

川芎嗪对肝创伤后早期大鼠残肝组织保护作用的评价

陈战, 窦科峰, 王德盛, 杨平, 蔡佳辰, 李霄, 刘志佳, 李小磊

陈战, 窦科峰, 王德盛, 杨平, 李霄, 李小磊, 中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆胰脾外科 陕西省西安市 710032
蔡佳辰, 中国人民解放军第四军医大学西京医院肿瘤科 陕西省西安市 710032

刘志佳, 中国人民解放军第四军医大学基础部免疫学教研室 陕西省西安市 710032

作者贡献分布: 此课题由陈战、窦科峰、王德盛及李霄设计; 研究过程由陈战、杨平、蔡佳辰、刘志佳及李小磊操作完成; 本论文写作由陈战与李霄完成。

通讯作者: 窦科峰, 教授, 主任医师, 710032, 陕西省西安市, 中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆胰脾外科。
gdwkgwx@fmmu.edu.cn

收稿日期: 2011-09-10 修回日期: 2011-10-20

接受日期: 2011-11-04 在线出版日期: 2011-11-18

Protective effect of ligustrazine on residual liver tissue in rats after hepatectomy

Zhan Chen, Ke-Feng Dou, De-Sheng Wang, Ping Yang, Jia-Chen Cai, Xiao Li, Zhi-Jia Liu, Xiao-Lei Li

Zhan Chen, Ke-Feng Dou, De-Sheng Wang, Ping Yang, Xiao Li, Xiao-Lei Li, Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University of Chinese PLA, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China

Jia-Chen Cai, Department of Clinical Oncology, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University of Chinese PLA, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China

Zhi-Jia Liu, Department of Immunology, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University of Chinese PLA, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China

Correspondence to: Ke-Feng Dou, Professor, Department of Hepatobiliary and Pancreas Surgery, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China. gdwkgwx@fmmu.edu.cn

Received: 2011-09-10 Revised: 2011-10-20

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

Abstract

AIM: To investigate the effect of ligustrazine in alleviating inflammation and inhibiting the activation of NF- κ B in rats after liver trauma.

METHODS: Sixty rats which underwent 2/3 hepatectomy were randomly and equally divided into three groups. Group A was intraperitoneally injected with normal saline, and groups B and C were injected with PDTC and ligustrazine, respectively. The general status of the rats was observed, and changes in serum levels of aminotransferases were measured. Hepatic

pathological changes were examined, and the activation of NF- κ B was investigated by Western blot.

RESULTS: Cellular swelling was milder in group C than in group A. Serum levels of ALT at 6 and 10 h after the operation were significantly lower in group C than in group A (6 h: $488.9 \text{ U/L} \pm 59.2 \text{ U/L}$ vs $651.6 \pm 65.3 \text{ U/L}$; 10 h: $670.0 \text{ U/L} \pm 73.4 \text{ U/L}$ vs $930.0 \text{ U/L} \pm 62.9 \text{ U/L}$; both $P < 0.05$). Serum levels of AST at 6 and 10 h were also significantly lower in group C than in group A (6 h: $1113.1 \text{ U/L} \pm 138.7 \text{ U/L}$ vs $1315.0 \text{ U/L} \pm 111.0 \text{ U/L}$; 10 h: $1388.2 \text{ U/L} \pm 209.6 \text{ U/L}$ vs $1728.4 \text{ U/L} \pm 87.3 \text{ U/L}$; both $P < 0.05$). The levels of activated NF- κ B in group C (0.78 ± 0.04 , 0.75 ± 0.07) were lower than those in group A (both were 1), higher than those in group B (0.68 ± 0.09 , 0.66 ± 0.04) at 2 and 10 h (all $P < 0.05$), but were comparable to that in group B at 6 h (0.71 ± 0.07 vs 0.64 ± 0.09 , $P > 0.05$).

CONCLUSION: Ligustrazine protects the post-traumatic liver tissue possibly by inhibiting the activation of NF- κ B.

Key Words: Ligustrazine; Liver trauma; NF- κ B

Chen Z, Dou KF, Wang DS, Yang P, Cai JC, Li X, Liu ZJ, Li XL. Protective effect of ligustrazine on residual liver tissue in rats after hepatectomy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(32): 3291-3296

摘要

目的: 研究川芎嗪干预对68%(2/3)肝切除大鼠术后残肝组织的保护作用, 以及其对肝脏核因子 κ B(NF- κ B)激活的影响。

方法: 60只SD大鼠随机分成3组(每组20只), 均行68%(2/3)肝切除术。术后30 min分别给予以下处理: A组腹腔注射生理盐水, B组注射吡咯烷二硫代氨基甲酸甲酸盐(PDTC), C组注射川芎嗪。术后2 h、6 h、10 h和24 h观察各组大鼠术后一般情况和血清转氨酶变化。组织切片观察残肝组织病理状况, Western-blot方法检测NF- κ B的激活。

结果: C组大鼠残肝组织切片细胞水肿较A组

■背景资料

NF- κ B广泛存在于各类细胞, 参与多种细胞因子基因的表达活化过程。NF- κ B在肝脏中的作用比较复杂。报道认为NF- κ B可以通过调控TNF α 、IL-6、集落刺激因子和细胞黏附因子等的表达, 参与肝脏炎症反应、肝细胞凋亡、肝纤维化等过程。

■同行评议者

王蒙, 副教授, 第二军医大学附属东方肝胆外科医院肝外综合治疗一科

■ 研发前沿

中医药治疗肝创伤是目前研究的热点,同时其机理研究也是该研究的重点。

轻;丙氨酸氨基转氨酶(ALT)在6 h($488.9 \text{ U/L} \pm 59.2 \text{ U/L}$)、10 h($670.0 \text{ U/L} \pm 73.4 \text{ U/L}$),较A组($651.6 \text{ U/L} \pm 65.3 \text{ U/L}$, $930.0 \text{ U/L} \pm 62.9 \text{ U/L}$)低, $P < 0.05$;天门冬氨酸氨基转移酶(AST)在6 h($1113.1 \text{ U/L} \pm 138.7 \text{ U/L}$)、10 h($1388.2 \text{ U/L} \pm 209.6 \text{ U/L}$),较A组($1315.0 \text{ U/L} \pm 111.0 \text{ U/L}$, $1728.4 \text{ U/L} \pm 87.3 \text{ U/L}$)低, $P < 0.05$;NF- κ B的激活在术后2 h(0.78 ± 0.04)和10 h(0.75 ± 0.07)均低于A组(均为1),高于B组(0.68 ± 0.09 , 0.66 ± 0.04), $P < 0.05$, 6 h(0.71 ± 0.07)低于A组(1), $P < 0.05$,与B组(0.64 ± 0.09)接近, $P > 0.05$ 。

结论: 川芎嗪通过抑制NF- κ B的激活,对创伤后肝组织产生保护作用,其保护作用接近于PDTC。

关键词: 川芎嗪;肝创伤;NF- κ B

陈战, 窦科峰, 王德盛, 杨平, 蔡佳辰, 李霄, 刘志佳, 李小磊. 川芎嗪对肝创伤后早期大鼠残肝组织保护作用的评价. 世界华人消化杂志 2011; 19(32): 3291-3296
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3291.asp>

0 引言

肝创伤是临床最常见的外伤之一,在交通事故等暴力伤中占较大比例^[1-5],同时,肝叶和半肝切除造成的医源性肝创伤的发生率也逐年升高。如何促进肝创伤后的修复是普通外科医师面临的重要课题。核因子 κ B(NF- κ B)通路是肝创伤修复诸多生理病理反应的重要信号通路^[6-10]。我科实验室既往实验表明,用特异性阻断剂吡咯烷二硫代氨基甲酸酯(PDTC)阻断NF- κ B通路,对创伤后肝脏可产生保护作用^[11,12],相关文献也支持这一论断^[13,14]。但PDTC作为人工合成的化学药物,其安全性尚未证实,目前尚未能在临床得以实际应用。近年来,手术配合中医药治疗肝创伤有较多成功报道,其相应机制探索也成为研究热点^[15-18]。川芎嗪(Ligustrazine)是川芎的主要有效成分之一,提取自川芎的根,属酰胺类生物碱,化学结构为四甲基吡嗪。心脑血管相关研究报道,川芎嗪具有强烈的抑制血管收缩作用,并减少肿瘤坏死因子 α (TNF- α)和多种白介素(包括IL-4、IL-6等)的产生,从而保护组织细胞^[19-21]。在其他组织器官的研究中,已发现其与NF- κ B可能存在关系^[22-23]。我们将川芎嗪引入肝创伤术后的治疗,以观察其对创伤后肝脏是否具有保护作用和对早期NF- κ B激活的影响,并与PDTC作对照,比较两者作用差别。

1 材料和方法

1.1 材料 SD大鼠由第四军医大学动物实验中心提供,体质量280-320 g,约8 wk。PDTC和全蛋白提取试剂盒(RIPA)购自碧云天生物技术研究,川芎嗪注射剂为哈尔滨三联药业公司产品。NF- κ B p65单抗购自Santa Cruz生物科技公司。

1.2 方法

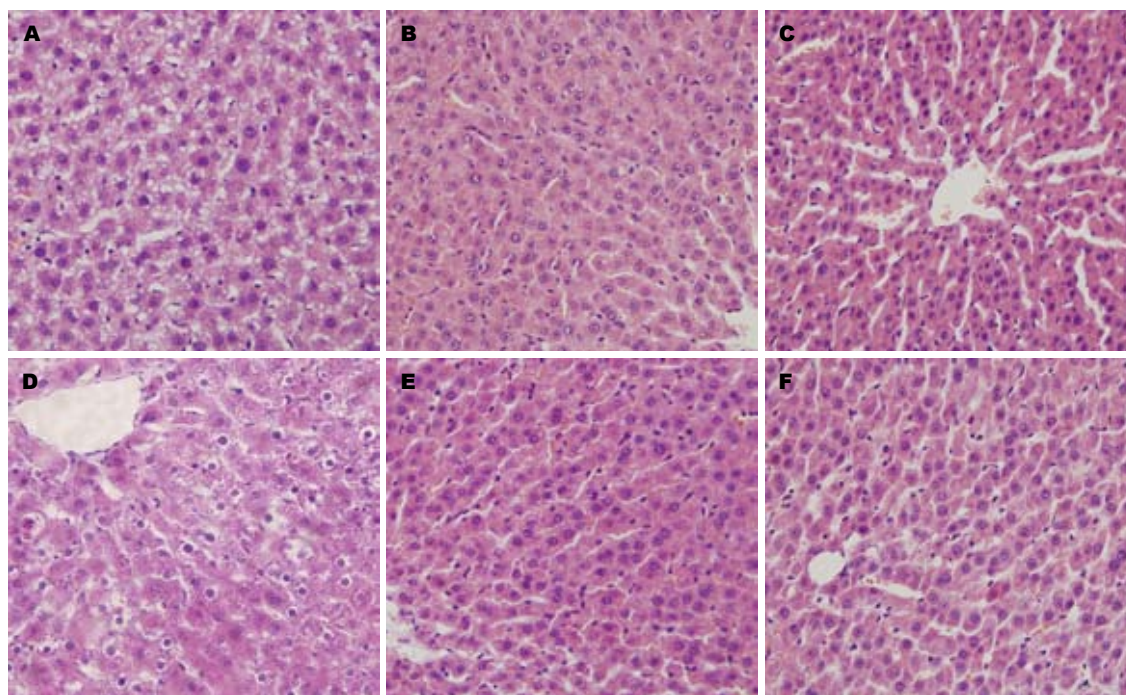
1.2.1 动物分组和处理: 将60只大鼠完全随机分配到3组:生理盐水组(A组)、PDTC组(B组)和川芎嗪组(C组),每组20只。所有大鼠均以0.3%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉下,参照Higgins创建的方法,切除大鼠肝左叶和中叶,即68%(2/3)肝切除术。术后30 min, A组腹腔注射0.9%氯化钠注射液(10 mL/kg 体质量); B组大鼠腹腔注射 10 mg/mL PDTC(100 mg/kg 体质量); C组大鼠腹腔注射 10 mg/mL 川芎嗪(100 mg/kg 体质量)。分别于术后2 h、6 h、10 h和24 h(每时间点5只)麻醉大鼠,取出残肝组织。大鼠术前和取残肝组织前均留取静脉血,静置后高速离心,取血清待检。

1.2.2 检测: 部分残肝组织以10%甲醛溶液固定,48 h后作病理切片,HE染色,光学显微镜(200倍)下观察。所取血清送检丙氨酸氨基转氨酶(ALT)和天门冬氨酸氨基转移酶(AST),以判断大鼠肝功能情况。另取部分残肝组织提取全蛋白行Western-blot检测,以NF- κ B亚基p65的检出量反映NF- κ B的激活情况。过程遵循常规程序:每个样品取40 mg残肝组织遵照全蛋白提取试剂盒说明提取全蛋白,10%SDS-聚丙烯酰胺电泳并转移至硝酸纤维素膜。所用抗体主要包括兔抗鼠NF- κ B p65单抗(Santa Cruz Biotech, Santa Cruz, CA, USA, 1:200稀释),山羊抗鼠 β -actin单抗(博士德生物制品公司,武汉,中国,1:500稀释),结合IRDye800的荧光二抗(Rockland Inc, Gilbertsville, PA, USA, 1:20 000稀释)等,经奥德赛红外图像处理系统扫描,并用Gelpro32软件分析,获取目的条带整合光吸光度(Integrated optical density, I4)和内参 β -actin光吸光度(β -actin/A)。为减小多次实验之间的误差干扰,参照文献方法^[24,25],以“I4/ β -actin/A”值作统计学分析。

统计学处理 实验结果以mean \pm SD表示,所有数据利用SPSS13.0处理,组间比较应用单因素方差分析, LSD-*t*检验。以 $P < 0.05$ 为检验标准。

2 结果

2.1 一般情况观察 大鼠术后均存活,均在术后2 h内苏醒,2-4 h开始进食饮水,8-10 h可自如活动,



■创新盘点
首次采用创伤后给药的形式, 与创伤救治方式更为接近。

图1 胰大鼠术后2 h和10 h残肝组织切片(HE染色). A-C: 2 h; D-F: 10 h; A, D: A组; B, E: B组; C, F: C组.

表1 大鼠术后血清ALT水平 (U/L)

分组	2 h	6 h	10 h	24 h
A组	203.0 ± 29.5	651.6 ± 65.3	930.0 ± 62.9	442.3 ± 79.4
B组	242.4 ± 64.1	402.0 ± 48.4	589.7 ± 70.8	471.3 ± 72.9
C组	199.1 ± 36.5	488.9 ± 59.2 ^{ac}	670.0 ± 73.4 ^{ac}	482.8 ± 53.2

^a $P < 0.05$, C组 vs A组; ^c $P < 0.05$, C组 vs B组; 大鼠术前ALT, (29.94 ± 8.1) U/L.

表2 大鼠术后血清AST水平 (U/L)

分组	2 h	6 h	10 h	24 h
A组	492.7 ± 130.4	1315.0 ± 111.0	1728.4 ± 87.3	809.0 ± 128.8
B组	529.3 ± 150.3	995.4 ± 140.7	1294.5 ± 103.4	678.4 ± 84.5
C组	471.7 ± 122.2	1113.1 ± 138.7 ^a	1388.2 ± 209.6 ^{ac}	730.7 ± 127.7

^a $P < 0.05$ vs A组; ^c $P < 0.05$ vs B组.

24 h均恢复到术前状态.

2.2 组织切片观察 200倍光学显微镜下观察, B组和C组残肝组织细胞水肿变性等病理变化较A组轻(图1).

2.3 血清ALT和AST检测结果 大鼠术后ALT及AST均明显升高. ALT检测, 2 h及24 h 3组之间没有明显差异, C组在6 h和10 h均低于A组高于B组, $P < 0.05$; AST检测结果与ALT结果类似, 3组在2 h和24 h差异不显著, C组在6 h和10 h均低于A组, 在10 h高于B组($P < 0.05$, 表1, 2).

2.4 Western-blot结果 C组NF- κ B的活化在2 h、6 h及10 h低于A组, 2 h和10 h高于B组, $P < 0.05$; C组与B组在6 h没有统计学差异; 3组在24 h没有显著差异(表3, 图2).

3 讨论

创伤后的肝组织修复再生是一个复杂的过程, 包含细胞增殖、凋亡、炎症反应等多个生理及病理反应, 很多信号传导通路参与其中. 创伤发生后, 一系列迅即-早期基因(Immediate-Early

■应用要点

本文肯定了川芎嗪在肝保护方面的作用,为其临床应用提供一定的实验基础。

表 3 NF- κ B p65 Western-blot结果 (I Δ / β -actin/A)

分组	2 h	6 h	10 h	24 h
A组	1	1	1	1
B组	0.68 \pm 0.09	0.64 \pm 0.09	0.66 \pm 0.04	0.91 \pm 0.07
C组	0.78 \pm 0.04 ^{ac}	0.71 \pm 0.07 ^a	0.75 \pm 0.07 ^{ac}	0.90 \pm 0.07

^a $P < 0.05$ vs A组; ^c $P < 0.05$ vs B组。

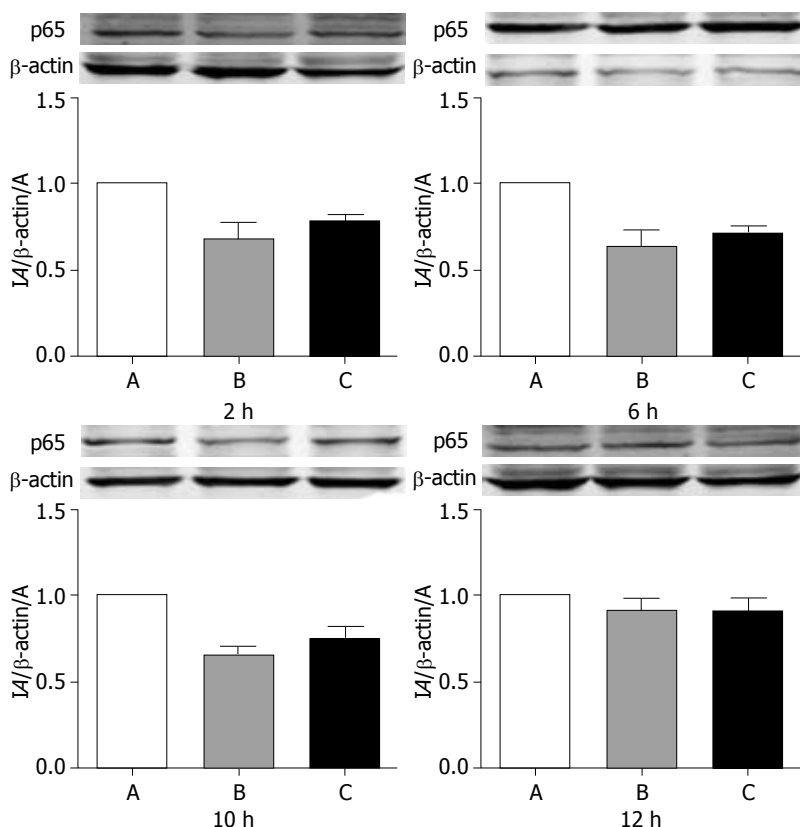


图 2 NF- κ B p65 Western-blot图形及分析. I Δ / β -actin/A, 实验样品目的条带整合光吸光度与内参 β -actin光吸光度的比值对比同次实验A组样品比值所得的比. 3组在24 h没有显著差异; B、C组在6 h没有显著差异; C组在2 h、6 h、10 h均低于A组, $P < 0.05$, 在2 h、10 h高于B组, $P < 0.05$.

Genes)被迅速诱导激活,主要的信号转导通路有JNK、NF- κ B、STAT3等^[26,27]. NF- κ B广泛存在于各类细胞,参与多种细胞因子基因的表达活化过程. NF- κ B家族主要有5个亚基: RelA(p65)、RelB、c-Rel、p50(p105)和p52(p100). NF- κ B非活化时与I κ B亚基结合以三聚体的形式存在于细胞质中,当受到脂多糖(LPS)、肿瘤坏死因子 α (TNF α)等传导的刺激信号时, I κ B磷酸化与NF- κ B解聚,活化的NF- κ B进入胞核,与靶基因结合^[28-30]. NF- κ B在肝脏中的作用比较复杂,报道认为NF- κ B可以通过调控TNF α 、IL-6、集落刺激因子和细胞黏附因子等的表达,参与肝脏炎症反应、肝细胞凋亡、肝纤维化等过程^[31].

PDTTC作用位点明确,但文献报道的效应并

不一致,有文献认为PDTTC的抑制作用使NF- κ B介导的炎症反应减轻,减少细胞凋亡和纤维化形成,因而在毒素、缺血再灌注等造成的损伤中有保护作用^[11-14,32]. 川芎嗪具有抗凝、抑制血小板聚集、扩张血管、改善微循环、抗内皮素和保护血管内皮、抗氧化和钙拮抗作用等广泛的生物作用^[19-21,33-35]. 目前主要用于心脑血管疾病的临床治疗.

我们的实验显示,川芎嗪干预的大鼠血清转氨酶水平明显较对照组降低;病理切片也显示,其炎性细胞浸润较对照组少,细胞变性坏死较对照组轻微. 可以认为川芎嗪的干预降低了残肝组织的炎症反应,减轻了残肝组织损伤,发挥了保护效应. 虽然川芎嗪干预的大鼠转氨酶降

低幅度较PDTC组略小,但其总体保护效果接近于PDTC干预的大鼠,表明其作为已经应用于临床的药物可能具有新的临床应用价值,有进行进一步实验观察的价值。

既往实验表明,PDTC的保护作用与其对NF- κ B的抑制密切相关,PDTC通过抑制NF- κ B通路,减轻了炎症反应,减少了细胞凋亡等负面反应。我们的实验也证明,应用川芎嗪的大鼠,其残肝组织NF- κ B的激活较对照组低,而与PDTC组接近,从而提示川芎嗪可能也是通过相同的通路达到近似的保护残肝组织效果。我们将在下一步的实验中进一步的观察研究。

4 参考文献

- 1 Miller PR, Croce MA, Bee TK, Malhotra AK, Fabian TC. Associated injuries in blunt solid organ trauma: implications for missed injury in nonoperative management. *J Trauma* 2002; 53: 238-242; discussion 242-244
- 2 Clancy TV, Gary Maxwell J, Covington DL, Brinker CC, Blackman D. A statewide analysis of level I and II trauma centers for patients with major injuries. *J Trauma* 2001; 51: 346-351
- 3 Bardenheuer M, Obertacke U, Waydhas C, Nast-Kolb D. [Epidemiology of the severely injured patient. A prospective assessment of preclinical and clinical management. AG Polytrauma of DGU]. *Unfallchirurg* 2000; 103: 355-363
- 4 Matthes G, Stengel D, Seifert J, Rademacher G, Mutze S, Ekkernkamp A. Blunt liver injuries in polytrauma: results from a cohort study with the regular use of whole-body helical computed tomography. *World J Surg* 2003; 27: 1124-1130
- 5 Shanmuganathan K, Mirvis SE, Chiu WC, Killeen KL, Hogan GJ, Scalea TM. Penetrating torso trauma: triple-contrast helical CT in peritoneal violation and organ injury—a prospective study in 200 patients. *Radiology* 2004; 231: 775-784
- 6 Takahashi T, Togo S, Kumamoto T, Watanabe K, Kubota T, Ichikawa Y, Endo I, Kunisaki C, Nagashima Y, Fujimoto J, Shimada H. Transfection of NF-kappaB decoy oligodeoxynucleotides into macrophages reduces murine fatal liver failure after excessive hepatectomy. *J Surg Res* 2009; 154: 179-186
- 7 Vainer GW, Pikarsky E, Ben-Neriah Y. Contradictory functions of NF-kappaB in liver physiology and cancer. *Cancer Lett* 2008; 267: 182-188
- 8 Devi SS, Mehendale HM. The role of NF-kappaB signaling in impaired liver tissue repair in thioacetamide-treated type 1 diabetic rats. *Eur J Pharmacol* 2005; 523: 127-136
- 9 Giakoustidis DE, Giakoustidis AE, Iliadis S, Koliakou K, Antoniadis N, Kontos N, Papanikolaou V, Papageorgiou G, Kaldrimidou E, Takoudas D. Attenuation of liver ischemia/reperfusion induced apoptosis by epigallocatechin-3-gallate via down-regulation of NF-kappaB and c-Jun expression. *J Surg Res* 2010; 159: 720-728
- 10 Watson MR, Wallace K, Gieling RG, Manas DM, Jaffray E, Hay RT, Mann DA, Oakley F. NF-kappaB is a critical regulator of the survival of rodent and human hepatic myofibroblasts. *J Hepatol* 2008; 48: 589-597
- 11 王磊, 窦科峰, 于丽萍. PDTC对缺血再灌注复合内毒素血症所致急性肝损伤的保护作用. 第四军医大学学报 2004; 25: 950-952
- 12 王磊, 于丽萍, 窦科峰. 吡咯烷二硫代氨基甲酸酯对缺血再灌注所致肝损伤的保护作用. 中国临床康复 2004; 8: 2070-2071
- 13 Uwe S. Anti-inflammatory interventions of NF-kappaB signaling: potential applications and risks. *Biochem Pharmacol* 2008; 75: 1567-1579
- 14 Surh YJ, Chun KS, Cha HH, Han SS, Keum YS, Park KK, Lee SS. Molecular mechanisms underlying chemopreventive activities of anti-inflammatory phytochemicals: down-regulation of COX-2 and iNOS through suppression of NF-kappa B activation. *Mutat Res* 2001; 480-481: 243-268
- 15 苗青旺, 田伟, 王新瑞. 丹参素对肝硬变大鼠部分切除术后肝再生的影响. 中国药物与临床 2009; 9: 502-503
- 16 韩振国, 赵浩亮, 苗青旺. 丹参素和泮托拉唑对肝硬化大鼠肝部分切除术后肝再生的影响研究. 中国药物与临床 2004; 4: 940-942
- 17 朱晓琴, 雷水生. 川芎嗪对小鼠化学性肝损伤保护作用的实验研究. 辽宁中医杂志 2008; 35: 138-140
- 18 雒光强. 葛根素对大鼠肝脏缺血再灌注损伤后NF- κ B表达的影响. 医学研究杂志 2009; 38: 111-112
- 19 陈玮, 陈维雄, 金涌, 陆允敏. 川芎嗪对实验性肝纤维化大鼠TNF- α 、IL-4和IFN- γ 表达的影响. 世界临床药物 2010; 31: 153-156
- 20 王振猛, 张鹏, 唐乙, 宋少华, 刘芳, 俞卫锋. 川芎嗪对大鼠肝脏缺血再灌注损伤的保护作用. 药学服务与研究 2010; 10: 30-33
- 21 缪心军, 袁国栋, 陈玉熹, 黄节, 徐克, 蒋贤高, 尤荣开, 蔡平平. 川芎嗪联合依达拉奉对脓毒症大鼠自由基及细胞因子的影响. 实用医学杂志 2009; 25: 2038-2040
- 22 赵琳, 何苗, 魏敏杰. 川芎嗪对三氯化铝致阿尔茨海默病模型小鼠学习记忆能力的影响. 中国行为医学科学 2008; 17: 878-880
- 23 潘法. 川芎嗪对哮喘患者外周血核因子- κ B和白细胞介素-10的影响及临床疗效观察. 实用医学杂志 2009; 14: 2297-2299
- 24 Cheng O, Ostrowski RP, Liu W, Zhang JH. Activation of liver X receptor reduces global ischemic brain injury by reduction of nuclear factor-kappaB. *Neuroscience* 2010; 166: 1101-1109
- 25 Li Y, Shen L, Cai L, Wang Q, Hou W, Wang F, Zeng Y, Zhao G, Yao L, Xiong L. Spatial-temporal expression of NDRG2 in rat brain after focal cerebral ischemia and reperfusion. *Brain Res* 2011; 1382: 252-258
- 26 Tarlá MR, Ramalho FS, Ramalho LN, Silva Tde C, Brandão DF, Ferreira J, Silva Ode C, Zucoloto S. A molecular view of liver regeneration. *Acta Cir Bras* 2006; 21 Suppl 1: 58-62
- 27 Michalopoulos GK. Liver regeneration after partial hepatectomy: critical analysis of mechanistic dilemmas. *Am J Pathol* 2010; 176: 2-13
- 28 Sen R, Baltimore D. Inducibility of kappa immunoglobulin enhancer-binding protein NF-kappa B by a posttranslational mechanism. *Cell* 1986; 47: 921-928
- 29 Chakraborty JB, Mann DA. NF-kappaB signalling: embracing complexity to achieve translation. *J Hepatol* 2010; 52: 285-291
- 30 Niederberger E, Geisslinger G. Analysis of NF-kappaB signaling pathways by proteomic approaches. *Expert Rev Proteomics* 2010; 7: 189-203
- 31 Li JD, Peng Y, Peng XY, Li QL, Li Q. Suppression

■名词解释

川芎嗪(Ligustrazine)是川芎的主要有效成分之一,提取自川芎的根,属酰胺类生物碱,化学结构为四甲基吡嗪。

■同行评价

本文的设计和思路很好,对肝创伤的临床治疗提供了一定的借鉴和参考。

of nuclear factor-kappaB activity in Kupffer cells protects rat liver graft from ischemia-reperfusion injury. *Transplant Proc* 2010; 42: 1582-1586

32 李英华,田晓峰,王真真,张雪松,张峰,金松,姚继红. NF- κ B对肠缺血再灌注肝损伤P-选择素表达和中性粒细胞浸润的作用. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 486-490

33 孙建华. 脑梗死患者脑循环动力学改变和川芎嗪对急

性缺血性脑损伤的保护作用. *中国中西医结合急救杂志* 2005; 12: 248-249

34 何劲松,印荻,朱桂松. 川芎嗪对高糖诱导后人腹膜间皮细胞血管内皮生长因子表达的影响. *中国生化药物杂志* 2008; 29: 382-384

35 董京燕,莫晓芬,张萌. 川芎嗪促进大鼠视网膜神经节细胞轴突再生的实验研究. *中国眼耳鼻喉科杂志* 2009; 9: 86-88

编辑 李军亮 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》出版流程

本刊讯 《世界华人消化杂志》[ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), CN 14-1260/R]是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊,每月8、18、28号按时出版. 具体出版流程介绍如下:

第一步 作者提交稿件: 作者在线提交稿件(<http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>), 提交稿件中出现问题可以发送E-mail至submission@wjgnet.com咨询, 编务将在1个工作日内回复.

第二步 审稿: 送审编辑对所有来稿进行课题查新, 并进行学术不端检测, 对不能通过预审的稿件直接退稿, 通过预审的稿件送交同行评议专家进行评议. 编辑部主任每周一组织定稿会, 评估审稿人意见, 对评审意见较高, 文章达到本刊发表要求的稿件送交总编辑签发拟接受, 对不能达到本刊发表要求的稿件退稿.

第三步 编辑、修改稿件: 科学编辑严格根据编辑规范要求编辑文章, 包括全文格式、题目、摘要、图表科学性和参考文献; 同时给出退修意见送作者修改. 作者修改稿件中遇到问题可以发送E-mail至责任科学编辑, 责任科学编辑在1个工作日内回复. 为保证文章审稿意见公平公正, 本刊对每一篇文章均增加该篇文章的同行评议者和同行评论, 同时配有背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点和名词解释, 供非专业人士阅读了解该领域的最新科研成果.

第四步 录用稿件: 作者将稿件修回后, 编辑部主任组织第2次定稿会, 评估作者修回稿件质量. 对修改不合格的稿件通知作者重修或退稿, 对修改合格的稿件送总编辑终审, 合格后发正式录用通知. 稿件正式录用后, 编务通知作者缴纳出版费, 出版费缴纳后编辑部安排生产, 并挂号将缴费发票寄出.

第五步 排版制作: 电子编辑对稿件基本情况进行审核, 核对无误后, 进行稿件排版及校对、图片制作及参考文献核对. 彩色图片保证放大400%依然清晰; 中文参考文献查找全文, 核对作者、题目、期刊名、卷期及页码, 英文参考文献根据本杂志社自主研发的“参考文献检测系统”进行检测, 确保作者、题目、期刊名、卷期及页码准确无误. 排版完成后, 电子编辑进行黑马校对, 消灭错别字及语句错误.

第六步 组版: 本期责任电子编辑负责组版, 对每篇稿件图片校对及进行质量控制, 校对封面、目次、正文页码和书眉, 修改作者的意见, 电子编辑进行三校. 责任科学编辑制作整期中英文摘要, 并将英文摘要送交英文编辑进一步润色. 责任电子编辑再将整期进行二次黑马校对. 责任科学编辑审读本期的内容包括封面、目次、正文、表格和图片, 并负责核对作者、语言编辑和语言审校编辑的清样, 负责本期科学新闻稿的编辑.

第七步 印刷、发行: 编辑部主任和主编审核清样, 责任电子编辑通知胶片厂制作胶片, 责任科学编辑、电子编辑核对胶片无误送交印刷厂进行印刷. 责任电子编辑制作ASP、PDF、XML等文件. 编务配合档案管理员邮寄杂志.

第八步 入库: 责任电子编辑入库, 责任科学编辑审核, 包括原始文章、原始清样、制作文件等.

《世界华人消化杂志》从收稿到发行每一步都经过严格审查, 保证每篇文章高质量出版, 是消化病学专业人士发表学术论文首选的学术期刊之一. 为保证作者研究成果及时公布, 《世界华人消化杂志》保证每篇文章16 wk内完成. (编辑部主任: 李军亮 2010-01-18)

抑制JAK/STAT3信号通路对重症急性胰腺炎肾损伤的保护作用

李敏利, 张晓华, 朱人敏, 杨妙芳, 王 斌

李敏利, 张晓华, 朱人敏, 杨妙芳, 王斌, 中国人民解放军南京军区总医院消化内科 江苏省南京市 210002
李敏利, 硕士, 主要从事急性胰腺炎及相关疾病的研究.

中国人民解放军南京军区南京总医院科研基金资助项目, No. 2009020

作者贡献分布: 此课题由张晓华与朱人敏设计, 研究过程由李敏利、杨妙芳及王斌操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由张晓华提供; 数据分析由李敏利、朱人敏及杨妙芳完成; 本论文写作由李敏利完成.

通讯作者: 张晓华, 210002, 江苏省南京市, 中国人民解放军南京军区总医院消化内科. jszhxh@sina.com

电话: 0258-0863171

收稿日期: 2011-06-27 修回日期: 2011-10-25

接受日期: 2011-11-04 在线出版日期: 2011-11-18

Inhibition of the JAK/STAT3 signaling pathway reduces acute renal injury in rats with experimental severe acute pancreatitis

Min-Li Li, Xiao-Hua Zhang, Ren-Min Zhu, Miao-Fang Yang, Bin Wang

Min-Li Li, Xiao-Hua Zhang, Ren-Min Zhu, Miao-Fang Yang, Bin Wang, Department of Gastroenterology, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, Nanjing 210002, Jiangsu Province, China

Supported by: the Research Foundation of Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command, No. 2009020

Correspondence to: Xiao-Hua Zhang, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, Nanjing 210002, Jiangsu Province, China. jszhxh@sina.com
Received: 2011-06-27 Revised: 2011-10-25

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

Abstract

AIM: To investigate whether inhibition of the JAK/STAT3 signaling pathway exerts a protective effect against acute renal injury in rats with experimental severe acute pancreatitis (SAP) and to explore the potential mechanisms involved.

METHODS: Fifty-six male SD rats were randomly divided into three groups: control group, SAP group and JAK inhibitor (AG490)-treated group. A rat model of SAP was reproduced by retrograde infusion of 4% sodium taurocholate into the biliopancreatic duct. The levels of serum amylase (AMY), creatinine (Cr) and urea nitro-

gen (BUN) were measured. The concentrations of IL-6 and TNF- α were determined by ELISA. Pathological changes in the pancreas and kidney were evaluated. The expression of STAT3 and p-STAT3 in the kidney was determined by Western blotting.

RESULTS: Compared to the normal control group, pancreatic and renal injuries were gradually aggravated with disease progression, and serum levels of IL-6, TNF- α , AMY, Cr and BUN and expression of STAT3 and p-STAT3 increased significantly (all $P < 0.01$) in the SAP group. In the AG490-treated group, all the above parameters improved significantly in comparison with those in the SAP model group (all $P < 0.01$).

CONCLUSION: The JAK/STAT3 signaling pathway is involved in the development of renal injury in rats with SAP, and inhibition of this pathway can significantly inhibit excessive STAT3 activation, which may in turn effectively reduce renal injury.

Key Words: STAT3; Severe acute pancreatitis; Renal injury; Cytokines

Li ML, Zhang XH, Zhu RM, Yang MF, Wang B. Inhibition of the JAK/STAT3 signaling pathway reduces acute renal injury in rats with experimental severe acute pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(32): 3297-3301

摘要

目的: 探讨抑制JAK/STAT3信号通路对重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)肾损伤作用的实验研究.

方法: δ SD大鼠($n = 56$)随机分为3组: 对照组、SAP造模组和JAK抑制剂-AG490治疗组. 以4%牛磺胆酸钠胰胆管逆行注射诱导大鼠SAP模型. 动态检测血清淀粉酶(AMY)、肌酐(Cr)、尿素氮(BUN)水平; ELISA法检测血清IL-6及TNF- α 表达情况; 光镜下观察胰腺及肾脏病理变化; Western blotting法检测STAT3及p-STAT3在肾脏中蛋白表达水平.

■背景资料

JAK/STAT信号通路作为重要的炎症反应性通路, 参与多种炎症介质介导的信号转导过程, 早期阻断JAK/STAT信号通路可在一定程度上缓解SAP炎症反应及胰外器官损伤.

■同行评议者

刘超, 副教授, 中山大学孙逸仙纪念医院肝胆胰外科; 白雪巍, 副教授, 哈尔滨医科大学第一临床医学院肝胆胰外科

■研究前沿

JAK/STAT3信号通路是参与SAP并发肾损伤的一条重要信号通路, SAP时释放大炎症介质激活JAK/STAT3信号通路, 介导IL-6和TNF- α 表达上调, 在SAP病程中起重要调节作用。

结果: 与正常对照组比较, SAP各组胰腺和肾脏病理损伤程度随病情进展逐渐加重, AMY、Cr、BUN水平均明显升高($P<0.01$), IL-6及TNF- α 表达水平显著上调($P<0.01$), STAT3及p-STAT3表达明显增加, 且18 h后达高峰; AG490处理后, 上述各指标与SAP各组同时时间点均显著降低($P<0.01$), AG490治疗组病理损伤改善程度优于SAP组。

结论: JAK/STAT3信号通路参与了SAP肾损伤的病理过程, 抑制JAK/STAT3可以明显抑制STAT3的过度激活, 有效减轻大鼠SAP时的炎症反应和肾损伤。

关键词: STAT3; 重症急性胰腺炎; 肾损伤; 细胞因子

李敏利, 张晓华, 朱人敏, 杨妙芳, 王斌. 抑制JAK/STAT3信号通路对重症急性胰腺炎肾损伤的保护作用. 世界华人消化杂志 2011; 19(32): 3297-3301

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3297.asp>

0 引言

SAP是临床常见重症之一, 多数患者常伴有局部并发症, 部分合并为全身炎症反应综合征, 导致多脏器功能衰竭, 其中约23%的住院患者可并发急性肾损伤^[1], 同时急性肾损伤是评价SAP预后的重要指标. 近年来研究发现, JAK酪氨酸蛋白激酶激酶(Janus kinase, JAK)信号转导子和转录活化子(signal transducers and activators of transcription, STAT)途径作为重要的炎症反应信号通路, 在炎症反应途径中起重要调节作用. 最新研究表明, 早期阻断JAK/STAT信号通路可在一定程度上缓解SAP炎症反应^[2], 然而有关SAP并发全身炎症反应时, 通过JAK/STAT3信号通路介导炎症因子过度表达导致急性肾损伤的研究目前尚缺乏研究. 本文通过建立SAP模型, 观察抑制JAK/STAT3信号通路对SAP合并急性肾损伤作用的研究, 为临床防治SAP并发肾损伤提供新的理论依据和实验基础。

1 材料和方法

1.1 材料 AG490和牛磺胆酸钠由美国Sigma公司提供; IL-6和TNF- α 试剂盒均由美国ADL公司提供; STAT3及p-STAT3大鼠单克隆抗体由美国Cell Signal公司提供; 兔抗大鼠 β -actin抗体、辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠IgG由武汉博士德公司提供. PVDF膜由美国Millipore公司提供; 酶标仪、PAGE凝胶电泳仪、垂直电泳槽、电泳

凝胶图像分析系统均由美国Bio-Rad公司提供。

1.2 方法

1.2.1 分组及造模: 健康♂SD大鼠56只, 体质量227 g \pm 31 g, 由中国人民解放军南京军区总医院实验动物中心提供. 随机分为3组: 对照组; SAP造模组; JAK抑制剂-AG490治疗组. 后2组再分为6 h、12 h、18 h 3个时间点, 每组各8只SD大鼠, 术前禁食12 h, 禁水6 h. AG490治疗组于造模前30 min腹部皮下注射8.0 mg/kg AG490^[3]. 氯胺酮(100 mg/kg)经腹腔内注射麻醉; 由正中切口进腹, 对照组开腹后翻动胰腺数次; SAP造模组和AG490处理组用显微动脉夹夹闭肝门胆管及十二指肠乳头对系膜肠壁, 用4%牛磺胆酸钠(1 mL/kg), 0.2 mL/min匀速逆行注入胰胆管, 造模结束后过5 min取去动脉夹, 将各脏器回纳至正常解剖位置。

1.2.2 标本收集: 各组大鼠分别于右心房取血, 静置1 h, 3 000 r/min离心20 min, 取血清冻存. 取肾脏组织和胰腺各2份, 1份放入10%中性甲醛溶液中固定24 h, 常规石蜡包埋, 另1份置于-70 °C冰箱中保存备用。

1.2.3 血清淀粉酶(amyase, AMY)、肌酐(creatinine, Cr)、尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)测定: Olympus Au-2700型自动生化分析仪测定。

1.2.4 胰腺及肾组织病理学观察: 胰腺和肾组织标本常规制作病理石蜡切片, HE染色, 在光镜下观察胰腺和肾组织学变化. 胰腺病理评参考Grewal^[4]改良评分标准进行病理评分; 肾脏病理评分参考Fofi等^[5]分级标准进行病理评分。

1.2.5 血清IL-6和TNF- α 含量测定: 酶免疫吸附(ELISA)法检测, 具体步骤严格按试剂盒使用说明书进行操作, 通过绘制标准曲线得出样品中相应细胞因子含量. 该方法检测IL-6及TNF- α 的灵敏度为1 ng/L。

1.2.6 Western blotting检测肾组织中STAT3及p-STAT3表达: 取肾脏组织称重, 液氮、研钵粉碎组织块, RIPA细胞裂解液裂解后冰浴下超声匀浆, 提取总蛋白, 采用Bradford法行总蛋白定量. 各取蛋白100 μ g/孔, 行10%SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离; 电泳结束后, 将蛋白转至PVDF膜上, 封闭后加入兔抗大鼠STAT3及p-STAT3单克隆抗体(1:500稀释); 辣根过氧化物酶标记的羊抗兔二抗(1:1 000稀释). 结果以ECL化学发光检测杂交信号, 以 β -actin作为内参照, 用Image-Pro软件分析仪测定条带灰度值, 以相应条带灰度值表示相对蛋白含量。

统计学处理 数据以mean \pm SD表示, 所有数

表 1 各组大鼠血清中AMY和肾功能指标结果比较 (mean ± SD, $n = 8$)

分组	AMY(U/L)	Cr(μ mol/L)	BUN(mmol/L)
对照组	656.94 ± 53.69	37.41 ± 1.71	3.45 ± 0.31
SAP造模组			
6 h	2542.25 ± 287.511 ^{bd}	57.44 ± 1.19 ^{bd}	9.52 ± 0.61 ^{bd}
12 h	3257.69 ± 237.991 ^{bd}	68.37 ± 1.96 ^{bd}	14.66 ± 0.84 ^{bd}
18 h	4091.13 ± 368.481 ^{bd}	91.78 ± 2.40 ^{bd}	19.53 ± 1.07 ^{bd}
AG490治疗组			
6 h	1614.30 ± 77.16 ^{bd}	42.41 ± 1.63 ^{bd}	7.91 ± 0.45 ^{bd}
12 h	2634.48 ± 97.63 ^{bd}	65.99 ± 3.15 ^{bd}	11.24 ± 0.53 ^{bd}
18 h	3246.94 ± 133.57 ^{bd}	74.58 ± 1.95 ^{bd}	13.61 ± 0.75 ^{bd}

^b $P < 0.01$ vs 对照组; ^d $P < 0.01$ vs SAP组.

据采用SPSS17.0统计软件包处理, 多组均数间比较采用单因素方差分析, 两组均数间比较采用LSD- t 检验进行显著性检验, $P < 0.05$ 表明差异有统计学意义.

2 结果

2.1 血清AMY及肾功能指标变化 对照组血清AMY、Cr、BUN水平均较低; SAP造模组血清AMY、Cr、BUN水平均显著增加($P < 0.01$), 随着作用时间延长逐渐升高, 18 h升至最高值, 与对照组比较有显著性差异($P < 0.01$); AG490治疗后, 与同时时间点SAP组比较AMY、Cr、BUN表达显著减低($P < 0.01$, 表1)

2.2 血清IL-6和TNF- α 含量 各实验组血清均有少量IL-6和TNF- α 蛋白表达; SAP造模组血清IL-6和TNF- α 水平均显著增加($P < 0.01$), 随着作用时间延长逐渐升高, 18 h升至最高值, 与对照组比较有显著性差异($P < 0.01$); AG490治疗后, 与同时时间点SAP组比较IL-6和TNF- α 蛋白表达显著减低($P < 0.01$, 表2).

2.3 组织病理学检查

2.3.1 胰腺组织病理学检查: 对照组胰腺结构正常, 腺泡上皮细胞形态正常化, 胞浆着色均匀, 无出血及炎症细胞浸润. SAP-6 h组胰腺上皮细胞变性、坏死, 胞核浓缩、碎裂、溶解, 局部可见紫红色坏死灶, 坏死区大量炎症细胞浸润(图1A); SAP-12 h组胰腺大片坏死, 间质血管破裂, 仅残留胰腺腺叶轮廓, 炎症细胞浸润更明显; SAP-18 h坏死程度进一步加重, 腺叶正常结构消失, 胰腺实质广泛出血坏死及炎症细胞浸润(图1B). AG490治疗组胰腺组织改变与SAP组同时时间点相比有所减轻, AG490-18 h组, 胰腺上皮细胞肿胀明显, 大量炎症细胞浸润(图1C).

2.3.2 肾脏组织病理学检查: 对照组肾脏结构基

表 2 各组大鼠血清中IL-6和TNF- α 含量比较 (pg/mL, mean ± SD, $n = 8$)

分组	IL-6	TNF- α
对照组	55.56 ± 4.81	87.09 ± 5.45
SAP造模组		
6 h	322.24 ± 16.93 ^{bd}	288.12 ± 12.42 ^{bd}
12 h	379.02 ± 10.87 ^{bd}	327.83 ± 16.70 ^{bd}
18 h	434.55 ± 20.91 ^{bd}	420.78 ± 16.27 ^{bd}
AG490 治疗组		
6 h	139.61 ± 9.62 ^{bd}	142.93 ± 10.03 ^{bd}
12 h	249.30 ± 18.74 ^{bd}	271.74 ± 7.99 ^{bd}
18 h	331.02 ± 13.89 ^{bd}	337.29 ± 10.04 ^{bd}

^b $P < 0.01$ vs 对照组; ^d $P < 0.01$ vs SAP组.

本正常. SAP-6 h组肾小管轻度扩张, 细胞扁平, 肾间质轻度水肿, 肾小球未见明显异常(图2A); SAP-12 h组肾小管上皮细胞变性水肿, 偶见上皮细胞坏死, 管腔内见少量脱落坏死细胞碎片, 细胞浆空泡形成; SAP-18 h组肾小球淤血, 间质充血、水肿增宽, 肾小管上皮细胞广泛坏死, 管腔内见大量红细胞及细胞管型(图2B). AG490治疗组肾组织改变与SAP组同时时间点相比有所减轻, AG490-18 h组肾小球轻度淤血水肿, 间质增宽, 少量散在炎症细胞浸润, 偶见细胞管型或碎片形成(图2C).

2.4 胰腺组织STAT3及p-STAT3表达情况 各实验组胰腺组织中均有少量STAT3及p-STAT3表达; SAP造模组血清STAT3及p-STAT3水平均显著增加($P < 0.01$), 随着作用时间延长逐渐升高, 18 h升至最高值, 与对照组比较有显著性差异($P < 0.01$); AG490治疗后, 与同时时间点SAP造模组比较STAT3及p-STAT3蛋白表达显著减低($P < 0.01$, 图3).

■创新盘点

本文用ELISA法检测血清IL-6和TNF- α 含量, 采用Western blotting方法直接检测肾脏组织中STAT3和p-STAT3表达量的变化, 分析其与SAP肾损伤的可能关系.

■应用要点

本文主要研究在SAP发生、发展过程中多条信号通路中的一条重要信号通路JAK/STAT3信号通路在SAP肾损伤中表达的变化情况, 可为SAP治疗提供新的思路。

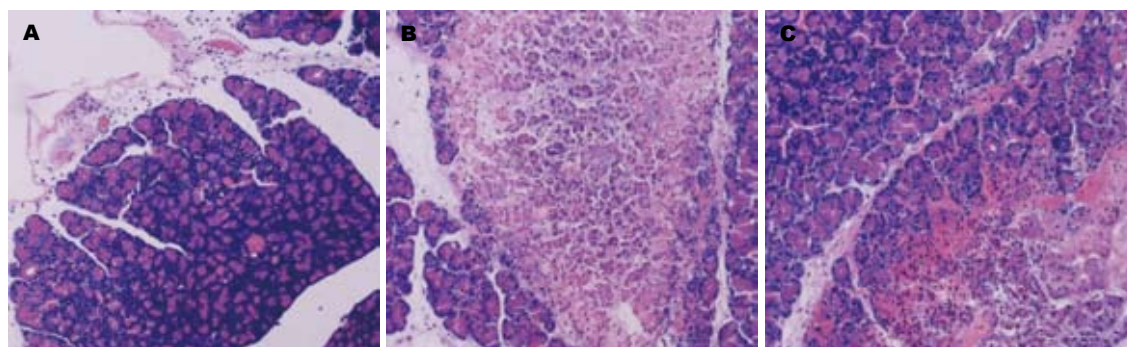


图1 胰腺组织病理学表现(H&E染色×200). A: SAP-6 h; B: SAP-18 h; C: AG490-18 h.

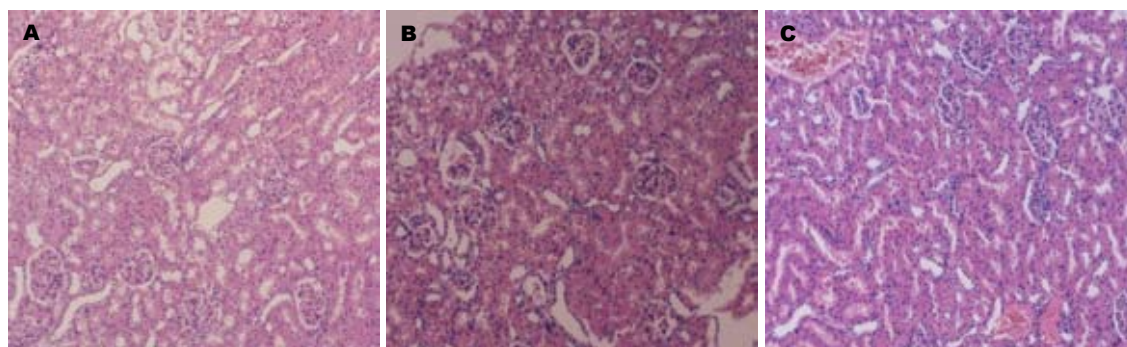


图2 肾组织病理学表现(H&E染色×200). A: SAP-6 h; B: SAP-18 h; C: AG490-18 h.

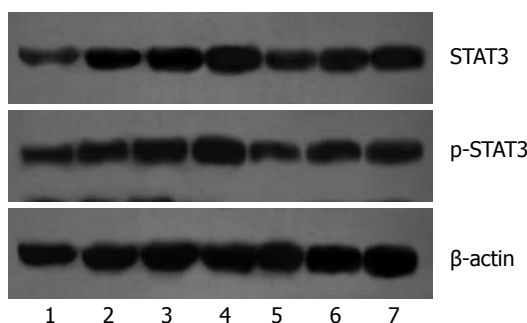


图3 各组大鼠肺组织中STAT3及p-STAT3蛋白表达. 1: 对照组; 2: SAP-6 h; 3: SAP-12 h; 4: SAP-18 h; 5: AG490-6 h; 6: AG490-12 h; 7: AG490-18 h.

3 讨论

SAP是一种非感染性、内源性疾病, 主要表现为自我消化而导致的急性化学性炎症, 严重时可致全身炎症反应和远处器官损伤, 如肝、肺、肾等多器官功能障碍^[6], 各种促炎因子在重症急性胰腺炎发生、发展过程中起重要促进作用^[7]. 在众多炎症介质中, TNF- α 作为始动因子, 是SAP最早升高的促炎因子, 他可引起全身毛细血管通透性升高, ARDS, 电解质紊乱等, 此外, TNF- α 可诱导炎症细胞释放IL-6等各种促炎因子的释放, 而IL-6则是SAP严重程度评价的关键介质^[8,9]. 目前认为, SAP时炎性渗出, 炎症因子大量释放是

造成SAP并发肾损伤的重要机制之一, 然而, 这些促炎因子在SAP合并肾损伤中的作用机制尚未完全阐明.

STAT3作为JAK/STAT信号通路中的重要成员, 广泛表达于多种类型的组织和细胞中, 各种细胞因子可诱导JAK活化, 活化的JAK可使受体的酪氨酸结合位点磷酸化, 当细胞受到信号刺激时与酪氨酸残基相结合形成活化STAT3(p-STAT3), p-STAT3将信号传导至细胞核内, 调节相应基因表达, 进而介导细胞活化及其他重要的生理活性. p-STAT3可直接或间接地上调炎症因子的表达^[10]. STAT3信号通路异常激活可引起细胞功能失调, 导致全身炎症反应的发生和放大效应. 近年来, 多项研究表明各种细胞因子、炎症介质、蛋白酶等, 包括TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、NF- κ B等, 他们通过激活JAK/STAT信号转导通路, 在炎症反应的发生、发展过程中发挥作用^[11-13], 而这些炎症因子在急性肾损伤时明显增加, 同时加重对肾小球内皮细胞和系膜细胞损伤作用^[14,15]. 因此推测, 针对性地阻断JAK/STAT3信号通路将有可能达到改善SAP并发肾损伤病理过程的目的.

本研究采用4%牛磺胆酸钠诱导建立了大鼠SAP动物模型, 并利用Western blotting检测肾脏

中STAT3和p-STAT3蛋白的表达, 同时结合血清AMY、BUN、Cr、IL-6、TNF- α 以及组织病理学检测等, 初步探讨STAT3和p-STAT3在SAP合并肾损伤发生发展中的作用. 本研究发现, 对照组肾脏可见少量STAT3和p-STAT3蛋白, 而SAP组大鼠肾脏STAT3和p-STAT3呈高表达, 18 h组达高峰, 且随胰腺和肾脏病理损伤程度加重而增加, 提示STAT3的异常激活可能与早期SAP时炎症反应有关. AG490作为JAK2特异性抑制剂, 可通过阻断JAK特异结合位点从而达到阻断下游STAT的活化^[16]. 我们给予AG490预处理后, SAP大鼠肾脏组织STAT3和p-STAT3蛋白表达较同时点未处理组均有不同程度减低. 与此同时, 与对照组相比, 各SAP组血清IL-6和TNF- α 表达水平均显著升高, 且与STAT3和p-STAT3表达在动态变化上基本保持一致, 而AG490预处理组IL-6和TNF- α 与同时点SAP组比较均相应减低, 提示SAP时, JAK/STAT3信号通路被激活, IL-6和TNF- α 表达上调, 进而造成SAP肾损伤; 但阻断JAK活化后, 由于抑制了其下游信号活化而减少了STAT3和p-STAT3的产生; 另外, 结合血清学指标可见, 病程越长, 胰腺和肾组织病理损伤程度越严重. 因此, 笔者推测SAP时, 由于STAT3和p-STAT3可能作为SAP预后判断的辅助指标.

综上所述, JAK/STAT3信号通路的激活, 及其下游STAT3的过度活化在SAP的发生、发展中可能起重要调节作用; 抑制该信号通路的过度活化可减少各种促炎因子的产生, 从而有效改善胰腺局部及远处器官损伤, 但还需要大量动物实验和临床研究才能得到进一步证实.

4 参考文献

- Toouli J, Brooke-Smith M, Bassi C, Carr-Locke D, Telford J, Freney P, Imrie C, Tandon R. Guidelines for the management of acute pancreatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17 Suppl: S15-S39
- Chen P, Huang L, Zhang Y, Qiao M, Yao W, Yuan Y. The antagonist of the JAK-1/STAT-1 signaling pathway improves the severity of cerulein-stimulated pancreatic injury via inhibition of NF- κ B activity. *Int J Mol Med* 2011; 27: 731-738
- Constantin G, Brocke S, Izikson A, Laudanna C, Butcher EC. Tyrphostin AG490, a tyrosine kinase inhibitor, blocks actively induced experimental autoimmune encephalomyelitis. *Eur J Immunol* 1998; 28: 3523-3529
- Grewal HP, Mohey el Din A, Gaber L, Kotb M, Gaber AO. Amelioration of the physiologic and biochemical changes of acute pancreatitis using an anti-TNF-alpha polyclonal antibody. *Am J Surg* 1994; 167: 214-218; discussion 218-219
- Fofi C, Pecci G, Galliani M, Comunian MC, Muda AO, Pierucci A, Cinotti GA. IgA nephropathy: multivariate statistical analysis aimed at predicting outcome. *J Nephrol* 2001; 14: 280-285
- Zyromski N, Murr MM. Evolving concepts in the pathophysiology of acute pancreatitis. *Surgery* 2003; 133: 235-237
- Singh VK, Wu BU, Bollen TL, Repas K, Maurer R, Mortele KJ, Banks PA. Early systemic inflammatory response syndrome is associated with severe acute pancreatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: 1247-1251
- Sandoval J, Pereda J, Rodriguez JL, Escobar J, Hidalgo J, Joosten LA, Franco L, Sastre J, López-Rodas G. Ordered transcriptional factor recruitment and epigenetic regulation of tnfr-alpha in necrotizing acute pancreatitis. *Cell Mol Life Sci* 2010; 67: 1687-1697
- Gregoric P, Sijacki A, Stankovic S, Radenkovic D, Ivancevic N, Karamarkovic A, Popovic N, Karadzic B, Stijak L, Stefanovic B, Milosevic Z, Bajec D. SIRS score on admission and initial concentration of IL-6 as severe acute pancreatitis outcome predictors. *Hepatogastroenterology* 2010; 57: 349-353
- Mejías-Luque R, Peiró S, Vincent A, Van Seuningen I, de Bolós C. IL-6 induces MUC4 expression through gp130/STAT3 pathway in gastric cancer cell lines. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1783: 1728-1736
- Fridman JS, Scherle PA, Collins R, Burn TC, Li Y, Li J, Covington MB, Thomas B, Collier P, Favata MF, Wen X, Shi J, McGee R, Haley PJ, Shepard S, Rodgers JD, Yeleswaram S, Hollis G, Newton RC, Metcalf B, Friedman SM, Vaddi K. Selective inhibition of JAK1 and JAK2 is efficacious in rodent models of arthritis: preclinical characterization of INCB028050. *J Immunol* 2010; 184: 5298-5307
- Jee SH, Chu CY, Chiu HC, Huang YL, Tsai WL, Liao YH, Kuo ML. Interleukin-6 induced basic fibroblast growth factor-dependent angiogenesis in basal cell carcinoma cell line via JAK/STAT3 and PI3-kinase/Akt pathways. *J Invest Dermatol* 2004; 123: 1169-1175
- Centurion SA, Centurion LM, Souza ME, Gomes MC, Sankarankutty AK, Mente ED, Castro e Silva O. Effects of ischemic liver preconditioning on hepatic ischemia/reperfusion injury in the rat. *Transplant Proc* 2007; 39: 361-364
- Sanchez-Niño MD, Benito-Martin A, Gonçalves S, Sanz AB, Ucero AC, Izquierdo MC, Ramos AM, Berzal S, Selgas R, Ruiz-Ortega M, Egido J, Ortiz A. TNF superfamily: a growing saga of kidney injury modulators. *Mediators Inflamm* 2010; 2010. Epub 2010 Oct 4
- Liu S, Lutz J, Chang J, Liu D, Heemann U, Baumann M. TRAF6 knockdown promotes survival and inhibits inflammatory response to lipopolysaccharides in rat primary renal proximal tubule cells. *Acta Physiol (Oxf)* 2010; 199: 339-346
- Seo IA, Lee HK, Shin YK, Lee SH, Seo SY, Park JW, Park HT. Janus Kinase 2 Inhibitor AG490 Inhibits the STAT3 Signaling Pathway by Suppressing Protein Translation of gp130. *Korean J Physiol Pharmacol* 2009; 13: 131-138

编辑 李军亮 电编 闫晋利

TSC2反义寡核苷酸对人食管癌EC9706细胞增殖、凋亡的影响

冯付明, 杨娟, 张红, 赵路, 于婧, 李晟磊, 陈奎生

■背景资料

TSC2(tuberous sclerosis complex 2)是一个肿瘤抑制基因, 表达马铃薯蛋白(tuberin), 对以mTOR为媒介的下游通路起负向调控作用。

冯付明, 杨娟, 张红, 赵路, 于婧, 李晟磊, 陈奎生, 郑州大学第一附属医院病理科 郑州大学基础医学院病理教研室 河南省肿瘤病理重点实验室 河南省郑州市 450052

冯付明, 硕士研究生, 副主任医师, 主要从事肿瘤病的研究。

河南省基础与前沿技术计划基金资助项目, No. 092300410016; 河南省杰出青年科学基金资助项目, No. 74100510009; 河南省科技攻关计划基金资助项目, No. 082102310011

作者贡献分布: 冯付明与陈奎生对此文所作贡献均等; 此课题由陈奎生与李晟磊共同设计; 研究过程由冯付明、杨娟、张红、赵路及于婧共同操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由李晟磊提供; 数据分析由冯付明完成; 本论文写作由杨娟、张红、赵路、于婧、李晟磊及陈奎生共同完成。

通讯作者: 陈奎生, 博士, 教授, 450052, 河南省郑州市, 郑州大学第一附属医院病理科. chenks2002@yahoo.com.cn

收稿日期: 2011-09-20 修回日期: 2011-10-15

接受日期: 2011-11-04 在线出版日期: 2011-11-18

Effect of a TSC2 antisense oligonucleotide on cell proliferation and apoptosis in human esophageal cancer cell line EC9706

Fu-Ming Feng, Juan Yang, Hong Zhang, Lu Zhao, Jing Yu, Sheng-Lei Li, Kui-Sheng Chen

Fu-Ming Feng, Juan Yang, Hong Zhang, Lu Zhao, Jing Yu, Sheng-Lei Li, Kui-Sheng Chen, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University; Department of Pathology, Basic Medical College of Zhengzhou University; Henan Key Laboratory of Tumor Pathology, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Supported by: the Research Program of Henan Basic and Advanced Technology, No. 092300410016; Henan Science Fund for Distinguished Young Scholars, No. 074100510009; the Key Science and Technology Project of Henan Province, No. 082102310011

Correspondence to: Kui-Sheng Chen, Professor, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University; Department of Pathology, Basic Medical College of Zhengzhou University; Henan Key Laboratory of Tumor Pathology, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. chenks2002@yahoo.com.cn

Received: 2011-09-20 Revised: 2011-10-15

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

Abstract

AIM: To observe the impact of a tuberous sclerosis complex 2 (TSC2)-specific antisense oligonucleotide (ASODN) on cell proliferation and apoptosis in human esophageal cancer cell line EC9706.

METHODS: A TSC2 ASODN at different concentrations (5, 10 and 15 $\mu\text{mol/L}$) was transfected into EC9706 cells using cationic liposomes. A sense oligonucleotide (15 $\mu\text{mol/L}$) and nonsense oligonucleotide (15 $\mu\text{mol/L}$) were used as negative controls, and non-transfected EC9706 cells were used as a normal control. At 24, 48 and 72 h after transfection, MTT and TUNEL assays were used to examine the proliferation and apoptosis of EC9706 cells, respectively, and immunocytochemistry and RT-PCR were used to determine the expression of TSC2.

RESULTS: Compared to the three control groups, transfection of the TSC2 ASODN increased proliferation, decreased apoptosis (13.11 ± 0.13 , 9.31 ± 0.29 , 4.38 ± 0.43 vs 16.46 ± 0.43 , 16.63 ± 0.34 , 16.23 ± 0.45 , all $P < 0.05$), and reduced the expression of TSC2 mRNA and protein ($F_{\text{mRNA}} = 260.23$, 572.22 , 1004.35 , $F_{\text{protein}} = 50.60$, 330.69 , 1221.28 , all $P < 0.05$) in EC9706 cells in a time- and concentration-dependent manner. Transfection with a dose of 15 $\mu\text{mol/L}$ for 72 h exhibited the most strong effect ($P < 0.05$).

CONCLUSION: The TSC2 ASODN could enhance proliferation and inhibit apoptosis in human esophageal cancer cell line EC9706.

Key Words: Tuberous sclerosis complex 2; Antisense oligonucleotide; EC9706 cells; Proliferation; Apoptosis

Feng FM, Yang J, Zhang H, Zhao L, Yu J, Li SL, Chen KS. Effect of a TSC2 antisense oligonucleotide on cell proliferation and apoptosis in human esophageal cancer cell line EC9706. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(32): 3302-3307

摘要

目的: 探讨抑癌基因TSC2反义寡核苷酸对人食管癌EC9706细胞增殖、凋亡的影响。

方法: 运用阳离子脂质体介导TSC2的反义寡聚核苷酸(ASODN)转染食管癌EC9706细胞, 并分5 $\mu\text{mol/L}$ 、10 $\mu\text{mol/L}$ 、15 $\mu\text{mol/L}$ 3组作

■同行评议者

曹秀峰, 教授, 南京医科大学附属南京第一医院肿瘤中心

为实验组. 以终浓度为15 $\mu\text{mol/L}$ 正义寡核苷酸(SODN)/无关寡核苷酸(N-ODN)及未转染组分别作为无关对照组、细胞对照组. 分别在转染后连续培养24 h、48 h、72 h 这3个不同时间点, 用MTT检测细胞的增殖情况; 免疫细胞化学检测TSC2蛋白表达; RT-PCR检测tsc2 mRNA表达. 用TUNEL检测转染后48 h细胞的凋亡情况.

结果: 同一时间点, 不同浓度的TSC2反义寡核苷酸对食管癌EC9706细胞增殖有不同的促进作用, 实验组与正义组、无关组及正常对照组相比, 差异有统计学意义($P<0.05$), 以浓度为15 $\mu\text{mol/L}$ 作用最强; 实验组各组凋亡指数均低于对照组, 且与对照组相比, 差异具有统计学意义(13.11 ± 0.13 , 9.31 ± 0.29 , 4.38 ± 0.43 vs 16.46 ± 0.43 , 16.63 ± 0.34 , 16.23 ± 0.45 , 均 $P<0.05$). 同一浓度的TSC2反义寡核苷酸, 在不同时间点对食管癌EC9706细胞增殖的促进作用, 随着时间的增加而增强, 以72 h作用最强. 同一时间, 不同浓度的TSC2反义寡核苷酸对食管癌EC9706细胞TSC2基因的表达有不同程度的抑制作用, 实验组与正义、无关及正常对照组相比, 差异有统计学意义(F 蛋白 = 50.60、330.69及1221.28, 均 $P<0.05$; F mRNA = 260.23、572.22及1004.35, 均 $P<0.05$), 以浓度为15 $\mu\text{mol/L}$ 作用最强; 同一浓度的TSC2反义寡核苷酸, 在不同时间内对食管癌EC9706细胞TSC2基因的表达的抑制作用, 随着时间的增加而增强, 以72 h作用最强.

结论: 抑癌基因TSC2反义寡核苷酸可促进食管癌EC9706细胞增殖、抑制其凋亡.

关键词: TSC2; 反义寡核苷酸; EC9706细胞; 增殖; 凋亡

冯付明, 杨娟, 张红, 赵路, 于婧, 李晟磊, 陈奎生. TSC2反义寡核苷酸对人食管癌EC9706细胞增殖、凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2011; 19(32): 3302-3307
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3302.asp>

0 引言

mTOR(mammalian target of rapamycin)是一种进化上保守的丝/苏氨酸蛋白酶, 在细胞生长调控中起重要的作用. 他可通过整合能量、生长因子、氨基酸等所激发的信号通路来调控细胞生长、增殖及凋亡^[1-3]. TSC1(tuberous sclerosis complex 1)和TSC2(tuberous sclerosis complex 2)是2个肿瘤抑制基因, 分别表达错构瘤蛋白(hamartin)、马铃薯球蛋白(tuberin), 他们对以

mTOR为媒介的下游通路起负向调控作用^[4-6]. 近年来研究发现, mTOR信号通路及其调控与细胞的恶性转化及乳腺癌、肾细胞癌、肺癌等肿瘤的形成密切相关, mTOR信号通路相关基因已成为肿瘤治疗的新靶点^[7-15]. 另外, mTOR信号通路与食管癌的发生关系的研究也取得了较大进展^[16,17]. 研究表明, TSC在乳腺癌^[18]、喉鳞状细胞癌^[19]等肿瘤中均低表达, 但关于TSC基因与食管癌发生的关系的研究却鲜有报道. 本研究采用反义寡核苷酸技术沉默TSC基因, 观察其对食管癌细胞EC9706细胞TSC基因的表达及细胞生长与凋亡的影响, 以期为目标治疗食管癌提供新思路.

1 材料和方法

1.1 材料 人食管癌EC9706细胞株(中国医学科学院肿瘤医院分子肿瘤学国家重点实验室馈赠); 胎牛血清和RPMI 1640培养液均购自四季青公司; Lipofectamine 2000转染试剂购自碧云天生物技术研究; 全硫代修饰TSC2的ASODN(5'-CCGCTGTTTCATCGTTACCCTCTGTCGC-3), TSC2的SODN(5'-GGGCAGGTTGCGGTCAGACACGA3), 无关序列N-ODN(5'-GTCTATACTACCAGACAGCTTGAGT-3)由上海生工生物工程合成; 兔抗人TSC2多克隆抗体购自EPITOMICS公司; PV-9000二步法免疫组化检测试剂及ZLI-9031/9032/9033浓缩型DAB试剂盒购自中杉金桥; 碱磷酸酶标记链亲和素(Alkaline Phosphatase Streptavidin)、5-溴-4-氯-3-吲哚磷酸/显色原硝基四氯唑蓝(BCIP/NBT)购自中杉金桥; TSC2 mRNA上游引物(5'-ACCAGCATCTCATACACACG-3), 下游引物(5'-CCACACACACACTTCAACA-3)及内参上游引物(5'-CCTAGAAGCATTTGCGGTGG-3), 下游引物(5'-GAGCTAC GAGCTGCCTGACG)由上海生工生物工程设计合成.

1.2 方法

1.2.1 细胞分组培养及转染: 将人食管癌EC9706细胞于含有胎牛血清的RPMI-1640培养液中, 并置于细胞培养箱中培养, 细胞在培养瓶中贴壁生长良好, 隔天换液1次并传代. 待细胞长满培养瓶后消化、离心、计数后分别以细胞数 1.0×10^4 个/孔、 5.0×10^4 个/孔、 1.0×10^6 个/孔种于3个96孔板和3个24孔板培养及9个6孔板中过夜培养. 96孔板和24孔板每板分终浓度为5、10、15 $\mu\text{mol/L}$ 的TSC2反义寡核苷酸(ASODN)实

■ 研发前沿
目前关于TSC基因与食管癌发生的关系的研究鲜有报道.

■相关报道

研究表明, TSC在乳腺癌、喉鳞状细胞癌等肿瘤中均低表达。

验组, 以终浓度为15 $\mu\text{mol/L}$ SODN、N-ODN及不转染组分别作为正义对照组、无关对照组和正常对照组, 每组设3个重复, 6孔板也以此分组。细胞板培养24 h后, 按照脂质体转染试剂使用说明, 在脂质体介导下转染终浓度为5、10及15 $\mu\text{mol/L}$ 的ASODN和终浓度为15 $\mu\text{mol/L}$ 的SODN及N-ODN分别培养24 h、48 h和72 h。

1.2.2 MTT检测转染后细胞的增殖率及结果判定: 在不弃去培养液的情况下, 分别向转染后的24 h、48 h、72 h的96孔细胞培养板每孔中加入20 μL MTT溶液, 置于细胞培养箱中继续培养, 4 h后终止培养, 吸弃上层液体, 向每孔中加入150 μL DMSO, 恒温下震荡10 min, 待结晶完全溶解。用酶标仪在492 nm波长处测各孔的吸光度(A), 并记录结果。结果判定: 细胞增殖率 = (实验组A值/空白对照组A值) \times 100%。

1.2.3 细胞爬片的制备及固定: 将大小适宜的盖玻片(已清洗、泡酸、消毒)平铺于24孔板孔底, 取处于对数生长期的细胞, 消化, 制备成细胞悬液, 按 5.0×10^4 个/孔接种于24孔板中, 常规培养。待细胞充分贴壁后, 吸出每孔中的培养液, 按上述转染方法和要求处理细胞, 分别继续培养至24 h、48 h、72 h后, 吸出培养液, 用PBS冲洗, 甲醛固定, PBS再冲洗, 最后用镊子夹起细胞爬片, 用中性树胶粘贴于载玻片上(有细胞的一面朝上), 放入4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。

1.2.4 TUNEL检测细胞的凋亡: 取转染48 h的各组细胞爬片, 参照TUNEL试剂盒说明书操作。凋亡指数(AI)的计算方法: 每张爬片计数200个细胞中的凋亡细胞数, 重复3次, 取均值。每组做3张爬片, 凋亡指数 = (凋亡细胞数/200) \times 100%。

1.2.5 免疫细胞化学检测及结果判定: 将待测的各组细胞爬片常温下放置30 min, PBS冲洗; 浸入0.3% TritonX-100通透液中, 冰浴中孵育30 min, PBS冲洗; TSC2和mTOR抗体分别以1:50和1:100稀释后, 按照PV-9000二步法免疫组化检测试剂使用说明和ZLI-9031/9032/9033浓缩型DAB试剂盒使用说明进行操作。用PBS代替一抗做阴性对照, 分别用已知的TSC2蛋白阳性表达的喉癌组织, 已知的mTOR蛋白阳性表达的乳腺癌组织做阳性对照。结果判定: TSC2、mTOR蛋白免疫细胞化学阳性信号位于细胞胞质内, 均呈棕黄色; 每张片子镜下随机取10个高倍视野, 按阳性细胞数所占百分比及阳性细胞着色深浅进行评分(10): <1%为0分、1%-25%为1分、26%-50%为2分、51%-75%为3分、>76%为4分;

无着色为0分, 淡黄色为1分, 棕黄色为2分, 棕褐色为3分。上述2种评分结果相乘, 以积分值表示蛋白的表达水平。

1.2.6 RT-PCR检测方法及结果判定: 收集前述已处理的6孔板细胞, 每3个复孔的细胞相当于25 mL培养瓶1瓶细胞, 然后采用总RNA提取试剂盒提取总RNA。取1-5 μg 总RNA加入总体为20 μL 的反应体系中, 按70 $^{\circ}\text{C}$ 5 min后迅速冰上冷却2 min, 42 $^{\circ}\text{C}$ 50 min, 95 $^{\circ}\text{C}$ 5 min终止, 进行逆转录。然后按95 $^{\circ}\text{C}$ 1 min、95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s、59 $^{\circ}\text{C}$ 30 s、72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min、72 $^{\circ}\text{C}$ 5 min、4 $^{\circ}\text{C}$ 终止进行PCR。取2-5 μL PCR产物进行琼脂糖凝胶电泳, 紫外灯下观察PCR结果, 并用凝胶成像分析处理系统摄像, 分析计算各组的灰度比值, 获得目的片段的相对量。

统计学处理 采用SPSS17.0软件分析, 数据采用mean \pm SD数据表示, 进行完全随机设计资料的单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MTT检测细胞增殖能力 转染TSC2的反义寡聚核苷酸(ASODN)后, 随浓度和时间的增加, EC9706细胞的增殖能力增强, 且在15 $\mu\text{mol/L}$ 、72 h作用最强。同一时间点, 各实验组与对照组比较细胞增殖的差异有统计学意义($F = 140.66$ 、153.57及160.65, 均 $P < 0.05$), 而各对照组之间的差异无统计学意义(均 $P > 0.05$); 同一浓度, 实验组各时间点比较差异有统计学意义($F = 167.59$ 、247.39及541.54, 均 $P < 0.05$, 表1)。

2.2 TUNEL检测细胞凋亡的结果 转染TSC2的反义寡聚核苷酸(ASODN)48 h后, 实验组各组凋亡指数均低于对照组, 且与对照组相比, 差异具有统计学意义($F = 562.46$, $P < 0.05$); 不同浓度的各实验组两两比较, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$), 且随着浓度的增加, 对细胞凋亡的抑制作用增强(图1, 表2)。

2.3 各组EC9706细胞TSC2蛋白及mRNA的表达 转染TSC2的反义寡聚核苷酸(ASODN)后, 随浓度和时间的增加, EC9706细胞中TSC2蛋白及mRNA表达下降, 且在15 $\mu\text{mol/L}$ 、72 h作用最强。同一时间段, 各实验组与对照组比较, 差异均有统计学意义($F_{\text{蛋白}} = 50.60$ 、330.69及1221.28, 均 $P < 0.05$; $F_{\text{mRNA}} = 260.23$ 、572.22及1004.35, 均 $P < 0.05$), 而各对照组之间比较 $P > 0.05$; 同一浓度, 实验组各时间点比较, 差异均

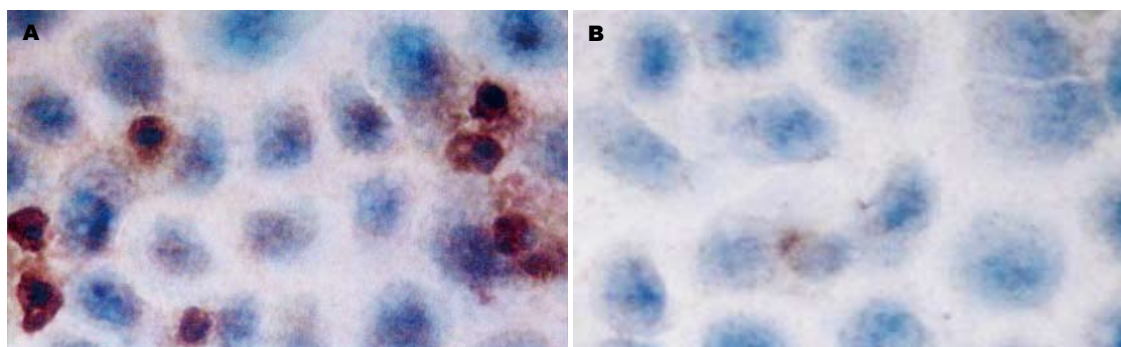


图 1 EC9706细胞凋亡的情况(TUNEL法, $\times 400$). A: 对照组; B: 以15 $\mu\text{mol/L}$ 的浓度转染TSC2 ASODN 48 h的试验组.

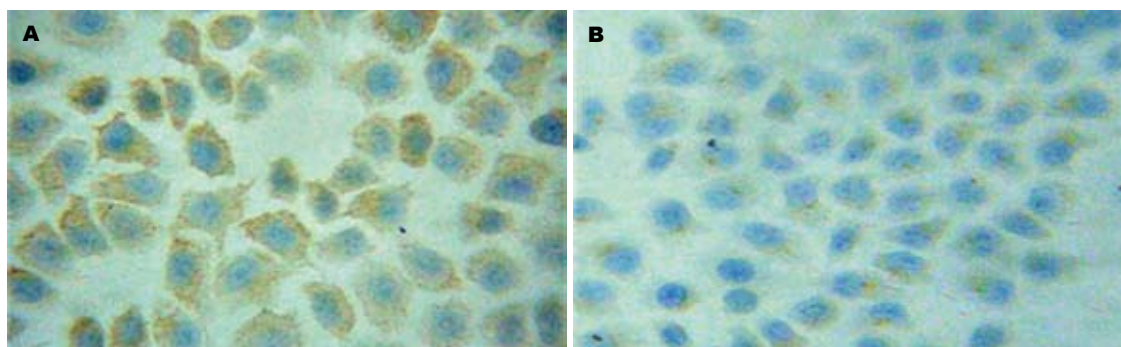


图 2 EC9706细胞TSC2蛋白的表达(免疫组化PV法, $\times 200$). A: 对照组; B: 以15 $\mu\text{mol/L}$ 的浓度转染TSC2 ASODN 72 h的试验组.

表 1 不同处理组细胞增殖率的比较 (mean \pm SD)

分组	24 h	48 h	72 h
正常对照组	1.000 \pm 0.000	1.000 \pm 0.000	1.000 \pm 0.000
N-ODN对照组	0.961 \pm 0.035	0.952 \pm 0.037	0.981 \pm 0.017
SODN对照组	0.946 \pm 0.043	0.938 \pm 0.032	0.969 \pm 0.027
转染TSC2 ASODN组			
5 $\mu\text{mol/L}$ 组	1.155 \pm 0.028 ^{ac}	1.106 \pm 0.053 ^{ac}	1.318 \pm 0.026 ^{ac}
10 $\mu\text{mol/L}$ 组	1.307 \pm 0.032 ^{ac}	1.392 \pm 0.045 ^{ac}	1.567 \pm 0.031 ^{ac}
15 $\mu\text{mol/L}$ 组	1.463 \pm 0.016 ^{ac}	1.571 \pm 0.036 ^{ac}	1.770 \pm 0.043 ^{ac}

^a $P < 0.05$ vs 正常对照组、N-ODN对照组和SODN对照组; ^c $P < 0.05$, vs 24 h、48 h、72 h 3个不同时间点.

表 2 不同处理组48 h后凋亡指数的比较

分组	凋亡指数
正常对照组	16.46 \pm 0.43
N-ODN对照组	16.63 \pm 0.34
SODN对照组	16.23 \pm 0.45
转染TSC2 ASODN实验组	
5 $\mu\text{mol/L}$ 组	13.11 \pm 0.13 ^a
10 $\mu\text{mol/L}$ 组	9.31 \pm 0.29 ^a
15 $\mu\text{mol/L}$ 组	4.38 \pm 0.43 ^a

^a $P < 0.05$ vs 正常对照组、N-ODN对照组和SODN对照组.

有统计学意义(F 蛋白 = 123.47、83.59及13.29,

均 $P < 0.05$; F mRNA = 67.81、139.61及392.57, 均 $P < 0.05$), 而对照组各时间点比较 $P > 0.05$ (图2, 3; 表3, 4).

3 讨论

食管癌是我国最常见的恶性肿瘤之一, 目前, 临床上用于食管癌治疗的方法主要是外科手术治疗、化疗、放疗以及综合治疗等. 尽管近年来各种治疗方法得以不断改进和完善, 但食管癌患者的预后仍然较差, 我国食管癌患者治疗后的5年存活率仅为20%-30%^[20]. 寻找新的毒副作用小、效果好的抗肿瘤药物及敏感的分子作为药物的治疗靶点成为研究者关注的热点问题.

■创新盘点

本研究采用反义寡核苷酸技术沉默TSC基因, 观察其对食管癌细胞EC9706细胞TSC基因的表达及细胞生长与凋亡的影响.

■应用要点

TSC2反义寡核苷酸促进食管癌EC9706细胞增殖、抑制其凋亡。

表 3 各组EC9706细胞TSC2蛋白表达的比较

分组	24 h	48 h	72 h
正常对照组	7.10 ± 0.21	7.18 ± 0.13	7.35 ± 0.15
N-ODN对照组	7.01 ± 0.24	7.16 ± 0.24	7.31 ± 0.11
SODN对照组	7.60 ± 0.10	7.66 ± 0.18	7.82 ± 0.20
转染TSC2 ASODN组			
5 μmol/L组	4.99 ± 0.09 ^{ac}	4.10 ± 0.18 ^{ac}	3.16 ± 0.12 ^{ac}
10 μmol/L组	4.30 ± 0.09 ^{ac}	3.12 ± 0.19 ^{ac}	2.09 ± 0.16 ^{ac}
15 μmol/L组	3.81 ± 0.10 ^{ac}	2.12 ± 0.26 ^{ac}	1.45 ± 0.08 ^{ac}

^a*P* < 0.05 vs 正常对照组、N-ODN对照组和SODN对照组; ^c*P* < 0.05, vs 24 h、48 h、72 h 3个不同时间点。

表 4 各组EC9706细胞TSC2 mRNA表达的比较

分组	24 h	48 h	72 h
正常对照组	0.845 ± 0.004	0.854 ± 0.004	0.860 ± 0.007
N-ODN对照组	0.842 ± 0.080	0.847 ± 0.002	0.851 ± 0.005
SODN对照组	0.842 ± 0.020	0.859 ± 0.003	0.862 ± 0.002
转染TSC2 ASODN组			
5 μmol/L组	0.789 ± 0.003 ^{ac}	0.740 ± 0.006 ^{ac}	0.684 ± 0.027 ^{ac}
10 μmol/L组	0.718 ± 0.006 ^{ac}	0.654 ± 0.004 ^{ac}	0.610 ± 0.011 ^{ac}
15 μmol/L组	0.642 ± 0.002 ^{ac}	0.542 ± 0.003 ^{ac}	0.415 ± 0.024 ^{ac}

^a*P* < 0.05 vs 正常对照组、N-ODN对照组和SODN对照组; ^c*P* < 0.05, vs 24 h、48 h、72 h 3个不同时间点。

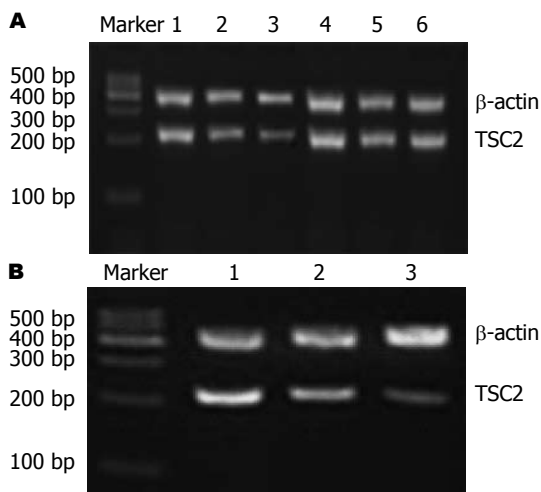


图 3 A: 72 h各组TSC2 mRNA的表达. 1: 5 μmol/L试验组; 2: 10 μmol/L试验组; 3: 15 μmol/L试验组; 4: SODN对照组; 5: N-ODN对照组; 6: 正常对照组. B: 转染15 μmol/L TSC2 ASODN后24 h/48 h/72 h TSC2 mRNA的表达. 1: 24 h; 2: 48 h; 3: 72 h.

在生理状态下, mTOR受一系列癌基因(如EGFR、Ras、PI3K/AKT等)和抑癌基因(如PTEN和TSC1、TSC2蛋白复合物)的调控. 其中AKT/TSC1-TSC2/mTOR是一条进化保守的信号通路, 广泛存在于果蝇、鱼类及哺乳动物体内. 他

在调节蛋白质合成、细胞生长、细胞增殖, 决定细胞大小和数量等方面发挥重要的作用, 是促进细胞生长和维持细胞正常功能关键的信号途径, 在肿瘤的发生发展中也起到十分重要的作用. AKT是PI3K下游直接的靶蛋白, 当细胞外生长因子或胰岛素等和受体结合后, PI3K被激活产生3, 4二磷酸磷脂酰肌醇(PI-3, 4P2)和3, 4, 5三磷酸磷脂酰肌醇(PI-3, 4, 5P3), 在后两者和磷脂酰肌醇依赖性激酶-1(PDK1)共同作用下使AKT蛋白磷酸化, 而活化的AKT可磷酸化TSC2的Ser939和Thr1462, 从而抑制下游TSC1-TSC2复合物的功能, 解除TSC1-TSC2复合物对小GTP酶Rheb的抑制, 使Rheb活化, 活化形式的Rheb正向调节mTOR^[21-24]. mTOR作为蛋白质合成调节过程中重要的调节分子, 其公认的2个重要的底物包括p70S6K和4EBP1. p70S6K是核糖体40S小亚基S6K蛋白激酶. 他可通过磷酸化S6蛋白对5'末端含寡聚嘧啶转录本(5'Top)mRNAs翻译起始上调作用^[25], 5'Top是蛋白质生物合成的基础, 他的主要翻译产物包括核糖体蛋白, 延长因子EF1α、EF2和polyA结合蛋白等. 而4EBP1为一种翻译抑制因子, 结合并抑制翻译起始因子eIF4E上解离下来, 游离的eIF4E结合到支架蛋白

eIF4G上, eIF4G募集其他起始因子组装成起始复合物, 促进翻译^[26]. 在上述2个底物分子的共同调控下, 促进细胞的生长和增殖.

该研究采用TSC2反义寡核苷酸转染食管癌EC9706细胞使TSC2基因封闭, 后用MTT检测细胞的增殖能力, 流式细胞技术检测细胞的凋亡, 免疫细胞化学、RT-PCR检测TSC2表达. 结果证实TSC2反义寡核苷酸转染食管癌EC9706细胞后, 能够封闭TSC2的表达, 使TSC2的表达下降, 细胞的增殖能力增强, 凋亡能力下降. 从而证实TSC2的底表达对食管癌的发展有促进作用, 使TSC2有望成为肿瘤发生和治疗的新的靶点, 为临床食管癌的治疗提供一些理论基础.

4 参考文献

- Bracho-Valdés I, Moreno-Alvarez P, Valencia-Martínez I, Robles-Molina E, Chávez-Vargas L, Vázquez-Prado J. mTORC1- and mTORC2-interacting proteins keep their multifunctional partners focused. *IUBMB Life* 2011; 63: 880-898
- Dobashi Y, Watanabe Y, Miwa C, Suzuki S, Koyama S. Mammalian target of rapamycin: a central node of complex signaling cascades. *Int J Clin Exp Pathol* 2011; 4: 476-495
- Caron E, Ghosh S, Matsuo Y, Ashton-Beaucage D, Therrien M, Lemieux S, Perreault C, Roux PP, Kitano H. A comprehensive map of the mTOR signaling network. *Mol Syst Biol* 2010; 6: 453
- Huang J, Manning BD. A complex interplay between Akt, TSC2 and the two mTOR complexes. *Biochem Soc Trans* 2009; 37: 217-222
- Lu KH, Wu W, Dave B, Slomovitz BM, Burke TW, Munsell MF, Broaddus RR, Walker CL. Loss of tuberous sclerosis complex-2 function and activation of mammalian target of rapamycin signaling in endometrial carcinoma. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 2543-2550
- Han S, Witt RM, Santos TM, Polizzano C, Sabatini BL, Ramesh V. Pam (Protein associated with Myc) functions as an E3 ubiquitin ligase and regulates TSC/mTOR signaling. *Cell Signal* 2008; 20: 1084-1091
- Wu P, Hu YZ. PI3K/Akt/mTOR pathway inhibitors in cancer: a perspective on clinical progress. *Curr Med Chem* 2010; 17: 4326-4341
- Generali D, Fox SB, Brizzi MP, Allevi G, Bonardi S, Aguggini S, Milani M, Bersiga A, Campo L, Dionisio R, Vergoni F, Giardini R, Dogliotti L, Bottini A, Harris AL, Berruti A. Down-regulation of phosphatidylinositol 3'-kinase/AKT/molecular target of rapamycin metabolic pathway by primary letrozole-based therapy in human breast cancer. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 2673-2680
- Mitsudomi T. Advances in target therapy for lung cancer. *Jpn J Clin Oncol* 2010; 40: 101-106
- Zhang J, Yang PL, Gray NS. Targeting cancer with small molecule kinase inhibitors. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 28-39
- Kudo M. Molecular targeted therapy for hepatocellular carcinoma: bench to bedside. *Dig Dis* 2011; 29: 273-277
- 彭贵主, 吴波, 单人锋, 周福庆. mTOR/P70S6K信号通路在肝细胞肝癌中的表达及临床意义. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 3279-3282
- Jerusalem G, Collignon J, Rorive A, Lifrange E, André C, Martin M, Maweja S, Coucke P. [Targeted therapies in breast cancer]. *Rev Med Liege* 2011; 66: 379-384
- Fu L, Kim YA, Wang X, Wu X, Yue P, Lonial S, Khuri FR, Sun SY. Perifosine inhibits mammalian target of rapamycin signaling through facilitating degradation of major components in the mTOR axis and induces autophagy. *Cancer Res* 2009; 69: 8967-8976
- Kudo M. mTOR inhibitor for the treatment of hepatocellular carcinoma. *Dig Dis* 2011; 29: 310-315
- Boone J, Ten Kate FJ, Offerhaus GJ, van Diest PJ, Rinkes IH, van Hilleberg R. mTOR in squamous cell carcinoma of the oesophagus: a potential target for molecular therapy? *J Clin Pathol* 2008; 61: 909-913
- 张威, 陈玉, 亚国伟, 陈奎生. RNA干扰对EC9706细胞mTOR表达及细胞生长与凋亡的影响. *郑州大学学报(医学版)* 2010; 45: 11-15
- Jiang WG, Sampson J, Martin TA, Lee-Jones L, Watkins G, Douglas-Jones A, Mokbel K, Mansel RE. Tuberlin and hamartin are aberrantly expressed and linked to clinical outcome in human breast cancer: the role of promoter methylation of TSC genes. *Eur J Cancer* 2005; 41: 1628-1636
- Chakraborty S, Mohiyuddin SM, Gopinath KS, Kumar A. Involvement of TSC genes and differential expression of other members of the mTOR signaling pathway in oral squamous cell carcinoma. *BMC Cancer* 2008; 8: 163
- 王立东, 郑树. 河南高发区人群食管和贲门癌变机制. *郑州大学学报(医学版)* 2002; 37: 717-729
- Zhang HH, Huang J, Düvel K, Boback B, Wu S, Squillace RM, Wu CL, Manning BD. Insulin stimulates adipogenesis through the Akt-TSC2-mTORC1 pathway. *PLoS One* 2009; 4: e6189
- Huang J, Manning BD. The TSC1-TSC2 complex: a molecular switchboard controlling cell growth. *Biochem J* 2008; 412: 179-190
- Cai SL, Tee AR, Short JD, Bergeron JM, Kim J, Shen J, Guo R, Johnson CL, Kiguchi K, Walker CL. Activity of TSC2 is inhibited by AKT-mediated phosphorylation and membrane partitioning. *J Cell Biol* 2006; 173: 279-289
- Han JM, Sahin M. TSC1/TSC2 signaling in the CNS. *FEBS Lett* 2011; 585: 973-980
- Jefferies HB, Fumagalli S, Dennis PB, Reinhard C, Pearson RB, Thomas G. Rapamycin suppresses 5'TOP mRNA translation through inhibition of p70s6k. *EMBO J* 1997; 16: 3693-3704
- Dilling MB, Germain GS, Dudkin L, Jayaraman AL, Zhang X, Harwood FC, Houghton PJ. 4E-binding proteins, the suppressors of eukaryotic initiation factor 4E, are down-regulated in cells with acquired or intrinsic resistance to rapamycin. *J Biol Chem* 2002; 277: 13907-13917

■同行评价

本研究结果认为TSC2反义寡核苷酸转染食管癌EC9706细胞后, 能够封闭TSC2的表达, 使TSC2的表达下降, 细胞的增殖能力增强, 凋亡能力下降. 从而证实TSC2的低表达对食管癌的发展有促进作用, 使TSC2有望成为食管癌发生和治疗的新的靶点, 为食管癌分子治疗的研究又提供一条新的线索.

编辑 李军亮 电编 闫晋利

早期胃癌诊断研究现状与进展

邓长生

邓长生, 武汉大学中南医院消化内科 湖北省武汉市 430071
通讯作者: 邓长生, 教授, 430071, 湖北省武汉市东湖路169号,
武汉大学中南医院消化内科. dengcs06@yahoo.com.cn
电话: 027-67813079
收稿日期: 2011-08-02 修回日期: 2011-08-28
接受日期: 2011-11-10 在线出版日期: 2011-11-18

Advances in research and diagnosis of early gastric cancer

Chang-Sheng Deng

Chang-Sheng Deng, Department of Gastroenterology, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, Hubei Province, China
Correspondence to: Chang-Sheng Deng, Professor, Department of Gastroenterology, Zhongnan Hospital of Wuhan University, 169 Donghu Road, Wuhan 430071, Hubei Province, China. dengcs06@yahoo.com.cn
Received: 2011-08-02 Revised: 2011-08-28
Accepted: 2011-11-10 Published online: 2011-11-18

Abstract

The overall prognosis of gastric cancer is generally poor due to late presentation and diagnosis. When detected early, the prognosis of gastric cancer is excellent, and curative endoscopic resection may be possible, without the need for surgery. Careful endoscopic examination is important so as to avoid missed lesions. Besides the endoscopic screening for gastric cancer, other screening methods are also used in different countries and areas. This also provides us different avenues for the diagnosis of early gastric cancer.

Key Words: Early gastric cancer; Diagnosis; Endoscopy; Biomarker

Deng CS. Advances in research and diagnosis of early gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(32): 3309-3312

摘要

胃癌总体预后较差, 多与其病情已属晚期有关。如能早期诊断, 胃癌的预后是可以改善的。早期胃癌是指病灶局限且深度不超过黏膜下层, 不论有无淋巴结转移。广泛开展的内镜下

切除术, 甚至可以在早期取代外科手术。为了避免遗漏早期病变, 仔细的内镜检查是必要的。然而, 除了内镜之外, 胃蛋白酶原等作为胃癌的生物标志物的研究在不同国家和地区相继开展, 为我们早期胃癌的诊断另辟新径。

关键词: 早期胃癌; 诊断; 内镜; 生物学指针

邓长生. 早期胃癌诊断研究现状与进展. 世界华人消化杂志 2011; 19(32): 3309-3312
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3309.asp>

0 引言

胃癌为全球第4大恶性肿瘤, 并在癌症死亡病因中名列第2^[1]。中国男性的胃癌年龄标准率为21.4/10万, 女性约为其一半。在马来西亚及印度, 男女胃癌分别为6.6/10万、3.8/10万和7.8/10万、6.1/10万^[2]。胃癌高危人群的定位为年龄标准率大于20/10万, 中国男性为胃癌发病的高危人群^[1]。胃癌的总体生存率较低与其滞后的临床表现及诊断有关。欧洲人群胃癌的5年生存率约27%, 而在非洲撒哈拉地区为6%。在日本, 可提高到52%, 这与该国的早期胃癌诊断及广泛筛查等密切相关^[1]。改善胃癌的预后, 我们通常的一个基本措施即幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)的根除治疗, 而*H. pylori*被证实与60%-85%非贲门胃癌的发生有关^[3]。亚太地区胃癌防治指南已经将*H. pylori*的筛查和根除列为胃癌高危地区防治的基本措施^[4]。然而, 同样重要却往往被忽视的是胃癌的早期发现。事实上, 早期胃癌可通过内镜下黏膜切除(endoscopic mucosal resection, EMR)和内镜下黏膜剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)进行干预。这些内镜技术在日本较为成熟, 并被该国作为某些情况下代替外科手术的胃癌干预措施, 而且作为符合治疗标准患者的原则性治疗措施^[5]。

1 早期胃癌的内镜诊断

高质量的内镜检查与活检是胃癌诊断的关键。钡餐检查是可供选择的另一手段, 但其敏感性

■背景资料

改善胃癌预后, 我们通常的一个基本措施, 即幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)的根除治疗, 而*H. pylori*被证实与60%-85%非贲门胃癌的发生有关。亚太地区胃癌防治指南已经将*H. pylori*的筛查和根除列为胃癌高危地区防治的基本措施。然而, 同样重要却往往被忽视的是胃癌的早期发现。事实上, 早期胃癌可通过内镜下黏膜切除和内镜下黏膜剥离术进行干预。

■同行评议者

樊晓明, 主任医师, 复旦大学附属金山医院消化科; 黄颖秋, 教授, 本溪钢铁(集团)有限责任公司总医院消化内科

■ 研发前沿

一项关于双重对比钡餐及内镜的双盲随机交叉对照研究显示,其对于胃癌诊断的敏感性 & 特异性分别为92% vs 54%及100% vs 91%,钡餐检查对某些微小的黏膜损伤区域常被遗漏^[6]。即使在大规模使用钡餐作为胃癌筛查的日本,其大多数早期胃癌病例仍是通过内镜检查得以发现的^[7]。

在日本,应用内镜技术以期发现早期胃癌是每位内镜医生的必备训练,其内镜技术在全球处于领先地位。西方内镜技术,包括日本以外的亚洲某些地区,强调内镜下对于大体损伤部位的排查,而并不大注重对颜色、血管分布、质地等微小变化的观察,而这些往往是早期胃癌的特征性病变。日本的内镜中心通过规范的基本操作,就能在内镜检查过程中有所发现。如在内镜的每个环节使用酒精清洁内镜镜头,以清除其上的残余物,从而提高画面的质量。又如给予每个患者使用某些混合试剂消除胃内泡沫等,亦可提高内镜的可视度。在进镜及退镜过程中,系统的内镜检查应注意适量的空气注入及足量的图片采集,同时还应系统的记录异常的解剖部位。大约有10%的早期胃癌存在非典型内镜下特征,可被误诊为胃炎或溃疡等。内镜医生具有娴熟的操作技巧,建立系统完善的活检及内镜图片体系是非常重要的。恰当的运用如美蓝等对比染色剂可以提高对于微小损伤的检出率^[8]。新的内镜成像技术如窄带成像内镜、固有荧光成像内镜、结晶紫染色内镜、放大色素内镜、超声内镜、共聚焦激光显微内镜等^[9,10],均可能获得较高的早期胃癌检出率并正逐步应用于临床。

尽管内镜技术在全球范围内广泛使用,除了日本与韩国,其在早期胃癌诊断的普及率仍不高。一项研究显示其普及率仅有1%^[11],尽管另有报道可达15%^[12]-27%^[13]。来自新加坡的报道指出75%的胃癌被检出时TNM已处于Ⅲ期甚至Ⅳ期^[14]。年龄40岁以上居民广泛使用内镜进行筛查的日本,其在早期胃癌的普及率至少为53%^[13],甚至可高达77%^[15]-89%^[16]。需要指出的是,由于多数早期胃癌的临床症状不突出^[7,15],通过监测及筛查发现亦为偶然事件。目前除了日本及韩国,其他国家均将内镜作为大面积筛查手段使用。新加坡的研究显示,对于构成高危人群的中国50-70岁男性进行胃镜筛查,应该具有较好的成本-效益比^[17]。从一个独立的层面来说,内镜的使用应关注胃癌的危险因素,比如肠型化生、异性增生、胃溃疡、恶性贫血和胃癌

瘤息肉等^[18]。胃癌诊断的延迟除了与胃癌症状出现较晚有关外,与内镜检查遗漏某些部位有关。业已证实的胃癌可早期诊断时间为2-3年^[19],一个进展型胃癌可在3年内通过普通内镜被确诊,其必然存在一个可被发现更早期的曾被遗漏的病变。已有报道指出胃镜检查的遗漏率为4.6%^[20]-19%^[21]。前面曾提到的某些措施或许可降低内镜检查的遗漏率。

一旦发现病变,我们应尽量将其描述准确。日本内镜学会将早期胃癌分为3型,并依据其深度不同又分为不同亚型。准确地掌握分型,对于内镜下早期胃癌描述及决定内镜或外科手术治疗措施选择的重要性毋庸置疑^[23]。

2 早期胃癌诊断的其他手段

除了内镜检查,日本、韩国及中国台湾开展某些肿瘤标志物的广泛监测。胃蛋白酶原(pepsinogen, PG)是其中一个重要的指标。对于胃蛋白酶原的研究各国差异很大,早在1990年前,日本就有关于将血清学PG I 和PG II 及其比值作为胃癌的重要筛查指标,而韩国直至2008年才有关于PG的第一例研究报道。在发展成为胃癌之前,胃黏膜存在一系列的癌前状态,如胃萎缩、胃息肉、胃溃疡、残胃炎、肠化和异型增生等^[24]。*H. pylori*定植于胃黏膜并引发一系列的炎症反应,成为萎缩性胃炎的重要因素^[24]。与*H. pylori*相关的萎缩性胃炎通常始于胃窦并逐渐延伸至胃贲门部^[25],造成胃分泌功能下降的同时,导致胃基底腺黏膜体积的变小。萎缩性胃炎的病理学诊断依赖于内镜下活检,因为萎缩性胃炎尤其是其早期通常是一个多病灶发展的过程^[26]。血清PG被发现是评价胃黏膜状态,包括黏膜萎缩的重要指标^[27,28]。低PG I 及PG I / II 水平与严重的胃萎缩有关,并通常发生在胃癌患者^[24,28-33]。日本除了内镜以外,PG I、PG II 水平检测是作为胃癌筛查的一个无创性手段而被采用^[30]。与日本的研究报道不同,近年韩国的研究显示,PG II 对于发现胃癌的敏感性 & 特异性均较低^[34]。这些研究结果提示PG试验的诊断价值,可能在不同的地区及种族需区别对待,且具有局限性。

早期胃癌的淋巴结转移率约为8%-20%^[35-37]。如果没有淋巴结转移,外科手术治疗可能避免。有研究显示淋巴结转移是早期胃癌患者评价生存率的重要因素^[38,39]并通常作为决定是否选择外科或内镜手术的分水岭指标。由于淋巴结大小并不是作为判断是否有转移的可靠参数,内

镜超声影像检查或X线检查并不能证实是否有淋巴结转移^[35,36]。不少有关早期胃癌的回顾性研究建立了内镜治疗^[40]的衡量指标及判断淋巴结转移的内镜下肿瘤组织学特征。黏膜层胃癌淋巴结转移率为2.6%-4.8%，而黏膜下层转移率为16.5%-23.6%。一项研究指出，癌肿侵犯黏膜下层，且大小 ≥ 2 cm并有淋巴浸润表现，可作为早期胃癌淋巴结转移的评价指标。而经过仔细筛查没有淋巴结转移表现的早期胃癌患者，可将内镜治疗作为治疗选择之一。

此外，2011年国人一项研究发现，早期胃癌与再生基因4(REG4)的浓度有相关性，REG4可作为判断早期胃癌及其预后的一个遴选指标。研究指出，胃癌患者REG4表达上调及高表达与弥漫性、低分化、淋巴结转移、远处转移及TNM III期或IV期胃癌有关。在TNM I、II期，REG4血清阳性率显著高于CA199。REG4不仅可作为胃癌预后判断的指标，与CA199相比，可能更适合作为早期胃癌诊断的血清标志物而令人关注^[41]。2011年意大利学者研究还发现，上皮细胞钙粘蛋白可作为早期胃癌的遗传学筛查指标^[42]。

3 结论

早期胃癌的发现仍是专科医生面临的挑战，其对改善胃癌的预后无疑非常关键。内镜下切除术，尤其是内镜下黏膜剥离术，已被越来越多的国家作为标准的早期胃癌的干预措施。与外科手术相比，其有较低的术后复发率且对器官保护性更强，长期预后可与外科手术相当。而内镜之外的其他无创性筛查手段，应注意由于其敏感性、特异性的差异，在不同的地区及种族其应用性的差别。血清学筛查指标是近年研究热点，在应用时有一定的局限性，若配合内镜检查使用，对早期胃癌的诊断可能相得益彰。

4 参考文献

- 1 Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108
- 2 Seow A, Koh WP, Chia KS, Shi LM, Lee HP, Shanmugaratnam K. Trends in Cancer Incidence in Singapore, 1968-2002 [Registry Report No.6] 2004
- 3 Helicobacter and Cancer Collaborative Group. Gastric cancer and Helicobacter pylori: a combined analysis of 12 case control studies nested within prospective cohorts. *Gut* 2001; 49: 347-353
- 4 Fock KM, Talley N, 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, Solano J. Asia-Pacific consensus guidelines on gastric cancer prevention. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 351-365
- 5 Gotoda T. Endoscopic resection of early gastric cancer. *Gastric Cancer* 2007; 10: 1-11
- 6 Dooley CP, Larson AW, Stace NH, Renner IG, Valenzuela JE, Eliasoph J, Colletti PM, Halls JM, Weiner JM. Double-contrast barium meal and upper gastrointestinal endoscopy. A comparative study. *Ann Intern Med* 1984; 101: 538-545
- 7 Suzuki H, Gotoda T, Sasako M, Saito D. Detection of early gastric cancer: misunderstanding the role of mass screening. *Gastric Cancer* 2006; 9: 315-319
- 8 Dinis-Ribeiro M. Chromoendoscopy for early diagnosis of gastric cancer. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2006; 18: 831-838
- 9 Nakayoshi T, Tajiri H, Matsuda K, Kaise M, Ikegami M, Sasaki H. Magnifying endoscopy combined with narrow band imaging system for early gastric cancer: correlation of vascular pattern with histopathology (including video). *Endoscopy* 2004; 36: 1080-1084
- 10 Uedo N, Iishi H, Tatsuta M, Yamada T, Ogiyama H, Imanaka K, Sugimoto N, Higashino K, Ishihara R, Narahara H, Ishiguro S. A novel videoendoscopy system by using autofluorescence and reflectance imaging for diagnosis of esophagogastric cancers. *Gastrointest Endosc* 2005; 62: 521-528
- 11 Eckert MW, McKnight CA, Lee JA, Araya J, Correa P, Cohn I, Levine EA. Early gastric cancer and Helicobacter pylori: 34 years of experience at Charity Hospital in New Orleans. *Am Surg* 1998; 64: 545-550; discussion 550-551
- 12 Sue-Ling HM, Johnston D, Martin IG, Dixon MF, Lansdown MR, McMahon MJ, Axon AT. Gastric cancer: a curable disease in Britain. *BMJ* 1993; 307: 591-596
- 13 Noguchi Y, Yoshikawa T, Tsuburaya A, Motohashi H, Karpeh MS, Brennan MF. Is gastric carcinoma different between Japan and the United States? *Cancer* 2000; 89: 2237-2246
- 14 Koong HN, Chan HS, Nambiar R, Soo KC, Ho J, Ng HS, Ng EH. Gastric cancers in Singapore: poor prognosis arising from late presentation. *Aust N Z J Surg* 1996; 66: 813-815
- 15 Kubota H, Kotoh T, Masunaga R, Dhar DK, Shibakita M, Tachibana M, Kohno H, Nagasue N. Impact of screening survey of gastric cancer on clinicopathological features and survival: retrospective study at a single institution. *Surgery* 2000; 128: 41-47
- 16 Matsumoto S, Yamasaki K, Tsuji K, Shirahama S. Results of mass endoscopic examination for gastric cancer in Kamigoto Hospital, Nagasaki Prefecture. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 4316-4320
- 17 Dan YY, So JB, Yeoh KG. Endoscopic screening for gastric cancer. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 709-716
- 18 Hirota WK, Zuckerman MJ, Adler DG, Davila RE, Egan J, Leighton JA, Qureshi WA, Rajan E, Fanelli R, Wheeler-Harbaugh J, Baron TH, Faigel DO. ASGE guideline: the role of endoscopy in the surveillance of premalignant conditions of the upper GI tract. *Gastrointest Endosc* 2006; 63: 570-580
- 19 Fujita S. Biology of early gastric carcinoma. *Pathol Res Pract* 1978; 163: 297-309
- 20 Voutilainen ME, Juhola MT. Evaluation of the diagnostic accuracy of gastroscopy to detect gastric tumours: clinicopathological features and prognosis of patients with gastric cancer missed

■应用要点

一项研究指出，癌肿侵犯黏膜下层，且大小 ≥ 2 cm并有淋巴浸润表现，可作为早期胃癌淋巴结转移的评价指标。而经过仔细筛查没有淋巴结转移表现的早期胃癌患者，可将内镜治疗作为治疗选择之一。

同行评价

本文科学性较好,较全面综述了家族性胃癌的研究进展,对临床有指导意义。

- on endoscopy. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005; 17: 1345-1349
- 21 Hosokawa O, Tsuda S, Kidani E, Watanabe K, Tanigawa Y, Shirasaki S, Hayashi H, Hinoshita T. Diagnosis of gastric cancer up to three years after negative upper gastrointestinal endoscopy. *Endoscopy* 1998; 30: 669-674
- 22 Japanese Gastric Cancer Association. Japanese Classification of Gastric Carcinoma -2nd English Edition-. *Gastric Cancer* 1998; 1: 10-24
- 23 Endoscopic Classification Review Group. Update on the paris classification of superficial neoplastic lesions in the digestive tract. *Endoscopy* 2005; 37: 570-578
- 24 Parsonnet J, Samloff IM, Nelson LM, Orentreich N, Vogelstein JH, Friedman GD. Helicobacter pylori, pepsinogen, and risk for gastric adenocarcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1993; 2: 461-466
- 25 Kimura K. Chronological transition of the fundic-pyloric border determined by stepwise biopsy of the lesser and greater curvatures of the stomach. *Gastroenterology* 1972; 63: 584-592
- 26 Kuipers EJ. Review article: Relationship between Helicobacter pylori, atrophic gastritis and gastric cancer. *Aliment Pharmacol Ther* 1998; 12 Suppl 1: 25-36
- 27 Miki K, Ichinose M, Kawamura N, Matsushima M, Ahmad HB, Kimura M, Sano J, Tashiro T, Kakei N, Oka H. The significance of low serum pepsinogen levels to detect stomach cancer associated with extensive chronic gastritis in Japanese subjects. *Jpn J Cancer Res* 1989; 80: 111-114
- 28 Samloff IM, Varis K, Ihamaki T, Siurala M, Rotter JI. Relationships among serum pepsinogen I, serum pepsinogen II, and gastric mucosal histology. A study in relatives of patients with pernicious anemia. *Gastroenterology* 1982; 83: 204-209
- 29 Aromaa A, Kosunen TU, Knekt P, Maatela J, Teppo L, Heinonen OP, Härkönen M, Hakama MK. Circulating anti-Helicobacter pylori immunoglobulin A antibodies and low serum pepsinogen I level are associated with increased risk of gastric cancer. *Am J Epidemiol* 1996; 144: 142-149
- 30 Watanabe Y, Kurata JH, Mizuno S, Mukai M, Inokuchi H, Miki K, Ozasa K, Kawai K. Helicobacter pylori infection and gastric cancer. A nested case-control study in a rural area of Japan. *Dig Dis Sci* 1997; 42: 1383-1387
- 31 Kitahara F, Kobayashi K, Sato T, Kojima Y, Araki T, Fujino MA. Accuracy of screening for gastric cancer using serum pepsinogen concentrations. *Gut* 1999; 44: 693-697
- 32 Ohata H, Kitauchi S, Yoshimura N, Mugitani K, Iwane M, Nakamura H, Yoshikawa A, Yanaoka K, Arii K, Tamai H, Shimizu Y, Takeshita T, Mohara O, Ichinose M. Progression of chronic atrophic gastritis associated with Helicobacter pylori infection increases risk of gastric cancer. *Int J Cancer* 2004; 109: 138-143
- 33 Watabe H, Mitsushima T, Yamaji Y, Okamoto M, Wada R, Kokubo T, Doi H, Yoshida H, Kawabe T, Omata M. Predicting the development of gastric cancer from combining Helicobacter pylori antibodies and serum pepsinogen status: a prospective endoscopic cohort study. *Gut* 2005; 54: 764-768
- 34 Nomura AM, Kolonel LN, Miki K, Stemmermann GN, Wilkens LR, Goodman MT, Perez-Perez GI, Blaser MJ. Helicobacter pylori, pepsinogen, and gastric adenocarcinoma in Hawaii. *J Infect Dis* 2005; 191: 2075-2081
- 35 Kikuchi S, Katada N, Sakuramoto S, Kobayashi N, Shimao H, Watanabe M, Hiki Y. Survival after surgical treatment of early gastric cancer: surgical techniques and long-term survival. *Langenbecks Arch Surg* 2004; 389: 69-74
- 36 Borie F, Plaisant N, Millat B, Hay JM, Fagniez PL. Appropriate gastric resection with lymph node dissection for early gastric cancer. *Ann Surg Oncol* 2004; 11: 512-517
- 37 Kunisaki C, Akiyama H, Nomura M, Matsuda G, Otsuka Y, Ono H, Shimada H. Surgical outcomes for early gastric cancer in the upper third of the stomach. *J Am Coll Surg* 2005; 200: 15-19
- 38 Gotoda T, Yanagisawa A, Sasako M, Ono H, Nakanishi Y, Shimoda T, Kato Y. Incidence of lymph node metastasis from early gastric cancer: estimation with a large number of cases at two large centers. *Gastric Cancer* 2000; 3: 219-225
- 39 Gunji Y, Suzuki T, Hori S, Hayashi H, Matsubara H, Shimada H, Ochiai T. Prognostic significance of the number of metastatic lymph nodes in early gastric cancer. *Dig Surg* 2003; 20: 148-153
- 40 Sano T, Kobori O, Muto T. Lymph node metastasis from early gastric cancer: endoscopic resection of tumour. *Br J Surg* 1992; 79: 241-244
- 41 Tao HQ, He XJ, Ma YY, Wang HJ, Xia YJ, Ye ZY, Zhao ZS. Evaluation of REG4 for early diagnosis and prognosis of gastric cancer. *Hum Pathol* 2011; 42: 1401-1409
- 42 Corso G, Pedrazzani C, Pinheiro H, Fernandes E, Marrelli D, Rinnovati A, Pascale V, Seruca R, Oliveira C, Roviello F. E-cadherin genetic screening and clinico-pathologic characteristics of early onset gastric cancer. *Eur J Cancer* 2011; 47: 631-639

编辑 李军亮 电编 闫晋利

胃癌的免疫病理学研究进展

林辉, 刘占举

林辉, 刘占举, 同济大学附属第十人民医院胃肠内科 上海市 200072

作者贡献分布: 此课题由林辉与刘占举共同设计、完成和撰写。
通讯作者: 刘占举, 教授, 主任医师, 博士生导师, 200072, 上海市延长中路301号, 同济大学附属第十人民医院胃肠内科。
zhanjuli@yaho.com

电话: 021-66301164 传真: 021-66303983

收稿日期: 2011-08-02 修回日期: 2011-08-28

接受日期: 2011-11-10 在线出版日期: 2011-11-18

Advances in understanding the immunopathology of gastric cancer

Hui Lin, Zhan-Ju Liu

Hui Lin, Zhan-Ju Liu, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University School of Medicine, Shanghai 200072, China

Correspondence to: Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University School of Medicine, 301 Yanchang Middle Road, Shanghai 200072, China. zhanjuli@yaho.com

Received: 2011-08-02 Revised: 2011-08-28

Accepted: 2011-11-10 Published online: 2011-11-18

Abstract

The etiology and pathogenesis of gastric cancer (GC) are still elusive. Genetic factors, environmental factors and immune factors may play a role in the development of GC. While GC is progressing, tumor cells always induce immune cell apoptosis or immune system dysfunction to acquire immune privilege or immune evasion. It has been known that CD4⁺ T cells, CD8⁺ T cells, the B7 ligand family and dendritic cells are involved in these processes. GC immunotherapy, which can be antigen-specific or -nonspecific, has been an important part of adjuvant therapy. IL-2 is one of the most commonly used cytokines in GC-nonspecific immunotherapy and has been demonstrated to have certain curative effect. Administration of dendritic cell-based tumor vaccines will become a new approach for GC-specific immunotherapy.

Key Words: Gastric cancer; Immune regulation; Immunotherapy; Advance

Lin H, Liu ZJ. Advances in understanding the immunopathol-

ogy of gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(32): 3313-3317

摘要

目前胃癌的发病机制不清楚,可能与基因遗传、环境因素和免疫因素等有关。当胃癌进展时,肿瘤细胞常通过促进免疫细胞的凋亡或者降低其功能而获得免疫赦免,达到免疫逃逸,参与这一过程的细胞有CD4⁺T、CD8⁺T细胞、B7配体家族以及树突状细胞(dendritic Cell, DC)等。免疫治疗一直是胃癌辅助治疗的重要组成部分,他分为抗原特异性及非特异性两大类。IL-2是胃癌非特异性免疫治疗中最常用的细胞因子之一,有一定的疗效,DC胃癌细胞融合疫苗将成为胃癌特异性免疫治疗新的前景。

关键词: 胃癌; 免疫调节; 免疫治疗; 进展

林辉, 刘占举. 胃癌的免疫病理学研究进展. *世界华人消化杂志* 2011; 19(32): 3313-3317

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3313.asp>

0 引言

胃癌的发生率在全球居第4位,在所有癌症死亡率中居第2位,约10.4%^[1]。全球每年有90万新发胃癌病例,约70万人死于胃癌^[2]。卫生部组织的全国第2次死因调查显示,我国胃癌死亡占到所有因癌症死亡人数的23.2%,居首位^[3,4]。胃癌中绝大多数是腺癌(90%),10%是胃淋巴瘤或胃肠间质瘤(gastrointestinal stromal tumor, GIST)。胃腺癌主要有2种不同的类型:肠型(50%)及弥漫型(33%),少数是混合型(17%);肠型腺癌主要发生在老年人,好发于胃窦部、小弯,发展缓慢,与幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染密切相关,其癌细胞分化良好,随着*H. pylori*的根除、社会经济卫生状况的改善,其发病率逐渐下降。而弥漫型腺癌发病年龄较轻,与遗传免疫因素关系密切,预后差,近年发病率有增加趋势^[5,6]。本综述就近年来国内外胃癌发生发展过程中机体的免疫反应机制及胃癌免疫治疗最新进展作一综述。

■背景资料

国内外众多学者致力于胃癌发病机制及治疗的研究,至今未有突破性进展。免疫逃逸是肿瘤发生发展的重要机制之一。对胃癌免疫逃逸发生机理的研究也为免疫治疗提供了理论依据。

■同行评议者

樊晓明, 主任医师, 复旦大学附属金山医院消化科; 黄颖秋, 教授, 本溪钢铁(集团)有限责任公司总医院消化内科

■ 研发前沿

Tanaka等报道
GF β 抑制剂能诱
导DC细胞成熟并
增强抗肿瘤效应。

1 机体的免疫反应与胃癌

胃癌的发生、发展与宿主抗肿瘤免疫功能状态密切相关,其发生时常伴有宿主免疫功能低下或者免疫抑制状态,使肿瘤对宿主免疫系统产生逃逸。Burnet于1967年提出了免疫监视学说,认为机体免疫系统通过细胞免疫机制能识别并特异地杀伤突变细胞,使突变细胞在未形成肿瘤之前即被清除。但是,许多肿瘤仍能在机体内进行性生长,肿瘤细胞是如何逃避宿主免疫系统的攻击产生免疫耐受,免疫逃逸的机制包括抗原缺乏, T细胞抗原表位的减少或缺失, 肿瘤细胞产生免疫抑制分子, 以及荷瘤宿主T细胞及树突细胞的功能障碍^[7,8]。

1.1 B7-H1介导的T细胞免疫 T细胞是一类重要的免疫活性细胞,不仅直接介导细胞免疫功能,而且对机体免疫应答的调节有至关重要的作用,预后较差的胃癌患者中往往能发现特异性的T细胞没有被充分的诱导或者作用被抑制。肿瘤细胞逃脱机体免疫监视是肿瘤发生的前提,主要通过以下几种途径:下调肿瘤细胞表面人主要组织相容性复合物 I 类分子(major histocompatibility complex I, MHC I)表达,使T细胞不能识别特异性肿瘤抗原;下调T细胞共刺激分子及分泌一些免疫抑制性因子,以抑制T细胞活性。免疫系统清除肿瘤需通过激活与聚集肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte, TIL)来实现,因此TIL可反映机体的免疫状态。临床研究发现, TIL与几种消化系统恶性肿瘤的进展以及预后高度相关^[9,10]。

B7-H1是近年发现的B7家族的新成员之一,一般表达在抗原递呈细胞上,能够下调T细胞和B细胞介导的免疫反应和炎症反应。一些研究证实,肿瘤细胞上异常高表达B7-H1分子,通过与T细胞上抑制性受体PD-1结合,而抑制以Th1细胞为主的免疫反应,并能诱导T细胞凋亡,促进肿瘤细胞逃避免疫攻击。Greenwald等^[11]认为,存在一种新的肿瘤逃逸免疫机制,即肿瘤细胞表达B7-H1,与活化的T、B淋巴细胞表面的PD-1结合,抑制抗肿瘤免疫反应。有学者^[12]提出,肿瘤组织细胞上B7-H1表达能诱导肿瘤抗原特异性T淋巴细胞凋亡,从而逃逸机体的免疫反应,导致肿瘤细胞无限增殖。通过构建B7-H1阳性表达的小鼠肿瘤模型^[13-15],阻断小鼠肿瘤相关B7-H1分子,发现能增加抗肿瘤的T淋巴细胞反应。因此, B7-H1分子可能作为效应T淋巴细胞抗肿瘤免疫的负性调节因子,在机体免疫监督能力削

弱的背景下促进肿瘤发展。已有报道^[16]胃癌组织中B7-H1和PD-1表达升高,而正常胃组织中无表达,胃癌组织中B7-H1表达与TIL浸润,尤其是CD8⁺ T细胞浸润明显负相关。而CD8⁺ T细胞在肿瘤特异性免疫反应中发挥重要作用,这些结果提示,胃癌细胞上表达B7-H1可能下调其周边区域TIL的免疫功能,抑制抗肿瘤免疫。

1.2 B7-H3与胃癌 已知B7配体家族在T细胞介导的免疫反应中起重要的作用,但B7-H3在胃癌细胞中表达的临床意义仍不清楚。Arigami等^[17]用定量RT-PCR检测95例胃癌病人血液标本中B7-H3 mRNA的表达及21例健康志愿者外周血淋巴细胞中B7-H3 mRNA的表达,结果发现胃癌血标本比健康志愿者有更多B7-H3 mRNA表达($P<0.0001$), B7-H3 mRNA高表达病例与低表达病例对比5年生存率明显降低($P=0.02$),多元分析也显示B7-H3是独立的预后因子。这些结果说明B7-H3可能是能预测胃癌进展有用的血液标志物。

1.3 树突状细胞 树突状细胞(dendritic cell, DC)是体内功能最强的专职抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC),能独特激活初始T细胞和静息T细胞,从而激发抗原特异性的T细胞免疫反应。DC作为功能最强的APC,具有摄取、加工、递呈抗原能力。高表达主要MHC I、MHC-II类分子、共刺激分子和黏附分子,并分泌高水平辅助性T细胞1(Th1)细胞因子IL-12,干扰素(IFN)进一步加强T细胞活化的功能细胞因子。

DC有成熟和不成熟2种形态。未成熟DC具有强烈的摄取、加工处理抗原的能力,其通过受体介导的细胞内吞、吞噬、巨吞饮3种方式有效地摄取抗原并处理成可溶性蛋白,但移动能力低。一旦DC捕获抗原,就迁移至淋巴组织,并提呈抗原给免疫细胞,激活静息T细胞产生免疫应答,DC也因此成熟,成熟DC高表达MHC-I、MHC-II类分子,上调CD54、CD80(B7-1)、CD86(B7-2)等T细胞活化辅助分子^[18,19]。

DC广泛分布于皮肤、消化系、呼吸道黏膜等机体防御第一线的专职抗原呈递细胞,是肿瘤组织中主要的、也是最有效的抗原提呈细胞,主要通过提呈肿瘤抗原介导特异性细胞免疫应答而对肿瘤细胞产生抑制作用,具有免疫监视功能,DC数量的减少和或功能缺乏可导致免疫逃逸,促使肿瘤发生浸润转移。由于存在DC的功能缺陷,特别是DC的数量、表型和功能的改变,使DC不能有效的摄取、处理、递呈肿瘤抗原,

从而无法有效激活T细胞以识别和杀伤肿瘤细胞, 造成肿瘤细胞逃避机体的免疫监视, 促进肿瘤的形成和发展. 而DC功能缺陷可能是由于肿瘤细胞分泌的各种抑制DC成熟的因子造成的. 如肿瘤细胞分泌的血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、IL-10、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)、肿瘤生长因子(transforming growth factor beta1, TGF- β)、P15E蛋白、前列腺素E2等一系列细胞因子, 这些细胞因子能抑制DC的成熟和迁移, 而胃癌患者血清中一些促进DC成熟的细胞因子如IL-12反而减少. 因此, 胃癌微环境中DC是不成熟的, 这也可能就是胃癌细胞逃逸免疫监视的机制^[20].

Nakamura等^[21]通过检测DC细胞的迁移和成熟状态来分析已发生转移的胃癌患者局部淋巴结免疫应答. 29例胃癌患者中732个淋巴结纳入研究, 其中25例局部淋巴结未转移, 4例胃癌病例局部淋巴结转移. 结果发现不管胃癌是否发生转移, DC细胞在局部淋巴结的分布与密度是相同的; 在转移发生前, 通过DC细胞的成熟从而激活免疫应答在胃癌局部淋巴结中广泛存在. Natsugoe等^[22]对已做胃切除手术的169例胃癌患者进行了实验研究, 将患者按DC和自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)的数量多少分为两组, 发现随着肿瘤浸润淋巴结的数量递增, DC和NKC的数量随之递减. DC的浸润数量和胃癌的浸润深度, 淋巴结的转移, 及其预后呈负相关. 而且, 实验表明大量DC浸润的胃癌患者5年生存率达78%, 明显高于只有少量DC浸润的患者. 国内徐敏等^[23]也探讨了胃癌患者微环境中肿瘤浸润性树突状细胞(TIDC)与癌细胞浸润程度, 淋巴结转移以及患者术后存活时间的关系, 也得到类似的结果. 这些研究结果表明, DC在宿主抗肿瘤免疫防御机制中起重要作用, 肿瘤中树突状细胞浸润数量越多, 其疾病的预后越好.

2 胃癌的免疫治疗

免疫治疗一直是肿瘤辅助治疗的重要组成部分, 它分为抗原特异性及非特异性2大类. 非特异性免疫治疗是通过非特异地、全面地提高机体免疫力来提高对胃癌的免疫反应. 主要是应用细胞因子(IL-2、IFN等)和非特异性免疫增强剂(如卡介苗, OK-432, 云芝多糖及香菇多糖等)通过细胞免疫, 促进单核巨噬细胞增殖, 增强T淋巴细胞、NK的活性和多种细胞因子的释放,

从而非特异性增强机体对肿瘤的免疫排斥能力, 达到治疗肿瘤的目的^[24]. IL-2是在肿瘤免疫治疗中最常用的细胞因子之一, 大量的临床实验和较好的临床效果使得FDA在1992年和1998年先后批准了应用大剂量IL-2治疗转移性肾细胞癌(RCC)和转移性黑色素瘤. 在胃癌患者中, Romano等^[25]也发现, 在术前给予IL-2治疗可以显著预防因手术导致的淋巴细胞下降和免疫抑制, 促进免疫细胞在肿瘤中的浸润, 激发机体的抗肿瘤反应, 改变疾病的发展进程和提高无病生存率.

过继非特异性免疫效应细胞以杀伤肿瘤细胞是免疫治疗的另一途径, 杀伤活性和体外增殖性能均较好的杀伤细胞(CIK)近年已引起临床关注^[26-28]. CIK细胞是以T细胞为主细胞群, 其主要效应细胞是自然杀伤T细胞, 兼有NK细胞和T细胞的双重标志(CD3⁺CD56⁺). 这种细胞虽然表达T细胞受体(TCR), 却以MHC非限制性方式攻击靶细胞, 具有较广的杀瘤谱, 将DC疫苗与CIK细胞共培养, 则杀伤活性和增殖能力又将进一步提高, 特别是对抗原特异性靶细胞的杀伤力的增强更为明显^[29].

特异性免疫治疗是肿瘤免疫治疗中的主要内容, 获得肿瘤抗原是这类治疗的前提, 可以利用的方法很多, 包括全肿瘤细胞, 肿瘤细胞裂解物, 酸洗脱细胞, 人工合成等. 而目前针对胃癌免疫治疗的靶抗原包括胃泌素、癌胚抗原以及胃癌相关性抗原MG7^[30]. 激发机体对肿瘤特异性免疫反应的关键步骤是肿瘤抗原的呈递, DC是体内功能最强的抗原递呈细胞, 在肿瘤特异性免疫治疗中处于核心地位, 用肿瘤特异性抗原或肿瘤相关抗原致敏DC, 或将DC与肿瘤细胞融合, 从而激发机体抗肿瘤细胞免疫反应, 具有很好的靶向性, 是目前研究较多的抗肿瘤免疫方法. 而肿瘤机体内DC的功能受到严重抑制, 无法有效提呈抗原, 其所刺激的T淋巴细胞往往处于无能状态, 所以临床上多采用脱离机体免疫抑制环境在体外建立并扩增DC疫苗, 然后回输给患者促进机体产生肿瘤特异性免疫反应^[31,32]. Kanazawa等^[33]将DC细胞疫苗利用超声内镜注入2例晚期胃癌患者的肿瘤中, 使其中的1例出现肿瘤标志物和腹水减少.

Homma等^[34]将DC胃癌细胞融合疫苗治疗1例75岁的胃癌切除术后胃癌扩散并有腹水的患者, 融合疫苗每隔2 wk皮下注射1次, 在第3次注射后, 其腹水以及双下肢水肿明显减轻, 血清

■应用要点

本文综述T细胞、B7配体家族以及树突状细胞等在胃癌免疫逃逸机制中的作用, 以及胃癌抗原特异性及非特异性免疫治疗, DC胃癌细胞融合疫苗将成为胃癌特异性免疫治疗新的前景.

同行评论

该文较全面综述了胃癌的免疫学研究现状,对读者认识免疫机制在胃癌发生发展中的作用有一定的帮助。

中的癌胚抗原(CEA)也比治疗前有所降低,在注射第5次后,诱发了抗自体肿瘤的细胞毒性反应,尽管患者在融合疫苗治疗的5 mo后病情复发,且仅为个案,但同源DC和胃癌细胞融合可能是胃癌免疫治疗新的前景。Homma等^[35]还将DC融合疫苗和IL-12一起应用,获得了有效的抗肿瘤免疫反应,而且副作用小。Tanaka等^[36]报道TGFβ抑制剂SB-431542能诱导DC细胞成熟并增强抗肿瘤效应。

目前胃癌免疫治疗的临床效果还不令人满意,还存在着大量的问题需要解决:如胃癌中特异性或相关性抗原的缺乏;肿瘤细胞的异质性和基因组不稳定性导致胃癌肿瘤抗原的变异;瘤体本身可产生一系列抑制免疫效应的细胞因子等^[37]。随着对免疫耐受机制和抗肿瘤免疫机制认识的深入以及新技术、新方法的开展,相信不久的将来会有更好临床疗效的胃癌疫苗出现。

3 结论

胃癌细胞上异常高表达B7-H1分子,通过与T细胞上抑制性受体PD-1结合,而抑制以Th1细胞为主的免疫反应,并能诱导T细胞凋亡,促进肿瘤细胞逃避免疫攻击。B7-H3可能是能预测胃癌进展有用的血液标记物。DC数量的减少和或功能缺乏可使DC不能有效的摄取、处理、递呈肿瘤抗原,从而无法有效激活T细胞,以识别和杀伤肿瘤细胞,造成肿瘤细胞逃避机体的免疫监视,促进肿瘤的形成和发展。DC在宿主对抗肿瘤免疫防御机制中起重要作用,肿瘤中树突状细胞浸润数量越多,其疾病的预后越好。IL-2是胃癌非特异性免疫治疗中最常用的细胞因子之一,有一定的疗效,DC胃癌细胞融合疫苗将成为胃癌特异性免疫治疗新的前景,但胃癌的免疫治疗仍任重道远。

4 参考文献

- Parkin DM. International variation. *Oncogene* 2004; 23: 6329-6340
- Parkin DM, Bray FI, Devesa SS. Cancer burden in the year 2000. The global picture. *Eur J Cancer* 2001; 37 Suppl 8: S4-66
- Leung WK, Wu MS, Kakugawa Y, Kim JJ, Yeoh KG, Goh KL, Wu KC, Wu DC, Sollano J, Kachintorn U, Gotoda T, Lin JT, You WC, Ng EK, Sung JJ. Screening for gastric cancer in Asia: current evidence and practice. *Lancet Oncol* 2008; 9: 279-287
- Shang J, Pena AS. Multidisciplinary approach to understand the pathogenesis of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 4131-4139
- Carneiro F, Oliveira C, Seruca R. Pathology and genetics of familial gastric cancer. *Int J Surg Pathol* 2010; 18(3 Suppl): 33S-36S

- Oliveira C, Seruca R, Carneiro F. Genetics, pathology, and clinics of familial gastric cancer. *Int J Surg Pathol* 2006; 14: 21-33
- Yao XX, Yin L, Sun ZC. The expression of hTERT mRNA and cellular immunity in gastric cancer and precancerosis. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 586-590
- Du L, Xiao X, Wang C, Zhang X, Zheng N, Wang L, Zhang X, Li W, Wang S, Dong Z. Human leukocyte antigen-G is closely associated with tumor immune escape in gastric cancer by increasing local regulatory T cells. *Cancer Sci* 2011; 102: 1272-1280
- Cho Y, Miyamoto M, Kato K, Fukunaga A, Shichinohe T, Kawarada Y, Hida Y, Oshikiri T, Kurokawa T, Suzuoki M, Nakakubo Y, Hiraoka K, Murakami S, Shinohara T, Itoh T, Okushiba S, Kondo S, Katoh H. CD4+ and CD8+ T cells cooperate to improve prognosis of patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Res* 2003; 63: 1555-1559
- Ropponen KM, Eskelinen MJ, Lippinen PK, Alhava E, Kosma VM. Prognostic value of tumour-infiltrating lymphocytes (TILs) in colorectal cancer. *J Pathol* 1997; 182: 318-324
- Greenwald RJ, Freeman GJ, Sharpe AH. The B7 family revisited. *Annu Rev Immunol* 2005; 23: 515-548
- Dong H, Strome SE, Salomao DR, Tamura H, Hirano F, Flies DB, Roche PC, Lu J, Zhu G, Tamada K, Lennon VA, Celis E, Chen L. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion. *Nat Med* 2002; 8: 793-800
- Strome SE, Dong H, Tamura H, Voss SG, Flies DB, Tamada K, Salomao D, Cheville J, Hirano F, Lin W, Kasperbauer JL, Ballman KV, Chen L. B7-H1 blockade augments adoptive T-cell immunotherapy for squamous cell carcinoma. *Cancer Res* 2003; 63: 6501-6505
- Hirano F, Kaneko K, Tamura H, Dong H, Wang S, Ichikawa M, Rietz C, Flies DB, Lau JS, Zhu G, Tamada K, Chen L. Blockade of B7-H1 and PD-1 by monoclonal antibodies potentiates cancer therapeutic immunity. *Cancer Res* 2005; 65: 1089-1096
- Nomi T, Sho M, Akahori T, Hamada K, Kubo A, Kanehiro H, Nakamura S, Enomoto K, Yagita H, Azuma M, Nakajima Y. Clinical significance and therapeutic potential of the programmed death-1 ligand/programmed death-1 pathway in human pancreatic cancer. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 2151-2157
- 刘书漫, 孟青, 张钦宪, 王盛典, 刘占举, 张谢夫. B7-H1及其受体PD-1在胃癌组织中的表达与意义. *中华肿瘤杂志* 2008; 30: 192-195
- Arigami T, Uenosono Y, Hirata M, Yanagita S, Ishigami S, Natsugoe S. B7-H3 expression in gastric cancer: a novel molecular blood marker for detecting circulating tumor cells. *Cancer Sci* 2011; 102: 1019-1024
- Lawrence F, Edgar G. Dendritic cells in cancer immunotherapy. *Annu Rev Immunol* 2000; 18: 245-273
- Dallal R, Lotzem M. The dendritic cell and human cancer vaccines. *Curr Opin Immunol* 2000; 12: 583-588
- Takahashi A, Kono K, Itakura J, Amemiya H, Feng Tang R, Iizuka H, Fujii H, Matsumoto Y. Correlation of vascular endothelial growth factor-C expression with tumor-infiltrating dendritic cells in gastric cancer. *Oncology* 2002; 62: 121-127
- Nakamura K, Ninomiya I, Oyama K, Inokuchi M,

- Kinami S, Fushida S, Fujimura T, Kayahara M, Ohta T. Evaluation of immune response according to the metastatic status in the regional lymph nodes in patients with gastric carcinoma. *Oncol Rep* 2010; 24: 1433-1441
- 22 Ishigami S, Natsugoe S, Tokuda K, Nakajo A, Xiangming C, Iwashige H, Aridome K, Hokita S, Aikou T. Clinical impact of intratumoral natural killer cell and dendritic cell infiltration in gastric cancer. *Cancer Lett* 2000; 159: 103-108
- 23 徐敏, 程书榜, 王成友, 郑凯. 胃癌微环境中树突状细胞浸润的临床意义. *中华胃肠外科杂志* 2003; 6: 336-338
- 24 Tsujimoto H, Ono S, Ichikura T, Matsumoto Y, Yamamoto J, Hase K. Roles of inflammatory cytokines in the progression of gastric cancer: friends or foes? *Gastric Cancer* 2010; 13: 212-221
- 25 Romano F, Cesana G, Berselli M, Gaia Piacentini M, Caprotti R, Bovo G, Uggeri F. Biological, histological, and clinical impact of preoperative IL-2 administration in radically operable gastric cancer patients. *J Surg Oncol* 2004; 88: 240-247
- 26 Kim YJ, Lim J, Kang JS, Kim HM, Lee HK, Ryu HS, Kim JY, Hong JT, Kim Y, Han SB. Adoptive immunotherapy of human gastric cancer with ex vivo expanded T cells. *Arch Pharm Res* 2010; 33: 1789-1795
- 27 Jiang JT, Shen YP, Wu CP, Zhu YB, Wei WX, Chen LJ, Zheng X, Sun J, Lu BF, Zhang XG. Increasing the frequency of CIK cells adoptive immunotherapy may decrease risk of death in gastric cancer patients. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 6155-6162
- 28 Linn YC, Hui KM. Cytokine-induced NK-like T cells: from bench to bedside. *J Biomed Biotechnol* 2010; 2010: 435745
- 29 Märtens A, Greten T, Ziske C, Renoth S, Schöttker B, Buttgerit P, Schakowski F, von Rücker A, Sauerbruch T, Schmidt-Wolf IH. Generation of activated and antigen-specific T cells with cytotoxic activity after co-culture with dendritic cells. *Cancer Immunol Immunother* 2002; 51: 25-32
- 30 Lee CH, Lum JH, Cheung BP, Wong MS, Butt YK, Tam MF, Chan WY, Chow C, Hui PK, Kwok FS, Lo SC, Fan DM. Identification of the heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2/B1 as the antigen for the gastrointestinal cancer specific monoclonal antibody MG7. *Proteomics* 2005; 5: 1160-1166
- 31 Song B, Wang C, Liu J, Wang X, Lv L, Wei L, Xie L, Zheng Y, Song X. MicroRNA-21 regulates breast cancer invasion partly by targeting tissue inhibitor of metalloproteinase 3 expression. *J Exp Clin Cancer Res* 2010; 29: 29
- 32 Mann DL, Celluzzi CM, Hankey KG, Harris KM, Watanabe R, Hasumi K. Combining conventional therapies with intratumoral injection of autologous dendritic cells and activated T cells to treat patients with advanced cancers. *Ann N Y Acad Sci* 2009; 1174: 41-50
- 33 Kanazawa M, Yoshihara K, Abe H, Iwadata M, Watanabe K, Suzuki S, Endoh Y, Ohki S, Takita K, Sekikawa K, Takenoshita S, Takagi T, Irisawa A, Sato Y, Ogata T, Ohto H. [Case report on intratumor injection therapy of dendritic cells in advanced gastric cancer]. *Gan To Kagaku Ryoho* 2004; 31: 1773-1776
- 34 Homma S, Matai K, Irie M, Ohno T, Kufe D, Toda G. Immunotherapy using fusions of autologous dendritic cells and tumor cells showed effective clinical response in a patient with advanced gastric carcinoma. *J Gastroenterol* 2003; 38: 989-994
- 35 Homma S, Kikuchi T, Ishiji N, Ochiai K, Takeyama H, Saotome H, Sagawa Y, Hara E, Kufe D, Ryan JL, Ohno T, Toda G. Cancer immunotherapy by fusions of dendritic and tumour cells and rh-IL-12. *Eur J Clin Invest* 2005; 35: 279-286
- 36 Tanaka H, Shinto O, Yashiro M, Yamazoe S, Iwawuchi T, Muguruma K, Kubo N, Ohira M, Hirakawa K. Transforming growth factor β signaling inhibitor, SB-431542, induces maturation of dendritic cells and enhances anti-tumor activity. *Oncol Rep* 2010; 24: 1637-1643

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011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)

家族性胃癌的遗传学特征

孙超, 陈鑫, 王邦茂

■背景资料

胃癌是目前亚洲国家常见的消化系统恶性肿瘤之一, 且部分患者有家族聚集性或遗传倾向, 通过对E-cadherin、MMR、MET等相关易感基因的研究, 为最终从遗传学水平上发现、诊断、治疗和预防家族性胃癌提供了依据。

孙超, 陈鑫, 王邦茂, 天津医科大学总医院消化科 天津市 300052

作者贡献分布: 本文综述由孙超完成; 陈鑫与王邦茂审校。

通讯作者: 王邦茂, 教授, 主任医师, 博士生导师, 300052, 天津市和平区鞍山道154号, 天津医科大学总医院消化科。

gi.tmuh@sohu.com

收稿日期: 2011-08-04 修回日期: 2011-08-18

接受日期: 2011-11-10 在线出版日期: 2011-11-18

Genetic features of familial gastric cancer

Chao Sun, Xin Chen, Bang-Mao Wang

Chao Sun, Xin Chen, Bang-Mao Wang, Department of Gastroenterology, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China

Correspondence to: Bang-Mao Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Tianjin Medical University General Hospital, 154 Anshan Road, Heping District, Tianjin 300052, China. gi.tmuh@sohu.com

Received: 2011-08-04 Revised: 2011-08-18

Accepted: 2011-11-10 Published online: 2011-11-18

Abstract

Gastric cancer is a common malignant tumor of the gastrointestinal tract worldwide. Although its incidence has declined in recent years, it is still the most prevalent cancer in Asian countries. Familial aggregation has been seen in approximately 10% of the patients, and 1%-3% of cases are hereditary, indicating a genetic basis of familial gastric cancer (FGC). Hereditary diffuse gastric cancer (HDGC), regarded as a subset of FGC, performs germline mutations of the cell to cell adhesion molecule E-cadherin (CDH1) in one-third of the families. Other susceptibility genes include MMR and MET. In this article, we will review the genetic features of FGC.

Key Words: Familial gastric cancer; Genetic features; Tumor

Sun C, Chen X, Wang BM. Genetic features of familial gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(32): 3318-3322

摘要

胃癌是一种在世界范围内常见的消化系统恶性

肿瘤, 虽然近年来发病率有所下降, 但仍是亚洲国家发病率最高的恶性肿瘤之一。约有10%的患者表现出家族聚集现象, 1%-3%的病例具有遗传倾向, 提示家族性胃癌的发生具有一定的遗传学基础。遗传性弥漫型胃癌作为家族性胃癌的一种亚型, 1/3的家系具有编码细胞间黏附分子E-cadherin基因的种系突变, 其他的易感基因还包括MMR基因、MET基因等, 本文试从遗传学角度对家族性胃癌作一综述。

关键词: 家族性胃癌; 遗传学特征; 肿瘤

孙超, 陈鑫, 王邦茂. 家族性胃癌的遗传学特征. 世界华人消化杂志 2011; 19(32): 3318-3322

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3318.asp>

0 引言

胃癌是消化系统常见的恶性肿瘤, 根据美国癌症学会2011年公布的全球肿瘤统计报告, 胃癌每年新发病例在男性中居第4位, 女性中居第5位, 而死亡例数分居第3和第5位^[1]。由于受遗传、环境及饮食结构等诸多因素的影响, 东亚、东欧及南美的发病率显著高于其他国家和地区。同结肠癌、乳腺癌一样, 胃癌人群中也存在着一一定的遗传易感性和家族聚集现象^[2]。近年来随着分子生物学领域相关理论和技术手段的飞速发展, 人们对胃癌的遗传学特征有了更加深入的认识和理解。

1 家族性胃癌的基本概念

约10%的胃癌人群有家族聚集性^[3], 1%-3%表现出相应的遗传易感性^[4]。按照Lauren病理分型, 胃癌可分为肠型胃癌和弥漫型胃癌, 而以此为基础, 将能够获得明确的组织病理学诊断。依据的胃癌家系可进一步划分为家族性肠型胃癌(familial intestinal gastric cancer, FIGC), 家族性弥漫型胃癌(familial diffuse gastric cancer, FDGC)和遗传性弥漫型胃癌(hereditary diffuse gastric cancer, HDGC)^[5]。1999年国际胃癌联合会(International Gastric Cancer Linkage Consortium, IGCLC)制定了HDGC的诊断标准^[6]: (1): 一级

■同行评议者

樊晓明, 主任医师, 复旦大学附属金山医院消化科; 黄颖秋, 教授, 本溪钢铁(集团)有限责任公司总医院消化内科

或二级亲属中弥漫型胃癌病人 ≥ 2 例, 其中至少有1例发病年龄小于50岁; (2): 一级或二级亲属中弥漫型胃癌病人 ≥ 3 例, 不论年龄大小, 并于2008年再次更新了相关遗传学诊断标准, 规定HDGC专指具有E-cadherin基因种系突变的胃癌家系. 而如果先证者患有弥漫型胃癌, 但不能完全符合HDGC的诊断标准, 则称为FDGC. 对于高发区FIGC的诊断标准可参照遗传性非息肉性结直肠癌(hereditary non-polyposis colorectal carcinoma, HNPCC)的阿姆斯特丹标准^[7]: (1)肠型胃癌病人 ≥ 3 例, 且一级亲属者数 ≥ 1 例; (2)至少连续两代发病; (3)发病年龄 < 50 岁者 ≥ 1 例. 低发区则需符合以下任一条者: (1)一级或二级亲属中肠型胃癌患者数 ≥ 2 例, 其中 < 50 岁的 ≥ 1 例; (2)肠型胃癌患者数 ≥ 3 例, 不论年龄大小.

2 家族性胃癌的遗传学特征

2.1 家族性胃癌与E-cadherin基因

2.1.1 E-cadherin基因: E-cadherin(CDH1)基因于人类染色体16q22.1, cDNA全长约2.8 kb, 包含16个外显子和15个内含子, 其所编码的蛋白质产物分子量约120 kDa, 属于细胞间黏附分子(cel-lular adhesive molecule, CAM)中黏附素家族的重要成员. 黏附素为一组钙依赖性跨膜糖蛋白, 除E-cadherin主要表达于上皮细胞间, 还包括主要分布在神经组织中的N-cadherin; 主要表达在胎盘组织中的P-cadherin和主要分布在肝脏组织中的L-cadherin. E-cadherin对介导细胞间黏附, 维持细胞极性, 进一步建立和维持上皮细胞组织形态和结构功能的完整性具有重要作用, 其功能的缺失和表达数量的下调可能会导致细胞的分化异常、进而发生侵袭和转移, 形成恶性肿瘤.

2.1.2 E-cadherin基因种系突变: 1998年Guilford等^[8]通过对新西兰3个Maori族胃癌家系的研究, 首次揭示了HDGC作为常染色体显性遗传性肿瘤综合征的一种, 其发生机制与E-cadherin基因种系突变相关, 引发了对FGC遗传学特征的进一步研究. 随后欧洲及美国也进行了相关研究, Oliveira^[5]对不同文献FGC家系中E-cadherin基因种系突变的情况做了统计, 结果118个HDGC家系中43个阳性(36.4%); 104个FDGC家系中13个阳性(12.5%); 其余全部为阴性. 而在此56个突变家系中截短突变(truncating mutation)和错义突变(missense mutation)分别为45个(80.4%)和11个(19.6%). Guilford等^[9]对确定具有E-cadherin

基因种系突变的HDGC家系进行了分析, 发现目前已报告的突变位点有将近100个, 虽然没有明确的热点, 但在几个不同的家系中, 都发现了1003C>T, 1901C>T和1137G>A的突变. 而New-foundland的4个家系中则同时发现了2398delC的突变^[10]. 另外2个调控序列变异-160C->A^[11]和163+37235G>A^[12]也被认为是发展成弥漫型胃癌高危因素. Oliveira等^[13]的研究结果显示常见的突变方式包括小片段插入、缺失(约占75%), 错义(占28%)、无义(占16%)以及剪切位点(占16%)等, 而突变的位点几乎遍及所有基因序列, 包括外显子、内含子和剪切部位, 且表型和基因型之间无相关性. 虽然目前已经证实截短突变可以导致E-cadherin的功能异常, 但对错义突变的作用仍具争议, 有研究指出其在肿瘤细胞的增殖、聚集和侵袭等异常生物学行为中扮演了重要角色. 虽然E-cadherin基因种系突变与HDGC之间的关系正得到不断深入的认识, 但在胃癌高发的东亚地区, 尤其是日本, 相关研究结果却与欧美国家具有较大差异. 日本Shinmura等^[7]通过对3 632名胃癌患者的研究, 筛选出31个FGC家系, 并对其中13名患者进行了DNA序列的分析, 在3例弥漫型胃癌中仅发现1例具有E-cadherin基因启动子序列的错义突变, 且非种系突变; 其余10例肠型胃癌则未发现突变, 以上这一现象的发生可能与不同地区存在遗传背景和环境差异(如幽门螺旋杆菌感染), 或E-cadherin基因多态性有关.

2.1.3 E-cadherin基因的功能性失活: 在人类乳腺、前列腺和肝细胞肿瘤患者中, E-cadherin基因的失活可以进一步引起其蛋白质产物表达水平的下调甚至沉默, 从而形成恶性肿瘤并侵袭周围正常的组织器官, 这一机制可能同样适用于HDGC患者. 宋武等^[14]对我国8个符合HDGC诊断标准的患者进行蛋白、启动子甲基化筛查结果发现7个患者E-cadherin基因蛋白表达阴性, 1个表达明显下调; 6个患者肿瘤组织标本表现为启动子甲基化, 故认为启动子区域高度甲基化引起的表观遗传学修饰(epigenetic modification)可能是肿瘤发生的分子生物学基础. Humar等^[15]的研究认为, 原发性HDGC的早期形成和发展可能与肿瘤的“二次打击”引起的E-cadherin基因功能性失活有关, 而启动子区域甲基化, c-Src系统的激活以及上皮-间质转化等多种机制都参与其中. Oliveira^[16]进一步证实, 在HDGC中的转移和扩散过程中, 杂合性的缺失(loss of het-

■相关报道

近年来对家族性胃癌的研究不断深入, 尤其是相关易感基因的表观遗传学修饰如启动子甲基化被认为是肿瘤发生的重要分子生物学基础.

■创新盘点

本文较全面地介绍了与家族性胃癌发病相关多个易感基因的致病机制。

erozygosity, LOH)以及体细胞的突变可能起了更主要的作用。

2.2 家族性胃癌与微卫星不稳定性

2.2.1 微卫星不稳定性与错配修复基因: 微卫星(microsatellite, MS), 又称为简单重复序列(simple repeat sequence, SRS), 多由1-6个核苷酸构成重复单位, 拷贝15-60次串联而成, 其中最常见的是2、3个核苷酸重复, 如(CA)_n、(GT)_n、(CAG)_n等, 约占真核生物基因组的5%, 多位于编码区附近, 内含子、Alu序列及卫星序列中。MS一般认为是DNA在复制或修复过程中出现滑动与错配或有丝分裂期, 减数分裂期的染色单体不均等交换所致, 多位于不经严格选择的基因组区域, 具有高度多态性。MS的功能尚未完全阐明, 目前认为其与基因重排、变异、调控以及细胞分化有关, 由于其在基因组中分布广泛, 数目庞大, 且在遗传学上高度保守, 被认为是一种良好的遗传标记。

微卫星不稳定性(microsatellite instability, MSI)是指由于染色体复制错误(replication error, RER)导致重复序列增加或减少, 肿瘤组织与相应正常组织相比, DNA等位基因的结构发生改变, 也称为RER阳性, 提示错配修复系统的功能缺陷。错配修复基因(mismatch repair gene, MMR)最早是在对细菌变异的研究中发现, 其功能是可以识别和即时纠正复制过程中错配的碱基对, 从而保证复制的高保真性。目前人类错配修复基因包括MutS家族的hMSH2、hMSH3、hMSH4、hMSH5和hMSH6; MutL家族的hMLH1、hMLH3、hHMS1和hHMS2。在MutS家族中, hMSH2可以分别和hMSH6、hMSH3构成两个异源二聚体hMutS α 、hMutS β , 他们均能够对错配位点进行识别, 然后由MutL家族中hMLH1与hHMS2构成的异源二聚体hMutL α 同相关的DNA聚合酶配合将错配的碱基切除修复。另外hMLH1与hMLH3可以构成异源二聚体hMutL β , 目前认为其可能是一种错配修复备选基因。

2.2.2 错配修复基因启动子甲基化: 最早人们通过对遗传性非息肉性大肠癌的研究发现, 由于存在错配修复基因的缺陷, 可以出现RER阳性, 引起基因组不稳定, 即出现DNA MSI现象。而在HNPCC家系中, 可以检测到hMLH1、hMSH2和hMSH6的种系突变, 在hMLH3中存在移码突变和错义突变^[17]。并由此进一步设想家族性胃癌是否与HNPCC一样, 存在着RER阳性。但众多学者

在对家族性胃癌患者检测中均未发现hMLH1和hMSH2种系突变的存在, 提示在错配修复缺陷所致胃癌中, 错配修复基因突变似乎并不起主要作用。Yanagisawa等^[18]研究了8个胃癌家系中6例具有MSI的患者, 发现4例出现hMLH1基因表达的异常: 1例表达完全缺失, 1例表达水平降低, 余下2例表达部分缺失, 且全部存在hMLH1基因启动子区域的高甲基化现象, 而hMLH1基因表达正常的肿瘤未出现启动子区域的甲基化。进一步的研究也证实hMLH1启动子特定的位置的甲基化可以导致该基因表观遗传学的改变, 即基因失活及表达改变, 在部分FGC的发病中可能起到一定作用。国内毛庆东等^[19]研究认为胃癌组织中hMSH2基因启动子区高甲基化可能是导致其错配修复功能缺陷的重要原因之一。

2.3 家族性胃癌与MET基因

2.3.1 MET基因: MET基因位于人类染色体7q31, 因剪切的不同可编码190 kDa和170 kDa两种形式的跨膜糖蛋白, 其氨基末端为 α 链, 羧基末端为 β 链, 之间由二硫键相连, 分子量分别约为45 kDa和145 kDa。 β 链包括胞外配体结合区、跨膜区和胞内酪氨酸激酶区。MET基因的表达产物通过与配体肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)相互作用, 介导多种上皮细胞迁移、生长、形态发生过程中的信号传导。

2.3.2 MET基因种系突变: 胃癌细胞可以通过自分泌等机制产生TGF- α 、TGF- β 及IL-1 α 等生长因子, 进一步刺激成纤维细胞等基质细胞分泌HGF, 后者过度表达并作用于胃癌细胞的MET受体, 促进肿瘤细胞的生长、侵袭和转移。而由于MET基因种系突变导致其编码的蛋白质产物酪氨酸激酶结构区的改变, 最初是在对遗传性肾乳头癌(hereditary papillary renal carcinoma, HPRC)患者中发现的。Lee等^[20]首先在韩国1例肠型胃癌患者中发现了MET基因种系突变, 突变位于跨膜区的P1009S位点。Kim等^[21]对21例E-cadherin基因突变阴性的家族性胃癌先证者进行MET基因检测, 发现其中1例已经伴有转移的弥漫性胃癌患者存在MET基因的种系突变, 突变位于序列高度保守的胞外配体结合区P791L位点, 类型为错义突变, 并进一步推断其可能导致非配体依赖的MET基因持续功能性激活, 从而引起胃癌的发生。但另一项针对18个白种人和印度人胃癌家系的研究, 并没有发现类似的MET基因种系突变, 故Chen等^[22]认为MET基因种系突变仅在亚洲或韩国人中具有特异性。

2.4 家族性胃癌与p53基因

2.4.1 p53基因: p53基因定位于人类染色体17p13.1, 由11个外显子和10个内含子组成, 转录成2.8Kb的mRNA, 编码393个氨基酸蛋白, 分子量为53 kDa, 包括氨基末端、中央核心区域和羧基末端。正常野生型p53基因是一类重要的抑癌基因, 其表达产物P53蛋白能与TATA盒结合蛋白(TATA box binding protein, TBP)和TBP辅因子(TBP associated factors, TAF)相结合, 起特殊转录因子的作用, 活化p21基因转录, 使细胞停滞于G₁期, 并参与DNA的复制与修复, 如果修复失败, 则诱导突变的细胞发生凋亡, 从而抑制肿瘤发生。

2.4.2 p53基因种系突变: p53基因的种系突变与Li-Fraumeni综合征等多种遗传性肿瘤综合征相关^[23]。Oliveira等^[24]、Keller等^[25]报道在E-cadherin基因突变阴性的胃癌家系中发现了p53基因的错义突变。Kim等^[26]对韩国23个家族性胃癌家系进行基因测序, 发现1个家系中存在p53基因种系突变, 类型为无义突变(E287X)。Yamada等^[27]对日本来自35个家族性胃癌家系的80例E-cadherin基因突变阴性的胃癌患者进行序列分析, 发现1例c.91G>C的p53基因错义突变。

3 结论

近年来分子生物学技术的发展使人们对家族性胃癌遗传学特征的认识得到不断深化, 新的肿瘤易感基因的发现为最终从遗传学水平上发现、诊断、治疗和预防家族性胃癌提供了依据。

4 参考文献

- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90
- Kondo T, Toyoshima H, Tsuzuki Y, Hori Y, Yatsuya H, Tamakoshi K, Tamakoshi A, Ohno Y, Kikuchi S, Sakata K, Hoshiyama Y, Hayakawa N, Tokui N, Mizoue T, Yoshimura T. Aggregation of stomach cancer history in parents and offspring in comparison with other sites. *Int J Epidemiol* 2003; 32: 579-583
- Ekström AM, Serafini M, Nyrén O, Hansson LE, Ye W, Wolk A. Dietary antioxidant intake and the risk of cardia cancer and noncardia cancer of the intestinal and diffuse types: a population-based case-control study in Sweden. *Int J Cancer* 2000; 87: 133-140
- Palli D, Galli M, Caporaso NE, Cipriani F, Decarli A, Saieva C, Fraumeni JF, Buiatti E. Family history and risk of stomach cancer in Italy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1994; 3: 15-18
- Oliveira C, Seruca R, Carneiro F. Genetics, pathology, and clinics of familial gastric cancer. *Int J Surg Pathol* 2006; 14: 21-33
- Caldas C, Carneiro F, Lynch HT, Yokota J, Wiesner GL, Powell SM, Lewis FR, Huntsman DG, Pharoah PD, Jankowski JA, MacLeod P, Vogelsang H, Keller G, Park KG, Richards FM, Maher ER, Gayther SA, Oliveira C, Grehan N, Wight D, Seruca R, Roviello F, Ponder BA, Jackson CE. Familial gastric cancer: overview and guidelines for management. *J Med Genet* 1999; 36: 873-880
- Shinmura K, Kohno T, Takahashi M, Sasaki A, Ochiai A, Guilford P, Hunter A, Reeve AE, Sugimura H, Yamaguchi N, Yokota J. Familial gastric cancer: clinicopathological characteristics, RER phenotype and germline p53 and E-cadherin mutations. *Carcinogenesis* 1999; 20: 1127-1131
- Guilford P, Hopkins J, Harraway J, McLeod M, McLeod N, Harawira P, Taite H, Scoular R, Miller A, Reeve AE. E-cadherin germline mutations in familial gastric cancer. *Nature* 1998; 392: 402-405
- Guilford P, Humar B, Blair V. Hereditary diffuse gastric cancer: translation of CDH1 germline mutations into clinical practice. *Gastric Cancer* 2010; 13: 1-10
- Kaurah P, MacMillan A, Boyd N, Senz J, De Luca A, Chun N, Suriano G, Zaor S, Van Manen L, Gilpin C, Nikkel S, Connolly-Wilson M, Weissman S, Rubinstein WS, Sebold C, Greenstein R, Stroop J, Yim D, Panzini B, McKinnon W, Greenblatt M, Wirtzfeld D, Fontaine D, Coit D, Yoon S, Chung D, Lauwers G, Pizzuti A, Vaccaro C, Redal MA, Oliveira C, Tischkowitz M, Olschwang S, Gallinger S, Lynch H, Green J, Ford J, Pharoah P, Fernandez B, Huntsman D. Founder and recurrent CDH1 mutations in families with hereditary diffuse gastric cancer. *JAMA* 2007; 297: 2360-2372
- Humar B, Graziano F, Cascinu S, Catalano V, Ruzzo AM, Magnani M, Toro T, Burchill T, Futschik ME, Merriman T, Guilford P. Association of CDH1 haplotypes with susceptibility to sporadic diffuse gastric cancer. *Oncogene* 2002; 21: 8192-8195
- Nasri S, More H, Graziano F, Ruzzo A, Wilson E, Dunbier A, McKinney C, Merriman T, Guilford P, Magnani M, Humar B. A novel diffuse gastric cancer susceptibility variant in E-cadherin (CDH1) intron 2: a case control study in an Italian population. *BMC Cancer* 2008; 8: 138
- Oliveira C, Senz J, Kaurah P, Pinheiro H, Sanges R, Haegert A, Corso G, Schouten J, Fitzgerald R, Vogelsang H, Keller G, Dwerryhouse S, Grimmer D, Chin SF, Yang HK, Jackson CE, Seruca R, Roviello F, Stupka E, Caldas C, Huntsman D. Germline CDH1 deletions in hereditary diffuse gastric cancer families. *Hum Mol Genet* 2009; 18: 1545-1555
- 宋武, 何裕隆, 张常华, 蔡世荣, 周学付, 彭建军, 王昭, 杨东杰, 詹文华. E-钙黏素基因与遗传性胃癌的关系. *中华外科杂志* 2009; 47: 1204-1208
- Humar B, Blair V, Charlton A, More H, Martin I, Guilford P. E-cadherin deficiency initiates gastric signet-ring cell carcinoma in mice and man. *Cancer Res* 2009; 69: 2050-2056
- Oliveira C, Sousa S, Pinheiro H, Karam R, Bordeira-Carriço R, Senz J, Kaurah P, Carvalho J, Pereira R, Gusmão L, Wen X, Cipriano MA, Yokota J, Carneiro F, Huntsman D, Seruca R. Quantification of epigenetic and genetic 2nd hits in CDH1 during hereditary diffuse gastric cancer syndrome progression. *Gastroenterology* 2009; 136: 2137-2148
- Liu HX, Zhou XL, Liu T, Werelius B, Lindmark G, Dahl N, Lindblom A. The role of hMLH3 in familial

■应用要点

通过对家族性胃癌遗传学特征的深入研究, 为胃癌高发人群的早诊、早治和合理预防提供了依据。

■同行评价

本文科学性较好,较全面综述了早期胃癌的诊断现状与进展,对临床有指导意义。

- 18 colorectal cancer. *Cancer Res* 2003; 63: 1894-1899
- 18 Yanagisawa Y, Akiyama Y, Iida S, Ito E, Nomizu T, Sugihara K, Yuasa Y, Maruyama K. Methylation of the hMLH1 promoter in familial gastric cancer with microsatellite instability. *Int J Cancer* 2000; 85: 50-53
- 19 毛庆东, 刘希双, 杨堃. 错配修复基因hMSH2启动子甲基化与胃癌的关系. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 606-609
- 20 Lee JH, Han SU, Cho H, Jennings B, Gerrard B, Dean M, Schmidt L, Zbar B, Vande Woude GF. A novel germ line juxtamembrane Met mutation in human gastric cancer. *Oncogene* 2000; 19: 4947-4953
- 21 Kim IJ, Park JH, Kang HC, Shin Y, Lim SB, Ku JL, Yang HK, Lee KU, Park JG. A novel germline mutation in the MET extracellular domain in a Korean patient with the diffuse type of familial gastric cancer. *J Med Genet* 2003; 40: e97
- 22 Chen JD, Kearns S, Porter T, Richards FM, Maher ER, Teh BT. MET mutation and familial gastric cancer. *J Med Genet* 2001; 38: E26
- 23 Lynch HT, Grady W, Suriano G, Huntsman D. Gastric cancer: new genetic developments. *J Surg Oncol* 2005; 90: 114-133; discussion 133
- 24 Oliveira C, Ferreira P, Nabais S, Campos L, Ferreira A, Cirnes L, Alves CC, Veiga I, Fragoso M, Regateiro F, Dias LM, Moreira H, Suriano G, Machado JC, Lopes C, Castedo S, Carneiro F, Seruca R. E-Cadherin (CDH1) and p53 rather than SMAD4 and Caspase-10 germline mutations contribute to genetic predisposition in Portuguese gastric cancer patients. *Eur J Cancer* 2004; 40: 1897-1903
- 25 Keller G, Vogelsang H, Becker I, Plaschke S, Ott K, Suriano G, Mateus AR, Seruca R, Biedermann K, Huntsman D, Döring C, Holinski-Feder E, Neutzling A, Siewert JR, Höfler H. Germline mutations of the E-cadherin(CDH1) and TP53 genes, rather than of RUNX3 and HPP1, contribute to genetic predisposition in German gastric cancer patients. *J Med Genet* 2004; 41: e89
- 26 Kim IJ, Kang HC, Shin Y, Park HW, Jang SG, Han SY, Lim SK, Lee MR, Chang HJ, Ku JL, Yang HK, Park JG. A TP53-truncating germline mutation (E287X) in a family with characteristics of both hereditary diffuse gastric cancer and Li-Fraumeni syndrome. *J Hum Genet* 2004; 49: 591-595
- 27 Yamada H, Shinmura K, Okudela K, Goto M, Suzuki M, Kuriki K, Tsuneyoshi T, Sugimura H. Identification and characterization of a novel germ line p53 mutation in familial gastric cancer in the Japanese population. *Carcinogenesis* 2007; 28: 2013-2018

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011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496位胃肠病学和肝病学专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病学领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

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

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

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

EB病毒与相关性胃癌研究进展

李晓, 孙自勤, 江学良

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

李晓, 辽宁医学院 辽宁省锦州市 121001

作者贡献分布: 李晓、孙自勤及江学良对本文所作贡献均等。

通讯作者: 江学良, 教授, 250031, 山东省济南市师范路25号, 中国人民解放军济南军区总医院消化科。

jiangxueliang68@126.com

收稿日期: 2011-08-02 修回日期: 2011-11-08

接受日期: 2011-11-10 在线出版日期: 2011-11-18

Advances in research of Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma

Xiao Li, Zi-Qin Sun, Xue-Liang Jiang

Xiao Li, Zi-Qin Sun, Xue-Liang Jiang, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China
Xiao Li, Liaoning Medical University, Jinzhou 121001, Liaoning Province, China

Correspondence to: Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Region of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China. jiangxueliang68@126.com

Received: 2011-08-02 Revised: 2011-11-08

Accepted: 2011-11-10 Published online: 2011-11-18

Abstract

Epstein-Barr virus (EBV), discovered >40 years ago from a Burkitt's lymphoma biopsy, was the first virus to be directly associated with human cancer. It is a ubiquitous human pathogen that usually maintains a harmonious relationship with its host. Rarely, this host-virus balance is perturbed, causing a diverse group of malignancies in both immunocompetent and immunosuppressed patients. The association of EBV with epithelial cell tumors, specifically nasopharyngeal carcinoma and EBV-positive gastric carcinoma, is less clear and is currently considered to be a consequence of the aberrant establishment of virus latency in epithelial cells displaying pre-malignant genetic changes. About 10% of gastric carcinomas harbor clonal EBV. In this paper, we discuss the roles of EBV in gastric carcinogenesis, reviewing mainly epidemiological and clinicopathological studies.

Key Words: Epstein-Barr virus; Gastric Carcinoma;

EBV associated gastric carcinoma

Li X, Sun ZQ, Jiang XL. Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(32): 3323-3326

摘要

EB病毒(Epstein-Barr virus, EBV)于40年前从1个伯基特淋巴瘤活组织切片中发现, 是发现的第1个与人类癌症直接相关的病毒。他是一个常见的人类病原体, 与宿主保持平衡的状态, 在极少数情况下, 宿主-病毒之间的平衡被打乱, 从而造成不同群体的恶性肿瘤。EBV与上皮细胞肿瘤特别是鼻咽癌和EBV阳性胃癌相关性还不是太清楚, 目前认为是病毒在上皮细胞中显示癌前病变的基因变化的后果。约10%的胃癌中有克隆的EBV。本文对EBV在胃癌发生发展中的作用进行了讨论, 包括流行病学和临床研究。

关键词: EB病毒; 胃癌; EBV相关胃癌

李晓, 孙自勤, 江学良. EB病毒与相关性胃癌研究进展. *世界华人消化杂志* 2011; 19(32): 3323-3326

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3323.asp>

0 引言

胃癌(gastric carcinoma, GC)是死亡率居第2位的恶性肿瘤, 并成为全球公共卫生问题^[1]。GC具有鲜明的地域分布, 在亚洲和南美洲发病率最高, 西方国家发病率最低^[1-3]。但迄今为止, 胃癌的病因尚不十分清楚, 可能与机体免疫缺陷、病毒、遗传易感性、电离辐射、有害化学物质接触等因素有关。近年来, EB病毒(Epstein-Barr virus, EBV)作为致癌的生物因素备受关注, 已经证明他与多种恶性肿瘤的发展有关, 包括鼻咽癌和Burkitt淋巴瘤^[4]。EBV是一种γ-DNA疱疹病毒, 在世界各地正常人群中普遍存在, 据估计, 全球超过90%的人口已暴露于EBV存在的环境中, 但不是所有感染者都会患与EB病毒有关的疾病^[4]。EBV感染后仍处于潜伏状态, 大多数人呈无症状感染B细胞, 并且感染后终生存在^[5]。

■背景资料

近年来, EB病毒(Epstein-Barr virus, EBV)作为致癌的生物因素倍受关注, 已经证明他与多种恶性肿瘤的发展有关, 包括鼻咽癌和Burkitt淋巴瘤。

■同行评议者

樊晓明, 主任医师, 复旦大学附属金山医院消化科; 黄颖秋, 教授, 本溪钢铁(集团)有限责任公司总医院消化内科

■应用要点

血清中的EBV抗体的升高可作为早期胃癌筛选的血清学肿瘤标志物,为胃癌诊断及研发抗病毒治疗和免疫治疗均有积极的临床意义。

1993年日本的Tokunaga等^[6]将“经EBER-ISH证实胃癌细胞EBER阳性者”定义为EBV相关胃癌(EBV associated gastric carcinoma, EBVaGC)。

1 EBV生物学特性

EBV属于 γ -DNA疱疹病毒科,在细胞外成熟的病毒颗粒为球形,最外面为蛋白囊膜,囊膜内是核衣壳,核衣壳内是携带病毒基因组的线状双链DNA。在受感染的细胞核内多数以游离体(episome)形式存在。EBV感染靶细胞主要有3种形式:潜伏感染(latent infection)、裂解性感染和缺损性感染。其中以潜伏感染方式最常见。有90%以上的人EBV终身潜伏感染。

2 EBV传染途径

2.1 唾液 大多数研究者^[7-9]认为EBV通过唾液传播,原发性EB病毒感染主要发生在口咽部黏膜。EB病毒在人类宿主的两种截然不同的生命周期^[10]:一种是产生新的感染性病毒颗粒的裂解形式,感染的B淋巴细胞溶解而死亡,释出病毒颗粒,繁殖出的EBV进而感染周边上皮细胞与B淋巴细胞,将感染扩大;另一种是使病毒处于休眠状态的持续感染的潜伏感染的形式。EB病毒已经演化出生命周期,即模仿抗原激活B细胞的分化途径,使病毒进入机体成为隐性感染者,作为记忆B细胞而保留下来生命周期。通过淋巴细胞分化的各个阶段感染细胞,EBV能够进入适合长期潜伏的持久性和定期激活的细胞类型。然而,他存在于B细胞生长的各个阶段,能够感染某些上皮细胞,可以有致病性的后果,可以促进不同群体的淋巴瘤和癌的发展。

2.2 血液 也有研究^[11,12]发现,在淋巴瘤、鼻咽癌患者血清检出病毒DNA,提示病毒在人体可能存在其他感染途径,如:血液传染等。

3 EBVaGC流行病学

EBVaGC在全世界普遍存在,有研究表明^[13]在地域上存在差距,中西亚和中亚国家明显比东南欧国家高,美国阳性率最高,欧洲最低。张文杰等^[14]经统计学分析,提示EBV感染与胃癌有关,且EBV感染与从慢性胃炎到胃癌的等级分型中呈正相关性。同时表明EBV感染与性别相关,这与Hsieh等^[15]的研究结果相类似,但与Gulley等^[16]的研究相悖。其中Hsieh认为在幼年患有传染性单核细胞增多症的患者,由于X染色体上存在缺陷,使机体对EBV感染的抵抗能力丧失,在相应的遗传背景下,EBV相关性胃癌的发生率也会升

高。也有研究^[17]认为,饮食习惯也会对EBVaGC的发生发展产生一定的影响。EBVaGC患者多有高盐饮食习惯,而与吸烟等关系不大。EBVaGC在低分化腺癌的发病率高于中分化腺癌、高分化腺癌和黏液腺癌,印戒细胞癌中也具有较高的发病率,高于黏液腺癌,EBVaGC和EBVnGC在淋巴结转移的差异无显著性^[18]。EBVaGC最常发生在近端胃,包括贲门胃底部和胃体^[19-21],提示EBV与近贲门端胃癌的发生关系更为密切,这与胃癌的另一感染性致癌因子幽门螺杆菌相反,幽门螺杆菌相关的胃癌主要病变部位是胃窦部^[22,23]。

4 EBVaGC病理分型与预后

显微镜下,根据宿主细胞免疫反应EBVaGC可以细分为3个组织学亚型:淋巴样癌(lymphoepithelioma-like carcinoma, LELC),克罗恩样淋巴细胞反应样癌(carcinoma with Crohn's disease-like lymphocytic reaction, CLR)和传统的胃腺癌^[19]。LELC被定义为:(1)肿瘤边缘有明确的界定;(2)密集淋巴细胞浸润程度,即肿瘤浸润淋巴细胞的数量大于整个肿瘤的肿瘤细胞;(3)细胞质边界模糊,有一个合胞增长方式形成不良的腺体结构;(4)没有结缔组织生成,特别是在胃黏膜内的阶段,LELC显示了“花边图案”的连接和融合的肿瘤腺体组成。克罗恩样淋巴反应(CLR)的淋巴瘤定义为:(1)每个组织切片的肿瘤边缘有3个或更多淋巴细胞滤泡的生发中心的片状淋巴细胞浸润;(2)与肿瘤细胞数相比,淋巴细胞少;(3)不停地有小管或腺体形成;(4)很少或没有结缔组织生成;在此病理亚型,突出的特点是促纤维增生性反应比传统的腺癌少。相比LELC或CLR有更广泛的淋巴细胞浸润,传统胃腺癌表现很少的淋巴细胞浸润,显著的结缔组织增生,很少形成具有突出的生发中心的淋巴滤泡。EBVaGC中LELC亚型的患者表现出最好的预后和无病生存率,其次是CLR亚型,最差的是传统的胃腺癌^[19,24,25]。

5 EBV致癌可能的机制

在EBVaGC中首先出现的分子异常是在许多癌症相关的基因的启动子区CpG岛甲基化^[26],使用GC细胞系的重组EBV感染的实验系统表明,病毒潜伏膜蛋白2A(LMP2A)负责促进DNA甲基化。LMP2A通过磷酸化STAT3上调细胞DNMT1,从而使抑癌基因PTEN基因CpG甲基化^[27]。EB病毒感染的胃细胞中DNA甲基化可能是由于细胞过度防御外源DNA,最终导致EBVaGC的发展。

EBV癌基因LMP1在EBVaGC中表达很少,

而EBV编码的小分子RNA几乎在每一个EBVaGC细胞中表达, 表明了小RNA在癌的发生和发展中的重要作用. 此外, 在EBVaGC中频繁观察到甲基化驱动的抑癌基因下调, 可能给了癌细胞选择性的优势. 可能EB病毒在EBVaGC发生之前被激活因为抗EBV相关抗原的抗体包括EB病毒衣壳抗原(VCA)在诊断前血清中表现增高. 在EBVaGC中人类白细胞抗原-DR11的频率较高, 认为组织相容性复合体限制EBV核抗原1抗原表位识别可能提高EB病毒活化. 淋巴细胞激活EB病毒感染胃癌细胞的EB病毒被认为是EBVaGC发展的第一步^[28].

最近的研究^[29,30]表明, 在胃癌组织中EB病毒表达的蛋白质不同于在伯基特淋巴瘤和鼻咽癌那些, 提示在胃癌中不同的致癌机制. Kume等^[31]发现EB病毒阳性的胃癌组织中肿瘤细胞凋亡数量显著降低, 而Bcl-2的蛋白表达明显增高, 提示EB病毒感染后可能通过Bcl-2抑制细胞凋亡的作用参与胃癌的发生. 姜可伟等^[32]研究结果显示, EB病毒感染胃癌BGC823细胞后, 胃癌细胞的增殖能力显著提高, 细胞周期中S期细胞比例增高, 提示EB病毒感染有可能通过促进细胞增殖和干扰细胞周期参与胃癌的发生.

许多研究都集中在病毒潜伏蛋白的功能分析和解释, 以便更好地了解他们在肿瘤发生过程中的作用. 最近, 人们的注意力已指向表达于潜伏感染细胞中的miRNA, miRNA是短的非编码RNA, 平均长度为22个核苷酸, 后转录调节其基因的表达^[33,34]. 有研究^[35]表明, miRNA在肿瘤中上调, 意味着他们在肿瘤的发展中可以发挥类似的生存期的作用.

6 EBVaGC与幽门螺杆菌感染

EBV相关性胃癌与非EBV相关性胃癌(EBVnGC)的肿瘤组织均被萎缩性黏膜及肠化生组织包围, 且癌组织及周围黏膜常常伴有幽门螺杆菌感染. 研究发现EBV感染发生在转化之前, EBV蛋白往往在恶性上皮细胞、萎缩或发育不良的上皮细胞中表达^[36]. 尽管越来越多的研究证实幽门螺杆菌感染后的胃往往进一步感染EBV并最终导致EBVaGC, 但EBV和幽门螺杆菌在胃癌发生发展中是否具有协同作用及其具体协同机制尚有待进一步研究.

7 EBVaGC的诊断

从临床角度讲, 诊断EBVaGC最有力的手段是胃

镜检查^[19], 虽然没有区分镜下所见的描述, 但有些黏膜下癌结节淋巴基质的报道^[37,38]. 在这种情况下, 有描述说特征性黏膜下瘤样突起没有明确的肿瘤边缘. LELC亚型的其中一种表现为黏膜下肿块, 可误诊为黏膜下肿瘤^[38]. 在这种情况下, 内镜超声显示低回声黏膜下肿块(相应的淋巴瘤肿瘤细胞和淋巴细胞浸润间质组成)位于胃壁的黏膜下层的回声是LELC从而与其他黏膜下肿瘤区分^[37,39]. 若黏膜下肿瘤的内镜诊断经验少, 可以多次深挖活检从而证实癌的存在.

8 结论

目前临床上使用的抗EBV药物, 大部分为广谱的抗疱疹病毒和巨细胞病毒的药物. 同绝大多数病毒一样, 防治EBV最具前景的途径之一是EBV疫苗. 国际上目前对于EBV疫苗的研究集中在两个方面, 预防性和治疗性. 对于预防性疫苗, 主要目的为诱导EB病毒中和抗体的产生. 对于治疗性的疫苗, 主要在于提高细胞免疫应答. 不论是预防性还是治疗性疫苗, 选择合适的能有效激发体液免疫或CTL反应的靶抗原至关重要. 用于EBV疫苗研制的抗原成分主要有: (1)人工合成的EBNA3, 是一种多肽, 是制备EBV疫苗的基础. 他能刺激机体免疫系统产生T淋巴细胞, 保护机体免于EBV感染; (2)EBV膜抗原(MA)的成分, gp350/220、gp250/200、gp340已用于研制亚单位疫苗, 用分子克隆技术在大肠杆菌内表达的MA已获成功; 用痘苗病毒为载体制备EBV疫苗的进展很快, 已成功地用痘苗病毒重组编码EBV的gp340, 并已开展了兔与人的抗癌实验. EBV预防性疫苗多以EBV膜抗原gp350为靶抗原, 并尝试使用重组蛋白、亚单位疫苗以及痘苗病毒等不同的疫苗方式. 另外, 血清中的EBV抗体的升高可作为早期胃癌筛选的血清学肿瘤标志物, 为胃癌诊断及研发抗病毒治疗和免疫治疗均有积极的临床意义.

9 参考文献

- 1 Ferlay J, Autier P, Boniol M, Heanue M, Colombet M, Boyle P. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. *Ann Oncol* 2007; 18: 581-592
- 2 Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 1999; 49: 33-64
- 3 Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108
- 4 Küppers R. B cells under influence: transformation of B cells by Epstein-Barr virus. *Nat Rev Immunol* 2003; 3: 801-812
- 5 Young LS, Rickinson AB. Epstein-Barr virus: 40 years on. *Nat Rev Cancer* 2004; 4: 757-768

■同行评价

本文综述了EB病毒与胃癌的研究概况, 对临床有一定参考价值.

- 6 Tokunaga M, Uemura Y, Tokudome T, Ishidate T, Masuda H, Okazaki E, Kaneko K, Naoe S, Ito M, Okamura A. Epstein-Barr virus related gastric cancer in Japan: a molecular patho-epidemiological study. *Acta Pathol Jpn* 1993; 43: 574-581
- 7 Delecluse HJ, Feederle R, O'Sullivan B, Tanriere P. Epstein Barr virus-associated tumours: an update for the attention of the working pathologist. *J Clin Pathol* 2007; 60: 1358-1364
- 8 Thompson MP, Kurzrock R. Epstein-Barr virus and cancer. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 803-821
- 9 Thorley-Lawson DA, Allday MJ. The curious case of the tumour virus: 50 years of Burkitt's lymphoma. *Nat Rev Microbiol* 2008; 6: 913-924
- 10 Pattle SB, Farrell PJ. The role of Epstein-Barr virus in cancer. *Expert Opin Biol Ther* 2006; 6: 1193-1205
- 11 Suzuki R, Yamaguchi M, Izutsu K, Yamamoto G, Takada K, Harabuchi Y, Isobe Y, Gomyo H, Koike T, Okamoto M, Hyo R, Suzumiya J, Nakamura S, Kawa K, Oshimi K; the NK-cell Tumor Study Group. Prospective measurement of Epstein-Barr virus-DNA in plasma and peripheral blood mononuclear cells of extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type. *Blood* 2011; 118: 6018-6022
- 12 Baizig NM, Morand P, Seigneurin JM, Boussen H, Fourati A, Gritli S, Oueslati Z, Touati S, Gamoudi A, Abdallah MB, El May M, May AE. Complementary determination of Epstein-Barr virus DNA load and serum markers for nasopharyngeal carcinoma screening and early detection in individuals at risk in Tunisia. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2011; 2011 Jul 30. [Epub ahead of print]
- 13 Sousa H, Pinto-Correia AL, Medeiros R, Dinis-Ribeiro M. Epstein-Barr virus is associated with gastric carcinoma: the question is what is the significance? *World J Gastroenterol* 2008; 14: 4347-4351
- 14 张文杰, 唐世孝, 王健. EB病毒、幽门螺杆菌cagA和vacA基因型感染与胃癌的关系研究. *西南军医* 2009; 11: 188-192
- 15 Hsieh LL, Lin PJ, Chen TC, Ou JT. Frequency of Epstein-Barr virus-associated gastric adenocarcinoma in Taiwan. *Cancer Lett* 1998; 129: 125-129
- 16 Gulley ML, Pulitzer DR, Eagan PA, Schneider BG. Epstein-Barr virus infection is an early event in gastric carcinogenesis and is independent of bcl-2 expression and p53 accumulation. *Hum Pathol* 1996; 27: 20-27
- 17 Herrera-Goepfert R, Akiba S, Koriyama C, Ding S, Reyes E, Itoh T, Minakami Y, Eizuru Y. Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma: Evidence of age-dependence among a Mexican population. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 6096-6103
- 18 王云. EB病毒相关肿瘤中病毒基因多态性研究. 青岛: 青岛大学, 2010
- 19 Song HJ, Kim KM. Pathology of Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma and its relationship to prognosis. *Gut Liver* 2011; 5: 143-148
- 20 Uozaki H, Fukayama M. Epstein-Barr virus and gastric carcinoma-viral carcinogenesis through epigenetic mechanisms. *Int J Clin Exp Pathol* 2008; 1: 198-216
- 21 Lee JH, Kim SH, Han SH, An JS, Lee ES, Kim YS. Clinicopathological and molecular characteristics of Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma: a meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 354-365
- 22 Wu MS, Chen SY, Shun CT, Lee WJ, Wang HP, Wang TH, Chen CJ, Lin JT. Increased prevalence of *Helicobacter pylori* infection among patients affected with intestinal-type gastric cancer at non-cardiac locations. *J Gastroenterol Hepatol* 1997; 12: 425-428
- 23 Hansson LR, Engstrand L, Nyrén O, Lindgren A. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in subtypes of gastric cancer. *Gastroenterology* 1995; 109: 885-888
- 24 Herath CH, Chetty R. Epstein-Barr virus-associated lymphoepithelioma-like gastric carcinoma. *Arch Pathol Lab Med* 2008; 132: 706-709
- 25 Song HJ, Srivastava A, Lee J, Kim YS, Kim KM, Ki Kang W, Kim M, Kim S, Park CK, Kim S. Host inflammatory response predicts survival of patients with Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma. *Gastroenterology* 2010; 139: 84-92. e2
- 26 Fukayama M, Hino R, Uozaki H. Epstein-Barr virus and gastric carcinoma: virus-host interactions leading to carcinoma. *Cancer Sci* 2008; 99: 1726-1733
- 27 Fukayama M, Ushiku T. Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma. *Pathol Res Pract* 2011; 207: 529-537
- 28 Akiba S, Koriyama C, Herrera-Goepfert R, Eizuru Y. Epstein-Barr virus associated gastric carcinoma: epidemiological and clinicopathological features. *Cancer Sci* 2008; 99: 195-201
- 29 Luo B, Wang Y, Wang XF, Liang H, Yan LP, Huang BH, Zhao P. Expression of Epstein-Barr virus genes in EBV-associated gastric carcinomas. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 629-633
- 30 zur Hausen A, Brink AA, Craanen ME, Middeldorp JM, Meijer CJ, van den Brule AJ. Unique transcription pattern of Epstein-Barr virus (EBV) in EBV-carrying gastric adenocarcinomas: expression of the transforming BARF1 gene. *Cancer Res* 2000; 60: 2745-2748
- 31 Kume T, Oshima K, Shinohara T, Takeo H, Yamashita Y, Shirakusa T, Kikuchi M. Low rate of apoptosis and overexpression of bcl-2 in Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma. *Histopathology* 1999; 34: 502-509
- 32 姜可伟, 王杉, 杜如昱, 郭秀婵, 曾毅. EB病毒感染上调胃癌BGC823细胞的增殖和侵袭能力. *中华普通外科杂志* 2006; 21: 69-71
- 33 Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116: 281-297
- 34 Cullen BR. Viruses and microRNAs. *Nat Genet* 2006; 38 Suppl: S25-S30
- 35 Qiu J, Cosmopoulos K, Pegtel M, Hopmans E, Murray P, Middeldorp J, Shapiro M, Thorley-Lawson DA. A novel persistence associated EBV miRNA expression profile is disrupted in neoplasia. *PLoS Pathog* 2011; 7: e1002193, 21901094
- 36 Ojima H, Fukuda T, Nakajima T, Nagamachi Y. Infrequent overexpression of p53 protein in Epstein-Barr virus-associated gastric carcinomas. *Jpn J Cancer Res* 1997; 88: 262-266
- 37 Yanai H, Nishikawa J, Mizugaki Y, Shimizu N, Takada K, Matsusaki K, Toda T, Matsumoto Y, Tada M, Okita K. Endoscopic and pathologic features of Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma. *Gastrointest Endosc* 1997; 45: 236-242
- 38 Kim SW, Shin HC, Kim IY, Kim CJ, Lee JH, Lee CK, Jeong DJ. Epstein-Barr virus-associated lymphoepithelioma-like gastric carcinoma presenting as a submucosal mass: CT findings with pathologic correlation. *Korean J Radiol* 2010; 11: 697-700
- 39 Nishikawa J, Yanai H, Mizugaki Y, Takada K, Tada M, Okita K. Case report: hypoechoic submucosal nodules: a sign of Epstein-Barr virus-associated early gastric cancer. *J Gastroenterol Hepatol* 1998; 13: 585-590

幽门螺杆菌感染与胃癌

时昭红, 刘浩

时昭红, 刘浩, 武汉市第一医院消化内科 湖北省武汉市 430022

作者贡献分布: 本文由时昭红负责资料收集和文章撰写; 刘浩负责资料收集和文章校对。

通讯作者: 时昭红, 教授, 430022, 湖北省武汉市中山大道215号, 武汉市第一医院消化内科. zhaohshi@126.com

电话: 027-85332319

收稿日期: 2011-08-02 修回日期: 2011-10-18

接受日期: 2011-11-10 在线出版日期: 2011-11-18

Helicobacter pylori infection and gastric cancer

Zhao-Hong Shi, Hao Liu

Zhao-Hong Shi, Hao Liu, Department of Gastroenterology, Wuhan First Municipal Hospital, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Correspondence to: Zhao-Hong Shi, Professor, Department of Gastroenterology, Wuhan First Municipal Hospital, 215 Zhongshan Avenue, Wuhan 430022, Hubei Province, China. zhaohshi@126.com

Received: 2011-08-02 Revised: 2011-10-18

Accepted: 2011-11-10 Published online: 2011-11-18

Abstract

The 2005 Nobel Prize in Physiology and Medicine was awarded to Barry Marshall and Robin Warren for their discovery of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*). Now numerous epidemiological, clinical and experimental studies and reports emphasized the crucial role of *H. pylori* in the pathogenesis of gastric cancer (GC), but the specific mechanism is still unknown. In this paper, we undertake a systematic review of *H. pylori* infection-related GC epidemiological studies, animal models of *H. pylori* infection-induced GC, the relationship between the virulence genes of *H. pylori* and GC, the links between *H. pylori* infection and genes related to GC, and the correlation of *H. pylori* infection with gastric epithelial proliferation and apoptosis.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Gastric cancer; Pathogenesis

Shi ZH, Liu H. *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(32): 3327-3331

摘要

2005年的诺贝尔生理学 and 医学奖授予了幽门

螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)的发现人巴里·马歇尔和罗宾·沃伦教授。迄今有大量的流行病学、临床和实验研究支持*H. pylori*是胃癌的致病因素,但其具体致病机制尚不完全明了。本文就*H. pylori*感染和胃癌的流行病学研究,*H. pylori*感染致胃癌的动物实验模型研究,*H. pylori*毒力基因与胃癌的关系,*H. pylori*感染与胃癌相关基因的关系和*H. pylori*感染与胃上皮细胞增殖和凋亡的关系等方面,系统阐述*H. pylori*感染和胃癌之间的关系。

关键词: 幽门螺杆菌; 胃癌; 致病机制

时昭红, 刘浩. 幽门螺杆菌感染与胃癌. 世界华人消化杂志 2011; 19(32): 3327-3331

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3327.asp>

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), 首先由巴里·马歇尔和罗宾·沃伦2人发现, 因此获得2005年的诺贝尔生理学 and 医学奖。*H. pylori*是一种需氧的革兰氏阴性细菌, 可以游动, 人的胃黏膜是*H. pylori*的自然定植部位。*H. pylori*的发现已彻底颠覆了人类许多种胃肠道疾病的基本理论, 目前认为*H. pylori*感染是慢性活动性胃炎、消化性溃疡、胃黏膜相关淋巴组织(mucosa associated lymphoid tissue, MALT)淋巴瘤和胃癌的主要致病因素, 1994年世界卫生组织/国际癌症研究机构(WHO/IARC)将*H. pylori*定为 I 类致癌因子。胃癌的发生是一个多因素、多步骤的复杂过程, 目前公认的*H. pylori*感染后肠型胃癌的发生模式是1995年Correa提出的“*H. pylori*感染-慢性胃炎-萎缩、肠化-异型增生-分化型腺癌”模式^[1], 但是*H. pylori*确切的致癌机制仍不十分清楚。现在虽然仍尚不能肯定两者有因果关系, 但大量的流行病学、临床和实验研究支持*H. pylori*是胃癌的始发因素, 亦是胃癌发生发展过程中的启动和促动因子。

1 *H. pylori*感染和胃癌的流行病学研究

流行病学研究表明^[2], *H. pylori*感染了世界范围

■背景资料

胃癌的发生是一个多因素、多步骤的复杂过程, 目前公认的*H. pylori*感染后肠型胃癌的发生模式是1995年Correa提出的“*H. pylori*感染-慢性胃炎-萎缩、肠化-异型增生-分化型腺癌”的模式, 但是*H. pylori*确切的致癌机制仍不十分清楚。现在虽然仍尚不能肯定两者有因果关系, 但大量的流行病学、临床和实验研究支持*H. pylori*是胃癌的始发因素, 亦是胃癌发生发展过程中的启动和促动因子。

■同行评议者

樊晓明, 主任医师, 复旦大学附属金山医院消化科; 黄颖秋, 教授, 本溪钢铁(集团)有限责任公司总医院消化内科

■研究前沿

迄今有大量的流行病学、临床和实验研究支持*H. pylori*是胃癌的致病因素,但其具体致病机制尚不完全明了。

内一半以上的人口,其发病率各个国家不同,甚至同一国家的各个地区也不相同。目前已知发病率的高低与社会经济水平、人口密集程度、公共卫生条件以及水源供应有较密切的关系^[3]。*H. pylori*感染多发生在儿童时期,并且多数感染不出现临床症状,感染率随年龄而增加,但是不同地区、不同人群中存在显著性差异^[4]。在发达国家感染率达30%-50%,在发展中国家则高达80%-90%^[5]。我国曾在2001-2004年进行一项全国大规模的自然人群*H. pylori*流行病学调查,其研究结果显示全国各地*H. pylori*感染率存在很大差异,感染率为40%-90%,平均为59%^[6]。目前多数学者认为“人-人”“粪-口”是主要的传播方式和途径,亦可通过内镜传播,而且*H. pylori*感染在家庭内有明显的聚集现象。Konno等^[7]发现数名2-5岁的幼儿感染的*H. pylori*的DNA指纹与其母亲的相同,为*H. pylori*的家庭内部传播提供了直接证据。

胃癌在世界上肿瘤致死的原因中占第2位,流行病学调查表明2010年全球新增110万胃癌患者,其中60%病例发生在发展中国家^[4]。胃癌与*H. pylori*感染具有相似的流行病学特征:胃癌高发区人群中,*H. pylori*感染的年龄早且感染率高,萎缩性胃炎和肠化生也多于低发区;社会经济地位低下者,胃癌发生率高,*H. pylori*感染率也高;发达国家胃癌发生率低,*H. pylori*感染率也低;发展中国家胃癌发生率高,*H. pylori*感染率也高。国际性机构EUROGAST的大规模流行病学调查显示,*H. pylori*感染人群发生胃癌的风险是非感染人群的6倍。2001年Uemura等^[8]对1 526例日本人随访了7.8年,在*H. pylori*感染人群中检出胃癌病例达2.9%,而*H. pylori*感染阴性的人群中则没有1例检出胃癌。2004年Wong等^[9]在我国胃癌高发区福建长乐1项对1 630人随访达7.5年的研究证实,根除*H. pylori*之后可降低胃癌的发生率。

2 *H. pylori*感染致胃癌的动物实验模型研究

胃癌动物模型的成功建立,进一步证实了*H. pylori*感染在胃癌发生发展中的作用。目前,用于建立胃部疾病的动物模型有许多种,蒙古沙土鼠(Mongolian gerbils, MG)能持续感染*H. pylori*,病变与人类相似,是研究*H. pylori*与胃癌较理想的实验动物模型。1998年,Watanabe和Honda先后报道了单独使用*H. pylori*感染蒙古沙土鼠成功诱发胃癌,在动物实验中直接证实*H. pylori*与胃

癌发生有关,这是*H. pylori*研究史上的重大事件。Watanabe等^[10]首次单独用*H. pylori* TN2GF4菌株接种5周龄SPF级雄性MG,感染后第6周发生严重的慢性活动性胃炎及上皮增生,第26周出现胃溃疡和肠上皮化生等病变,第62周37%的MG幽门腺区发生高分化肠型腺癌。Honda等^[11]用*H. pylori* ATCC43504感染5周龄雄性MG后,胃黏膜出现严重的炎症反应,第6月胃窦小弯出现萎缩性胃炎和肠上皮化生,并向胃窦大弯和胃体扩散,18 mo后有2/5的MG发生高分化肠型腺癌。Brzozowski等^[12]研究进一步证实*H. pylori*感染MG 30 wk后,胃的功能及病理学上出现胃酸分泌下降、胃黏膜血流量减少及促胃液素分泌改变等变化,而在进行*H. pylori*根除治疗后以上变化都可以逆转。2003年,我国学者郑青单独采用*H. pylori*国际标准菌株ATCC43504或临床胃癌分离株感染蒙古沙土鼠,84 wk后18%模型发生高分化腺癌,并首次报道了雌性蒙古沙土鼠感染*H. pylori*亦能发展为胃癌^[13]。也有研究用不同剂量的甲基亚硝脲(MNU)或甲基硝基亚硝基胍(MNNG)与*H. pylori*共同作用喂饲MG,第40-50周发生肠型及弥漫性胃癌,而单独感染*H. pylori*和单用MNU或MNNG组无胃癌发生^[14]。

3 *H. pylori*毒力基因与胃癌的关系

*H. pylori*的主要毒力致病基因包括Cag致病岛(cag PAI)、特异性空泡毒素A(VacA)基因、上皮接触诱导蛋白(IceA)等位基因、血型抗原-黏附(BabA)基因和炎症外膜蛋白(OipA)基因。其中,CagA是PAI的一个标志性基因,与胃癌的关系可能最为密切。目前普遍认为,CagA阳性*H. pylori*感染者比CagA阴性*H. pylori*感染者更易患消化性溃疡、萎缩性胃炎和胃癌。在许多胃癌高发区如东亚等地区,几乎所有感染的*H. pylori*均为CagA阳性。与之形成鲜明对比的是,在西方国家感染的*H. pylori*只有60%含有Cag致病岛^[4]。Held等^[15]进行病例对照研究发现,cagA+*H. pylori*的患者患胃腺癌的危险是cagA-*H. pylori*的7.4倍。Ohnishi等^[16]首先在动物活体内实验证实了CagA是潜在的癌基因。他们通过研究转基因表达CagA的小鼠,发现其最终导致胃上皮细胞增生和胃腺癌形成,证实了CagA在*H. pylori*相关性胃癌中的重要作用。

VacA是参与*H. pylori*致病的另一重要毒力因子,可以引发多种细胞活性如细胞空泡形成、细胞膜通道形成、凋亡和免疫调节等。

VacA基因存在于所有的*H. pylori*菌株中, 但仅在50%-60%的菌株表达VacA蛋白. 研究发现VacA可影响B淋巴细胞抗原表达, 抑制T淋巴细胞的活化和增生, 调节T细胞因子的反应^[4]. Galmiche等^[17]发现VacA直接损伤线粒体, 导致细胞凋亡, 并有可能在肿瘤发生早期阶段起作用. Yuan等^[18]研究表明, VacA能引起线粒体去极化, 从而引起胃上皮细胞凋亡, 影响或干扰细胞骨架各成分, 引起肌动蛋白重排致使微管结构发生紊乱. 同时病例对照研究发现携带VacA s1、VacA m1等位基因患胃癌的风险分别增加了16倍和5.7倍^[19]. 这些研究结果均提示其在胃癌的发生发展过程中可能起着重要的作用.

OipA基因在*H. pylori*感染的胃黏膜炎症过程中起着重要的作用. 研究发现, OipA基因普遍表达于东亚地区各种*H. pylori*菌株中, 而在西方国家只有不超过50%的菌株表达OipA基因. Yamaoka等^[20]研究显示OipA基因与十二指肠溃疡和胃癌有明显的相关性. IceA有IceA1和IceA2两种基因型. IceA1和IceA2在临床分离株中的阳性表达率分别为68%和80%, 大约40%菌株呈双阳性表型. 胃癌病例IceA1阳性株显著高于胃炎病例($P<0.01$), 而且IceA1与VacAs1总是同时表达^[21]. 一项研究发现IceA1基因在胃腺癌中表达是胃炎的3.6倍, IceA1基因与VacAs1共同存在使胃腺癌发生的概率增加5.6倍^[22]. BabA是介导细菌黏附于胃上皮细胞的血型抗原. 单独有BabA2或与CagA(+)和VacAs1联合存在的*H. pylori*株使患者发生胃部癌前病变的危险性升高^[23]. Gerhard等^[24]研究显示, 同时表达BabA、CagA和VacAs1菌株(“三阳菌株”)与十二指肠溃疡、胃腺癌发生显著相关.

4 *H. pylori*感染与胃癌相关基因的关系

*H. pylori*感染可能使bcl-2、bax、ras、c-met和c-myc等癌基因激活. Konturek等^[25]研究表明*H. pylori*感染能诱导环氧合酶(Cox-2)表达, Cox-2可激活bcl-2基因, 从而使细胞持续增殖. Nardone等^[26]研究表明*H. pylori*感染与Bax蛋白的表达有关. Wang等^[27]测定了*H. pylori*感染者胃癌及癌前病变原癌基因表达, 提示*H. pylori*感染可能增加胃癌形成早期ras p21蛋白的表达. Churin等^[28]研究表明*H. pylori*感染后CagA蛋白可直接结合到胃黏膜上皮细胞中的c-met受体上激活c-met. Kabir等^[29]研究发现*H. pylori*感染可激活c-met而诱发胃癌. Cheng等^[30]研究证实, *H. pylori*感染与

c-myc基因的激活密切相关, *H. pylori*感染可能通过激活c-myc基因导致胃癌的发生.

*H. pylori*感染还可能使p53、p16、p27和APC等抑癌基因失活. *H. pylori*感染时胃内由炎症产生的氧自由基、超氧化物等可使p53基因突变或失活^[31]. Perri等^[32]研究发现P16和APC突变体在*H. pylori*感染患者胃黏膜细胞中过度表达. Shirin等^[33]研究显示, 在*H. pylori*阳性组P27Kip1的蛋白表达水平较低, 在*H. pylori*阴性组P27Kip1的蛋白表达水平较高, 两者呈负相关, 表明下调P27Kip1蛋白表达可能是*H. pylori*致胃癌的机制之一.

5 *H. pylori*感染与胃上皮细胞增殖和凋亡的关系

胃黏膜上皮细胞增殖和凋亡之间的动态平衡使胃结构功能处于正常状态, 而二者失衡会导致病变产生. 在*H. pylori*致胃癌发生、发展的过程中不仅存在细胞的过度增生, 而且存在细胞凋亡的异常. 研究表明, *H. pylori*感染可使胃黏膜上皮细胞增生活跃, 且增生活跃程度由胃小凹的基底部向顶部依次增加^[34]. Lynch等^[35]研究表明, *H. pylori*感染可使上皮细胞增殖超出正常水平1倍以上, 而在根除*H. pylori*后其增殖水平可恢复正常. Suzuki等^[36]对*H. pylori*诱导宿主细胞增殖机制的研究显示, *H. pylori*尤其是Cag致病岛阳性菌株, 通过丝裂原激活蛋白激酶途径使周期素D1激活, 导致细胞周期改变而增殖加速, 从而增加了胃癌的危险性. 同样有研究表明, *H. pylori*感染的胃黏膜上皮细胞凋亡数量增加, 而在根除*H. pylori*后凋亡细胞数降至正常, *H. pylori*可通过死亡受体途径(FasL)和线粒体途径激活caspase3诱导凋亡发生^[37]. 细胞凋亡的增加主要发生于胃黏膜病变的早期, 当病变演变为癌前病变及胃癌时, 细胞凋亡呈现分级性降低, 致使出现细胞增殖与凋亡明显失衡. Huang等^[38]研究显示, *H. pylori*感染可通过上调Cox-2的表达及下游分子的影响, 造成胃黏膜上皮细胞的增殖增加和凋亡抑制而导致胃癌的发生.

此外, *H. pylori*感染后引起胃黏膜急慢性炎症反应, 激活、分泌和释放多种细胞因子如IL-1、IL-6、IL-8、TNF- α 等也可能与胃癌的发生发展有关. 而*H. pylori*感染引起的氧化损伤、促胃液素分泌水平的改变、胃黏膜Cox-2表达增加、人端粒酶RNA的表达和端粒酶活性增加, 以及亚硝酸盐和亚硝基化合物的增加等因素也可能在胃癌的发生过程中起到一定的作用.

■ 相关报道

Lynch等研究表明, *H. pylori*感染可使上皮细胞增殖超出正常水平1倍以上, 而在根除*H. pylori*后其增殖水平可恢复正常.

■同行评价

本文较全面综述了*H. pylori*与胃癌的研究现状,对临床有一定参考价值。

6 结论

*H. pylori*感染与胃癌的关系密切, *H. pylori*感染致胃癌机制的研究已取得显著进展。但胃癌的发生发展是一个多因素多步骤的过程, *H. pylori*感染如何引起肿瘤的发生并非单一机制能阐述清楚。揭示*H. pylori*感染与胃癌发生发展之间的关系,对于胃癌的预防和治疗具有重要的临床意义。相信随着现代分子生物学技术的发展以及研究的深入,将会进一步阐明*H. pylori*与胃癌的关系,为胃癌的防治提供新的理论和方法。

7 参考文献

- Correa P. Helicobacter pylori and gastric carcinogenesis. *Am J Surg Pathol* 1995; 19 Suppl 1: S37-S43
- Konturek SJ, Konturek PC, Brzozowski T, Konturek JW, Pawlik WW. From nerves and hormones to bacteria in the stomach; Nobel prize for achievements in gastrology during last century. *J Physiol Pharmacol* 2005; 56: 507-530
- Konturek PC, Konturek SJ, Brzozowski T. Gastric cancer and Helicobacter pylori infection. *J Physiol Pharmacol* 2006; 57 Suppl 3: 51-65
- Konturek PC, Konturek SJ, Brzozowski T. Helicobacter pylori infection in gastric cancerogenesis. *J Physiol Pharmacol* 2009; 60: 3-21
- Goodman KJ, Cockburn M. The role of epidemiology in understanding the health effects of Helicobacter pylori. *Epidemiology* 2001; 12: 266-271
- 胡伏莲. 幽门螺杆菌感染的流行病学. *中国医刊* 2007; 42: 17-18
- Konno M, Fujii N, Yokota S, Sato K, Takahashi M, Sato K, Mino E, Sugiyama T. Five-year follow-up study of mother-to-child transmission of Helicobacter pylori infection detected by a random amplified polymorphic DNA fingerprinting method. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 2246-2250
- Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S, Matsumura N, Yamaguchi S, Yamakido M, Taniyama K, Sasaki N, Schlemper RJ. Helicobacter pylori infection and the development of gastric cancer. *N Engl J Med* 2001; 345: 784-789
- 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
- Watanabe T, Tada M, Nagai H, Sasaki S, Nakao M. Helicobacter pylori infection induces gastric cancer in mongolian gerbils. *Gastroenterology* 1998; 115: 642-648
- Honda S, Fujioka T, Tokieda M, Satoh R, Nishizono A, Nasu M. Development of Helicobacter pylori-induced gastric carcinoma in Mongolian gerbils. *Cancer Res* 1998; 58: 4255-4259
- Brzozowski T, Konturek PC, Kwiecien S, Konturek SJ, Pajdo R, Drozdowicz D, Ptak A, Pawlik M, Stachura J, Pawlik WW, Hahn EG. Triple eradication therapy counteracts functional impairment associated with Helicobacter pylori infection in Mongolian gerbils. *J Physiol Pharmacol* 2003; 54: 33-51
- Zheng Q, Chen XY, Shi Y, Xiao SD. Development of gastric adenocarcinoma in Mongolian gerbils after long-term infection with Helicobacter pylori. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19: 1192-1198
- Kodama M, Murakami K, Sato R, Okimoto T, Nishizono A, Fujioka T. Helicobacter pylori-infected animal models are extremely suitable for the investigation of gastric carcinogenesis. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 7063-7071
- Held M, Engstrand L, Hansson LE, Bergström R, Wadström T, Nyrén O. Is the association between Helicobacter pylori and gastric cancer confined to CagA-positive strains? *Helicobacter* 2004; 9: 271-277
- Ohnishi N, Yuasa H, Tanaka S, Sawa H, Miura M, Matsui A, Higashi H, Musashi M, Iwabuchi K, Suzuki M, Yamada G, Azuma T, Hatakeyama M. Transgenic expression of Helicobacter pylori CagA induces gastrointestinal and hematopoietic neoplasms in mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 1003-1008
- Galmiche A, Rassow J, Doye A, Cagnol S, Chambard JC, Contamin S, de Thillot V, Just I, Ricci V, Solcia E, Van Obberghen E, Boquet P. The N-terminal 34 kDa fragment of Helicobacter pylori vacuolating cytotoxin targets mitochondria and induces cytochrome c release. *EMBO J* 2000; 19: 6361-6370
- Yuan JP, Li T, Shi XD, Hu BY, Yang GZ, Tong SQ, Guo XK. Deletion of Helicobacter pylori vacuolating cytotoxin gene by introduction of directed mutagenesis. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2251-2257
- Figueiredo C, Machado JC, Pharoah P, Seruca R, Sousa S, Carvalho R, Capelinha AF, Quint W, Caldas C, van Doorn LJ, Carneiro F, Sobrinho-Simões M. Helicobacter pylori and interleukin 1 genotyping: an opportunity to identify high-risk individuals for gastric carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94: 1680-1687
- Yamaoka Y, Kikuchi S, el-Zimaity HM, Gutierrez O, Osato MS, Graham DY. Importance of Helicobacter pylori oipA in clinical presentation, gastric inflammation, and mucosal interleukin 8 production. *Gastroenterology* 2002; 123: 414-424
- Kidd M, Peek RM, Lastovica AJ, Israel DA, Kummer AF, Louw JA. Analysis of iceA genotypes in South African Helicobacter pylori strains and relationship to clinically significant disease. *Gut* 2001; 49: 629-635
- Koehler CI, Mues MB, Dienes HP, Kriegsmann J, Schirmacher P, Odenthal M. Helicobacter pylori genotyping in gastric adenocarcinoma and MALT lymphoma by multiplex PCR analyses of paraffin wax embedded tissues. *Mol Pathol* 2003; 56: 36-42
- Yu J, Leung WK, Go MY, Chan MC, To KF, Ng EK, Chan FK, Ling TK, Chung SC, Sung JJ. Relationship between Helicobacter pylori babA2 status with gastric epithelial cell turnover and premalignant gastric lesions. *Gut* 2002; 51: 480-484
- Gerhard M, Lehn N, Neumayer N, Borén T, Rad R, Schepp W, Miehlke S, Classen M, Prinz C. Clinical relevance of the Helicobacter pylori gene for blood-group antigen-binding adhesin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 12778-12783
- Konturek PC, Kania J, Kukharsky V, Ocker S, Hahn EG, Konturek SJ. Influence of gastrin on the expression of cyclooxygenase-2, hepatocyte growth factor and apoptosis-related proteins in gastric epithelial cells. *J Physiol Pharmacol* 2003; 54: 17-32
- Nardone G, Staibano S, Rocco A, Mezza E, D'armiento FP, Insabato L, Coppola A, Salvatore

- G, Lucariello A, Figura N, De Rosa G, Budillon G. Effect of *Helicobacter pylori* infection and its eradication on cell proliferation, DNA status, and oncogene expression in patients with chronic gastritis. *Gut* 1999; 44: 789-799
- 27 Wang J, Chi DS, Kalin GB, Sosinski C, Miller LE, Burja I, Thomas E. *Helicobacter pylori* infection and oncogene expressions in gastric carcinoma and its precursor lesions. *Dig Dis Sci* 2002; 47: 107-113
- 28 Churin Y, Al-Ghoul L, Kepp O, Meyer TF, Birchmeier W, Naumann M. *Helicobacter pylori* CagA protein targets the c-Met receptor and enhances the motogenic response. *J Cell Biol* 2003; 161: 249-255
- 29 Kabir S. Effect of *Helicobacter pylori* eradication on incidence of gastric cancer in human and animal models: underlying biochemical and molecular events. *Helicobacter* 2009; 14: 159-171
- 30 Cheng Y, Chaturvedi R, Asim M, Bussière FI, Scholz A, Xu H, Casero RA, Wilson KT. *Helicobacter pylori*-induced macrophage apoptosis requires activation of ornithine decarboxylase by c-Myc. *J Biol Chem* 2005; 280: 22492-22496
- 31 Morgan C, Jenkins GJ, Ashton T, Griffiths AP, Baxter JN, Parry EM, Parry JM. Detection of p53 mutations in precancerous gastric tissue. *Br J Cancer* 2003; 89: 1314-1319
- 32 Perri F, Cotugno R, Piepoli A, Merla A, Quitadamo M, Gentile A, Pilotto A, Annese V, Andriulli A. Aberrant DNA methylation in non-neoplastic gastric mucosa of *H. Pylori* infected patients and effect of eradication. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 1361-1371
- 33 Shirin H, Sordillo EM, Kolevska TK, Hibshoosh H, Kawabata Y, Oh SH, Kuebler JF, Delohery T, Weghorst CM, Weinstein IB, Moss SF. Chronic *Helicobacter pylori* infection induces an apoptosis-resistant phenotype associated with decreased expression of p27(kip1). *Infect Immun* 2000; 68: 5321-5328
- 34 Hönig A, Witte F, Mirecka J, Binder C, Schauer A. *Helicobacter pylori*-induced hyperproliferation: relevance for gastric cancer development in connection with mutagenic factors. *Anticancer Res* 2000; 20: 1641-1648
- 35 Lynch DA, Mapstone NP, Clarke AM, Sobala GM, Jackson P, Morrison L, Dixon MF, Quirke P, Axon AT. Cell proliferation in *Helicobacter pylori* associated gastritis and the effect of eradication therapy. *Gut* 1995; 36: 346-350
- 36 Suzuki N, Wakasugi M, Nakaya S, Okada K, Mochida R, Sato M, Kajiyama H, Takahashi R, Hirata H, Ezure Y, Koga Y, Fukuda Y, Shimoyama T. Production and application of new monoclonal antibodies specific for a fecal *Helicobacter pylori* antigen. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002; 9: 75-78
- 37 Wang J, Fan X, Lindholm C, Bennett M, O'Connell J, Shanahan F, Brooks EG, Reyes VE, Ernst PB. *Helicobacter pylori* modulates lymphoepithelial cell interactions leading to epithelial cell damage through Fas/Fas ligand interactions. *Infect Immun* 2000; 68: 4303-4311
- 38 Huang SP, Wu MS, Shun CT, Wang HP, Hsieh CY, Kuo ML, Lin JT. Cyclooxygenase-2 increases hypoxia-inducible factor-1 and vascular endothelial growth factor to promote angiogenesis in gastric carcinoma. *J Biomed Sci* 2005; 12: 229-241

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

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

本刊讯 《中文核心期刊要目总览》(2008年版)采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、获国家奖或被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达80余种, 统计文献量达32 400余万篇次(2003-2005年), 涉及期刊12 400余种。本版还加大了专家评审力度, 5 500多位学科专家参加了核心期刊评审工作。经过定量评价和定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1 980余种核心期刊, 分属七大编73个学科类目。《世界华人消化杂志》入选本版核心期刊库(见R5内科学类核心期刊表, 第66页)。(编辑部主任: 李军亮 2010-01-08)

内镜在胃癌诊断中的应用

张海, 赵秋

■背景资料

普通内镜下, 早期胃癌难以识别, 普通活检多带有盲目性, 难以准确取材进行诊断。近年来内镜诊断新技术的出现为胃癌的诊断提供了新的方法, 早期胃癌的内镜下治疗及进展期胃癌的早期手术治疗成为可能。

张海, 湖北黄石中心医院消化内科 湖北省黄石市 435000
赵秋, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科 湖北省武汉市 430030
作者贡献分布: 本综述由张海与赵秋共同设计、撰写完成。
通讯作者: 赵秋, 教授, 主任医师, 博士生导师, 430030, 湖北省武汉市, 华中科技大学同济医院消化内科。
zhaqiu@medmail.com.cn
收稿日期: 2011-08-02 修回日期: 2011-11-02
接受日期: 2011-11-10 在线出版日期: 2011-11-18

Application of endoscopy in the diagnosis of gastric cancer

Hai Zhang, Qiu Zhao

Hai Zhang, Department of Gastroenterology, the Central Hospital of Huangshi, Huangshi 435000, Hubei Province, China

Qiu Zhao, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Correspondence to: Qiu Zhao, Professor, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China. zhaqiu@medmail.com.cn

Received: 2011-08-02 Revised: 2011-11-02

Accepted: 2011-11-10 Published online: 2011-11-18

Abstract

Gastric cancer is the most common cancer of the gastrointestinal tract, whose incidence and mortality are always high. Endoscopy and pathological examination are the most basic ways to diagnose this malignancy, but the rate of its early diagnosis was very low. In recent years, the emergence of chromoendoscopy, magnification endoscopy, endoscopic ultrasonography, narrow band imaging endoscopy, autofluorescence imaging endoscopy and confocal laser endomicroscopy has significantly improved the detection of gastric cancer, and these new techniques play an important role in the diagnosis of this disease. Here we summarize the application of endoscopy in the diagnosis of gastric cancer.

Key Words: Gastric cancer; Endoscopy; Diagnosis

Zhang H, Zhao Q. Application of endoscopy in the diagnosis of gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(32): 3332-3337

摘要

胃癌是最常见的消化系统恶性肿瘤, 发病率及死亡率居高不下, 传统内镜及活体组织检查是诊断胃癌的最基本方法, 但早期诊断率低。近年来, 随着内镜新技术和相关交叉学科的迅猛发展, 染色内镜、放大内镜、超声内镜、窄带成像内镜、自发荧光成像内镜和共聚焦激光显微内镜等的出现, 极大地提高了胃癌的检出率, 在胃癌的诊断中起着重要作用。现就目前内镜新技术在胃癌诊断中的应用现状作一综述。

关键词: 胃癌; 内镜; 诊断

张海, 赵秋. 内镜在胃癌诊断中的应用. 世界华人消化杂志 2011; 19(32): 3332-3337

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3332.asp>

0 引言

胃癌(gastric cancer)是最常见消化系统肿瘤之一, 居我国消化系统恶性肿瘤发病率和死亡率的首位, 根据胃癌病变浸润的深度, 可分为早期胃癌及进展期胃癌。据报道, 2010年, 在我国胃癌新发病例43.6万, 死亡32.3万; 就诊患者中, 早期胃癌占2%-10%, 5年生存率达95%-97%, 进展期胃癌约85%的患者可手术治疗, 5年生存率为20%-30%^[1]。因此提高胃癌的诊断率, 进行早期胃癌的内镜下治疗及进展期胃癌的手术治疗; 提高胃癌的治愈率及5年生存率就显得格外关键和重要。据有关资料统计, 经内镜检查诊断为胃癌的例数占受检总数的3.2%-16.7%^[2]。在普通内镜下, 早期胃癌难以识别, 普通活检多带有盲目性, 难以准确取材进行诊断。近年来随着内镜诊断新技术的出现为胃癌的诊断提供了新的方法。随着科学技术和相关交叉学科的发展, 如色素内镜(chromoendoscopy)、智能色素内镜(Fuji intelligent chromoendoscopy, FICE)、放大内镜(magnification endoscopy)、增强放大内镜(enhanced magnification endoscopy, EME)、超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)、窄带成像内镜(narrow band imaging endoscopy, NBI)、

自发荧光成像内镜(autofluorescence imaging endoscopy, AFI)、共聚焦激光显微内镜(confocal laser endomicroscopy, CLE)、细胞内镜(endocytoscopy, EC)、多普勒光相干断层成像内镜(endoscopic Doppler optical coherence tomography, EDOCT)等新技术的出现,大大提高了胃癌的检出率,在胃癌诊断中起着重要作用。本文就目前内镜诊断新方法在胃癌诊断中的应用现状作综述。

1 色素内镜

色素内镜又称染色内镜,是应用特殊染色剂对消化系黏膜染色,使病变部位与周围的对比度得到增强,从而提高肉眼识别能力,引导活检,提高病灶的检出率,对癌变区域判断更准确,可提高活检阳性率,有助于临床对胃黏膜病变性质进行判断。在胃癌诊断中的应用已近30年,早期常用刚果红和亚甲蓝进行喷洒染色,Ojetti^[3]等报道亚甲蓝对胃癌及癌前病变的诊断有一定帮助,但由于需要注射促胃液素,故操作步骤繁琐及费用昂贵而逐渐被淘汰。目前应用最为广泛的染色剂是靛蓝胭脂红,喷洒在胃黏膜上后可突出显示上皮表面的腺管开口及沟回结构,若同时借助放大内镜,黏膜表面特征显示可更为清晰,但目前染色内镜诊断胃癌的随机对照研究较少,多为平坦型胃病变边界确定研究的报道。最近Yoshida等^[4]使用放大染色内镜观察11例黏膜下癌患者,有9例可发现无结构性的胃黏膜。Hashimoto^[5]等研究发现染色后活检诊断为高级别上皮内瘤变的灵敏度为100%。其他染色剂如醋酸、肾上腺素等也有报道用于观察胃黏膜表面特征^[6,7]。一般认为因新生肿瘤黏膜表面微循环的增加,可能会导致在应用醋酸或肾上腺素喷洒于胃黏膜表面时,低分化癌或黏膜下癌发白的时间较正常黏膜发白的时间短。依据染色剂各自的特性,沙杰等^[8]对110例胃黏膜异常者进行醋酸联合靛胭脂染色,发现早期胃癌和高级别上皮内瘤变主要表现为黏膜退色,其敏感性为95.0%,特异性为98.9%,有助于早期胃癌及癌前病变的发现和检出,提高活检的准确性。有学者报道使用醋酸联合靛胭脂染色方法标记早期胃癌,诊断早期胃癌准确率达90.7%^[9]。目前多数学者认为应该在普通内镜检查发现有疑问的胃组织时才使用颜料染色,无针对性的将整个胃进行染色缺乏成本-效益比,且在临床工作中不大可能常规应用。因此染色内镜在操作中麻烦耗时,临床技术要求较高,无法判断病变的深度,在诊断标准上尚缺乏循证医学的证据,在

临床上往往与放大内镜联合应用。

2 智能色素内镜

FICE是新近开发的内镜智能分光比色技术,其利用纳米分光技术,模拟色素内镜,再现黏膜表层细微结构及毛细血管走向,从而实现对黏膜异常病灶的检查。FICE是在窄带成像放大内镜技术基础上发展而来的一项新型技术,其避免了染色放大内镜操作耗时、繁琐的缺点,可瞬间转换,增加图像清晰度。采用智能色素内镜观察无需染料即可达到色素内镜的效果,可发现病灶并确定范围,避免喷洒染料对病灶染色局限、不均匀的缺点,能帮助判断胃癌的浸润深度,为早期胃癌的治疗方式选择提供准确依据。有报道表FICE主要着眼于观察黏膜表面的微细腺管形态及浅表毛细血管形态,较染色放大内镜有更高的优视率,使普通内镜条件下不能识别的异常组织变得清晰可辨,利于指导靶向活检,提高诊断肿瘤性病变的准确率。目前FICE诊断胃癌的随机对照研究较少,据报道采用FICE观察发现胃黏膜花斑样改变伴多发疣状病灶的早期胃癌一例^[10]。因此采用FICE观察黏膜微小变化是消化系研究领域的的一个全新课题。

3 放大内镜

放大内镜通过光学和电子变焦可放大80-150倍,主要分为2种:电子放大内镜和光学放大内镜。电子放大内镜因无法提高分辨率,临床价值较小,难以发现早期胃癌;而光学放大内镜可观察到8 μm 左右的胃黏膜表面及微血管的细微结构,由于放大倍数和图像清晰度的提高,放大内镜对消化系黏膜腺管形状、微血管的形态及病变的微细变化均清晰可辨,能进一步提高消化系微小病变的早期诊断率。目前利用放大内镜观察病例数最多的研究报道显示,318例患者经放大内镜发现211例病变,其中100例患者最终通过组织学检查证实为癌,放大内镜较普通内镜对胃癌具有更高的检出率,敏感性为96.0%、特异性为95.5%^[11],而且放大内镜所观察到的精细黏膜结构和微血管特征与组织病理学诊断有很高的相关性,有助于早期胃癌的诊断。最近,Tanaka等^[12]报道了一种新的胃黏膜腺管开口分类方法,其中前3型多见于良性胃黏膜,后2型多见于胃癌。在放大内镜下观察胃黏膜微结构的细微改变以及微血管结构的异常作为诊断早期胃癌的主要指标。因此放

■ 研发前沿

随着消化内镜技术日益普及和改进,消化内镜在胃癌的诊断和治疗中的价值越来越被人们所认可,尤其是近年来EUS、NBI、CLE等最新的内镜诊断技术及治疗手段在出现,越来越多的胃癌及癌前病变可在早期被人们所发现。新兴内镜技术在临床上的应用已成为当今研究热点。

■创新盘点

对于胃癌的诊断和治疗,目前较为一致的观点是早期发现和手术治疗,文章从多方面出发,分析了多种新型内镜的优缺点及诊疗原理,提出多种内镜协同诊断,优化功能的创新方法。

大内镜能更清晰显示病灶,更准确地反映病变组织的病理学背景,区分增生性、腺瘤性和癌性病变,从而大致判断癌变部位,提高病变检出率,判断癌变是否存在浸润、浸润深度、浸润范围,初步实现内镜下对黏膜微结构改变的观察,结合组织学检查可获较好的敏感度和特异性,为内镜下黏膜切除、黏膜剥离或外科手术治疗提供较为客观的依据和界定。但对于经验欠缺的内镜操作者,内镜下辨认这些细微的黏膜改变仍存在困难,故目前放大内镜常与色素内镜结合应用^[13],效果可优于单一应用其中之一,这种检查方法目前被称为增强放大内镜(enhanced magnification endoscopy, EME)。依据醋酸喷洒后黏膜随时间变化的特点,在增强放大内镜的基础上,Yagi等^[14]提出了“动力化学放大内镜”的设想。

4 超声内镜

EUS引进中国已20年,其可以精确地显示肿瘤浸润深度和累及层次,辨认肿瘤中的血管结构,在其引导下细针穿刺活检可提高对黏膜下肿瘤良、恶性的鉴别,使胃癌术前国际癌症病期(TNM)分期成为可能,为内镜下治疗提供重要的诊断依据,在胃癌的诊断和治疗中发挥着越来越重要的作用,是目前诊断早期胃癌最准确、最有效的方法之一^[15-19]。分为超声微探头和常规超声内镜。超声探头的特点是管径小,具有较高分辨率,但穿透性较差,可以探查肿瘤狭窄段,能显示360度影像。因此微探头常用在内镜治疗前对早期肿瘤进行相对准确的浸润深度判断。常规超声内镜分为环形扫描超声内镜和线阵扫描超声内镜,其最大的差别在于线阵超声内镜可以实时监控组织活检,安全,精确。但至今仍然没有关于微探头和常规超声内镜之间在早期肿瘤浸润深度判断中比较的前瞻性研究^[20],仅有报道指出,超声内镜对弥漫浸润性胃癌的诊断在临床上有独特的优越性^[21]。Larghi^[22]等统计得出EUS对黏膜下病变的浸润深度判断准确率达85%。由于EUS适应证范围过于局限,基础费用和运作费用过高,且肿瘤区域有时可能伴有炎症,无论采用何种超声内镜,都可能导致肿瘤分期错误和区域无法确定。因此对胃癌的诊断如何选择合理的内镜检查就显得格外重要。

5 窄带成像内镜

NBI是一种新兴的内镜诊断技术,是利用滤光

器过滤掉内镜光源所发出的宽带光谱,使光线主要集中在黏膜表层,降低散射,减少不必要的中间色,仅留下窄带光谱对消化系各种疾病的诊断。其特点是能观察黏膜微血管结构。在临床上常与放大内镜结合应用,可更好观察病变部位黏膜表面的细微结构,判断黏膜浅层褐色微血管和sm层蓝绿色微血管结构^[23],根据深浅黏膜血管颜色差别清晰显示血管走行状态,弥补传统内镜染色不足,减少检查时间,降低患者痛苦,达到染色效果的同时降低医生工作疲劳与困难度^[24]。在早期胃癌的诊断方面,NBI突出优势在于能早期发现黏膜异常,从而提高靶向活检准确率。窄带成像加放大内镜能较好地显示黏膜血管,提高对微血管模式的分类,确定病变侵犯的深度,有助于早期胃癌的诊断。内镜下不规则的微结构对于诊断早期胃癌非常关键,Nakayoshi等^[25]采用窄带成像联合放大内镜观察165例凹陷型早期胃癌病灶的微血管变化,发现分化良好的早期胃癌其微血管形态较为规则(66.1%),而未分化癌微血管紊乱(85.7%)。通过窄带成像加放大内镜,可清晰观察并增强胃肠道黏膜表面微血管结构(microvascular pattern, MVP)、微细黏膜结构(fine mucosal structure, FMS)和白色不透明样物质(white opaque substance, WOS)。据报道,窄带成像加放大内镜下显示规则微血管结构多为正常改变,而不规则微血管结构多与胃肿瘤有较好组织病理学相关性^[26]。Kaise等^[27]将微细黏膜结构分为缺失、微缩化和异质性3种类型,而微细黏膜结构消失、微血管扩张和异质性的出现,是诊断早期胃癌的最佳组合,可以预测病变的组织学类型。白色不透明样物质目前还未经明确化学分析定性,预测可能为细胞内成分,其有望继微血管结构后,成为镜下肿瘤组织形态学又一特征性表现。由此可见,NBI可以更清晰地观察早期胃癌病灶的表面结构,可根据对微血管的观察来判断癌的分化程度,做到早期发现,并指导治疗。因此,目前认为NBI可在较大程度上替代染色内镜,进一步改善染色技术的不足。不过NBI目前临床应用尚短,其确切的应用价值、最佳适应证及其窄带成像内镜图谱和诊断标准还均需多中心、大样本的深入观察研究^[28]。而且由于绝大多数早期胃癌均发生在慢性胃炎的基础上,无论是炎症、充血还是肿瘤组织,因其均为富含血管黏膜,在进行常规内镜检查时使用NBI作为早期筛查工具的益处尚有限。

6 自发荧光成像内镜

根据用短波长的光照射人体组织时,组织内部的一些成分会散射出发荧光的原理,一种新兴的检查手段已经问世-AFI. 这种新型内镜在直视下可提供自发荧光图像,依据荧光光谱技术区分消化系正常黏膜和病变组织,AFI使用短波长蓝光激发内源性组织的荧光基团,发射出更长波长的荧光^[29],进一步提高消化系微小病变和早期癌的检出率,为胃癌的早期发现提供了一种重要方法. 目前研究的荧光内镜有2种,一种是荧光素电子内镜(FEE),另一种利用组织发射的自身荧光. 在注射荧光素后,胃黏膜诱导出蓝白荧光,癌组织的荧光密度明显高于周围正常黏膜. 但荧光素存在极其罕见的过敏反应,有致命的病例报道,少数患者会出现不良反应,因此安全性有待探讨. 组织发出的自身荧光信号非常微弱,在常规内镜检查时图像模糊,难以准确观察黏膜特征,假阳性率较高,临床应用性有限. Uedo等^[30]将自身荧光技术和反射成像技术相结合对浅表的胃食管癌进行研究,22例早期胃癌中,AFI的诊断准确率为68%,常规内镜为36%. 多变量分析显示,仅凹陷型和紫色背景在绿色背景下及紫色背景下的绿色肿瘤中独立起作用. 但AFI的清晰度和分辨率不甚理想,与染色内镜相比其诊断率相对较低^[31],在临床中推广有一定局限性. 目前通过计算机采用软件进行量化分析简化医生诊疗决策过程^[32].

7 共聚焦激光显微内镜

CLE是目前国际上最新的内镜成像技术,是传统电子内窥镜和微型共聚焦激光扫描显微镜整合的产物^[33]. CLE是在内镜头端加上一个极小的激光共聚焦显微镜,可在内镜检查的同时获取消化系上皮及上皮高度放大的横截面图像,从而在内镜下做出组织学诊断并指导靶向活检. CLE可用于癌前病变及早期胃癌的诊断^[34]. 他的问世标志着内镜检查从宏观走向微观,从表层走向深层,从形态学走向功能组织学,是连接宏观世界和微观世界的桥梁,是内镜技术的一次质的转变. 共聚焦激光显微内镜可以实时、活体、无创伤显示病变的细胞、亚细胞结构、断层显示病变的细微结构;可将黏膜放大1 000倍清晰观察隐窝结构、黏膜细胞、杯状细胞、上皮内炎症细胞、毛细血管和红细胞等;能对表层黏膜细胞250 μm 深度的固有层进行观察,将断面影像进行三维重建,获得组织图像,即时做出

组织学诊断,达到光学活检的目的;可在内镜检查的同时进行实时模拟组织学检查,即“虚拟活检”,提高早期胃癌的检出率. 早期胃癌的病理学特点是细胞结构异常、染色质凝聚和核浆比例增大^[35]. 共聚焦内镜能准确区别正常消化系黏膜和肿瘤组织的微血管结构^[36]. 共聚焦图像可清晰显示胃癌组织中特征性的不规则细胞结构和血管异常分布,正常胃黏膜的微血管结构呈蜂窝状或螺旋形,规则分布于胃小凹周围. 而胃癌病灶中则显示出过多口径不一,形状各异或呈短树枝样的微血管结构,微血管结构的改变有助于早期胃食管肿瘤的识别^[37]. CLE可在体内实时观察胃黏膜浅层地微血管形态,静脉应用荧光素钠时,荧光素钠在微血管内浓集使其显示最为清楚^[38]. 在对胃癌患者的CLE检查中,有报道显示CLE对分化型胃癌与未分化型胃癌的诊断特异性分别为93.5%和92.3%,准确性分别为88.7%和90.5%^[39]. Guo等^[40]研究中CLE对肠上皮化生的敏感性和特异性为91.59%和95.33%. 因此CLE用于观察早期胃癌及其癌前病变,所得到的实时显微图像与传统的病理组织图像有很好的-致性,对胃癌及癌前病变做出即时诊断^[41],意义重大. 随着该技术的不断进步,共聚焦内镜下的分子成像诊断不久也有望应用于临床^[42],这无疑对消化系疾病的诊断提供了新的思路,尤其为消化系早期肿瘤以及癌前病变的快速诊断提供了更加有力的工具,必将开启消化系内镜诊断的新纪元^[43]. 但CLE技术仍有许多不足,如其不能显示黏膜下层病变,也不能对肿瘤性病变进行分级^[44],对细胞核的显示仍无法与常规组织病理切片相媲美,对肿瘤细胞核浆比的判断困难^[45].

8 结论

胃癌严重危害人民的身体健康,目前发病率仍居高不下,每年有超过93万新发的胃癌病例^[46]. 如何提高胃癌的早期发现率,并在早期阶段给予合适的治疗仍是目前待解决的问题. 近年来,随着内镜诊疗新方法的应用,极大地提高了早期胃癌及癌前病变的检出率和内镜的治疗水平. 目前,在胃癌的内镜诊断方面,染色内镜、放大内镜和超声内镜,以及最近出现的窄带成像、自发荧光成像和共聚焦激光显微内镜等,大大提高了胃癌的诊断水平,尤其是内镜的联合应用,在一定程度上提高了早期胃癌及癌前病变的检出率^[27,47,48],为内镜下治疗(如内镜黏膜切除

■应用要点

文章通过对EUS、NBI、CLE等新兴内镜诊断技术在胃癌诊断中应用的研究综述,对新兴内镜的临床应用有一定的指导作用.

同行评价

EUS、NBI、CLE等新兴内镜诊断技术的临床应用大大提高了胃癌的诊断水平,尤其是内镜的联合应用,在一定程度上提高了早期胃癌及癌前病变的检出率,为内镜下治疗(如内镜黏膜切除术、内镜黏膜下剥离术等)提供充分的理论依据,并更好指导我们制定胃癌的诊疗策略。

术、内镜黏膜下剥离术等)提供充分的理论依据,并更好指导我们制定胃癌的诊疗策略。

参考文献

- 张澍田. 重视消化系早期癌的诊治. 中华消化内镜杂志 2010; 27: 449-450
- 许国铭, 李兆申. 上消化系内镜学. 上海: 上海科学技术出版社, 2003: 355-364
- Ojetti V, Persiani R, Nista EC, Rausei S, Lecca G, Migneco A, Cananzi FC, Cammarota G, D'Ugo D, Gasbarrini G, Gasbarrini A. A case-control study comparing methylene blue directed biopsies and random biopsies for detecting pre-cancerous lesions in the follow-up of gastric cancer patients. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2007; 11: 291-296
- Yoshida T, Kawachi H, Sasajima K, Shiokawa A, Kudo SE. The clinical meaning of a nonstructural pattern in early gastric cancer on magnifying endoscopy. *Gastrointest Endosc* 2005; 62: 48-54
- Hashimoto CL, Iriya K, Baba ER, Navarro-Rodriguez T, Zerbini MC, Eisig JN, Barbuti R, Chinzon D, Moraes-Filho JP. Lugol's dye spray chromoendoscopy establishes early diagnosis of esophageal cancer in patients with primary head and neck cancer. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 275-282
- Yamashita H, Kitayama J, Ishigami H, Yamada J, Miyato H, Kaisaki S, Nagawa H. Endoscopic instillation of indigo carmine dye with acetic acid enables the visualization of distinct margin of superficial gastric lesion; Usefulness in endoscopic treatment and diagnosis of gastric cancer. *Dig Liver Dis* 2007; 39: 389-391
- Fukui H, Shirakawa K, Nakamura T, Suzuki K, Masuyama H, Fujimori T, Hiraishi H, Terano A. Magnifying pharmacoscopy: response of microvessels to epinephrine stimulation in differentiated early gastric cancers. *Gastrointest Endosc* 2006; 64: 40-44
- 沙杰, 李学良, 施瑞华, 林琳, 胡小丹, 丁静, 许迎红, 陈莉, 陶桂, 莫静, 张道权. 醋酸联合靛胭脂染色诊断早期胃癌及癌前病变的临床价值. 中华消化内镜杂志 2010; 27: 644-646
- Kawahara Y, Takenaka R, Okada H, Kawano S, Inoue M, Tsuzuki T, Tanioka D, Hori K, Yamamoto K. Novel chromoendoscopic method using an acetic acid-indigocarmine mixture for diagnostic accuracy in delineating the margin of early gastric cancers. *Dig Endosc* 2009; 21: 14-19
- 吴巍, 吴云林, 郭滢, 诸琦, 袁耀宗. 胃黏膜花斑病变伴多发疣状灶的早期胃癌一例. 中华消化内镜杂志 2008; 25: 47-49
- Tajiri H, Doi T, Endo H, Nishina T, Terao T, Hyodo I, Matsuda K, Yagi K. Routine endoscopy using a magnifying endoscope for gastric cancer diagnosis. *Endoscopy* 2002; 34: 772-777
- Tanaka K, Toyoda H, Kadowaki S, Kosaka R, Shiraiishi T, Imoto I, Shiku H, Adachi Y. Features of early gastric cancer and gastric adenoma by enhanced-magnification endoscopy. *J Gastroenterol* 2006; 41: 332-338
- 董琳, 王铁武, 施明国. 放大胃镜下黏膜染色对早期胃癌诊断的临床观察及研究. 中华消化内镜杂志 2008; 25: 101-102
- Yagi K, Aruga Y, Nakamura A, Sekine A, Umezu H. The study of dynamic chemical magnifying endoscopy in gastric neoplasia. *Gastrointest Endosc* 2005; 62: 963-969
- Shim CS, Jung IS. Endoscopic removal of submucosal tumors: preprocedure diagnosis, technical options, and results. *Endoscopy* 2005; 37: 646-654
- Sato T, Peiper M, Fritscher-Ravens A, Gocht A, Soehendra N, Knoefel WT. Strategy of treatment of submucosal gastric tumors. *Eur J Med Res* 2005; 10: 292-295
- Sun S, Jin Y, Chang G, Wang C, Li X, Wang Z. Endoscopic band ligation without electrosurgery: a new technique for excision of small upper-GI leiomyoma. *Gastrointest Endosc* 2004; 60: 218-222
- Kitano S, Shiraishi N. Minimally invasive surgery for gastric tumors. *Surg Clin North Am* 2005; 85: 151-164, xi
- Li VK, Hung WK, Chung CK, Ying MW, Lam BY, Kan DM, Chan MC. Laparoscopic intragastric approach for stromal tumours located at the posterior gastric wall. *Asian J Surg* 2008; 31: 6-10
- 邹晓平. 超声内镜的选择. 中华消化内镜杂志 2008; 25: 115-116
- 林东, 陈淑梅, 陈丰颖, 徐继宁, 黄美珍. 内镜超声对弥漫浸润性胃癌的诊断价值. 中华消化内镜杂志 2010; 27: 158-159
- Larghi A, Lightdale CJ, Memeo L, Bhagat G, Okpara N, Rotterdam H. EUS followed by EMR for staging of high-grade dysplasia and early cancer in Barrett's esophagus. *Gastrointest Endosc* 2005; 62: 16-23
- Fu KI, Sano Y, Kato S, Fujii T, Nagashima F, Yoshino T, Okuno T, Yoshida S, Fujimori T. Chromoendoscopy using indigo carmine dye spraying with magnifying observation is the most reliable method for differential diagnosis between non-neoplastic and neoplastic colorectal lesions: a prospective study. *Endoscopy* 2004; 36: 1089-1093
- Dekker E, van den Broek FJ, Reitsma JB, Hardwick JC, Offerhaus GJ, van Deventer SJ, Hommes DW, Fockens P. Narrow-band imaging compared with conventional colonoscopy for the detection of dysplasia in patients with longstanding ulcerative colitis. *Endoscopy* 2007; 39: 216-221
- Nakayoshi T, Tajiri H, Matsuda K, Kaise M, Ikegami M, Sasaki H. Magnifying endoscopy combined with narrow band imaging system for early gastric cancer: correlation of vascular pattern with histopathology (including video). *Endoscopy* 2004; 36: 1080-1084
- Tamai N, Kaise M, Nakayoshi T, Katoh M, Sumiyama K, Gohda K, Yamasaki T, Arakawa H, Tajiri H. Clinical and endoscopic characterization of depressed gastric adenoma. *Endoscopy* 2006; 38: 391-394
- Kaise M, Kato M, Urashima M, Arai Y, Kaneyama H, Kanzazawa Y, Yonezawa J, Yoshida Y, Yoshimura N, Yamasaki T, Goda K, Imazu H, Arakawa H, Mochizuki K, Tajiri H. Magnifying endoscopy combined with narrow-band imaging for differential diagnosis of superficial depressed gastric lesions. *Endoscopy* 2009; 41: 310-315
- 高孝忠, 褚衍六, 乔秀丽, 王晓丰, 刘奉, 刘洁. NBI在早期胃癌及异型增生诊断中的应用. 中华消化内镜杂志 2009; 26: 134-137
- DaCosta RS, Wilson BC, Marcon NE. Optical techniques for the endoscopic detection of dysplastic colonic lesions. *Curr Opin Gastroenterol* 2005; 21: 70-79
- Uedo N, Iishi H, Tatsuta M, Yamada T, Ogiyama H,

- Imanaka K, Sugimoto N, Higashino K, Ishihara R, Narahara H, Ishiguro S. A novel videoendoscopy system by using autofluorescence and reflectance imaging for diagnosis of esophagogastric cancers. *Gastrointest Endosc* 2005; 62: 521-528
- 31 柏愚, 李兆申. 早期胃癌的内镜诊断技术临床应用进展. *中华消化内镜杂志* 2008; 25: 614-616
- 32 Meining A. On the way toward quantitative staining techniques? *Gastrointest Endosc* 2009; 69: 219-220
- 33 Inoue H, Kudo SE, Shiokawa A. Technology insight: Laser-scanning confocal microscopy and endocytoscopy for cellular observation of the gastrointestinal tract. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2005; 2: 31-37
- 34 Goetz M, Hoffman A, Galle PR, Neurath MF, Kiesslich R. Confocal laser endoscopy: new approach to the early diagnosis of tumors of the esophagus and stomach. *Future Oncol* 2006; 2: 469-476
- 35 Kiesslich R, Neurath MF. Endoscopic detection of early lower gastrointestinal cancer. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2005; 19: 941-961
- 36 Deinert K, Kiesslich R, Vieth M, Neurath MF, Neuhaus H. In-vivo microvascular imaging of early squamous-cell cancer of the esophagus by confocal laser endomicroscopy. *Endoscopy* 2007; 39: 366-368
- 37 Liu H, Li YQ, Yu T, Zhao YA, Zhang JP, Zhang JN, Guo YT, Xie XJ, Zhang TG, Desmond PV. Confocal endomicroscopy for in vivo detection of microvascular architecture in normal and malignant lesions of upper gastrointestinal tract. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 56-61
- 38 Becker V, von Delius S, Bajbouj M, Karagianni A, Schmid RM, Meining A. Intravenous application of fluorescein for confocal laser scanning microscopy: evaluation of contrast dynamics and image quality with increasing injection-to-imaging time. *Gastrointest Endosc* 2008; 68: 319-323
- 39 何振, 李延青, 于涛, 季锐, 李文波, 李涛. 共聚焦激光显微内镜对胃癌病理分型诊断价值. *中华消化内镜杂志* 2010; 27: 119-122
- 40 Guo YT, Li YQ, Yu T, Zhang TG, Zhang JN, Liu H, Liu FG, Xie XJ, Zhu Q, Zhao YA. Diagnosis of gastric intestinal metaplasia with confocal laser endomicroscopy in vivo: a prospective study. *Endoscopy* 2008; 40: 547-553
- 41 Hoffman A, Goetz M, Vieth M, Galle PR, Neurath MF, Kiesslich R. Confocal laser endomicroscopy: technical status and current indications. *Endoscopy* 2006; 38: 1275-1283
- 42 Goetz M, Kiesslich R. Confocal endomicroscopy: in vivo diagnosis of neoplastic lesions of the gastrointestinal tract. *Anticancer Res* 2008; 28: 353-360
- 43 Polglase AL, McLaren WJ, Delaney PM. Pentax confocal endomicroscope: a novel imaging device for in vivo histology of the upper and lower gastrointestinal tract. *Expert Rev Med Devices* 2006; 3: 549-556
- 44 郭晓青, 李兆申. 共聚焦显微内镜及临床应用. *中华消化内镜杂志* 2008; 25: 219-221
- 45 Kakeji Y, Yamaguchi S, Yoshida D, Tanoue K, Ueda M, Masunari A, Utsunomiya T, Imamura M, Honda H, Maehara Y, Hashizume M. Development and assessment of morphologic criteria for diagnosing gastric cancer using confocal endomicroscopy: an ex vivo and in vivo study. *Endoscopy* 2006; 38: 886-890
- 46 Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108
- 47 Yao K, Iwashita A, Tanabe H, Nagahama T, Matsui T, Ueki T, Sou S, Kikuchi Y, Yorioka M. Novel zoom endoscopy technique for diagnosis of small flat gastric cancer: a prospective, blind study. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 869-878
- 48 Yao K, Anagnostopoulos GK, Ragunath K. Magnifying endoscopy for diagnosing and delineating early gastric cancer. *Endoscopy* 2009; 41: 462-467

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

WJG 成功通过评审被 PMC 收录

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

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

行为因素在胃癌发展过程中的作用及胃癌预防管理

夏上

■背景资料

胃癌的危险因素包括遗传因素、环境因素及行为或其他相关因素。其中，幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是胃癌发生发展过程中的主要因素。

夏上, 武汉大学中南医院 湖北省武汉市 430071

通讯作者: 夏上, 医学博士, 430071, 湖北省武汉市武昌区东湖路169号, 武汉大学中南医院. olivia1209@yahoo.com.cn

电话: 027-67813483

收稿日期: 2011-08-02 修回日期: 2011-11-05

接受日期: 2011-11-10 在线出版日期: 2011-11-18

Influence of behavior factors on the development, prevention and management of gastric cancer

Shang Xia

Shang Xia, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, Hubei Province, China

Correspondence to: Xia Shang, MD, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, Hubei Province, China. olivia1209@yahoo.com.cn

Received: 2011-08-02 Revised: 2011-11-05

Accepted: 2011-11-10 Published online: 2011-11-18

Abstract

Gastric cancer is the fourth most common malignancy worldwide and is globally the second leading cause of cancer-related deaths each year. Among the risk factors are genetic factors, environmental factors and other factors. *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) has been found to be the major carcinogen in gastric cancer development. Approximately 65%-80% of non-cardia gastric adenocarcinoma is attributable to *H. pylori* infection. One percent of patients infected with *H. pylori* will develop gastric cancer. American and European guidelines on the management of *H. pylori* infection recommend *H. pylori* eradication in all patients with atrophy and/or intestinal metaplasia. In the Asian Pacific Gastric Cancer Consensus, it was suggested for the first time that it is time for population-based screening and treatment of *H. pylori* infection in regions where gastric cancer incidence is above 20/100 000 per year. Although the incidence of gastric cancer is declining, its mortality rate is high. Many risk factors have been confirmed and have taken basic precautions. *H. pylori* eradication treatment reduced but did not completely eliminate the risk factors for gastric cancer. With further research, the role of behavioral factors in the

development of gastric cancer has become increasingly prominent. Elucidation of the role of behavioral factors in the development of gastric cancer can help us better prevent and manage this disease.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Gastric cancer; Behavior factors; prevention and management

Xia S. Influence of behavior factors on the development, prevention and management of gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(32): 3338-3341

摘要

胃癌是全球第4大恶性肿瘤, 是第2大每年肿瘤相关性致死疾病。胃癌的危险因素包括遗传因素、环境因素及行为或其他相关因素。业已发现, 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是胃癌发生发展过程中的主要因素。65%-80%的非贲门胃癌与*H. pylori*有关。1%的*H. pylori*感染患者可能发展为胃癌。欧美*H. pylori*感染管理指南均推荐所有胃萎缩或肠化的病人应行根除治疗。根据亚太地区肿瘤共识建议, 在全民范围内筛查*H. pylori*感染情况, 并在胃癌发生率较高的地区行*H. pylori*根除治疗。而在肠化、萎缩性胃炎的患者, 常规内镜检查及活检是必要的。胃癌的发生率逐年下降, 但其死亡率仍不容忽视。许多危险因素已被证实并已采取基本预防措施。*H. pylori*根除治疗减少但并未完全消除胃癌的危险因素。随着研究的深入, 行为因素在胃癌发展过程中的作用日益凸显, 并在预防管理中被重视。

关键词: 幽门螺杆菌; 胃癌; 行为因素; 预防管理

夏上. 行为因素在胃癌发展过程中的作用及胃癌预防管理. *世界华人消化杂志* 2011; 19(32): 3338-3341

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3338.asp>

0 引言

胃癌是全球第4大恶性肿瘤, 是第2大每年肿瘤相关性致死疾病(死亡率约10.4%)^[1]。胃癌发生的危险性在经济欠发达地区较高。患者从胃

■同行评议者

樊晓明, 主任医师, 复旦大学附属金山医院消化科; 黄颖秋, 教授, 本溪钢铁(集团)有限责任公司总医院消化内科

癌低危险国家移民到高危险国家并未降低胃癌的高危险性. 而其子女具有较低的胃癌危险度, 与所移国民类似. 这项研究说明移民的胃癌环境高危因素体现在其童年时期^[1]. 然而, 胃癌的分布并非严格的与地理分布一致. 如胃癌低发生率的印度属于高危的亚洲地区^[2,3]. 在所有研究人群, 男性的危险度均为女性的2倍. 此外, 不同年龄组女性的胃癌发生率均较男性组滞后10年^[2]. 日本的胃癌筛查制度使其患者5年生存率提高到约60%, 而全球其他大部分地区5年生存率仅有20%左右^[4-6]. 胃癌的致死率取决于多因素, 如肿瘤的发生、诊断、个体的生物因素及治疗干预等. 任何减少肿瘤发生率(如消除潜在危险因素或促进保护因素), 促进早期诊断(如对高危因素患者的随访、监测), 或有效治疗均可减少致死率. 大多胃癌患者为腺癌, 胃腺癌中的一部分与幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)有关. 感染通常源于婴幼儿时期, 并有一个相当长的潜伏期, 通常40年或更久后被临床诊断为肿瘤. 此前, 患者处于一个长时间的病理诊断的癌前病变状态. 通过社会经济环境的改变, 卫生条件的改善, 食物保鲜及*H. pylori*的根除治疗, 胃腺癌的发生率在稳步并缓慢下降^[7,8]. 而非腺癌的胃癌在年轻人多见, 此与遗传因素有关并有较差的预后^[8].

1 胃癌的危险因素

对于非贲门胃癌, 其危险因素: (1)遗传因素: 包括黏附因子突变, 基因多态性等; (2)环境因素: 包括感染因素如*H. pylori*, EB病毒感染^[9], 营养因素如亚硝酸盐, 食盐, 烟熏食物摄入及水果蔬菜食用减少等; (3)其他因素如恶性贫血, 大部胃切除术后, 胃腺瘤, 性行为, 欠发达社会经济因素^[10]和吸烟^[11]等. 遗传因素及*H. pylori*感染因素是胃癌的主要危险因素, 但由于生活方式等行为因素导致的危险因素, 在胃癌发生发展过程中被越来越重视. 全球范围内, 大于66%的成年人为肥胖症患者^[12]. 2008年约有一百万美国人确诊为癌症患者, 35%以上的癌症可通过运动、饮食及减肥得到预防^[13-19]. 多数患者表示, 如果改变行为因素能够减少疾病发生率, 他们是愿意积极参与其中的^[20]. 然而, 运动、饮食、睡眠很难改变, 并与个人习惯、压力、社会因素等相关.

2 胃癌与饮食

作为消化系统肿瘤, 饮食是其发展过程中一个

尤为重要的因素, 其作用已通过移民所在地区肿瘤发生率的变化得到证实. 值得指出的是, 许多研究证据提示进食过多浸盐食物、腌鱼、烟熏食物, 将可能增加胃癌的危险度, 此建议同样被WHO/FAO指出^[21]. 事实上, 全球范围内胃癌的致死率在地理位置上的分布, 尤其是日本, 与每日食盐摄入量相关^[22]. 此外, 欧美地区胃癌的发生率下降与食物的冷冻相关. 食物冷冻的广泛应用有利于食物的储存及新鲜蔬果的摄入^[23]. 然而, 目前尚未明确蔬果中的何种成分为胃癌的保护机制. 氧化应激可导致基因突变, 改变细胞调往控程序及促进胃肠癌基因的表达^[24]. 因此, 抗氧化组分(如 β 胡萝卜素, 维生素E&C)被广泛研究并指出对胃癌有保护作用^[25].

*H. pylori*感染及饮食因素在促进胃癌的发展过程中可能具有协同作用. 在研究过程中, 具有协同作用的多因素作用加大了在方法学及逻辑学方面研究的难度. 诚然, 在全人口研究中严格控制饮食及*H. pylori*感染状态的可能性几乎没有. 因此, 基于此的实验动物模型已被应用于行为因素的研究中^[26-29]. 近年不少来自于灵长类动物的研究证据显示, 长期*H. pylori*感染或亚硝酸盐食物摄入中任何一种因素都可导致胃黏膜炎症反应, 而胃癌的发展需同时具备2种因素^[30].

3 胃癌与吸烟

吸烟不仅与心血管疾病、脑血管疾病及肺部疾病有关, 也被证实可能通过不同的机制改变全胃肠道各部分的功能. 吸烟增加胃癌的发生率也已被研究证实. 戒烟对于减少恶性肿瘤的发生率有益, 而其对于良性疾病的意义尚待研究. 大约60种烟草中的化学成分被认为是致癌物. 尼古丁可能是调节肿瘤细胞增殖过程中的促有丝分裂成分^[31].

多数队列研究均表示, 吸烟患者的胃癌罹患率显著增高. 每年约11%的胃癌患者发生(约8万)与吸烟有关^[32]. 在具有高胃癌发生率的日本, 至2006年底, 10项队列研究及16项对照研究均证实上述相关性. 多数研究表明男性患者中, 吸烟与胃癌有中至高度的相关性^[33]. 挪威的一项队列研究提示吸烟的开始年龄、频率及烟龄与肿瘤发生相关. 每日吸烟患者的危险度为不吸烟患者的2倍. 嗜烟患者若同时饮酒, 其胃癌发生率为阴性对照组的5倍^[34]. 来自欧洲10国的一项涉及50万患者超过4年的研究显示, 胃癌与饮食及吸烟有关. 贲门胃癌经过教育, 新鲜蔬果摄入及

■**研发前沿**
胃癌发生发展过程中内外环境因素对肿瘤发展在各阶段的影响.

■**相关报道**
相关研究显示环境因素、饮食习惯、生活方式等均与胃癌的发展有关, 通过行为生活模式的调整可能降低胃癌的发病率.

■创新盘点

本文客观辩证的讨论与胃癌有关的行为生活模式各方面因素,且对通过改善某方面因素是否能改善胃癌的整体发病进展做出了一定讨论。

体质量因素的校正后,其危险系数为4.1。而远端胃癌为1.94。在这项研究中,17.6%的胃癌患者有吸烟习惯,而戒烟10年后危险系数显著下降^[35]。通过对2万例患者10年的随访观察表明,吸烟与远端胃癌的类型有关^[36]。

4 *H. pylori*根除后胃癌的发展情况

研究显示,1%的患者在根除*H. pylori*后仍发展为胃癌^[37]。近年来有研究报道,肿瘤在根除*H. pylori*后若干年仍可继续发展^[38]。与其他肿瘤一样,胃癌是一个多因素作用的发展过程,去除其中某一个危险因素并不能阻止所有胃癌的发生。内镜筛查是必要的,尤其在胃癌高危地区。同样的,改变生活方式等行为因素是减少胃癌发生率的重要一环。WHO已经对胃癌的防治提出了战略性的建议,积极鼓励高危地区乃至全球重视生活方式对疾病的影响,并通过改善措施减少胃癌的发生。

5 结论

尽管胃癌的发生率在逐年下降,其致死率仍不容忽视。由于多数危险因素可通过干预措施消除,其基本预防是可行的。在高风险地区实行内镜筛查是必要的。其多数危险因素是容易通过自我管理加以防范的,如戒烟、增加蔬果摄入、*H. pylori*根除治疗等,这些都应该被视为胃癌预防管理的基本措施。

6 参考文献

- Parkin DM. International variation. *Oncogene* 2004; 23: 6329-6340
- Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108
- Lambert R, Guilloux A, Oshima A, Pompe-Kirn V, Bray F, Parkin M, Ajiki W, Tsukuma H. Incidence and mortality from stomach cancer in Japan, Slovenia and the USA. *Int J Cancer* 2002; 97: 811-818
- Parkin DM. Global cancer statistics in the year 2000. *Lancet Oncol* 2001; 2: 533-543
- Roukos DH, Kappas AM. Perspectives in the treatment of gastric cancer. *Nat Clin Pract Oncol* 2005; 2: 98-107
- Cunningham SC, Kamangar F, Kim MP, Hammoud S, Haque R, Maitra A, Montgomery E, Heitmiller RE, Choti MA, Lillemoe KD, Cameron JL, Yeo CJ, Schulick RD. Survival after gastric adenocarcinoma resection: eighteen-year experience at a single institution. *J Gastrointest Surg* 2005; 9: 718-725
- Parkin DM, Bray FI, Devesa SS. Cancer burden in the year 2000. The global picture. *Eur J Cancer* 2001; 37 Suppl 8: S4-66
- Oliveira C, Seruca R, Carneiro F. Genetics, pathology, and clinics of familial gastric cancer. *Int J Surg Pathol* 2006; 14: 21-33
- Kidwell GA. Drug-induced ventricular proarrhythm-

mia. *Cardiovasc Clin* 1992; 22: 317-337

- Yu XQ, O'Connell DL, Gibberd RW, Armstrong BK. Assessing the impact of socio-economic status on cancer survival in New South Wales, Australia 1996-2001. *Cancer Causes Control* 2008; 19: 1383-1390
- Ladeiras-Lopes R, Pereira AK, Nogueira A, Pinheiro-Torres T, Pinto I, Santos-Pereira R, Lunet N. Smoking and gastric cancer: systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Cancer Causes Control* 2008; 19: 689-701
- Ogden CL, Carroll MD, Curtin LR, McDowell MA, Tabak CJ, Flegal KM. Prevalence of overweight and obesity in the United States, 1999-2004. *JAMA* 2006; 295: 1549-1555
- Rogers CJ, Colbert LH, Greiner JW, Perkins SN, Hursting SD. Physical activity and cancer prevention: pathways and targets for intervention. *Sports Med* 2008; 38: 271-296
- Miles L. Physical activity and the prevention of cancer: a review of recent findings. *Nutr Bull* 2007; 32: 250-282
- Clavel-Chapelon F, Niravong M, Joseph RR. Diet and breast cancer: review of the epidemiologic literature. *Cancer Detect Prev* 1997; 21: 426-440
- La Vecchia C. Diet and human cancer: a review. *Eur J Cancer Prev* 2001; 10: 177-181
- Michels KB, Mohllajee AP, Roset-Bahmanyar E, Beehler GP, Moysich KB. Diet and breast cancer: a review of the prospective observational studies. *Cancer* 2007; 109: 2712-2749
- Ryan-Harshman M, Aldoori W. Diet and colorectal cancer: Review of the evidence. *Can Fam Physician* 2007; 53: 1913-1920
- Tsugane S, Sasazuki S. Diet and the risk of gastric cancer: review of epidemiological evidence. *Gastric Cancer* 2007; 10: 75-83
- Chapman LE, Sullivent EE, Grohskopf LA, Beltrami EM, Perz JF, Kretsinger K, Panlilio AL, Thompson ND, Ehrenberg RL, Gensheimer KF, Duchin JS, Kilmarx PH, Hunt RC. Recommendations for postexposure interventions to prevent infection with hepatitis B virus, hepatitis C virus, or human immunodeficiency virus, and tetanus in persons wounded during bombings and other mass-casualty events--United States, 2008: recommendations of the Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *MMWR Recomm Rep* 2008; 57: 1-21; quiz CE1-4
- Ness A. Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. WHO Technical Report Series 916. Report of a Joint WHO/FSA Expert Consultation. *Int J Epidemiol* 2004; 33: 914-915
- Joossens JV, Hill MJ, Elliott P, Stamler R, Lesaffre E, Dyer A, Nichols R, Kesteloot H. Dietary salt, nitrate and stomach cancer mortality in 24 countries. European Cancer Prevention (ECP) and the INTERSALT Cooperative Research Group. *Int J Epidemiol* 1996; 25: 494-504
- Go VLW, Wong DA, Butrum R. Diet, nutrition, and cancer prevention: Where are we going from here? *J Nutr* 2001; 131: 3121S-3126S
- Thomson A, Hemphill D, Jeejeebhoy KN. Oxidative stress and antioxidants in intestinal disease. *Dig Dis* 1998; 16: 152-158
- Bjelakovic G, Nikolova D, Simonetti RG, Glud C. Antioxidant supplements for prevention of gastrointestinal cancers: a systematic review and meta-

■应用要点

胃癌发展过程中多数危险因素是容易通过自我管理加以防范的,如戒烟、增加蔬果摄入、幽门螺杆菌根除治疗等,这些都应该被视为胃癌预防管理的基本措施。可能在胃癌预防宣教或临床中得到应用。

- analysis. *Lancet* 2004; 364: 1219-1228
- 26 Karam SM. Cellular origin of gastric cancer. *Ann N Y Acad Sci* 2008; 1138: 162-168
 - 27 Tsukamoto T, Mizoshita T, Tatematsu M. Animal models of stomach carcinogenesis. *Toxicol Pathol* 2007; 35: 636-648
 - 28 Watanabe T, Tada M, Nagai H, Sasaki S, Nakao M. Helicobacter pylori infection induces gastric cancer in Mongolian gerbils. *Gastroenterology* 1998; 115: 642-648
 - 29 Romero-Gallo J, Harris EJ, Krishna U, Washington MK, Perez-Perez GI, Peek RM. Effect of Helicobacter pylori eradication on gastric carcinogenesis. *Lab Invest* 2008; 88: 328-336
 - 30 Liu H, Merrell DS, Semino-Mora C, Goldman M, Rahman A, Mog S, Dubois A. Diet synergistically affects helicobacter pylori-induced gastric carcinogenesis in nonhuman primates. *Gastroenterology* 2009; 137: 1367-179. e1-6
 - 31 Shin VY, Cho CH. Nicotine and gastric cancer. *Alcohol* 2005; 35: 259-264
 - 32 Tredaniel J, Boffetta P, Buiatti E, Saracci R, Hirsch A. Tobacco smoking and gastric cancer: review and metaanalysis. *Int J Cancer* 1997; 72: 565-573
 - 33 Nishino Y, Inoue M, Tsuji I, Wakai K, Nagata C, Mizoue T, Tanaka K, Tsugane S. Tobacco smoking and gastric cancer risk: an evaluation based on a systematic review of epidemiologic evidence among the Japanese population. *Jpn J Clin Oncol* 2006; 36: 800-807
 - 34 Sjødahl K, Lu Y, Nilsen TI, Ye W, Hveem K, Vatten L, Lagergren J. Smoking and alcohol drinking in relation to risk of gastric cancer: a population-based, prospective cohort study. *Int J Cancer* 2007; 120: 128-132
 - 35 González CA, Pera G, Agudo A, Palli D, Krogh V, Vineis P, Tumino R, Panico S, Berglund G, Simán H, Nyrén O, Agren A, Martinez C, Dorronsoro M, Baricarte A, Tormo MJ, Quiros JR, Allen N, Bingham S, Day N, Miller A, Nagel G, Boeing H, Overvad K, Tjønneland A, Bueno-De-Mesquita HB, Boshuizen HC, Peeters P, Numans M, Clavel-Chapelon F, Helen I, Agapitos E, Lund E, Fahey M, Saracci R, Kaaks R, Riboli E. Smoking and the risk of gastric cancer in the European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition (EPIC). *Int J Cancer* 2003; 107: 629-634
 - 36 Sasazuki S, Sasaki S, Tsugane S. Cigarette smoking, alcohol consumption and subsequent gastric cancer risk by subsite and histologic type. *Int J Cancer* 2002; 101: 560-566
 - 37 Fuccio L, Zagari RM, Eusebi LH, Laterza L, Cennamo V, Ceroni L, Grilli D, Bazzoli F. Meta-analysis: can Helicobacter pylori eradication treatment reduce the risk for gastric cancer? *Ann Intern Med* 2009; 151: 121-128
 - 38 de Vries AC, Kuipers EJ, Rauws EA. Helicobacter pylori eradication and gastric cancer: when is the horse out of the barn? *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 1342-1345

■同行评价

本文阐述了行为因素与胃癌的关系, 对临床有一定参考价值。

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011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.

胃癌抗血管生成药物治疗的研究进展

刘海新, 王哲海

■背景资料

胃癌是消化系统最常见的恶性肿瘤, 居我国恶性肿瘤死亡率的第1位, 传统的手术治疗和化疗预后较差, 分子靶向治疗是近年来肿瘤治疗领域中的研究热点, 其中针对VEGF及VEGFR的抗血管生成治疗在胃癌综合治疗方面取得了较大进展。

刘海新, 王哲海, 山东省肿瘤医院内科三病区 山东省济南市 250117

作者贡献分布: 本文综述由刘海新完成; 王哲海审核。

通讯作者: 王哲海, 主任医师, 250117, 山东省济南市, 山东省肿瘤医院内科三病区. wzhai8778@sina.com

电话: 0531-67626331

收稿日期: 2011-09-05 修回日期: 2011-10-12

接受日期: 2011-11-02 在线出版日期: 2011-11-18

Advances in research of antiangiogenic drugs for gastric cancer

Hai-Xin Liu, Zhe-Hai Wang

Hai-Xin Liu, Zhe-Hai Wang, Department of Internal Medicine (Division III), Shandong Cancer Hospital, Jinan 250117, Shandong Province, China

Correspondence to: Zhe-Hai Wang, Department of Internal Medicine (Division III), Shandong Cancer Hospital, Jinan 250117, Shandong Province, China. wzhai8778@sina.com

Received: 2011-09-05 Revised: 2011-10-12

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

Abstract

Gastric cancer is the most common cancer of the digestive system and the first leading cause of cancer deaths in China. Conventional surgery and chemotherapeutic regimens can not significantly improve the poor prognosis of gastric cancer. In recent years, molecular targeted therapy has become a hot topic in the treatment of cancers, and many antiangiogenic drugs for treatment of gastric cancer have been developed, including monoclonal antibodies or soluble receptors that bind and neutralize vascular endothelial growth factor (VEGF), tyrosine kinase receptor inhibitors, and antibodies against VEGF receptors (VEGFRs).

Key Words: Gastric cancer; Anti-angiogenesis; Drugs

Liu HX, Wang ZH. Advances in research of antiangiogenic drugs for gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2011; 19(32): 3342-3346

摘要

胃癌是消化系统最常见的恶性肿瘤, 居我国恶

性肿瘤死亡率的第1位, 传统的手术治疗和化疗预后较差。分子靶向治疗是近年来肿瘤治疗领域中的研究热点, 其中抗肿瘤血管生成药物的应用在胃癌综合治疗方面取得了较大进展, 包括血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)为靶点的单克隆抗体、可溶性受体、酪氨酸激酶受体抑制剂、血管内皮生长因子受体(vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)为靶点的抗体等。

关键词: 胃癌; 抗血管生成; 药物

刘海新, 王哲海. 胃癌抗血管生成药物治疗的研究进展. 世界华人消化杂志 2011; 19(32): 3342-3346

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3342.asp>

0 引言

尽管新细胞毒性药物的开发利用在一定程度上提高了胃癌的疗效, 但进展期患者的预后仍然较差, 发生远处转移和局部进展的胃癌患者的中位总生存期(overall survival, OS)分别只有9 mo和14 mo^[1]。近年来, 分子靶向药物在胃癌治疗中显示出一定的临床应用价值, 其中针对血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)及VEGFR的抗血管生成治疗在胃癌综合治疗方面取得了较大进展, 本文对此综述如下。

1 VEGF/VEGFR

目前已知的VEGF成员有VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGF-E以及胎盘生长因子^[2], 具有促进内皮细胞增殖和分化、增加微血管通透性、诱导血管生成等多种功能^[3]。

VEGFR家族主要有VEGFR1、VEGFR2、VEGFR3和Neuropilins, 他们本质上属于酪氨酸蛋白激酶受体。VEGFR1主要存在于单核细胞和内皮细胞中, 与VEGF-A、VEGF-B以及PlGF结合, 促进正常的血管生成和造血功能; VEGFR2与VEGF-A、VEGF-C、VEGF-D结合, 是VEGF发挥促血管生成效应的主要受体, 存在于内皮细胞中, 可调节内皮细胞的增殖、分化以及微血管的通透性; VEGFR3主要与VEGF-C、VEGF-D结

■同行评议者

刘正稳, 教授, 西安交通大学医学院第一附属医院传染科

合, 是特异表达在淋巴内皮细胞中的另一种酪氨酸激酶受体, 动脉、静脉、毛细血管内皮中基本没有表达. VEGFR3可促进淋巴管的生成, 也可以通过调节VEGFR2信号通路维持脉管系统结构的完整性^[2,4]. Neuropilins是VEGF特异性共同受体, 可与VEGFR相互作用, 增强VEGF与VEGFR的亲合力. 有研究表明针对VEGF和Neuropilins的双重靶向治疗比单一用药疗效更好^[5].

有研究显示, 与正常胃组织相比, VEGF在胃癌组织中的表达率较高, 并与肿瘤的浸润深度、淋巴结转移、远处转移及临床分期呈正相关, 血清中VEGF浓度升高的胃癌患者预后较差^[6-8].

2 抗血管生成药物

抗血管生成治疗是通过抑制肿瘤血管的生成, 从而阻断肿瘤生长和转移必需的氧气和营养供应, 是主要的分子靶向治疗之一. 此外, 抗血管生成还可以诱导肿瘤血管正常化, 使血管结构变得规则、基底膜完整、血管周围支持细胞增多, 这减少了肿瘤出血和转移的机会, 同时增加了肿瘤的氧供和治疗药物的灌注量^[9,10].

2.1 VEGF为靶点的单克隆抗体 贝伐单抗(bevacizumab)是世界上首个批准上市的重组抗人VEGF单克隆抗体, 他通过阻断VEGF的分泌及VEGFR家族成员中的VEGFR1和VEGFR2的信号传递来阻止VEGF诱导的细胞增殖和转移, 从而具有抗血管生成作用^[11,12]. 临床试验显示贝伐单抗与化疗药物联合能够显著提高晚期结直肠癌有效率, 延长生存期^[13].

在胃癌方面一些学者也进行了有益地探讨. 2006年Shah等^[14]报道了一项多中心II期临床研究的结果. 对手术无法切除、转移性胃腺癌及食管连接部腺癌患者给以贝伐单抗联合伊立替康和顺铂, 34例可评价患者的总有效率为65%, 其中20例部分缓解(partial remission, PR), 2例完全缓解(complete remission, CR), 中位无进展生存期(progress free survival, PFS)8.3 mo, 生存期12.3 mo. 2011年Shah等^[15]又报道了一项II期临床试验的结果. 对转移性胃食管腺癌给以贝伐单抗联合多西他赛、氟尿嘧啶和顺铂, 39例可评价患者的有效率为65%, 6 mo无进展生存率为79%, 中位PFS 12 mo. 随访26 mo, OS和2年生存率分别为16.8 mo和37%. 尽管贝伐单抗与化疗联合能够明确地提高有效率和PFS, 但是否对总生存产生影响尚有一定争议. Ohtsu等^[16]报道的一项随机对照、双盲的III期临床试验(AVA-

GAST)结果显示, 774例无法手术的局部晚期或转移性胃癌、胃食管连接部腺癌患者, 在卡培他滨+顺铂一线化疗基础上加入贝伐单抗, 与加入安慰剂相比, PFS由5.3 mo延长至6.7 mo($P = 0.0037$); 客观有效率(objective response rate, ORR)由29.5%提高至38%($P = 0.0121$), 但未能延长OS(12.1 mo vs 10.1 mo, $P = 0.1002$). 亚组分析显示, 加入贝伐单抗后的生存获益具有一定的种族差异: 美洲人组中位生存期从6.8 mo延长至11.5 mo(HR = 0.63), 欧洲人组从8.6 mo延长至11.1 mo(HR = 0.85), 亚洲或太平洋地区人组从12.1 mo延长至13.9 mo(HR = 0.97). 作者认为不同地区患者在疾病进展后接受二线治疗的比例明显不同, 可能是出现这种差异的主要影响因素(入组患者中接受二线治疗的比例: 亚洲患者66%; 美洲患者21%).

2.2 可溶性受体 Aflibercept是一种可溶性重组诱饵型VEGFR, 是将VEGFR1的第2免疫球蛋白(Ig)域与VEGFR2的第3 Ig域融合后再与人IgG1的一恒定区Fc融合而成的完全人融合蛋白, 可与VEGF-A的所有亚型和相关胎盘生长因子结合^[17]. 动物研究显示aflibercept对小鼠肿瘤模型的原发病灶和肺部转移病灶都有一定疗效^[18,19].

I期临床试验也显示aflibercept单药或联合化疗治疗恶性实体瘤的耐受性和安全性较好, 并能延长患者稳定期^[20,21]. aflibercept单药或联合化疗的II/III期临床试验在晚期或转移性非小细胞肺癌、肾细胞癌等肿瘤中相继展开, 但在胃癌方面还没有类似研究^[22].

2.3 酪氨酸激酶抑制剂 索拉非尼(Sorafenib)为口服多靶点酪氨酸激酶抑制剂, 能够抑制VEGFR、血小板衍生生长因子受体、B-Raf、Raf-1以及c-Kit, 进而阻断血管生成^[23]. 有研究表明, 索拉非尼单药治疗肝细胞癌转移患者, 能够提高其OS^[24], 并且作为二线治疗药物能提高肾细胞癌转移患者PFS^[25]. 在胃癌方面, 索拉非尼联合卡培他滨和顺铂治疗进展期胃癌的I期临床研究显示^[26], 21例入组患者的ORR为62.5%, 中位PFS和OS分别为10.0 mo(95%CI, 7.4-13.8 mo)和14.7 mo(95%CI, 12.0-20.0 mo). Sun等^[27]报道了一项II期临床试验结果. 对进展期胃腺癌或胃食管连接部腺癌患者给以索拉非尼联合多西他赛和顺铂, ORR为41%, 中位PFS为5.8 mo, 中位OS为13.6 mo^[28], 提示索拉非尼与化疗药物联合具有一定的协同作用.

舒尼替尼(Sunitinib)是一类选择性靶向多

■研发前沿

近年来随着对胃癌分子生物学研究的不断深入, 使分子靶向治疗研究成为胃癌治疗的一种新手段, 其中抗血管生成治疗是诸多学者的研究热点.

■相关报道

Liu等研究显示,与正常胃组织相比,VEGF在胃癌组织中的表达率较高;同时,VEGF的表达与肿瘤的浸润深度、淋巴结转移、远处转移、临床分期及预后有关。

种受体酪氨酸激酶的新型药物,能够抑制血小板衍生生长因子受体及VEGFR,已被FDA批准用于转移性肾癌及对伊马替尼不能耐受或耐药的胃肠间质肿瘤患者的治疗^[29,30]。但舒尼替尼在胃癌治疗中的价值尚待明确。一项无对照的II期临床试验显示,舒尼替尼单药二线治疗进展期胃腺癌或胃食管连接部腺癌患者的有效率为2.6%,中位PFS及OS分别为2.3、6.8 mo^[31],与化疗药物单药治疗的临床试验结果相似^[32,33]。

范得它尼(Vandetanib, ZD6474)是一种合成的苯胺喹唑啉化合物,为口服小分子酪氨酸激酶抑制剂,可同时作用于肿瘤细胞表皮生长因子受体、VEGFR及RET酪氨酸激酶,能够下调肿瘤细胞的血管生成因子以及抑制表皮生长因子对肿瘤血管内皮细胞的信号传导,进而抑制血管的生成^[34]。临床前的体内实验表明,范得它尼联合紫杉醇或吉西他滨能更为显著地抑制肿瘤生长^[35,36]。体外和动物试验也表明:范得它尼能够抑制细胞增殖,降低肿瘤的微血管密度,从而抑制肿瘤生长^[37-39]。目前正在进行其与奥沙利铂和多西他塞联合的II/III临床试验。

SU6668是一种口服多靶点酪氨酸激酶抑制剂,对VEGFR-2、血小板衍生生长因子和碱性成纤维生长因子受体均有抑制作用。Tokuyama等^[40]应用SU6668成功抑制胃癌细胞荷瘤裸鼠肿瘤新生血管生成和腹膜播散。但SU6668面世时间较短,其疗效还有待进一步探索。

2.4 VEGFR为靶点抗体 Ramucirumab(IMC1121B)为抗VEGFR-2的完全性人类IgG1单克隆抗体,具有抗血管生成的作用^[41]。2010年Spratlin等^[42]报道了一项有关ramucirumab的I期临床试验结果。试验共入组37例既往治疗失败的晚期实体瘤患者,给以ramucirumab剂量递增的每周用法,11例(30%)获PR(包括1例胃癌)或疾病稳定超过6 mo。目前一项对既往化疗失败的晚期胃癌给以ramucirumab单药或联合紫杉醇的临床试验正在进行^[43]。

2.5 其他 AMG-386是首个获批的重组Fc-肽融合蛋白类药物,可以通过中和Tie2受体与促血管生成素1和2之间的相互作用抑制血管生成。一项I期临床试验显示,AMG-386单药或联合化疗在抗实体肿瘤方面有一定的疗效,且不良反应较轻,主要为乏力和水肿等^[44]。AMG-386联合化疗治疗胃癌或胃食管连接部癌的II期临床试验正在进行,预计2013年7月完成^[45]。Alphastatin是由staton等合成的人纤维蛋白原 α 链末端的24个氨基酸片断,能够抑制血管的生成,其机制还不

清楚^[46]。体外研究显示,alphastatin能够抑制人脐静脉来源内皮细胞管状结构的形成^[47]。动物模型试验证实,alphastatin可明显抑制人胃癌细胞裸鼠移植瘤的血管生成^[48]。

3 结论

血管生成是实体肿瘤生长不可或缺的一部分,是决定肿瘤生长、转移、复发及预后的关键因素之一。从1971年哈佛大学医学院Folkman博士^[49]提出阻断血管的“饿死肿瘤”假说开始,抗血管生成治疗受到越来越多的关注,并取得较大进展,给胃癌的治疗带来了新的选择。大量研究证实,抗血管生成治疗在胃癌治疗中具有广泛的临床应用前景。但与其他一些肿瘤相比,如肺癌、结直肠癌、肾癌等,胃癌抗血管生成治疗的疗效仍然有限,特别是在延长总生存期方面,疗效并不显著。而且胃癌抗血管生成治疗的研究起步较晚,需要更多的临床前和临床试验去证实其在胃癌治疗中的作用。

4 参考文献

- 1 Cunningham D, Okines AF, Ashley S. Capecitabine and oxaliplatin for advanced esophagogastric cancer. *N Engl J Med* 2010; 362: 858-859
- 2 Oklu R, Walker TG, Wicky S, Hesketh R. Angiogenesis and current antiangiogenic strategies for the treatment of cancer. *J Vasc Interv Radiol* 2010; 21: 1791-1805; quiz 1806
- 3 Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *FASEB J* 1999; 13: 9-22
- 4 Hicklin DJ, Ellis LM. Role of the vascular endothelial growth factor pathway in tumor growth and angiogenesis. *J Clin Oncol* 2005; 23: 1011-1027
- 5 Ebos JM, Lee CR, Christensen JG, Mutsaers AJ, Kerbel RS. Multiple circulating proangiogenic factors induced by sunitinib malate are tumor-independent and correlate with antitumor efficacy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 17069-17074
- 6 Lieto E, Ferraraccio F, Orditura M, Castellano P, Mura AL, Pinto M, Zamboli A, De Vita F, Galizia G. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and epidermal growth factor receptor (EGFR) is an independent prognostic indicator of worse outcome in gastric cancer patients. *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 69-79
- 7 Gao P, Zhou GY, Zhang QH, Su ZX, Zhang TG, Xiang L, Wang Y, Zhang SL, Mu K. Lymphangiogenesis in gastric carcinoma correlates with prognosis. *J Pathol* 2009; 218: 192-200
- 8 Liu YF, Guo S, Zhao R, Chen YG, Wang XQ, Xu KS. Correlation of Vascular Endothelial Growth Factor Expression With Tumor Recurrence and Poor Prognosis in Patients With pN0 Gastric Cancer. *World J Surg* 2011; Jul 20. [Epub ahead of print]
- 9 Jain RK. Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy. *Science* 2005; 307: 58-62

■创新盘点

本文就针对VEGF及VEGFR的抗血管生成治疗在胃癌综合治疗方面取得的较大进展进行了综述,探讨国内外抗血管生成药物治疗的研究进展。

- 10 Wu HC, Chang DK. Peptide-mediated liposomal drug delivery system targeting tumor blood vessels in anticancer therapy. *J Oncol* 2010; 2010: 723-798
- 11 Wang Y, Fei D, Vanderlaan M, Song A. Biological activity of bevacizumab, a humanized anti-VEGF antibody in vitro. *Angiogenesis* 2004; 7: 335-345
- 12 Ferrara N, Hillan KJ, Gerber HP, Novotny W. Discovery and development of bevacizumab, an anti-VEGF antibody for treating cancer. *Nat Rev Drug Discov* 2004; 3: 391-400
- 13 Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, Cartwright T, Hainsworth J, Heim W, Berlin J, Baron A, Griffing S, Holmgren E, Ferrara N, Fyfe G, Rogers B, Ross R, Kabbinavar F. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004; 350: 2335-2342
- 14 Shah MA, Ramanathan RK, Ilson DH, Levnor A, D'Adamo D, O'Reilly E, Tse A, Trocola R, Schwartz L, Capanu M, Schwartz GK, Kelsen DP. Multicenter phase II study of irinotecan, cisplatin, and bevacizumab in patients with metastatic gastric or gastroesophageal junction adenocarcinoma. *J Clin Oncol* 2006; 24: 5201-5206
- 15 Shah MA, Jhaver M, Ilson DH, Lefkowitz RA, Robinson E, Capanu M, Kelsen DP. Phase II study of modified docetaxel, cisplatin, and fluorouracil with bevacizumab in patients with metastatic gastroesophageal adenocarcinoma. *J Clin Oncol* 2011; 29: 868-874
- 16 Ohtsu A, Shah MA, Van Cutsem E, Rha SY, Sawaki A, Park SR, Lim HY, Yamada Y, Wu J, Langer B, Starnawski M, Kang YK. Bevacizumab in combination with chemotherapy as first-line therapy in advanced gastric cancer: a randomized, double-blind, placebo-controlled phase III study. *J Clin Oncol* 2011; 29: 3968-3976
- 17 Pentheroudakis G, Stoyianni A. Incorporation of targeted agents in the management of patients with advanced gastric cancer. *Curr Med Chem* 2011; 18: 1629-1639
- 18 Holash J, Davis S, Papadopoulos N, Croll SD, Ho L, Russell M, Boland P, Leidich R, Hylton D, Burrova E, Ioffe E, Huang T, Radziejewski C, Bailey K, Fandl JP, Daly T, Wiegand SJ, Yancopoulos GD, Rudge JS. VEGF-Trap: a VEGF blocker with potent antitumor effects. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 11393-11398
- 19 Wulff C, Wilson H, Wiegand SJ, Rudge JS, Fraser HM. Prevention of thecal angiogenesis, antral follicular growth, and ovulation in the primate by treatment with vascular endothelial growth factor Trap R1R2. *Endocrinology* 2002; 143: 2797-2807
- 20 Lockhart AC, Rothenberg ML, Dupont J, Cooper W, Chevalier P, Sternas L, Buzenet G, Koehler E, Sosman JA, Schwartz LH, Gultekin DH, Koutcher JA, Donnelly EF, Andal R, Dancy I, Spriggs DR, Tew WP. Phase I study of intravenous vascular endothelial growth factor trap, aflibercept, in patients with advanced solid tumors. *J Clin Oncol* 2010; 28: 207-214
- 21 Tew WP, Gordon M, Murren J, Dupont J, Pezzulli S, Aghajanian C, Sabbatini P, Mendelson D, Schwartz L, Gettinger S, Psyrri A, Cedarbaum JM, Spriggs DR. Phase I study of aflibercept administered subcutaneously to patients with advanced solid tumors. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 358-366
- 22 Chu QS. Aflibercept (AVE0005): an alternative strategy for inhibiting tumour angiogenesis by vascular endothelial growth factors. *Expert Opin Biol Ther* 2009; 9: 263-271
- 23 Wilhelm SM, Carter C, Tang L, Wilkie D, McNabola A, Rong H, Chen C, Zhang X, Vincent P, McHugh M, Cao Y, Shujath J, Gawlak S, Eveleigh D, Rowley B, Liu L, Adnane L, Lynch M, Auclair D, Taylor I, Gedrich R, Voznesensky A, Riedl B, Post LE, Bollag G, Trail PA. BAY 43-9006 exhibits broad spectrum oral antitumor activity and targets the RAF/MEK/ERK pathway and receptor tyrosine kinases involved in tumor progression and angiogenesis. *Cancer Res* 2004; 64: 7099-7109
- 24 Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, Hilgard P, Gane E, Blanc JF, de Oliveira AC, Santoro A, Raoul JL, Forner A, Schwartz M, Porta C, Zeuzem S, Bolondi L, Greten TF, Galle PR, Seitz JF, Borbath I, Häussinger D, Giannaris T, Shan M, Moscovici M, Voliotis D, Bruix J. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 2008; 359: 378-390
- 25 Escudier B, Eisen T, Stadler WM, Szczylik C, Oudard S, Siebels M, Negrier S, Chevreau C, Solska E, Desai AA, Rolland F, Demkow T, Hutson TE, Gore M, Freeman S, Schwartz B, Shan M, Simantov R, Bukowski RM. Sorafenib in advanced clear-cell renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2007; 356: 125-134
- 26 Kim C, Lee JL, Choi YH, Kang BW, Ryu MH, Chang HM, Kim TW, Kang YK. Phase I dose-finding study of sorafenib in combination with capecitabine and cisplatin as a first-line treatment in patients with advanced gastric cancer. *Invest New Drugs* 2010; Sep 14. [Epub ahead of print]
- 27 Sun W, Powell M, O'Dwyer PJ, Catalano P, Ansari RH, Benson AB. Phase II study of sorafenib in combination with docetaxel and cisplatin in the treatment of metastatic or advanced gastric and gastroesophageal junction adenocarcinoma: ECOG 5203. *J Clin Oncol* 2010; 28: 2947-2951
- 28 Cunningham D, Starling N, Rao S, Iveson T, Nicolson M, Coxon F, Middleton G, Daniel F, Oates J, Norman AR. Capecitabine and oxaliplatin for advanced esophagogastric cancer. *N Engl J Med* 2008; 358: 36-46
- 29 Motzer RJ, Hutson TE, Tomczak P, Michaelson MD, Bukowski RM, Rixe O, Oudard S, Negrier S, Szczylik C, Kim ST, Chen I, Bycott PW, Baum CM, Figlin RA. Sunitinib versus interferon alfa in metastatic renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2007; 356: 115-124
- 30 Ishikawa T, Kanda T, Kosugi S, Yajima K, Hatakeyama K. [Sunitinib as a second-line therapy for imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumors]. *Gan To Kagaku Ryoho* 2011; 38: 916-921
- 31 Bang YJ, Kang YK, Kang WK, Boku N, Chung HC, Chen JS, Doi T, Sun Y, Shen L, Qin S, Ng WT, Tursi JM, Lechuga MJ, Lu DR, Ruiz-Garcia A, Sobrero A. Phase II study of sunitinib as second-line treatment for advanced gastric cancer. *Invest New Drugs* 2011; 29: 1449-1458
- 32 Jo JC, Lee JL, Ryu MH, Sym SJ, Lee SS, Chang HM, Kim TW, Lee JS, Kang YK. Docetaxel monotherapy as a second-line treatment after failure of fluoropyrimidine and platinum in advanced gastric cancer: experience of 154 patients with prognostic factor analysis. *Jpn J Clin Oncol* 2007; 37: 936-941
- 33 Kodera Y, Ito S, Mochizuki Y, Fujitake S, Koshi-

■应用要点

本文总结了近年来抗血管生成药物治疗的研究进展, 有利于进一步了解抗血管生成治疗并指导临床治疗。

■名词解释

抗血管生成治疗是指通过抑制血管的生成, 从而减少肿瘤细胞的氧气和营养供应, 进而抑制肿瘤生长和转移。

■同行评价

本文就抗血管生成药物在胃癌治疗中的应用做了一简单综述,重点阐述了以VEGF和VEGFR为靶点的药物,有助于我们更好的了解胃癌抗血管生成药物的治疗。

- 34 Wedge SR, Ogilvie DJ, Dukes M, Kendrew J, Chester R, Jackson JA, Boffey SJ, Valentine PJ, Curwen JO, Musgrove HL, Graham GA, Hughes GD, Thomas AP, Stokes ES, Curry B, Richmond GH, Wadsworth PF, Bigley AL, Hennequin LF. ZD6474 inhibits vascular endothelial growth factor signaling, angiogenesis, and tumor growth following oral administration. *Cancer Res* 2002; 62: 4645-4655
- 35 Ciardiello F, Caputo R, Damiano V, Caputo R, Troiani T, Vitagliano D, Carlomagno F, Veneziani BM, Fontanini G, Bianco AR, Tortora G. Antitumor effects of ZD6474, a small molecule vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, with additional activity against epidermal growth factor receptor tyrosine kinase. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 1546-1556
- 36 Conrad C, Ischenko I, Köhl G, Wiegand U, Guba M, Yezhelyev M, Ryan AJ, Barge A, Geissler EK, Wedge SR, Jauch KW, Bruns CJ. Antiangiogenic and antitumor activity of a novel vascular endothelial growth factor receptor-2 tyrosine kinase inhibitor ZD6474 in a metastatic human pancreatic tumor model. *Anticancer Drugs* 2007; 18: 569-579
- 37 Arao T, Yanagihara K, Takigahira M, Takeda M, Koizumi F, Shiratori Y, Nishio K. ZD6474 inhibits tumor growth and intraperitoneal dissemination in a highly metastatic orthotopic gastric cancer model. *Int J Cancer* 2006; 118: 483-489
- 38 Lyros O, Mueller A, Heidel F, Schimanski CC, Gockel I, Galle PR, Lang H, Moehler M. Analysis of anti-proliferative and chemosensitizing effects of sunitinib on human esophagogastric cancer cells: Synergistic interaction with vandetanib via inhibition of multi-receptor tyrosine kinase pathways. *Int J Cancer* 2010; 127: 1197-1208
- 39 McCarty MF, Wey J, Stoeltzing O, Liu W, Fan F, Bucana C, Mansfield PF, Ryan AJ, Ellis LM. ZD6474, a vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor with additional activity against epidermal growth factor receptor tyrosine kinase, inhibits orthotopic growth and angiogenesis of gastric cancer. *Mol Cancer Ther* 2004; 3: 1041-1048
- 40 Tokuyama J, Kubota T, Saikawa Y, Yoshida M, Furukawa T, Otani Y, Kumai K, Kitajima M. Tyrosine kinase inhibitor SU6668 inhibits peritoneal dissemination of gastric cancer via suppression of tumor angiogenesis. *Anticancer Res* 2005; 25: 17-22
- 41 Spratlin J. Ramucirumab (IMC-1121B): Monoclonal antibody inhibition of vascular endothelial growth factor receptor-2. *Curr Oncol Rep* 2011; 13: 97-102
- 42 Spratlin JL, Cohen RB, Eadens M, Gore L, Camidge DR, Diab S, Leong S, O'Bryant C, Chow LQ, Serkova NJ, Meropol NJ, Lewis NL, Chiorean EG, Fox F, Yousoufian H, Rowinsky EK, Eckhardt SG. Phase I pharmacologic and biologic study of ramucirumab (IMC-1121B), a fully human immunoglobulin G1 monoclonal antibody targeting the vascular endothelial growth factor receptor-2. *J Clin Oncol* 2010; 28: 780-787
- 43 Okines AF, Reynolds AR, Cunningham D. Targeting angiogenesis in esophagogastric adenocarcinoma. *Oncologist* 2011; 16: 844-858
- 44 Herbst RS, Hong D, Chap L, Kurzrock R, Jackson E, Silverman JM, Rasmussen E, Sun YN, Zhong D, Hwang YC, Evelhoch JL, Oliner JD, Le N, Rosen LS. Safety, pharmacokinetics, and antitumor activity of AMG 386, a selective angiopoietin inhibitor, in adult patients with advanced solid tumors. *J Clin Oncol* 2009; 27: 3557-3565
- 45 Neal J, Wakelee H. AMG-386, a selective angiopoietin-1/-2-neutralizing peptibody for the potential treatment of cancer. *Curr Opin Mol Ther* 2010; 12: 487-495
- 46 Staton CA, Brown NJ, Rodgers GR, Corke KP, Tazzyman S, Underwood JC, Lewis CE. Alaphastatin, a 24-amino acid fragment of human fibrinogen, is a potent new inhibitor of activated endothelial cells in vitro and in vivo. *Blood* 2004; 103: 601-606
- 47 Chen L, Li T, Li R, Wei B, Peng Z. Alaphastatin downregulates vascular endothelial cells sphingosine kinase activity and suppresses tumor growth in nude mice bearing human gastric cancer xenografts. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 4130-4136
- 48 Li T, Chen L. [Alaphastatin inhibits tumor angiogenesis in nude mice bearing human gastric cancer xenografts]. *Zhonghua Weichang Waike Zazhi* 2009; 12: 61-64
- 49 Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med* 1971; 285: 1182-1186

编辑 李军亮 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

WJG 总被引频次排名位于第 174 名

本刊讯 World Journal of Gastroenterology (WJG)被Science Citation Index Expanded (SCIE)和MEDLINE等国际重要检索系统收录,在国际上享有较高声誉和影响力。WJG在PubMed Central (PMC)统计,单月独立IP地址访问58 257次,全文网络版(HTML Full Text)下载94 888次,全文PDF下载59 694次。另外根据基本科学指标库(essential science indicators)统计,2000-01-01/2010-12-31, SCIE检索的临床医学(clinical medicine)期刊有1 105种,总被引频次排名, WJG位于第174名。(2011-05-14 马连生 董事长/总编辑)

DNA甲基化与胃癌

隋红, 王凯冰, 白玉贤

隋红, 白玉贤, 哈尔滨医科大学附属第三医院(哈尔滨医科大学
附属肿瘤医院)内二科, 黑龙江省哈尔滨市 150040

王凯冰, 哈尔滨医科大学附属第二临床医学院介入科, 黑龙
江省哈尔滨市 150086

哈尔滨医科大学附属肿瘤医院内科研启动基金资助项目,
No. JJ2009-03

作者贡献分布: 本文综述由隋红、王凯冰及白玉贤完成; 隋红
审校。

通讯作者: 隋红, 副主任医师, 150040, 黑龙江省哈尔滨市南岗
区哈平路150号, 哈尔滨医科大学附属第三医院(哈尔滨医科大
学附属肿瘤医院)内二科. doctorsui2003@126.com

收稿日期: 2011-09-20 修回日期: 2011-10-18

接受日期: 2011-11-04 在线出版日期: 2011-11-18

DNA methylation and gastric cancer

Hong Sui, Kai-Bing Wang, Yu-Xian Bai

Hong Sui, Yu-Xian Bai, Department of Internal Medicine,
the Affiliated Tumor Hospital of Harbin Medical University,
Harbin 150040, Heilongjiang Province, China

Kai-Bing Wang, Department of Interventional Medicine,
the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical Univer-
sity, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China

Supported by: the Scientific Research Starting Fund of the
Affiliated Tumor Hospital of Harbin Medical University,
No. JJ2009-03

Correspondence to: Hong Sui, Associate Chief Physi-
cian, Department of Internal Medicine, the Affiliated Tumor
Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150040,
Heilongjiang Province, China. doctorsui2003@126.com

Received: 2011-09-20 Revised: 2011-10-18

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

Abstract

Methylation of cytosine bases in DNA provides a layer of epigenetic control in many eukaryotes that has important implications for normal biology and disease. DNA methylation is a crucial epigenetic modification of the genome that is involved in regulating many cellular processes. A growing number of human diseases including cancer have been found to be associated with aberrant DNA methylation. Recent advancements in the rapidly evolving field of cancer epigenetics have described extensive reprogramming of every component of the epigenetic machinery in cancer, such as DNA demethylation. In this review, we discuss the current understanding of alterations in DNA methylation composing the epigenetic landscape that occurs

in gastric cancer compared with normal cells, the roles of these changes in gastric cancer initiation and progression, and the potential use of this knowledge in designing more effective treatment strategies.

Key Words: Gastric cancer; DNA methylation; Tumor suppressor gene

Sui H, Wang KB, Bai YX. DNA methylation and gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(32): 3347-3352

摘要

甲基化是一种以胞嘧啶为基础的DNA改变, 他从表观遗传的角度调控许多真核生物的生长代谢, 并对正常生物学行为和疾病的发生具有重要意义. DNA甲基化是一种重要的基因表观遗传改变, 调控细胞的许多进程. 已经发现越来越多的人类疾病包括癌症与异常的DNA甲基化有关. 最近快速发展的癌症表观遗传学领域揭示了涉及癌症表观遗传的每一个组件的广泛重组现象, 如DNA脱甲基化. 本文主要综述了当前DNA甲基化改变在胃癌与正常组织细胞的研究比较, 他在胃癌发生发展中的角色及利用这些已知指导更有效的治疗趋势.

关键词: 胃癌; DNA甲基化; 抑癌基因

隋红, 王凯冰, 白玉贤. DNA甲基化与胃癌. 世界华人消化杂志 2011; 19(32): 3347-3352

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3347.asp>

0 引言

DNA甲基化是指基因组中CpG岛的胞嘧啶环上的第5位碳原子的甲基化, 可标志为5mC^[1]. 目前对肿瘤细胞基因组DNA甲基化的发现包括^[2]: (1)基因组的广泛低甲基化是肿瘤细胞的一个普遍特征; (2)CpG岛低甲基化, 在许多肿瘤组织中, 原先高甲基化的CpG岛成为低甲基化, 同时伴有其邻近基因的活化; (3)肿瘤抑制基因启动子区的高甲基化可使其沉默、失活致表达产物减

■背景资料

DNA甲基化是一种重要的基因表观遗传改变, 调控细胞的许多进程. 而且越来越多的人类疾病, 包括癌症已经发现与异常的DNA甲基化有关.

■同行评议者

肖恩华, 教授, 中南大学湘雅二医院放射教研室

■ 研发前沿

快速发展的癌症表观遗传学领域揭示了涉及癌症表观遗传的每一个组件的广泛重组现象,如DNA脱甲基化。在本文中,我们讨论当前DNA甲基化改变在胃癌与正常组织细胞相比的研究,这些变化在胃癌发生发展中的角色及利用这些已知指导更有效的治疗趋势。

少或丧失;(4)基因印记丢失,印记基因是高甲基化不表达的,丢失甲基化则会使之活化,称为印记丢失;(5)启动子区甲基化修饰是可复的,这也可解释肿瘤组织中的癌细胞表型的不断转换^[3]。DNA甲基化属表观遗传学范畴,已经证实由遗传基因和表观遗传学异常所致的抑癌基因的失活和癌基因的激活在癌发生中意义重大。过去人们一直认为基因突变是肿瘤病因学的关键所在,体细胞的抑癌基因突变与肿瘤发生密切相关。Feil^[4]最近报道,环境因素、饮食习惯等可以在不改变DNA序列的情况下影响相关基因的转录和表达,不利环境因素和饮食习惯可以通过DNA甲基化和组蛋白的共价修饰来扰乱基因的正常表达。随着对肿瘤生物学行为的深入了解,越来越多的迹象表明启动子区的异常甲基化和组蛋白修饰所致的这些基因的表观沉默在癌发生和转移中必不可少。例如肿瘤细胞系的抑癌基因启动子区的异常DNA甲基化在蛋白水平而不是在基因组水平上下调其表达引起改变^[5]。

目前,胃癌的发病机制不完全清楚。同其他肿瘤类似,胃癌的发生亦是多步骤、多阶段、多基因改变与表基因改变的复杂过程^[6-9]。胃癌的病因主要包括以下几个方面:(1)胃癌发病与环境因素有关,其中包括食物、土壤、水源等;(2)胃癌患者家族中的发病率比对照组高4倍。日本高发区的土人移居美国后,其发病率仍高于当地的白种人,表明胃癌的发生与遗传因素有关;(3)癌前疾病:如慢性萎缩性胃炎、胃息肉、良性胃溃疡、巨大胃黏膜皱襞症(Menetrie病)、异形增生与间变、肠化生等。胃癌发病的这种独特病因体系提示:胃癌是研究肿瘤表观遗传修饰的最佳模型之一。

1 DNA甲基化与胃癌的临床病理密切相关

20世纪80年代,Kliasheva发现胃癌组织和十二指肠溃疡中DNA组的胞嘧啶甲基化差异现象;1999年,第一个DNA错配修复基因hMSH2和hMLH1启动子区甲基化在胃癌中确认^[10]。自从最初的通过甲基化异常筛选抑癌基因开始,胃癌相关基因甲基化在胃癌发生发展中的作用成为人类认识肿瘤的又一点。胃癌组织中hMSH2基因启动子区高甲基化,与癌旁组、慢性萎缩性胃炎组、慢性浅表性胃炎组3组甲基化水平相比,差别具有统计学意义。由此可推断胃癌组织中hMSH2基因启动子区高甲基化可能是导致其错配修复功能缺陷的重要原因之一;

而错配修复功能缺陷在胃癌的发生中起着重要作用,但可能与其发展关系不大^[11-26]。ZIC1(Zic family member 1, odd-paired Drosophila homolog)的启动子区过甲基化使该基因失活促进胃癌发生,ZIC1由此被认定为新的抑癌基因,这种过甲基化行为在胃癌组织常见,并且和正常胃组织中存在差异。启动子区过甲基化使ZIC1表达下调与胃癌发生密切相关,而ZIC1基因发挥抑癌作用表现为使胃癌细胞阻滞在S期^[27]。P16基因甲基化则在淋巴结受侵的胃癌中常见^[28-33]。P16基因的甲基化与肠型胃癌和贲门部定位相关,SHP1甲基化与EBV感染密切相关,APC和RAR-beta2甲基化提示患者预后相对较好^[34,35]。Hino则认为PTEN基因启动子区的异常甲基化和基因缺失与一种EB病毒(Epstein-Barr virus, EBV)相关的胃癌发生密切相关,实验通过甲基化特异性PCR和免疫组织化学方法证实,而且这种异常在胃癌细胞系MKN-1和MKN-7中可见。进一步研究发现,病毒的潜伏膜蛋白2A(latent membrane protein 2A, LMP2A)引起信号传导及转录活化子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)磷酸化成pSTAT3,后者激活DNA甲基转移酶1(DNA methyltransferase 1, DNMT1)转录,通过PTEN基因启动子区CpG岛甲基化最终使EBV相关胃癌的PTEN基因表达缺失^[36]。目前研究较多的还有PCDH10, MINT25等^[37-45]。而环指蛋白180(RNF180)启动子区的甲基化则使环指蛋白180(RNF180)表达下调或缺失,并与胃癌患者的预后不良有关^[46]。Kim等^[47]检测74名胃癌患者组织原发灶和转移灶的ADAM23、CDH1、FHIT、FLNC、GSTP1、ITGA4、LOX、RUNX3、THBS1、TIMP3和UCHL1的甲基化差异,发现FLNC甲基化可作为胃癌淋巴结转移的独立预后标记。Jee等^[48]通过对143个肿瘤相关基因筛查,发现TFPI2、GPX3、GPX1、IGFBP6、IRF7和DMRT1在胃癌细胞系和152名胃癌患者肿瘤组织中普遍存在,多变量分析TFPI2甲基化为特异和独立的预后不良指标。

2 DNA甲基化与幽门螺杆菌相关胃癌

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染主要发生在儿童期,感染可能会持续存在并伴随一生,直到抗生素干预根除。*H. pylori*感染引起启动子区CpG岛甲基化并定位于胃癌表皮细胞^[49-55]。Shin等^[50]研究成年人和儿童胃黏膜甲基化状态,比较基因的甲基化水平与*H. pylori*阳性

和阴性的关系,发现*H. pylori*感染的儿童,其甲基化基因的平均水平高于*H. pylori*阴性的儿童(3.4 vs 0.3, $P<0.001$),这种差异在成年人中也是如此。其中,基因CDH1、DAPK1、CRABP1、GRIN2B、TIMP3、CALCA和TWIST1在*H. pylori*阳性的儿童中呈显著的高甲基化现象。可以认为发生于儿童胃黏膜的CpG岛甲基化与*H. pylori*感染密切相关,而且出现高甲基化的基因在成年人和儿童中相似。Shin^[56]研究组认为基因组DNA广泛的低甲基化现象是*H. pylori*相关胃癌发生过程的早期事件。Alves^[57]研究认为启动子区甲基化致抑癌基因COX-2、HMLH1和CDKN2A失活与*H. pylori*阳性的胃癌患者的临床病理关系,发现这些基因的甲基化与蛋白表达存在强烈的负相关,胃贲门癌患者p16(INK4A)的负相关最为突出。而在非贲门癌患者,亚型不同基因表达存在差异。肠型胃癌HMLH1基因甲基化致该基因失活最显著,弥漫型胃癌CDKN2A基因甲基化致该基因失活最显著。COX-2和HMLH1甲基化与*H. pylori* s1亚型密切相关(分别为 $P=0.025$ 和 0.047),不伴有被测抑癌基因甲基化的胃癌则与鞭毛亚单位基因(*flaA*)密切相关。

3 DNA甲基化有可能作为早期胃癌诊断的生物标志物

Bernal^[58]通过对32例胃癌患者的原发肿瘤组织,应用甲基化特异性PCR方法分析24个基因的DNA甲基化模式,结果50%以上患者的11个基因有高度甲基化(APC、SHP1、E-cadherin、ER、Reprimo、SEMA3B、3OST2、p14、p15、DAPK和p16)。8个基因(BRCA1、p73、RAR beta、hMLH1、RIZ1、RUNX3、MGMT和TIMP3)与一种特殊类型的胃癌即印戒细胞癌在统计学意义上具有相关性,配对的血浆标本中APC和Reprimo有高频率的甲基化。和胃癌患者血浆标本比较,无症状的对照组只有Reprimo甲基化的频率较低。由此筛选出Reprimo是胃癌早期检测的潜在生物标记物。Cheung在7种胃癌细胞系中检测环指蛋白180(RNF180)的表达,结果RNF180在其中的6种细胞系存在表达沉默,并且在肿瘤组织中表达下调,与癌旁正常组织相比差异显著。相继检测发现RNF180的启动子区在胃癌组织有明显的甲基化达76%(150/198),而在正常组织中没有。胃癌患者血浆中RNF180的启动子区甲基化达56%,而在健康的对照组血浆中未检测到甲基化^[58]。由此推荐RNF180可作为

胃癌筛查的生物标志物。

4 DNA甲基化检测与胃癌

借鉴结直肠癌、乳腺和妇科肿瘤相关基因DNA甲基化检测的研究经验,胃癌相关基因的甲基化检测主要通过胃癌组织学标本、外周血标本,包括外周血血浆、血清^[59-62]。最近Terry等^[63]从细胞水平提出DNA甲基化检测与疾病包括恶性肿瘤,研究涉及到肠癌、胃癌、膀胱癌、乳腺癌和头颈部癌等,以及某些内科疾病诸如精神分裂症和骨髓异常增生症的关系;研究人类外周血白细胞的特定位点的甲基化与环境暴露、风险因素和人口学以及疾病三者之间的关系,认为白细胞特定位点的甲基化与疾病的风险因素存在密切关系。但是能否作为随时监测的生物标记物还需要前瞻性研究的验证^[64]。鉴于DNA甲基化发生于癌变过程的早期,为了评估腹水中细胞的甲基化是否可作为胃癌腹膜微转移的临床早期诊断途径,最近有学者^[65]报道分别收集癌组织未超过固有肌层、超过固有肌层和已经证实腹膜转移的3组胃癌患者的腹腔灌洗液细胞,其中癌组织未超过固有肌层、超过固有肌层的2组无论腹膜细胞学还是组织学均无癌细胞;检测BNIP3、CHFR、CYP1B1、MINT25、SFRP2和RASSF2基因的甲基化在3组中的差异,结果发现3组中6个基因均存在甲基化,而且病理分期越晚,甲基化的程度和频率越高。随访发现,癌组织超过固有肌层的胃癌患者伴有甲基化的发生腹膜转移的几率明显高于那些不伴有甲基化的患者。由此推断腹腔灌洗液甲基化检测联合细胞学检查或许可以提高胃癌腹腔灌洗液中癌细胞的阳性检出率,有助于筛查腹膜转移的患者或作为高危因素指导后续治疗。为了提高筛查的实用性,最近有学者报道从低分化弥漫型胃癌患者的胃液中可以检测到E-cadherin(CDH1)基因启动子区的高甲基化,与对照组有统计学差异,显示出该途径的乐观前景。但由于胃液的收集和DNA提取与操作者的技术水平相关,使得这一项目的深入研究受到限制。Nagasaka^[66]研究团队探索新的非侵入性的筛查手段降低胃肠道肿瘤的致死率,结果从57.1%的胃癌患者粪便排泄物中检测到RASSF2和SFRP2基因启动子区DNA甲基化,且与无相关疾病的病例有统计学差异。尽管该方法具有较强的实用性,但是还没有后续平行对照研究来证实其特异性和敏感性。

■创新盘点

文章中将DNA甲基化在*H. pylori*相关胃癌和DNA甲基化在胃癌早诊中的研究以及检测取材上作详细综述。不同于以往文章主要综述、临床病理关系或研究方法。

■应用要点

指导DNA甲基化在胃癌诊断和治疗上提供新的指导和策略。

5 DNA甲基化和胃癌治疗

表观遗传修饰具有可逆性,因此在肿瘤或癌前病变中可通过去甲基化或乙酰化的方法恢复某些关键性抑癌基因的表达,从而达到预防或治疗肿瘤的目的。阿扎胞苷和5-aza-dC通过共价键与DNA甲基转移酶(DNMT)结合可形成不可逆的复合物,从而抑制其活性使基因组整体甲基化水平降低,进而重新激活由于高甲基化而失活的关键性抑癌基因。目前一种新的DNMT抑制剂zebularine正在研究之中。

胃肠道恶性肿瘤是全世界最常见的恶性肿瘤,且这些肿瘤的诊断与监测手段仍处于较低水平,由此识别新的生物标记物应用于肿瘤的不同阶段无疑是雪中送炭。目前,特定基因的DNA甲基化致使基因失活在胃肠道肿瘤已被公认。新领域生物学的DNA甲基化检测有可能更好的方法筛选、早期诊断、疾病进展和治疗反应的预测胃肠肿瘤的治疗^[67-69]。

6 结论

DNA甲基化是一种重要的基因表观遗传的改变,调控细胞的许多进程。快速发展的癌症的表观遗传学领域揭示了涉及癌症表观遗传的每一个组件的广泛重组现象,DNA甲基化在肿瘤的发生、发展均起重要作用。随着对其研究的深入,人们在对胃癌的发生机制有更深入了解的同时,DNA甲基化在胃癌的诊断、治疗以及判断预后方面都给人们提供了新的方法和途径。

7 参考文献

- 1 凡时财,张学工. DNA甲基化的生物信息学研究进展. 生物化学与生物物理进展 2009; 36: 143-150
- 2 郑丹,刘彬彬,刘银坤. 肿瘤表观遗传学研究进展. 世界华人消化杂志 2007; 15: 2631-2637
- 3 余宗涛,高琼,吕军. 肺癌患者PTEN基因启动子高甲基化的检测. 基础医学与临床 2008; 28: 855-858
- 4 Feil R. Environmental and nutritional effects on the epigenetic regulation of genes. *Mutat Res* 2006; 600: 46-57
- 5 Eden A, Gaudet F, Waghmare A, Jaenisch R. Chromosomal instability and tumors promoted by DNA hypomethylation. *Science* 2003; 300: 455
- 6 程翌,郑国荣. DNA甲基化在胃癌发生中的作用. 实用预防医学 2011; 18: 1164-1166
- 7 Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100: 57-70
- 8 Ushijima T, Sasako M. Focus on gastric cancer. *Cancer Cell* 2004; 5: 121-125
- 9 Ponder BA. Cancer genetics. *Nature* 2001; 411: 336-341
- 10 Fleisher AS, Esteller M, Wang S, Tamura G, Suzuki H, Yin J, Zou TT, Abraham JM, Kong D, Smolinski KN, Shi YQ, Rhyu MG, Powell SM, James SP, Wilson KT, Herman JG, Meltzer SJ. Hypermethylation

of the hMLH1 gene promoter in human gastric cancers with microsatellite instability. *Cancer Res* 1999; 59: 1090-1095

- 11 Guo RJ, Arai H, Kitayama Y, Igarashi H, Hemmi H, Arai T, Hanai H, Sugimura H. Microsatellite instability of papillary subtype of human gastric adenocarcinoma and hMLH1 promoter hypermethylation in the surrounding mucosa. *Pathol Int* 2001; 51: 240-247
- 12 Fleisher AS, Esteller M, Tamura G, Rashid A, Stine OC, Yin J, Zou TT, Abraham JM, Kong D, Nishizuka S, James SP, Wilson KT, Herman JG, Meltzer SJ. Hypermethylation of the hMLH1 gene promoter is associated with microsatellite instability in early human gastric neoplasia. *Oncogene* 2001; 20: 329-335
- 13 Kondo E, Furukawa T, Yoshinaga K, Kijima H, Semba S, Yatsuoka T, Yokoyama T, Fukushima S, Horii A. Not hMSH2 but hMLH1 is frequently silenced by hypermethylation in endometrial cancer but rarely silenced in pancreatic cancer with microsatellite instability. *Int J Oncol* 2000; 17: 535-541
- 14 Arai T, Kasahara I, Sawabe M, Honma N, Aida J, Tabubo K. Role of methylation of the hMLH1 gene promoter in the development of gastric and colorectal carcinoma in the elderly. *Geriatr Gerontol Int* 2010; 10 Suppl 1: S207-S212
- 15 Tamura G. Alterations of tumor suppressor and tumor-related genes in the development and progression of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 192-198
- 16 An C, Choi IS, Yao JC, Worah S, Xie K, Mansfield PF, Ajani JA, Rashid A, Hamilton SR, Wu TT. Prognostic significance of CpG island methylator phenotype and microsatellite instability in gastric carcinoma. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 656-663
- 17 Wu M, Semba S, Oue N, Ikehara N, Yasui W, Yokozaki H. BRAF/K-ras mutation, microsatellite instability, and promoter hypermethylation of hMLH1/MGMT in human gastric carcinomas. *Gastric Cancer* 2004; 7: 246-253
- 18 Hudler P, Vouk K, Liovic M, Repse S, Juvan R, Komel R. Mutations in the hMLH1 gene in Slovenian patients with gastric carcinoma. *Clin Genet* 2004; 65: 405-411
- 19 Sakata K, Tamura G, Endoh Y, Ohmura K, Ogata S, Motoyama T. Hypermethylation of the hMLH1 gene promoter in solitary and multiple gastric cancers with microsatellite instability. *Br J Cancer* 2002; 86: 564-567
- 20 毛庆东,刘希双,杨堃. 错配修复基因hMSH2启动子甲基化与胃癌的关系. 世界华人消化杂志 2010; 18: 83-86
- 21 Yamamoto M, Taguchi K, Baba H, Endo K, Kohnoe S, Okamura T, Maehara Y. Loss of protein expression of hMLH1 and hMSH2 with double primary carcinomas of the stomach and colorectum. *Oncol Rep* 2006; 16: 41-47
- 22 Aya M, Yashiro M, Nishioka N, Onoda N, Hirakawa K. Carcinogenesis in the remnant stomach following distal gastrectomy with billroth II reconstruction is associated with high-level microsatellite instability. *Anticancer Res* 2006; 26: 1403-1411
- 23 Song WQ, Han CL, Chen Y, Zhang YH, Wei JY, Liu Y. [Expression of cyclooxygenase-2, hMLH1 and hMSH2 proteins, and their relationship with microsatellite instability in gastric carcinoma]. *Zhonghua Zhongliu Xue* 2005; 27: 660-662
- 24 Plevová P, Sedláková E, Zapletalová J, Krepelová

- A, Skýpalová P, Kolár Z. Expression of the hMLH1 and hMSH2 proteins in normal tissues: relationship to cancer predisposition in hereditary non-polyposis colon cancer. *Virchows Arch* 2005; 446: 112-119
- 25 Gu M, Kim D, Bae Y, Choi J, Kim S, Song S. Analysis of microsatellite instability, protein expression and methylation status of hMLH1 and hMSH2 genes in gastric carcinomas. *Hepatogastroenterology* 2009; 56: 899-904
- 26 Zhang CH, He YL, Wang FJ, Song W, Yuan XY, Yang DJ, Chen CQ, Cai SR, Zhan WH. Detection of hMSH2 and hMLH1 mutations in Chinese hereditary non-polyposis colorectal cancer kindreds. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 298-302
- 27 Wang LJ, Jin HC, Wang X, Lam EK, Zhang JB, Liu X, Chan FK, Si JM, Sung JJ. ZIC1 is downregulated through promoter hypermethylation in gastric cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 379: 959-963
- 28 Goto T, Mizukami H, Shirahata A, Yokomizo K, Kitamura YH, Sakuraba K, Saito M, Ishibashi K, Kigawa G, Nemoto H, Sanada Y, Hibi K. Methylation of the p16 gene is frequently detected in lymphatic-invasive gastric cancer. *Anticancer Res* 2010; 30: 2701-2703
- 29 Meng CF, Zhu XJ, Peng G, Dai DQ. Promoter histone H3 lysine 9 di-methylation is associated with DNA methylation and aberrant expression of p16 in gastric cancer cells. *Oncol Rep* 2009; 22: 1221-1227
- 30 Zou XP, Zhang B, Zhang XQ, Chen M, Cao J, Liu WJ. Promoter hypermethylation of multiple genes in early gastric adenocarcinoma and precancerous lesions. *Hum Pathol* 2009; 40: 1534-1542
- 31 Shen WJ, Dai DQ, Teng Y, Liu J. [Effects of sodium butyrate on proliferation of human gastric cancer cells and expression of p16 gene]. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2008; 88: 1192-1196
- 32 Roa S JC, García M P, Melo A A, Tapia E O, Villaseca H M, Araya O JC, Guzmán G P. [Gene methylation patterns in digestive tumors]. *Rev Med Chil* 2008; 136: 451-458
- 33 Dong CX, Deng da J, Zhou J, Zhang L, Ma JL, Pan KF, You WC. [The correlative analysis of indefinite dysplasia and dysplasia, and its p16 methylation in human gastric mucosa with Helicobacter pylori infection]. *Beijing Daxue Xuebao* 2008; 40: 280-284
- 34 Ksiai F, Ziadi S, Amara K, Korbi S, Trimeche M. Biological significance of promoter hypermethylation of tumor-related genes in patients with gastric carcinoma. *Clin Chim Acta* 2009; 404: 128-133
- 35 Geddert H, zur Hausen A, Gabbert HE, Sarbia M. EBV-infection in cardiac and non-cardiac gastric adenocarcinomas is associated with promoter methylation of p16, p14 and APC, but not hMLH1. *Cell Oncol (Dordr)* 2011; 34: 209-214
- 36 Hino R, Uozaki H, Murakami N, Ushiku T, Shinozaki A, Ishikawa S, Morikawa T, Nakaya T, Sakatani T, Takada K, Fukayama M. Activation of DNA methyltransferase 1 by EBV latent membrane protein 2A leads to promoter hypermethylation of PTEN gene in gastric carcinoma. *Cancer Res* 2009; 69: 2766-2774
- 37 Yu J, Cheng YY, Tao Q, Cheung KF, Lam CN, Geng H, Tian LW, Wong YP, Tong JH, Ying JM, Jin H, To KF, Chan FK, Sung JJ. Methylation of protocadherin 10, a novel tumor suppressor, is associated with poor prognosis in patients with gastric cancer. *Gastroenterology* 2009; 136: 640-651.e1
- 38 Choe WH, Lee SY, Lee JH, Shim SG, Kim YH, Rhee PL, Rhee JC, Ki CS, Kim JW, Song SY, Kim JJ. High frequency of microsatellite instability in intestinal-type gastric cancer in Korean patients. *Korean J Intern Med* 2005; 20: 116-122
- 39 Betge J, Pollheimer MJ, Schlemmer A, Hoefler G, Langner C. Gastric cancer and concomitant renal cancer: a systematic immunohistochemical and molecular analysis. *Oncol Rep* 2011; 26: 567-575
- 40 Wang JF, Dai DQ. Metastatic suppressor genes inactivated by aberrant methylation in gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 5692-5698
- 41 Nan HM, Song YJ, Yun HY, Park JS, Kim H. Effects of dietary intake and genetic factors on hypermethylation of the hMLH1 gene promoter in gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 3834-3841
- 42 Satoh A, Toyota M, Ikeda H, Morimoto Y, Akino K, Mita H, Suzuki H, Sasaki Y, Kanaseki T, Takamura Y, Soejima H, Urano T, Yanagihara K, Endo T, Hinoda Y, Fujita M, Hosokawa M, Sato N, Tokino T, Imai K. Epigenetic inactivation of class II transactivator (CIITA) is associated with the absence of interferon-gamma-induced HLA-DR expression in colorectal and gastric cancer cells. *Oncogene* 2004; 23: 8876-8886
- 43 Kaneda A, Wakazono K, Tsukamoto T, Watanabe N, Yagi Y, Tatematsu M, Kaminishi M, Sugimura T, Ushijima T. Lysyl oxidase is a tumor suppressor gene inactivated by methylation and loss of heterozygosity in human gastric cancers. *Cancer Res* 2004; 64: 6410-6415
- 44 Concolino P, Papa V, Mozzetti S, Ferlini C, Pacelli F, Martinelli E, Ricci R, Filippetti F, Scambia G, Doglietto GB. The unsolved enigma of CDH1 down-regulation in hereditary diffuse gastric cancer. *J Surg Res* 2004; 121: 50-55
- 45 Galamb O, Sipos F, Molnár B, Tulassay Z. [Necessity of chip technology in stomach cancer]. *Orv Hetil* 2004; 145: 939-947
- 46 Characterization of the gene structure, functional significance, and clinical application of RNF180, a novel gene in gastric cancer. *Cancer* 2011; Jun 29. [Epub ahead of print]
- 47 Kim JH, Jung EJ, Lee HS, Kim MA, Kim WH. Comparative analysis of DNA methylation between primary and metastatic gastric carcinoma. *Oncol Rep* 2009; 21: 1251-1259
- 48 Jee CD, Kim MA, Jung EJ, Kim J, Kim WH. Identification of genes epigenetically silenced by CpG methylation in human gastric carcinoma. *Eur J Cancer* 2009; 45: 1282-1293
- 49 Compare D, Rocco A, Liguori E, D'Armiento FP, Persico G, Masone S, Coppola-Bottazzi E, Suriani R, Romano M, Nardone G. Global DNA hypomethylation is an early event in Helicobacter pylori-related gastric carcinogenesis. *J Clin Pathol* 2011; 64: 677-682
- 50 Shin CM, Kim N, Jung Y, Park JH, Kang GH, Park WY, Kim JS, Jung HC, Song IS. Genome-wide DNA methylation profiles in noncancerous gastric mucosae with regard to Helicobacter pylori infection and the presence of gastric cancer. *Helicobacter* 2011; 16: 179-188
- 51 Yamamoto E, Suzuki H, Takamaru H, Yamamoto H, Toyota M, Shinomura Y. Role of DNA methylation in the development of diffuse-type gastric cancer. *Digestion* 2011; 83: 241-249
- 52 Peterson AJ, Menheniott TR, O'Connor L, Walduck AK, Fox JG, Kawakami K, Minamoto T, Ong EK, Wang TC, Judd LM, Giraud AS. Helicobacter pylori

同行评价

本综述选题新, 有一定深度与广度, 信息量大, 引用文献新, 写作规范。

- infection promotes methylation and silencing of trefoil factor 2, leading to gastric tumor development in mice and humans. *Gastroenterology* 2010; 139: 2005-2017
- 53 Touati E. When bacteria become mutagenic and carcinogenic: lessons from *H. pylori*. *Mutat Res* 2010; 703: 66-70
- 54 Shin CM, Kim N, Jung Y, Park JH, Kang GH, Kim JS, Jung HC, Song IS. Role of *Helicobacter pylori* infection in aberrant DNA methylation along multistep gastric carcinogenesis. *Cancer Sci* 2010; 101: 1337-1346
- 55 Katayama Y, Takahashi M, Kuwayama H. *Helicobacter pylori* causes runx3 gene methylation and its loss of expression in gastric epithelial cells, which is mediated by nitric oxide produced by macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 388: 496-500
- 56 Shin SH, Park SY, Ko JS, Kim N, Kang GH. Aberrant CpG island hypermethylation in pediatric gastric mucosa in association with *Helicobacter pylori* infection. *Arch Pathol Lab Med* 2011; 135: 759-765
- 57 Alves MK, Ferrasi AC, Lima VP, Ferreira MV, de Moura Campos Pardini MI, Rabenhorst SH. Inactivation of COX-2, HMLH1 and CDKN2A gene by promoter methylation in gastric cancer: relationship with histological subtype, tumor location and *Helicobacter pylori* genotype. *Pathobiology* 2011; 78: 266-276
- 58 Bernal C, Aguayo F, Villarroel C, Vargas M, Díaz I, Ossandon FJ, Santibáñez E, Palma M, Aravena E, Barrientos C, Corvalan AH. Reprimo as a potential biomarker for early detection in gastric cancer. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 6264-6269
- 59 齐冲, 李建芳, 翟颖, 燕敏, 顾琴龙, 朱正纲, 刘炳亚. 胃癌血清肿瘤相关基因超甲基化检测及其意义. *中国肿瘤临床* 2007; 33: 1275-1279
- 60 Ng EK, Leung CP, Shin VY, Wong CL, Ma ES, Jin HC, Chu KM, Kwong A. Quantitative analysis and diagnostic significance of methylated SLC19A3 DNA in the plasma of breast and gastric cancer patients. *PLoS One* 2011; 6: e22233
- 61 Fang JY, Xiao SD, Zhu SS, Yuan JM, Qiu DK, Jiang SJ. Relationship of plasma folic acid and status of DNA methylation in human gastric cancer. *J Gastroenterol* 1997; 32: 171-175
- 62 Machado JC, Oliveira C, Carvalho R, Soares P, Bex G, Caldas C, Seruca R, Carneiro F, Sobrinho-Simões M. E-cadherin gene (CDH1) promoter methylation as the second hit in sporadic diffuse gastric carcinoma. *Oncogene* 2001; 20: 1525-1528
- 63 Terry MB, Delgado-Cruzata L, Vin-Raviv N, Wu HC, Santella RM. DNA methylation in white blood cells: association with risk factors in epidemiologic studies. *Epigenetics* 2011; 6: 828-837
- 64 Hou L, Wang H, Sartori S, Gawron A, Lissowska J, Bollati V, Tarantini L, Zhang FF, Zatonski W, Chow WH, Baccarelli A. Blood leukocyte DNA hypomethylation and gastric cancer risk in a high-risk Polish population. *Int J Cancer* 2010; 127: 1866-1874
- 65 Hiraki M, Kitajima Y, Koga Y, Tanaka T, Nakamura J, Hashiguchi K, Noshiro H, Miyazaki K. Aberrant gene methylation is a biomarker for the detection of cancer cells in peritoneal wash samples from advanced gastric cancer patients. *Ann Surg Oncol* 2011; 18: 3013-3019
- 66 Nagasaka T, Tanaka N, Cullings HM, Sun DS, Sasamoto H, Uchida T, Koi M, Nishida N, Naomoto Y, Boland CR, Matsubara N, Goel A. Analysis of fecal DNA methylation to detect gastrointestinal neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101: 1244-1258
- 67 Corvalan AH, Maturana MJ. Recent patents of DNA methylation biomarkers in gastrointestinal oncology. *Recent Pat DNA Gene Seq* 2010; 4: 202-209
- 68 Hur K, Song SH, Lee HS, Ho Kim W, Bang YJ, Yang HK. Aberrant methylation of the specific CpG island portion regulates cyclooxygenase-2 gene expression in human gastric carcinomas. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 310: 844-851
- 69 Nishikawa J, Kiss C, Imai S, Takada K, Okita K, Klein G, Szekely L. Upregulation of the truncated basic hair keratin 1(hHb1-DeltaN) in carcinoma cells by Epstein-Barr virus (EBV). *Int J Cancer* 2003; 107: 597-602

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

P38 MAPK信号通路主要功能、常见研究方法及对肝纤维化的作用

叶平, 杨波, 吴晓玲, 蒋明德

叶平, 杨波, 吴晓玲, 蒋明德, 中国人民解放军成都军区总医院消化科 四川省成都市 610083

作者贡献分布: 本文综述由叶平、杨波及吴晓玲完成; 蒋明德负责审核。

通讯作者: 蒋明德, 教授, 主任医师, 610083, 四川省成都市, 中国人民解放军成都军区总医院消化内科。

jiangmd88@yahoo.com.cn

电话: 028-86570346

收稿日期: 2011-09-19 修回日期: 2011-10-20

接受日期: 2011-11-09 在线出版日期: 2011-11-18

P38 MAPK signaling pathway: biological functions, roles in the pathogenesis of liver fibrosis and common research methods

Ping Ye, Bo Yang, Xiao-Ling Wu, Ming-De Jiang

Ping Ye, Bo Yang, Xiao-Ling Wu, Ming-De Jiang, Department of Gastroenterology, General Hospital of Chengdu Military Command of Chinese PLA, Chengdu 610083, Sichuan Province, China

Correspondence to: Ming-De Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Chengdu Military Command of Chinese PLA, Chengdu 610083, Sichuan Province, China. jiangmd88@yahoo.com.cn

Received: 2011-09-19 Revised: 2011-10-20

Accepted: 2011-11-09 Published online: 2011-11-18

Abstract

The activation and proliferation of hepatic stellate cells (HSC) are the key events in hepatic fibrogenesis. Now the research about the mechanisms of action of HSC-related signal transduction has become a hot topic. This article reviews the biological functions of the p38 MAPK signaling pathway and its roles in the pathogenesis of liver fibrosis and summarizes common research methods for this signaling pathway.

Key Words: P38 MAPK; Function; Research method; Liver fibrosis; Mechanism

Ye P, Yang B, Wu XL, Jiang MD. P38 MAPK signaling pathway: biological functions, role in the pathogenesis of liver fibrosis and common research methods. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(32): 3353-3358

摘要

肝纤维化是多种慢性肝病发展演变为肝硬化的必经阶段, 肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSC)的活化与增殖是肝纤维化发生的关键环节, 目前与HSC有关的信号转导机制是普遍的研究焦点。干预HSC的研究主要有: 干扰细胞信号转导通路, 抑制炎症反应, 对抗氧化应激, 调节相关细胞因子活性等。本文综述了P38 MAPK信号通路的主要功能、常见研究方法及对肝纤维化的作用机制, 以期实验研究提供思路。

关键词: P38 MAPK; 功能; 研究方法; 肝纤维化; 作用机制

叶平, 杨波, 吴晓玲, 蒋明德. P38 MAPK信号通路主要功能、常见研究方法及对肝纤维化的作用. *世界华人消化杂志* 2011; 19(32): 3353-3358

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3353.asp>

0 引言

肝纤维化是多种慢性肝病发展演变为肝硬化的必经阶段, 而肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)的活化与增殖是肝纤维化发生的关键环节。目前干预HSC的研究主要有: 干扰细胞信号转导通路, 抑制炎症反应, 对抗氧化应激, 调节相关细胞因子活性等。近年来, 与HSC有关的信号转导机制是普遍的研究焦点, 研究较多的信号通路有Smads通路、NF- κ B通路和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)通路等。这些通路作用机制非常复杂, 存在同一种细胞因子可以激活多条信号通路以及同一条传导通路也可以被多种细胞因子激活的现象。MAPK通路是一个细胞内信号转导通路, 包括ERK通路、JNK通路和P38 MAPK信号通路, 主要通过影响动物细胞内基因的转录和调控, 进而影响细胞的增殖、凋亡、分化、转化等生物学反应^[1]。本文从P38 MAPK信号通路的主要功能, 目前常见研究方法及对肝纤维化的作用机制综述如下。

■背景资料

肝星状细胞(HSC)的活化与增殖是肝纤维化发生的关键环节, 目前与HSC有关的信号转导机制是普遍的研究焦点, 其中P38 MAPK信号通路对肝纤维化的影响作用机制报道不一。

■同行评议者

刘绍能, 主任医师, 中国中医科学院广安门医院消化科

■研发前沿

目前对于HSC中的P38 MAPK信号通路的研究中,多数只使用了单一的干预方法,而实际存在同一种细胞因子可以激活多条信号通路以及同一条传导通路也可以被多种细胞因子激活的现象,其中的干扰或协同效应了解不多,具体作用机制也了解不多,尚需进一步研究。

1 P38 MAPK信号通路的主要功能

P38 MAPK最早在1993年由Brewster等发现,他们在研究高渗环境对真菌产生的影响时发现了一种新的分子量为38 kDa的蛋白质,由360个氨基酸残基组成,与已发现的JNK同属SAPK^[2]。之后的研究发现P38 MAPK共包括了6种亚型:α1、α2、β1、β2、γ和δ,各亚型间的氨基酸序列有60%是相同的,但各自有不同的表型和底物特异性。其中P38α、P38β普遍分布,而P38γ主要在骨骼肌表达, P38δ主要在腺体组织表达^[3]。P38 MAPK可以被细胞外炎症因子、紫外线、细胞毒物质等多种应激刺激激活^[4],活化后的P38 MAPK通过调控下游多种酶及转录因子的基因表达活性,从而对细胞的功能进行调节。

1.1 促进细胞凋亡 细胞凋亡就是细胞的程序性死亡。P38 MAPK主要通过以下4种途径调控细胞凋亡:一是增强c-myc的表达。Hela细胞在转染质粒后, c-myc基因翻译水平被位于途径下游的P38 MAPK提高,并表现出抑癌基因功能,从而诱导细胞凋亡^[5];二是参与Fas/FasI介导的细胞凋亡。在诱导体内或培养的胰腺癌细胞凋亡的实验中发现, Fas/FasI有表达,同时P38 MAPK的活性也被检测到增强,证实了Fas介导的凋亡信号转导中有P38 MAPK通路的参与^[6];三是可以诱导Bax的转位。有研究表明:一氧化氮可以通过刺激bax流入线粒体,从而导致神经元细胞死亡,在此过程中活化的P38 MAPK也起到了关键作用^[7]。四是可以磷酸化P53。Gibala等^[8]发现: P38 MAPK发生活化可以使P53的第33和46位丝氨酸发生磷酸化,诱导细胞凋亡。

1.2 参与炎症反应 有研究显示P38 MAPK可以被炎症刺激激活,而激活后的P38 MAPK则调节TNF、IL-1、IL-6等致炎因子和IL-12等抗炎因子的生成,从而影响生物体内致炎与抗炎因素的平衡,决定炎症的进程^[9,10]。Tamura等^[11]的研究表明, P38是介导中性粒细胞及内皮细胞炎性信号的必要因素, SB203580作为P38的特异性抑制剂,可以抑制TNF-α和LPS刺激的ICAM-1的上调。Nick等^[12]的研究表明: P38 MAPK抑制剂阻断P38 MAPK信号通路后,能够显著抑制中性粒细胞趋化性和超氧化物产生,从而减轻炎症反应。

1.3 参与缺血再灌注损伤 缺血再灌注损伤一直备受医学界关注,是目前研究的热点课题之一。有研究表明:细胞因子的生成与P38 MAPK信号通路有着密切的关系,而且细胞因子可以通过

多种途径参与组织的缺血再灌注损伤过程^[13]。李荣山等^[14]的研究表明:肾缺血再灌注损伤可以诱导P38 MAPK通路的激活,而SB203580作为P38 MAPK的特异性抑制剂可以明显抑制其激活,从而使得肾小管上皮细胞的凋亡减少。P38 MAPK特异性抑制制剂还可减轻心脏和大脑的缺血再灌注损伤,减轻胰腺炎诱发的ARDS肺损伤^[15]。Takeyoshi等^[16,17]在多项动物实验研究中发现:将P38 MAPK特异性阻滞剂(FR167653)加入冷保存液(UW液或Celsior液)中,能减轻心、肺、肝移植中的缺血再灌注损伤。王雨等^[18,19]的研究表明:缺血再灌注期间, P38信号转导途径激活后,可能在转录水平对TNF-α和ICAM-1的生成发挥调节作用,从而导致离体肝脏缺血再灌注损伤。

1.4 促使细胞表型转分化 细胞表型转分化:细胞在特定的生理或者病理情况下发生的分化或去分化,主要表现为细胞形态、结构及细胞功能的改变。细胞形态结构改变主要表现为细胞骨架及胚胎期蛋白的表达变化及重组;细胞功能改变主要表现为细胞收缩迁移、增殖异常、转运功能异常等。近年来的研究发现: P38 MAPK在肾小球系膜细胞转分化过程中起一定作用, P38 MAPK特异性阻断剂SB203580有抑制肾近曲小管上皮细胞转分化的作用^[20,21]。

1.5 参与恶性肿瘤发生 有研究表明^[22-24]:与正常非肿瘤组织相比较, P38 MAPK在结肠癌、食管癌、乳腺癌等许多人类肿瘤组织中呈持续的激活表达。也有研究表明^[25]:在肿瘤细胞中, P38 MAPK活性升高,并参与调控凋亡。还有研究发现^[26]:肝癌中大病灶组(>20 mm)的P38 MAPK的活性相对于小病灶组要低,可以看出降低P38 MAPK的活性则可以阻碍细胞凋亡,导致肝癌细胞的无限生长。首先, P38 MAPK信号通路参与肿瘤细胞生长、增殖和运动。Kim等^[27]发现:在H-Ras诱导的细胞侵袭和转移中,抑制P38 MAPK活性可以降低细胞的运动能力。Wang等^[28]发现:乙肝病毒X蛋白可通过P38 MAPK途径使p53基因发生灭活,促使原发性肝癌的发生。其次, P38 MAPK信号通路参与肿瘤细胞外基质的降解,细胞外基质和基膜的降解是恶性肿瘤侵袭和转移的关键环节,而基质金属蛋白酶(MMPs)是一类与肿瘤侵袭转移密切相关的蛋白水解酶,有研究表明P38 MAPK信号通路在可以调控多种细胞外刺激诱导的MMP中表达^[29]。再次, P38 MAPK信号通路参与肿瘤血管生成。

VEGF-C作为毛细淋巴管特异性生长因子,可促进毛细淋巴管内皮细胞的分裂增殖、毛细淋巴管的扩张和数量增加,在恶性肿瘤中,VEGF-C表达升高,并且与肿瘤转移相关。毛华等^[30]的研究发现:VEGF主要是通过P38 MAPK信号传导通路从而促使肝癌细胞转移。还有研究表明^[31]:SB202190特异性抑制P38 MAPK信号通路可以几乎完全阻断Ang II诱导的血管外膜成纤维细胞的迁移。

2 P38 MAPK信号通路功能的常用研究方法

2.1 阻断剂法 阻断剂法通常是指在实验研究中,使用信号通路相应的阻断剂(inhibitor)阻断信号通路,然后再分别检测各实验组相关生物学性状,从而研究对应信号通路生物学作用的方法。P38 MAPK信号通路的特异性阻断剂属于吡咯咪唑类复合物,种类繁多,常用的主要有SB202190、SB203580、SB220025等^[32]。阻断机制不是作用于其上激酶或下游作用底物,而是通过与磷酸化P38 α 、P38 β 上具有ATP酶活性的ATP盒竞争性结合,使P38 MAPK失去结合ATP的能力,丧失激酶活性,从而阻断P38 MAPK信号通路^[33]。虽然不断有新的P38抑制剂被研发报道^[34-37],抑制剂的选择性和生物活性也得到了不断的改进^[38,39],并且在非临床试验中获得了长足进步,半数抑制浓度已经达到了纳摩尔水平,在体外培养细胞中能够有效地抑制LPS诱导的TNF- α 、IL-6等炎症因子的产生;在动物模型的风湿性关节炎、系统性炎症以及慢性炎症性肠炎疾病的干预中也有很好的效果,但是至今还没有研发出可以用于临床治疗的P38抑制剂^[40]。

2.2 蛋白质印迹分析法 在P38 MAPK信号通路的研究过程中,多数步骤都会出现蛋白质的变化,主要是蛋白质的磷酸化和去磷酸化,作为细胞信号转导过程中正、负调控的主要形式。因此可以通过研究蛋白的磷酸化与去磷酸化来检测信号通路的变化。P38 MAPK信号通路是细胞内具有高度保守性的信号通路之一,主要通过三级激酶级联的形式转导信号。通过磷酸化MAPKKK \rightarrow MAPKK \rightarrow MAPK \rightarrow P38 MAPK,活化的P38 MAPK参与调节细胞的多种生物学反应^[41]。信号通路的变化及作用可以通过Western Blot法检测这些变化的蛋白质来推断。

2.3 聚合酶链反应 Shravanti^[42]等用逆转录PCR(RT-PCR)方法检测在不同时间点,P38 MAPK表达mRNA的情况,研究结果提示:P38

MAPK的mRNA表达在特定的时间点有明显的升高,通过结合该时间的细胞性状变化,从而推断出所研究的细胞分化过程中P38 MAPK信号通路的作用^[42]。Rampalli等^[43]应用Real-time PCR法发现P38 MAPK通路激活后环氧化酶-2的表达量提高7-10倍,证实激活P38 MAPK能够促进环氧化酶-2在主动脉成纤维细胞中的表达。

2.4 其他研究方法 RNA干扰技术:RNA干扰是一种特异性的基因沉默现象,由dsRNA介导的并由特定酶参与,可以在转录水平、转录后水平、翻译水平上阻断基因表达。主要有2种效应,一是非特异效应,在>30 nt的长双链RNA上表现;二是特异效应,在21-23 nt的短双链RNA上表现^[44]。Khwaja等^[45]利用siRNA阻断P38 MAPK蛋白表达,进而阻断整个P38 MAPK信号通路,从而观察卡洛芬是否通过P38 MAPK信号通路产生作用。基因芯片(Gene chip)技术:在P38 MAPK信号通路的研究中,提取预期干预手段处理后的细胞RNA,用基因芯片检测与P38 MAPK信号通路相关基因的变化,从而得到这种干预手段影响的数据^[46]。

荧光共振能量转移技术(FRET):近年来荧光共振能量转移技术应用较普遍,其主要原理是将荧光蛋白作为供体分子和受体分子,激发荧光到后以偶极子-偶极子作用方式,将能量转移到另外的一个受体,引起另一个荧光团激发,可以用来检测P38 MAPK信号通路信号转导过程中蛋白质间的相互作用^[47]。Ma等^[48]使用FRET方法证实了P38 MAPK与Wnt非经典信号通路调控有密切的关系。

3 P38 MAPK信号通路与肝纤维化

在各种因素的影响下,肝细胞、内皮细胞和HSC可以产生多种细胞因子,并通过调节信号通路影响HSC的功能;P38 MAPK信号通路主要通过调节转化生长因子、瘦素、血小板源性生长因子等因素实现对HSC的作用。

3.1 P38 MAPK信号通路调节转化生长因子对HSC的作用 有研究表明:转化生长因子TGF β 是肝内起主要作用的纤维生成因子,也是刺激肝星状细胞分泌细胞外基质作用最强的细胞因子之一,由Kupffer细胞、胆管上皮细胞、肝细胞和HSC等分泌^[49]。Tsukada等^[50]的研究发现:在TGF β 介导的HSC效应中P38 MAPK发挥了重要作用,而阻断P38 MAPK则可以降低TGF β 诱导活化的以及培养活化的HSC α 1(I)胶原基因的

■相关报道

P38 MAPK信号通路与肝星状细胞的活化与增殖关系密切,也可见关于其功能、研究方法和作用机制的报道,阅读相关文献可以更全面了解P38 MAPK与肝纤维化的关系。

■创新盘点

本综述系统地阐述了P38 MAPK信号通路主要功能、常见研究方法及对肝纤维化的作用机制。

表达。Varela-Rey等^[51]的研究表明P38 MAPK信号通路特异性的阻断剂SB203580可抑制TGF β 诱导的胶原mRNA产生。Cao等^[52]的研究表明:双亚麻油酸磷脂胆碱通过抑制H2O2依赖的P38 MAPK活化,从而阻止了TGF- β 磷酸化诱导的胶原mRNA增加。Schnabl^[53]的研究发现: TGF- β 可由P38 MAPK途径直接激活Smad3,并使其磷酸化,最终导致ECM的沉积。这些研究都证实P38 MAPK信号通路在TGF β 对HSC的调节中发挥了非常重要的作用。

3.2 P38 MAPK信号通路调节瘦素对HSC的作用 有研究表明肝纤维化发生发展过程中瘦素发挥了重要作用^[54,55]。Cao等^[56]发现:瘦素诱导人肝星状细胞系LX-2表达TIMP1的分子机制时,可以磷酸化P38 MAPK蛋白,且呈剂量效应关系和时间效应关系。也有研究表明: H₂O₂介导的ERK与P38 MAPK通路被双亚麻油酸磷脂胆碱和腺苷甲硫氨酸抑制后,瘦素或menadione诱导的LX-2细胞 α 1(I)胶原基因表达可以被完全抑制,TIMP1基因的表达也下调^[57]。

3.3 P38 MAPK信号通路调节血小板源性生长因子对HSC的作用 血小板源性生长因子(PDGF)是体内主要的促纤维化因子之一,并且具有强大的促细胞分裂作用^[58,59]。PDGF是目前已知多肽生长因子中对HSC作用最强的有丝分裂原^[60]。Adachi等^[61]发现:在PDGF诱导HSC增殖过程中,HSC细胞NAD(P)H氧化酶的表达可以被PDGF-BB诱导并生成活性氧,进而通过P38 MAPK信号通路产生促进HSC增殖作用,而用P38 MAPK抑制剂SB203580阻断P38 MAPK信号通路能明显抑制增殖,促进凋亡。也有研究报道^[62]:PDGF-D对体外培养的干星状细胞和肝成纤维细胞有促有丝分裂和促纤维生成作用,而且检测到了包括P38 MAPK信号蛋白的活化。

3.4 P38 MAPK信号通路调节白介素对HSC的作用 白介素(interleukin, IL)与HSC活化、增殖的相关性是近年研究的热点,不少研究表明IL-1在促进HSC活化、增殖等过程中发挥重要作用。Zhang等^[63]的研究表明:IL-1通过对金属蛋白酶组织抑制因子-1 mRNA(TIMP-1 mRNA)表达的正向调节从而对HF的形成起直接作用,而P38在HSC的TIMP-1 RNA表达中起了重要的作用。姚希贤等^[64]发现:阻断P38 MAPK通路可以明显抑制IL-1 β 促大鼠HSC I型胶原合成的作用。李涛等^[65]发现:IL-10可以通过抑制HSC激活过程中

下游信号蛋白ERK和P38的表达,从而对HSC的激活过程产生影响。

3.5 P38 MAPK通路调节其他因素对HSC的作用 Marra等^[66]在研究人肝形状细胞内CCL2表达的信号机制时发现,SB203580特异性抑制P38 MAPK通路后,IL-1或TNF α 诱导的CCL2的基因与蛋白表达被阻断。Wu等^[67]的研究表明:一种新型齐墩果酸衍生物CPU-II2可通过干预P38 MAPK通路,从而调节HSC的功能达到减弱肝纤维化发展的目的。Lep是一种16U的蛋白质,活化的HSC表达Lep比静止期明显增加,在肝纤维化形成过程中发挥重要作用^[68]。

4 结论

目前,关于P38 MAPK信号转导通路的基础研究进展迅速,对于该机制应用在疾病预防和治疗中的研究,也逐步地开展起来,但对其具体作用机制的认识还有待于进一步深入。相信通过P38 MAPK在调节肝星状细胞功能中作用机制的研究将有助于阐明肝纤维化的发病机制,并对最终找到肝纤维化的防治方法具有积极的意义。

5 参考文献

- 1 邱建武,郭薇,申丽娟. P38 MAPK在肝细胞癌中的研究进展. 世界华人消化杂志 2008; 16: 503-509
- 2 Brewster JL, de Valoir T, Dwyer ND, Winter E, Gustin MC. An osmosensing signal transduction pathway in yeast. *Science* 1993; 259: 1760-1763
- 3 Morazzani M, de Carvalho DD, Kovacic H, Smida-Rezgui S, Briand C, Penel C. Monolayer versus aggregate balance in survival process for EGF-induced apoptosis in A431 carcinoma cells: Implication of ROS-P38 MAPK-integrin α 2 β 1 pathway. *Int J Cancer* 2004; 110: 788-799
- 4 Kyriakis JM, Avruch J. Mammalian mitogen-activated protein kinase signal transduction pathways activated by stress and inflammation. *Physiol Rev* 2001; 81: 807-869
- 5 Stoneley M, Chappell SA, Jopling CL, Dickens M, MacFarlane M, Willis AE. c-Myc protein synthesis is initiated from the internal ribosome entry segment during apoptosis. *Mol Cell Biol* 2000; 20: 1162-1169
- 6 Kornmann M, Ishiwata T, Kleeff J, Beger HG, Korc M. Fas and Fas-ligand expression in human pancreatic cancer. *Ann Surg* 2000; 231: 368-379
- 7 Ghatan S, Lerner S, Kinoshita Y, Hetman M, Patel L, Xia Z, Youle RJ, Morrison RS. p38 MAP kinase mediates bax translocation in nitric oxide-induced apoptosis in neurons. *J Cell Biol* 2000; 150: 335-347
- 8 Gibala MJ, McGee SL, Garnham AP, Howlett KF, Snow RJ, Hargreaves M. Brief intense interval exercise activates AMPK and p38 MAPK signaling and increases the expression of PGC-1 α in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* 2009; 106: 929-934
- 9 Schindler JF, Monahan JB, Smith WG. p38 pathway kinases as anti-inflammatory drug targets. *J Dent Res* 2007; 86: 800-811

- 10 Kumar S, Boehm J, Lee JC. p38 MAP kinases: key signalling molecules as therapeutic targets for inflammatory diseases. *Nat Rev Drug Discov* 2003; 2: 717-726
- 11 Tamura DY, Moore EE, Johnson JL, Zallen G, Aiboshi J, Silliman CC. p38 mitogen-activated protein kinase inhibition attenuates intercellular adhesion molecule-1 up-regulation on human pulmonary microvascular endothelial cells. *Surgery* 1998; 124: 403-407; discussion 408
- 12 Nick JA, Young SK, Arndt PG, Lieber JG, Suratt BT, Poch KR, Avdi NJ, Malcolm KC, Taube C, Henson PM, Worthen GS. Selective suppression of neutrophil accumulation in ongoing pulmonary inflammation by systemic inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase. *J Immunol* 2002; 169: 5260-5269
- 13 Kobayashi M, Takeyoshi I, Yoshinari D, Matsumoto K, Morishita Y. P38 mitogen-activated protein kinase inhibition attenuates ischemia-reperfusion injury of the rat liver. *Surgery* 2002; 131: 344-349
- 14 李荣山, 丁涛, 刘晓城. SB203580对肾缺血再灌注损伤时细胞凋亡及P38 MAPK影响的实验研究. *山西医科大学学报* 2004; 35: 317-321
- 15 孙秀丽. 丝裂原活化蛋白激酶P38通路在肾缺血再灌注损伤时活性的变化及意义. *山西医科大学学报* 2002; 33: 382-384
- 16 Koike N, Takeyoshi I, Ohki S, Tokumine M, Matsumoto K, Morishita Y. Effects of adding P38 mitogen-activated protein-kinase inhibitor to celsior solution in canine heart transplantation from non-heart-beating donors. *Transplantation* 2004; 77: 286-292
- 17 Hashimoto N, Takeyoshi I, Yoshinari D, Tsutsumi H, Tokumine M, Totsuka O, Sunose Y, Ohwada S, Matsumoto K, Morishita Y. Effects of a p38 mitogen-activated protein kinase inhibitor as an additive to Euro-Collins solution on reperfusion injury in canine lung transplantation. *Transplantation* 2002; 74: 320-326
- 18 王雨, 田伏洲, 汤礼军, 石力, 张晓琼. p38信号转导途径对离体肝脏缺血再灌注损伤的影响. *中华肝脏病杂志* 2003; 11: 170-172
- 19 王雨, 汤礼军, 戴睿武, 阎勇. P38 MAPK 信号转导途径对缺血再灌注早期离体肝脏细胞因子表达的影响. *中国普外基础与临床杂志* 2009; 16: 443-448
- 20 王玉, 李晓玫, 王海燕. 白介素-1 β 通过JNK/P38信号转导通路调控肾系膜细胞表达 α -平滑肌肌动蛋白. *生理学报* 2002; 54: 244-250
- 21 张梅, 唐嘉薇, 李晓玫. p38丝裂素活化蛋白激酶信号转导对IL-1 β 诱导肾小管细胞转分化的影响. *中华医学杂志* 2003; 83: 1161-1165
- 22 孙泽群, 徐少勇, 邓长生, 张丽, 田林. P38蛋白在大肠癌中的表达及其临床意义. *中国肿瘤临床* 2005; 32: 635-637
- 23 张剑, 王树俊, 裘宋良, 杨观瑞, 张亚冰, 裘一兵, 张聚真, 孙豫, 杨静, 薛乐助, 赵立群. ERK1和P38在食管鳞癌组织中的表达. *肿瘤基础与临床* 2006; 19: 177-179, 182
- 24 尹为华, 马雅, 余光银, 蔡广玲. 乳腺癌p38表达及临床病理意义. *中国煤炭工业医学杂志* 2005; 8: 698-699
- 25 Sheth K, Friel J, Nolan B, Bankey P. Inhibition of p38 mitogen activated protein kinase increases lipopolysaccharide induced inhibition of apoptosis in neutrophils by activating extracellular signal-regulated kinase. *Surgery* 2001; 130: 242-248
- 26 毛华, 黄纯炽, 赵敏芳, 宋卫生. P38 MAPK 信号转导通路调控VEGF诱导肝癌细胞黏附作用. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 778-783
- 27 Kim MS, Lee EJ, Kim HR, Moon A. p38 kinase is a key signaling molecule for H-Ras-induced cell motility and invasive phenotype in human breast epithelial cells. *Cancer Res* 2003; 63: 5454-5461
- 28 Wang WH, Hullinger RL, Andrisani OM. Hepatitis B virus X protein via the p38 MAPK pathway induces E2F1 release and ATR kinase activation mediating p53 apoptosis. *J Biol Chem* 2008; 283: 25455-25467
- 29 魏小勇, 黎才海, 饶荣生. P38 MAPK信号通路与肿瘤的关系. *实用癌症杂志* 2009; 24: 101-103
- 30 毛华, 袁爱力, 赵敏芳, 赖卓胜. 分裂原激活蛋白激酶p38信号转导通路在抑制血管内皮细胞生长因子诱导肝癌转移的实验研究. *中华消化杂志* 2000; 20: 14-16
- 31 李莉, 高平进, 沈伟利, 刘建军, 朱鼎良. 血管紧张素II诱导自发性高血压大鼠血管外膜成纤维细胞迁移活性涉及P38 MAPK. *中华心血管杂志* 2005; 33: 557
- 32 Thurmond RL, Wadsworth SA, Schafer PH, Zivin RA, Siekierka JJ. Kinetics of small molecule inhibitor binding to p38 kinase. *Eur J Biochem* 2001; 268: 5747-5754
- 33 Lisnock J, Tebben A, Frantz B, O'Neill EA, Croft G, O'Keefe SJ, Li B, Hacker C, de Laszlo S, Smith A, Libby B, Liverton N, Hermes J, LoGrasso P. Molecular basis for p38 protein kinase inhibitor specificity. *Biochemistry* 1998; 37: 16573-16581
- 34 Laufer SA, Margutti S. Isoxazolone based inhibitors of p38 MAP kinases. *J Med Chem* 2008; 51: 2580-2584
- 35 Wroblewski ST, Lin S, Hynes J, Wu H, Pitt S, Shen DR, Zhang R, Gillooly KM, Shuster DJ, McIntyre KW, Doweiko AM, Kish KF, Tredup JA, Duke GJ, Sack JS, McKinnon M, Dodd J, Barrish JC, Schieven GL, Leftheris K. Synthesis and SAR of new pyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazines as potent p38 alpha MAP kinase inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett* 2008; 18: 2739-2744
- 36 Montalban AG, Boman E, Chang CD, Ceide SC, Dahl R, Dalesandro D, Delaet NG, Erb E, Ernst JT, Gibbs A, Kahl J, Kessler L, Lundström J, Miller S, Nakanishi H, Roberts E, Saiah E, Sullivan R, Wang Z, Larson CJ. The design and synthesis of novel alpha-ketoamide-based p38 MAP kinase inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett* 2008; 18: 1772-1777
- 37 Hynes J, Wu H, Pitt S, Shen DR, Zhang R, Schieven GL, Gillooly KM, Shuster DJ, Taylor TL, Yang X, McIntyre KW, McKinnon M, Zhang H, Marathe PH, Doweiko AM, Kish K, Kiefer SE, Sack JS, Newitt JA, Barrish JC, Dodd J, Leftheris K. The discovery of (R)-2-(sec-butylamino)-N-(2-methyl-5-(methylcarbamoyl)phenyl) thiazole-5-carboxamide (BMS-640994)-A potent and efficacious p38alpha MAP kinase inhibitor. *Bioorg Med Chem Lett* 2008; 18: 1762-1767
- 38 Angell RM, Angell TD, Bamborough P, Brown D, Brown M, Buckton JB, Cockerill SG, Edwards CD, Jones KL, Longstaff T, Smee PA, Smith KJ, Somers DO, Walker AL, Willson M. Biphenyl amide p38 kinase inhibitors 2: Optimisation and SAR. *Bioorg Med Chem Lett* 2008; 18: 324-328
- 39 Angell R, Aston NM, Bamborough P, Buckton JB, Cockerill S, deBoeck SJ, Edwards CD, Holmes DS, Jones KL, Laine DI, Patel S, Smee PA, Smith KJ, Somers DO, Walker AL. Biphenyl amide p38 kinase inhibitors 3: Improvement of cellular and in vivo activity. *Bioorg Med Chem Lett* 2008; 18: 4428-4432
- 40 Ozdemir C, Akdis CA. Discontinued drugs in 2006: pulmonary-allergy, dermatological, gastrointestinal and arthritis drugs. *Expert Opin Investig Drugs* 2007; 16: 1327-1344

■应用要点

此文对于阐明P38 MAPK信号通路的主要功能和在肝纤维化发生中作用的机制具有实际意义, 并为实验研究提供了思路和常见研究方法.

■同行评价

本文综述了P38 MAPK信号通路的主要功能、常见研究方法以及对肝纤维化的作用机制,能够为实验研究提供思路。全文内容丰富,条理清晰,可读性强。

- 41 Raingeaud J, Gupta S, Rogers JS, Dickens M, Han J, Ulevitch RJ, Davis RJ. Pro-inflammatory cytokines and environmental stress cause p38 mitogen-activated protein kinase activation by dual phosphorylation on tyrosine and threonine. *J Biol Chem* 1995; 270: 7420-7426
- 42 Beltrán AE, Briones AM, García-Redondo AB, Rodríguez C, Miguel M, Alvarez Y, Alonso MJ, Martínez-González J, Salas M. p38 MAPK contributes to angiotensin II-induced COX-2 expression in aortic fibroblasts from normotensive and hypertensive rats. *J Hypertens* 2009; 27: 142-154
- 43 Rampalli S, Li L, Mak E, Ge K, Brand M, Tapscott SJ, Dilworth FJ. p38 MAPK signaling regulates recruitment of Ash2L-containing methyltransferase complexes to specific genes during differentiation. *Nat Struct Mol Biol* 2007; 14: 1150-1156
- 44 康洁, 刘福林. RNAi的抗病毒作用及其机制. 现代免疫学 2004; 24: 439-441
- 45 Khwaja FS, Quann EJ, Pattabiraman N, Wynne S, Djakiew D. Carprofen induction of p75NTR-dependent apoptosis via the p38 mitogen-activated protein kinase pathway in prostate cancer cells. *Mol Cancer Ther* 2008; 7: 3539-3545
- 46 张敏. 应用基因芯片研究人气道上皮损伤时MAPKs信号通路的变化. 实用医学杂志 2008; 24: 1481-1483
- 47 Boute N, Jockers R, Issad T. The use of resonance energy transfer in high-throughput screening: BRET versus FRET. *Trends Pharmacol Sci* 2002; 23: 351-354
- 48 Ma L, Wang HY. Mitogen-activated protein kinase p38 regulates the Wnt/cyclic GMP/Ca²⁺ non-canonical pathway. *J Biol Chem* 2007; 282: 28980-28990
- 49 Breikopf K, Haas S, Wiercinska E, Singer MV, Dooley S. Anti-TGF-beta strategies for the treatment of chronic liver disease. *Alcohol Clin Exp Res* 2005; 29: 121S-131S
- 50 Tsukada S, Westwick JK, Ikejima K, Sato N, Rippe RA. SMAD and p38 MAPK signaling pathways independently regulate alpha1(I) collagen gene expression in unstimulated and transforming growth factor-beta-stimulated hepatic stellate cells. *J Biol Chem* 2005; 280: 10055-10064
- 51 Varela-Rey M, Montiel-Duarte C, Osés-Prieto JA, López-Zabalza MJ, Jaffrèzou JP, Rojkind M, Iraburu MJ. p38 MAPK mediates the regulation of alpha1(I) procollagen mRNA levels by TNF-alpha and TGF-beta in a cell line of rat hepatic stellate cells(1). *FEBS Lett* 2002; 528: 133-138
- 52 Cao Q, Mak KM, Lieber CS. DLPC decreases TGF-beta1-induced collagen mRNA by inhibiting p38 MAPK in hepatic stellate cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 283: G1051-G1061
- 53 Schnabl B, Bradham CA, Bennett BL, Manning AM, Stefanovic B, Brenner DA. TAK1/JNK and p38 have opposite effects on rat hepatic stellate cells. *Hepatology* 2001; 34: 953-963
- 54 Ikejima K, Okumura K, Kon K, Takei Y, Sato N. Role of adipocytokines in hepatic fibrogenesis. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22 Suppl 1: S87-S92
- 55 Bethanis SK, Theocharis SE. Leptin in the field of hepatic fibrosis: a pivotal or an incidental player? *Dig Dis Sci* 2006; 51: 1685-1696
- 56 Cao Q, Mak KM, Ren C, Lieber CS. Leptin stimulates tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in human hepatic stellate cells: respective roles of the JAK/STAT and JAK-mediated H₂O₂-dependant MAPK pathways. *J Biol Chem* 2004; 279: 4292-4304
- 57 Cao Q, Mak KM, Lieber CS. DLPC and SAME combined prevent leptin-stimulated TIMP-1 production in LX-2 human hepatic stellate cells by inhibiting HO-mediated signal transduction. *Liver Int* 2006; 26: 221-231
- 58 Czochra P, Klopčic B, Meyer E, Herkel J, Garcia-Lazaro JF, Thieringer F, Schirmacher P, Biesterfeld S, Galle PR, Lohse AW, Kanzler S. Liver fibrosis induced by hepatic overexpression of PDGF-B in transgenic mice. *J Hepatol* 2006; 45: 419-428
- 59 Novosyadlyy R, Dudas J, Pannem R, Ramadori G, Scharf JG. Crosstalk between PDGF and IGF-I receptors in rat liver myofibroblasts: implication for liver fibrogenesis. *Lab Invest* 2006; 86: 710-723
- 60 Yoshiji H, Noguchi R, Kuriyama S, Ikenaka Y, Yoshii J, Yanase K, Namisaki T, Kitade M, Masaki T, Fukui H. Imatinib mesylate (STI-571) attenuates liver fibrosis development in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 288: G907-G913
- 61 Adachi T, Togashi H, Suzuki A, Kasai S, Ito J, Sugahara K, Kawata S. NAD(P)H oxidase plays a crucial role in PDGF-induced proliferation of hepatic stellate cells. *Hepatology* 2005; 41: 1272-1281
- 62 Borkham-Kamphorst E, van Roeyen CR, Ostendorf T, Floege J, Gressner AM, Weiskirchen R. Pro-fibrogenic potential of PDGF-D in liver fibrosis. *J Hepatol* 2007; 46: 1064-1074
- 63 Zhang YP, Yao XX, Zhao X. Interleukin-1 beta up-regulates tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 mRNA and phosphorylation of c-jun N-terminal kinase and p38 in hepatic stellate cells. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 1392-1396
- 64 姚希贤, 张亚平, 赵霞. 益肝康抑制肝星状细胞 I 型胶原合成的作用机制. 中西医结合肝病杂志 2007; 17: 159-160
- 65 李涛, 冷希圣, 秦致中, 宋盛晗, 赵力, 熊亮发, 彭吉润. 白细胞介素10对肝星状细胞激活的调节. 中华肝脏病杂志 2005; 13: 35-37
- 66 Marra F, Delogu W, Petrai I, Pastacaldi S, Bonacchi A, Efsen E, Aleffi S, Bertolani C, Pinzani M, Gentilini P. Differential requirement of members of the MAPK family for CCL2 expression by hepatic stellate cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 287: G18-G26
- 67 Wu LM, Wu XX, Sun Y, Kong XW, Zhang YH, Xu Q. A novel synthetic oleanolic acid derivative (CPU-II2) attenuates liver fibrosis in mice through regulating the function of hepatic stellate cells. *J Biomed Sci* 2008; 15: 251-259
- 68 Honda H, Ikejima K, Hirose M, Yoshikawa M, Lang T, Enomoto N, Kitamura T, Takei Y, Sato N. Leptin is required for fibrogenic responses induced by thioacetamide in the murine liver. *Hepatology* 2002; 36: 12-21

编辑 李军亮 电编 闫晋利

结直肠癌化疗相关性肝损害

彭 经, 魏宜胜, 彭和平

彭经, 彭和平, 广州医学院第二附属医院肝胆外科 广东省广州市 510260

魏宜胜, 广州医学院第二附属医院胃肠外科 广东省广州市 510260

作者贡献分布: 本文综述由彭经完成; 魏宜胜与彭和平审校。

通讯作者: 彭和平, 教授, 主任医师, 510260, 广东省广州市, 广州医学院第二附属医院肝胆外科. penghp@yeah.net

电话: 020-34153080

收稿日期: 2011-09-03 修回日期: 2011-10-12

接受日期: 2011-11-01 在线出版日期: 2011-11-18

Colorectal chemotherapy-associated liver injury

Jing Peng, Yi-Sheng Wei, He-Ping Peng

Jing Peng, He-Ping Peng, Department of Hepatobiliary Surgery, the Second Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510260, Guangdong Province, China

Yi-Sheng Wei, Department of Gastrointestinal Surgery, the Second Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510260, Guangdong Province, China

Correspondence to: He-Ping Peng, Professor, Department of Hepatobiliary Surgery, the Second Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510260, Guangdong Province, China. penghp@yeah.net

Received: 2011-09-03 Revised: 2011-10-12

Accepted: 2011-11-01 Published online: 2011-11-18

Abstract

The increasing use of more effective chemotherapy in patients with colorectal cancer has raised awareness of the potential liver injuries induced by systemic drugs, such as fluorouracil, oxaliplatin and irinotecan. Chemotherapy-associated liver injuries can be revealed by histopathologic examination of nontumoral liver tissue. There are two broad categories of chemotherapy-induced liver injury: non-alcoholic fatty liver disease and sinusoidal injury. Many reports suggest that liver injuries may increase morbidity and mortality in patients who undergo hepatic resection for colorectal liver metastases, while some researchers have opposing views. This review describes the main types of chemotherapy-related liver injury and current controversy over this topic.

Key Words: Colorectal cancer; Chemotherapy; Liver injury

Peng J, Wei YS, Peng HP. Colorectal chemotherapy-associated liver injury. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(32): 3359-3364

摘要

越来越多的患者使用更为有效的化疗方案治疗结直肠癌, 这使得化疗药物引起的潜在的肝损害备受关注。这些化疗药物主要包括氟尿嘧啶、奥沙利铂以及伊立替康。化疗导致的肝损害可以在非瘤肝组织的病理检查中得到证实, 主要包括非酒精性脂肪性肝炎和肝窦损伤2大类。许多研究认为这种肝损害可能增加接受肝转移瘤切除术患者的发病率和死亡率, 但也不乏反对的意见。本文将阐述化疗相关性肝损害的主要类型、防治进展以及当前存在的争论。

关键词: 结直肠癌; 化疗; 肝损害

彭经, 魏宜胜, 彭和平. 结直肠癌化疗相关性肝损害. 世界华人消化杂志 2011; 19(32): 3359-3364

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3359.asp>

0 引言

结直肠癌是最常见的恶性肿瘤之一, 2008年全球新发人数已超过120万例, 死亡人数达到608 700例^[1]。在国内, 结直肠癌位居肿瘤相关死亡率的第5位, 且近年来发病率明显上升^[2]。根治性手术切除是治疗结直肠癌最主要的方法, 但术后仍有相当一部分患者出现肿瘤复发或转移。化疗是控制结直肠癌进展的另一重要手段, 术后辅助化疗可消除微小转移灶, 降低肿瘤复发转移率、提高生存率^[3]。肝转移患者经新辅助化疗后可实现根治性切除并可明显提高患者的长期生存率^[4]。随着结直肠癌化疗研究的深入, 越来越多的患者接受化疗并获得病情的改善。与此同时, 化疗药物导致肝损害的问题也日益突出。目前研究多关注于结直肠癌肝转移患者接受新辅助化疗后的肝损害, 因为这部分患者完成新辅助化疗后可以降低分期, 接受针对原发灶及肝转移灶的手术, 术后也可通过病理检查

■背景资料

化疗在结直肠癌的治疗中正扮演着越来越重要的角色, 然而有研究发现化疗药物可导致非瘤肝组织发生病理学改变, 并可能影响结直肠癌患者的预后。虽然这一发现还需更深入的研究, 但无疑为结直肠癌化疗的研究及临床应用提供了新思路。

■同行评议者

王志刚, 副主任医师, 上海市第六人民医院普外科

■ 研发前沿

化疗相关肝损害对患者预后的影响仍是当前研究的热点,同时化疗药物引发肝损害的机制以及保护因素值得进一步的探索。

发现受损害肝实质所呈现的组织学改变,更重要的是新辅助化疗产生的肝损害可能对其随后进行的肝切除术产生不利影响。这些损害包括从脂肪变性到严重的脂肪性肝炎以及肝窦阻塞综合征(hepatic Sinusoidal obstruction syndrome, HSOS),且不同的损害形式可能与特殊的化疗药物相关。本文将阐述化疗相关性肝损害的各种形式、防治进展及其对结直肠癌(尤其是对结直肠癌肝转移)治疗和预后的影响,并讨论当前存在的问题。

1 非酒精性脂肪性肝病

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是由甘油三酯在肝细胞过度蓄积而导致的一系列肝脏损害,包括肝脂肪变性及脂肪性肝炎,并有可能发展为纤维化及肝硬化,常由非酒精以外的其他因素引起^[5]。目前研究认为NAFLD与多种代谢性疾病(如肥胖、糖尿病、代谢综合征等)有重要联系,并随着肥胖、糖尿病的流行被越来越多的认识^[6,7]。

1.1 NAFLD发病机制 NAFLD的发病过程十分复杂,“二次打击”学说是目前研究最多的一种理论。该学说认为,胰岛素抵抗促使外周脂肪分解增加和高胰岛素血症,引起肝细胞脂肪蓄积并启动线粒体中的脂肪酸氧化系统产生活性氧,从而产生脂肪变性,形成第一次打击;脂肪变性的肝细胞对二次损伤(如化疗的毒性等)更加敏感。这种二次损伤进一步使活性氧增多并直接破坏线粒体。其后微粒体及过氧化物酶体内的脂肪酸氧化系统激活导致细胞内活性氧浓度进一步增加。大量的活性氧将破坏细胞膜,诱发多种促炎、促纤维化的细胞因子导致肝脏纤维化^[8,9]。整个发病过程中胰岛素抵抗及细胞因子扮演了重要的角色^[5]。

1.2 肝脂肪变性 肝脂肪变性是指肝脂肪(主要是甘油三酯)含量达到或超过肝重量的5%^[10],是NAFLD较轻的阶段。根据脂肪浸润程度可分为轻度脂肪变性(肝细胞受累<30%)、中度脂肪变性(肝细胞受累30%-60%)和重度脂肪变性(肝细胞受累>60%)^[11]。

影像学证据证明30%-47%接受过氟尿嘧啶治疗的患者存在肝脂肪变性^[12]。Zeiss等^[13]报道了结直肠癌肝转移患者接受氟尿嘧啶经动脉灌注化疗后,肝组织出现斑片状脂肪性改变。且由于药物在整个肝实质内的分布不均匀,使得脂肪变性发生在药物浓度较高的部分。其具体的诱发机制还有待明确,可能与3个方面有关:(1)氟尿嘧

啶可破坏线粒体膜并使膜电位降低,这将损害脂肪酸氧化系统导致活性氧在肝细胞中积聚;(2)氟尿嘧啶与微粒体细胞色素酶P450引发活性氧生成有关;(3)氟尿嘧啶代谢产生氟-β-丙氨酸减弱肝细胞代谢药物或脂质等物质的能力^[9]。

目前,较多的研究趋向于肝脂肪变性会产生不利的影响。其具体可表现在以下几个方面:(1)肝手术中常见的缺血再灌注损伤可导致肝内结直肠癌微小转移,而肝脂肪变性将加剧发生转移的风险^[14];(2)脂肪变性肝脏中某些特殊宿主因子的改变可能产生有利于结肠癌肝转移的微环境^[15];(3)严重的脂肪变性(中度和重度)可能导致患者术后ICU时间、发病率、感染性并发症及生化指标改变增加^[16]。但脂肪变性对肝切除术后的发病率及死亡率的影响仍缺乏统一的意见。Pathak等^[17]的研究认为,肥胖、肝脂肪变性均不会对结直肠癌肝转移切除术后的长期生存产生明显的影响。与之相反,一项最新的荟萃分析对6个观察性研究,总共1 000名患者统计后则认为:肝脂肪变性患者术后并发症风险约增加2倍,重度脂肪变性患者的死亡风险将会增加3倍^[18]。

1.3 脂肪性肝炎 脂肪性肝炎是NAFLD较严重的阶段,以脂肪变性、小叶炎症、肝细胞气球样变病理特征^[19],并可进展致肝硬化和肝细胞癌^[5]。由于不涉及饮酒可称之为非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH),或因由化疗引起又可称之为化疗相关性脂肪性肝炎。脂肪性肝炎通常行NAFLD活动度积分(NAFLD activity score, NAS, 表1)来估计其严重程度^[20]。全身化疗中应用伊立替康可引发脂肪性肝炎,这在Vauthey等^[21]的研究中得到证实。与氟尿嘧啶一样,伊立替康与脂肪性肝炎的分子机制也还不完全清楚。根据其他导致脂肪性肝炎药物的研究(如胺碘酮和他莫昔芬),表明这种肝毒性是通过线粒体β氧化来实现的^[9]。Vauthey等^[21]通过对406名接受过肝切除的结直肠癌肝转移患者进行研究,发现脂肪性肝炎患者相比与于无脂肪性肝炎者有更高的术后90 d死亡率(14.7% vs 1.6%)。Fernandez等^[22]研究也发现严重的脂肪性肝炎会影响患者接受大部肝切除的能力,并建议对高危人群行术前病理检查。Morris-Stiff^[23]则认为CASH可使术后肝衰竭发病率增加,且肝衰竭可导致死亡率上升,接受这些药物化疗后再行肝切除的患者应密切观察其发病率和死亡率。他的观点在其后的1例病例报道中得到证实:1位55岁男性结肠癌肝转移患者接受伊立替康化

表 1 脂肪性肝炎NAFLD活动度积分 (NAFLD activity score, NAS)

	NAS(分数) ^m			
	0	1	2	3
肝细胞脂肪变	极轻度(<5%)	轻度(5%–33%)	中度(34%–66%)	重度(>66%)
小叶内炎症 ⁿ	无	<2个	2–4个	>4个
肝细胞气球样变	无	少见	多见	–

^mNAS<3分可排除NASH, 介于两者之间者为交界性NASH, NAS>4分则可诊断NASH; ⁿ20倍镜计数坏死灶数。

疗后的肝切除术, 术后发生意想不到的肝衰竭, 病理证实其存在脂肪性肝炎^[24]。由此可见, 化疗导致的脂肪性肝炎可能对结直肠癌肝转移瘤的切除造成不利的影响。

2 肝窦损伤

化疗引起的肝窦损伤涉及从肝窦扩张到HSOS的系列病理变化。HSOS过去也被称为静脉闭塞性疾病(veno-occlusive disease, VOD), 可导致结节性增生^[25], 是有别于NAFLD的另一种化疗相关性肝损害。其病理上首先表现为肝窦壁完整性受损, 后出现肝窦充血阻塞、窦前性纤维化、小叶中央静脉纤维性阻塞及结节性增生或紫癜。HSOS最常见于高剂量化疗和造血干细胞移植, 其症状包括肝肿大、腹水、黄疸。目前发现有20多种药物可导致HSOS发生, 其中包括一些正常剂量的免疫抑制药及化疗药物^[26]。

2.1 肝窦损伤的发病机制 体外细胞试验表明, 导致HSOS的毒素或药物可选择性地针对肝窦内皮细胞, 其毒性比对肝细胞的毒性更强^[27]。HSOS的发病机制从肝窦上皮受到毒素或药物的毒性损害开始, 这种损害导致血管内膜下增厚以及红细胞溢出到内膜下的窦周间隙(Disse间隙)。肝窦细胞及红细胞阻塞肝窦并使静脉流出道受阻, 导致肝脏充血及肝窦扩张。随后肝窦纤维化并小叶中央静脉阻塞, 最终产生HSOS^[26]。HSOS患者的血清中可检出高浓度的内皮素1和血管内皮生长因子。内皮素1可使肝窦收缩, 静脉血流阻力加大。在动物模型中, 血管内皮生长因子可导致内脏高动力循环及门静脉高压。因此, 血管源性因子可能在HSOS的发病机制中起重要作用^[9]。

2.2 肝窦损伤的诱发药物及其影响 肝窦损伤与使用奥沙利铂化疗的关系已经被多项研究证实。2004年Rubbia-Brandt等^[28]第一次报道了使用奥沙利铂与肝窦损伤的联系。随后, Aloia和Vauthey^[21,29]也提出使用奥沙利铂化疗较未化疗者更可能导致肝窦损伤。国内也有研究表明, 接受过新辅助

化疗患者的非瘤肝组织中可以发现小叶中央区肝窦严重扩张, 红细胞瘀滞, 窦周纤维化和静脉闭塞纤维化等HSOS病理变化, 且化疗组非瘤肝组织中结缔组织生长因子显著高于对照组^[30]。

肝窦损伤对于结直肠癌治疗的影响主要体现在以下几个方面: (1)增加肝转移瘤切除术中出血和输血的风险^[29]; (2)可导致肿瘤早期复发, 降低远期生存率^[31]; (3)增加肝切除术后肝功能不全的风险, HSOS损害越严重, 术后出现肝功能不全和腹水的可能性越大, 并有可能出现致命性的肝衰竭^[32-34]; (4)HSOS影响肝脏的再生^[35]。

3 化疗相关肝损害的防治

化疗周期、化疗间隔时间以及化疗与肝切除间隔时间是发生肝损害和肝切除术后不利影响的重要相关因素。Nakano等^[32]研究发现使用奥沙利铂化疗6个或以上周期会增加发生肝窦扩张的风险。Welsh等^[36]报道称在化疗与手术间隔分别为9-12 wk、5-8 wk及4 wk以下时, 手术并发症的发生率分别为2.6%(1/39), 5.5%(6/110)和11%(4/37)。Chun等^[9]认为使化疗获益最大而同时又能避免肝损害的最佳周期应不超过4 mo; 手术与化疗间隔5 wk以上可最大的避免术后并发症的发生, 而又不至于治疗时间被过度延长。

化疗相关性肝损害存在个体的差异性, 从药代动力学和药物基因组学的角度分析个体差异是避免肝损害的重要手段。研究表明根据CYP3A4酶的活性来使用伊立替康可减少因个体差异带来的不良反应(白细胞下降), 因此CYP3A4酶的活性与伊立替康相关肝损害的关系值得研究^[37]。此外, 手术前行吡啶青绿试验有利于分辨化疗后导致的肝功能损害, 评估手术后残余肝的功能, 从而避免术后肝衰竭和严重并发症^[38]。

肝损害治疗的研究相对较少。谷氨酰胺是合成肝脏主要抗氧化物质-谷胱甘肽的重要部分, 可作为奥沙利铂引发的肝损害的一种治疗方法; 如出现静脉闭塞则可能需要使用抗凝血药物以

■相关报道

Aloia等从分子水平详细探讨了相关化疗药物导致非酒精性脂肪性肝病和肝窦损伤的机制, 并对当前多种重要观点进行了阐述和讨论。

■创新盘点

本文对化疗相关肝损害类型、机制以及对预后的影响进行了较全面系统的阐述, 同时提出应关注临床上更为常见的、缺乏组织学诊断的肝损害。

■应用要点

对化疗相关肝损害的诊治、研究具有一定指导价值,且有利于提高临床相关科室医生对化疗药物导致肝损害的认识。

保护肝窦上皮细胞;而对于出现脂肪性肝炎且合并有代谢综合征的患者则需要使用胰岛素增敏剂(如吡格列酮等)^[9]。

4 存在的问题

我们认识到化疗如同一把“双刃剑”,一方面可以改善结直肠癌患者的总体生存,另一方面其导致的肝损害可能对结直肠癌的治疗产生不利的影响^[39]。但目前对化疗相关性肝损害的研究仍处于起步阶段,关于这方面的报道大多出现在近5年,许多问题还有待进一步研究。

4.1 不同肝损害形式与特定化疗药物的联系 尽管有大量的研究认为肝损害形式与使用特定化疗药物的有关,但Rickenbacher等^[40]进行的一项最新的动物实验得出不同的结果。该研究分别对C57BL/6小鼠腹腔内注射5-FU、伊立替康、奥沙利铂、吉西他滨以及5-FU与伊立替康组合、5-FU与奥沙利铂组合,并在最后一次注射1 wk后进行部分肝切除。结果发现在各种化疗药物按照体质量及血细胞水平使用最大耐受量的情况下,无论在肝切除以前还是以后都没有发现肝损害,也未对肝脏再生产生影响。更进一步研究发现即使在小鼠存在肝脂肪变性的前提下,仍未观察到组织学上的炎症或肝窦损伤。同样Zafirou^[41]利用Wistar大鼠模型研究发现5-FU不会引起肝脏的形态学变化。另外Ryan等^[42]通过对334个病例进行回顾性分析认为术前化疗主要导致血管损伤,而并非脂肪性肝炎。虽然动物实验与临床应用存在差异,但肝损害形式与特殊化疗药物的联系是否存在以及联系是否正确,都还需要进一步验证。

另外有一种观点认为特殊的化疗方案可能并不直接导致肝损害,也许只是加重患者本身存在的病变^[43]。化疗前患者的主体因素(如肥胖、糖尿病、高BMI等)与肝损害(尤其是NAFLD)的关系需要得到更多的关注,肥胖、糖尿病等代谢性疾病也常诱发NAFLD。因此需要有更多的研究来分析发生肝损害的易感因素和保护因素,作为化疗前筛选患者及选择化疗方案的依据,这样就可避免高危人群发生肝损害,提高治愈率及手术后的生存。

4.2 肝损害对肝切除术预后的影响 一直以来肝损害对肝切除术预后的影响都是研究争论的热点。Pathak^[17]和Morris-Stiff^[23]认为脂肪变性脂肪性肝炎均会导致肝功能损伤以及术后并发症的发病率和死亡率升高。Tamandl^[31]研究认为肝

窦损害不仅影响手术预后,还可导致肿瘤早期复发和降低远期生存。但Pawlik等^[44]研究则发现术前化疗与未化疗病人围手术期并发症的发病率及60 d内的死亡率均无统计学差异。还有另一种看法则认为肝窦损害不会增加肝切除术围手术期的发病率和死亡率,但现脂肪性肝炎可导致患者术后90 d死亡率升高^[21]。造成争论持续存在的重要原因是各研究中化疗的药物、方案、周期不尽相同,缺乏统一的研究及评价标准,需要一个构思良好的,大样本量的,前瞻性研究来综合评估肝损害对肝切除术的影响。

4.3 无组织学诊断肝损害的研究 如前所述,目前研究主要集中在结直肠癌肝转移并接受新辅助化疗的患者,这部分患者接受新辅助化疗并行包括原发灶及受累肝脏的切除手术后,可以经过病理明确肝损害及其形式。事实上,临床上大多为II-III期结直肠癌患者,这些病人很少接受术前新辅助化疗,仅在根治术后接受辅助化疗,术后较少接受肝切除或肝活检明确肝脏病理改变。对于II-III期结直肠癌患者辅助化疗后无组织学诊断情况下肝损害的诊断标准、肝损害对患者预后的影响也值得进一步研究。

诊断方法是目前困扰无组织学诊断肝损害研究的一个重要问题。肝功能检查通常对诊断肝损伤的帮助不大,许多患者尽管已存在肝损害,但实验室检查往往正常^[9]。影像学检查是重要的辅助诊断方法。超声对HSOS的诊断及分型具有一定的帮助^[45]。MRI可以利用水与脂肪信号的不同精确提示脂肪变性,较CT能更好显示肝脏的病变^[46],但应用受到经济条件的制约。目前化疗肝损害临床研究的诊断较多参考1990年巴黎国际会议达成的药物性肝损害诊断标准共识^[47]和1997年Maria等^[48]提出的“药物性肝损害诊断临床评分”。

5 结论

早在结直肠癌化疗肝损害刚受到关注时Garufi等^[49]人就曾提出质疑,他认为当前结直肠癌的治疗尚未找到很好解决方法,化疗相关性肝损害不是当前最主要的问题,勿需太过关注。但随后不断增加的研究让我们认识到肝损害的研究绝非多此一举,其对改进化疗药物及方案,对改善结直肠癌患者生存时间及生存质量都有巨大帮助,同时也为结直肠癌化疗的研究提供了新思路。最近整合了新的靶向药物的化疗方案正改变着结直肠癌的治疗。研究表明贝伐单抗作为一种直接作用于血管内皮生长因子的人源性单

克隆抗体, 与化疗药物联合应用可有效提高反应率, 降低肿瘤活性, 并可降低严重肝损害的发生率^[50]。这种通过综合应用分子靶向药物, 选用合理化疗方案以提高化疗有效性及安全性的新方法值得期待。多学科合作是未来发展的必然趋势, 相信在大家共同努力下, 对肝损害的研究能够更好的指导结直肠癌临床治疗, 优化化疗方案, 改善患者的治疗效果。

6 参考文献

- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90
- 董志伟, 乔友林, 李连弟, 王国清, 张思维, 孟祥柱, 李纪宾. 中国癌症高发发现场报告. *中国肿瘤* 2009; 18: 6
- Grávalos C, García-Escobar I, García-Alfonso P, Cassinello J, Malón D, Carrato A. Adjuvant chemotherapy for stages II, III and IV of colon cancer. *Clin Transl Oncol* 2009; 11: 526-533
- Masi G, Loupakakis F, Pollina L, Vasile E, Cupini S, Ricci S, Brunetti IM, Ferraldeschi R, Naso G, Filipponi F, Pietrabissa A, Goletti O, Baldi G, Fornaro L, Andreuccetti M, Falcone A. Long-term outcome of initially unresectable metastatic colorectal cancer patients treated with 5-fluorouracil/leucovorin, oxaliplatin, and irinotecan (FOLFOXIRI) followed by radical surgery of metastases. *Ann Surg* 2009; 249: 420-425
- Krawczyk M, Bonfrate L, Portincasa P. Nonalcoholic fatty liver disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2010; 24: 695-708
- Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, Cerrelli F, Lenzi M, Manini R, Natale S, Vanni E, Villanova N, Melchionda N, Rizzetto M. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology* 2003; 37: 917-923
- Hamaguchi M, Kojima T, Takeda N, Nakagawa T, Taniguchi H, Fujii K, Omatsu T, Nakajima T, Sarui H, Shimazaki M, Kato T, Okuda J, Ida K. The metabolic syndrome as a predictor of nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Intern Med* 2005; 143: 722-728
- Petta S, Muratore C, Craxi A. Non-alcoholic fatty liver disease pathogenesis: the present and the future. *Dig Liver Dis* 2009; 41: 615-625
- Chun YS, Laurent A, Maru D, Vauthey JN. Management of chemotherapy-associated hepatotoxicity in colorectal liver metastases. *Lancet Oncol* 2009; 10: 278-286
- Loria P, Lonardo A, Carulli N. Should nonalcoholic fatty liver disease be renamed? *Dig Dis* 2005; 23: 72-82
- Choti MA. Chemotherapy-associated hepatotoxicity: do we need to be concerned? *Ann Surg Oncol* 2009; 16: 2391-2394
- Zorzi D, Laurent A, Pawlik TM, Lauwers GY, Vauthey JN, Abdalla EK. Chemotherapy-associated hepatotoxicity and surgery for colorectal liver metastases. *Br J Surg* 2007; 94: 274-286
- Zeiss J, Merrick HW, Savolaine ER, Woldenberg LS, Kim K, Schlembach PJ. Fatty liver change as a result of hepatic artery infusion chemotherapy. *Am J Clin Oncol* 1990; 13: 156-160
- van der Bilt JD, Kranenburg O, Borren A, van Hillegersberg R, Borel Rinkes IH. Ageing and hepatic steatosis exacerbate ischemia/reperfusion-accelerated outgrowth of colorectal micrometastases. *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 1392-1398
- VanSaun MN, Lee IK, Washington MK, Matrisian L, Gordon DL. High fat diet induced hepatic steatosis establishes a permissive microenvironment for colorectal metastases and promotes primary dysplasia in a murine model. *Am J Pathol* 2009; 175: 355-364
- Gomez D, Malik HZ, Bonney GK, Wong V, Toogood GJ, Lodge JP, Prasad KR. Steatosis predicts postoperative morbidity following hepatic resection for colorectal metastasis. *Br J Surg* 2007; 94: 1395-1402
- Pathak S, Tang JM, Terlizzo M, Poston GJ, Malik HZ. Hepatic steatosis, body mass index and long term outcome in patients undergoing hepatectomy for colorectal liver metastases. *Eur J Surg Oncol* 2010; 36: 52-57
- de Meijer VE, Kalish BT, Puder M, Ijzermans JN. Systematic review and meta-analysis of steatosis as a risk factor in major hepatic resection. *Br J Surg* 2010; 97: 1331-1339
- Kneuert PJ, Maithel SK, Staley CA, Kooby DA. Chemotherapy-associated liver injury: impact on surgical management of colorectal cancer liver metastases. *Ann Surg Oncol* 2011; 18: 181-190
- 中华医学会肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南(2010年修订版). *中华肝脏病杂志* 2010; 18: 4
- Vauthey JN, Pawlik TM, Ribero D, Wu TT, Zorzi D, Hoff PM, Xiong HQ, Eng C, Lauwers GY, Mino-Kenudson M, Risio M, Muratore A, Capussotti L, Curley SA, Abdalla EK. Chemotherapy regimen predicts steatohepatitis and an increase in 90-day mortality after surgery for hepatic colorectal metastases. *J Clin Oncol* 2006; 24: 2065-2072
- Fernandez FG, Ritter J, Goodwin JW, Linehan DC, Hawkins WG, Strasberg SM. Effect of steatohepatitis associated with irinotecan or oxaliplatin pretreatment on resectability of hepatic colorectal metastases. *J Am Coll Surg* 2005; 200: 845-853
- Morris-Stiff G, Tan YM, Vauthey JN. Hepatic complications following preoperative chemotherapy with oxaliplatin or irinotecan for hepatic colorectal metastases. *Eur J Surg Oncol* 2008; 34: 609-614
- Sotiropoulos GC, Saner FH, Molmenti EP, Radtke A, Timm S, Baba HA, Paul A, Lang H. Unexpected liver failure after right hemihepatectomy for colorectal liver metastasis due to chemotherapy-associated steatohepatitis: time for routine preoperative liver biopsy? *Int J Colorectal Dis* 2009; 24: 241
- Rubbia-Brandt L, Lauwers GY, Wang H, Majno PE, Tanabe K, Zhu AX, Brezault C, Soubrane O, Abdalla EK, Vauthey JN, Mentha G, Terris B. Sinusoidal obstruction syndrome and nodular regenerative hyperplasia are frequent oxaliplatin-associated liver lesions and partially prevented by bevacizumab in patients with hepatic colorectal metastasis. *Histopathology* 2010; 56: 430-439
- Rubbia-Brandt L. Sinusoidal obstruction syndrome. *Clin Liver Dis* 2010; 14: 651-668
- DeLeve LD. Cellular target of cyclophosphamide toxicity in the murine liver: role of glutathione and site of metabolic activation. *Hepatology* 1996; 24: 830-837
- Rubbia-Brandt L, Audard V, Sartoretti P, Roth AD, Brezault C, Le Charpentier M, Dousset B, Morel P, Soubrane O, Chaussade S, Mentha G, Terris B. Severe hepatic sinusoidal obstruction associated with oxaliplatin-based chemotherapy in patients with metastatic

同行评价

本文综述了化疗导致的肝损类型、发病机理以及其对预后的影响。比较全面客观地总结了目前对于该领域的认识。对临床相关科室的医生有一定指导价值。

- colorectal cancer. *Ann Oncol* 2004; 15: 460-466
- 29 Aloia T, Sebach M, Plasse M, Karam V, Lévi F, Giacchetti S, Azoulay D, Bismuth H, Castaing D, Adam R. Liver histology and surgical outcomes after preoperative chemotherapy with fluorouracil plus oxaliplatin in colorectal cancer liver metastases. *J Clin Oncol* 2006; 24: 4983-4990
 - 30 孙凯, 吴承堂, 雷尚通, 黄祥成. FOLFOX4方案新辅助化疗对转移性结直肠癌患者非瘤肝组织的影响. *中华胃肠外科杂志* 2010; 13: 350-353
 - 31 Tamandl D, Klinger M, Eipeldauer S, Herberger B, Kaczirek K, Gruenberger B, Gruenberger T. Sinusoidal obstruction syndrome impairs long-term outcome of colorectal liver metastases treated with resection after neoadjuvant chemotherapy. *Ann Surg Oncol* 2011; 18: 421-430
 - 32 Nakano H, Oussoultzoglou E, Rosso E, Casnedi S, Chenard-Neu MP, Dufour P, Bachellier P, Jaeck D. Sinusoidal injury increases morbidity after major hepatectomy in patients with colorectal liver metastases receiving preoperative chemotherapy. *Ann Surg* 2008; 247: 118-124
 - 33 Soubrane O, Brouquet A, Zalinski S, Terris B, Brézault C, Mallet V, Goldwasser F, Scatton O. Predicting high grade lesions of sinusoidal obstruction syndrome related to oxaliplatin-based chemotherapy for colorectal liver metastases: correlation with post-hepatectomy outcome. *Ann Surg* 2010; 251: 454-460
 - 34 Schouten van der Velden AP, Punt CJ, Van Krieken JH, Derleyn VA, Ruers TJ. Hepatic veno-occlusive disease after neoadjuvant treatment of colorectal liver metastases with oxaliplatin: a lesson of the month. *Eur J Surg Oncol* 2008; 34: 353-355
 - 35 Schiffer E, Frossard JL, Rubbia-Brandt L, Mentha G, Pastor CM. Hepatic regeneration is decreased in a rat model of sinusoidal obstruction syndrome. *J Surg Oncol* 2009; 99: 439-446
 - 36 Welsh FK, Tilney HS, Tekkis PP, John TG, Rees M. Safe liver resection following chemotherapy for colorectal metastases is a matter of timing. *Br J Cancer* 2007; 96: 1037-1042
 - 37 van der Bol JM, Mathijssen RH, Creemers GJ, Planting AS, Loos WJ, Wiemer EA, Friberg LE, Verweij J, Sparreboom A, de Jong FA. A CYP3A4 phenotype-based dosing algorithm for individualized treatment of irinotecan. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 736-742
 - 38 Krieger PM, Tamandl D, Herberger B, Faybik P, Fleischmann E, Maresch J, Gruenberger T. Evaluation of chemotherapy-associated liver injury in patients with colorectal cancer liver metastases using indocyanine green clearance testing. *Ann Surg Oncol* 2011; 18: 1644-1650
 - 39 Anderson CD, Chari RS. Chemotherapy liver injury. *Surgery* 2010; 147: 195-196
 - 40 Rickenbacher A, DeOliveira ML, Tian Y, Jang JH, Riener MO, Graf R, Moritz W, Clavien PA. Arguments against toxic effects of chemotherapy on liver injury and regeneration in an experimental model of partial hepatectomy. *Liver Int* 2011; 31: 313-321
 - 41 Zafiriou G, Grekou A, Stravoravdi P, Natsis K, Barich A. Histological and ultrastructural study of the effect of chemotherapy with 5-fluorouracil on normal liver of Wistar rats. *Chemotherapy* 2002; 48: 298-302
 - 42 Ryan P, Nanji S, Pollett A, Moore M, Moulton CA, Gallinger S, Guindi M. Chemotherapy-induced liver injury in metastatic colorectal cancer: semi-quantitative histologic analysis of 334 resected liver specimens shows that vascular injury but not steatohepatitis is associated with preoperative chemotherapy. *Am J Surg Pathol* 2010; 34: 784-791
 - 43 Nordlinger B, Benoist S. Benefits and risks of neoadjuvant therapy for liver metastases. *J Clin Oncol* 2006; 24: 4954-4955
 - 44 Pawlik TM, Olino K, Gleisner AL, Torbenson M, Schulick R, Choti MA. Preoperative chemotherapy for colorectal liver metastases: impact on hepatic histology and postoperative outcome. *J Gastrointest Surg* 2007; 11: 860-868
 - 45 蒋天安, 翁慧芳, 敖建阳, 陈芬, 赵齐羽, 黄敏, 陈燕. 超声影像对肝窦阻塞综合征的诊断价值. *中国超声医学杂志* 2008; 24: 5
 - 46 Marsman HA, van der Pool AE, Verheij J, Padmos J, Ten Kate FJ, Dwarkasing RS, van Gulik TM, Ijzermans JN, Verhoef C. Hepatic steatosis assessment with CT or MRI in patients with colorectal liver metastases after neoadjuvant chemotherapy. *J Surg Oncol* 2011; 104: 10-16
 - 47 Bénichou C. Criteria of drug-induced liver disorders. Report of an international consensus meeting. *J Hepatol* 1990; 11: 272-276
 - 48 Maria VA, Victorino RM. Development and validation of a clinical scale for the diagnosis of drug-induced hepatitis. *Hepatology* 1997; 26: 664-669
 - 49 Garufi C, Ettorre GM, Vanni B, Torsello A, Terzoli E. Neoadjuvant chemotherapy for metastatic colon cancer: too much caution and still too much to be assessed. *J Clin Oncol* 2006; 24: 2217-2218; author reply 2218-2219
 - 50 Ribero D, Wang H, Donadon M, Zorzi D, Thomas MB, Eng C, Chang DZ, Curley SA, Abdalla EK, Ellis LM, Vauthey JN. Bevacizumab improves pathologic response and protects against hepatic injury in patients treated with oxaliplatin-based chemotherapy for colorectal liver metastases. *Cancer* 2007; 110: 2761-2767

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011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)

幽门螺杆菌实验室长期传代cagA启动子的进化分析

宋衍燕, 王海滨, 何利华, 张建中

宋衍燕, 王海滨, 北京市朝阳区疾病预防控制中心 北京市 100021

宋衍燕, 王海滨, 何利华, 张建中, 中国疾病预防控制中心传染病所 北京市 102206

作者贡献分布: 本研究由宋衍燕与张建中设计; 引物设计以及PCR扩增由宋衍燕完成; 序列分析由王海滨与宋衍燕完成; 细菌培养由何利华与宋衍燕完成; 论文写作由宋衍燕与张建中完成。

通讯作者: 张建中, 102206, 北京市, 中国疾病预防控制中心传染病预防控制所. helico99@sina.com

电话: 010-58900754

收稿日期: 2011-09-09 修回日期: 2011-10-28

接受日期: 2011-11-04 在线出版日期: 2011-11-18

Evolution of the cagA promoter in a laboratory strain of *Helicobacter pylori* after long-term multiple subcultures

Yan-Yan Song, Hai-Bin Wang, Li-Hua He, Jian-Zhong Zhang

Yan-Yan Song, Hai-Bin Wang, Chaoyang District Centre for Disease Control and Prevention, Beijing 100021, China
Yan-Yan Song, Hai-Bin Wang, Li-Hua He, Jian-Zhong Zhang, Department of Infectious Disease, National Institute for Communicable Diseases Control and Prevention, Beijing 102206, China

Correspondence to: Jian-Zhong Zhang, Department of Infectious Diseases, National Institute of Communicable Disease Control and Prevention, Beijing 102206, China. helico99@sina.com

Received: 2011-09-09 Revised: 2011-10-28

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

Abstract

AIM: To assess the genetic stability of the cagA promoter in a laboratory strain (26695) of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) after long-term multiple subcultures.

METHODS: The promoter regions in the cagA genes of 54 subclones of the *H. pylori* 26695 strain, which has been subcultured many times for a long term, were amplified. PCR products were sequenced and analyzed using Vector NTI Suite 6 software.

RESULTS: Twenty-two (40.74%) strains had identical sequence with the *H. pylori* 26695 strain, while 32 strains (59.26%) had mutations (including substitutions, deletions and insertions) at differ-

ent sites. Mutations in T17C and A199C were found in 5 (15.63%) and 14 (43.75%) strains, respectively. Both single nucleotides or dinucleotides at positions 159 and 160 were found missing in 12 (37.5%) strains, while one strain had two A insertions after position 160 in the promoter of cagA.

CONCLUSION: Subcultures can lead to mutations in the cagA promoter in *H. pylori* 26695.

Key Words: *Helicobacter pylori*; cagA promoter; Gene mutation; Evolution

Song YY, Wang HB, He LH, Zhang JZ. Evolution of the cagA promoter in a laboratory strain of *Helicobacter pylori* after long-term multiple subcultures. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(32): 3365-3369

摘要

目的: 评价实验室长期多次传代对幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)标准菌株26695 cagA启动子基因稳定性的影响。

方法: PCR方法扩增54个不同批次保存的经过多次传代的*H. pylori* 26695克隆子的cagA启动子, 并进行测序, 使用Vector NTI Suite 6软件比对序列。

结果: 54个*H. pylori* 26695克隆子的cagA启动子序列有22个(40.74%)与NCBI公布的序列完全一致, 32个(59.26%)在不同位点发生碱基置换、缺失、插入等突变, 其中第17位碱基有5个(15.63%)发生T→C突变, 第199位碱基有14个(43.75%)发生A→C的变异, 在159-160重复碱基A处有12个(37.5%)发生缺失1个或者2个A, 还有一个多出2个A。

结论: 长期多次传代会导致*H. pylori* cagA启动子突变, 实验室使用标准菌株要注意传代记录, 建立不同等级实验室质控, 根据使用标准菌株研究内容的水平决定实验室质控的等级。

关键词: 幽门螺杆菌; cagA启动子; 基因突变; 进化

宋衍燕, 王海滨, 何利华, 张建中. 幽门螺杆菌实验室长期传代

■背景资料

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*) 26695为全基因组测序菌株, 是目前*H. pylori*研究中常用标准菌株, 在各实验室之间也被广泛交流, 但多次传代对*H. pylori* 26695的影响值得进一步探讨。

■同行评议者

白爱平, 副教授, 南昌大学第一附属医院消化内科

■研究前沿

*H. pylori*的致病机制尚待研究,但cagA是重要的毒力因子,且不同地域人种携带cagA阳性菌株宿主疾病的种类具有差异性.

表 1 32个*Helicobacter pylori* 26695克隆子的cagA启动子序列与NCBI公布序列比对结果

菌株编号	变异位点(bp)	菌株编号	变异位点(bp)	菌株编号	变异位点(bp)
T35	4: A→C	T6	170: A→G	33	17: C→T
T39	159-160: -2A	3,4,6,10,34	199: A→C	40	16: +C
T4	187: A→G	25,50,56,t25,t3	160: -A	T5	13: A→G
13	58: T→C	29,11,19	17: C→T	T19	19: A→G
			99: A→C		
8	7: +A	21	20: A→C	22	168: A→G
	199: A→C		166: T→G		199: A→C
T20	115: T→C	43	17: C→T	T31	160: -2A
	160: -A		160: +2A		167: T→C
5	17: C→T	35	17: C→T	51	160: -2A
	60: T→C		129: A→T	30	163: G→C
	165-6: TT→GG		131: A→C		199: A→C
	199: A→C		168: A→G		
			199: A→C		

+C, 插入1C; -A, 缺失1A; -2A, 缺失2A; A→C, A突变为C.

cagA启动子的进化分析. 世界华人消化杂志 2011; 19(32): 3365-3369
http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3365.asp

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)26695是目前*H. pylori*研究中常用标准菌株,为全基因组测序菌株^[1],常作为标准株进行生物学特性以及致病机制等相关的研究^[2,3]. 其在各实验室之间也被广泛交流,丁香园、螺旋网等微生物网站存在专门方便菌株质粒交流的平台. 这种广泛的交流以及实验室管理不够严格等原因很容易造成传代记录不详的现象. 然而,多次传代对*H. pylori* 26695的影响并不清楚,究竟有哪些基因会发生变化,以及这种变异对试验结果造成多大程度的影响,值得我们进一步研究. 因此,本试验以cagA基因启动子序列为目的基因,来分析菌株在实验室长期传代后的实验室进化和稳定性分析.

1 材料和方法

1.1 材料 *H. pylori* 26695菌株,由美国华盛顿大学医学院分子生物学系惠赠,由中国疾病预防控制中心传染病预防控制所传染病诊断室保存. 伯乐公司PCR仪、凝胶电泳仪、Takara和Promega公司高保真酶等分子生物学试剂、Oxoid哥伦比亚琼脂、Nu-4950E三气培养箱.

1.2 方法

1.2.1 细菌培养: 分别复苏实验室内不同传代次

数的*H. pylori* 26695菌株共计54批,编号分别为t1、t2、t3、t4、t5、t6、t19、t20、t23、t25、t39、t31、t33、t35、t40、2、3、4、5、6、8、9、10、11、12、13、14、15、18、19、21、22、25、26、29、30、33、34、35、40、41、43、44、45、47、48、50、51、54、55、56、58、59、60,编号为实验中的不同克隆子的代码,无特殊意义. 在哥伦比亚琼脂中加入10%脱纤维羊血(兰伯瑞公司),置5%O₂、10%CO₂、85%N₂三气培养箱中,37℃培养48 h.

1.2.2 引物的设计与合成: 根据NCBI公布的26695菌株的序列,其中579567-579921正向为cagA启动子的序列,设计引物序列. cagAQF 5'-ACGGTACCTAGAACTTCATGCACTCA-3'cagAQR 5'-CCGGATCC TGTTTCTCCTTAC-TATACC-3'扩增条件: 95℃预变性5 min, 94℃变性30 s, 52℃退火30 s, 72℃延伸30 s, 30个循环后72℃延伸10 min. PCR扩增产物用1.5%琼脂糖凝胶电泳,溴化乙锭染色成像.

1.2.3 测序及序列分析: 使用两种高保真Taq酶分别进行扩增,由六合通测序公司进行双向测序,使用Vector NTI Suite 6软件进行比对分析.

2 结果

2.1 两种酶扩增产物测序结果比对

Takara和Promega两种酶扩增结果直接测序,Vector NTI Suite 6比对结果显示完全一致,排除由于taq酶导致在扩增过程中变异的可能.

2.2 54个*H. pylori* 26695克隆子cagA启动子序列

■相关报道

*H. pylori*的cagA蛋白的表达上调胃泌素基因的表达; 乙肝病毒的变异以及结核杆菌的变异导致抗原表达以及耐药性等的改变,为乙肝和结核病的防治带来更大的困难,细菌和病毒本身的进化是最重要的因素.

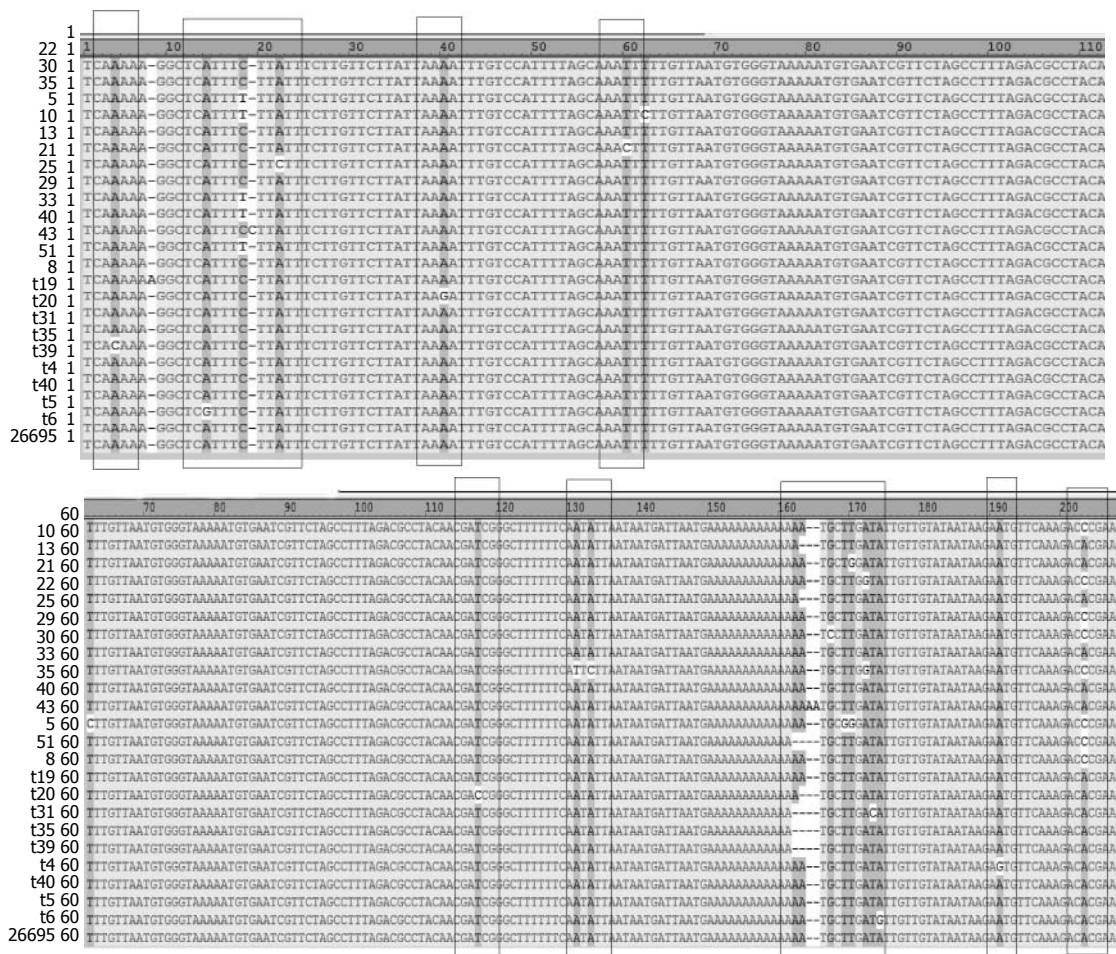


图 1 24个*Helicobacter pylori* 26695克隆子的cagA启动子序列与NCBI公布序列比对结果。

比较 多序列比对结果显示, 22(40.74%)个克隆子的启动子序列与NCBI公布的26695完全一致, 分别是2、9、12、14、15、18、26、41、44、45、47、48、54、55、58、59、60、t1、t2、t23、t33和t40, 其余32个(59.26%)克隆子在不同位点表现出不同的变异, 包括碱基置换、缺失和插入。其中25、50、56、t25、t3序列完全一致, 在第160 bp处缺失1个A; 10、3、34、4、6序列完全一致, 均在第199 bp处A→C的变异; 29、11、19完全一致, 均在第17 bp处发生C→T变异, 在第199 bp处A→C的变异。5、35发生5处碱基突变, 且均包含17 bp和199 bp处变异(表1)。

2.3 选取代表不同变异类型共计cagA启动子序列进行比对 选取代表不同变异类型共计cagA启动子序列进行比对见图1。

2.4 序列聚类分析 将54个*H. pylori* 26695克隆子的cagA启动子序列做聚类分析(图2), 编号为8、11、19、21、22、29、30、43、t20、t31的克隆子发生2处碱基变异; 5、35发生5处碱基突变, 是变异位点最多的克隆。根据聚类分析图直线

■创新盘点

*H. pylori*的致病机制研究中更多的关注其毒力岛、毒力因子, 其毒力基因相关的启动子的变异有可能导致毒力因子表达和功能的改变尚未引起足够的重视。

标尺和指示距离可以显示变异的差异。

3 讨论

本研究对54个经实验室长期多次传代的*H. pylori* 26695克隆子的cagA启动子进行了PCR扩增和测序, 并与NCBI公布的原始序列进行了对比。*H. pylori* 26695常作为标准菌株作对照或实验研究标准。结果显示多次传代的菌株其cagA启动子发生了多种突变, 包括碱基缺失、置换或插入碱基, 其中17位、199位变异较多, 分别有5株和14株发生了这2个部位的变异, 但是这些菌株之间还存在其他碱基位置的差异, 说明不属于同一株菌的重复扩增结果。

从达尔文的自然选择学说可以看出, 生物在繁衍后代的过程中, 会产生各种各样可遗传的变异, 这些可遗传的变异是生物进化的原材料。现代遗传学的研究表明, 可遗传的变异主要来自突变和基因重组。突变的利弊取决于生物的生存环境。本实验室26695菌株曾被培养过的环境是脑心浸液琼脂, 哥伦比亚琼脂, 10%脱纤维

■应用要点

本文对探讨相应基因在*H. pylori*致癌的机制有着重要的意义,也为胃癌及其癌前病变防治策略提供新的理论和实验依据;标准菌株的使用必须建立起严格的质控程序,根据研究内容决定质控等级,以免菌株变异影响实验结果。

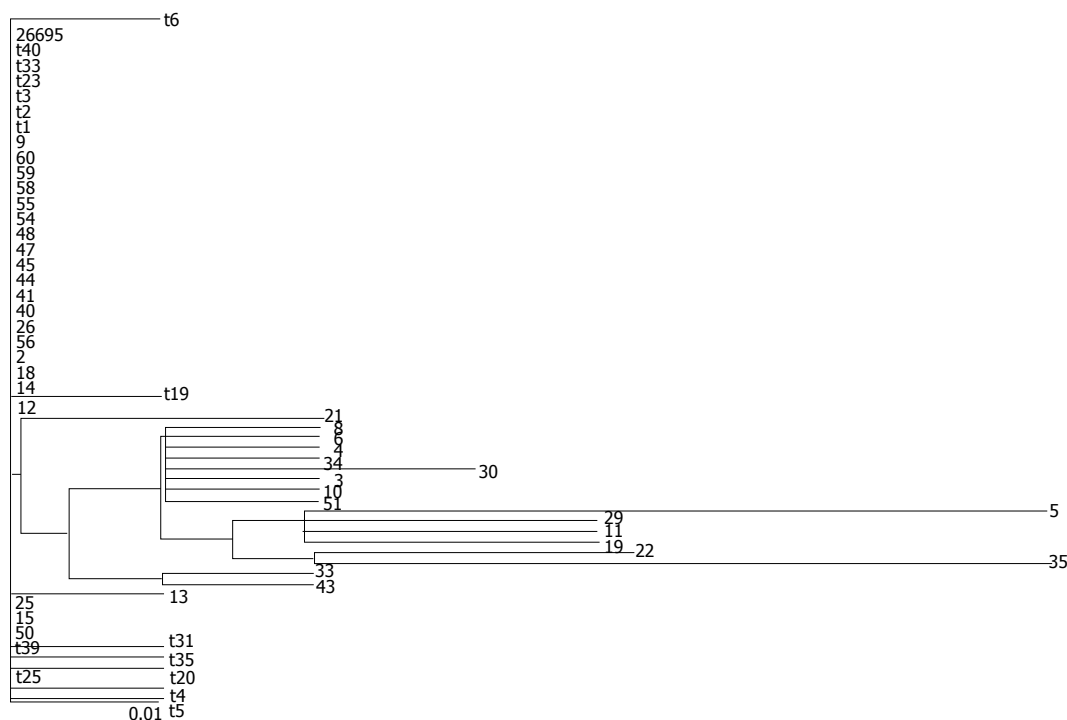


图2 54个*Helicobacter pylori* 26695克隆子的cagA启动子序列与NCBI公布序列聚类分析结果。

羊血,厌氧罐微需氧环境培养。

菌株在实验室进行培养过程中,不同培养基、气体环境会诱发不同变异,各实验室这些条件不完全相同会导致变异方向不同。基因表达存在组织特异性、细胞周期特异性和外界信号响应特异性,这些特异性都是由细胞内复杂而有序的调控机制实现的。基因转录在基因表达环节中起非常重要的作用。本实验研究的基因是*H. pylori* cagA启动子,从理论上来说启动子变异更容易引发其所调控基因转录以及蛋白功能的改变。cagA是*H. pylori*致病岛上的1个主要毒力基因^[5],启动子突变决定其相关基因转录开启或关闭,转录强弱等。cagA启动子正向25位处开始反向是cagC启动子的起始,其第4、7、8、13、16、17、19、20位碱基均有变异,其中17位碱基有15.63%变异,这些位置碱基的变异理论上不仅影响cagA也影响cagC的转录,并可能引起相应蛋白表达和功能改变。还有研究证明cagA能上调胃泌素表达^[6],可见cagA启动子的变异会引发与其基因调控以及蛋白调控相关的连锁反应,引起*H. pylori*生物学性状和功能改变。本研究中17位碱基以及199位碱基处多株菌都发生变异,其诱发因素及突变后会影响到cagA和cagC的何种功能以及引发哪些相关基因的表达等,都需进一步研究验证。很多学者^[6-9]对HBV启动子变异研究表明HBV核心区启动子变异能够

引发HBeAg表达缺失,引发免疫逃逸,在致病机制中发挥重要作用。卡介苗初始菌株和目前卡介苗的菌株基因的差异^[10]以及结核杆菌基因突变导致的耐药菌株出现^[11]都表明菌株在环境压力下的进化。亚洲人群携带菌株多为cagA阳性,但与宿主的疾病种类无明显相关^[12-15],cagA启动子的这种变异和这种现象是否有一定的关系尚待进一步研究,即cagA启动子在环境压力下的变异也可能提示一定的临床意义,*H. pylori*在人群间传播感染,可能会因人种以及个体的差异导致*H. pylori*致病基因的变异,从而使得携带同一传染源的宿主疾病的种类和进程却不一致。

本研究中*H. pylori*在环境压力下cagA启动子区域发生突变属于*H. pylori*菌进化范畴,这类进化为实验室研究带来的影响应引起高度重视。如果实验室对标准菌株管理不严格,就会导致传代次数记录不详。一旦发生变异应立即停止作为标准菌株使用,或者要根据实际情况选择。本次试验中选用的54个克隆子有59.26%发生了不同程度的变异,变异率相对较高。因此,建立实验室标准菌株不同等级质控标准,并根据研究项目内容确定质控等级是非常必要的,以确保试验数据准确性和代表性。

4 参考文献

- 1 Tomb JF, White O, Kerlavage AR, Clayton RA, Sutton GG, Fleischmann RD, Ketchum KA, Klenk HP,

- Gill S, Dougherty BA, Nelson K, Quackenbush J, Zhou L, Kirkness EF, Peterson S, Loftus B, Richardson D, Dodson R, Khalak HG, Glodek A, McKenney K, Fitzgerald LM, Lee N, Adams MD, Hickey EK, Berg DE, Gocayne JD, Utterback TR, Peterson JD, Kelley JM, Cotton MD, Weidman JM, Fujii C, Bowman C, Wathley L, Wallin E, Hayes WS, Borodovsky M, Karp PD, Smith HO, Fraser CM, Venter JC. The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature* 1997; 388: 539-547
- 2 Marais A, Mendz GL, Hazell SL, Mégraud F. Metabolism and genetics of *Helicobacter pylori*: the genome era. *Microbiol Mol Biol Rev* 1999; 63: 642-674
- 3 Wen Y, Marcus EA, Matrubutham U, Gleeson MA, Scott DR, Sachs G. Acid-adaptive genes of *Helicobacter pylori*. *Infect Immun* 2003; 71: 5921-5939
- 4 Higashi H, Tsutsumi R, Muto S, Sugiyama T, Azuma T, Asaka M, Hatakeyama M. SHP-2 tyrosine phosphatase as an intracellular target of *Helicobacter pylori* CagA protein. *Science* 2002; 295: 683-686
- 5 汪苏, 周建奖, 单可人, 赵燕, 谢渊. 幽门螺杆菌毒素相关蛋白cagA上调胃泌素基因表达. *中华微生物和免疫学杂志* 2009; 29: 976-980
- 6 房继莲, 丛旭, 李若冰, 许军, Erwin Sablon, 孙焱, 王豪, 王宇, 魏来. 乙型肝炎病毒基本核心启动子及前C区突变对疾病进展的影响. *中国实用内科杂志* 2005; 25: 233-235
- 7 刘悦晖, 丁静娟, 张权. 慢性乙型肝炎病毒感染者病毒前C区和基本核心启动子区变异检测及意义. *中华消化杂志* 2005; 25: 526-529
- 8 Li MS, Lau TC, Chan SK, Wong CH, Ng PK, Sung JJ, Chan HL, Tsui SK. The G1613A mutation in the HBV genome affects HBeAg expression and viral replication through altered core promoter activity. *PLoS One* 2011; 6: e21856
- 9 Lee SA, Kim KJ, Kim H, Kim BJ. Nucleotide change of codon 182 in the surface gene of hepatitis B virus genotype C leading to truncated surface protein is associated with progression of liver diseases. *J Hepatol* 2011; Aug 7. [Epub ahead of print]
- 10 Behr MA, Wilson MA, Gill WP, Salamon H, Schoolnik GK, Rane S, Small PM. Comparative genomics of BCG vaccines by whole-genome DNA microarray. *Science* 1999; 284: 1520-1523
- 11 Zhang L, Ye Y, Duo L, Wang T, Song X, Lu X, Ying B, Wang L. Application of genotype MTBDRplus in rapid detection of the *Mycobacterium tuberculosis* complex as well as its resistance to isoniazid and rifampin in a high volume laboratory in Southern China. *Mol Biol Rep* 2011; 38: 2185-2192
- 12 Thjodleifsson B, Asbjörnsdóttir H, Sigurjonsdóttir RB, Gíslason D, Olafsson I, Cook E, Gíslason T, Jogi R, Janson C. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* and cagA antibodies in Iceland, Estonia and Sweden. *Scand J Infect Dis* 2007; 39: 683-689
- 13 朱永良, 杜勤, 钱可大, 方平楚, 郑树. 幽门螺杆菌CagA C端功能域特征及其生物学功能研究. *中华消化杂志* 2004; 24: 278-281
- 14 Lazebnik LB, Tsaregorodtseva TM, Serova TI, Sokolova GN, Klishina MV, Gubina AV. [Antibodies to *Helicobacter pylori* in gastric diseases]. *Ter Arkh* 2006; 78: 15-19
- 15 Suriani R, Venturini I, Colozza M, Bona F, Cardesi E, Mazzucco D. *Helicobacter pylori* antibodies (CagA and VacA) detection. The link between cancer and infection. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2002; 48: 159-164

■同行评价

本研究探讨了实验室长期多次传代对*H. pylori*标准菌株26695 cagA启动子基因稳定性的影响, 发现长期多次传代会导致*H. pylori* cagA启动子突变, 提示菌种传代实验室质控的重要性. 文章选题准确, 内容新颖, 结果可靠.

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011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 0.625

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果11月26日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, 2009年《世界华人消化杂志》总被引频次3 009次, 影响因子0.625, 综合评价总分49.4分, 分别位居内科学类48种期刊的第6位、第9位、第6位, 分别位居1 946种中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)的第87位、第378位、第351位; 其他指标: 即年指标0.112, 他引率0.79, 引用刊数473种, 扩散因子15.72, 权威因子1 170.03, 被引半衰期4.0, 来源文献量752, 文献选出率0.93, 地区分布数30, 机构分布数30, 基金论文比0.39, 海外论文比0.01。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐, 《世界华人消化杂志》再度被收录为“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊)。 (编辑部主任: 李军亮 2010-11-28)

血清SOCS-3、IL-6、TNF- α 在溃疡性结肠炎患者中的变化及其相互关系

万国仕, 赵振中, 钱一龙, 谢中华, 王珠美, 朱建俊

■背景资料

溃疡性结肠炎的发病机制尚不完全明确, 其中某些细胞因子、信号传导通路等与溃疡性结肠炎的发病密切相关。随着我国近年来溃疡性结肠炎的发病率快速上升, 对这些方面因素的探讨有重要的现实意义。

万国仕, 赵振中, 钱一龙, 谢中华, 王珠美, 朱建俊, 杭州市余杭区第二人民医院 浙江省杭州市 311121

作者贡献分布: 万国仕与赵振中对此文所作贡献均等, 本课题由万国仕、赵振中及谢中华共同设计, 标本收集与管理以及ELISA检测由王珠美、钱一龙及朱建俊完成, 数据管理及统计由万国仕与赵振中完成, 论文撰写由赵振中与谢中华完成。

通讯作者: 赵振中, 硕士研究生, 311121, 浙江省杭州市余杭区余杭街道安乐路80号, 杭州市余杭区第二人民医院。

zjz2008001@sina.com.cn

收稿日期: 2011-06-14 修回日期: 2011-10-18

接受日期: 2011-11-09 在线出版日期: 2011-11-18

Changes in serum levels of SOCS-3, IL-6 and TNF- α and their correlation in patients with ulcerative colitis

Guo-Shi Wan, Zhen-Zhong Zhao, Yi-Long Qian, Zhong-Hua Xie, Zhu-Mei Wang, Jian-Jun Zhu

Guo-Shi Wan, Zhen-Zhong Zhao, Yi-Long Qian, Zhong-Hua Xie, Zhu-Mei Wang, Jian-Jun Zhu, the Second People's Hospital of Yuhang District, Hangzhou 311121, Zhejiang Province, China

Correspondence to: Zhen-Zhong Zhao, Master, the Second People's Hospital of Yuhang District, 80 Anle Road, Yuhang Street of Yuhang District, Hangzhou 311121, Zhejiang Province, China. zjz2008001@sina.com.cn

Received: 2011-06-14 Revised: 2011-10-18

Accepted: 2011-11-09 Published online: 2011-11-18

Abstract

AIM: To investigate the changes in the levels of serum suppressor of cytokine signaling-3 (SOCS-3), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in patients with ulcerative colitis (UC) and to analyze the role of SOCS-3, IL-6 and TNF- α in the genesis and development of ulcerative colitis (UC).

METHODS: According to the severity of UC, 59 patients with UC were divided into active group ($n = 46$) and remission group ($n = 13$). The numbers of patients with mild, moderate, and severe UC in the active group were 15, 24 and 7, respectively. Twenty healthy individuals served as normal controls. The levels of serum SOCS-3, IL-6 and TNF- α were determined by ELISA.

RESULTS: The levels of serum IL-6 and TNF- α were significantly higher and that of serum SOCS-3 was significantly lower in patients in the active group than in those in the remission group and control group (all $P < 0.01$). The levels of serum IL-6 and TNF- α gradually increased and that of serum SOCS-3 gradually decreased with the aggravation of UC. Significant differences were found in serum levels of SOCS-3, IL-6 and TNF- α among patients with mild, moderate or severe disease (all $P < 0.05$). A positive correlation was noted between the levels of serum IL-6 and TNF- α ($r = 0.817$, $P < 0.01$), and a negative correlation was observed between serum level of SOCS-3 and those of IL-6 and TNF- α .

CONCLUSION: A decrease in serum levels of SOCS-3 in patients with UC may correlate with the progression of UC by negatively regulating serum levels of IL-6 and TNF- α .

Key Words: Ulcerative colitis; Suppressor of cytokine signaling-3; IL-6; TNF- α

Wan GS, Zhao ZZ, Qian YL, Xie ZH, Wang ZM, Zhu JJ. Changes in serum levels of SOCS-3, IL-6 and TNF- α and their correlation in patients with ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(32): 3370-3373

摘要

目的: 观察溃疡性结肠炎(UC)患者血清SOCS-3、IL-6、TNF- α 水平变化, 探讨其在UC发生发展中的关系及意义。

方法: 选取UC患者($n = 59$), 其中活动期($n = 46$), 缓解期($n = 13$), 活动期患者中, 轻度($n = 15$), 中度($n = 24$), 重度($n = 7$)。采用ELISA法检测各组血清IL-6、TNF- α 、SOCS-3含量, 并和20例正常体检者进行对照。

结果: UC活动组患者血清中IL-6、TNF- α 含量均明显高于对照组及缓解组($P < 0.01$), 而血清SOCS-3含量显著低于对照组及缓解组。

■同行评议者

邢建峰, 副教授, 西安交通大学医学院

($P < 0.01$); 活动组中, 轻、中、重度患者血清IL-6、TNF- α 含量随严重程度逐渐升高, 血清SOCS-3含量逐渐降低, 三级之间差异均具有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$); 相关性分析表明, 血清IL-6含量与TNF- α 含量呈明显正相关($r = 0.817$, $P < 0.01$); 血清SOCS-3含量与IL-6、TNF- α 含量均呈明显负相关($r = -0.667$ 、 -0.611 , $P < 0.01$).

结论: UC患者血清SOCS-3水平明显降低, 其可能通过负性调节IL-6、TNF- α 参与UC的发生发展, 且与病情的严重程度有关.

关键词: 溃疡性结肠炎; 细胞因子信号转导抑制因子-3; IL-6; TNF- α

万国仕, 赵振中, 钱一龙, 谢中华, 王珠美, 朱建俊. 血清SOCS-3、IL-6、TNF- α 在溃疡性结肠炎患者中的变化及其相互关系. 世界华人消化杂志. 2011; 19(32): 3370-3373
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3370.asp>

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种原因不明的肠道慢性非特异性炎症性肠病, 病程迁延, 容易反复发作, 是一种难治性疾病^[1]. 其发病和多种因素有关, 其中先天性免疫和适应性免疫调节异常在UC中发挥重要作用, 而这些免疫系统分泌的细胞因子在UC的发生和发展过程中扮演了重要角色. 国内外不少研究已经证实白介素(interleukin, IL)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)等众多细胞因子参与调控UC炎症的发展和变化^[2,3], 但对其作用机制却不是十分明确. 本研究通过检测溃疡性结肠炎患者血清IL-6、TNF- α 、SOCS-3含量, 探讨SOCS-3在UC发病机制中的作用及其与IL-6、TNF- α 的关系, 以期UC的防治提供新靶点和途径.

1 材料和方法

1.1 材料 采集2009-10/2011-02门诊及体检UC患者($n = 59$), 诊断标准参照2007-05济南召开的中华医学会第7次全国消化病学术会议上制定的《中国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见》^[4], 所有入组病例在1 mo内均未服用激素及细胞毒药物, 并排除肠道肿瘤及风湿性疾病患者. 入组的病例均接受全结肠镜检查, 并根据临床表现、全结肠镜检查结果及病理组织学检查, 采用Mayo评分系统^[5]分为活动期和缓解期, 其中活动期($n = 46$), 缓解期($n = 13$), 并相应地将其分为活动组和缓

解组. 再根据标准^[4]中的疾病严重分度将UC患者($n = 46$)分为轻度($n = 15$)、中度($n = 24$)和重度($n = 7$). 并选取健康体检者($n = 20$)作为对照组进行对照. UC活动组中男($n = 26$), 女($n = 20$), 平均年龄(43.18 ± 2.58)岁; 缓解组中男($n = 7$), 女($n = 6$), 平均年龄(42.20 ± 3.64)岁; 对照组中男($n = 9$), 女($n = 11$), 平均年龄(43.32 ± 3.78)岁.

1.2 方法

1.2.1 标本处理: 对满足条件的患者和体检者于空腹状态下采集前臂静脉血5 mL, 置于未抗凝的塑料试管中, 室温下放置1 h后, 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心10 min(2 000 r/min), 取血清放置在-20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中待用.

1.2.2 观察指标和方法: 采用ELISA法检测血清IL-6、TNF- α 、SOCS-3含量, IL-6、TNF- α 、SOCS-3 ELISA试剂盒均由深圳晶美生物工程有限公司提供, 严格按照操作说明书进行检测. 测定仪器为上海迅达医疗仪器公司XD-7n型酶标分析仪.

统计学处理 采用SPSS11.5软件进行统计, 对数据行描述性分析、正态性检验及方差齐性检验; 在描述性分析中, 对于正态分布的数据, 以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 正态分布数据经方差齐性检验后采用独立样本的 t 检验, 非正态分布数据用两独立样本的非参数检验; 相关性分析采用Spearman进行分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义.

2 结果

2.1 UC组与对照组血清IL-6、SOCS-3、TNF- α 含量比较 UC活动组患者血清中IL-6、TNF- α 含量均明显高于对照组及缓解组($P < 0.01$), 血清SOCS-3含量显著低于对照组及缓解组($P < 0.01$), 而缓解组与对照组间无统计学差异($P > 0.05$, 表1).

2.2 轻、中、重度UC患者血清IL-6、SOCS-3、TNF- α 含量比较 随着病情严重程度的增加, UC患者血清IL-6、TNF- α 含量亦呈增加趋势, 血清SOCS-3含量则逐渐下降. 其中重度UC患者IL-6较轻、中度患者明显增加($P < 0.01$), 中度患者血清IL-6、TNF- α 含量较轻度患者亦有明显增加($P < 0.05$). 中、重度UC患者血清SOCS-3含量较轻度患者显著减少($P < 0.05$, $P < 0.01$), 重度患者减少更为明显($P < 0.05$, 表2).

2.3 相关性 Spearman检验显示, 血清IL-6含量与TNF- α 含量呈明显正相关($r = 0.817$, $P < 0.01$); 血清SOCS-3含量与IL-6、TNF- α 含量均呈明显负

■ 研发前沿

国内外不少研究已经证实IL-6、TNF- α 等众多细胞因子参与调控UC炎症的发展和变化, 但对其作用机制却不是十分明确.

■相关报道

细胞因子信号传导抑制因子-3(suppress of cytokine signaling-3, SOCS-3)可由IL-6、TNF- α 诱导产生,并进而负反馈抑制其信号传导。

表 1 UC组与对照组血清IL-6、SOCS-3、TNF- α 含量比较 (ng/L, mean \pm SD)

分组	<i>n</i>	IL-6	TNF- α	SOCS-3
UC活动组	46	78.21 \pm 31.76 ^{bd}	33.61 \pm 10.25 ^{bd}	33.81 \pm 12.01 ^{bd}
缓解组	13	15.91 \pm 7.10	9.53 \pm 3.42	98.66 \pm 13.92
对照组	20	16.55 \pm 6.33	8.26 \pm 4.10	96.49 \pm 15.05

^b*P*<0.01 vs 缓解组; ^d*P*<0.01 vs 对照组。

表 2 轻、中、重度UC患者血清IL-6、SOCS-3、TNF- α 含量比较 (ng/L, mean \pm SD)

严重程度	<i>n</i>	IL-6	TNF- α	SOCS-3
轻度组	15	70.73 \pm 25.66	37.99 \pm 10.17 ^e	36.37 \pm 12.04
中度组	24	77.02 \pm 27.93 ^e	38.06 \pm 9.78 ^a	31.08 \pm 10.36 ^e
重度组	7	88.20 \pm 16.71 ^{bd}	30.77 \pm 11.23	24.55 \pm 11.42 ^{bc}

^a*P*<0.05, ^b*P*<0.01 vs 轻度; ^c*P*<0.05, ^d*P*<0.01 vs 中度; ^e*P*<0.05 vs 轻度。

相关(*r* = -0.667、-0.611, *P*<0.01)。

3 讨论

近年来,随着人们生活水平的提高,生活方式的变化,UC发病率有逐年升高的趋势。有资料显示,在过去20年内,我国UC的发病率增高了6倍^[6]。近年来,对UC的发病机制有了进一步深入的研究。目前认为,细胞因子失衡是UC产生肠道非特异性炎症反应的核心环节。UC患者肠黏膜促炎细胞因子表达升高,抑炎因子分泌相对不足,使肠黏膜产生过强的炎症反应,引起肠道损伤^[7]。其中过度表达的炎症细胞因子是炎症反应的关键介质。不少研究发现IL-6、TNF- α 等众多促炎症细胞因子介导了UC的发病,其过度表达可影响肠上皮细胞的电解质分泌,使其通透性增强,破坏肠道黏膜的屏障功能^[8],但具体机制仍不完全清楚。

近年有体外试验发现,SOCS-3能被IL-6、TNF- α 诱导生成^[9]。SOCS-3是SOCS家族的主要成员之一,广泛分布于心脏、肠道、肝脏等组织器官,主要参与负调控生长激素、IL、TNF等细胞因子信号转导,在许多免疫性疾病和感染性疾病中发挥重要的作用,不仅作为许多信号通路中的负调控蛋白,还参与许多免疫反应的启动和信号通路网络的串话作用^[10,11]。目前,SOCS-3在UC中的作用仍不清楚。本研究通过检测UC患者血清IL-6、TNF- α 与SOCS-3含量发现,UC活动组患者血清IL-6、TNF- α 显著高于对照组及缓解组,且在UC不同的病变程度

下,其含量随着病情的加重逐渐升高,其中重度UC患者较轻、中度患者显著升高,相关性分析表明血清IL-6含量与TNF- α 含量呈明显正相关,提示IL-6、TNF- α 均参与了UC的发病,且与UC病变程度密切相关,这与国内任保从的研究一致^[12]。其可能的原因是UC程度越重,刺激免疫系统产生的促炎因子的能力越强。IL-6是主要的前炎症因子,在复杂的细胞因子网络中处于中心地位。IL-6可通过诱导磷脂酶-2基因的表达刺激TNF- α 产生。TNF- α 是主要由单核巨噬细胞产生的一个多效性的炎症性细胞因子,其在T细胞依赖的肠道炎症中起着重要的促进和放大作用。在UC的发生发展中,IL-6与TNF- α 起协同作用。

本研究还发现,UC活动组患者血清SOCS-3水平较对照组及缓解组明显减低(*P*<0.01),且随UC程度的增加而下降,在重度UC患者中减低最显著。相关性分析发现,血清SOCS-3含量与IL-6、TNF- α 含量均呈明显负相关,提示SOCS-3可能通过负性调节IL-6、TNF- α 参与UC的发生发展。SOCS-3是细胞信号转导通路JAK/STAT最重要的抑制信号因子,正常情况下,细胞内的SOCS-3表达水平极低,但多种细胞因子、生长因子可诱导SOCS-3在15-30 min内迅速合成。已被证实,IL-6和TNF- α 可通过Janus激酶/信号转导和转录激活子(janus kinase-signal transducer and activator of transcription, JAK/STAT)信号途径诱导SOCS-3的表达^[13]。SOCS-3与特异性细胞因子受体结合后,通过JAK/STAT信号转导而诱导表

达, 其表达产物又反过来特异性地抑制细胞因子介导的JAK/STAT信号通路。目前发现, SOCS-3主要通过抑制JAK的内在激酶活性, 与细胞因子受体结合, 介导信号蛋白依赖蛋白酶体(proteasome)的降解过程3种方式对JAK/STAT通路进行调节^[14]。Berlato等^[15]发现LPS能诱导巨噬细胞产生SOCS-3, 而产生的SOCS-3又能抑制LPS刺激巨噬细胞分泌一氧化氮(NO)、TNF- α 、IL-6等效应分子。由此可见, SOCS-3的表达增加, 能抑制炎症因子的产生, 减轻炎症损伤。

总之, SOCS-3可能通过负性调节IL-6、TNF- α 参与UC的发生发展, 且与UC的严重程度相关。以SOCS-3为靶标, 通过促进SOCS-3的表达可能是抑制UC炎症发展的新途径, 但UC中IL-6、TNF- α 与SOCS-3的确切关系及机制尚须相关基础与临床继续深入研究。

4 参考文献

- 1 宋卫生, 刘思德. 溃疡性结肠炎药物治疗进展. 中国消化内镜 2008; 2: 18
- 2 张凯, 邓子辉, 薛辉, 郝秀华, 颜光涛. 溃疡性结肠炎患者血清中Leptin与炎症因子TNF- α 、IL-1 β 、IL-6的表达水平及意义. 军医进修学院学报 2011; 32: 386-388
- 3 Fantini MC, Pallone F. Cytokines: from gut inflammation to colorectal cancer. *Curr Drug Targets* 2008; 9: 375-380
- 4 中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组. 中国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见. 中华内科杂志 2008; 47: 73-78
- 5 Gionchetti P, D'Arienzo A, Rizzello F, Manguso F, Maieron R, Lecis PE, Valpiani D, Iaquinto G, Annesse V, Balzano A, Varoli G, Campieri M. Topical treatment of distal active ulcerative colitis with beclomethasone dipropionate or mesalamine: a single-blind randomized controlled trial. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39: 291-297
- 6 Chow DK, Leong RW, Tsoi KK, Ng SS, Leung WK, Wu JC, Wong VW, Chan FK, Sung JJ. Long-term follow-up of ulcerative colitis in the Chinese population. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 647-654
- 7 Sventoraityte J, Zvirbliene A, Kiudelis G, Zalinkevicius R, Zvirbliene A, Praskevicius A, Kupcinskis L, Tamosiunas V. Immune system alterations in patients with inflammatory bowel disease during remission. *Medicina(Kaunas)* 2008; 44: 27-33
- 8 宋爱玲. TNF- α 、IL-6、IL-8与溃疡性结肠炎严重程度相关研究. 中国实用医药 2008; 3: 3-4
- 9 Senn JJ, Klover PJ, Nowak IA, Zimmers TA, Koniaris LG, Furlanetto RW, Mooney RA. Suppressor of cytokine signaling-3 (SOCS-3), a potential mediator of interleukin-6-dependent insulin resistance in hepatocytes. *J Biol Chem* 2003; 278: 13740-13746
- 10 Dimitriou ID, Clemenza L, Scotter AJ, Chen G, Guerra FM, Rottapel R. Putting out the fire: coordinated suppression of the innate and adaptive immune systems by SOCS1 and SOCS3 proteins. *Immunol Rev* 2008; 224: 265-283
- 11 Li Y, Chu N, Rostami A, Zhang GX. Dendritic cells transduced with SOCS-3 exhibit a tolerogenic/DC2 phenotype that directs type 2 Th cell differentiation in vitro and in vivo. *J Immunol* 2006; 177: 1679-1688
- 12 任保从. 溃疡性结肠炎患者血清IL-6、IL-8、TNF- α 水平变化及意义. 山东医药 2010; 50: 57
- 13 El Kasmi KC, Holst J, Coffre M, Mielke L, de Pauw A, Lhocine N, Smith AM, Rutschman R, Kaushal D, Shen Y, Suda T, Donnelly RP, Myers MG, Alexander W, Vignali DA, Watowich SS, Ernst M, Hilton DJ, Murray PJ. General nature of the STAT3-activated anti-inflammatory response. *J Immunol* 2006; 177: 7880-7888
- 14 樊娟. SOCS和IFN对JAK/STAT活化的影响和意义. 国际免疫学杂志 2008; 31: 311-313
- 15 Berlato C, Cassatella MA, Kinjyo I, Gatto L, Yoshimura A, Bazzoni F. Involvement of suppressor of cytokine signaling-3 as a mediator of the inhibitory effects of IL-10 on lipopolysaccharide-induced macrophage activation. *J Immunol* 2002; 168: 6404-6411

■同行评价

本研究通过检测溃疡性结肠炎患者血清IL-6、TNF- α 、SOCS-3含量, 以探讨其与溃疡性结肠炎以及疾病严重程度的关系, 有一定的新意。

编辑 李军亮 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

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