progression. *Br J Cancer* 2000; 82: 571-578
- 32 Saegusa M, Hashimura M, Hara A, Okayasu I. Loss of expression of the gene deleted in colon carcinoma (DCC) is closely related to histologic differentiation and lymph node metastasis in endometrial carcinoma. *Cancer* 1999; 85: 453-464
- 33 张惠晶, 孙明军, 张依宁, 王麟, 魏敏杰. 大肠癌组织DCC基因启动子甲基化及表达水平相关性研究. 中华肿瘤防治杂志 2009; 16: 1579-1582
- 34 杨莉, 孙明军, 张惠晶, 魏敏杰, 赵海山. DCC基因在大肠癌中的表达及与Bcl-2、Bax关系. 国际病理科学与临床杂志 2008; 28: 103-107
- 35 刘伟, 王丽, 余英豪, 王旭洲, 武一曼, 吴在增, 欧阳学农, 王烈. k-ras基因在中国结直肠癌患者中的突变状态. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1367-1374
- 36 Nelson HH, Christiani DC, Mark EJ, Wiencke JK, Wain JC, Kelsey KT. Implications and prognostic value of K-ras mutation for early-stage lung cancer in women. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 2032-2038
- 37 李超, 许芝林, 赵峰, 朴大勋. K-ras基因与c-myc基因在大肠癌中的表达及相关性研究. 哈尔滨医科大学学报 2009; 43: 572-575
- 38 Tan G, Cioc AM, Perez-Montiel D, Ellison EC, Frankel WL. Microvascular density does not correlate with histopathology and outcome in neuroendocrine tumors of the pancreas. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2004; 12: 31-35
- 39 Wang L, Cunningham JM, Winters JL, Guenther JC, French AJ, Boardman LA, Burgart LJ, McDonnell SK, Schaid DJ, Thibodeau SN. BRAF mutations in colon cancer are not likely attributable to defective DNA mismatch repair. *Cancer Res* 2003; 63: 5209-5212
- 40 Fransén K, Klintenäs M, Osterström A, Dimberg J,

■名词解释

锯齿状腺瘤性息肉: 是近年逐渐被认识的一类特殊病理形态的大肠腺瘤. 2000年世界卫生组织(WHO)已正式将其作为单独的疾病类型列入结肠肿瘤中, 其定义为由锯齿状腺体组成的腺瘤, 在低倍显微镜下锯齿状腺瘤性息肉特点类似增生性(化生性)息肉的锯齿牙齿样形态, 但被覆隐窝上部 and 腺腔表面的上皮存在异型增生.

■同行评价

本文探讨抑癌基因在大肠癌发生发展中的作用,有一定临床意义。

- Monstein HJ, Söderkvist P. Mutation analysis of the BRAF, ARAF and RAF-1 genes in human colorectal adenocarcinomas. *Carcinogenesis* 2004; 25: 527-533
- 41 Domingo E, Espín E, Armengol M, Oliveira C, Pinto M, Duval A, Brennetot C, Seruca R, Hamelin R, Yamamoto H, Schwartz S. Activated BRAF targets proximal colon tumors with mismatch repair deficiency and MLH1 inactivation. *Genes Chromosomes Cancer* 2004; 39: 138-142
- 42 王向昱, 张建新, 李利义, 金洲祥. 大肠癌K-ras、p53基因突变分析及其与肝转移的关系. *肝胆胰外科杂志* 2010; 22: 50-52
- 43 杨兵, 武希润, 谭朝晖, 郭文栋. 大肠癌组织中survivin表达及其与bcl-2和p53的相关性研究. *山西医科大学学报* 2006; 37: 240-241
- 44 Roa JC, Roa I, Melo A, Araya JC, Villaseca MA, Flores M, Schneider B. [p53 gene mutation in cancer of the colon and rectum]. *Rev Med Chil* 2000; 128: 996-1004
- 45 Samowitz WS, Curtin K, Ma KN, Edwards S, Schaffer D, Leppert MF, Slatery ML. Prognostic significance of p53 mutations in colon cancer at the population level. *Int J Cancer* 2002; 99: 597-602
- 46 Lane DP, Fischer PM. Turning the key on p53. *Nature* 2004; 427: 789-790
- 47 马国建, 周建农, 沈宗丽, 陈森清, 朱月清, 吴晓柳, 薛开先. 循环癌细胞P53表达在大肠癌患者检测中的临床意义. *中华医学遗传学杂志* 2006; 23: 186-188
- 48 Molleví DG, Serrano T, Ginestà MM, Valls J, Torras J, Navarro M, Ramos E, Germà JR, Jaurrieta E, Moreno V, Figueras J, Capellà G, Villanueva A. Mutations in TP53 are a prognostic factor in colorectal hepatic metastases undergoing surgical resection. *Carcinogenesis* 2007; 28: 1241-1246
- 49 Komuro Y, Watanabe T, Tsurita G, Muto T, Nagawa H. Expression pattern of telomerase reverse transcriptase in rectal carcinoma predicts tumor radiosensitivity, local recurrence and disease-free survival. *Hepatogastroenterology* 2005; 52: 985-989
- 50 Hsu HH, Cheng SF, Wu CC, Chu CH, Weng YJ, Lin CS, Lee SD, Wu HC, Huang CY, Kuo WW. Apoptotic effects of over-expressed estrogen receptor-beta on LoVo colon cancer cell is mediated by p53 signalings in a ligand-dependent manner. *Chin J Physiol* 2006; 49: 110-116
- 51 常建兰, 李祖国, 王晓燕, 杨敏慧. p53、malat1、ki-67和β-catenin基因mRNA检测在大肠癌分子诊断中的意义. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 3849-3854
- 52 吴伟, 胡锦林, 鞠海星, 黄新, 孙文勇. 散发性大肠癌K-ras基因点突变研究及其临床病理意义. *医学研究杂志* 2010; 39: 53-57
- 53 Karapetis CS, Khambata-Ford S, Jonker DJ, O'Callaghan CJ, Tu D, Tebbutt NC, Simes RJ, Chalkal H, Shapiro JD, Robitaille S, Price TJ, Shepherd L, Au HJ, Langer C, Moore MJ, Zalcberg JR. K-ras mutations and benefit from cetuximab in advanced colorectal cancer. *N Engl J Med* 2008; 359: 1757-1765
- 54 Winder T, Mündlein A, Rhomberg S, Dirschmid K, Hartmann BL, Knauer M, Drexel H, Wenzl E, De Vries A, Lang A. Different types of K-Ras mutations are conversely associated with overall survival in patients with colorectal cancer. *Oncol Rep* 2009; 21: 1283-1287
- 55 Bazan V, Migliavacca M, Zanna I, Tubiolo C, Grassi N, Latteri MA, La Farina M, Albanese I, Dardanoni G, Salerno S, Tomasino RM, Labianca R, Gebbia N, Russo A. Specific codon 13 K-ras mutations are predictive of clinical outcome in colorectal cancer patients, whereas codon 12 K-ras mutations are associated with mucinous histotype. *Ann Oncol* 2002; 13: 1438-1446
- 56 Zaubner NP, Wang C, Lee PS, Redondo TC, Bishop DT, Goel A. Ki-ras gene mutations, LOH of the APC and DCC genes, and microsatellite instability in primary colorectal carcinoma are not associated with micrometastases in pericolic lymph nodes or with patients' survival. *J Clin Pathol* 2004; 57: 938-942
- 57 Zhang H, Arbman G, Sun XF. Codon 201 polymorphism of DCC gene is a prognostic factor in patients with colorectal cancer. *Cancer Detect Prev* 2003; 27: 216-221
- 58 姜洪伟, 朱宝平, 房学东, 姜晓刚, 王理, 黄国民, 张伟. 结肠癌中DCC基因启动子甲基化及其临床意义. *中国老年学杂志* 2010; 30: 3056-3057
- 59 董丽娟, 张增礼, 刘志刚, 苏经题, 王娟, 霍跃, 刘明. 抑癌基因对大肠肿瘤早期诊断及预后判断的价值. *中国综合临床* 2005; 21: 641-643
- 60 杨冬冬, 田素礼, 于金玲. 大肠癌中nm23-H1的表达及其与临床病理特征的关系. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 412-415
- 61 Negroni A, Venturelli D, Tanno B, Amendola R, Ransac S, Cesi V, Calabretta B, Raschella G. Neuroblastoma specific effects of DR-nm23 and its mutant forms on differentiation and apoptosis. *Cell Death Differ* 2000; 7: 843-850
- 62 Tachibana M, Kawamata H, Fujimori T, Omotehara F, Horiuchi H, Ohkura Y, Igarashi S, Kotake K, Kubota K. Dysfunction of p53 pathway in human colorectal cancer: analysis of p53 gene mutation and the expression of the p53-associated factors p14ARF, p33ING1, p21WAF1 and MDM2. *Int J Oncol* 2004; 25: 913-920
- 63 蔺会云. 一条新的转移相关基因mag-1的研究. *中国人民解放军军事医学科学院*, 2006: 1-105
- 64 相霞, 韦统友, 马江伟, 战则凤, 李曙晖, 郭洪飞. Survivin、Smad4/dpc4、APC基因在大肠腺瘤和腺癌中的表达及意义. *中国医师杂志* 2010; 12: 625-628
- 65 吕梁, 霍继荣, 刘佳, 武捷, 王捷. APC不同功能区对结肠癌细胞株HT-29中β-连环蛋白表达的影响. *中南大学学报(医学版)* 2010; 35: 140-145
- 66 Jascur T, Boland CR. Structure and function of the components of the human DNA mismatch repair system. *Int J Cancer* 2006; 119: 2030-2035
- 67 崔龙, 金黑鹰. 同时携带hMLH1与hMSH2基因种系突变的遗传性非息肉性大肠癌家系及其致病意义. *中华消化杂志* 2008; 28: 111-112
- 68 Banerjee A, Bustin SA, Dorudi S. The immunogenicity of colorectal cancers with high-degree microsatellite instability. *World J Surg Oncol* 2005; 3: 26
- 69 Tang R, Changchien CR, Wu MC, Fan CW, Liu KW, Chen JS, Chien HT, Hsieh LL. Colorectal cancer without high microsatellite instability and chromosomal instability—an alternative genetic pathway to human colorectal cancer. *Carcinogenesis* 2004; 25: 841-846
- 70 Shekarabi M, Kennedy TE. The netrin-1 receptor DCC promotes filopodia formation and cell spreading by activating Cdc42 and Rac1. *Mol Cell Neurosci* 2002; 19: 1-17
- 71 宋枫, 高峰, 董亮, 张鑫, 赵勇. p53和nm23在结直肠癌中的表达. *西北国防医学杂志* 2010; 31: 19-21
- 72 曲利娟, 杨直, 曾玲, 熊喜生. DR-nm23基因及其蛋白在大肠癌组织中的表达研究. *实用癌症杂志* 2011; 26: 128-132

γ-氨基丁酸及其受体在肿瘤发生发展中的作用

施言, 王少慧, 张发明

施言, 王少慧, 张发明, 南京医科大学第二附属医院消化医学中心 南京医科大学消化内镜研究所 江苏省南京市 210011

国家自然科学基金资助项目, No. 30900667

施言, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病内镜下治疗及炎症性肠病的研究。

作者贡献分布: 本文综述由施言与王少慧完成; 张发明审校。

通讯作者: 张发明, 博士, 副主任医师, 210011, 江苏省南京市, 南京医科大学第二附属医院消化医学中心, 南京医科大学消化内镜研究所. firszyzhang@hotmail.com

电话: 025-58509932

收稿日期: 2011-10-17 修回日期: 2011-11-12

接受日期: 2012-02-17 在线出版日期: 2012-02-18

Role of γ-aminobutyric acid and its receptors in carcinogenesis

Yan Shi, Shao-Hui Wang, Fa-Ming Zhang

Yan Shi, Shao-Hui Wang, Fa-Ming Zhang, Institute of Digestive Endoscopy and Medical Center for Digestive Diseases, Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210011, Jiangsu Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30900667

Correspondence to: Fa-Ming Zhang, Associate Chief Physician, Institute of Digestive Endoscopy and Medical Center for Digestive Diseases, Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210011, Jiangsu Province, China. firszyzhang@hotmail.com

Received: 2011-10-17 Revised: 2011-11-12

Accepted: 2012-02-17 Published online: 2012-02-18

Abstract

Gamma-aminobutyric acid (GABA) is a major inhibitory neurotransmitter in the adult mammalian brain and it is also expressed in the central nervous system, peripheral nerves and peripheral non-neural tissues. Recent studies have shown that GABA is involved in the proliferation and migration of tumor cells and other processes of tumor development. According to different sensitivity to agonists and antagonists, GABA receptors have been classified into three types: A, B and C. GABA receptors and their receptor subunits are involved in complicated regulation of tumor cells. Many studies have demonstrated that GABA binding to its receptors can activate or inhibit the cAMP signaling pathway and the MAPK/ERK pathway, and regulate cancer cell proliferation and migration. The potential value of GABA in cancer diag-

nosis, prognostic prediction and biotherapy has been gradually revealed. In the present article, we reviewed the recent progress in understanding the role of GABA and its receptors in carcinogenesis.

Key Words: Gamma-aminobutyric acid; GABA receptors; Carcinogenesis; Signaling pathway; TRAK1

Shi Y, Wang SH, Zhang FM. Role of γ-aminobutyric acid and its receptors in carcinogenesis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(5): 399-404

摘要

γ-氨基丁酸(γ-Aminobutyric acid, GABA)是成年哺乳动物脑内的主要抑制性神经递质, 他在中枢神经、外周神经和外周非神经组织中表达。根据GABA受体对激动剂及拮抗剂敏感性的不同, 目前分为A、B、C三型。近来发现, GABA对肿瘤发生发展具有调控作用。因GABA受体及受体亚单位表达多样化、受体介导的胞内信号传导通路的差异, 其对肿瘤细胞的调控作用及相关机制不同。研究发现GABA与其受体结合可激活或抑制cAMP信号通路、MAPKs家族的ERK1/2信号通路, 从而调控多种肿瘤细胞的增殖和转移。随着研究进一步深入, GABA在肿瘤诊断、预后判断和生物治疗等方面的潜在价值将逐步显现, 本文就此领域的最新进展予以综述。

关键词: γ-氨基丁酸; GABA受体; 肿瘤; 信号通路; TRAK1

施言, 王少慧, 张发明. γ-氨基丁酸及其受体在肿瘤发生发展中的作用. *世界华人消化杂志* 2012; 20(5): 399-404
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/399.asp>

0 引言

γ-氨基丁酸(γ-Aminobutyric acid, GABA)是成年哺乳动物脑内的主要抑制性神经递质, 他在中枢神经、外周神经和外周非神经组织中表达^[1,2]。GABA通过离子通道型受体—GABA A受体、C受体, 以及促代谢型受体—GABA B受体发挥作用。目前已经发现GABA受体在外周组织

■背景资料

γ-氨基丁酸是成年哺乳动物脑内的主要抑制性神经递质, 目前发现GABA受体可在外周组织中表达, 且与肿瘤发生发展相关。GABA与其相应受体结合可介导不同信号传导通路调控多种肿瘤细胞的增殖和转移, 从而成为近来肿瘤诊断和治疗的研究热点。

■同行评议者
黄培林, 教授, 东南大学肿瘤学

■研究前沿

目前大部分研究主要集中于cAMP信号传导通路和MAPKs家族信号传导通路。GABA对肿瘤细胞的增殖及侵袭能力究竟是促进还是抑制？相应的具体机制又是什么？这些仍是未来的研究方向。

表 1 GABA受体特点及体内分布区域

受体类型	性质	亚单位组成	激动剂或拮抗剂	分布区域
A受体	氯离子通道	五聚体, 7个亚类: $\alpha 1-6$, $\beta 1-3$, $\gamma 1-3$, δ , ϵ , θ 和 π	拮抗剂: 荷包牡丹碱	胃G细胞、视神经、三叉神经、肠道神经、肾上腺、小肠、肝脏、肾脏、胰腺、垂体、肺
B受体	G蛋白耦联受体	二聚体 R1, R2	激动剂: 巴氯芬	胃、肾上腺、垂体、脾脏、肾脏、小肠
C受体		五聚体 $\rho 1$ 、 $\rho 2$ 、 $\rho 3$		视网膜、丘脑、海马、垂体、脊髓、小脑、肺、胸腺、胃肠道

中表达^[2-4], 这提示GABA在外周组织中的存在可能不仅局限于充当神经递质。最早在1990年, 有研究将亚硝基胍诱导的大鼠胃癌与GABA B受体联系起来^[5]。之后的许多研究揭示了GABA及其各种受体在肿瘤发生中的作用和机制^[6-14]。GABA与其受体结合可激活或抑制cAMP信号通路、MAPKs家族的ERK1/2信号通路, 从而调控多种肿瘤细胞的增殖和转移。最近发现, GABA各种受体以及受体亚单位表达多样化也是介导GABA效应的机制之一, GABA A受体 $\alpha 1$ 亚单位能够与动力相关蛋白TRAK1结合^[15], 我们的研究进一步发现TRAK1是一种重要的肿瘤标志物, 尤其是可能与肿瘤细胞受神经体液调节及分泌细胞内黏液有关^[16]。本文就GABA及其各种受体在多种肿瘤中表达分布及其在肿瘤细胞增殖、转移等发展过程中的机制予以综述。

1 GABA的来源及发现历程

GABA是一个非蛋白组分的氨基酸, 在细菌、植物和动物中广泛存在。1950年, GABA被首次发现存在于哺乳动物脑中^[17,18]。后来的研究进一步发现, 谷氨酸脱羧酶(glutamate decarboxylase, GAD)为催化谷氨酸向GABA转化的关键酶^[19]。除此之外, GABA还可以通过多胺途径^[20]、鸟氨酸途径^[21-23]和高肌肽^[24]途径生成, 这些途径可能在某些特定的条件下发挥重要功能。20世纪50年代末至60年代初, Curtis等^[25]发现GABA对脊髓神经元有抑制作用。据此, Krnjevic等^[26]在1963年提出, 谷氨酸和GABA等氨基酸类可能是中枢神经递质。不过, 相对于当时大家所熟知的外周神经递质乙酰胆碱神经兴奋作用, 这个发现一直被冷落了数年。到20世纪70年代初期, 借助特异性的GABA受体抑制剂荷包牡丹碱(bicuculline), 人们才认识到GABA为抑制性中枢神经递质。

2 GABA受体及其在生物体内的分布

根据GABA受体对激动剂及拮抗剂敏感性的不

同, 目前将GABA受体分为A、B、C三型(表1)。

GABA A受体是氯离子通道, 其特异性拮抗剂为荷包牡丹碱。GABA A受体是由5个亚单位组成的五聚体, 其受体亚单位根据氨基酸序列的同源性分为7个亚类: $\alpha 1-6$, $\beta 1-3$, $\gamma 1-3$, δ , ϵ , θ 和 π 。GABA A受体的分布不只局限于中枢神经系统, 还包括胃G细胞^[27]、视神经^[28]、三叉神经^[29]、肠道神经^[30,31]、肾上腺^[4,32]、小肠^[4,33]、肝脏^[34]、肾脏^[35]、胰腺^[27]、垂体^[36]和肺^[37]。

GABA B受体为G蛋白耦联受体, 对荷包牡丹碱不敏感, 但能被特异性激动剂巴氯芬(baclofen)所激活。GABA B受体是由2个不同基因编码的亚单位(R1, R2)组成的二聚体。GABA B受体除在中枢神经系统表达外, 在许多的外周组织如胃^[38]、肾上腺^[38]、垂体^[38]、脾脏^[39]、肾脏^[38,39]和小肠^[40,41]也参与表达。

把对荷包牡丹碱及巴氯芬都不敏感的GABA受体称为GABA C受体。GABA C受体也是由5个亚单位组成的五聚体。目前已知的亚单位有 $\rho 1$ 、 $\rho 2$ 、 $\rho 3$ 。GABA C受体最早被发现存在于视网膜中^[42], 此外, 在小脑^[43]、肺^[44]、丘脑^[45]、海马^[45]、垂体^[45]、脊髓^[45]、胸腺^[46]和胃肠道中也有表达^[45,47]。

3 GABA通过其受体介导在肿瘤发生发展中的作用

GABA通过不同受体途径对肿瘤细胞增殖和转移能力的影响有其特异性。不同部位、不同的细胞系, 由于其胞膜GABA受体亚单位组成及胞内信号传导通路的差异, 其调节作用及相关机制有所不同(表2)。

3.1 GABA A受体介导效应及相应胞内信号传导通路 与正常细胞相比, 恶性肿瘤细胞中GABA A受体亚单位的表达有所不同。甲状腺癌中表达GABA A受体 $\alpha 2$ 亚单位, 不表达 $\beta 2$ 亚单位, 而正常甲状腺组织正好相反^[48]。利用消减杂交的技术发现, 神经母细胞瘤中高表达GABA A受体 $\alpha 2$ 亚

表 2 GABA各种受体及相应信号通路在肿瘤发生发展机制中的作用

受体类型	亚单位	信号通路	功能
A受体	π	MAPKs信号通路 \uparrow	促进胰腺癌细胞株KLM-1增殖 ^[10]
	-	MAPKs家族的ERK1/2信号通路 \uparrow	抑制胆管癌细胞株Mz-ChA-1增殖和转移 ^[8]
	-	MAPKs家族中的ERK1/2信号通路 \uparrow	促进胃癌细胞株KATO III增殖 ^[54]
	$\alpha 3$		促进肝癌细胞株HepG2增殖 ^[11]
	$\beta 3$		抑制肝癌细胞株PLC/PRF/5增殖 ^[53]
B受体	-	cAMP信号通路 \downarrow	抑制去甲肾上腺素诱导的结肠癌细胞株SW480转移 ^[57]
	-	cAMP信号通路 \downarrow	抑制肝癌细胞株Huh-7转移 ^[58]
	-	cAMP信号通路 \downarrow	抑制肺癌细胞株NCL-H322增殖和转移 ^[44]
	-	MAPKs家族的ERK1/2信号通路 \uparrow	抑制胆管癌细胞株Mz-ChA-1增殖和转移 ^[8]
	-	MAPKs家族的ERK1/2、JNK和P38信号通路 \uparrow	促进肾细胞癌Caki-2株转移 ^[9]
	-		抑制大鼠胃癌生长 ^[5]
	-		促进前列腺癌细胞株C4-2转移 ^[6]
	R2		促进甲状腺癌生长 ^[48]
C受体	-	MAPKs家族的ERK1/2信号通路 \uparrow	抑制胆管癌细胞株Mz-ChA-1增殖和转移 ^[8]

“-”，文献未提及；“ \uparrow ”，激活该信号通路；“ \downarrow ”，抑制该信号通路。

单位^[49]。通过计算机模拟查找肝癌、正常肝细胞差异表达基因与实验确认的方法, Li等^[11]发现肝癌细胞过度表达 $\alpha 3$ 亚单位。GABA A受体亚单位表达模式的差异除了与恶性肿瘤的快速增殖相关之外, 还可以作为判断预后的指标^[49]。Liu等^[13]发现GABA A受体 $\alpha 3$ 亚单位在肺癌组织中表达增加, 且与肿瘤低分化相关。

新近研究显示, GABA A受体 $\alpha 1$ 亚单位能够与动力相关蛋白TRAK1相互结合^[15]。Zhang等^[16]进一步发现TRAK1不仅在兴奋组织中表达, 还在非兴奋组织和细胞中表达, 首次鉴定其为一种重要的肿瘤标志物, 其免疫组化检测对印戒细胞癌和黏液腺癌诊断的敏感性高达100%, 并据此推测TRAK1蛋白可能与肿瘤细胞受神经体液调节及分泌细胞内黏液有关。该结果进一步被TRAK1在结肠癌组织中的诊断价值证实^[50]。Thorsen等^[51]研究发现DLD1和Ls174T结肠癌细胞系中, TRAK1基因是肿瘤特异性可变转录启动区的调控因子, Wnt信号通路可调控此基因表达。Brickley等^[52]发现TRAK蛋白家族还可调控海马神经元轴突细胞线粒体运动功能。以上研究提示, TRAK1蛋白作为GABA受体介导的效应分子, 在肿瘤调控的机制研究中, 已经受到科学家的关注。

Sun等^[53]发现PLC/PRF/5肝癌细胞株表达GABA A受体 $\beta 3$ 亚单位, 但Chang、HepG2和

HuH-7肝癌细胞株均不表达, 激活该受体亚单位可抑制此肿瘤细胞增殖。而Liu等^[11]发现体内或体外肝癌细胞株HepG2均过度表达GABA A受体 $\alpha 3$ 亚单位, 降低其表达能够抑制肿瘤细胞增殖, 且效应呈剂量依赖性, 敲低此受体亚单位表达的HepG2细胞株无增殖效应。另一项研究发现胰腺癌细胞株KLM-1过量表达GABA A受体 π 亚单位, GABA激动该受体后通过提高胞内钙离子浓度激活MAPKs信号通路促进肿瘤细胞增殖^[10], 对B受体的抑制剂CGP35348的作用不敏感。胃癌细胞株KATO III表达GAD和GABA A受体, 不表达B受体, GABA激动A受体能够促进该肿瘤细胞增殖, 此增殖效应在10 $\mu\text{mol/L}$ 或1 $\mu\text{mol/L}$ GABA浓度下最大, 主要激活MAPKs家族中的ERK1/2信号通路, 同时细胞周期素D1的表达增加^[54]。

3.2 GABA B受体介导效应及相应胞内信号传导通路 在GABA对不同肿瘤细胞转移影响的研究中, GABA B受体, 即促代谢型受体, 引起了特别的关注。GABA B受体属于含有G蛋白耦联受体家族的成员, 与趋化因子受体和儿茶酚胺受体相关, 而后两种受体均参与调控白细胞和肿瘤细胞的转移^[55,56]。已有的研究表明GABA B受体参与了肺癌^[44]、结肠癌^[57]、前列腺癌^[6]、肾癌细胞^[9]的转移, 如GABA通过B受体能够促进前列腺癌细胞株C4-2迁移^[6]。

■应用要点

本文初步探讨了GABA及其各种受体在肿瘤增殖、转移方面的作用。随着研究进一步深入, GABA在肿瘤诊断、预后判断和生物治疗等方面的潜在价值将逐步显现, 本文就此领域的最新进展予以综述。

■同行评价

该文稿比较详尽综述了近20年来有关GABA及其受体在肿瘤发生发展过程作用的研究现状,作者阅读了大量文献,对于广大肿瘤研究者有一定的参考意义,让更多的人关注和了解神经性递质在肿瘤中的作用。

Maemura等^[44]发现GABA能够通过B受体发挥抑制肺癌细胞株NCI-H322增殖和转移的作用,其机制为抑制 β -肾上腺素受体调控的环磷酸腺苷(cyclic AMP, cAMP)信号通路。Watanabe等^[9]在人肾细胞癌Caki-2中研究了GABA对MAPKs信号通路活化的调控作用,结果发现:GABA激活B受体促进MAPKs家族成员的磷酸化,包括细胞外信号调节激酶1/2(extracellular signal-regulated kinase 1/2, ERK1/2)、c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)和P38。Lodewyck等^[58]发现激活GABA B受体抑制cAMP信号通路可减少肝癌细胞株Huh-7转移,但不影响肿瘤细胞增殖。Entschladen等^[57]发现GABA激活B受体后可降低肿瘤细胞内cAMP浓度,抑制由去甲肾上腺素诱导的结肠癌细胞株SW480的转移。

一系列的动物实验提示激动GABA B受体能够抑制体内肿瘤细胞增殖。Tatsuta等^[7]用氧化偶氮甲烷诱导Wistar大鼠发生结肠癌,以蝇蕈醇、巴氯芬干预,结果巴氯芬可有效抑制肿瘤生长,蝇蕈醇则无此作用,这在Wistar大鼠胃癌模型中也得到了证实^[59]。国内一项实验结果表明,巴氯芬在体内和体外试验中均可通过激活GABA B受体有效抑制肝癌细胞的生长^[60]。同时Biju等^[61]观察到,用硝基二乙胺诱导大鼠发生肝癌后,肿瘤细胞GABA B受体表达增加。

3.3 GABA C受体介导效应及相应胞内信号传导通路 GABA C受体涉及的信号通路研究较少。有研究将胆管癌细胞系Mz-ChA-1注入裸鼠体内,发现GABA通过激动A受体、B受体和C受体,磷酸化MAPKs家族的ERK1/2信号通路分子从而抑制肿瘤细胞的增殖和转移,导致肿瘤凋亡增加,体积缩小^[8]。由于肿瘤细胞与神经元细胞的生理结构和功能存在差异,因而肿瘤细胞中的GABA受体途径应该有别于神经元细胞。GABA对肿瘤细胞的增殖及侵袭转移能力究竟是促进还是抑制?又通过何种受体途径实现其调控作用?在调控过程中,还涉及哪些相关信号传导途径?这些问题有待于更深入的研究。

4 结论

目前关于GABA与肿瘤发生、发展之间关系的探讨工作还处于起步阶段。本文综述了近几十年的文献,着重总结了GABA及其各种受体在肿瘤增殖、转移方面的作用,当然还可能存在着其他尚未被发现的受体类型及相关信号通路。随着研究的深入,GABA及其受体在肿瘤治疗和

预后判断等方面的潜在价值将逐步显现,有可能成为肿瘤诊断与治疗的理想靶点。

5 参考文献

- 1 Erdö SL, Wolff JR. gamma-Aminobutyric acid outside the mammalian brain. *J Neurochem* 1990; 54: 363-372
- 2 Watanabe M, Maemura K, Kanbara K, Tamayama T, Hayasaki H. GABA and GABA receptors in the central nervous system and other organs. *Int Rev Cytol* 2002; 213: 1-47
- 3 Ong J, Kerr DI. GABA-receptors in peripheral tissues. *Life Sci* 1990; 46: 1489-1501
- 4 Akinci MK, Schofield PR. Widespread expression of GABA(A) receptor subunits in peripheral tissues. *Neurosci Res* 1999; 35: 145-153
- 5 Tatsuta M, Iishi H, Baba M, Nakaizumi A, Ichii M, Taniguchi H. Inhibition by gamma-amino-n-butyric acid and baclofen of gastric carcinogenesis induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in Wistar rats. *Cancer Res* 1990; 50: 4931-4934
- 6 Azuma H, Inamoto T, Sakamoto T, Kiyama S, Ubai T, Shinohara Y, Maemura K, Tsuji M, Segawa N, Masuda H, Takahara K, Katsuoka Y, Watanabe M. Gamma-aminobutyric acid as a promoting factor of cancer metastasis; induction of matrix metalloproteinase production is potentially its underlying mechanism. *Cancer Res* 2003; 63: 8090-8096
- 7 Tatsuta M, Iishi H, Baba M, Taniguchi H. Attenuation by the GABA receptor agonist baclofen of experimental carcinogenesis in rat colon by azoxymethane. *Oncology* 1992; 49: 241-245
- 8 Fava G, Marucci L, Glaser S, Francis H, De Morrow S, Benedetti A, Alvaro D, Venter J, Meininger C, Patel T, Taffetani S, Marziani M, Summers R, Reichenbach R, Alpini G. gamma-Aminobutyric acid inhibits cholangiocarcinoma growth by cyclic AMP-dependent regulation of the protein kinase A/extracellular signal-regulated kinase 1/2 pathway. *Cancer Res* 2005; 65: 11437-11446
- 9 Inamoto T, Azuma H, Sakamoto T, Kiyama S, Ubai T, Kotake Y, Watanabe M, Katsuoka Y. Invasive ability of human renal cell carcinoma cell line Caki-2 is accelerated by gamma-aminobutyric acid, via sustained activation of ERK1/2 inducible matrix metalloproteinases. *Cancer Invest* 2007; 25: 574-583
- 10 Takehara A, Hosokawa M, Eguchi H, Ohigashi H, Ishikawa O, Nakamura Y, Nakagawa H. Gamma-aminobutyric acid (GABA) stimulates pancreatic cancer growth through overexpressing GABAA receptor pi subunit. *Cancer Res* 2007; 67: 9704-9712
- 11 Liu Y, Li YH, Guo FJ, Wang JJ, Sun RL, Hu JY, Li GC. Gamma-aminobutyric acid promotes human hepatocellular carcinoma growth through overexpressed gamma-aminobutyric acid A receptor alpha 3 subunit. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 7175-7182
- 12 Schuller HM, Al-Wadei HA, Majidi M. GABA B receptor is a novel drug target for pancreatic cancer. *Cancer* 2008; 112: 767-778
- 13 Liu Y, Guo F, Dai M, Wang D, Tong Y, Huang J, Hu J, Li G. Gammaaminobutyric acid A receptor alpha 3 subunit is overexpressed in lung cancer. *Pathol Oncol Res* 2009; 15: 351-358
- 14 Schuller HM, Al-Wadei HA. Neurotransmitter receptors as central regulators of pancreatic cancer. *Future Oncol* 2010; 6: 221-228

- 15 Gilbert SL, Zhang L, Forster ML, Anderson JR, Iwase T, Soliven B, Donahue LR, Sweet HO, Bronson RT, Davisson MT, Wollmann RL, Lahn BT. Trak1 mutation disrupts GABA(A) receptor homeostasis in hypertonic mice. *Nat Genet* 2006; 38: 245-250
- 16 Zhang F, Ren G, Lu Y, Jin B, Wang J, Chen X, Liu Z, Li K, Nie Y, Wang X, Fan D. Identification of TRAK1 (Trafficking protein, kinesin-binding 1) as MGB2-Ag: a novel cancer biomarker. *Cancer Lett* 2009; 274: 250-258
- 17 AWAPARA J, LANDUA AJ, FUERST R, SEALE B. Free gamma-aminobutyric acid in brain. *J Biol Chem* 1950; 187: 35-39
- 18 ROBERTS E, FRANKEL S. gamma-Aminobutyric acid in brain: its formation from glutamic acid. *J Biol Chem* 1950; 187: 55-63
- 19 Roberts E, Kuriyama K. Biochemical-physiological correlations in studies of the gamma-aminobutyric acid system. *Brain Res* 1968; 8: 1-35
- 20 Seiler N. Functions of polyamine acetylation. *Can J Physiol Pharmacol* 1987; 65: 2024-2035
- 21 Murrin LC. Ornithine as a precursor for gamma-aminobutyric acid in mammalian brain. *J Neurochem* 1980; 34: 1779-1781
- 22 Yoneda Y, Roberts E, Dietz GW. A new synaptosomal biosynthetic pathway of glutamate and GABA from ornithine and its negative feedback inhibition by GABA. *J Neurochem* 1982; 38: 1686-1694
- 23 Shimosato K, Watanabe S, Marley RJ, Saito T. Increased polyamine levels and changes in the sensitivity to convulsions during chronic treatment with cocaine in mice. *Brain Res* 1995 684: 243-247
- 24 Datta AK, Shi X, Kasprzak KS. Effect of carnosine homocarnosine and anserine on hydroxylation of the guanine moiety in 2'-deoxyguanosine, DNA and nucleohistone with hydrogen peroxide in the presence of nickel(II). *Carcinogenesis* 1993; 14: 417-422
- 25 Curtis DR, Watkins JC. The pharmacology of amino acids related to gamma-aminobutyric acid. *Pharmacol Rev* 1965; 17: 347-391
- 26 KRNJEVIC K, PHILLIS JW. Actions of certain amines on cerebral cortical neurones. *Br J Pharmacol Chemother* 1963; 20: 471-490
- 27 von Blankenfeld G, Turner J, Ahnert-Hilger G, John M, Enkvist MO, Stephenson F, Kettenmann H, Wiedenmann B. Expression of functional GABAA receptors in neuroendocrine gastropancreatic cells. *Pflugers Arch* 1995; 430: 381-388
- 28 Sakatani K, Black JA, Kocsis JD. Transient presence and functional interaction of endogenous GABA and GABAA receptors in developing rat optic nerve. *Proc Biol Sci* 1992; 247: 155-161
- 29 Kondo E, Kiyama H, Araki T, Shida T, Ueda Y, Tohyama M. Coexpression of GABAA receptor gamma 1 and gamma 2 subunits in the rat trigeminal ganglion. *Brain Res Mol Brain Res* 1994; 21: 363-367
- 30 Krantis A, Shabnavard L, Nichols K, de Blas AL, Staines W. Localization of GABAA receptor immunoreactivity in NO synthase positive myenteric neurones. *J Auton Nerv Syst* 1995; 53: 157-165
- 31 Poulter MO, Singhal R, Brown LA, Krantis A. GABA(A) receptor subunit messenger RNA expression in the enteric nervous system of the rat: implications for functional diversity of enteric GABA(A) receptors. *Neuroscience* 1999; 93: 1159-1165
- 32 Parramón M, Oset-Gasque MJ, Gonzalez MP, Stephenson FA. Identification of GABAA receptor subunits expressed in bovine adrenal medulla. *Neurosci Lett* 1994; 168: 243-246
- 33 Napoleone P, Cavallotti C, de Vincentis G, Amenta F. Autoradiographic localization of the GABA-A-receptor agonist (3H)-muscimol in the rat intestinal musculature. *Pharmacology* 1991; 42: 103-110
- 34 Minuk GY, Bear CE, Sarjeant EJ. Sodium-independent, bicuculline-sensitive [3H]GABA binding to isolated rat hepatocytes. *Am J Physiol* 1987; 252: G642-G647
- 35 Amenta F, Cavallotti C, Iacopino L, Erdö SL. Autoradiographic localization of the GABAA receptor agonist [3H]-muscimol within rat kidney. *Pharmacology* 1988; 36: 390-395
- 36 Boué-Grabot E, Dufy B, Garret M. Molecular diversity of GABA-gated chloride channels in the rat anterior pituitary. *Brain Res* 1995; 704: 125-129
- 37 Shirakawa J, Taniyama K, Tanaka C. gamma-Aminobutyric acid-induced modulation of acetylcholine release from the guinea pig lung. *J Pharmacol Exp Ther* 1987; 243: 364-369
- 38 Belley M, Sullivan R, Reeves A, Evans J, O'Neill G, Ng GY. Synthesis of the nanomolar photoaffinity GABA(B) receptor ligand CGP 71872 reveals diversity in the tissue distribution of GABA(B) receptor forms. *Bioorg Med Chem* 1999; 7: 2697-2704
- 39 Castelli MP, Ingianni A, Stefanini E, Gessa GL. Distribution of GABA(B) receptor mRNAs in the rat brain and peripheral organs. *Life Sci* 1999; 64: 1321-1328
- 40 Nakajima K, Tooyama I, Kuriyama K, Kimura H. Immunohistochemical demonstration of GABAB receptors in the rat gastrointestinal tract. *Neurochem Res* 1996; 21: 211-215
- 41 何晓兵, 严缘昌. γ -氨基丁酸B型受体(GABABR)研究最新进展. *细胞生物学杂志* 2002; 24: 217-223
- 42 Feigenspan A, Bormann J. GABA-gated Cl⁻ channels in the rat retina. *Prog Retin Eye Res* 1998; 17: 99-126
- 43 Liu B, Hattori N, Jiang B, Nakayama Y, Zhang NY, Wu B, Kitagawa K, Taketo M, Matsuda H, Inagaki C. Single cell RT-PCR demonstrates differential expression of GABAC receptor rho subunits in rat hippocampal pyramidal and granule cells. *Brain Res Mol Brain Res* 2004; 123: 1-6
- 44 Schuller HM, Al-Wadei HA, Majidi M. Gamma-aminobutyric acid, a potential tumor suppressor for small airway-derived lung adenocarcinoma. *Carcinogenesis* 2008; 29: 1979-1985
- 45 赵晓萍, 陆振虞. GABA-C受体/通道的最新研究进展. *生命科学* 2007; 19: 451-455
- 46 Cutting GR, Lu L, O'Hara BF, Kasch LM, Montrose-Rafizadeh C, Donovan DM, Shimada S, Antonarakis SE, Guggino WB, Uhl GR. Cloning of the gamma-aminobutyric acid (GABA) rho 1 cDNA: a GABA receptor subunit highly expressed in the retina. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 2673-2677
- 47 Boue-Grabot E, Taupignon A, Tramu G, Garret M. Molecular and electrophysiological evidence for a GABA_C receptor in thyrotropin-secreting cells. *Endocrinology* 2000; 141: 1627-1632
- 48 Roberts SS, Mendonça-Torres MC, Jensen K, Francis GL, Vasko V. GABA receptor expression in benign and malignant thyroid tumors. *Pathol Oncol Res* 2009; 15: 645-650
- 49 Roberts SS, Mori M, Pattee P, Lapidus J, Mathews R, O'Malley JP, Hsieh YC, Turner MA, Wang Z, Tian Q, Rodland MJ, Reynolds CP, Seeger RC, Nagalla SR. GABAergic system gene expression predicts clinical outcome in patients with neuroblastoma. *J Clin*

- Oncol* 2004; 22: 4127-4134
- 50 An Y, Zhou Y, Ren G, Tian Q, Lu Y, Li H, Li K, Su T, Xu B, Chen S, Wang T, Zhang X, Nie Y, Wang X, Zhao Q. Elevated expression of MGB2-Ag/TRAK1 is correlated with poor prognosis in patients with colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis* 2011; 26: 1397-1404
 - 51 Thorsen K, Schepeler T, Øster B, Rasmussen MH, Vang S, Wang K, Hansen KQ, Lamy P, Pedersen JS, Eller A, Mansilla F, Laurila K, Wiuf C, Laurberg S, Dyrskjot L, Ørntoft TF, Andersen CL. Tumor-specific usage of alternative transcription start sites in colorectal cancer identified by genome-wide exon array analysis. *BMC Genomics* 2011; 12: 505
 - 52 Brickley K, Pozo K, Stephenson FA. N-acetylglucosamine transferase is an integral component of a kinesin-directed mitochondrial trafficking complex. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1813: 269-281
 - 53 Sun D, Gong Y, Kojima H, Wang G, Ravinsky E, Zhang M, Minuk GY. Increasing cell membrane potential and GABAergic activity inhibits malignant hepatocyte growth. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003; 285: G12-G19
 - 54 Maemura K, Shiraishi N, Sakagami K, Kawakami K, Inoue T, Murano M, Watanabe M, Otsuki Y. Proliferative effects of gamma-aminobutyric acid on the gastric cancer cell line are associated with extracellular signal-regulated kinase 1/2 activation. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 688-696
 - 55 Entschladen F, Zänker KS. Locomotion of tumor cells: a molecular comparison to migrating pre- and postmitotic leukocytes. *J Cancer Res Clin Oncol* 2000; 126: 671-681
 - 56 Entschladen F, Lang K, Drell TL, Joseph J, Zaenker KS. Neurotransmitters are regulators for the migration of tumor cells and leukocytes. *Cancer Immunol Immunother* 2002; 51: 467-482
 - 57 Joseph J, Niggemann B, Zaenker KS, Entschladen F. The neurotransmitter gamma-aminobutyric acid is an inhibitory regulator for the migration of SW 480 colon carcinoma cells. *Cancer Res* 2002; 62: 6467-6469
 - 58 Lodewyckx C, Rodriguez J, Yan J, Lerner B, Lipschitz J, Nfon C, Rempel JD, Uhanova J, Minuk GY. GABA-B receptor activation inhibits the in vitro migration of malignant hepatocytes. *Can J Physiol Pharmacol* 2011; 89: 393-400
 - 59 Tatsuta M, Iishi H, Baba M, Uehara H, Nakaizumi A, Taniguchi H. Inhibition by amiloride of gastric carcinogenesis induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in Wistar rats. *Br J Cancer* 1993; 67: 1011-1014
 - 60 Wang T, Huang W, Chen F. Baclofen, a GABAB receptor agonist, inhibits human hepatocellular carcinoma cell growth in vitro and in vivo. *Life Sci* 2008; 82: 536-541
 - 61 Biju MP, Pyroja S, Rajeshkumar NV, Paulose CS. Enhanced GABA(B) receptor in neoplastic rat liver: induction of DNA synthesis by baclofen in hepatocyte cultures. *J Biochem Mol Biol Biophys* 2002; 6: 209-214

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

本刊讯 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60=Bq, pH不能写PH或P^H, *H pylori*不能写成HP, T_{1/2}不能写成tl/2或T_{1/2}, V_{max}不能Vmax, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*ln*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylacetanilide(*N*-甲基乙酰苯胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*, *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), *S*(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, °C), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), *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.

尼美舒利抑制乙基硝基亚硝基胍诱导大鼠胃癌癌前病变的作用机制

张丽, 刘文忠, 陆红, 陈晓宇, 彭延申

张丽, 江苏省昆山市第一人民医院消化科 江苏省昆山市 215300

刘文忠, 陆红, 陈晓宇, 彭延申, 上海交通大学附属仁济医院消化所 上海市 100080

作者贡献分布: 此课题由张丽与刘文忠设计; 动物模型制作处理, 免疫组织化学和TUNEL检测由张丽与陆红操作完成; 病理分析由陈晓宇与彭延申完成; 论文写作由张丽完成。

通讯作者: 张丽, 医学博士, 副主任医师, 215300, 江苏省昆山市, 昆山市第一人民医院消化科. shelly21@126.com
电话: 0512-57576025

收稿日期: 2011-10-14 修回日期: 2012-12-05

接受日期: 2012-02-17 在线出版日期: 2012-02-18

Inhibitory effect of nimesulide on the development of N-ethyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine-induced gastric precancerous lesions in rats

Li Zhang, Wen-Zhong Liu, Hong Lu, Xiao-Yu Chen, Yan-Shen Peng

Li Zhang, Department of Gastroenterology, the First People's Hospital Affiliated to Jiangsu University, Kunshan 215300, Jiangsu Province, China

Wen-Zhong Liu, Hong Lu, Xiao-Yu Chen, Yan-Shen Peng, Research Center of Gastroenterology, Renji Hospital Affiliated to Shanghai Communication University, Shanghai 100080, China

Correspondence to: Li Zhang, Department of Gastroenterology, the First People's Hospital Affiliated to Jiangsu University, Kunshan 215300, Jiangsu Province, China. shelly21@126.com

Received: 2011-10-14 Revised: 2011-12-05

Accepted: 2012-02-17 Published online: 2012-02-18

Abstract

AIM: To investigate the inhibitory effect of nimesulide, a selective cyclooxygenase (COX)-2 inhibitor, on the development of N-ethyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine (ENNG)-induced gastric precancerous lesions in rats.

METHODS: Six-week-old male Wistar rats were given 100 mg/L of ENNG in their drinking water for 14 wk and then fed a diet containing nimesulide at doses of 300 mg/L and 1200 mg/L for 12 or 24 wk. The rats were sacrificed 14, 26 and 38 wk after nimesulide feeding to detect the changes in the gastric mucosa. The expres-

sion of COX-2, Bcl-2 and PCNA in the gastric mucosa was detected by immunohistochemistry, and cell apoptosis was determined using TUNEL assay.

RESULTS: Nimesulide significantly reduced the incidence of gastric precancerous lesions compared to controls ($P < 0.05$). The positive rates of COX-2 and Bcl-2 protein expression and proliferation index in the nimesulide group were significantly lower than those in the control group (17.6% vs 60%, 35.3% vs 84%, 18.9 ± 4.57 vs 49.43 ± 7.92 , all $P < 0.05$), while the apoptotic index was significantly higher in the nimesulide group than in the control group (13.6 ± 1.82 vs 2.12 ± 0.53 , $P < 0.05$). The expression of COX-2 and Bcl-2 protein was associated with proliferation index and apoptotic index ($P < 0.01$).

CONCLUSION: Nimesulide has inhibitory effects on the development of ENNG-induced gastric precancerous lesions in rats possibly via mechanisms associated with reducing COX-2 and Bcl-2 expression, inhibiting proliferation and inducing apoptosis of gastric epithelial cells.

Key Words: Nimesulide; N-ethyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine; Gastric precancerous lesions

Zhang L, Liu WZ, Lu H, Chen XY, Peng YS. Inhibitory effect of nimesulide on the development of N-ethyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine-induced gastric precancerous lesions in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(5): 405-409

摘要

目的: 探讨选择性环氧合酶-2(COX-2)抑制剂尼美舒利在乙基硝基亚硝基胍(ENNG)诱导大鼠胃癌癌前病变发展过程的作用以及可能机制。

方法: 6周龄♂ Wistar大鼠给予浓度为100 mg/L的ENNG溶液饮用14 wk后, 使用浓度为300 mg/L和1200 mg/L的尼美舒利溶液由大鼠自由饮用, 分别在喂养14、26和38 wk后观

■背景资料

胃黏膜萎缩、肠化和不典型增生是胃癌的癌前病变, 与胃癌的发生关系密切, 对此类病变的预防和逆转是抑制胃癌发生的关键。

■同行评议者

邹小明, 教授, 哈尔滨医科大学附属第二医院普外科

■相关报道

研究表明, COX-2和Bcl-2蛋白的高表达和凋亡发生率的降低是肿瘤发生、发展过程中的重要因素, 并且Bcl-2蛋白的高表达与COX-2蛋白的高表达在肿瘤的发生过程具有相关性。选择性COX-2抑制剂可以通过抑制COX-2、Bcl-2的表达, 诱导凋亡的发生来抑制肿瘤细胞的生长。

察大鼠胃黏膜病变。使用免疫组织化学的方法观察大鼠病变胃黏膜COX-2蛋白、Bcl-2蛋白以及PCNA的表达, TUNEL法检测大鼠胃黏膜细胞凋亡。

结果: 药物干预的大鼠胃癌癌前病变的发生率显著低于对应的非用药组($P<0.05$); 药物干预组大鼠病变胃黏膜的COX-2蛋白和Bcl-2蛋白表达分别为17.6%, 35.3%, 显著低于非用药组的60%和84%($P<0.05$); 增殖指数 18.9 ± 4.57 显著低于非用药组 49.43 ± 7.92 ($P<0.05$); 凋亡指数 13.6 ± 1.82 显著高于非用药组 2.12 ± 0.53 ($P<0.05$); COX-2蛋白和Bcl-2蛋白与PCNA的表达以及凋亡指数具有相关性($P<0.01$)。

结论: 选择性COX-2抑制剂尼美舒利能有效抑制ENNG诱导的大鼠胃癌癌前病变的发展, 其机制可能是通过抑制COX-2、Bcl-2蛋白的表达, 从而抑制病变胃黏膜细胞的增殖以及诱导其凋亡。

关键词: 尼美舒利; 对乙基硝基亚硝基胍; 胃癌癌前病变

张丽, 刘文忠, 陆红, 陈晓宇, 彭延申. 尼美舒利抑制对乙基硝基亚硝基胍诱导大鼠胃癌癌前病变的作用机制. 世界华人消化杂志 2012; 20(5): 405-409

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/405.asp>

0 引言

胃黏膜萎缩、肠化和不典型增生是胃癌的癌前病变, 与胃癌的发生关系密切, 对此类病变的预防和逆转是抑制胃癌发生的关键。本研究通过观察选择性环氧合酶-2(Cyclooxygenase-2, COX-2)抑制剂尼美舒利(Nimesulide)对对乙基硝基亚硝基胍(N-ethyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine, ENNG)诱发大鼠胃癌癌前病变发展过程的影响, 探讨选择性COX-2抑制剂对胃癌癌前病变的抑制作用及其可能机制。

1 材料和方法

1.1 材料 ENNG购自美国Aldrich Chem公司。尼美舒利购自杭州尼生药业公司。ENNG储存溶液每周配置一次, 4℃保存; 尼美舒利液为当天新鲜配置; 两种药物均溶解于去离子水中。浓度为100 mg/L的ENNG液和浓度为300 mg/L和1 200 mg/L的尼美舒利液由实验动物自行饮用。COX-2鼠多克隆抗体(160106), 美国Cayman公司产品; Bcl-2鼠单克隆抗体(SC-7382), 美国Santa Cruz公司产品; PCNA鼠单克隆抗体

(ZM-0213), 广州中山产品; 免疫组化染色ABC试剂盒(PK-4001), 美国Vector公司; DAB显色剂(KT9001D3), 福州迈新生物技术开发有限公司; TUNEL试剂盒, 美国ONCOGENE产品。

1.2 方法

1.2.1 分组: 实验动物为无特殊病原菌(S.P.F)级6周龄♂ Wistar大鼠, 体质量 160 ± 8 g, 购于中国科学院动物中心, 置于标准实验条件下(室温 24 ± 2 ℃; 相对湿度 $55 \pm 5\%$; 每12 h进行1次亮/暗循环)用混合饲料饲养。96只大鼠随机分为8组, 每组12只。

1.2.2 给药: 阴性对照组(P组): 仅给予混合饲料和纯净水饲养; M1、M2、M3组: ENNG平均饮用量每只1.5 mg/d, 饮用14 wk后, M1组处死, M2和M3组分别饮用纯净水至26、38 wk后分别处死。NL1、NL2组: ENNG饮用量同M1、M2、M3组, 14 wk后开始饮用300 mg/L尼美舒利液, 平均饮用量为每只2 mg/d, 分别至26 wk、38 wk; NH1、NH2组: ENNG饮用量同M1、M2、M3组, 14 wk后开始饮用1 200 mg/L尼美舒利液, 平均饮用量为每只8 mg/d, 分别至26 wk、38 wk后分别处死。大鼠每4 wk称体质量1次, 至各组实验结束, 所有大鼠都使用氯胺酮100 mg/kg麻醉后剖腹取胃并处死。胃从大弯侧剖开, 进行大体标本观察后用10%甲醛固定。固定的标本沿纵轴切为3-4小块, 石蜡包埋, 切片后分别用苏木精-伊红(HE)染色后进行病理组织学诊断、免疫组化测定以及TUNEL检测。

1.2.3 免疫组织化学测定: 切片厚4 μm, 载于赖氨酸涂沫玻片上, 烤片60℃ 1 h。脱蜡和水化: 依次二甲苯30 min(间隔10 min换液1次)、100%乙醇10 min、95%乙醇20 min(间隔10 min换液1次)、水洗6 min(间隔3 min换液1次)。流水冲洗5 min、1×PBS缓冲液5 min×3次。内源性过氧化物酶阻断试剂37℃ 10 min; PBS缓冲液5 min×3次。10 mmol/L柠檬酸缓冲液(pH 6.0±0.1)微波炉高温抗原修复。正常血清封闭抗原室温孵育30 min; 1×PBS缓冲液5 min×3次。COX-2鼠多克隆抗体(1/100)、Bcl-2鼠单克隆抗体(1/80)、PCNA鼠单克隆抗体(1/100), 每张切片加50 μL; 阴性对照加1×PBS 50 μL, 4℃过夜。冰箱取出恢复至室温约90 min; 1×PBS缓冲液5 min×3次。生物素标记的羊抗兔IgG室温孵育60 min; 1×PBS缓冲液5 min×3次。卵白素-辣根酶标记生物素室温孵育60 min; 1×PBS缓冲液5 min×3次。DAB显色, 约30 s左右用流水中止反应; 流

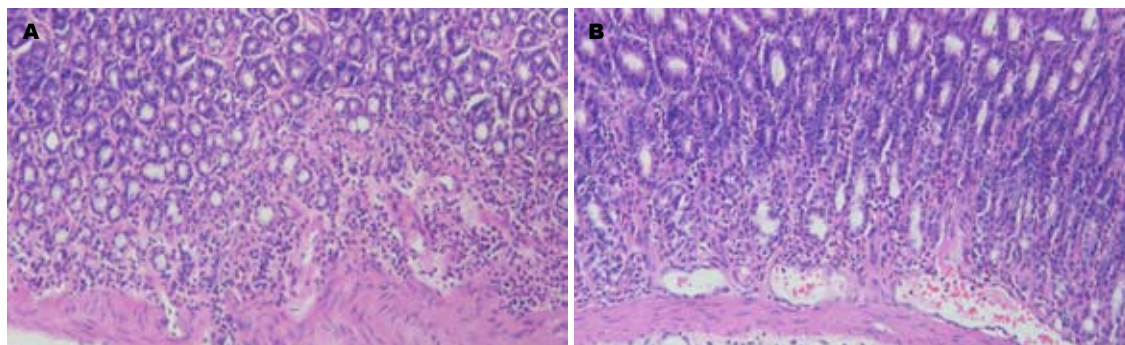


图1 大鼠胃黏膜病变(H&E染色). A: 大鼠胃黏膜深层及黏膜下层见较多炎症细胞浸润($\times 200$); B: 大鼠胃黏膜腺颈部腺体轻度增生($\times 200$).

■应用要点

选择性COX-2抑制剂尼美舒利可以通过抑制COX-2和Bcl-2的表达, 抑制胃黏膜上皮细胞增殖; 诱导其凋亡, 从而有效抑制ENNG所诱导的大鼠胃黏膜癌前病变的发展, 降低其癌前病变的发生率.

水5 min、苏木素复染1 min、盐酸分化2 s、风干; 中性树脂封片, 光学显微镜下观察实验结果. COX-2和Bcl-2蛋白的表达按照以下标准进行半定量分析: 染色的强度分为0、1(+)、2(++）、3(+++)和4(++++)；对应的阳性细胞的比例分别为0(0-10%)、1(11%-25%)、2(26%-50%)、3(50%-75%)和4(>75%)；将以上2项的分值相乘得到半定量的分值, 最小为0、最大为16.5个高倍视野下PCNA阳性的细胞比例作为增殖指数(PI). 1.2.4 TUNEL法测定凋亡: 根据TUNEL试剂盒的说明进行如下操作: 切片逐步脱蜡至水, $1\times$ PBS冲洗. 蛋白酶K(10 mmol/L Tris-HCL中含20 mg/L)室温孵育20 min, 加入3% H_2O_2 室温放置10 min, TDT标记反应混合物37℃ 60 min, 转化剂-POD 37℃ 30 min后DAB显色、苏木素复染; $1\times$ PBS代替一抗作为阴性对照, 封片后光学显微镜下观察实验结果. 5个高倍视野下TUNEL染色阳性的细胞比例作为凋亡指数(AI).

2 结果

2.1 胃黏膜癌前病变的发生率 大鼠胃组织分前胃和腺胃, 经组织学观察证实大鼠胃黏膜癌前病变的发生主要在腺胃(图1). P组无癌前病变的发生(0/12). M1组癌前病变的发生率为25%(3/12), M2组为83.3%(10/12), M3组为100%(12/12); NL1组为25%(3/12), NL2组为41.7%(5/12); NH1组为33.3%(4/12), NH2组为41.7%(5/12). 统计结果表明, 用药至26 wk的NL1组和NH1组癌前病变发生率均显著低于对照的M2组($P<0.05$); 用药至38 wk的NL2组和NH2组癌前病变发生率均显著低于对照的M3组($P<0.05$); NL1、NL2组和NH1、NL2组之间癌前病变发生率无显著差异($P>0.05$)并且与14 wk处理的M1组癌前病变发生率也没有显著差异

($P>0.05$, 表1).

2.2 胃黏膜癌前病变COX-2、Bcl-2蛋白表达及其与PCNA表达(反应增殖指数)和凋亡指数(AI)的相关性 将M1、M2和M3组的癌前病变组织($n=25$)作为非用药组; NL1、NL2、NH1和NH2的癌前病变组织($n=17$)作为干预组. COX-2蛋白在非用药组的阳性率是60%(15/25), 在干预组的阳性率是17.6%(3/17), 两者之间存在显著差异($P<0.05$). Bcl-2蛋白在非用药组的阳性率是84%(21/25), 与干预组的35.3%(6/17)比较存在显著差异($P<0.05$). 非用药组的胃黏膜上皮细胞增殖指数(PI)为 49.43 ± 7.92 , 干预组为 18.9 ± 4.57 , 两组间存在显著差异($P<0.05$). COX-2蛋白表达($r=0.786$, $P=0.0001$)和Bcl-2蛋白的表达($r=0.899$, $P=0.0001$)与PI呈正相关. AI值非用药组的为 2.12 ± 0.53 , 干预组为 13.6 ± 1.82 , 两组间存在显著差异($P<0.05$). COX-2蛋白的表达($r=-0.824$, $P=0.0001$)和Bcl-2蛋白的表达($r=-0.892$, $P=0.0001$)与AI呈负相关(表2).

3 讨论

目前COX-2抑制剂在不同肿瘤及其癌前病变中的作用和机制得到了广泛的研究, 对胃癌及其癌前病变的大多数研究都集中在体外实验^[1-5]. 基于体外实验的研究结果, 本实验通过对大鼠胃黏膜癌前病变发展过程中选择性COX-2抑制剂作用的体内实验研究, 进一步了解选择性COX-2抑制剂在胃癌癌前病变发生、发展各阶段的作用及其可能的作用机制.

本实验研究结果表明, 选择性COX-2抑制剂尼美舒利可以抑制大鼠胃癌前病变的发展过程, 降低癌前病变的发生率并具有化学预防作用. 本实验中使用尼美舒利干预至26 wk的NL1组和NH1组癌前病变的发生率分别为25%

■同行评价

文章有一定的科学性和创新性,能够反映当前胃肠病学研究水平。

表 1 大鼠胃黏膜癌前病变的发生率 (%)

	P	M1	M2	M3	NL1	NL2	NH1	NH2
萎缩	0/12	0/12	1/12	2/12	0/12	1/12	1/12	1/12
肠化	0/12	1/12	2/12	2/12	0/12	0/12	1/12	1/12
异形增生	0/12	2/12	7/12	8/12	3/12	4/12	2/12	3/12
癌前病变率 (%)	0(0/12)	25.0(3/12)	83.3(10/12)	100(12/12)	25.0(3/12)	41.7(5/12)	33.3(4/12)	41.7(5/12)

表 2 大鼠胃黏膜癌前病变COX-2、Bcl-2蛋白的表达 (%)以及增殖指数、凋亡指数 (mean ± SD)

癌前病变胃黏膜	COX-2表达	Bcl-2表达	增殖指数	凋亡指数
非用药组(<i>n</i> = 25)	60(15/25)	84(21/25)	49.43 ± 7.92	2.12 ± 0.53
干预组(<i>n</i> = 17)	17.6(3/17)	35.3(6/17)	18.9 ± 4.57	13.6 ± 1.82
<i>P</i> 值	0.037	0.025	<0.001	<0.001

和33.3%, 明显低于不用尼美舒利干预M2组的83.3%($P < 0.05$); 使用尼美舒利干预至38 wk的NL2组和NH2组癌前病变的发生率均为41.7%, 也显著低于相应不用尼美舒利干预M3组的100%($P < 0.05$)。此外, 药物干预组与14 wk处理的M1组癌前病变的发生率比较无显著差异($P > 0.05$), 提示选择性COX-2抑制剂尼美舒利可以抑制大鼠胃癌前病变的发生、发展过程。本研究中采用了2种不同剂量的尼美舒利进行不同时间段的干预, 结果显示, 2种剂量的尼美舒利在不同时间段对癌前病变的抑制作用无显著差别, 提示较低剂量的药物在预防大鼠胃癌前病变中就可以取得较好的效果。这与不同剂量阿司匹林对大肠癌预防作用的流行病学的研究结果一致^[6-9]。

研究表明, COX-2和Bcl-2蛋白的高表达和凋亡发生率的降低是肿瘤发生、发展过程中的重要因素, 并且Bcl-2蛋白的高表达与COX-2蛋白的高表达在肿瘤的发生过程具有相关性。选择性COX-2抑制剂可以通过抑制COX-2、Bcl-2的表达, 诱导凋亡的发生来抑制肿瘤细胞的生长^[10-15]。我们的研究结果表明, 尼美舒利可以通过抑制COX-2和Bcl-2的表达, 抑制胃黏膜上皮细胞增殖; 诱导其凋亡, 从而抑制ENNG所诱导的大鼠胃黏膜癌前病变的发展。尼美舒利干预组的COX-2和Bcl-2蛋白的表达率分别为17.6%和35.3%, 明显低于非用药组的60%和84%($P < 0.05$)。干预组的PI值为18.9 ± 4.57, 显著低于非用药组的49.43 ± 7.92($P < 0.05$)。COX-2蛋白的表达与PI正相关($r = 0.786$, $P = 0.0001$), Bcl-2蛋白的表达和PI正相关($r = 0.899$,

$P = 0.0001$); 即COX-2和Bcl-2蛋白高表达时PI值高, COX-2和Bcl-2蛋白低表达时PI值低; 尼美舒利通过抑制COX-2和Bcl-2蛋白的表达来抑制大鼠病变胃黏膜细胞的增殖。尼美舒利干预组的AI值为13.6 ± 1.82显著高于非用药组的2.12 ± 0.53($P < 0.05$); COX-2蛋白的表达和AI负相关($r = -0.824$, $P = 0.0001$), Bcl-2蛋白的表达和PI负相关($r = -0.892$, $P = 0.0001$); 即COX-2和Bcl-2蛋白低表达时AI值高, 尼美舒利可以通过抑制COX-2和Bcl-2蛋白的表达来诱导大鼠病变胃黏膜细胞的凋亡。

总之, 选择性COX-2抑制剂尼美舒利可以通过抑制COX-2和Bcl-2的表达, 抑制胃黏膜上皮细胞增殖; 诱导其凋亡, 从而有效抑制ENNG所诱导的大鼠胃黏膜癌前病变的发展, 降低其癌前病变的发生率。虽然这仅是动物模型的研究, 但这为选择性COX-2抑制剂应用于胃癌癌前病变的预防和治疗提供了有力的依据; 并进一步证实了COX-2在肿瘤发生的早期具有重要的作用。

4 参考文献

- 1 Hu KQ. Rationale and feasibility of chemoprevention of hepatocellular carcinoma by cyclooxygenase-2 inhibitors. *J Lab Clin Med* 2002; 139: 234-243
- 2 Yamazaki R, Kusunoki N, Matsuzaki T, Hashimoto S, Kawai S. Selective cyclooxygenase-2 inhibitors show a differential ability to inhibit proliferation and induce apoptosis of colon adenocarcinoma cells. *FEBS Lett* 2002; 531: 278-284
- 3 Sugiura T, Saikawa Y, Kubota T, Suganuma K, Otani Y, Watanabe M, Kumai K, Kitajima M. Combination chemotherapy with JTE-522, a novel selective cyclooxygenase-2 inhibitor, and cisplatin against gastric cancer cell lines *in vitro* and *in vivo*. *In Vivo* 2003; 17: 229-233
- 4 Sitarz R, Leguit RJ, de Leng WW, Morsink FH, Polkowski WP, Maciejewski R, Offerhaus GJ, Milne AN. Cyclooxygenase-2 mediated regulation of

- E-cadherin occurs in conventional but not early-onset gastric cancer cell lines. *Cell Oncol* 2009; 31: 475-485
- 5 Fife RS, Stott B, Carr RE. Effects of a selective cyclooxygenase-2 inhibitor on cancer cells *in vitro*. *Cancer Biol Ther* 2004; 3: 228-232
- 6 Kim S, Baron JA, Mott LA, Burke CA, Church TR, McKeown-Eyssen GE, Cole BF, Haile RW, Sandler RS. Aspirin may be more effective in preventing colorectal adenomas in patients with higher BMI (United States). *Cancer Causes Control* 2006; 17: 1299-1304
- 7 Iwama T. NSAIDs and colorectal cancer prevention. *J Gastroenterol* 2009; 44 Suppl 19: 72-76
- 8 Watson AJ. An overview of apoptosis and the prevention of colorectal cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2006; 57: 107-121
- 9 唐保东, 曾志荣, 胡品津. 选择性COX-2抑制剂塞来昔布预防胃癌前病变发生及其机制的研究. *癌症* 2006; 25: 1205-1209
- 10 Ushio A, Takikawa Y, Lin SD, Miyamoto Y, Suzuki K. Induction of Bcl-xL is a possible mechanism of anti-apoptotic effect by prostaglandin E2 EP4-receptor agonist in human hepatocellular carcinoma HepG2 cells. *Hepatol Res* 2004; 29: 173-179
- 11 Konturek PC, Brzozowski T, Duda A, Kwiecien S, Löber S, Dembinski A, Hahn EG, Konturek SJ. Epidermal growth factor and prostaglandin E(2) accelerate mucosal recovery from stress-induced gastric lesions via inhibition of apoptosis. *J Physiol Paris* 2001; 95: 361-367
- 12 Fosslien E. Review: molecular pathology of cyclooxygenase-2 in cancer-induced angiogenesis. *Ann Clin Lab Sci* 2001; 31: 325-348
- 13 Toller IM, Hitzler I, Sayi A, Mueller A. Prostaglandin E2 prevents Helicobacter-induced gastric preneoplasia and facilitates persistent infection in a mouse model. *Gastroenterology* 2010; 138: 1455-1467, 1467. e1-e4
- 14 Xu JD, Cao XX, Long ZW, Liu XP, Furuya T, Xu JW, Liu XL, De Xu Z, Sasaki K, Li QQ. BCL2L10 protein regulates apoptosis/proliferation through differential pathways in gastric cancer cells. *J Pathol* 2011; 223: 400-409
- 15 Park JS, Park JH, Lee S, Joo YE, Jung YD. Small interfering RNA targeting of Recepteur d'Origine Nantais induces apoptosis via modulation of nuclear factor-kappaB and Bcl-2 family in gastric cancer cells. *Oncol Rep* 2010; 24: 709-714

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

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

参苓白术散对脾虚湿困型溃疡性结肠炎大鼠血清EGF、SOD、MDA的影响

李姿慧, 王 键, 王又闻, 蔡荣林, 孙 娟, 叶铭钢

■背景资料

溃疡性结肠炎是一种原因不明的慢性肠道炎症性疾病, 一般病程较长, 病情复杂, 迁延难愈。现代医学对本病多采用氨基水杨酸制剂结合皮质激素等进行治疗, 但疗效并不理想。中医药对防治本病积累了丰富的经验, 特别是采用健脾化湿法代表方剂参苓白术散治疗脾虚湿困型UC取得了较好的疗效。

李姿慧, 北京中医药大学基础医学院 北京市 100029
王 键, 孙娟, 叶铭钢, 安徽中医学院中医临床学院 安徽省合肥市 230038
王又闻, 上海中医药大学药学院 上海市 201043
蔡荣林, 安徽中医学院针灸经络研究所 安徽省合肥市 230038
李姿慧, 在读博士, 主要从事中医治则治法的理论与实验研究。
国家自然科学基金资助项目, No. 81173172
安徽省高等学校自然科学基金资助项目, No. KJ2011A184
作者贡献分布: 李姿慧与王键对此文所作贡献均等; 此课题由王键、李姿慧、孙娟及叶铭钢设计; 研究过程由李姿慧、王又闻、蔡荣林、孙娟及叶铭钢操作完成; 研究所用试剂及分析工具由王键与李姿慧提供; 数据分析由李姿慧、王键及蔡荣林完成; 本论文写作由李姿慧与王键完成。
通讯作者: 王键, 教授, 博士生导师, 230038, 安徽省合肥市梅山路103号, 安徽中医学院. wangjian6301@163.com
收稿日期: 2011-10-19 修回日期: 2011-12-05
接受日期: 2012-02-17 在线出版日期: 2012-02-18

Effect of Shenlingbaizhu powder on serum levels of EGF, SOD and MDA in ulcerative colitis rats with syndrome of dampness stagnancy due to spleen deficiency

Zi-Hui Li, Jian Wang, You-Wen Wang, Rong-Lin Cai, Juan Sun, Ming-Gang Ye

Zi-Hui Li, School of Preclinical Medicine, Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100029, China
Jian Wang, Juan Sun, Ming-Gang Ye, School of Traditional Chinese Medicine, Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230038, Anhui Province, China
You-Wen Wang, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China
Rong-Lin Cai, Research Institute of Acupuncture and Moxibustion, Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230038, Anhui Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81173172; and the National Basic Research Program of China University Science Research Project of Anhui Province, No. KJ2011A184
Correspondence to: Jian Wang, Professor, School of Traditional Chinese Medicine, Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230038, Anhui Province, China. wangjian6301@163.com
Received: 2011-10-19 Revised: 2011-12-05
Accepted: 2012-02-17 Published online: 2012-02-18

Abstract

Aim: To investigate the effect of Shenlingbaizhu powder on serum contents of epidermal growth factor (EGF), superoxide dismutase (SOD) and

malondialdehyde (MDA) in ulcerative colitis (UC) rats with syndrome of dampness stagnancy due to spleen deficiency.

METHODS: UC was induced in rats with combined trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) and ethanol. Rats were randomly divided into three groups: normal control group, model control group and Shenlingbaizhu powder group. After treatment of rats with Shenlingbaizhu powder, the general conditions of animals and pathological changes in the colon were observed and evaluated. Serum contents of EGF were measured by ELISA, and serum levels of SOD and MDA were measured by chemical colorimetry.

RESULTS: The symptoms and pathological changes in the colon were obviously improved in the Shenlingbaizhu powder group compared to the model control group. Serum content of EGF was significantly decreased (1.67 ± 0.17 vs 1.92 ± 0.23 , $P < 0.05$) in the model control group compared to the normal control group. Serum levels of SOD and MDA also differed significantly between the model control group and normal control group (1.11 ± 0.13 vs 1.40 ± 0.14 , 16.42 ± 1.77 vs 13.26 ± 0.99 , both $P < 0.01$). Serum content of EGF in the Shenlingbaizhu powder group was significantly increased (1.89 ± 0.19 vs 1.67 ± 0.17 , $P < 0.05$). Serum levels of SOD and MDA in the Shenlingbaizhu powder group were significantly improved (1.38 ± 0.15 vs 1.11 ± 0.13 , 13.40 ± 1.25 vs 16.42 ± 1.77 , both $P < 0.01$) in comparison with those in the model group.

CONCLUSION: Shenlingbaizhu powder exerts therapeutic effects against syndrome of dampness stagnancy due to spleen deficiency in UC rats possibly via mechanisms associated with the regulation of serum levels of EGF, SOD and MDA.

Key Words: Shenlingbaizhu powder; Syndrome of dampness stagnancy due to spleen deficiency; Epidermal growth factor; Superoxide dismutase; Malondialdehyde

Li ZH, Wang J, Wang YW, Cai RL, Sun J, Ye MG. Effect

■同行评议者

唐文富, 副教授, 四川大学华西医院中西医结合科

of Shenlingbaizhu powder on serum levels of EGF, SOD and MDA in ulcerative colitis rats with syndrome of dampness stagnancy due to spleen deficiency. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2012; 20(5): 410-413

摘要

目的: 观察参苓白术散对脾虚湿困型溃疡性结肠炎(UC)大鼠表皮生长因子(EGF)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)的影响, 以期探究其治疗脾虚湿困型UC大鼠的部分作用机制。

方法: 参照文献复制脾虚湿困型UC模型, 将大鼠随机分为正常对照组、模型对照组、参苓白术散组, 每组10只, 观察大鼠一般情况、结肠病理改变, 检测各组大鼠血清EGF、SOD、MDA含量。

结果: 参苓白术散组大鼠症状、体征及结肠黏膜病理变化较模型对照组明显改善。模型对照组大鼠EGF含量与正常对照组比较, 差异有统计学意义(1.67 ± 0.17 vs 1.92 ± 0.23 , $P < 0.05$), SOD、MDA含量与正常对照组比较的差异有非常显著性(1.11 ± 0.13 vs 1.40 ± 0.14 , 16.42 ± 1.77 vs 13.26 ± 0.99 , $P < 0.01$); 参苓白术散组大鼠EGF含量与模型对照组比较, 差异有统计学意义(1.89 ± 0.19 vs 1.67 ± 0.17 , $P < 0.05$), SOD、MDA水平的差异有非常显著性(1.38 ± 0.15 vs 1.11 ± 0.13 , 13.40 ± 1.25 vs 16.42 ± 1.77 , $P < 0.01$)。

结论: 参苓白术散能显著改善脾虚湿困型UC大鼠血清EGF、SOD、MDA的水平, 可能是其发挥临床疗效的重要作用机制之一。

关键词: 参苓白术散; 脾虚湿困; 表皮生长因子; 超氧化物歧化酶; 丙二醛

李姿慧, 王键, 王又闻, 蔡荣林, 孙娟, 叶铭钢. 参苓白术散对脾虚湿困型溃疡性结肠炎大鼠血清EGF、SOD、MDA的影响. 世界华人消化杂志 2012; 20(5): 410-413
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/410.asp>

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种原因不明的以大肠黏膜及黏膜下层炎性反应为特点的病变, 属于祖国医学“肠癖”、“疾痢”、“便血”等范畴, 中医学认为其病机的根本是脾虚湿困^[1]。临床上主要表现为腹痛、腹泻、黏液脓血便, 患者病情轻重程度不等, 多为慢性反复发作。参苓白术散出自《古今医鉴》, 是治疗脾虚湿盛证的常用方剂。临床应用参苓白术

散加减治疗溃疡性结肠炎已有较多报道, 并取得了较好的临床疗效^[2-4]。但是对其治疗脾虚湿困型溃疡性结肠炎的作用机制研究少见相关报道。有研究发现, 表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)在肠道黏膜损伤和修复中发挥着重要作用^[5]; UC的发生、发展与氧自由基诱发的脂质过氧化作用亦有密切相关性^[6], 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)是这个过程中重要的过氧化物分解酶, 丙二醛(malondialdehyde, MDA)为其终末产物。因此, EGF、SOD、MDA水平可能是参苓白术散治疗溃疡性结肠炎的重要作用机制之一, 对此目前尚未见报道。鉴于此, 本研究采用多因素造模构建脾虚湿困型溃疡性结肠炎大鼠模型, 观察参苓白术散对脾虚湿困型UC大鼠EGF、SOD、MDA水平的影响, 以期探究其治疗脾虚湿困型UC大鼠的部分作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料 健康Wistar大鼠40只, 雌雄各半, 体重180-220 g, 由南京医科大学实验动物中心提供, 合格证号: SCXK(苏)20080004; 三硝基苯磺酸(TNBS), 由Sigma公司生产; 参苓白术散购自安徽中医学院门诊部, 方剂组成: 莲子肉9 g, 薏苡仁9 g, 缩砂仁6 g, 桔梗6 g, 白扁豆(姜汁浸, 去皮)12 g, 茯苓15 g, 人参15 g, 甘草(炒)9 g, 白术15 g, 山药15 g, 陈皮9 g; 精炼纯猪油(4℃保存); 0.9%生理盐水。

1.2 方法

1.2.1 造模: 参照相关文献进行动物模型复制^[7,8]。动物房温度保持18℃-25℃。将40只大鼠适应性喂养3 d, 随机抽取10只为正常对照组, 给予常温正常喂养, 每日给予生理盐水2 mL灌胃1次; 其余30只大鼠单日禁食, 并给予4℃冰水(2 mL/只)灌胃1次, 双日供应充足饲料并予以猪油(4 mL/只)灌胃1次, 每日08:00-16:00令大鼠站在2 cm深的水中, 控制睡眠时间8 h, 连续造模20 d。第21天开始禁食不禁水24 h, 用10%水合氯醛(3 mL/kg)麻醉, 用聚丙烯管插入大鼠肛门上段8 cm, 对照组以0.8 mL生理盐水灌肠, 其余大鼠注入5%的TNBS与50%乙醇12:5比例混合的复合物(其中TNBS 120 mg/kg)0.8 mL, 然后提起大鼠尾部, 持续倒置1 min, 使造模剂充分渗入大鼠肠腔内, 然后使大鼠头部倾斜向下躺至自然清醒, 自由饮食。2-3 d出现黏液脓血便, 说明模型复制成功。

1.2.2 分组与给药: 从模型复制成功的大鼠中随

■ 研发前沿

溃疡性结肠炎的病因和发病机制尚未明确。中医药治疗溃疡性结肠炎具有独特的优势, 采用中药复方治疗溃疡性结肠炎的作用机制研究还有待于进一步深入研究。

■ 相关报道

临床应用参苓白术散加减治疗慢性溃疡性结肠炎取得了较好的疗效, 亦有研究报道参苓白术散具有明显改善胃肠动力、修复胃肠黏膜屏障的作用, 同时相关研究发现EGF、SOD及MDA在溃疡性结肠炎发病及治疗过程中具有重要的作用。

■创新亮点

本研究采用多因素造模构建脾虚湿困型溃疡性结肠炎大鼠模型,观察参苓白术散对脾虚湿困型UC大鼠EGF、SOD及MDA水平的影响,以期探明其治疗脾虚湿困型UC大鼠的部分作用机制。

■应用要点

本研究发现参苓白术散能显著改善脾虚湿困型UC大鼠血清EGF、SOD及MDA的水平,具有调节EGF和抗自由基的作用,从而促进肠黏膜修复,可能是其发挥临床疗效的重要作用机制之一。

表 1 各组大鼠血清EGF、SOD及MDA水平比较 ($n=10$, mean \pm SD)

分组	EGF(μ g/L)	SOD(U/mL)	MDA(μ mol/L)
正常对照组	1.92 \pm 0.23 ^c	1.40 \pm 0.14 ^d	13.26 \pm 0.99 ^d
模型对照组	1.67 \pm 0.17 ^a	1.11 \pm 0.13 ^b	16.42 \pm 1.77 ^b
参苓白术散组	1.89 \pm 0.19 ^c	1.38 \pm 0.15 ^d	13.40 \pm 1.25 ^d

^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ vs 正常对照组; ^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$ vs 模型对照组。

机抽取20只,分为模型对照组、参苓白术散组,每组10只。根据《药理实验方法学》“不同动物等效剂量折算系数表”折算出参苓白术散煎剂给大鼠用量为1.2 g/(100 g·d),正常对照组和模型对照组用0.9%生理盐水1 mL/(100 g·d)灌胃,连续14 d。

1.2.3 记录大鼠一般情况:每天记录各组大鼠饮水量、进食量,观察大鼠一般情况和粪便质地等。

1.2.4 病理检查:实验结束后,大鼠用10%水合氯醛(3 mL/kg)麻醉,各组大鼠取距肛门约8 cm的结肠,10%甲醛固定、石蜡包埋、切片、苏木精-伊红染色,观察结肠病理改变。

1.2.5 血清EGF、SOD及MDA含量测定:腹主动脉取血后,不抗凝离心取血清备测。ELISA法检测大鼠血清EGF水平;用化学比色法测定SOD活性和MDA水平,严格按试剂盒说明书操作。

统计学处理 采用SPSS13.0软件进行处理,实验数据以mean \pm SD表示,均数间两两比较采用 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠一般状况变化 正常对照组大鼠毛色顺滑,有光泽,反应灵活,大便呈小球状;造模大鼠最初1-2 d神态萎靡,水中站立结束后毛长时间不能干燥,2-3 d后状态略有好转,第5天开始出现嗜卧懒动、大便变软,10 d左右出现饮食减少、竖毛、易脱毛,雄鼠阴囊下垂,15 d后有行走歪斜、肛周污秽、眯眼、神态极度萎靡等症状。模型对照组动物经肛门灌入三硝基苯磺酸出现黏液脓血便,大鼠精神萎靡、消瘦、饮食减少,体征改善不明显;参苓白术散组大鼠经灌胃治疗后症状基本好转。

2.2 各组结肠黏膜病理变化 肉眼观:正常对照组大鼠结肠皱襞纹理清晰,未见溃疡;模型组大鼠结肠黏膜充血、水肿,可见溃疡形成;参苓白术散组大鼠结肠黏膜充血、水肿明显减轻,溃疡缩小甚至愈合。光镜下:正常对照组大鼠结肠各层结构清晰,肠腺规则,极向明显,间质未见

充血水肿;模型组黏膜呈灶状缺失,水肿、充血、大量炎细胞浸润,伴有溃疡灶形成;参苓白术散组大鼠黏膜基本恢复正常,仍有少量炎性细胞浸润。

2.3 各组大鼠血清EGF、SOD、MDA水平 模型对照组大鼠EGF、SOD含量明显下降,MDA含量显著升高,与正常对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。参苓白术散组大鼠EGF含量与模型对照组比较,差异有统计学意义($P<0.05$),SOD、MDA水平的差异亦非常显著($P<0.01$)。提示参苓白术散能改善脾虚湿困型UC大鼠的EGF、SOD、MDA水平(表1)。

3 讨论

UC一般病程较长,早期症状不典型容易被忽视,脾虚日久生“湿”、“热”、“瘀”、“毒”等邪,壅塞大肠,终致肠中脂膜腐败溃烂,化为脓血,相杂而下发为泻痢。《景岳全书·泄泻》云:“饮食不节,起居不时,以致脾胃受伤,则水反为湿,谷反为滞,精华之气不能输化,乃致合污下降而泻痢矣”,说明脾虚湿困是溃疡性结肠炎的重要病机。脾虚失运,土不制水而生湿,湿性黏滞,阻遏气机,湿性下趋,注于肠道则大便反快。如尤在泾《金匱要略心典》曰:“中湿者,亦必先有内湿而后感外湿,故其人平日土德不及而湿动于中……为小便不利,大便反快”。参苓白术散是健脾化湿法的代表方剂,临床应用参苓白术散加减治疗慢性溃疡结肠炎取得了较好的疗效,亦有研究报道参苓白术散具有明显改善胃肠动力、修复胃肠黏膜屏障的作用^[9-11]。但是,目前对于参苓白术散治疗溃疡性结肠炎的作用机制尚缺乏深入的研究。

本研究采用TNBS诱导法、疲劳、控制饮食、潮湿环境的多因素“病证结合”造模法构建脾虚湿困型UC大鼠模型。模型对照组大鼠模型复制后相继出现脓血便、肛周污秽、消瘦、竖毛、懒动及炎症反应,皆符合UC的表现。模型对照组大鼠血清中EGF含量明显低于正常对照

组, 参苓白术散组EGF含量明显高于模型组, 说明参苓白术散能增高UC大鼠血清中EGF含量, 进而促进肠黏膜损伤修复; 模型对照组SOD活性显著低于正常对照组, 与相关文献报道一致^[12], 参苓白术散组SOD活性显著高于模型组, 模型对照组MDA含量高于正常对照组, 参苓白术散组血清中MDA含量明显低于模型对照组, 提示参苓白术散可能通过提高SOD活性而清除过量的氧自由基, 降低MDA的水平, 减少脂质过氧化作用, 阻止细胞内酶的失活及蛋白变性而减少细胞损伤, 保护结肠组织。

已有研究表明, 溃疡性结肠炎患者血清MDA含量明显升高, SOD水平显著下降^[13], 李燕舞等^[14]在观察EGF在溃疡性结肠炎大鼠模型中的动态变化及药物对其影响的实验中, 发现EGF在UC发展过程中先降低后增高, 认为可能与机体本身修复机制启动有关; 溃结灵可以增加EGF表达, 可能是其发挥促黏膜修复的机制之一。周凡等^[15]发现脾胃湿热型UC大鼠与正常组相比, 血清中SOD活性下降, MDA水平升高, 认为氧自由基可能参与了脾胃湿热型UC的发病过程。这些研究与本文研究结果相类似, 进一步证实EGF、SOD、MDA在溃疡性结肠炎发病及治疗过程中的重要作用。

总之, 参苓白术散能显著改善脾虚湿困型UC大鼠血清EGF、SOD、MDA的水平, 具有调节EGF和抗自由基的作用, 从而促进肠黏膜修复, 可能是其发挥临床疗效的重要作用机制之一, 具有重要的临床指导价值。

4 参考文献

- 1 关晓辉. 中医药综合治疗溃疡性结肠炎效果分析. 中国医药导报 2010; 7: 97-98
- 2 雒福东, 孔鹏飞, 唐学贵. 参苓白术散桃花汤合保留灌肠治疗溃疡性结肠炎疗效观察. 实用中医内科杂志 2011; 25: 54-55
- 3 李惠霞. 参苓白术散加减配合中药灌肠治疗脾虚湿困型溃疡性结肠炎47例. 辽宁中医杂志 2008; 35: 886
- 4 李楠. 参苓白术散合中药灌肠治疗溃疡性结肠炎62例. 中医研究 2011; 24: 46-47
- 5 Oikonomou KA, Kapsoritakis AN, Kapsoritaki AI, Manolakis AC, Tsiopoulos FD, Germentis AE, Potamianos SP. Downregulation of serum epidermal growth factor in patients with inflammatory bowel disease. Is there a link with mucosal damage? *Growth Factors* 2010; 28: 461-466
- 6 Kosaka T, Yoshino J, Inui K, Wakabayashi T, Kobayashi T, Watanabe S, Hayashi S, Hirokawa Y, Shiraishi T, Yamamoto T, Tsuji M, Katoh T, Watanabe M. Involvement of NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 and superoxide dismutase polymorphisms in ulcerative colitis. *DNA Cell Biol* 2009; 28: 625-631
- 7 黄秀深, 沈涛, 刘伟, 罗玉熙, 吴施国, 徐薇, 侯建业, 苏先华, 张萍. 平胃散对湿困脾胃证模型大鼠部分免疫功能的影响. 中医杂志 2007; 48: 730-732
- 8 王雪茜, 王新月. 溃结饮2种给药途径对大鼠溃疡性结肠炎血清IFN- γ 和IL-4的影响. 北京中医药大学学报 2010; 33: 468-471
- 9 林琼, 陈朝元. 参苓白术散对功能性不良患者血MTL及VIP的影响. 内蒙古中医药 2010; 29: 9-11
- 10 杨旭东, 张杰, 王巍. 参苓白术散对脾虚小鼠肠保护作用及其机制的研究. 牡丹江医学院学报 2009; 30: 9-11
- 11 张仲林, 钟玲, 臧志和, 辛志伟. 参苓白术散对动物胃肠动力影响的实验研究. 时珍国医国药 2009; 20: 3151-3152
- 12 杨天, 邹开芳. 重组肠三叶因子对实验性结肠炎大鼠NO表达、MDA和SOD活性的影响. 世界华人消化杂志 2005; 13: 403-405
- 13 郝志明, 茆新明, 王利公. 溃疡性结肠炎患者血清MDA及SOD的变化. 胃肠病学和肝病杂志 2000; 9: 124-125
- 14 李燕舞, 黄秋凌, 王汝俊. 溃疡性结肠炎大鼠结肠黏膜表皮生长因子表达的动态变化及溃结灵对其的影响. 时珍国医国药 2011; 22: 269-270
- 15 周凡, 李生强, 柯晓, 谢冰颖, 王若愚, 黄玉梅, 武一曼. 脾胃湿热型溃疡性结肠炎模型大鼠超氧化物歧化酶活性和丙二醛水平的实验研究. 中国中西医结合消化杂志 2010; 18: 177-179

■同行评价

本文选题较新颖, 设计合理, 结构紧凑, 分析合理, 条理分明, 通过观察参苓白术散对溃疡性结肠炎大鼠血清相关因子的影响, 探讨中药复方的治疗学机理, 具有一定的意义, 为进一步开展参苓白术散治疗溃疡性结肠炎作用机制的深入研究及其临床应用提供了实验依据。

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

● 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。(编辑部主任: 李军亮 2012-01-01)

5-氟尿嘧啶/纳米蒙脱土缓释药物的制备及性能

田智慧, 路新卫, 朱全红, 朱志博, 韦莉萍, 丁婷, 周春琼

■背景资料

MMT在临床上广泛用来治疗胃肠道方面的疾病,因其无不良反应、不被吸收入血、具有表面积巨大、连续覆盖性的特点,是一种良好的消化系统黏膜保护剂,能显著提高消化系黏液的质和量,加强黏膜屏障的作用,帮助消化系上皮细胞的恢复与再生。

田智慧, 南方医科大学南方医院 广东省广州市 510515
路新卫, 朱志博, 周春琼, 南方医科大学药学院 广东省广州市 510515
路新卫, 朱全红, 韦莉萍, 丁婷, 南方医科大学中医药学院 广东省广州市 510515
田智慧, 主治医师, 主要从事牙周病的病因与临床治疗的研究。
广东省自然科学基金资助项目, No. 7300452
作者贡献分布: 韦莉萍为此课题主要设计者; 田智慧、路新卫及韦莉萍对此文所作贡献均等; 此课题由韦莉萍、路新卫设计; 研究过程由路新卫、丁婷操作完成, 朱志博, 周春琼参与; 论文写作由韦莉萍、田智慧与路新卫完成。
通讯作者: 韦莉萍, 副教授, 510515, 广东省广州市, 南方医科大学中医药学院. caoweiy@yaho.com.cn
电话: 020-62789464
收稿日期: 2011-11-12 修回日期: 2011-11-27
接受日期: 2012-02-17 在线出版日期: 2012-02-18

Sustained-release 5-fluorouracil/nano montmorillonite: preparation and property evaluation

Zhi-Hui Tian, Xin-Wei Lu, Quan-Hong Zhu, Zhi-Bo Zhu,
Li-Ping Wei, Ting Ding, Chun-Qiong Zhou

Zhi-Hui Tian, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China
Xin-Wei Lu, Zhi-Bo Zhu, Chun-Qiong Zhou, School of Pharmaceutical Sciences, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China
Xin-Wei Lu, Quan-Hong Zhu, Li-Ping Wei, Ting Ding, Department of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China
Supported by: the Natural Science Foundation of Guangdong Province, No. 7300452
Correspondence to: Li-Ping Wei, Associate Professor, Department of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China. caoweiy@yaho.com.cn
Received: 2011-11-12 Revised: 2011-11-27
Accepted: 2012-02-17 Published online: 2012-02-18

Abstract

AIM: To prepare sustained-release 5-fluorouracil/nano montmorillonite and to evaluate its in vitro release characteristics.

METHODS: 5-fluorouracil was intercalated into the interlayer of montmorillonite by ion-exchange. The in vitro release characteristics of 5-fluorouracil/nano montmorillonite were analyzed by XRD and FTIR.

RESULTS: The spacing of 5-fluorouracil/nano

montmorillonite increased from 1.492 nm to 1.736 nm, showing that 5-Fu had been intercalated into the interlayer of Ca-MMT. Sustained release of 5-fluorouracil in vitro exceeded 6 h, proving that the composite has a good slow-release property.

CONCLUSION: 5-fluorouracil/nano montmorillonite possesses a wonderful sustained-release property.

Key Words: 5-fluorouracil; Nano montmorillonite; Sustained-release

Tian ZH, Lu XW, Zhu QH, Zhu ZB, Wei LP, Ding T, Zhou CQ. Sustained-release 5-fluorouracil/nano montmorillonite: preparation and property evaluation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(5): 414-417

摘要

目的: 制备5-氟尿嘧啶/纳米蒙脱土缓释系统, 并对其进行体外释药研究。

方法: 采用离子交换法将5-氟尿嘧啶插层到蒙脱土片层间, 通过X射线衍射(X ray diffraction, XRD)和FTIR对5-氟尿嘧啶/纳米蒙脱土缓释系统的性能进行表征, 紫外分光光度计定量分析药物的体外累积释药量。

结果: 插层后的蒙脱土层间距由1.492 nm增大到1.736 nm, 说明5-氟尿嘧啶已经成功插入蒙脱土片层间; 药物体外持续释放时间超过6 h, 证实制备的复合药物具有良好的缓释效果。

结论: 5-氟尿嘧啶/纳米蒙脱土缓释系统具有良好的缓释效果。

关键词: 5-氟尿嘧啶; 纳米蒙脱土; 缓释

田智慧, 路新卫, 朱全红, 朱志博, 韦莉萍, 丁婷, 周春琼. 5-氟尿嘧啶/纳米蒙脱土缓释药物的制备及性能. *世界华人消化杂志* 2012; 20(5): 414-417
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/414.asp>

0 引言

蒙脱土(montmorillonite, MMT)又称蒙脱石, 是

■同行评议者

田晓峰, 教授, 大连医科大学附属第二医院

一种含水的2:1型层状硅酸盐矿物, 具有颗粒细小、表面积巨大、不均匀带电等结构特点, 由于特殊的结构使其具有乳化、增稠、助悬、吸附等的性能^[1-3], 是理想的医用材料^[4-9]. MMT在临床上广泛用来治疗胃肠道方面的疾病, 因为其无不良反应、不被吸收入血、具有表面积巨大、连续覆盖性的特点, 是一种良好的消化系统黏膜保护剂, 能显著提高消化系黏液的质和量, 加强黏膜屏障的作用, 帮助消化系上皮细胞的恢复与再生. 另外, 因其具有吸附各种病毒、病菌及其毒素的性能, 约6 h后连同所固定的物质排出体外^[10], 因此, MMT作为治疗用药及药物载体在美国药典、英国药典及欧洲药典等药典中均有收载. 5-氟尿嘧啶(5-Fluorouracil, 5-Fu)是用于治疗各种消化系统肿瘤的首选药物, 但该药对正常细胞的毒性大, 不良反应多, 常见的有骨髓抑制、胃肠道反应、白细胞及血小板减少等^[11]. 此外, 5-Fu排泄过快, $t_{1/2}$ 只有5-10 min, 生物利用度低. 临床上为了达到有效的体内血药浓度, 往往采用大剂量、持续给药或反复多次给药等途径, 这大大增加了5-Fu的不良反应^[12,13]. 为减轻不良反应, 提高疗效, 目前的研究主要是通过合成新剂型来改变生物利用率^[14,15]. 但由于有机载体本身的缺陷, 临床应用都有各自不同的缺点. 本文选用纳米MMT作为载体, 以离子交换的方式制得了具有较好缓释效果的新型缓释药物系统. 为进一步开发新的缓释药物提供理论依据.

1 材料和方法

1.1 材料 5-Fu广州捷倍斯生物科技有限公司 CAS NO: [51 21-8]; 钙基纳米MMT(浙江三鼎科技有限公司, 阳离子交换容量99.6 mmol/100 g); HCl溶液(pH = 1.5); 磷酸盐缓冲液(pH = 7.2, 按药典中人工胃液和肠液配制方法配制). TSHZ-台式恒温水浴振荡器(上海跃进医疗器械厂); BioMate5型紫外分光光度计(Thermo公司).

1.2 方法

1.2.1 5-Fu/MMT的合成: 取2 g 5-Fu溶于100 mL稀盐酸溶液(pH = 4)中, 加入到10 g钙基MMT溶液中, 超声波振荡40 min后, 在90 °C油浴下高速搅拌4 h, 静置, 过滤, 洗涤, 真空干燥, 研磨并过200目筛, 即得缓释药物.

1.2.2 5-Fu/MMT结构与成分分析: (1)红外光谱(FTIR)测试: 采用美国Perkin-Elmer1730型傅立叶变换红外光谱仪进行测试, 扫描范围400-4 000 cm^{-1} , KBr压片; (2)X射线(XRD)测试:

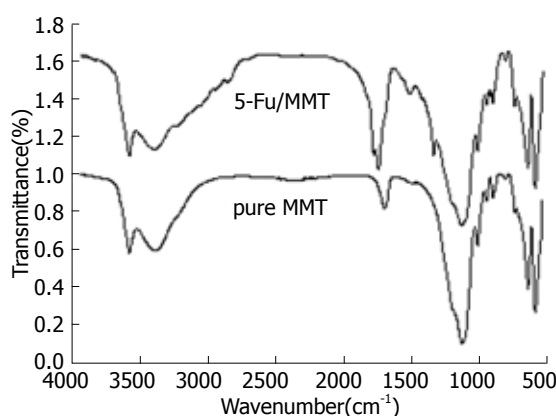


图1 MMT和5-Fu/MMT的红外光谱图.

■ 研发前沿

5-Fu/蒙脱土缓释体系在动物体内的释放及降低毒不良反应的机制研究是该领域重点研究的内容, 但缓释药物中能达到治疗作用的药物的剂量还有待进一步研究.

采用日本理学D/maxIII X射线仪测定样品的XRD谱, 测试条件为CuK α 辐射线, 电压40 kV, 扫描速度为每分3度, 步长为0.02度, 测试范围2-10度.

1.2.3 5-Fu/MMT的体外缓释实验方法: 准确称取50 mg 5-Fu/MMT, 置于250 mL锥形瓶中, 然后加入200 mL人工胃液(人工肠液)释放, 将锥形瓶放置于恒温水浴振荡器中, 转速100 r/min, 温度37 °C \pm 0.5 °C, 进行体外释放实验. 每隔一定时间取样, 每次取样5 mL, 同时补充已预热的5 mL释放介质, 经0.45 μm 微孔过滤膜过滤、稀释, 用紫外分光光度计于265 nm波长处测其吸光度, 计算其累积释药量.

2 结果

2.1 FTIR分析 5-Fu/MMT红外波谱图特征频率与MMT相类似, 在3 623 cm^{-1} 为Al-OH伸缩振动, 3 425 cm^{-1} 处有H₂O的伸缩振动峰, 1 040 cm^{-1} 附近的单峰为Ca-MMT的Si-O-Si键的伸缩振动特征峰, 914 cm^{-1} 为Al-OH的弯曲振动峰, 只是向低波数位移, 并且强度有所降低. 此外, 845 cm^{-1} 、798 cm^{-1} 、696 cm^{-1} 等都是MMT的主要吸收谱峰. 在5-Fu/MMT的红外光谱图中, 除了MMT的特征谱峰外, 还出现了5-Fu的特征吸收峰. 1 722 cm^{-1} 为环酰亚胺酮式结构特征峰, 1 685 cm^{-1} 是烯醇式结构特征吸收, 说明5-Fu已经有效的和MMT结合在一起(图1).

2.2 XRD分析 MMT层间距是研究纳米复合药物插层效果的重要参数. 根据X射线衍射谱图中(001)面衍射峰出现的位置, 即2 θ 角度数可计算出MMT层间距离. Ca-MMT与5-Fu/MMT的XRD图谱如图2所示. 对于原钙基蒙脱土测得其2 θ 角为5.761度, 根据Bragg方程 $2d\sin\theta = \lambda$, 求出其层间距为1.492 nm. 插层之后的5-Fu/MMT的衍射

■应用要点

5-Fu/MMT复合药物系统可以缓慢释放出药物延长作用时间, 解决5-Fu半衰期短、生物利用度低, 需要长时间输液泵连续给药的弊端, 从而减少药物的不良反应, 有效提高患者的依从性。

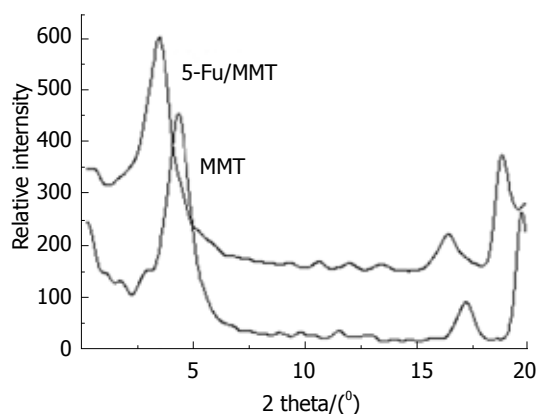


图2 MMT与5-Fu/MMT的XRD对比图。

峰与Ca-MMT相比发生明显位移, 向小角度偏移, 2θ角变为4.952度, 层间距由1.492 nm增大到1.736 nm。这说明5-Fu已插层到MMT片层结构中(图2)。

2.3 体外缓释实验 由释放曲线可知, 在人工胃液和肠液中5-Fu/MMT复合药物都可以快速地释放出所负载的5-Fu, 并随着释放时间的延长, 其累积释放量逐渐增加且累及释放率比较高(图3)。

3 讨论

5-Fu/MMT的红外光谱图中, 3 400 cm^{-1} 左右水分子伸缩振动有所减弱, 16 400 cm^{-1} 左右水分子弯曲振动消失, 说明层间吸附水大幅减少, 5-Fu交换吸附进入蒙脱土层间, 5-Fu特征峰值的出现也说明了这点。有机插层剂插入MMT层间, 会使 d_{001} 面衍射角向小角度偏移, 层间距加大^[16], 5-Fu/MMT层间距由1.492 nm增大到1.736 nm。结合红外和X衍射结果可以知道, 合成了稳定的插层型5-Fu/MMT缓释药物。5-Fu有6种可能的互变异构体。在水溶液中主要以双酮式结构I存在, 单烯醇式异构体II也是一种相对稳定的结构^[14], 烯醇式异构体II中5号位N原子具有一定的碱性, 在酸性溶液中能与 H^+ 结合生成带正电荷的阳离子III。与蒙脱土插层复合时, 部分5-Fu被MMT的表面吸附, 一部分交换MMT层间的吸附水形成有机溶剂化膜状态, 这种交换吸附不改变MMT的阳离子交换性^[15], 阳离子结构III交换MMT片层间的 Ca^{2+} , 形成插层复合物, 从而改变MMT的微相结构, MMT由亲水性变为亲油性, 有助于药物的继续交换吸附。

在人工胃液酸性环境中, 前2 h是一个快速释放阶段, 分析认为, 主要是由于5-Fu/MMT缓释体系与释放介质之间存在较大的浓度梯度以及表面的吸附力较弱所致, 这部分可能是吸附

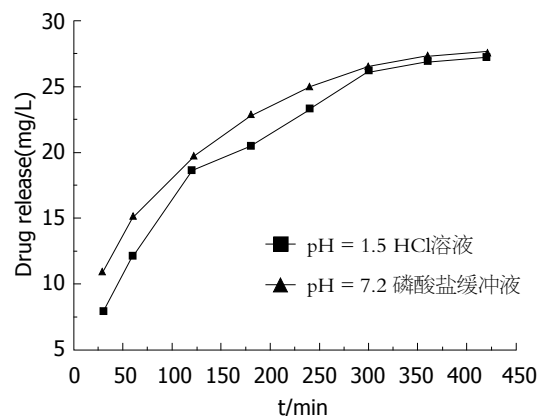


图3 5-Fu/MMT复合药物的缓释曲线。

在蒙脱土表面的5-Fu的释放; 2-5 h 5-Fu的释放速率有所减慢, 这一阶段可能是以分子形式交换蒙脱土层间自由水的5-Fu的释放过程, MMT片层的阻隔作用是导致释放速率放缓的主要原因; 5 h以后是一个慢速释放阶段, 这个阶段应该是存在于MMT层间的5-Fu阳离子的释放, 由于药物阳离子与MMT层间负电荷的离子键作用, 使得药物的释放速率较慢, 复合药物最后经历一个缓慢释放过程。在弱碱性人工肠液中, 由于磷酸盐溶液中的金属阳离子与5-Fu产生竞争吸附, 争夺MMT表面的吸附位, 因此释放速率比人工胃液中相对较快达到脱附平衡。2种释放介质中持续释放时间都可以达到6 h以上。在2种不同介质中的释放结果说明, 5-Fu/MMT缓释药物的体外释放是吸附过程的逆向解吸过程, 是扩散和离子交换2种形式同时存在的释放行为。

据我国唐代医学名著《本草拾遗》记载^[17], MMT属矿物中药。现代研究^[18]认为MMT对胃肠道有多种作用。口服后覆盖消化系表面, 可以吸附粘蛋白, 有加强、修复和保护消化系黏膜屏障的功能, 并能固定和清除多种病原体 and 毒素, 防止各种炎症因子对胃黏膜的侵害, 平衡正常胃肠道菌群的微生态, 促进消化系局部免疫作用, 还有局部止血作用。因此, 可以利用MMT的保护作用降低5-Fu对消化系黏膜的刺激, 减轻不良反应。另一方面合成的5-Fu/MMT复合药物系统可以缓慢释放出药物延长作用时间, 解决5-Fu半衰期短、生物利用度低, 需要长时间输液泵连续给药的弊端。从而减少药物的不良反应, 有效提高患者的依从性。

4 参考文献

- 1 翟永功, 次向明, 邹星, 郭丽丽. 药用蒙脱石粘土的矿物组成与化学成分分析. 中草药 2002; 33: 291-293

- 2 朱建喜, 何宏平, 郭九皋, 杨丹. 有机柱撑粘土(蒙脱石)的研究进展. 矿物岩石地球化学通报 2002; 21: 234-237
- 3 何宏平. 粘土矿物与金属离子作用研究. 第1版. 北京: 石油工业出版社, 2001: 2-9
- 4 Hu CH, Xu ZR, Xia MS. Antibacterial effect of Cu²⁺-exchanged montmorillonite on *Aeromonas hydrophila* and discussion on its mechanism. *Vet Microbiol* 2005; 109: 83-88
- 5 路新卫, 韦莉萍, 朱全红, 杨建华. 抗菌硅橡胶导尿管材料的合成及其性能. 中国组织工程研究与临床康复 2008; 12: 8091-8094
- 6 韩成林. 双黄连粉针剂联合蒙脱石散剂治疗小儿轮状病毒肠炎的疗效观察. 中草药 2007; 5: 745-746
- 7 李桂江, 周仕学, 吕英海, 甄晓峰. 蒙脱石/谷蛋白缓释体系的初步研究. 应用化工 2011; 40: 1045-1047
- 8 韩秀山, 许家亮, 王曦, 马文杰, 湛刚, 韩萍. 蒙脱石的药用机理及毒性试验. 牧草与饲料 2011; 5: 51-53
- 9 杨建华, 路新卫, 韦莉萍, 丁婷. 甲硝唑/蒙脱土抗菌复合物的制备及体外缓释特征. 世界华人消化杂志 2009; 17: 714-717
- 10 白慧东, 徐建国, 尚靖, 蒋玉凤. 膨润土的药用状况. 新疆中医药 2006; 24: 75-78
- 11 李苏, 姜文奇, 王安训, 管忠震, 潘仕荣. 5-Fu核-壳型共聚物纳米胶束的制备及其体内释药的研究. 癌症 2004; 23: 381-385
- 12 Efficacy of intravenous continuous infusion of fluorouracil compared with bolus administration in advanced colorectal cancer. Meta-analysis Group In Cancer. *J Clin Oncol* 1998; 16: 301-308
- 13 陈国广, 周本谦, 李学明, 韦萍. 5-氟尿嘧啶PLGA纳米粒的制备及其体内外释药研究. 中国药科大学学报 2006; 37: 423-427
- 14 Pohlen U, Reszka R, Schneider P, Buhr HJ, Berger G. Stealth liposomal 5-fluorouracil with or without degradable starch microspheres for hepatic arterial infusion in the treatment of liver metastases. An animal study in VX-2 liver tumor-bearing rabbits. *Anticancer Res* 2004; 24: 1699-1704
- 15 漆宗能, 尚文字. 聚合物/层状硅酸盐纳米复合材料理论与实践. 第1版. 北京: 化学工业出版社, 2002: 8
- 16 李宝宗. 5-氟尿嘧啶与5-氯尿嘧啶及其互变异构体的理论计算研究. 化学学报 2005; 16: 1495-1499
- 17 姜桂兰, 张培萍. 膨润土加工与应用. 第1版. 北京: 化学工业出版社, 2005: 20-21
- 18 王永华, 杨博. 浅谈纳米材料的抗菌实验方法. 材料开发与应用 2001; 16: 30-32

■同行评价

文章题目准确反映了研究工作的科学问题和特定内容, 简明而有特色. 实验设计科学合理, 采用的方法先进可靠. 研究结果对临床及其药物的深入研究有一定的指导意义.

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

本刊讯 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang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.

中国藏族PSCA基因rs2294008多态性与胃癌遗传易感性的关系

赵久达, 耿排力, 赵君慧, 王丽娟, 姬发祥, 李进章, 曹成珠, 贺菊香

■背景资料

中国为胃癌高发区, 而青海省男、女胃癌死亡率分别为52.6及27.8(每10万人口标化死亡率), 在全国最高, 其中藏族胃癌发病率较汉族等其他民族高。单核苷酸多态性(SNP)因具有基因组中的高密度和高保守性, 目前已经成为第3代遗传标记。

赵久达, 赵君慧, 王丽娟, 姬发祥, 李进章, 青海大学附属医院肿瘤内科 青海省西宁市 810000

耿排力, 曹成珠, 贺菊香, 青海大学医学院免疫教研室 青海省西宁市 810000

赵久达, 副教授, 副主任医师, 主要从事胃癌遗传学研究。

青海大学附属医院中青年科研基金资助项目, No. ASRF-2009-09
作者贡献分布: 此课题由赵久达设计; 研究过程由赵久达、王丽娟、姬发祥、李进章、曹成珠及贺菊香完成; 研究所用试剂由耿排力提供, 由赵君慧提供材料支持; 论文数据分析由耿排力与赵君慧完成; 论文写作由赵久达完成。

通讯作者: 赵久达, 副教授, 副主任医师, 810000, 青海省西宁市, 青海大学附属医院肿瘤内科, jiudazhao@126.com

收稿日期: 2011-10-17 修回日期: 2011-12-19

接受日期: 2012-02-17 在线出版日期: 2012-02-18

Relationship between the rs2294008 polymorphism of the PSCA gene and susceptibility to gastric cancer in Tibetans

Jiu-Da Zhao, Pai-Li Geng, Jun-Hui Zhao, Li-Juan Wang, Fa-Xiang Ji, Jin-Zhang Li, Cheng-Zhu Cao, Ju-Xiang He

Jiu-Da Zhao, Jun-Hui Zhao, Li-Juan Wang, Fa-Xiang Ji, Jin-Zhang Li, Qinghai University Hospital, Xining 810000, Qinghai Province, China

Pai-Li Geng, Cheng-Zhu Cao, Ju-Xiang He, Qinghai University Medical College, Xining 810000, Qinghai Province, China

Supported by: the Young Scientific Research Fund of Affiliated Hospital of Qinghai University, No. ASRF-2009-09

Correspondence to: Jiu-Da Zhao, Associate Professor, Qinghai University Hospital, Xining 810000, Qinghai Province, China. jiudazhao@126.com

Received: 2011-10-17 Revised: 2011-12-19

Accepted: 2012-02-17 Published online: 2012-02-18

Abstract

AIM: To investigate the relationship between the rs2294008 polymorphism of the PSCA gene and susceptibility to gastric cancer in Tibetans.

METHODS: The rs2294008 genotypes were determined by PCR-based denaturing high-performance liquid chromatography and direct DNA sequencing in 185 sporadic cases of gastric cancer and 200 controls recruited in Tibet.

RESULTS: The frequency of CC genotype was 40.00% in gastric cancer patients and 54.00% in

normal controls, and the corresponding percentages for CT and TT genotypes were 48.65% and 39.50%, and 11.35% and 6.50%, respectively. Compared to CC genotype, CT and TT genotypes were associated with an increased risk of gastric cancer ($OR = 1.66$, 95%CI 1.09-2.54; $OR = 2.36$, 95%CI 1.11-5.00).

CONCLUSION: The rs2294008 polymorphism of the PSCA gene is associated with increased susceptibility to gastric cancer in Tibetans.

Key Words: Prostate stem cell antigen gene; Gene polymorphism; Gastric cancer

Zhao JD, Geng PL, Zhao JH, Wang LJ, Ji FX, Li JZ, Cao CZ, He JX. Relationship between the rs2294008 polymorphism of the PSCA gene and susceptibility to gastric cancer in Tibetans. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(5): 418-421

摘要

目的: 研究前列腺干细胞抗原基因(prostate stem cell antigen gene, PSCA)rs2294008位点多态性与中国藏族胃癌患者遗传易感性的关系。

方法: 收集185例藏族胃癌患者与200例健康人群的外周血样本, 提取基因组DNA, 采用dHPLC方法进行PSCA基因rs2294008位点分型。

结果: PSCA基因rs2294008位点3种基因型CC、CT、TT在胃癌病例组中频率分别为: 40.00%、48.65%和11.35%, 而在对照组中分别为54.00%、39.50%和6.50%。与CC型比较, 携带CT、TT型基因型者胃癌发生的危险性增加, OR 值分别为1.66(95%CI 1.09-2.54)和2.36(95%CI 1.11-5.00)。

结论: PSCA基因rs2294008位点CT、TT基因型增加中国藏族人群的胃癌易感性。

关键词: 前列腺干细胞抗原基因; 基因多态性; 胃癌

赵久达, 耿排力, 赵君慧, 王丽娟, 姬发祥, 李进章, 曹成珠, 贺菊香。中国藏族PSCA基因rs2294008多态性与胃癌遗传易感性的

■同行评议者

张凤春, 教授, 上海交通大学医学院附属仁济医院

关系. 世界华人消化杂志 2012; 20(5): 418-421
http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/418.asp

0 引言

中国为胃癌高发区^[1,2], 而青海省男、女胃癌死亡率分别为52.6及27.8(每10万人口标化死亡率), 在全国最高, 其中藏族胃癌发病率较汉族等其他民族高^[3]. 单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)因具有基因组中的高密度和高保守性, 目前已经成为第3代遗传标记. 近年来有关胃癌相关易感基因SNP的研究取得了许多进展. 2008年千年基因组计划癌症研究组报告PSCA的基因多态性与日本弥漫型胃癌易感性相关^[4]. 目前尚未见前列腺干细胞抗原基因(prostate stem cell antigen gene, PSCA)基因rs2294008位点基因多态性与中国藏族胃癌相关性的报道, 因此我们研究了在藏族人群中PSCA基因rs2294008位点基因多态性与胃癌易感性的关系, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 从2008-03/2011-06青海大学附属医院住院的胃癌患者中选择无血缘关系的藏族患者185例, 抽取外周血. 胃癌患者全部以胃镜或手术后病理组织学证实, 且未经放化疗, 其中中低分化腺癌143例、高-中分化腺癌42例, 男138例, 女47例; 平均年龄50.3岁±8.3岁. 另从青海省海南藏族自治州收集正常藏族个体200人外周血作为对照组, 所有对照组人员均为健康人群, 并排除胃部疾病及家族中有肿瘤病史者, 其中男146例, 女53例平均年龄50.8岁±7.8岁. 标本采集获得研究对象的知情同意, 研究方案经青海大学医学伦理委员会批准.

1.2 方法

1.2.1 基因组DNA提取: 取EDTA-K2抗凝静脉血5 mL用全血基因组DNA提取试剂盒提取基因组DNA, 紫外分光光度计(A_{260}/A_{280} 值为1.6-1.8)测定DNA浓度. 提取DNA置-20℃冰箱保存.

1.2.2 PCR反应: 以PSCA基因组序列为依据, 设计PSCA基因rs2294008位点PCR引物. 序列为: F: 5'-AAGTCACCTGAGGCCCTCTC-3', R: 5'-CAAGCCTGCCATCAACAG-3', 产物长度90 bp. PCR反应体系及扩增条件: PCR反应总体积为25 μ L, 含100 μ g/L DNA模板2 μ L, 10 \times 缓冲液215 μ L, 25 mmol/L $MgCl_2$ 2 μ L, 2.5 mmol/L dNTP 2 μ L, 10 μ mol/L引物上反向各1 μ L, 5 U/ μ L Taq DNA聚合酶0.25 μ L. 反应在温度梯度PCR仪(美

国Biometra公司)中进行, 条件为: 94℃预变性3 min, 95℃变性30 s, 72℃延伸45 s, 进行35个循环, 72℃后延伸10 min. PCR产物2 μ L行2%琼脂糖凝胶电泳鉴定扩增产物.

1.2.3 DHPLC分析基因型: 5 μ L PCR产物在PCR仪内95℃变性3 min, 缓慢退火至45℃, 以形成异源和同源双链DNA分子混合物. 样品入进样室. 洗脱液按线性递增方式以0.9 mL/min的流速洗脱, 260 nm波长处读取吸光度(A)值, 形成峰型. PSCA基因rs2294008位点基因型均为CC、CT、TT 3种类型, 可采用部分变性法, 先将纯合型CC、TT与杂合型CT鉴别. 双峰即为CT杂合基因型, 送测序证实, 单峰即可能为CC、TT 2种基因型, 纯合子分型时在2个位点相应的样品上各任选一个测序, 确定基因型后再将其与其余样品混合, 再如前述方法行DHPLC. 若仍为单峰, 说明未知样本基因型与测序样品相同; 若为双峰即为不同.

统计学处理

统计分析使用SPSS (Version13.0) 软件. 人群资料先进行Hardy-Weinberg遗传平衡检验, 以 χ^2 检验确定胃癌组与对照组之间3个位点基因型频数分布的差异. 以OR及其95%CI表示相对危险度. 以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义.

2 结果

2.1 藏族胃癌病例组与对照组之间基本特征比较 胃癌组与对照组间年龄与性别均衡可比, 吸烟在两组间分布差异无统计学意义, 而Hp感染率两组间分布差异有统计学意义(表1). 对照组PSCA rs2294008基因型分布符合Hardy-Weinberg平衡($P=0.78$), 表明样本具有群体代表性.

2.2 PSCA基因rs2294008位点与藏族胃癌风险性的关系 PSCA基因rs2294008位点DHPLC色谱图见图1, CC为单峰, CT为双峰. PSCA基因rs2294008位点CT基因型者患胃癌的危险性增加约1.66倍(95%CI, 1.09-2.54), TT基因型者患胃癌的危险性增加约2.36倍(95%CI, 1.11-5.00), 胃癌组T等位基因频率高于对照组, 患胃癌的危险性增加约1.56倍(95%CI, 1.15-2.12). PSCA基因rs2294008位点CT, TT基因型可能是中国藏族胃癌的遗传易感基因(表2).

3 讨论

PSCA为一种细胞表面抗原, 与标记早期造血干细胞的细胞表面蛋白相似. PSCA基因位于染色体8q 24.2, PSCA参与各种细胞功能, 如信号传导、细胞与细胞间黏附等^[5]. PSCA cDNA由660 bp组

■研究前沿

目前国内虽已开展汉族PSCA基因多态性与胃癌易感性相关性的研究, 但藏族PSCA基因多态性与胃癌易感性相关研究的资料尚未见报道.

■同行评价

本文具有一定的科学性,对临床医生有一定参考价值.

表 1 胃癌组与对照组基本特征比较 $n(\%)$

基本特征	胃癌($n = 185$)	对照组($n = 200$)	χ^2 值	P 值
年龄				
<35岁	3(1.62)	5(2.50)	0.364	0.55
35-60岁	98(52.97)	105(52.50)	0.009	0.94
≥ 60 岁	84(44.41)	90(45.00)	0.006	0.94
性别				
男	137(74.05)	148(74.00)	0.000	0.99
女	48(25.96)	52(26.00)		
吸烟史				
无	67(36.22)	71(35.50)	0.021	0.88
有	118(63.78)	129(64.50)		
幽门螺杆菌感染				
无	66(35.68)	94(47.00)	5.074	0.02
有	119(64.32)	106(53.00)		

表 2 PSCA rs2294008基因型与胃癌风险性的关系 $n(\%)$

分组	胃癌组($n = 185$)	对照组($n = 200$)	OR值	95%CI
CC	74(40.00)	108(54.00)	1	
CT	90(48.65)	79(39.05)	1.66	1.09-2.54
TT	21(11.35)	13(6.50)	2.36	1.11-5.00
C	238(64.32)	295(73.75)	1	
T	132(35.68)	105(26.25)	1.56	1.15-2.12

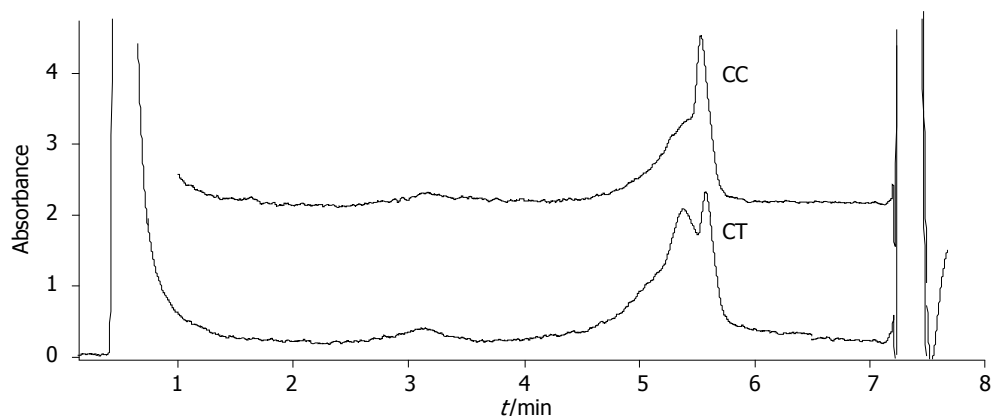


图 1 PSCA基因rs2294008位点DHPLC色谱图.

成, 编码含123个氨基酸的蛋白, 与干细胞抗原-2(SCA-2)有30%的同源性. 从其严格表达于基底细胞及与SCA-2同源来看, PSCA在诸如干细胞、祖细胞自我更新(抗凋亡)或增殖等功能方面起重要作用. 研究证实, 多数人类前列腺癌过度表达PSCA, 他是鉴别前列腺切除标本中正常组织与前列腺癌组织重要的标志物^[6]. 2008年5月千年基因组计划癌症研究组学者、日本东京国立癌症研究中心Yoshida等^[4,7]指出PSCA基因多态性与弥漫型胃癌易感性相关. 研究者首先

在日本开展全基因组相关性研究(genome-wide association study), 第一阶段在188例弥漫型胃癌患者和752名对照者中检测了85 576种单核苷酸多态性(SNP). 第二阶段在749例患者和750名对照者中检测了2 753种SNP. 通过二轮筛选后, 研究者将范围缩窄至10种SNP, 位于第8号染色体的PSCA基因在其中脱颖而出. PSCA内含子区的一个SNP(rs2976392)与弥漫型胃癌显著相关, 等位基因特异性比值比(OR)为1.62($P = 1.11 \times 10^{-9}$). 另外, PSCA基因第1外显子区一个SNP(rs2294008)

的C等位基因若被高危的T等位基因取代, 会降低其上游基因片段的转录活性($r^2 = 0.995$)。此后, 研究者在韩国对上述结果进行了验证, 研究对象为457例弥漫型胃癌患者、418例场型胃癌患者和390名对照者。结果显示, 上述2种SNP与弥漫型胃癌显著相关, 与肠型胃癌相关性较弱, rs2294008 T等位基因OR为1.90($P = 8.01 \times 10^{-8}$)。

我国藏族胃癌高发, 除了与藏族饮食以肉食为主缺乏维生素, 幽门螺杆菌感染和青海地理位置火山岩地带等因素有关外, 遗传因素也可能起着重要作用^[3]。目前国内虽已开展汉族PSCA基因多态性与胃癌易感性相关性的研究, 但藏族PSCA基因多态性与胃癌易感性相关研究的资料尚未见报道。我们本次的初步研究表明, 藏族人群胃癌与PSCA基因rs2294008位点基因多态性呈相关性, PSCA基因rs2294008位点CT, TT基因型者患胃癌的危险性增加, 与Wu等^[8]对中国汉族人群的研究一致, 而与日本Saeki等的研究结果不完全一致, 可能与日本人群中PSCA rs2294008 T等位基因频率较高(61.7%), T等位基因为主要等位基因, 而中国藏族人群中T等位基因频率(26.25%)较低, 为次要等位基因有关。再次提示提示不同种族的遗传背景差异甚大, 在进行基因多态性与胃癌的遗传易感性研究时, 应充分考虑不同种族、民族或人群的差异。

PSCA基因影响胃癌的发病可能与其参与调节胃上皮细胞增殖有关。体外研究发现稳定转染PSCA cDNA的胃癌细胞株HSC57的菌落形成明显少于不表达PSCA的细胞株, 正常胃黏膜中PSCA mRNA呈高表达, 其表达主要位于胃腺体峡部, 而胃癌组织中则检测不到PSCA mRNA表达^[9,10]。提示PSCA可能具有抑制胃癌细胞增殖的作用, PSCA rs2294008 T等位基因可能通过下调PSCA表达, 降低其对胃上皮细胞增殖的抑制作用, 从而增加胃癌的发病风险。

今后, 关于PSCA基因与胃癌遗传易感性的关系研究需要进一步扩大其他人群研究及其具体致病机制研究。

4 参考文献

- 1 Wong BC, Lam SK, Wong WM, Chen JS, Zheng TT, Feng RE, Lai KC, Hu WH, Yuen ST, Leung SY, Fong DY, Ho J, Ching CK, Chen JS. Helicobacter pylori eradication to prevent gastric cancer in a high-risk region of China: a randomized controlled trial. *JAMA* 2004; 291: 187-194
- 2 孙秀娣, 牧人, 周有尚, 戴旭东, 张思维, 皇甫小梅, 孙杰, 李连弟, 鲁凤珠, 乔友林. 中国胃癌死亡率20年变化情况分析及其发展趋势预测. *中华肿瘤杂志* 2004; 26: 4-9
- 3 赵久达, 沈国双, 曹成珠, 贺菊香, 马新福, 王丽娟, 姬发祥, 李进章, 耿排力. 青海地区藏、回及汉族胃癌发病特征分析. *中华内科杂志* 2009; 48: 955-956
- 4 Sakamoto H, Yoshimura K, Saeki N, Katai H, Shimoda T, Matsuno Y, Saito D, Sugimura H, Tanioka F, Kato S, Matsukura N, Matsuda N, Nakamura T, Hyodo I, Nishina T, Yasui W, Hirose H, Hayashi M, Toshiro E, Ohnami S, Sekine A, Sato Y, Totsuka H, Ando M, Takemura R, Takahashi Y, Ohdaira M, Aoki K, Honmyo I, Chiku S, Aoyagi K, Sasaki H, Ohnami S, Yanagihara K, Yoon KA, Kook MC, Lee YS, Park SR, Kim CG, Choi IJ, Yoshida T, Nakamura Y, Hirohashi S. Genetic variation in PSCA is associated with susceptibility to diffuse-type gastric cancer. *Nat Genet* 2008; 40: 730-740
- 5 Mazzucchelli R, Barbisan F, Santinelli A, Lopez-Beltran A, Cheng L, Scarpelli M, Montironi R. Immunohistochemical expression of prostate stem cell antigen in cystoprostatectomies with incidental prostate cancer. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2009; 22: 755-762
- 6 Elsamman E, Fukumori T, Kasai T, Nakatsuji H, Nishitani MA, Toida K, Ali N, Kanayama HO. Prostate stem cell antigen predicts tumour recurrence in superficial transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *BJU Int* 2006; 97: 1202-1207
- 7 Saeki N, Sakamoto H, Yoshida T. [Genome-wide association study of gastric cancer and GeMDBG database]. *Nihon Rinsho* 2009; 67: 1227-1232
- 8 Wu C, Wang G, Yang M, Huang L, Yu D, Tan W, Lin D. Two genetic variants in prostate stem cell antigen and gastric cancer susceptibility in a Chinese population. *Mol Carcinog* 2009; 48: 1131-1138
- 9 Lochhead P, Frank B, Hold GL, Rabkin CS, Ng MT, Vaughan TL, Risch HA, Gammon MD, Lissowska J, Weck MN, Raum E, Müller H, Illig T, Klopp N, Dawson A, McColl KE, Brenner H, Chow WH, El-Omar EM. Genetic variation in the prostate stem cell antigen gene and upper gastrointestinal cancer in white individuals. *Gastroenterology* 2011; 140: 435-441
- 10 Ou J, Li K, Ren H, Bai H, Zeng D, Zhang C. Association and haplotype analysis of prostate stem cell antigen with gastric cancer in Tibetans. *DNA Cell Biol* 2010; 29: 319-323

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

食管隆起病灶EMR术后创面出血内镜治疗33例

龚勇, 全巧云, 朱宗耀

■背景资料

创面出血是食管隆起病灶内镜下黏膜切除术常见并发症之一, 病情凶险, 探讨EMR术后创面出血内镜下不同止血方法有重要的临床意义。

龚勇, 全巧云, 朱宗耀, 三峡大学第一临床医学院 宜昌市中心人民医院消化内科 湖北省宜昌市 443003

龚勇, 主治医师, 主要从事胆胰疾病的研究。

作者贡献分布: 本文由龚勇负责收集病例、图片、查文献及撰写论文; 全巧云与朱宗耀负责修改论文。

通讯作者: 全巧云, 主任医师, 443003, 湖北省宜昌市夷陵大道183号, 三峡大学第一临床医学院, 湖北省宜昌市中心人民医院消化内科。tqyts@hotmail.com

电话: 0717-6486157

收稿日期: 2011-03-17 修回日期: 2011-06-03

接受日期: 2012-02-16 在线出版日期: 2012-02-18

Endoscopic treatment of wound bleeding after EMR for protuberant lesions of the esophagus: an analysis of 33 cases

Yong Gong, Qiao-Yun Tong, Zong-Yao Zhu

Yong Gong, Qiao-Yun Tong, Zong-Yao Zhu, the First College of Clinical Medical Sciences, China Three Gorges University; Department of Gastroenterology, Yichang Central People's Hospital, Yichang 443003, Hubei Province, China
Correspondence to: Qiao-Yun Tong, the First College of Clinical Medical Sciences, China Three Gorges University; Department of Gastroenterology, Yichang Central People's Hospital, 183 Yiling Avenue, Yichang 443003, Hubei Province, China. tqyts@hotmail.com

Received: 2011-03-17 Revised: 2011-06-03

Accepted: 2012-02-16 Published online: 2012-02-18

Abstract

AIM: To analyze the efficacy of different endoscopic treatments for wound bleeding after endoscopic mucosal resection (EMR) for protuberant lesions of the esophagus.

METHODS: Thirty-three patients with wound bleeding after EMR for protuberant lesions of the esophagus were included in the study. Of these patients, 8 were treated with endoscopic titanium clips, and 25 were treated by endoscopic drug spraying. Of patients who failed the first treatment, 7 were treated by endoscopic mucosal injection, and 8 by endoscopic thermal therapy. Three patients who still failed endoscopic mucosal injection and thermal therapy were further treated with endoscopic titanium clips. Wound healing was evaluated 6 weeks after endoscopic procedures.

■同行评议者

张军, 教授, 西安交通大学医学院第二附属医院消化内科

RESULTS: Hemostasis was initially achieved in 8 patients who were treated directly with titanium clips and in 10 patients who underwent endoscopic drug spraying. In patients who failed the first treatment, hemostasis was achieved in 6 patients by endoscopic mucosal injection and in 6 patients by thermal therapy. In the three patients who still failed endoscopic mucosal injection and thermal therapy, hemostasis was achieved in all cases after using titanium clips. Wound healing was achieved in all cases 6 weeks after endoscopic procedures.

CONCLUSION: Multiple endoscopic procedures can be used to effectively and safely manage wound bleeding after EMR for protuberant lesions of the esophagus.

Key Words: Protuberant lesions of the esophagus; Endoscopic mucosal resection; Wound bleeding; Endoscopic treatment

Gong Y, Tong QY, Zhu ZY. Endoscopic treatment of wound bleeding after EMR for protuberant lesions of the esophagus: an analysis of 33 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(5): 422-424

摘要

目的: 探讨食管隆起病灶内镜下黏膜切除术(EMR)术后创面出血内镜不同止血方法, 并分析疗效。

方法: 33例食管隆起病灶行EMR术合并创面出血, 其中直接使用金属钛夹止血8例, 余下25例首先采用内镜下喷洒药物止血, 成功10例, 继续出血的15例中7例采用黏膜注射止血, 8例采用内镜下热凝止血, 仍然有3例无效采用金属钛夹止血, 术后6 wk复查内镜, 观察创面愈合情况。

结果: 8例直接使用金属钛夹止血均成功, 25例采用喷洒药物止血成功10例; 15例止血无效, 对其中7例采用注射药物止血, 成功6例; 8例采用热凝止血成功6例, 剩余3例止血仍然无效加用钛夹止血均成功。术后6 wk内镜复查, 创面愈合良好。

结论:对于食管隆起病灶EMR术后创面出血,内镜止血方法多样,操作简单、安全、效果好,值得推广。

关键词:食管隆起病灶;内镜下黏膜切除术;创面出血;内镜治疗

龚勇, 全巧云, 朱宗耀. 食管隆起病灶EMR术后创面出血内镜治疗33例. 世界华人消化杂志 2012; 20(5): 422-424
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/422.asp>

0 引言

食管黏膜血管丰富,创面出血是食管隆起病灶内镜下黏膜切除术(endoscopic mucosal resection, EMR)常见并发症之一,病情凶险,不紧急处理常危及患者生命^[1,2]。湖北省宜昌市中心人民医院近5年来共行食管隆起病灶EMR术356例,其中并发创面出血33例,我们回顾分析内镜下止血方法,分析采用不同治疗方法的止血效果,以期对临床治疗提供一些经验。

1 材料和方法

1.1 材料 患者33例,其中男46例,女40例,年龄13-78岁。均为2006-01/2010-12到湖北省宜昌市中心人民医院行电子胃镜检查示食管隆起灶,进一步行EUS检查显示为起源于黏膜层的低回声病灶,病灶直径为6.2-16.5 mm,平均直径9.3 mm。

1.2 方法 共33例食管隆起病灶行EMR术合并创面出血,对其中8例创面直径<0.5 cm伴血管喷血,我们直接采用金属钛夹止血。在助手的配合下,在推送器上安装钛夹,经活检孔道将推送器送至内镜前端,伸出钛夹并稍用力使钛夹钳叉张开,调整角度使钳叉与出血部位相垂直,对准出血灶按压钳叉后立即收紧,再加压使钛夹与推送器分离,先夹活动出血点,依病灶大小及长度可再用同样的方法使用1至数个钛夹不等;对25例创面直径>0.5 cm患者先给予8%去甲肾上腺素冰盐水喷洒创面,观察数分钟,其中10例出血停止,15例止血无效,其中7例采用病灶周围分点注射1:10 000肾上腺素盐水溶液,后成功止血6例;8例采用热凝止血成功6例,仍然有3例继续出血,再次用同样的方法加用钛夹缝合创面,出血停止。术后6 wk内镜复查,观察创面愈合情况。

2 结果

EMR术后有8例创面直径<0.5 cm,直接使用金属钛夹夹闭血管及创面,均止血成功,余下25例

创面直径<0.5 cm,首先采用8%去甲肾上腺素冰盐水喷洒创面,止血成功10例;15例药物喷洒创面止血无效,对其中7例采用病灶周围分点注射1%肾上腺素液,成功止血6例;8例对出血灶采用高频电凝,成功止血6例,剩余3例继续出血,加用钛夹缝合创面,后获得成功。术后6周内镜复查,创面愈合良好。

3 讨论

EMR是目前针对食管黏膜隆起病变的一种安全有效的微创治疗方法,大量临床研究证实该方法对大多数病灶有完整切除的根治效果,已经广泛应用于临床^[3-7]。食管黏膜血管丰富,创面出血是EMR术常见并发症之一^[1,2],我们统计EMR术后并发创面出血率为9.3%,国内学者研究报道,EMR术创面出血并发症发生率为6.8%-12.9%^[8],其病情凶险,不紧急处理常危及患者生命。

近年来,国内已有学者探讨非静脉曲张性上消化系出血不同止血方法及临床意义^[9,10]。但对消化系EMR术后创面出血无深入研究,我们对本院近5年33例食管隆起病灶内镜下EMR术后创面出血内镜不同止血方法的患者临床资料进行回顾性分析。我们认为食管隆起病灶内镜下EMR术后创面出血行急诊内镜检查并进行内镜下止血是安全有效的措施。根据创面出血特点可选用局部喷洒、局部注射止血药物、热凝法以及机械压迫法等不同的方法止血。我们对其中8例创面直径<0.5 cm伴血管喷血直接采用金属钛夹止血,均成功止血,钛夹适用于血管性出血,尤其对小动脉出血优于其他的方法,可以起到立竿见影的止血效果,同时钛夹在预防及治疗穿孔等并发症等有非常大的优势,在国内内镜医生运用钛夹止血已经成功开展^[11,12]。对于未见明显血管喷血的创面渗血可直接对创面喷洒8%冰盐水去甲肾上腺素,可多次喷洒,让创面浸泡在液体中数分钟,我们对25例渗血创面采用此方法,止血成功15例,对渗血创面喷洒药物操作简单、方便、安全,止血效果好,国内学者张侠、李文燕等对此方法作了深入研究^[13,14]。对于血管损伤喷血但难以确定出血点,或者病灶部位特殊无法进行钛夹操作,局部喷洒止血效果不佳的情况下,可采用局部注射止血,多于病变基底部注射1:10 000肾上腺素,有高血压、冠心病等疾病的患者也可注射血凝酶等。本法可用于特殊部位钛夹难以操作的止血,缺点是对于较大动脉出血,效果不佳。热凝止血是利用

■创新盘点

根据创面不同特点的出血采用不同的内镜止血方法,并分析内镜下不同止血方法的优缺点。

■应用要点

内镜医生应根据创面出血特点,沉着冷静选择最适合的内镜止血方法,迅速、轻柔、准确操作做到即刻有效止血。

■同行评价

本文科学实用性较好,对临床具有较好的指导意义。

热传导和热辐射,将特制的热极探头接触创面血管,因温度迅速上升使血管受热凝固封闭达到止血的目的,对于点状出血或大面积出血均适用^[15-17]。热极止血成功的关键在于热极探头的位置,操作者要尽可能使探头与出血灶垂直接触并接触创面加用一定的压力,同时掌握好热凝温度及时间才能取得满意效果,一般热凝温度为150℃,持续3-5 s,中间停顿2 s,反复电热,直至出血停止。本组8例患者经内镜下热极治疗6例即时止血成功,无再发出血,止血效果显著,且无明显并发症。术后常规禁食留置胃管,间断抽吸以观察止血情况,并给予抑酸、止血及保护胃黏膜等对症治疗。6 wk后复查胃镜,30例创面愈合良好。6 wk愈合率达90.9%。

创面出血是食管隆起病灶内镜下EMR术后常见并十分凶险的并发症,消化内镜是其首选的诊治疗手段,内镜医生应根据创面出血特点,沉着冷静选择最适合的内镜止血方法,迅速、轻柔、准确操作做到即刻止血。总之,内镜止血方式多样、创伤小、安全可靠、效果确切,广大内镜医生要进一步学习并推广应用。

4 参考文献

- 1 王贵齐,魏文强,郝长青,张晓华,赖少清,余桂香,菊凤环,乔友林,董志伟,王国清.内镜下食管黏膜切除并发症的预防和治疗.中华消化内镜杂志 2003; 20: 107-109
- 2 Boustière C. [Complications of routine digestive endoscopy]. *Rev Prat* 2008; 58: 701-705
- 3 薄林会,刘文天,王邦茂,吕宗舜,杨玉龙.内镜黏膜切除术诊断及治疗应用.中国内镜杂志 2007; 13: 486-488
- 4 王东,李兆申.内镜黏膜切除术的临床应用进展.中华消化内镜杂志 2003; 20: 283-285
- 5 Tantau M, Mosteanu O, Pop T, Tantau A, Mester G. Endoscopic therapy of Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma. *J Gastrointest Liver Dis* 2010; 19: 213-217
- 6 Ciocirlan M, Lapalus MG, Hervieu V, Souquet JC, Napoléon B, Scoazec JY, Lefort C, Saurin JC, Ponchon T. Endoscopic mucosal resection for squamous premalignant and early malignant lesions of the esophagus. *Endoscopy* 2007; 39: 24-29
- 7 Tokar JL, Haluszka O, Weinberg DS. Endoscopic therapy of dysplasia and early-stage cancers of the esophagus. *Semin Radiat Oncol* 2007; 17: 10-21
- 8 杨建民.消化系肿瘤的内镜下粘膜切除术治疗.重庆医学 2003; 32: 1178-1180
- 9 吕农华,洪军波,汪安江.急性非静脉曲张性上消化系出血的诊治.中国实用内科杂志 2010; 30: 668-669
- 10 李宇,孙晓滨,史维,唐宇,奚卫东.急性非静脉曲张性上消化系出血内镜介入治疗临床疗效分析.吉林医学 2010; 31: 4646-4648
- 11 周华,周明东,朱宗耀.钛夹预防高频电凝切除胃肠道隆起性病变后出血72例分析.现代生物医学进展 2006; 6: 79-80
- 12 李访贤,范志宁,文卫,刘思德,彭栋柱,邱教.钛夹处理内镜下黏膜切除术后创面62例.中国微创外科杂志 2009; 9: 535-537
- 13 张侠,曲佑保,许和平,马金兰,张翠芹.内镜下立止血治疗上消化系出血36例.济宁医学院学报 2010; 33: 187, 195
- 14 李文燕,冀明,张澍田.血凝酶与肾上腺素在内镜下黏膜切除、息肉电切术中预防出血作用的随机对照研究.中国微创外科杂志 2009; 9: 965-967
- 15 王莉,黄留业,邢艳芳,孙传芬.内镜热极治疗胃肠道息肉的临床分析.中国内镜杂志 2005; 11: 882-883
- 16 吴承荣,黄留业,刘运祥.经内镜热极治疗上消化系出血疗效观察.中华消化内镜杂志 2005; 22: 18
- 17 文剑波,苏小青,王东,文平,龚敏.内镜下高频电与热电极联合治疗胃息肉的体会.中国内镜杂志 2002; 8: 108-109

编辑 李军亮 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

2011 年度《世界华人消化杂志》发文情况

本刊讯 2011-01-01/2011-12-31,《世界华人消化杂志》共收到稿件1576篇,退稿932篇,退稿率59.13%,发表文章644篇,所有文章均经过编委专家同行评议。其中,发表述评35篇(5.43%),基础研究135篇(20.96%),临床研究71篇(11.02%),焦点论坛17篇(2.64%),文献综述111篇(17.24%),研究快报58篇(9.01%),临床经验189篇(29.35%),病例报告24篇(3.73%);文章作者分布遍及全国各地,绝大多数来自高等院校及附属医院。在此,特别感谢为《世界华人消化杂志》进行同行评议的各位编委专家,你们的同行评价对文章发表质量做出了重要贡献;也希望各位编委踊跃为《世界华人消化杂志》继续撰写高质量的评论性文章,为科学知识的传播做出贡献!(编辑部主任:李军亮 2012-01-01)

超声内镜弹性成像在良恶性胰腺病变鉴别中的应用价值

徐凯, 徐萍, 任大宾, 李清华, 杨静, 于海滨

徐凯, 徐萍, 任大宾, 李清华, 杨静, 于海滨, 上海交通大学附属第一人民医院松江分院消化疾病临床诊治中心 上海市 201600

徐凯, 主治医师, 主要从事消化系统疾病、超声内镜、超声内镜弹性成像的研究。

上海市卫生局青年科研基金资助项目, No. 2009Y135

作者贡献分布: 徐凯与徐萍对此文所作贡献均等; 此课题由徐凯与徐萍设计; 研究过程由徐凯、徐萍、任大宾及李清华操作完成; 患者资料整理和统计由杨静与于海滨完成; 本论文写作由徐凯与徐萍完成。

通讯作者: 徐萍, 教授, 主任医师, 上海市松江区中山中路748号, 上海交通大学附属第一人民医院松江分院消化疾病临床诊治中心。 yfypx@yahoo.com.cn

电话: 021-67720800

收稿日期: 2011-09-19 修回日期: 2012-01-10

接受日期: 2012-02-16 在线出版日期: 2012-02-18

EUS elastography for the differential diagnosis of pancreatic masses

Kai Xu, Ping Xu, Da-Bin Ren, Qing-Hua Li, Jing Yang, Hai-Bin Yu

Kai Xu, Ping Xu, Da-Bin Ren, Qing-Hua Li, Jing Yang, Hai-Bin Yu, Department of Gastroenterology, Songjiang Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 201600, China

Supported by: the Youth Research Foundation of Shanghai Public Health Bureau, No. 2009Y135

Correspondence to: Ping Xu, Professor, Department of Gastroenterology, Songjiang Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 201600, China. yfypx@yahoo.com.cn

Received: 2011-09-19 Revised: 2012-01-10

Accepted: 2012-02-16 Published online: 2012-02-18

Abstract

AIM: To investigate the usefulness of endoscopic ultrasound (EUS) elastography for the differential diagnosis of malignant and benign pancreatic masses.

METHODS: Patients with pancreatic masses were enrolled in this study. All patients were examined by EUS and EUS elastography. Elastographic pattern was scored with whole numbers from 1 to 5 based on the color of elastographic images. Scores 1 and 2 were classified as benign and scores 3 to 5 as malignant.

RESULTS: Elastography was successfully performed in all patients and there were no proce-

dures-related complications. Nineteen patients were finally diagnosed with pancreatic carcinoma, 1 with malignant pancreatic neuroendocrine tumor, 1 with benign endocrine tumor and 6 with focal pancreatitis. According to our diagnostic criteria of elastography, the overall accuracy of EUS elastography for the differential diagnosis of focal pancreatic masses was 88.89% (24/27), with a sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of 100%, 57.14%, 86.96% and 100%, respectively.

CONCLUSION: EUS elastography has a relatively high accuracy for the differentiation of benign and malignant pancreatic lesions and may provide an alternative method when EUS-FNA reveals negative results or cannot be performed because of technical problems.

Key Words: Pancreas; Endoscopic ultrasound; Elastography; Diagnosis

Xu K, Xu P, Ren DB, Li QH, Yang J, Yu HB. EUS elastography for the differential diagnosis of pancreatic masses. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(5): 425-429

摘要

目的: 探讨超声内镜弹性成像(endoscopic ultrasound, EUS)在胰腺占位病变良恶性鉴别中的应用价值。

方法: 影像学结果并经超声内镜检查确定有胰腺占位性病变的患者入选, 对目标病变行超声内镜弹性成像检查, 按照弹性成像5分法对组织弹性成像进行评分, 将弹性成像评分为1, 2分归为良性, 3-5分归为恶性病变。

结果: 自2009-06/2011-06, 共27例符合标准的胰腺占位病变患者入选, 其中胰腺癌19例, 超声内镜弹性成像评分3分($n = 11$)、4分($n = 5$)、5分($n = 3$), 无功能性良性内分泌肿瘤(4分)及低度恶性神经内分泌肿瘤(5分)各1例, 炎性病变6例, 评分1分($n = 1$)、2分($n = 3$)、3分($n = 2$)。超声内镜弹性成像对27例胰腺占位病变良恶性鉴别中24例诊断准确, 诊断灵敏度100%, 特异度57.14%, 阳性预测值86.96%, 阴

■背景资料

近年来, 随着科技的发展, 将弹性成像技术整合于超声内镜系统内, 利用超声内镜对胰腺等诊断的优势, 使对上述脏器的超声弹性成像检查得以实现, 目前国内外已展开了超声内镜弹性成像临床应用的初步探索。

■同行评议者

孙明军, 教授, 中国医科大学附属第一医院内镜中心

■研发前沿

超声内镜弹性成像技术是超声内镜影像学检查新技术, 目前研究主要集中在对淋巴结、胰腺占位等的良恶性鉴别中的应用。

性预测值100%。

结论: 超声内镜弹性成像对胰腺良恶性病变的鉴别具有较高的准确性, 可望为疾病诊断提供新的影像学手段, 但其仍为一种影像学手段, 具有一定的局限性, 并不替代胰腺的细胞病理学检查。

关键词: 胰腺; 内窥镜超声检查; 弹性成像; 诊断

徐凯, 徐萍, 任大宾, 李清华, 杨静, 于海滨. 超声内镜弹性成像在良恶性胰腺病变鉴别中的应用价值. 世界华人消化杂志 2012; 20(5): 425-429

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/425.asp>

0 引言

超声弹性成像技术是超声影像诊断新技术, 通过对组织弹性系数的量化和可视化分析, 可对病变的良恶性做出鉴别, 目前已广泛应用于甲状腺、乳腺、肝脏等疾病的诊断. 近年来, 随着超声内镜技术的突飞猛进, 弹性成像技术也随之引入到超声内镜领域. 2006年, Giovannini等^[1]首次报道了超声内镜弹性成像(endoscopic ultrasound, EUS)在淋巴结及胰腺肿块诊断应用中的初步研究, 随后, 国内外相继有文献报道超声内镜弹性成像在淋巴结、胰腺占位等的良恶性鉴别中的应用价值. 我们的初步研究也显示正常胰腺组织、胰腺良恶性病变有着不同的弹性成像特征^[2]. 本研究旨在通过对不同胰腺病变超声内镜弹性成像特征的分析, 探讨其在良恶性鉴别中的应用价值。

1 材料和方法

1.1 材料 具有超声实时弹性成像功能的Hitachi EUB-8500型彩色多普勒超声诊断仪(日立公司); EG-3630 UR环扫型电子超声内镜(PEN-TAX公司, 最大末端直径12.1 mm, 工作长度1 250 mm; 扫描范围270°, 超声频率5-10 MHz可变); EG-3830 UT凸面线阵型电子超声内镜(最大末端直径12.8 mm, 工作长度1 250 mm; 扫描范围120°, 超声频率5-10 MHz可变); 超声内镜穿刺针选用日本OLYMPUS公司NA-200H-8022型22G超声内镜专用穿刺针。

1.2 方法

1.2.1 入选及剔除标准: 入选标准: (1)影像学发现并经超声内镜检查确定有胰腺占位性病变的患者; (2)18岁≤年龄≤80岁, 能够耐受超声内镜检查的患者; (3)签署知情同意书. 剔除标准: (1)因

肿瘤浸润等造成消化系管腔高度狭窄无法行超声内镜检查者; (2)一般状况极差, 无法耐受超声内镜检查者; (3)最终无法获得明确诊断的患者; (4)拒绝签署知情同意书的患者。

1.2.2 超声内镜弹性成像检查方法: 检查方法同常规超声内镜检查, 首先通过B模式灰阶成像进行常规检查, 了解病灶的部位、大小、形态及内部回声特征, 然后根据探查结果确定拟行超声弹性成像的目标区域. 将超声影像切换至实时弹性成像模式, 此时超声显示器同时同步显示超声弹性成像影像(左侧)和常规灰阶成像超声影像(右侧), 调整超声感兴趣区域(region of interest, ROI)至适当的大小, 包括目标区域及其周围适当大小的临近组织区域, 对组织的压迫借助呼吸运动、胸、腹腔大动脉搏动及探头的压迫产生加压作用, 从而获取目标部位的弹性成像图像. 因超声弹性成像常不稳定、且色彩多变, 为保证准确性, 只有弹性成像影像可稳定持续5 s者保存图像以供分析。

1.2.3 超声内镜弹性成像评分及诊断标准: 根据我们前期初步研究的结果并参考国内外文献报道^[1-3], 将超声内镜弹性成像影像分为: 目标组织与周围组织呈均匀的绿色为1分; 组织呈绿、黄、红互相混杂的马赛克状为2分; 蓝色与其他颜色相混杂呈蜂窝状结构为3分; 呈均匀蓝色为4分; 呈蓝色为主, 其间混有较大的红色或绿色区为5分. 将弹性成像评分为1, 2分的病变判断为良性病变, 3-5分为恶性病变。

1.2.4 诊断标准: (1)行外科手术治疗的患者以手术切除标本病理学诊断为诊断标准; (2)EUS-FNA细胞/病理学诊断为恶性的非手术治疗患者, 以穿刺细胞/病理学诊断为诊断标准; (3)EUS-FNA为阴性或未行EUS-FNA且未行手术治疗的, 依据临床症状、影像学(CT、MR、EUS等)特征、肿瘤标志物等做出临床诊断并随访至患者因胰腺癌死亡或至少1年的临床随访排除恶性病变作为诊断标准。

2 结果

2.1 患者一般资料 2009-06/2011-06, 共27例符合标准的胰腺占位病变患者入选, 其中男($n=15$), 女($n=12$), 年龄最大77岁, 最小40岁, 平均63.5岁. 病变位于胰腺头部($n=16$)、体部($n=8$)、尾部($n=3$), 病变直径最大7.7 cm, 最小1.5 cm, 平均3.56 cm。

病变最终诊断为胰腺癌19例, 无功能性良性

■相关报道

国外相继有文献报道超声内镜弹性成像在淋巴结、胰腺占位等的良恶性鉴别中的应用价值, 均显示其较高的准确性和灵敏度. Săftoiu等尝试了对超声内镜弹性成像进行计算机连续动态定量分析方法在淋巴结及胰腺占位病变诊断中的应用, 并于2011年报道了欧洲多中心研究的结果。

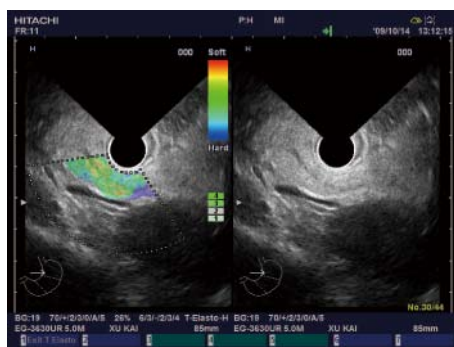


图 1 正常胰腺. 超声内镜弹性成像呈均匀绿色, 弹性成像评分为1分.

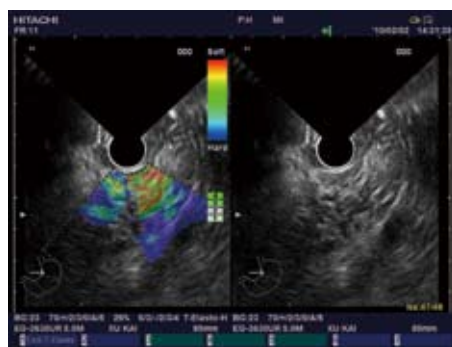


图 2 胰腺炎性病变. 超声内镜弹性成像呈绿、黄、红混杂, 弹性成像评分2分.

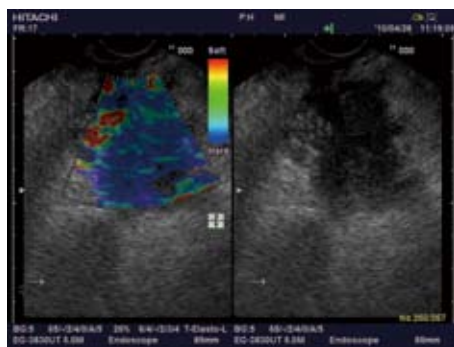


图 3 胰腺癌. 胰腺头部低回声病灶, 超声内镜弹性成像呈蓝、绿混杂的蜂窝状结构, 评分为3分.

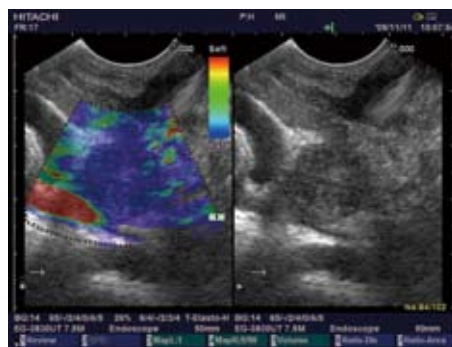


图 4 胰腺癌. 胰腺头部低回声病灶, 超声内镜弹性成像呈均匀蓝色, 评分为4分.

内分泌肿瘤及低度恶性神经内分泌肿瘤各1例, 炎性病变6例. 7例胰腺癌及2例内分泌肿瘤行手术切除治疗确诊, 其中3例胰腺癌患者同时行EUS-FNA, 1例阳性、2例阴性; 另3例胰腺癌患者仅行EUS-FNA并均获得阳性结果而确诊, 其余9例胰腺癌患者未行手术及EUS-FNA, 为临床诊断并均随访至患者因病死亡而确诊, 自诊断至死亡的时间为1-5 mo, 平均2.4 mo. 6例诊断为炎性病变患者均经临床随访1年以上排除恶性病变, 随访期为12-19 mo, 平均14.7 mo. 其中1例曾行EUS-FNA为阴性.

2.2 超声内镜弹性成像结果 所有入选患者均成功进行了超声内镜实时弹性成像检查并获得了满意的弹性成像图像, 所有患者包括7例行EUS-FNA的患者均无操作相关不良反应及并发症发生.

2.2.1 超声内镜弹性成像评分: 6例炎性病变的超声内镜弹性成像中, 评分1分($n=1$)、2分($n=3$)、3分($n=2$); 良性内分泌肿瘤为4分、恶性内分泌肿瘤为5分; 19例胰腺癌中3分($n=11$)、4分($n=5$)、5分($n=3$). 2例EUS-FNA为阴性的胰腺癌患者, 1例病变位于胰腺钩突部位, 1例病变位于胰腺体部但患者存在严重的脊柱畸形, 均因

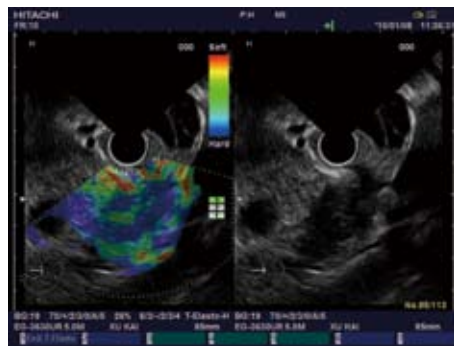


图 5 胰腺癌. 胰腺体部低回声病灶, 超声内镜弹性成像呈蓝色为主混在较大的红色或绿色区, 弹性成像评分为5分.

穿刺困难导致假阴性, 但超声内镜弹性成像评分均为3分, 提示为恶性病变并得到了手术切除标本的病理证实(图1-5).

2.2.2 超声内镜弹性成像对病变良恶性判断准确性: 与最终诊断相对照, 1例胰腺良性内分泌肿瘤评分为4分, 2例炎性病变评分为3分, 按照超声内镜弹性成像诊断标准误判为恶性病变, 其余患者均判断正确. 超声内镜弹性成像对27例胰腺占位病变良恶性判断24例准确, 诊断灵敏度100%, 特异度57.14%, 阳性预测值86.96%, 阴性预测值100%.

■创新盘点

本文尝试应用超声内镜弹性成像技术诊断胰腺占位病变的良恶性, 目前, 国内该领域相关经验及报道尚少. 根据我们前期的经验, 应用超声弹性5分法评分标准对良恶性胰腺病变进行判断, 显示其较高的准确度和灵敏度.

■名词解释

超声弹性成像: 是通过探头压迫目标部位, 对采集图像内感兴趣区域进行多种声学参数的测定, 得到组织内部位移, 推算出其应变分布及弹性系数分布成像, 并以相应的颜色显示, 使组织弹性系数(软硬度)得以量化和可视化。

3 讨论

EUS为诊断胰腺癌和胰腺其他占位性病变的最佳方法, 对胰腺占位性病变, 特别对检出直径 $<2\text{ cm}$ 的病灶非常敏感, 甚至可发现直径小于 5 mm 的微小病灶。研究显示其对早期胰腺癌的显示率 $>90\%$, 敏感性达 98% , 优于腹部超声和CT等^[4,5]。然而, 对于检出的胰腺占位性病变, 仅依据EUS及其他影像学特征, 往往难以对其良、恶性做出准确的判断。故近年来, 临床上尝试开展了一系列的新技术以提高超声内镜影像学诊断的准确性, 包括造影增强超声内镜及超声内镜弹性成像技术等^[6-8]。

超声弹性成像技术是通过探头压迫目标部位, 对采集图像内感兴趣区域(region of interest, ROI)进行多种声学参数的测定, 得到组织内部位移, 推算出其应变分布及弹性系数分布成像, 并以相应的颜色显示, 使组织弹性系数(软硬度)得以量化和可视化。他在明确病变性质和鉴别病变良恶性方面提供了有效补充, 表现出了良好的应用前景, 是近年来临床上出现的一种超声影像诊断新技术, 已经被应用于甲状腺、乳腺、肝脏等疾病的诊断、研究中^[9]。但由于胰腺位于后腹膜深部, 常规腹部超声探查易受临近脏器及气体的干扰, 造成显像不清, 且无法应用探头压迫, 影响了超声弹性成像技术在胰腺疾病诊断的应用。

超声内镜实时组织弹性成像技术是将超声弹性成像与超声内镜相融合的最新超声内镜诊断技术, 使对胰腺疾病的超声弹性成像检查成为可能。在超声内镜探查的同时, 借助呼吸运动、动脉搏动及探头的压迫对病变进行超声弹性成像, 在获得组织常规超声影像的同时, 可对其弹性系数(软硬度)做出判断, 从而对病变性质及良恶性鉴别方面提供进一步的信息。该技术目前国内外已在临床初步展开, 2009年Giovannini等^[3]的一项多中心临床研究显示超声内镜弹性成像对胰腺良恶性病变的诊断准确度、灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值分别达 89.2% 、 92.3% 、 80.0% 、 93.3% 、 77.4% , 对良恶性淋巴结分别为 88.1% 、 91.8% 、 82.5% 、 88.8% 、 86.8% , 优于常规超声内镜。国内, 孙思予等^[10]的研究结果显示超声内镜弹性成像对恶性淋巴结判断的灵敏度和特异度分别为 91.1% 和 60% 。上述结果初步证实了该技术的有效性及其临床价值。

本研究尝试根据超声内镜弹性成像评分对

胰腺占位病变良恶性进行判断, 探讨该技术在胰腺疾病鉴别诊断中的临床应用价值, 结果显示超声内镜弹性成像对胰腺良恶性的判断有着较高的准确性。我们前期研究显示正常胰腺及良性病变质地柔软、顺应性良好, 弹性成像评分多呈1-2分, 相反恶性病变则质地僵硬弹性差, 故弹性成像常以蓝色为主, 评分呈3-5分, 故本研究将弹性成像良恶性判断标准设定为弹性成像1-2分为良性病变, 3-5分为恶性病变。根据该判断标准, 本组27例胰腺占位病变患者24例判断准确, 其诊断的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值分别为 100% 、 57.14% 、 86.96% 、 100% , 与国外近期类似临床研究报道的结果接近。对3例误判的患者进行分析显示, 1例为良性无功能性内分泌肿瘤, 呈弹性成像评分4分, 查阅国外文献报道也显示内分泌肿瘤多呈均一的蓝色改变, 与本研究结果一致, 但所涉病例数均较少, 有待于进一步临床积累^[11]。另2例误判患者为炎性病变, 因评分为3分而判断为恶性, 分析其原因可能与部分炎性病变内部常存在不同程度的组织纤维化改变有关, 从而使病变局部组织较周边组织僵硬, 而造成弹性成像的误判, 国外部分研究也认为超声内镜弹性成像在炎性病变与恶性病变的判断上具有一定的局限性^[12]。这提示如何将弹性影像特征进一步细化以提高对炎性病变及内分泌肿瘤的鉴别准确性仍是弹性成像研究中的难点。

尽管超声内镜作为一种影像学检查手段仍具有一定的局限性, 但对于不愿或不适合进行超声内镜引导细针穿刺抽吸术(endoscopic ultrasound guided fine needle aspiration, EUS-FNA)的患者, 超声内镜弹性成像可为鉴别诊断提供重要的影像学。本组27例胰腺占位患者中20例患者因各种原因未行EUS-FNA, 但根据弹性成像影像特点对绝大多数患者做出了正确的诊断。此外, 将超声内镜弹性成像与EUS-FNA相结合, 可望提高其诊断的准确性, 克服EUS-FNA阴性预测值相对较低的缺点, 本组2例患者因病变穿刺困难未获得满意的穿刺标本, 造成EUS-FNA假阴性, 但结合超声内镜弹性成像做出了正确的诊断, 并得到了手术结果的证实。

在研究过程中我们也发现, 进行超声内镜弹性成像检查时影像常不易稳定、且色彩多变, 同一病变因压力的不同可呈现不同的影像特征, 故易受到操作者的技术水平及个人主观性的影响。本研究为克服上述缺点, 仅对弹性成像影像

可稳定持续5 s以上者进行结果分析, 但检查结果仍易受超声内镜操作者的主观性的影响, 且弹性成像5分评分法为半定量分析方法, 在对超声内镜弹性成像进行结果分析时具有一定的缺陷. 近年来, 国外已开始尝试应用计算机辅助的连续动态量化分析方法进行结果分析, 以克服前述缺陷^[13-15]. 相信随着研究深入, 经验的积累, 新的结果分析手段的使用, 超声内镜弹性成像技术必将逐步克服其缺陷, 成为一项成熟的诊断技术应用于临床.

4 参考文献

- 1 Giovannini M, Hookey LC, Bories E, Pesenti C, Monges G, Delperio JR. Endoscopic ultrasound elastography: the first step towards virtual biopsy? Preliminary results in 49 patients. *Endoscopy* 2006; 38: 344-348
- 2 徐凯, 任大宾, 孙晓敏, 王静, 徐萍. 正常胰腺及胰腺占位病变超声内镜弹性成像特点初步研究. *中华消化内镜杂志* 2010; 27: 461-464
- 3 Giovannini M, Thomas B, Erwan B, Christian P, Fabrice C, Benjamin E, Geneviève M, Paolo A, Pierre D, Robert Y, Walter S, Hanz S, Carl S, Christoph D, Pierre E, Jean-Luc VL, Jacques D, Peter V, Andrian S. Endoscopic ultrasound elastography for evaluation of lymph nodes and pancreatic masses: a multicenter study. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 1587-1593
- 4 Hunt GC, Faigel DO. Assessment of EUS for diagnosing, staging, and determining resectability of pancreatic cancer: a review. *Gastrointest Endosc* 2002; 55: 232-237
- 5 Shami VM, Mahajan A, Loch MM, Stella AC, Northup PG, White GE, Brock AS, Srinivasan I, de Lange EE, Kahaleh M. Comparison between endoscopic ultrasound and magnetic resonance imaging for the staging of pancreatic cancer. *Pancreas* 2011; 40: 567-570
- 6 诸琦, 熊慧芳, 徐凯, 贺益萍, 陈希, 谭继宏, 夏璐. 造影增强超声内镜检查对胰腺占位病变的鉴别诊断初步探讨. *中华消化内镜杂志* 2008; 25: 126-130
- 7 Săftoiu A, Iordache SA, Gheonea DI, Popescu C, Maloș A, Gorunescu F, Ciurea T, Iordache A, Popescu GL, Manea CT. Combined contrast-enhanced power Doppler and real-time sonoelastography performed during EUS, used in the differential diagnosis of focal pancreatic masses (with videos). *Gastrointest Endosc* 2010; 72: 739-747
- 8 Sakamoto H, Kitano M, Matsui S, Kamata K, Komaki T, Imai H, Dote K, Kudo M. Estimation of malignant potential of GI stromal tumors by contrast-enhanced harmonic EUS (with videos). *Gastrointest Endosc* 2011; 73: 227-237
- 9 Frey H. [Realtime elastography. A new ultrasound procedure for the reconstruction of tissue elasticity]. *Radiologie* 2003; 43: 850-855
- 10 孙思予, 刘香, 葛楠, 王晟, 刘金钢. 内镜超声弹性成像对消化道肿瘤淋巴结转移的诊断价值初探. *中华消化内镜杂志* 2008; 25: 131-133
- 11 Iglesias-Garcia J, Larino-Noia J, Abdulkader I, Forteza J, Dominguez-Munoz JE. EUS elastography for the characterization of solid pancreatic masses. *Gastrointest Endosc* 2009; 70: 1101-1108
- 12 Janssen J, Schlörer E, Greiner L. EUS elastography of the pancreas: feasibility and pattern description of the normal pancreas, chronic pancreatitis, and focal pancreatic lesions. *Gastrointest Endosc* 2007; 65: 971-978
- 13 Săftoiu A, Vilman P, Ciurea T, Popescu GL, Iordache A, Hassan H, Gorunescu F, Iordache S. Dynamic analysis of EUS used for the differentiation of benign and malignant lymph nodes. *Gastrointest Endosc* 2007; 66: 291-300
- 14 Săftoiu A, Vilman P, Gorunescu F, Gheonea DI, Gorunescu M, Ciurea T, Popescu GL, Iordache A, Hassan H, Iordache S. Neural network analysis of dynamic sequences of EUS elastography used for the differential diagnosis of chronic pancreatitis and pancreatic cancer. *Gastrointest Endosc* 2008; 68: 1086-1094
- 15 Săftoiu A, Vilman P, Gorunescu F, Janssen J, Hocke M, Larsen M, Iglesias-Garcia J, Arcidiacono P, Will U, Giovannini M, Dietrich C, Havre R, George C, McKay C, Gheonea DI, Ciurea T. Accuracy of endoscopic ultrasound elastography used for differential diagnosis of focal pancreatic masses: a multicenter study. *Endoscopy* 2011; 43: 596-603

■同行评价

超声内镜弹性成像技术是近年发展起来新技术, 本文应用超声内镜弹性成像技术总结了27例胰腺肿瘤的图像特点, 对临床具有一定的指导意义.

编辑 张姗姗 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

• 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. (编辑部主任: 李军亮 2011-01-01)

胶囊内镜下小肠黏膜特征分析53例

谢宏民, 李佳璇, 杨新魁

■背景资料

胶囊内镜(capsule endoscopy, CE)是一种无痛、无创、无导线的全消化系(主要是小肠)的检查方法,他弥补了小肠传统检查方式的不足,为小肠疾患的诊断提供了可靠的、丰富的依据,尤其适用于合并严重的心肺等多脏器功能不全、无法承受肠系膜动脉造影和双气囊小肠镜等有创性检查的患者。

谢宏民, 李佳璇, 杨新魁, 广东医学院附属陈星海医院消化内科 广东省中山市 512415

谢宏民, 主治医师, 主要从事胃肠镜与消化系统疾病的诊断研究。

作者贡献分布: 谢宏民与杨新魁对此文所作贡献均等; 此课题由谢宏民与杨新魁设计; 研究过程由谢宏民、李佳璇及杨新魁操作完成; 数据分析由谢宏民、李佳璇及杨新魁完成; 本文文写作由谢宏民、李佳璇及杨新魁完成。

通讯作者: 杨新魁, 教授, 512415, 广东省中山市, 广东医学院附属陈星海医院消化内科. hcoco_001@163.com

电话: 0760-22287202

收稿日期: 2011-09-02 修回日期: 2012-01-10

接受日期: 2012-02-16 在线出版日期: 2012-02-18

Characteristics of the small intestine revealed by capsule endoscopy in 53 patients with gastrointestinal disorders

Hong-Min Xie, Jia-Xuan Li, Xin-Kui Yang

Hong-Min Xie, Jia-Xuan Li, Xin-Kui Yang, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Guangdong Medical College, Zhongshan 512415, Guangdong Province, China
Correspondence to: Xin-Kui Yang, Professor, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Guangdong Medical College, Zhongshan 512415, Guangdong Province, China. hcoco_001@163.com

Received: 2011-09-02 Revised: 2012-01-10

Accepted: 2012-02-16 Published online: 2012-02-18

Absrtact

AIM: To analyze the characteristics of the small intestine of patients with gastrointestinal disorders by capsule endoscopy.

METHODS: Fifty-three patients who underwent MiroCam capsule endoscopy from August 2010 to August 2011 were included in the study. According to clinical data, the patients were classified as having obscure gastrointestinal bleeding, suspected functional gastrointestinal disease, abdominal pain, diarrhea, and abdominal distension. The characteristics of the normal or abnormal small bowel were analyzed.

RESULTS: Of 53 patients, one failed capsule endoscopy due to the absence of signal, and one could not successfully complete the examination procedure for personal reason. The capsule endoscope reached the colon in the remaining

51 cases (96.22%). The average time for the passage of the capsule endoscope to the stomach and small intestine is 69.78 and 513.25 min, respectively. Capsule endoscopy revealed abnormal changes in 48 cases, and the positive rate is 90.57%. For all 51 patients with suspected small bowel disease, the overall positive diagnosis rate of intestinal lesions was 92.15% (47/51), and that of jejunal and ileal lesions was 52.94%, including 12 cases of non-specific inflammation (1 patient diagnosed with Crohn's disease), 3 cases of polyps, 3 cases of unknown mass, 1 case of hyperplasia of lymphoid follicles, 7 cases of intestinal lymphangiectasia, and 1 case of hookworm disease. In addition, 1 case of reflux esophagitis, 26 cases of chronic gastritis, 7 cases of erosive gastritis, 3 cases of stomach polyps, 5 cases of colon polyps, 3 cases of colitis, and 2 cases of colon melanosis were found. Capsules were removed from the body naturally, and no complications such as obstruction occurred.

CONCLUSION: MiroCam capsule endoscopy is a safe and non-invasive means of revealing small intestinal lesions.

Key Words: Capsule endoscopy; Small bowel disease; Obscure gastrointestinal bleeding

Xie HM, Li JX, Yang XK. Characteristics of the small intestine revealed by capsule endoscopy in 53 patients with gastrointestinal disorders. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(5): 430-433

摘要

目的: 回顾性分析胶囊内镜检查患者53例, 认识胶囊内镜下小肠正常黏膜特征及小肠病变黏膜特征。

方法: 2010-08/2011-08, 利用Miro Cam胶囊内镜系统对患者53例行胶囊内镜检查。统计患者的年龄、性别、症状、体征等临床资料, 将受检者分为不明原因的消化系出血, 疑为功能性胃肠病, 腹痛、腹泻、腹胀, 便秘, 体检等共5组; 通过查阅病案及电话回访, 搜集资料, 将胶囊内镜下所见作出最终的临床诊断; 分析

■同行评议者

马欣, 主任医师, 甘肃省人民医院消化科

胶囊内镜下小肠正常及病变黏膜特征.

结果: 在53例患者中, 1例因吞服胶囊后无图像信号, 未能顺利完成胶囊内镜检查; 1例因患者吞咽胶囊困难而无法进行; 其余51例均顺利到达结肠, 到达结肠率为96.22%. 胃的平均运行时间为69.78 min, 小肠的平均运行时间为513.25 min. 48例有消化系疾病的阳性结果, 3例未见异常, 阳性率为90.57%. 在所有疑诊小肠疾病的51例患者中, 胶囊内镜小肠病变总的诊断率为92.15%(47/51); 空肠及回肠阳性诊断率为52.94%, 包括炎症12例(1例临床确诊为Crohn's病), 息肉3例, 不明肿块3例, 淋巴滤泡增生1例, 疑似小肠淋巴管扩张7例, 钩虫病1例; 同时检出反流性食管炎1例; 慢性胃炎26例, 糜烂性胃炎7例, 胃部息肉3例; 结肠炎症3例, 结肠息肉5例, 大肠黑变病2例. 胶囊均自然排出体外, 无梗阻等并发症的发生.

结论: Miro Cam胶囊内镜是一种非侵入性的检查手段, 检查安全, 顺应性好; 在胶囊内镜下, 正常小肠黏膜及病变黏膜均呈现出一定的特征.

关键词: 胶囊内镜; 小肠疾病; 不明原因的消化系出血

谢宏民, 李佳璇, 杨新魁. 胶囊内镜下小肠黏膜特征分析53例. 世界华人消化杂志 2012; 20(5): 430-433
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/430.asp>

0 引言

长期以来, 人们对于消化系疾病诊断的研究主要集中在胃、食管、肝胆及大肠等器官, 而对于小肠疾病研究的重视程度远远不够. 传统上小肠疾病的检查方法有小肠镜、小肠X线检查、选择性动脉造影、放射性核素锝(99m Tc)标记红细胞扫描及吞棉线试验等, 这些检查存在着技术操作要求高、诊断阳性率低、定性和定位不准确、检查时患者痛苦大或属创伤性检查并伴有严重并发症等诸多缺点.

2000-05以色列吉文成像公司(Given Image Ltd.)M2ATM胶囊内镜(Capsule endoscopy, CE)的问世, 是消化内镜技术发展史上的一个里程碑, 是胃肠道疾病内镜诊疗中一项革命性技术, 尤其对小肠疾病具有较高的诊断价值. 胶囊内镜是一种无痛、无创、无导线的全消化系(主要是小肠)的检查方法, 他弥补了小肠传统检查方式的不足, 为小肠疾患的诊断提供了可靠的、丰富的依据, 尤其适用于合并严重的心肺

等多脏器功能不全、无法承受肠系膜动脉造影和双气囊小肠镜等有创性检查的患者. 本研究旨在通过对53例胶囊内镜检查病例的回顾性分析, 认识胶囊内镜下小肠正常及病变黏膜特征.

1 材料和方法

1.1 材料 2010-08/2011-08, 本院行胶囊内镜检查患者53例. 据患者申请单、病案、电话回访结果, 搜集受检者的临床资料, 统计患者的年龄、性别、症状、体征等临床资料, 将受检者分为不明原因的消化系出血, 疑为功能性胃肠病, 腹痛、腹泻、腹胀, 便秘及体检等共5组; 记录胶囊内镜到达结肠率及检查结果; 通过查阅病例及电话回访患者, 搜集其他相关检查及病理结果、临床诊断结果等, 将胶囊内镜下所见作出临床诊断; 分析胶囊内镜下小肠正常黏膜及病变表现特征. Miro Cam胶囊内镜系统及其配套影像分析处理软件. 果导片(0.1 g, 100粒), 聚乙二醇4 000散剂(10 g, 10包); 枸橼酸莫沙必利分散片(5 mg, 12粒).

1.2 方法

1.2.1 肠道准备: 检查前2 d患者进食易消化食物(如粥、粉、面), 禁食水果、蔬菜; 检查前1 d只可进食流质饮食(如粥水、汤、牛奶、果汁), 20:00点后禁食; 检查当天禁食, 05:00服用泻药, 10:00前服完, 服用过程中会出现腹泻, 属清洗肠道的正常现象; 泻药配制方法: 将聚乙二醇4 000散剂18包放入3 000 mL温开水中冲服; 服用泻药过程中需交替服用糖、盐水, 约2 000 mL, 避免因腹泻剧烈引起的脱水; 15:00停止饮水, 16:00到院检查. 如平素有便秘, 可在检查前1 d服用果导片, 每次2片, 3次/d. 排泄物为无渣清水是肠道准备的理想状态. 到达医院接受胶囊内镜检查时, 女性禁穿连衣裙、涂口红.

1.2.2 检查: 检查之前告知患者胶囊内镜检查注意事项, 确认患者已行肠道准备并排出粪便为水样、无粪渣, 签署知情同意书. 在断电条件下, 为患者贴好传感器贴片并连接图像记录仪; 开启图像记录仪, 取出Miro Cam胶囊内镜, 确认胶囊性能正常, 用少量温开水吞服胶囊内镜; 整个检查过程中, 患者可离开医院外出活动或工作, 但不能从事重体力劳动和剧烈运动, 远离强磁场所. 睡前口服枸橼酸莫沙比利分散片10 mg. 一般记录12 h, 整个检查过程可获取约100 000余张图像数据. 检查结束后记录的图像均经2位以上消化科专职内镜医师阅读、分析. 嘱患者2 wk内

■ 相关报道

胶囊内镜对经传统方法未能检出的疑似小肠克罗恩病具有较高的检出率, 尤其是对疾病早期和对轻型患者的诊断具有明显优越性.

■应用要点

本研究证实了胶囊内镜是一种能直观、全面、准确、简便、安全、无创和无痛的检查小肠疾病的方法,他填补了全小肠可视性检查的空白,明显优于其他小肠内镜。

若未见胶囊随大便排出体外,及时联系医师。

2 结果

在53例患者中,1例因吞服胶囊后无图像信号,未能顺利完成胶囊内镜检查;1例因个人原因吞咽胶囊失败;其余51例均顺利到达结肠,到达结肠率为96.22%。胃的平均运行时间为69.78 min,小肠的平均运行时间为513.25 min。48例有消化系疾病的阳性结果,3例未见异常,阳性率为90.57%。在所有疑诊小肠疾病的51例患者中,Miro Cam胶囊内镜小肠病变总的诊断率为92.15%(47/51);空肠及回肠阳性诊断率为52.94%,包括炎症12例(1例临床确诊为Crohn's病),息肉3例,不明肿块3例,淋巴滤泡增生1例,疑似小肠淋巴管扩张7例,钩虫病1例;同时检出反流性食管炎1例;慢性胃炎26例,糜烂性胃炎7例,胃部息肉3例;结肠炎症3例,结肠息肉5例,大肠黑变病2例。胶囊均自然排出体外,无梗阻等并发症的发生。

3 讨论

胶囊内镜下正常小肠黏膜特征:十二指肠球部黏膜光滑,无皱襞,色泽较胃黏膜淡一些,呈浅红色,黏膜可见柱状微绒毛,但较为稀疏,自十二指肠上曲开始有环形皱襞,皱襞较细、密,十二指肠降部可见乳头,这也是降部最重要的标志,并可见乳头的缠头皱襞及乳头下方的纵行皱襞。正常小肠黏膜在胶囊内镜观察下的基本特征如下:橘黄色黏膜;环形黏膜皱襞;绒毛;小血管,偶可见粗大静脉;回肠末端淋巴滤泡;蠕动,推进式为主,偶见逆蠕动;胆汁、气泡、碎屑等内容物。空肠和回肠之间没有明确的解剖分界标记,在胶囊内镜下主要区别在于:上段小肠的环形皱襞粗大、间距小,而下段小肠的环形皱襞薄小、间距大,至回肠远端常消失,肠壁自上而下逐渐变薄,肠管也逐渐变小,同一患者的由近及远的小肠皱襞逐渐小,减少。小肠全程偶然可见粗大的静脉,空肠收缩时,密集的环形皱襞似花瓣样重叠在一起。回肠收缩时,皱襞呈放射样纵形排列,部分正常人的回肠末端可见到淋巴滤泡。胶囊内镜清晰显示小肠绒毛,但小肠的绒毛无明显差别,不能用于区分小肠的分段。

本院53例胶囊内镜下小肠病变黏膜特征总结如下:(1)小肠淋巴管扩张。内镜下小肠绒毛的典型表现为白色肿胀黏膜;在黏膜上有微小的白色斑块。内镜下淋巴管扩张是局限性、斑

块或弥漫性,弥漫性淋巴管扩张症导致黏膜出现一层雪绒样毛毯或糖粉样尘埃覆盖,组织学可进一步证实^[1,2]。(2)钩虫病。空肠可见正在活动的钩虫,空肠黏膜可见多处斑片状糜烂。(3)小肠息肉。与胃肠道其他部位相比,小肠息肉病变最为少见,息肉好发部位为十二指肠、近端空肠。(4)Crohn's疾病。Crohn's疾病患者的小肠病变多呈节段性、多发性分布,病灶之间黏膜多无异常,直视Crohn's疾病病变肠段黏膜的病理表现如阿弗他溃疡、线形或沟槽样溃疡、铺路石样黏膜、炎性息肉及病变黏膜的跳跃征等。病变早期在胶囊内镜下主要表现为黏膜破坏、阿尔法溃疡及糜烂,这与非甾体类抗炎药引起的黏膜损害相似,镜下无法区分;后期则有溃疡、肠痿、瘘管、溃疡伴肠腔狭窄。研究表明,胶囊内镜能直观显示小肠黏膜病变,发现X线下不能发现的早期黏膜改变,对于早期和轻症小肠Crohn's疾病患者的诊断具有明显优越性^[3],对于结肠镜或小肠影像学检查正常的可疑Crohn's疾病者,胶囊内镜发现病变率为43%-71%^[4,5],并且能够鉴别病变累及的范围。此外,胶囊内镜的结果有可能会成为调整治疗方案的依据^[6]。(5)小肠不明肿物。常见临床症状是间断性的黑便和便血,胶囊内镜下主要表现为局限性黏膜隆起型病变,有时可见表面溃疡形成和出血。小肠肿瘤胶囊内镜的使用,使小肠肿瘤的诊断率从原来3%增加到6%-9%。许多不明原因消化系出血者,行胶囊内镜查时发现肿瘤,其中约50%-60%为恶性^[7,8]。(6)非甾体抗炎药肠病。患者多无临床症状而只有实验室检查异常,仅少数病例出现显性出血、穿孔、狭窄等严重并发症。内镜下表现多为一些非特异性改变,包括散在或弥漫分布的糜烂、溃疡、出血等,本院研究发现与Melmed等^[9,10]的研究结果相近。(7)Peutz-Jeghers综合征。Peutz-Jeghers息肉主要发生在小肠,癌变率很低,但癌变的危险度是非患者的500倍。内镜下,息肉大小不等,有蒂或无蒂,表面光滑或粗糙,可有许多小叶状突起,小叶间有深凹的裂沟。Mata等^[11]和Brown等^[12]的研究均显示,相对于小肠钡餐透视,CE能更精确的发现小肠息肉。而与MRI相比,Caspari等指出,当息肉直径>15 mm时,两者均能发现;小的息肉,则更容易被CE发现。另有研究指出,CE并不总是能可靠的发现大息肉、并准确的评估其大小,也不能清楚地观察十二指肠壶腹^[13,14]。在CE作为常规监测工具用于息肉病患者前,仍需要更多的研

究。

越来越多的文献报道显示胶囊内镜在小肠疾病诊断中具有较高的价值^[15], 可以为临床医生提供比传统检查方法更为全面、更加细致的小肠影像, 开创了小肠疾病诊断的新时代。

最近, 新式的胶囊内镜已经开始发展起来, 如针对小肠的Olympus胶囊内镜、针对食管的PillCam ESO以及针对结肠的PillCam COLON, 可溶性胶囊内镜等, 且在体外遥控下实施外科手术的胶囊内镜已经在实验动物身上取得成功, 这必将使胶囊内镜在消化系疾病诸多方面的诊疗中产生积极的、深远的影响, 为胶囊内镜的镜下治疗开拓道路。在胶囊内镜检查中, 仔细分析所得图像数据是非常重要的, 但是这一步枯燥而耗时, 现有一种图像自动分析工具正在研制中, 这将在支持和加速该检查的临床应用方面发挥重要作用。

4 参考文献

- Thomson M, Fritscher-Ravens A, Mylonaki M, Swain P, Eltumi M, Heuschkel R, Murch S, McAlindon M, Furman M. Wireless capsule endoscopy in children: a study to assess diagnostic yield in small bowel disease in paediatric patients. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2007; 44: 192-197
- Seidman EG, Sant'Anna AM, Dirks MH. Potential applications of wireless capsule endoscopy in the pediatric age group. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 2004; 14: 207-217
- 戈之铮, 胡运彪, 萧树东. 胶囊内镜诊断小肠克罗恩病的应用研究. *中华消化内镜杂志* 2004; 21: 96-99
- Ge ZZ, Hu YB, Xiao SD. Capsule endoscopy in diagnosis of small bowel Crohn's disease. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1349-1352
- Herrerías JM, Caunedo A, Rodríguez-Téllez M, Pellicer F, Herrerías JM. Capsule endoscopy in patients with suspected Crohn's disease and negative endoscopy. *Endoscopy* 2003; 35: 564-568
- Voderholzer WA, Beinhoelzl J, Rogalla P, Murrer S, Schachschal G, Lochs H, Ortner MA. Small bowel involvement in Crohn's disease: a prospective comparison of wireless capsule endoscopy and computed tomography enteroclysis. *Gut* 2005; 54: 369-373
- Bailey AA, Debinski HS, Appleyard MN, Remedios ML, Hooper JE, Walsh AJ, Selby WS. Diagnosis and outcome of small bowel tumors found by capsule endoscopy: a three-center Australian experience. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 2237-2243
- Cobrin GM, Pittman RH, Lewis BS. Increased diagnostic yield of small bowel tumors with capsule endoscopy. *Cancer* 2006; 107: 22-27
- Melmed GY, Lo SK. Capsule endoscopy: practical applications. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005; 3: 411-422
- Delvaux M. Capsule endoscopy in 2005: facts and perspectives. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2006; 20: 23-39
- Mata A, Llach J, Castells A, Rovira JM, Pellisé M, Ginès A, Fernández-Esparrach G, Andreu M, Bordas JM, Piqué JM. A prospective trial comparing wireless capsule endoscopy and barium contrast series for small-bowel surveillance in hereditary GI polyposis syndromes. *Gastrointest Endosc* 2005; 61: 721-725
- Brown G, Fraser C, Schofield G, Taylor S, Bartram C, Phillips R, Saunders B. Video capsule endoscopy in peutz-jeghers syndrome: a blinded comparison with barium follow-through for detection of small-bowel polyps. *Endoscopy* 2006; 38: 385-390
- Wong RF, Tuteja AK, Haslem DS, Pappas L, Szabo A, Ogara MM, DiSario JA. Video capsule endoscopy compared with standard endoscopy for the evaluation of small-bowel polyps in persons with familial adenomatous polyposis (with video). *Gastrointest Endosc* 2006; 64: 530-537
- Schulmann K, Schmiegel W. Capsule endoscopy for small bowel surveillance in hereditary intestinal polyposis and non-polyposis syndromes. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 2004; 14: 149-158
- 杨伟昂, 王炳周, 吴灵飞. 胶囊内镜临床应用新进展. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 4081-4087

编辑 张姗姗 电编 闫晋利

■同行评价

本文结果可靠, 讨论条理分明, 有系统的理论分析和有价值的科学结论。

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

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

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

内镜套扎治疗结肠黏膜下肿瘤40例

徐博, 赵志峰, 赵云峰, 张宁, 麻树人, 宫照杰, 田浩洋, 金晓龙

■背景资料

胃肠道黏膜下肿瘤是源于黏膜下层间叶组织的肿瘤, 随着内镜检查技术的发展, 对于食管及胃等上胃肠道黏膜下肿瘤采取内镜下高频电切除术, 黏膜下剥离术等治疗方法的安全性和有效性已经获得公认, 但是对于结肠等下胃肠道黏膜下肿瘤采取何种内镜下治疗方法更加安全有效仍存在争议。

徐博, 赵志峰, 赵云峰, 张宁, 麻树人, 宫照杰, 田浩洋, 金晓龙, 中国人民解放军沈阳军区总医院 辽宁省沈阳市 110016 徐博, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的内镜下诊疗。

作者贡献分布: 徐博与赵志峰对此文所作贡献均等; 此课题由徐博、赵志峰及麻树人设计; 徐博、赵志峰、赵云峰、张宁、麻树人、宫照杰、田浩洋及金晓龙操作完成; 数据分析由徐博与赵志峰完成; 本论文写作由徐博完成。

通讯作者: 麻树人, 教授, 110016, 辽宁省沈阳市, 中国人民解放军沈阳军区总医院内窥镜科. shuren_ma@163.com 电话: 024-28851468

收稿日期: 2011-10-02 修回日期: 2011-11-20

接受日期: 2012-02-16 在线出版日期: 2012-02-18

Treatment of submucosal tumors of the colon by loop ligature: an analysis of 40 cases

Bo Xu, Zhi-Feng Zhao, Yun-Feng Zhao, Ning Zhang, Shu-Ren Ma, Zhao-Jie Gong, Hao-Yang Tian, Xiao-Long Jin

Bo Xu, Zhi-Feng Zhao, Yun-Feng Zhao, Ning Zhang, Shu-Ren Ma, Zhao-Jie Gong, Hao-Yang Tian, Xiao-Long Jin, Department of Endoscopy, the General Hospital of Shenyang Military Command of Chinese PLA, Shenyang 110016, Liaoning Province, China

Correspondence to: Shu-Ren Ma, Professor, Department of Endoscopy, the General Hospital of Shenyang Military Command of Chinese PLA, Shenyang 110016, Liaoning Province, China. shuren_ma@163.com

Received: 2011-10-02 Revised: 2011-11-20

Accepted: 2012-02-16 Published online: 2012-02-18

Abstract

AIM: To assess the efficacy and safety of nylon endoloop ligature or combined nylon endoloop ligature with colonoscopy-assisted high-frequency electric snare in the treatment of submucosal tumors of the colon.

METHODS: Forty patients who were diagnosed with submucosal tumors of the colon by endoscopic ultrasonography and treated by nylon endoloop ligature were included in this study. In some cases, combined nylon endoloop ligature with colonoscopy-assisted high-frequency electric snare were performed to take samples and remove lesions completely. The pathologic data for these patients were analyzed.

RESULTS: All cases of submucosal tumors of the colon were removed after nylon endoloop

ligature. Pathological samples were taken from 34 patients, of whom 12 had lipomas, 12 had carcinoids, 8 had stromal tumors and 2 had leiomyomas. No complications occurred.

CONCLUSION: Nylon endoloop ligature or combined nylon endoloop ligature with colonoscopy-assisted high-frequency electric snare is an effective and safe method for removing submucosal tumors of the colon.

Key Words: Submucosal tumors of the colon; Endoscopic ultrasonography; Nylon endoloop ligature; Treatment

Xu B, Zhao ZF, Zhao YF, Zhang N, Ma SR, Gong ZJ, Tian HY, Jin XL. Treatment of submucosal tumors of the colon by loop ligature: an analysis of 40 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(5): 434-437

摘要

目的: 评价结肠黏膜下肿瘤内镜套扎治疗的临床效果。

方法: 对我科40例结肠黏膜下肿瘤(submucosal tumors, SMT)(肿瘤直径 ≤ 19 mm)行超声内镜检查(endoscopic ultrasonography, EUS)并作出初步诊断, 之后采取结肠镜下套扎技术进行治疗, 且术后回收病变组织, 定期复查, 随访术后有无并发症及套扎术的疗效。

结果: 40例患者黏膜下肿瘤均完整清除, 6例采用单纯结肠镜下套扎技术, 34例采用结肠镜下套扎联合高频电切术治疗, 34例回收的组织病理显示: 12例为脂肪瘤, 12例为类癌, 8例为间质瘤, 2例为平滑肌瘤。

结论: 内镜下套扎技术对于结肠黏膜下肿瘤的治疗是一种安全、可行的方法, 能够对病灶进行有效清除, 对于结肠肿瘤的早期防治起到重要作用。

关键词: 结肠黏膜下肿瘤; 超声内镜; 内镜套扎; 治疗

徐博, 赵志峰, 赵云峰, 张宁, 麻树人, 宫照杰, 田浩洋, 金晓龙. 内镜套扎治疗结肠黏膜下肿瘤40例. *世界华人消化杂志* 2012;

■同行评议者

冯志杰, 主任医师, 河北医科大学第二医院消化内科

20(5): 434-437

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/434.asp>

0 引言

结肠黏膜下肿瘤是结肠常见疾病之一, 属于消化系黏膜下肿瘤(submucosal tumors, SMT)的一部分. 在对SMT的各项诊断方法中, 超声内镜检查(endoscopic ultrasonography, EUS)有着重要临床应用价值. 我们对行EUS检查后发现的直径<20 mm的结肠黏膜下肿瘤应用内镜下套扎技术治疗, 疗效显著.

1 材料和方法

1.1 材料 选取我科经结肠镜检查拟诊断为SMT的患者40例, 治疗前行EUS检查进一步诊断及评估, SMT直径2.7-19.0 mm, 平均10.8 mm. 男性19例, 女性21例, 年龄25-83岁, 平均年龄54岁. 器械为Olympus CF-240I及Olympus CF-Q260AI电子结肠镜, EU-M2000超声内镜, UM-DP20-25R(E)超声小探头、ERBE VIO 200D型高频电发生器、Hx-20Q型尼龙绳套扎器及MAJ-254尼龙绳.

1.2 方法 使用聚乙二醇电解质散剂清洁肠道, 术前盐酸丁卡因胶浆肛门局部麻醉. 内镜下超声小探头对SMT进行扫描, 确定为黏膜下层肿物, 行尼龙圈套扎病变基底部, 收紧尼龙圈肿物明显缺血, 释放尼龙圈, 1 wk后复查肠镜, 观察病变是否脱落, 部分病例需经内镜下多次调整尼龙圈的松紧度. 稍小的SMT尼龙圈套扎后, 行电圈套器电切, 病灶完全切除. 病变组织固定于甲醛液中均送检病理及行免疫组化染色检查. 术后所有患者均住院观察至少1 wk, 给予卧床休息、止血、营养支持、避免进行剧烈运动等治疗.

2 结果

2.1 术后并发症及创面情况 40例患者行尼龙圈套扎治疗成功, 术后可见病变完全脱落或清除, 无出血及穿孔等并发症出现, 术后40例创面均有不同程度的浅溃疡形成, 继之创面愈合(图1).

2.2 病理变化 34例病变切除后成功回收, 病理显示12例为脂肪瘤, 12例为类癌, 8例为间质瘤, 2例为平滑肌瘤; 结肠SMT中, 脂肪瘤及类癌的出现频率较高, 其次是间质瘤, 平滑肌瘤相对少见; 脂肪瘤在结肠各部位出现频率较为平均, 而类癌及间质瘤好发于直肠.

2.3 随访及预后 对40例患者进行1、3、6 mo的

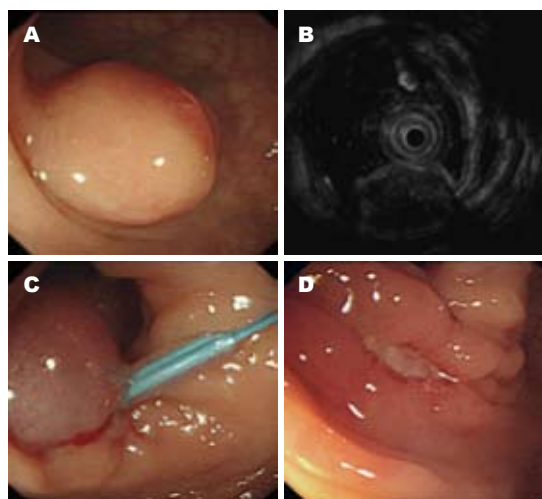


图1 尼龙圈套扎法治疗结肠SMT. A: 横结肠SMT; B: 超声显示肿物来源于黏膜下; C: SMT尼龙圈套扎后; D: 病变自行脱落创面形成溃疡.

随访, 随访采取电话及门诊结肠镜检查的方式进行, 视情况采取EUS检查, 目前为止均未见病变复发.

3 讨论

消化系SMT是一类常见的肿瘤疾病, 其发病率居所有胃肠道肿瘤发病率的第2位. 胃肠道黏膜下肿瘤是来源于黏膜下层、肌层、浆膜层及其系膜层的肿瘤. SMT的具体分类还存在一定争议^[1], 其大体可以分为: 间质瘤、平滑肌瘤、脂肪瘤、类癌和其他类型肿瘤. 其中间质瘤占有所有SMT的97%以上, 其次为平滑肌瘤、脂肪瘤和类癌. 通过深入的研究间质瘤的遗传学特点已逐渐明晰^[2,3]. 不同类型的SMT, 其发病部位也有所不同, 间质瘤和平滑肌瘤多发于上胃肠道, 脂肪瘤、类癌在下胃肠道出现频率较高^[4]. 类癌一类是具有神经内分泌功能的肿瘤, 属于黏膜下潜在恶性病变, 多数生长缓慢, 在胃肠道其源于肠黏膜层嗜铬细胞, 多数侵及黏膜下层, 内镜下观察肿物质硬, 表面多有明显的溃疡及出血, 全消化系均有分布, 但其多出现在直肠、阑尾等部位, 发生在直肠的类癌多数位于直肠距肛门10 cm内, 需及早治疗.

结肠SMT所在肠壁层次的判定对于治疗方法的选择至关重要, 判断方法目前有很多种^[5], 例如CT、MRI、FDG-PET、腹部超声等. 使用最多的是EUS, 在超声内镜检查图像中可以清晰显示SMT所处层次, 能对病变进行有效的评估^[6]. 部分通过结肠镜直视下拟诊为SMT的黏膜下隆起病变, 经EUS检查发现他们可能并非来自结肠

■ 研发前沿

针对不同类型的结肠黏膜下肿瘤, 采取个体化的治疗方案是治疗成功的关键, 如何在保证患者安全的情况下, 对病变进行准确评估并且完整切除, 减少术后并发症, 使患者尽快恢复是目前结肠黏膜下肿瘤诊治的重点.

■应用要点

本研究中以尼龙圈套扎为基础联合相关技术对结肠黏膜下肿瘤进行治疗, 创伤小、操作简便, 疗效确切, 对结肠黏膜下肿瘤的治疗具有较好的临床应用价值。

肠壁^[7-10], 此类病变如未行EUS检查而盲目实施治疗, 可能会造成严重的并发症。目前国际上广泛使用的超声内镜引导下细针穿刺(endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration, EUS-FNA), 可以获取病变内部组织样本, 进而对其性质进行判断^[11,12], 从而为进一步治疗提供参考。

消化系SMT传统治疗方法主要是外科手术切除, 但是外科手术创伤大, 患者痛苦, 恢复期长。虽然采用腹腔镜微创外科切除有效弥补了这一缺点, 但其仍是一类有创治疗方法。根据SMT所在部位的不同可采取相应的内镜下治疗方法, 对于大多数发生在食道和胃的SMT, 普遍采用内镜下高频电切除术进行治疗, 同时随着内镜黏膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)的进一步普及, 采用ESD治疗SMT的病例也越来越多^[13], 但是针对结肠SMT的治疗, 尚未形成共识。单纯使用内镜下高频电切术或ESD等治疗结肠SMT, 易导致出血、肠壁穿孔等严重并发症^[14]。虽然有部分报道称^[15], 下胃肠道SMT使用高频电切术成功率值得肯定, 但仍需严格控制相关适应证。

内镜下套扎法早在20世纪90年代就已被证明是进行内镜下治疗的有效方法^[16]。单纯尼龙圈套扎后病变为自然脱落, 不会产生如高频电切除术或ESD所造成的急性出血或穿孔。对于特殊患者, 如装有心脏起搏器, 神经系统疾病的患者, 不适宜应用高频电切除治疗, 此时采用单纯尼龙圈套扎优势更加明显。虽然单纯尼龙圈套扎安全可行, 但病变组织回收困难仍是其一大缺陷。尼龙圈套扎联合高频电切除术可以较为有效的弥补这一不足, 本组中, 一例直肠类癌(5.7 mm)及一例降结肠巨大脂肪瘤(19 mm)采用该方法获取完整病变标本, 并且均取得了良好疗效。

针对如何合理使用尼龙圈套扎方法对结肠SMT进行治疗, 我们提出以下几点: (1)较小的非肌层或体积较大的结肠SMT, 可采取尼龙圈套扎联合高频电切除术进行一次或分次切除。黏膜下层尚未累积肌层的较小SMT, 套扎前可先使用注射针进行黏膜下注射生理盐水使病变尽量隆起后, 再行尼龙圈套扎联合高频电切除术治疗, 通过生理盐水产生的分离作用可使病变套扎更加完整, 电切除更加安全; (2)巨大SMT采用单纯尼龙圈分次套扎时, 应当定期行肠镜检查尼龙圈套扎是否牢固, 随着组织不断坏死脱落, 原先牢固的尼龙圈会变松弛, 如未及时收紧可能会导致尼龙圈脱落病变部位大出血。对于巨大脂

肪瘤还可以采取尼龙圈套扎后, 瘤体表面切开抽吸的方法进行治疗。抽吸部分脂肪组织后, 剩余大部分脂肪组织会自行从切口流出, 残留脂肪组织会随着术后脂肪液化而排除并最终形成溃疡后愈合, 脂肪组织血供较为丰富, 因此对血管的确实夹闭是治疗成功的关键; (3)针对类癌的治疗目前仍以外科手术为主, 直肠类癌的恶性程度及转移率均较低, 本组中12例类癌(均<2 cm)均成功进行内镜下切除, 随访均未见复发, 由此可见内镜下局部切除对类癌的治疗同样有较好疗效。

通过本组病例分析我们可以认为内镜下尼龙圈套扎法对于结肠SMT的治疗是安全、有效、可行的一项治疗方法。

4 参考文献

- 1 Ponsaing LG, Kiss K, Hansen MB. Classification of submucosal tumors in the gastrointestinal tract. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 3311-3315
- 2 Hirota S, Isozaki K, Moriyama Y, Hashimoto K, Nishida T, Ishiguro S, Kawano K, Hanada M, Kurata A, Takeda M, Muhammad Tunio G, Matsuzawa Y, Kanakura Y, Shinomura Y, Kitamura Y. Gain-of-function mutations of c-kit in human gastrointestinal stromal tumors. *Science* 1998; 279: 577-580
- 3 Heinrich MC, Corless CL, Duensing A, McGreevey L, Chen CJ, Joseph N, Singer S, Griffith DJ, Haley A, Town A, Demetri GD, Fletcher CD, Fletcher JA. PDGFRA activating mutations in gastrointestinal stromal tumors. *Science* 2003; 299: 708-710
- 4 Lupașcu C, Andronic D, Moldovanu R, Târcoveanu E, Georgescu S, Ferariu D. Treatment of gastrointestinal stromal tumors--initial experience. *Chirurgia (Bucur)* 2010; 105: 657-662
- 5 Ponsaing LG, Kiss K, Loft A, Jensen LI, Hansen MB. Diagnostic procedures for submucosal tumors in the gastrointestinal tract. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 3301-3310
- 6 Chen TH, Lin CJ, Wu RC, Ho YP, Hsu CM, Lin WP, Tseng YP, Chen CH, Chiu CT. The application of miniprobe ultrasonography in the diagnosis of colorectal subepithelial lesions. *Chang Gung Med J* 2010; 33: 380-388
- 7 Kim GH, Choi BG, Lee JN, Park SH, Lee BE, Ryu DY, Song GA, Park do Y. [2 cases of gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma presenting as a submucosal tumor-like lesion]. *Korean J Gastroenterol* 2010; 56: 103-108
- 8 Moon HK, Kim HS, Heo GM, Shin WG, Kim KH, Jang MK, Lee JH, Kim HY, Kim DJ, Cho SJ. A case of pedunculated hepatic hemangioma mimicking submucosal tumor of the stomach. *Korean J Hepatol* 2011; 17: 66-70
- 9 Abe T, Kawai N, Yasumaru M, Mizutani M, Tanabe J, Akamatsu H, Tsujimoto M, Nishida T, Iijima H, Tsujii M. Colonic abscess mimicking submucosal tumor. *Gastrointest Endosc* 2009; 70: 169-170; discussion 170
- 10 Hayashi T, Kawahara H, Yoshimoto K, Kashiwagi H, Yanaga K, Komine K. Early cystoadenocarcinoma of vermiform appendix simulating submucosal tumor of the cecum. *Int J Surg* 2008; 6: e15-e17

- 11 Philipper M, Hollerbach S, Gabbert HE, Heikau S, Böcking A, Pomjanski N, Neuhaus H, Frieling T, Schumacher B. Prospective comparison of endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration and surgical histology in upper gastrointestinal submucosal tumors. *Endoscopy* 2010; 42: 300-305
- 12 Pang NK, Chin SY, Nga ME, Chang AR, Ismail TM, Omar SS, Charlton A, Salto-Tellez M. Comparative validation of c-kit exon 11 mutation analysis on cytology samples and corresponding surgical resections of gastrointestinal stromal tumours. *Cytopathology* 2009; 20: 297-303
- 13 Koike Y, Obana T, Fujita N, Hirasawa D, Suzuki T, Sugawara T, Ohira T, Harada Y, Maeda Y, Suzuki K, Yamagata T, Noda Y, Oikawa M, Sawai T. [A case of giant esophageal leiomyoma successfully resected by endoscopic submucosal dissection followed by retrieval via laparotomy]. *Nihon Shokakibyō Gakkaï Zasshi* 2010; 107: 1780-1785
- 14 Niimi K, Fujishiro M, Kodashima S, Goto O, Ono S, Hirano K, Minatsuki C, Yamamichi N, Koike K. Long-term outcomes of endoscopic submucosal dissection for colorectal epithelial neoplasms. *Endoscopy* 2010; 42: 723-729
- 15 Morimoto T, Fu KI, Konuma H, Izumi Y, Matsuyama S, Ogura K, Miyazaki A, Watanabe S. Peeling a giant ileal lipoma with endoscopic unroofing and submucosal dissection. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 1676-1679
- 16 Hachisu T, Yamada H, Hamaguchi K. Effectiveness of a ligating device for endoscopic surgery. *Diagn Ther Endosc* 1995; 2: 47-52

■同行评价

本文立意新颖, 具有较好的临床应用前景。

编辑 李军亮 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •**《世界华人消化杂志》修回稿须知**

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

1 修回稿信件

来稿包括所有作者签名的作者投稿函。内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该文代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版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、编辑意见寄回给作者修改, 而作者必须于15 d内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料寄回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回的, 作重新投稿处理。

3 版权

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

婴幼儿轮状病毒性肠炎多干预措施的荟萃分析

倪容华, 唐惠林, 翟所迪, 李在玲

■背景资料

轮状病毒肠炎目前还没有特效的抗病毒药物, 主要治疗以支持对症、微生态制剂及蒙脱石等治疗。但这些制剂种类、方法在国内尚无统一规范标准。此外, 其疗效及不良反应等尚无横向比较。本研究将从实际临床研究情况分析上述问题。

倪容华, 北京大学第三医院第二门诊部儿科 北京市 100096
唐惠林, 翟所迪, 北京大学第三医院药剂科 北京市 100191
李在玲, 北京大学第三医院儿科 北京市 100191
倪容华, 主治医师, 主要从事儿科消化系统疾病、呼吸道疾病及儿童保健的研究。

作者贡献分布: 此课题由倪容华与李在玲设计; 研究过程由倪容华与唐惠林操作完成; 数据分析由倪容华、唐惠林及翟所迪完成; 本论文写作由倪容华与唐惠林完成。

通讯作者: 李在玲, 主任医师, 100191, 北京市, 北京大学第三医院儿科。topbj163@sina.com

电话: 010-82266688-8772

收稿日期: 2011-09-22 修回日期: 2011-12-05

接受日期: 2012-02-16 在线出版日期: 2012-02-18

Multiple treatments for infantile rotavirus enteritis: a network meta-analysis

Rong-Hua Ni, Hui-Lin Tang, Suo-Di Zhai, Zai-Ling Li

Rong-Hua Ni, Department of Pediatrics, the Second Outpatient Department, the Third Hospital of Peking University, Beijing 100096, China

Hui-Lin Tang, Suo-Di Zhai, Department of Pharmacy, the Third Hospital of Peking University, Beijing 100191, China
Zai-Ling Li, Department of Pediatrics, the Third Hospital of Peking University, Beijing 100191, China

Correspondence to: Zai-Ling Li, Chief Physician, Department of Pediatrics, the Third Hospital of Peking University, Beijing 100191, China. topbj163@sina.com

Received: 2011-09-22 Revised: 2012-12-05

Accepted: 2012-02-16 Published online: 2012-02-18

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy and safety of probiotics and/or montmorillonite in the treatment of infantile rotavirus enteritis.

METHODS: According to the requirement of systematic review, the following electronic databases were searched for randomized controlled trials (RCTs) and clinical trials evaluating the efficacy and safety of probiotics and/or montmorillonite for infantile rotavirus: CNKI, CBMdisc, VIP database, and Wanfang database. A network meta-analysis of the eligible RCTs was conducted.

RESULTS: Forty RCTs involving 2 906 participants met the criteria, of which five administrations were identified as intervention therapies and one administration as basic support control. Pooled data showed that probiotics and/or

montmorillonite, either applied alone or in combination, significantly improved rotavirus enteritis compared to basic treatments. Adverse effects were not observed in the probiotic groups.

CONCLUSION: Probiotics and montmorillonite, either applied alone or in combination, can significantly improve infantile rotavirus enteritis. However, because of the limitations of the method and the included studies, the results should be interpreted with caution.

Key Words: Rotavirus enteritis; Infantile; Multiple treatments network meta-analysis; Probiotics; Montmorillonite

Ni RH, Tang HL, Zhai SD, Li ZL. Multiple treatments for infantile rotavirus enteritis: a network meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(5): 438-443

摘要

目的: 系统分析国内婴幼儿轮状病毒性肠炎的多干预措施的疗效和安全性, 以指导临床用药。

方法: 按照系统评价的要求全面检索了国内医药数据库如维普、万方、CNKI、CBMdisc中婴幼儿轮状病毒性肠炎诊疗的随机对照临床研究, 并应用网络荟萃分析方法, 比较微生态制剂(主要包括枯草二联活菌、双歧三联活菌)及蒙脱石对婴幼儿轮状病毒性肠炎的疗效和安全性。观察组共5组, 分别为单独应用枯草二联活菌、双歧三联活菌或蒙脱石及前二者与蒙脱石联用的疗效研究, 空白对照组为支持对症治疗。

结果: 共纳入40篇文献49项研究2906名患者。研究显示: 前述5种方法均有显著疗效, 合并疗效分别为87.1%、77.8%、75.0%、81.6%及73.4%, 与支持对症疗效65.1%相比, 差异有统计学意义($P<0.05$)。5组间疗效的比较: 单用枯草二联活菌疗效与不使用此药的其他方法相比, 差异有统计学意义($P<0.05$); 而枯草二联活菌与蒙脱石联用疗效与单用蒙脱石组及联用双歧三联活菌组比较, 差异有统计学意义($P<0.05$)。其余各组间疗效差异无统计学意义。

■同行评议者

杨柏霖, 副主任医师, 南京中医药大学附属医院

此外, 微生态制剂组未见不良反应, 蒙脱石组偶见有便秘、腹胀等。

结论: 微生态制剂及蒙脱石对婴幼儿轮状病毒肠炎均有显著疗效, 且以单独应用效果好, 不良反应少。

关键词: 轮状病毒肠炎; 婴幼儿; 多干预措施-meta分析; 微生态制剂; 蒙脱石

倪容华, 唐惠林, 翟所迪, 李在玲. 婴幼儿轮状病毒性肠炎多干预措施的荟萃分析. 世界华人消化杂志. 2012; 20(5): 438-443
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/438.asp>

0 引言

轮状病毒肠炎是引起婴幼儿急性腹泻最常见的原因, 全球5岁以下儿童约95%曾患轮状病毒肠炎^[1], 给家庭和社会都带来一定负担. 因目前还没有特效的抗病毒药物, 轮状病毒肠炎治疗以支持对症为主. 近临床实践表明, 微生态制剂如枯草二联活菌、双歧三联活菌及蒙脱石等治疗轮状病毒肠炎有效^[2]. 但这些制剂种类、方法在国内都没有统一规范, 其疗效及不良反应等也没有横向比较. 为此我们系统检索了国内关于枯草二联活菌、双歧三联活菌及蒙脱石治疗轮状病毒肠炎疗效的相关文献, 并运用多干预措施-meta分析^[3]方法对其疗效及安全性等进行了系统分析与比较, 以期寻找回答这些问题的客观、科学的证据。

1 材料和方法

1.1 材料 检索已公开发表的有关治疗小儿轮状病毒肠炎的临床研究文献. 检索范围: 按照系统评价的要求全面检索CNKI、CBMdisc、维普、万方等数据库中关于微生态制剂及蒙脱石散治疗轮状病毒肠炎的随机对照临床研究(randomized controlled trial). 关键词为轮状病毒(rotavirus)、有效率、枯草二联活菌(Live Combined Bacillus Subtilis and Enterococcus Faecium)、双歧三联活菌(Live Combined Bifidobacterium and Lactobacillus)、蒙脱石(montmorillonite or Smecta)等。

1.2 方法

1.2.1 研究纳入标准: (1)原始资料为已公开发表的文献; (2)原始文献中轮状病毒肠炎病例符合下列标准: 患儿1-36 mo, 腹泻, 病程<5 d, 伴或不伴发热、呕吐. 大便常规镜检正常, 或见少许白细胞; 大便轮状病毒检测阳性; (3)治疗药物选

择: 支持对症治疗; 口服肠道菌群调节剂枯草二联活菌、双歧三联活菌; 口服胃肠黏膜保护剂, 蒙脱石等; (4)疗效判定均以治疗72 h后大便次数减少, 全身症状缓解为观察指标; (5)原始文献为随机对照临床研究。

1.2.2 研究排除标准: (1)患儿>36 mo, 病程>5 d, 无大便轮状病毒检测; (2)原始文献试验样本资料交代不清或不全等, 如虽已提及诊断标准, 但未交代实际研究对象年龄以及是否进行大便轮状病毒检测等; (3)研究对象同时服用了抗病毒药物; (4)疗效判定以症状减缓时间或轮状病毒减轻等为观察指标; (5)重复发表的文献。

1.2.3 纳入文献的质量评价: 采用Jadad法^[4]对各独立研究进行质量评估, 0-2分为低质量研究, 3-5分为高质量研究. 由2位作者按照上述标准独立检索、纳入和评价. 所有分歧通过讨论解决, 必要时交由第3方仲裁。

统计学处理 系统分析采用专用软件Review Manager 5.1及Winbugs14. 发表性偏倚采用倒漏斗图(funnel plot)显示. 合并分析部分以治疗有效率作为观察指标, 采用卡方检验(χ^2 检验), 检验水准 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 文献检索 共检出轮状病毒肠炎随机对照临床研究相关文献259篇, 经逐一筛选、评价, 最终40篇文献49项研究2 906名患者符合纳入标准而进入研究(图1, 表1). 研究中所有病例按治疗方法不同分为6组: 包括观察组5组, 分别为单用枯草二联活菌组、单用双歧三联活菌组、单用蒙脱石组、枯草二联活菌与蒙脱石联用组及双歧三联活菌与蒙脱石联用组, 研究数分别为2、3、17、10项及5项, 空白对照组为支持对症治疗, 研究数12项(表1, 2); 上述文献中, 无临床多中心协作研究报道。

2.2 发表性偏倚分析 对纳入研究的文献进行发表偏倚分析, 绘制漏斗图(图2). 结果显示, 纳入的文献总体分布并非完全对称, 但小样本研究结果大致分布在总体效应(虚线)周围, 因此纳入的文献可以进行系统分析, 但文献总体分布在右象限的研究较少, 提示可能存在发表性偏倚或方法学质量低下。

2.3 纳入研究的方法学质量评价 纳入的40篇文献均为随机对照或临床对照研究(表1), 其中9篇描述了产生随机的方法, 27篇报告采用了随机, 但未描述具体方法, 另有4篇未说明是否采用随

■研发前沿
临床工作中的热点及重点一直离不开患者的实际临床表现及治疗的成本效益. 这也是轮状病毒肠炎亟待研究的问题。

■创新盘点

本文从临床实际出发,研究总结了司空见惯却容易忽视的问题。尤其是本研究发现轮状病毒肠炎多干预措施中,单独用药比联合使用要好,在以往研究中尚无相关报道,是一个亮点。

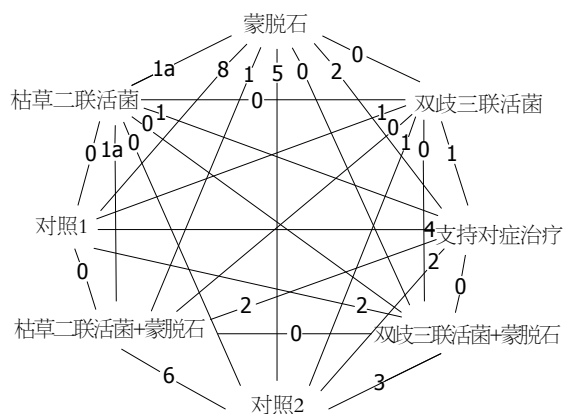


图1 轮状病毒肠炎多干预措施比较图(粗线为观察组药物, 1a为同一研究)。对照1: 不含观察组中任何一种药物; 对照2: 含观察组药物。

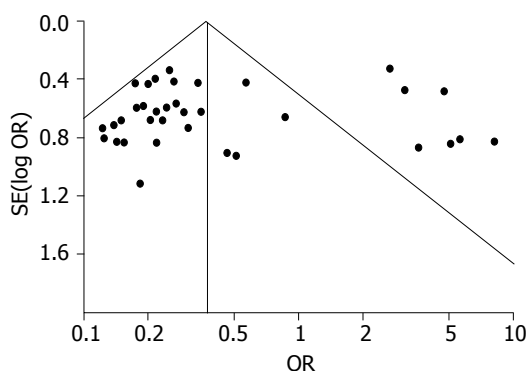


图2 轮状病毒肠炎治疗研究相关文献发表偏倚分析。

机; 均无随机方案是否隐藏的信息; 全部文献中仅1篇提示采用“单盲法”, 余未提及盲法。基线比较方面(表1中的异质性), 纳入研究的患儿均符合前述纳入标准, 有32篇文献说明了观察组及对照组“两组具有可比性”, 其中21篇进行了统计分析($P>0.05$), 11篇提出了一些数据(如平均年龄、性别分布、平均病程等), 但未进行组间均衡性的比较, 其余8篇没有“两组具有可比性”的描述。所有研究的疗效判定均采用治疗72 h内患儿的大便次数减少、全身症状改善等为观察指标。文献中, 药物不良反应报告有5篇, 报告未见药物不良反应16篇, 未报告药物不良反应的10篇。对退出或失访病例所有文献均无记录。按Jadad评分都为低-中质量研究(表1)。

2.4 疗效合并分析 本研究上述病例6组治疗方法合并疗效分析如表2。统计数据显示, 五组观察组合并疗效分别为单用枯草二联活菌组87.1%、单用双歧三联活菌组77.8%、单用蒙脱石组75.0%、枯草二联活菌与蒙脱石联用组81.6%及双歧三联活菌与蒙脱石联用组73.4%; 支持对症治疗组疗效65.1%。观察组与支持对

症相比, 疗效显著, χ^2 分别为38.86、16.07、18.35、42.47及4.85; P 均 <0.05 , 差异有统计学意义。观察组五组间疗效比较, 单用枯草二联活菌疗效高于双歧三联活菌、蒙脱石单用或二者联用, χ^2 分别为7.51、15.11及12.68, P 均 <0.01 , 有统计学意义; 单用枯草二联活菌疗效高于联用蒙脱石, 但差异无统计学意义; 枯草二联活菌与蒙脱石联用疗效高于单用蒙脱石或蒙脱石与双歧三联活菌联用, χ^2 分别为8.83及6.17, P 均 <0.05 。单用双歧三联活菌疗效其他观察组相比, P 均 >0.05 , 差异均无统计学意义(表2)。上述研究中单用微生态制剂组未见不良反应, 蒙脱石偶见便秘、腹胀等。

3 讨论

近年来, 系统分析作为循证医学的一种定量合成分析方法, 已被公认为是证明某种治疗方案(药物)的疗效和安全性的最可靠的依据^[45]。本研究采用多干预措施-meta分析把既往关于轮状病毒肠炎治疗的各个独立研究结果进行统计学合并, 收集的临床研究大多数比较严谨, 患者基线资料基本一致, 且所有患者轮状病毒检测阳性, 所处方药物治疗效果评价客观, 将其中相同的研究进行合并分析, 为临床实际发生事件的合并分析, 类似于多中心的临床观察研究, 结果比较真实可靠, 对指导以后临床轮状病毒肠炎的治疗具有积极意义。

本研究显示, 枯草二联活菌或双歧三联活菌轮状病毒肠炎有显著疗效, 其机制考虑为这2种药物分别含有肠球菌、长双歧杆菌及保加利亚乳杆菌等, 可直接补充正常生理菌丛, 抑制致病菌。有报道, 人类常用的微生态制剂包括酪酸菌、双歧杆菌、地衣芽孢杆菌、嗜酸乳酸杆菌、枯草杆菌、粪链球菌及乳酸菌素等^[46], 而婴幼儿轮状病毒肠炎肠道微生态学改变为双歧杆菌、拟杆菌、乳杆菌和肠球菌数量显著下降^[47]。本研究结果显示补充双歧杆菌、肠球菌等对轮状病毒肠炎有效, 与上述研究报道基本一致。

本研究还显示, 蒙脱石对轮状病毒肠炎亦有显著疗效。其原理考虑为蒙脱石对消化系统内的病毒、病菌及其产生的毒素有固定、抑制作用; 并通过与黏液糖蛋白相互结合, 覆盖消化系黏膜, 提高黏膜屏障的防御功能。有研究证实蒙脱石对小儿急性感染性腹泻有效^[48], 与本研究结果一致。

此外, 有意思的是, 本研究显示微生态制剂

表 1 纳入研究文献基本情况分析

研究数(49)	样本数N/n	年龄(m)	异质性	疗程(d)	不良反应	试验方法	统计方法	Jadad评分
枯草二联活菌(2)								
蔡兴仁等 ^[5] 2002	132/124	6-24	无差异	3	无	随机	卡方	1
刘东海等 ^[6] 2008	92/71	4-30	不详	3	不详	随机	卡方	1
双歧三联活菌(3)								
王聪聪等 ^[7] 2002	150/132	6-24	无差异	3	不详	就诊先后	卡方	1
高小英 ^[8] 2006	122/90	3-24	不详	3	不详	随机	卡方	1
张亚维 ^[9] 2005	43/23	6-24	无差异	3	不详	就诊先后	卡方	1
蒙脱石组(17)								
陈鹏等 ^[10] 2006	50/45	4-36	无差异	3	不详	就诊先后	Raddit	1
赖小英 ^[11] 2007	40/26	3-24	无差异	3	无	随机	卡方	1
张学森 ^[12] 2006	63/30	3-36	不详	3	不详	随机	卡方	1
金玉等 ^[13] 2004	72/36	6-24	不详	3	无	就诊先后	卡方	1
蔡少华等 ^[14] 2004	41/31	6-24	无差异	3	有	随机	卡方	1
单良等 ^[15] 2010	53/44	1-6	不详	3-10	不详	随机	卡方	1
刘东海等 ^[6] 2008	95/69	4-30	不详	3	不详	随机	卡方	1
张静宇等 ^[16] 2011	100/73	6-24	无差异	4	不详	随机数字	卡方	2
崔明辰等 ^[17] 2008	68/51	6-24	无差异	3-6	无	随机排列表	卡方	2
黄红香等 ^[18] 2005	87/68	6-24	不详	3	无	就诊先后	卡方	1
谢苛蔓 ^[19] 2010	30/28	6-30	无差异	5-7	有	随机	卡方	1
周雪莲 ^[20] 1996	40/38	6-24	不详	3	无	随机	卡方	1
熊永新等 ^[21] 2008	30/22	1-36	无差异	3-	不详	随机	卡方	1
邓夷业 ^[22] 2010	56/45	6-36	无差异	3-	有	就诊先后	卡方	1
李传红 ^[23] 2006	50/38	6-24	不详	3	有	随机	卡方	1
张凤丽 ^[24] 2009	20/14	6-24	无差异	3	不详	随机	卡方	1
胡红等 ^[25] 2007	30/26	3-32	不详	3	无	不详	卡方	0
枯草二联活菌+蒙脱石(10)								
刘东海等 ^[6] 2008	98/89	4-30	不详	3	不详	随机	卡方	0
单良等 ^[15] 2010	57/55	1-6	不详	3-10	不详	随机	卡方	1
杨英等 ^[26] 2008	168/125	1-30	不详	3-10	无	随机	卡方	1
邹新英等 ^[27] 2009	54/41	6-36	无差异	3-7	无	随机	卡方	1
张丽卓 ^[28] 2009	29/27	2-30	无差异	6	不详	就诊先后	卡方	1
周兴燕等 ^[29] 2010	25/23	6-24	无差异	3	不详	随机	卡方	1
陈霞等 ^[30] 2009	55/45	3-24	无差异	3-5	有	随机	卡方	1
刘治学等 ^[31] 2007	22/13	5-27	无差异	3	无	随机	卡方	1
王紫荆 ^[32] 2009	28/16	1-24	无差异	3	无	随机	卡方	1
张素玲 ^[33] 2005	50/44	1-36	无差异	3	不详	随机	卡方	1
双歧三联活菌+蒙脱石(5)								
邓孝智等 ^[34] 2007	48/32	4-24	无差异	3	有	随机	卡方	1
刘艳 ^[35] 2007	30/21	-36	无差异	3	不详	不详	卡方	0
呼延佳等 ^[36] 2010	41/30	6-24	无差异	6	无	不详	卡方	0
程光清等 ^[37] 2010	52/37	1-24	无差异	6	无	不详	卡方	0
马菁 ^[38] 2009	32/23	3-33	无差异	3	不详	随机	卡方	1
支持对症(12)								
赖小英 ^[11] 2007	39/11	6-24	无差异	3	无	随机	卡方	1
卫海燕等 ^[39] 2005	42/26	3-24	无差异	3	无	就诊先后	卡方	1
蔡少华等 ^[14] 2004	42/21	6-24	无差异	3	有	随机	卡方	1
蔡兴仁等 ^[5] 2002	103/75	6-24	无差异	3	无	随机	卡方	1
刘建设等 ^[40] 2010	52/37	5-24	无差异	3	不详	随机	卡方	1
龙志坚等 ^[41] 2007	92/75	1-36	无差异	3-7	有	随机	卡方	1
王聪聪等 ^[7] 2002	120/88	6-24	无差异	3	不详	随机	卡方	1
张丽卓 ^[28] 2009	29/21	2-30	无差异	3	不详	随机	卡方	1

■应用要点

本研究发现轮状病毒肠炎多干预措施中, 单独用药比联合使用要好, 这将减轻患者的社会经济成本, 对临床医疗工作者也有很大帮助. 还可为轮状病毒肠炎的进一步规范化治疗提供依据.

■同行评价

本文从临床实际出发,立意较好,研究设计过程中与流行病学、公共卫生及药剂科等多学科合作,方法严谨,结果可信。

表 1 纳入研究文献基本情况分析

研究数(49)	样本数N/n	年龄(m)	异质性	疗程(d)	不良反应	试验方法	统计方法	Jadad评分
周兴燕等 ^[29] 2010	25/19	6-24	不详	3	不详	随机	卡方	1
李晓岚等 ^[42] 2008	50/17	4-36	无差异	3	不详	不详	卡方	0
王小仙等 ^[43] 2007	24/13	4-36	无差异	6	无	随机	卡方	1
张梅 ^[44] 2010	35/22	6-36	无差异	3	无	随机	卡方	1

为方便统计分析,将显效、有效合并为一项处理,表中N为各研究样本总数,n为有效数。

表 2 轮状病毒肠炎多干预措施疗效合并分析

治疗方法	研究数	样本数(N/n)	总有效率	疗效比较							
				χ^2 值	P值	χ^2 值	P值	χ^2 值	P值	χ^2 值	P值
支持对症	12	653/425	0.651	支持对症							
枯草二联活菌	2	224/195	0.871	38.06	s	枯草二联活菌					
双歧三联活菌	3	315/245	0.778	16.07	s	7.51	s	双歧三联活菌			
蒙脱石	17	925/694	0.750	18.35	s	15.11	s	0.97	ns	蒙脱石	
枯草二联活菌+蒙脱石	10	586/478	0.816	42.47	s	3.47	ns	1.86	ns	8.83	s
双歧三联活菌+蒙脱石	5	203/149	0.734	4.85	ms	12.68	s	1.3	ns	0.22	ns
合计	41	2906/2186								6.17	ms

为方便统计分析,将显效、有效合并为一项处理,表中N为各研究的样本总数,n为有效例数;s为有差异有统计学意义且 $P<0.01$;ms为差异有统计学意义且 $0.01<P<0.05$;ns为差异无统计学意义, $P>0.05$ 。

单独使用的疗效优于与蒙脱石联用的疗效。虽然本研究中文献均已说明使用蒙脱石散与其他药物间隔2 h以上,其固定、吸附作用仍有可能导致其他药物有效浓度下降;是否还有其他机制有待进一步研究。建议临床使用蒙脱石时,与其他药物间隔至少2 h以上。

尽管目前的证据初步表明微生态制剂与蒙脱石治疗轮状病毒肠炎有显著疗效,但鉴于纳入研究以及系统分析方法的局限性,可能存在以下几点问题,在解释上述结论时仍需慎重。

首先,证据的强度不足。本次研究纳入的试验方法学质量普遍较低。研究质量评分3分以下的研究较多,存在实施偏倚和测量偏倚的可能,且存在一定的发表偏倚等。虽然不同质量的研究对微生态制剂或蒙脱石的疗效结论没有显著影响,在应用证据来指导临床实践时,临床医生应意识到有偏倚存在的可能,避免系统分析过高地估计真实的治疗效果。

其次,局限性和对后续研究的启示。本次系统分析只是对现有资料进行综合分析的结果,尚不能取代大规模、多中心的临床观察,而且上述原始研究没有长期随访,也没有个体病程

分析,使结果有一定的局限性。因此,在后续研究中,还需要严格设计的、大样本的随机双盲对照试验来进一步验证和支持。

第三,推广应用性。本组资料所有研究均在医疗机构进行,不同医疗机构在药物的使用剂量、频率及饮食控制等方面多少也有差异,对疗效也有一定影响。这些因素在处理分析结果时都应该充分考虑。从本研究的结果来看,微生态制剂及蒙脱石治疗轮状病毒肠炎疗效显著,但不能将此结论推广到全球,因为并没有其他国家的临床研究,而且即使在国内,也需要更多的临床研究。

总之,本研究的证据充分表明微生态制剂及蒙脱石对轮状病毒肠炎有显著疗效,且单独应用比联合用药疗效更好、更经济,但仍需更多更严谨的临床研究来进一步验证和支持。此外,完善的支持对症处理也能在一定程度上减轻患者及家庭和社会的负担。建议临床医生在应用微生态制剂或蒙脱石等药物之前充分考虑其成本效益。

志谢 本文在写作过程中的统计处理方面得到北

京大学公共卫生学院孙凤老师的热情指导与帮助, 在此表示衷心的感谢。

4 参考文献

- Centers for Disease Control and Prevention. Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases. 10th ed. Washington DC: Public Health Foundation, 2007: 295-306
- 魏升云, 张淑珍, 方鹤松. 轮状病毒肠炎研究进展. 临床儿科杂志 2004; 22: 409-411
- Li T, Puhan MA, Vedula SS, Singh S, Dickersin K. Network meta-analysis-highly attractive but more methodological research is needed. *BMC Med* 2011; 9: 79
- Jadad AR, Moore RA, Carroll D, Jenkinson C, Reynolds DJ, Gavaghan DJ, McQuay HJ. Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: is blinding necessary? *Control Clin Trials* 1996; 17: 1-12
- 蔡兴仁, 郑淑娇. 妈咪爱与潘生丁治疗婴幼儿轮状病毒肠炎132例报告. 海峡药学 2002; 14: 83-84
- 刘东海, 刘小玲. 妈咪爱与思密达联用治疗小儿轮状病毒性肠炎临床疗效观察. 中国妇幼保健 2008; 23: 2913-2914
- 王聪聪, 郑敬阳, 卓志强. 双歧三联活菌制剂治疗轮状病毒肠炎150例疗效观察. 福建医药杂志 2002; 24: 114-115
- 高小英. 小儿肠胃康与金双歧治疗小儿轮状病毒性肠炎127例疗效分析. 中华综合临床医学杂志 2006; 8: 41-42
- 张亚维. 新博林治疗婴幼儿急性轮状病毒性肠炎的临床观察. 实用医技杂志 2005; 12: 1947-1948
- 陈鹏, 王琴, 陈静. 大蒜素注射液辅助轮状病毒腹泻病的临床观察. 时珍国医国药 2006; 17: 1053
- 赖小英. 儿泻停联合思密达治疗轮状病毒性肠炎168例. 现代中西医结合杂志 2007; 16: 49
- 张学森. 番石榴叶治疗小儿病毒性腹泻的临床研究. 第一军医大学, 2006: 1-57
- 金玉, 董巧丽, 李宇宁. 抗轮状病毒免疫球蛋白对轮状病毒肠炎疗效的研究. 小儿急救医学 2004; 11: 366-368
- 蔡少华, 袁凯, 张云. 利巴韦林联合双八面体蒙脱石治疗轮状病毒肠炎的疗效分析. 第二军医大学学报 2004; 25: 574-575
- 单良, 饶敏. 两种方法治疗婴幼儿轮状病毒肠炎的疗效观察. 西南军医 2010; 12: 1123-1124
- 张静宇, 张占玲, 张静波. 七味利湿散治疗婴幼儿轮状病毒肠炎102例. 环球中医药 2011; 4: 61-62
- 崔明辰, 李成宏. 神阙穴隔药灸治疗小儿秋季腹泻临床观察. 中国针灸 2008; 28: 194-196
- 黄红香, 钟丽华. 思密达保留灌肠治疗婴幼儿急性轮状病毒性肠炎疗效观察. 中华临床医药与护理 2005; 3: 57-59
- 谢苛蔓. 思密达治疗轮状病毒性肠炎效果观察. 中国医药导报 2010; 7: 69, 71
- 周雪莲. 思密达治疗婴幼儿轮状病毒肠炎疗效观察. 浙江中西医结合杂志 1996; 6: 23-24
- 熊永新, 谢春奇, 周艳. 消旋卡多曲联合蒙脱石散治疗婴幼儿轮状病毒肠炎疗效观察. 社区医学杂志 2008; 6: 16
- 邓寅业. 消旋卡多曲与西咪替丁联用治疗小儿轮状病毒肠炎的疗效观察. 中国临床新医学 2010; 3: 891-893
- 李传红. 鱼腥草联合苍朮止泻口服液治疗轮状病毒性肠炎50例. 中原医刊 2006; 33: 83
- 张凤丽. 运脾化湿法治疗小儿轮状病毒肠炎的临床研究. 南京中医药大学, 2009: 1-32
- 胡红, 俞建. 植曲助消化剂治疗婴幼儿轮状病毒肠炎疗效观察. 上海中医药杂志 2007; 41: 56-57
- 杨英, 梅其霞. 葡萄糖酸锌治疗小儿轮状病毒腹泻332例疗效观察. 重庆医学 2008; 37: 2442, 2445
- 邹新英, 刘培辉. 秋泻灵合剂佐治婴幼儿轮状病毒性肠炎疗效观察. 临床医药实践 2009; 2: 1598-1599
- 张丽卓. 思密达联合妈咪爱治疗婴幼儿轮状病毒肠炎的疗效观察. 中华中西医杂志 2009; 7: 48-49
- 周兴燕, 刘俊静. 思密达联合妈咪爱治疗幼儿轮状病毒肠炎的疗效观察. 西南军医 2010; 12: 1140-1141
- 陈霞, 易湘平, 黎建丽, 汤淑斌. 西咪替丁辅助治疗轮状病毒性肠炎效果观察. 临床误诊误治 2009; 22: 50-51
- 刘治学, 徐朝辉, 江忠. 消旋卡多曲颗粒治疗婴幼儿轮状病毒肠炎43例. 实用儿科临床杂志 2007; 22: 1497-1498
- 王紫荆. 消旋卡多曲治疗婴幼儿轮状病毒肠炎临床疗效观察. 中外医学研究 2009; 7: 60-61
- 张素玲. 中西医结合治疗婴幼儿轮状病毒肠炎疗效观察. 贵阳医学院学报 2005; 30: 257-258
- 邓孝智, 唐利民. 杜拉宝治疗小儿轮状病毒肠炎疗效观察. 四川医学 2007; 28: 1172
- 刘艳. 温中运脾法治疗小儿轮状病毒腹泻临床观察. 成都中医药大学, 2007: 1-48
- 呼延佳, 杨欣. 消旋卡多曲联合葡萄糖酸锌治疗婴幼儿轮状病毒性肠炎46例疗效分析. 陕西医学杂志 2010; 39: 1217-1218
- 程光清, 刘敏. 消旋卡多曲治疗婴幼儿轮状病毒肠炎疗效观察. 中国误诊学杂志 2010; 10: 2060-2061
- 马菁. 自拟小儿止泻方治疗轮状病毒肠炎35例. 浙江中医药大学学报 2009; 33: 55-56
- 卫海燕, 张耀东, 高铁铮, 王群思. 更昔洛韦治疗婴幼儿轮状病毒肠炎疗效和动态排毒观察. 实用儿科临床杂志 2005; 20: 68-69
- 刘建设, 田小宁. 蒙脱石散联合干扰素治疗婴幼儿轮状病毒肠炎112例. 临床合理用药 2010; 3: 88-89
- 龙志坚, 李树华. 潘生丁联合思密达治疗婴幼儿轮状病毒腹泻的疗效观察. 实用医技杂志 2007; 14: 2616-2617
- 李晓岚, 刘润莲. 思密达与贝飞达联合灌肠治疗婴幼儿轮状病毒肠炎疗效观察. 中国医师杂志 2008; 10: 253-254
- 王小仙, 刘淑梅, 姚欢银. 消旋卡多曲颗粒治疗婴幼儿轮状病毒性肠炎疗效观察. 儿科学杂志 2007; 13: 49-50
- 张梅. 炎琥宁治疗婴幼儿轮状病毒性肠炎40例疗效观察. 甘肃医药 2010; 29: 313-314
- 李幼平. 循证医学. 第1版. 北京: 高等教育出版社, 2003: 3-6
- 金红芝, 李堃宝. 人肠道微生态系统的研究进展. 自然杂志 2009; 26: 88-91
- 陈宇, 王禹, 杨景云. 婴幼儿轮状病毒肠炎肠道微生态学改变. 黑龙江医药科学 2001; 24: 18-19
- Szajewska H, Dziechciarz P, Mrukowicz J. Meta-analysis: Smectite in the treatment of acute infectious diarrhoea in children. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 23: 217-227

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

《世界华人消化杂志》投稿须知

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被中国科技论文统计源核心期刊、中文核心期刊要目总览收录的学术类期刊。

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》[ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), CN 14-1260/R]是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊。OA最大的优点是面向全国本领域专家及公众开放无需注册, 免费获取PDF等格式的全文, 切实破除了传统性期刊阻碍科学研究成果快速传播的障碍。OA是一项真正意义上的公益性科学传播工具, 编委、作者和读者利益的最大化的目标, 努力推进本学科的繁荣和发展。

《世界华人消化杂志》定价68.00元, 全年2448.00元, 邮发代号82-262, 由世界华人消化杂志编辑部出版。《世界华人消化杂志》主要报道胃肠病学、肝胆病学、胰腺病学、内镜介入与消化外科等多学科的评论及基础研究和临床实践等各类文章, 具体内容涉及: 食管疾病, 如反流性食管炎、Barret's食管、食管静脉曲张和食管癌等; 胃部疾病, 胃食管反流性疾病、胃炎、胃动力障碍、胃出血、胃癌和幽门螺杆菌感染等; 肠道疾病, 如肠道出血、肠穿孔、肠梗阻、肠道炎症(如IBD/CD等)、肠道感染、大肠癌和大肠腺瘤等; 肝胆部疾病如病毒性肝炎、肝硬化、脂肪肝、肝纤维化、肝衰竭、胆石病、胆汁郁积、梗阻性黄疸、肝癌、胆囊癌、胆管癌和门静脉高压等; 胰腺疾病, 如胰腺炎和胰腺癌等; 全身性疾病涉及消化系统, 如自身免疫性及瘀胆性疾病、腹腔疾病、消化不良和代谢性疾病等; 以及与以上疾病相关的基因及基因组学、微生物及分子生物学、病因学、流行病学、免疫学、临床内外科诊断与治疗(如影像、化疗、移植、营养等); 除以上外, 本刊也报道诊断与筛选、内窥镜检查法、影像及先进技术。

《世界华人消化杂志》被国际检索系统美国《化学文摘》(Chemical Abstracts, CA)、荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBase/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》收录。国内为中国科技论文统计与分析期刊(科技部列选为中国科技论文统计源期刊)、《中文核心期刊要目总览》(2008年版)内科学类的核心期刊、《中国学术期刊评价研究报告-RCCS权威、核心期刊排行榜与指南》

和中国知识资源总库收录。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2010年《世界华人消化杂志》总被引频次3 458次, 影响因子0.694, 综合评价总分60.6分, 分别位居内科学类49种期刊的第5位、第7位、第6位, 分别位居1 998种中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)的第79位、第320位、第190位; 其他指标: 他引率0.83, 被引半衰期4.9, 来源文献量712, 文献选出率0.90, 参考文献量17 963, 平均引文数25.23, 平均作者数4.35, 地区分布数29, 机构分布数349, 基金论文比0.45, 海外论文比0.01。

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

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学术名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP,

PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标. 静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P^H, *H. pylori*不能写成HP, $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T, 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 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d. 3.56 ± 0.27 pg/ml应为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用 1×10^{12} /L, WBC数用 1×10^9 /L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M_r 明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把 1×10^{-3} g与 5×10^{-7} g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数值的文句中, 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

《世界华人消化杂志》为中国科技论文统计源核心期刊(2010年)和中文核心期刊要目总览(北京大学图书馆, 2008年版)收录的学术期刊.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-5908-0035, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

文大写 F ; (3)卡方检验用希文小写 χ^2 ; (4)样本的相关系数用英文小写 r ; (5)自由度用希文小写 ν ; (6)样本数用英文小写 n ; (7)概率用英文斜体大写 P . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 \pm 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$, 平均数 \pm 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$. 统计学显著性用 $^aP < 0.05$, $^bP < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 $^cP < 0.05$, $^dP < 0.01$; 第三套为 $^eP < 0.05$, $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1000-1500 kg, 3.5 mmol/L \pm 0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如 $3614.5 \text{ g} \pm 420.8 \text{ g}$, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成 $3.6 \text{ kg} \pm 0.4 \text{ kg}$, 过多的位数并无意义. 又如 $8.4 \text{ cm} \pm 0.27 \text{ cm}$, 其 $\text{SD}/3 = 0.09 \text{ cm}$, 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; $101 \leq \text{分母} \leq 1000$, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1486800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿

号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾

病研究所。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度。研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准。如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 P , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献。序号一

律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$; 第3套为^e $P<0.05$, ^f $P<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。

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

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。北京报刊发行局发行, 邮发代号: 82-262。

《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。

文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊: 序号, 作者(列出全体作者), 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传。读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程。

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

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

4.2 研究原著写作格式实例

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

4.3 焦点论坛写作格式实例

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

4.4 文献综述写作格式实例

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

4.5 研究快报写作格式实例

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

4.6 临床经验写作格式实例

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

4.7 病例报告写作格式实例

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

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>。审稿过程平均时间需要14-28 d。所有的来

稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审。接受后的稿件作者需缴纳稿件发表费, 文章发表后可获得1本样刊及10套单行本(稿酬)。

6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见寄回给作者修改, 而作者必须于15 d内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料寄回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任。

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有。

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号
远洋国际中心D座903室
电话: 010-5908-0035
传真: 010-8538-1893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

2012年国内国际会议预告

2012-01-04/10

2011全国中医药创新发展学术交流大会

会议地点: 南宁市

联系方式: yxhy2000@163.com

2012-03-16/19

第三十二期全国超声诊断新进展暨介入超声高级研修班

会议地点: 北京市

联系方式: 13311335788@163.com

2012-03-22/25

2012年北京第六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: cmameeting@163.com

2012-03-23/25

国际肝胆胰协会中国分会第五届全国学术研讨会

会议地点: 武汉市

联系方式: lilu19870509@163.com

2012-03-31

第二届国际消化道内镜活检和病理学诊断研讨会

会议地点: 杭州市

联系方式: fyanfei@sina.com

2012-04-06/08

2012年脂质代谢与器官损害国际学术研讨会

会议地点: 重庆市

联系方式: islt2012@yahoo.com.cn

2012-04-27/30

中华医学会2012年第十三届中华肝胆胰脾外科专业学术论坛

会议地点: 九江市

联系方式: zhgdwkzz@vip.163.com

2012-04-20/22

中国医学影像技术研究会第二十六次全国学术大会

会议地点: 济南市

联系方式: camit@vip.163.com

2012-05-26/31

2012年世界医学物理与生物医学工程大会

会议地点: 北京市

联系方式: info@wc2012.org

2012-06-01/03

2012中国北京超声医师学术大会

会议地点: 北京市

联系方式: zhumin301@163.com

2012-06-15/17

第一届糖尿病大会、第二届内分泌与代谢大会

会议地点: 北京市

联系方式: medical585@163.com

2012-06-15/17

第九届全国抗菌药物临床药理学术会议

会议地点: 北京市

联系方式: doctorzhengbo@163.com; liyun1907@sina.com

2012-06-29/07-01

第二十四次全国中西医结合消化学术会议

会议地点: 宁波市

联系方式: qgzxyjhxh@163.com

2012-06-30/07-01

中华医学会肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 哈尔滨市

联系方式: lilyjia@163.com

2012-07-01/31

第一届全国普通外科青年医师学术论坛

会议地点: 北京市

联系方式: cmacjs@cma.org.cn

2012-07-01/31

第二届全国普通外科手术技术学术会议

会议地点: 青岛市

联系方式: lining@126.com

2012-08-25/29

第八届世界华人药物化学研讨会暨第九届IUPAC化学生物学国际研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: liangren@bjmu.edu.cn

2012-08-29/09-01

中华医学会第十一次全国内分泌学学术会议

会议地点: 广州市

联系方式: lilyjia@163.com

2012-09-14/16

中华医学会第十二次全国超声医学学术会议

会议地点: 青岛市

联系方式: lilyjia@163.com

2012-10-25/28

第13届亚太临床微生物暨感染病会议(APCCMI)

会议地点: 北京市

联系方式: bianxiaoxue@mpco.cn

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

白爱平 副教授
南昌大学第一附属医院消化内科

白雪巍 副主任医师
哈尔滨医科大学第一临床医学院肝胆胰外科

曹秀峰 教授
南京医科大学附属南京第一医院肿瘤中心

陈海龙 教授
大连医科大学附属第一医院院办

陈建杰 教授
上海中医药大学附属曙光医院(东部)肝病科

陈贻胜 教授
福建省立医院消化内科

陈治水 主任医师
中国人民解放军第二一一医院中医科

樊晓明 主任医师
复旦大学附属金山医院消化科

冯志杰 主任医师
河北医科大学第二医院消化内科

樊晓明 主任医师
复旦大学附属金山医院消化科

高泽立 主任医师
上海交通大学医学院附属第九人民医院周浦分院消化科

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

季国忠 教授
南京医科大学第二附属医院消化科

英卫东 教授
安徽省立医院肝胆外科

姜春萌 教授
大连医科大学附属第二医院消化科

李瑜元 教授
广州市第一人民医院内科

刘丽江 教授
江汉大学医学院病理学与病理生理学教研室

禄韶英 副教授
西安交通大学医学院第一附属医院普外科

倪润洲 教授
南通大学附属医院消化内科

秦环龙 教授
上海交通大学附属第六人民医院外科

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

沈克平 主任医师
上海中医药大学附属龙华医院

石毓君 副研究员
四川大学华西医院外科

谭晓冬 教授
中国医科大学盛京医院胰腺甲状腺外科

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

唐南洪 教授
福建医科大学附属协和医院肝胆外科研究所

王娅兰 教授
重庆医科大学基础医学院病理教研室

王振宁 教授
中国医科大学附属第一医院肿瘤外科

许玲 教授
上海中医药大学附属龙华医院肿瘤科

薛东波 教授
哈尔滨医科大学附属第一医院微创胆道外科