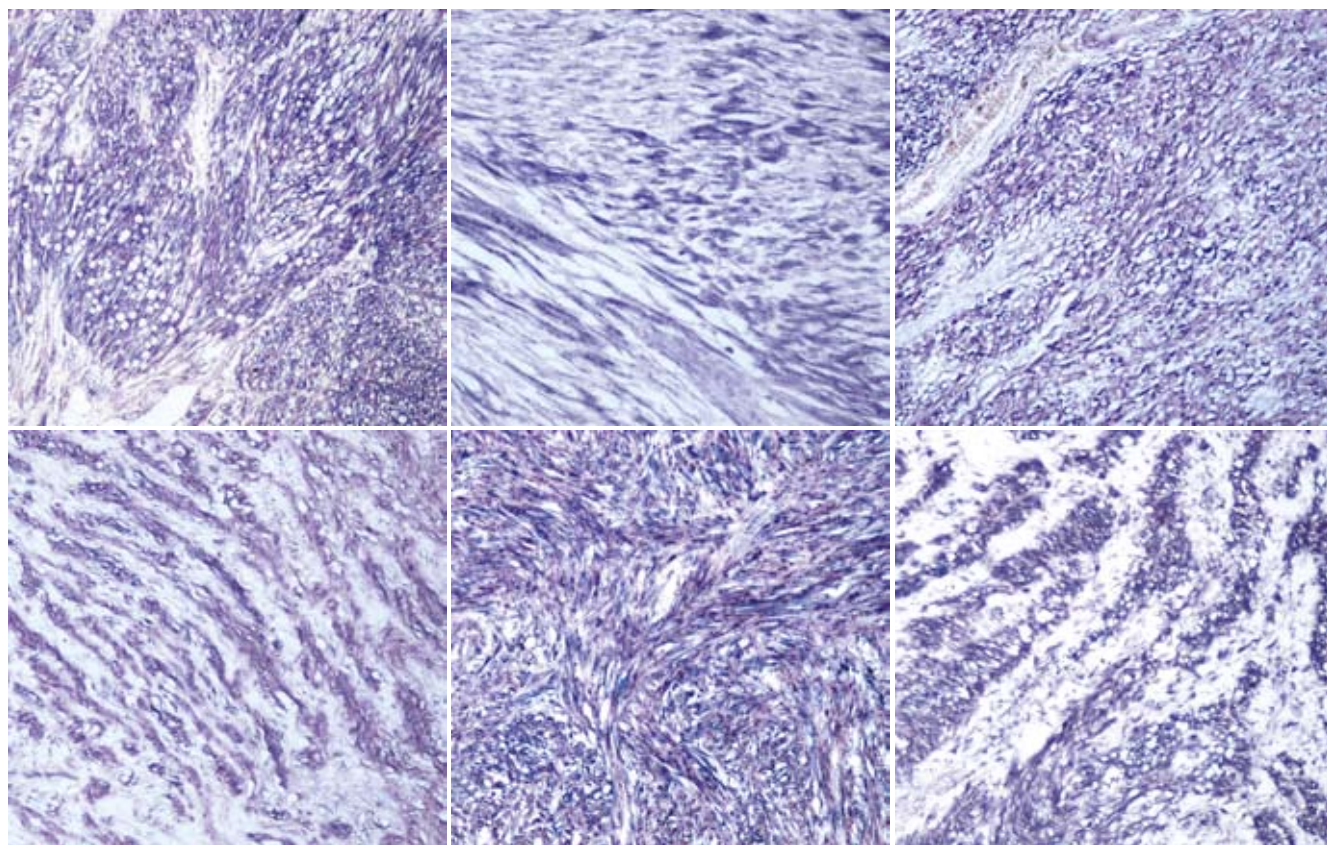


世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2007年9月8日 第15卷 第25期 (Volume 15 Number 25)



25 / 2007

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

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

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2006-01-01/2008-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

总顾问

陈可冀教授
黄象谦教授
黄志强教授
裘法祖教授
王宝恩教授
危北海研究员
吴孟超教授
杨春波教授
周殿元教授

名誉总编辑

潘伯荣教授

社长/总编辑

马连生教授

副总编辑

陈士葆教授
房殿春教授
纪小龙教授
姜洪池教授
王苑本教授
吴云林教授
徐克成教授
杨思风教授
姚希贤教授
岳茂兴教授
张万岱教授
周学文教授

常务编委

成军教授
程英升副教授
范学工教授
高毅主任医师
江学良主任医师
李岩教授
刘连新教授
吕宾教授
罗和生教授
聂青和副教授
王小众教授

编委

白爱平主治医师

白文元教授

白玉贤教授

别平教授

蔡淦教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

曹洁副教授

曹志成院士

苌新明教授

陈国凤主任医师

陈公琰主任医师

陈海龙教授

陈红松副教授

陈积圣教授

陈建杰教授

陈建荣副教授

陈力教授

陈立波副教授

陈凇教授

陈尼维主任医师

陈其奎教授

陈强谱教授

陈仕珠主任医师

陈卫昌教授

陈耀凯副教授

陈贻胜教授

陈玉林教授

陈知水教授

陈治水主任医师

陈祖林副教授

程爱国教授

程爱群主任医师

程斌副教授

程红岩教授

程树群副教授

迟宝荣教授

迟强教授

崔乃强教授

崔彦教授

崔毅主任医师

崔云甫教授

代文杰教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

党双锁副教授

邓长生教授

丁士刚主任医师

丁义涛教授

丁佑铭教授

董蕾教授

董明主任医师

杜群副研究员

杜祥教授

樊红副教授

范建高教授

范小玲主任医师

范志宁主任医师

房静远教授

冯红主任医师

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

傅红副教授

傅华群教授

傅志仁主任医师

高成新教授

高春芳研究员

高峰教授

高润平教授

高英堂研究员

戈之铮教授

龚国忠教授

龚建平教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾岩教授

关玉盘教授

管冬元副教授

郭克建教授

郭晓钟教授

郭新宁教授

韩天权教授

韩新巍教授

郝春秋副教授

郝俊鸣副主任医师

何超教授

何生教授

何生松教授

何裕隆教授

何振平教授

洪天配教授

侯晓华教授

胡伏莲教授

胡和平主任医师

黄恒青主任医师

黄金华副教授

黄文林教授

黄晓东副主任医师

黄颖秋教授

黄裕新教授

黄志勇副教授

霍丽娟主任医师

季国忠副教授

季加孚教授

姜波健教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

江家骥教授

蒋龙元副教授

金懋林教授

金瑞教授

匡安仁教授

兰平教授

蓝宇教授

劳绍贤教授

黎乐群教授

李定国教授

李东辉教授

李方儒教授

李国威教授

李华山副主任医师

李继强教授

李健丁教授

李杰副教授

李靖副教授

李军祥教授

李奇林教授

李胜研究员

李淑德教授

李涛主治医师

李小荣教授

李晓宇主任医师

李旭副教授

李延青教授

李永哲副研究员

李玉民教授

李玉明教授

李瑜元教授

李瑗教授

李增山副教授

李兆申教授

李振华教授

李智伟教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

林胜璋副教授

林勇讲师

林志辉教授

刘宝瑞教授

刘彬彬副研究员

刘冰熔教授

刘成海研究员

刘海林主任医师

刘建教授

刘鲁明教授

刘平教授

刘杞教授

刘铁夫教授

刘颖斌副教授

刘勇钢副主任医师

刘云鹏教授

刘占举教授

刘志苏教授

刘正稳教授

刘作金副教授

龙致贤教授

卢榜裕教授

卢实春教授

鲁华玉研究员

陆才德教授

陆伦根教授

陆云飞教授

禄韶英主治医师

吕明德教授

吕宁主任医师

吕云福教授

吕志武教授

马大烈教授

马金城教授

马力文主任医师

马欣主任医师

茅爱武主任医师

毛高平主任医师

世界华人消化杂志®

编辑委员会

梅林教授	施瑞华教授	王烈主任医师	许玲副教授	张军教授
梅铭惠教授	师英强博士	王鲁副教授	许文燮教授	张明辉副主任医师
孟庆华教授	石统东副教授	王石林主任医师	许亚平副教授	张青云研究员
宁琴教授	宋世兵主任医师	王晓艳副教授	宣世英教授	张群华教授
倪润洲教授	宋于刚教授	王效民教授	闫惠平研究员	张水军教授
牛建昭教授	宋振顺教授	王新月教授	严律南教授	张小晋主任医师
牛俊奇教授	孙诚谊教授	王学美研究员	严以群主任医师	张晓岚教授
欧希龙副教授	孙殿兴主任医师	王怡主任医师	阎晓初副教授	张绪清副教授
潘林娜教授	孙富强副教授	王正康教授	杨冬华教授	张学教授
潘兴华副主任医师	孙家邦教授	王志刚副主任医师	杨广顺教授	张肇达教授
潘秀珍教授	孙侃教授	王忠裕教授	杨建民教授	张占卿主任医师
彭波副教授	孙秀发教授	卫洪波教授	杨建勇教授	张志坚教授
彭吉润主任医师	孙学英教授	魏经国教授	杨林副研究员	张宗明教授
彭曦副研究员	孙延平副主任医师	魏来教授	杨维良教授	赵桂鸣主任医师
彭心宇教授	邰升副教授	闻勤生教授	杨希山教授	赵桂珍教授
彭志海教授	谭德明教授	吴德全教授	杨尹默教授	赵景民教授
朴熙绪主任医师	谭群友副教授	吴河水教授	杨幼林主任医师	赵连三教授
朴云峰教授	谭学瑞教授	吴建国教授	杨云生教授	赵平副教授
钱建民教授	汤恢焕教授	吴健雄教授	杨昭徐教授	赵晓晏教授
钱林学主任医师	汤展宏副教授	吴金术教授	姚登福教授	赵增仁副主任医师
秦波教授	唐采白副教授	吴君主任医师	姚鹏副教授	郑加生主任医师
秦成勇教授	唐笑爱教授	吴萍主任医师	姚树坤教授	郑民华教授
秦春宏副主任医师	唐霓副研究员	吴晴教授	叶红军主任医师	郑鹏远教授
秦华东教授	唐丽安教授	吴泰璜教授	伊力亚尔·夏合丁教授	智发朝教授
秦环龙教授	唐世刚教授	吴晓东教授	阴赓宏研究员	钟德珩教授
秦仁义教授	唐文富主治医师	吴志勇教授	殷正丰教授	周伯平教授
邱宝安主任医师	唐文皓副主任医师	席启主任医师	于恩达教授	周丁华主任医师
邱双健副教授	唐晓鹏教授	夏建川研究员	于聪慧教授	周国雄主任医师
邱伟华副主任医师	唐旭东主任医师	向德兵讲师	于红刚副教授	周士胜教授
仇毓东副教授	唐志鹏研究员	肖恩华教授	于健春教授	周伟平教授
裴正军教授	田德安主任医师	谢敏主任医师	于良副教授	周文兴教授
曲智威副主任医师	田素礼教授	谢青教授	于晓峰主任医师	周霞秋教授
任超世研究员	田晓峰教授	谢晓华副教授	于颖彦教授	周晓东研究员
任粉玉副教授	童强主任医师	邢光明教授	于则利教授	周晓武副主任医师
任建安教授	屠红副研究员	熊斌教授	余宏宇教授	朱传武副主任医师
任建林教授	万军教授	徐爱民副教授	郁宝铭教授	朱春兰主任医师
邵成浩讲师	汪波副主任医师	徐存拴教授	郁正亚副教授	朱立元教授
邵先玉教授	汪思应教授	徐大华主任医师	喻荣彬副教授	朱人敏教授
邵永孚教授	王邦茂教授	徐德忠教授	袁伟建教授	庄林主任医师
沈柏用副教授	王炳元教授	徐列明教授	曾勇教授	邹小明教授
沈洪教授	王承党副教授	徐宁志研究员	展玉涛副主任医师	左国营副主任药师
沈俊教授	王春友教授	徐小元教授	张柏和教授	
沈琳主任医师	王广义教授	徐秀英副教授	张方信主任医师	
沈世强教授	王济明教授	徐迎新研究员	张凤春教授	
沈守荣教授	王吉耀教授	徐智教授	张国梁主任医师	
沈薇教授	王健生副教授	许春舫主任医师	张集昌主任医师	
沈岩主任医师	王凯教授	许戈良教授	张吉翔教授	
施诚仁教授	王莉瑛教授	许乐主任医师	张锦生教授	

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ●

2007 年 9 月 8 日

第 15 卷

第 25 期

(总第213期)

述 评

- 2665 Barrett食管与贲门癌
张军, 程妍
- 2669 根除幽门螺杆菌可否作为胃癌的化学预防手段?
吕宾

文 献 综 述

- 2672 胃癌分子靶向治疗的现状与进展
吕伟, 陈凇
- 2679 SELDI-TOF MS技术在胰腺癌早期诊断中的应用
王磊, 刘海林
- 2684 TLR4, NF- κ B与急性胰腺炎
王昆宁, 徐敏
- 2690 幽门螺杆菌致病机制及益生菌防治作用的研究进展
陈云华, 汪春莲, 谢云
- 2698 幽门螺杆菌耐药分子机制研究进展
林国友

研究快报

- 2704 NM-3含药血清对体外胃癌细胞株SGC-7901生长和VEGF及其受体KDR、Flt-1表达的影响
宋明全, 朱金水, 朱励, 张强, 李沁, 郭花, 张卫平
- 2709 肝瘤口服液含药血清对人肝癌BEL-7402细胞系侵袭和转移的影响
郭昱, 郭霞, 韩俊岭, 姚树坤
- 2714 多巴胺调控实验性梗阻性黄疸围手术期肾髓质水通道蛋白2表达
王勇, 陈卫民, 高林林, 刘金钢
- 2718 肠易激综合征大鼠内脏敏感性和脊髓背角5-HT和c-fos的表达
孙刚, 杨云生, 彭丽华, 王巍峰

临 床 经 验

- 2723 暂时性金属支架扩张术治疗贲门失弛缓症对食管动力中远期的影响
陈尼维, 朱金水, 陈维雄, 孙群, 王如华
- 2726 实时灰阶超声造影在肝肿瘤诊断中的价值
王洪波, 侯秀娟, 王晓蕾, 王虹, 刘爱武
- 2730 亚硒酸钠作用的树突状细胞体外抗乙型肝炎病毒效应
陈显兵, 管小琴, 肖明
- 2734 腹腔镜联合胆道镜治疗胆管结石160例
刘树清, 陈书忠, 吴云光, 余明豪
- 2737 观察和检测肠胆反流现象方法学的建立
吴硕东, 金俊哲, 张振海, 孙韶龙, 田雨, 王昊霖, 张立魁
- 2741 胰腺神经鞘瘤50例
李新星, 郑继慧, 戴朝六, 闫兆鹏, 张逸婧
- 2747 中西医结合治疗急性重症胰腺炎28例
王黎明, 罗华, 王懿娜, 曾英, 苏惠芬
- 2750 双气囊电子小肠镜检查小肠疾病62例
付俊林, 叶华曦, 熊锋宝, 陈江琴, 姚彩芳, 孙明明
- 2754 亚甲基四氢叶酸还原酶基因C677T多态与结直肠癌遗传易感性的相关性

	<p>金夏祥, 朱忠政, 王爱忠, 贾杭若</p> <p>2758 超声诊断非肿瘤性肠壁增厚性病变73例</p> <p>陶春梅, 李瀾, 王学梅</p>
致 谢	2762 致谢世界华人消化杂志编委
消 息	<p>2668 消化内镜诊疗技术研讨班通知(第一轮)</p> <p>2671 世界华人消化杂志关于作者署名的声明</p> <p>2683 2007全国早期胃癌及消化病进展研讨会征文通知</p> <p>2689 中华医学会第五届消化内镜学分会青年委员会成立大会暨第三届学会研讨会通知</p> <p>2697 APASL 2008 Seoul</p> <p>2703 中国学术期刊综合引证报告(2006)</p> <p>2713 欢迎订阅2008年《世界华人消化杂志》</p> <p>2722 世界华人消化杂志的同行评价</p> <p>2729 第三届国际微创外科论坛暨2007年天津市消化内镜学年会征文通知</p> <p>2733 关于2006年度山西省期刊质量评估结果的通报</p> <p>2740 2007年国际会议</p> <p>2746 第四届哈尔滨全国消化内镜学术会议通知</p> <p>2761 世界华人消化杂志在线办公系统</p>
封面故事	<p>Toshiyuki Nakayama, Maki Inaba, Shinji Naito, Yumi Mihara, Shiro Miura, Mitsuru Taba, Ayumi Yoshizaki, Chun-Yang Wen, Ichiro Sekine. Expression of Angiopoietin-1, 2 and 4 and Tie-1 and 2 in gastrointestinal stromal tumor, leiomyoma and schwannoma.</p> <p><i>World J Gastroenterol</i> 2007; 13(33): 4473-4479</p> <p>http://www.wjgnet.com/1007-9327/13/4473.asp</p>
国际会议	<p>Meeting Falk Symposium 161: Future Perspectives in Gastroenterology</p> <p>11-12 October 2007</p> <p>Dresden</p> <p>symposia@falkfoundation.de</p>

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2007-09-08

原刊名 新消化病学杂志

名誉总编辑 潘伯荣 总 编 辑 马连生

编辑部主任 张海宁 责任编辑 程剑侠

中文 编 辑 程剑侠 何 燕

电子 编 辑 何基才 郭海丽

英文 编 辑 理文编辑

期 刊 名 称 世界华人消化杂志

主 管 单 位 山西省科学技术厅

主 办 单 位 太原消化病研究中心

编辑 世界华人消化杂志编辑委员会
030001, 山西省太原市双塔西街77号
电话: 0351-4078656

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版 世界华人消化杂志编辑部
030001, 山西省太原市双塔西街77号
电话: 0351-4078656

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

印刷 北京科信印刷厂

发行 国内: 北京报刊发行局

国外: 中国国际图书贸易总公司

(100044, 北京市399信箱)

订购 全国各地邮电局

邮购 世界华人消化杂志编辑部

030001, 山西省太原市双塔西街77号

电话: 0351-4078656

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

世界华人消化杂志对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被美国《化学文摘》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘》, 俄罗斯《文摘杂志》收录。

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

特别声明

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

2007年版权归世界华人消化杂志所有

中国标准连续出版物号 **ISSN 1009-3079**
CN 14-1260/R

邮发代号
82-262

国外代号
M 4481

国内定价
每期24.00元 全年864.00元

广告经营许可证
1401004000050

www.wjgnet.com

World Chinese Journal of Digestology

September 2007 Contents in Brief Volume 15 Number 25

EDITORIAL	<p>2665 Relationship between Barrett's esophagus and cardia adenocarcinoma <i>Zhang J, Cheng Y</i></p> <p>2669 Is the eradication of <i>Helicobacter pylori</i> a way to prevent gastric cancer? <i>Lv B</i></p>
REVIEW	<p>2672 Current status and recent developments in the molecular targeted therapy against gastric cancer <i>Lv W, Chen L</i></p> <p>2679 Application of surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry for early detection of pancreatic cancer <i>Wang L, Liu HL</i></p> <p>2684 Relationship of toll-like receptor 4, nuclear factor kappa B and acute pancreatitis <i>Wang KN, Xu M</i></p> <p>2690 Progress of research into the pathogenic mechanism of <i>Helicobacter pylori</i> and the preventive role of probiotics in <i>H pylori</i> infection <i>Chen YH, Wang CL, Xie Y</i></p> <p>2698 Progress in research into the molecule mechanism of drug resistance of <i>Helicobacter pylori</i> <i>Lin GY</i></p>
RAPID COMMUNICATION	<p>2704 Effects of NM-3-containing serum on endothelial growth factor and its receptors KDR and Flt-1 in human gastric cancer SGC-7901 cell line <i>Song MQ, Zhu JS, Zhu L, Zhang Q, Li Q, Guo H, Zhang WP</i></p> <p>2709 Effects of ganzheng solution on invasion and metastasis of human hepatocellular line BEL-7402 <i>in vitro</i> <i>Guo Y, Guo X, Han JL, Yao SK</i></p> <p>2714 Dopamine modulates perioperative renal medulla aquaporin 2 expression in experimental obstructive jaundice <i>Wang Y, Chen WM, Gao LL, Liu JG</i></p> <p>2718 Visceral sensitivity and expression of 5-hydroxytryptamine and c-fos in the spinal dorsal horn in a rat model with irritable bowel syndrome <i>Sun G, Yang YS, Peng LH, Wang WF</i></p>
CLINICAL PRACTICE	<p>2723 Long-term effects of achalasia on esophageal motility following temporary internal metal stent dilation <i>Chen NW, Zhu JS, Chen WX, Sun Q, Wang RH</i></p> <p>2726 Diagnostic value of real-time grey-scale contrast-enhanced ultrasonography for hepatic tumors <i>Wang HB, Hou XJ, Wang XL, Wang H, Liu AW</i></p> <p>2730 Cytotoxic-T-lymphocyte-mediated anti-HBV effects of dendritic cells sensitized by sodium selenite <i>in vitro</i> <i>Chen XB, Guan XQ, Xiao M</i></p> <p>2734 Laparoscopy combined with choledochoscopy for the treatment of bile duct calculi: 160 cases analysis</p>

	<p><i>Liu SQ, Chen SZ, Wu YG, She MH</i></p> <p>2737 Establishing a methodology for detection and confirmation of duodenal-biliary reflux <i>Wu SD, Jin JZ, Zhang ZH, Sun SL, Tian Y, Wang HL, Zhang LK</i></p> <p>2741 Analysis of 50 cases of pancreatic schwannoma <i>Li XX, Zheng JH, Dai CL, Yan ZP, Zhang YJ</i></p> <p>2747 Integrated traditional Chinese and Western medicine in treatment of severe acute pancreatitis: an analysis of 28 cases <i>Wang LM, Luo H, Wang YN, Zeng Y, Su HF</i></p> <p>2750 Diagnostic value of double-balloon enteroscopy: an analysis of 62 cases <i>Fu SL, Ye HX, Xiong FB, Chen JQ, Yao CF, Sun MM</i></p> <p>2754 Association of methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism with genetic susceptibility to colorectal cancer <i>Jin XX, Zhu ZZ, Wang AZ, Jia HR</i></p> <p>2758 Diagnostic value of ultrasonography in nontumorous wall-thickening diseases of the intestine: an analysis of 73 cases <i>Tao CM, Li M, Wang XM</i></p>
ACKNOWLEDGMENT	2762 Acknowledgments to reviewers of World Chinese Journal of Digestology
COVER	<p><i>Nakayama T, Inaba M, Naito S, Mihara Y, Miura S, Taba M, Yoshizaki A, Wen CY, Sekine I.</i> Expression of Angiopoietin-1, 2 and 4 and Tie-1 and 2 in gastrointestinal stromal tumor, leiomyoma and schwannoma. <i>World J Gastroenterol</i> 2007; 13(33): 4473-4479 http://www.wjgnet.com/1007-9327/13/4473.asp</p>
INTERNATIONAL MEETINGS	<p>Meeting Falk Symposium 161: Future Perspectives in Gastroenterology 11–12 October 2007 Dresden symposia@falkfoundation.de</p>

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date September 8, 2007

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

RESPONSIBLE INSTITUTION

Department of Science and Technology
of Shanxi Province

SPONSOR

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

EDITING

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

PRINTING

Beijing Kexin Printing House

PUBLISHING

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

OVERSEAS DISTRIBUTOR

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

HONORARY-EDITOR-IN-CHIEF

Bo-Rong Pan

EDITOR-IN-CHIEF

Lian-Sheng Ma

SCIENCE EDITORS

Deputy Director: Hai-Ning Zhang

SUBSCRIPTION

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

CSSN

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

COPYRIGHT

© 2007 Published by *WCJD*. All rights reserved; no part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise without the prior permission of *WCJD*. Authors are required to grant *WCJD* an exclusive licence to publish.

SPECIAL STATEMENT

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

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

Copyright © 2007 by Editorial Department of *World Chinese Journal of Digestology*

Barrett食管与贲门癌

张军, 程妍

张军, 程妍, 西安交通大学医学院第二附属医院消化内科 陕西省西安市 710004

张军, 教授, 博士生导师, 主要从事Barrett食管及其相关腺癌的研究。

通讯作者: 张军, 710004, 陕西省西安市西五路157号, 西安交通大学医学院第二附属医院消化内科. jun3z@163.com

电话: 029-87678009

收稿日期: 2007-05-14 修回日期: 2007-08-26

Relationship between Barrett's esophagus and cardia adenocarcinoma

Jun Zhang, Yan Cheng

Jun Zhang, Yan Cheng, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Correspondence to: Jun Zhang, Section of Gastroenterology, Department of Medicine, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, 157 Xiwu Road, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China. jun3z@163.com

Received: 2007-05-14 Revised: 2007-08-26

Abstract

The incidence of cardia adenocarcinoma (CA) has been increasing during the past few decades. CA and esophageal adenocarcinoma (EA) are known to share the same epidemiologic features. Barrett's esophagus (BE) is judged to be the precursor of EA. Thus, the question of whether BE is a risk factor for CA is currently much discussed. In this review, we describe the progress in the study of CA, and the relationship between CA and BE.

Key Words: Cardia adenocarcinoma; Barrett's esophagus; Pathogenesis

Zhang J, Cheng Y. Relationship between Barrett's esophagus and cardia adenocarcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15(25): 2665-2668

摘要

贲门癌的发病率逐年升高. 由于贲门癌与食管腺癌流行病学特征相似, 且Barrett食管已证实是食管腺癌的癌前病变, 所以贲门癌的发生是否与Barrett食管有关成为目前研究的热点. 本

文就贲门癌研究现状及其与Barrett食管的相关性作一述评.

关键词: 贲门癌; Barrett食管; 发病机制

张军, 程妍. Barrett食管与贲门癌. 世界华人消化杂志 2007;15(25):2665-2668

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2665.asp>

0 引言

自20世纪70年代中期以来, 世界许多地区和国家均呈现食管末端腺癌和贲门腺癌发病率呈逐年上升, 而胃远侧部位肿瘤发病率明显下降的趋势^[1-4]. 近些年来, 我国食管腺癌发病率也有一些增长, 但主要是贲门腺癌发病率增高趋势明显. 目前的研究表明, 贲门癌发生、发展过程涉及多种基因和蛋白的改变, 但其发病机制仍不清楚. 大多数学者认为贲门癌的发生经历了贲门炎→肠上皮化生(Barrett食管)→异型增生→原位癌→浸润性腺癌的病理过程, 是一个多阶段渐进性过程, 与Barrett食管(barrett esophagus, BE)、贲门肠化生(cardia intestinal metaplasia, CIM)、幽门螺杆菌(*H pylori*)、胃食管反流疾病(GERD)等因素有关.

1 贲门癌的定义

由于对贲门的范围和位置存在争议, 所以对贲门癌的诊断标准仍不统一. 大多数学者是根据肿瘤的中心或大部分瘤体的解剖学位置进行分类. 1998年, Siewert *et al*^[5]与国际胃癌联合会和国际食管疾病学会, 为了统一发生于胃食管连接部(gastroesophageal junction, GEJ)肿瘤的概念, 协作提议将病变中心位于GEJ上下各5 cm范围内的肿瘤定义为食管胃交界区肿瘤, 并分三型: I型为发生于食管远端黏膜的腺癌; II型为真正意义的贲门癌, 指刚好发生在解剖学贲门或食管胃交界部的肠上皮化生区, 又称交界部癌; III型为贲门下癌. 这个分类法对选择手术治疗方法有一定的意义^[6], 已被大多数学者接受并广泛应用.

背景资料

近30 a以来, 食管腺癌和贲门癌的发病率在西方国家和亚洲地区均呈上升趋势. 研究发现, 食管腺癌和贲门癌的发生和BE有关. 病理研究发现, BE的癌变将经历特殊肠化生→低度异型增生→高度异型增生→原位癌→浸润性腺癌的病理过程. 通过对BE的随访可监测其进一步发生异型增生甚至癌变. 目前我国主要是贲门癌的发病率增高趋势明显, 尤其是BE继发于GERD, 临床上GERD发病率不断增加, 使得BE也呈上升趋势. BE与贲门癌发病的相关程度以及是否是引起贲门癌发病率增高的原因尚不清楚.

研发前沿
流行病学资料显示大约1.5%的人群可发生BE, BE的癌变率约为1/104人年, 较一般人群高出30-125倍。大量研究发现, 几乎所有的食管腺癌起源于BE, 42%-68%的贲门癌与BE有关。因此, BE及其腺癌的相关研究已成为消化界关注的焦点。存在问题: (1)我国缺乏上消化道肿瘤发病情况的流行病学资料; (2)中国人BE的发病率不清; (3)BE的病因与发病机制不清; (4)BE与贲门癌的相关性不清; (5)贲门及贲门癌的定义不统一; (6)贲门癌癌变机制不清。

但目前对贲门癌定义的认识仍存在一些问题, 即经常将肿瘤中心所在的部位与肿瘤细胞来源的部位相混淆。一些学者将近端胃癌与贲门癌等同, 但在正常情况下近端胃黏膜主要由泌酸上皮组成^[7]。虽然近端胃体和基底部的肿瘤可以侵及贲门, 但不属于贲门癌。此外, 食管末端腺癌也可以向下侵及贲门, 而贲门癌也可向上延伸至食管下段。所以即使肿瘤位于贲门部, 也不一定来源于贲门上皮。相反, 位于食管远端的肿瘤则可能来源于食管的贲门上皮。因此把一部分胃癌和食管腺癌误归入到贲门癌中则有可能导致贲门癌发病率的升高^[8]。

2 贲门癌的流行病学特征

贲门腺癌显著的流行病学特征是其与食管癌地域性分布的一致性。我国贲门癌发病率较高, 主要在食管癌高发区, 贲门腺癌的发病率为50/10万, 部分地区可高达190/10万。贲门腺癌的发病率与食管癌发病率之比为1:2.4-4.1^[9]。

由于食管腺癌和贲门癌有相似的流行病学特征, 提示二者可能存在共同的发病因素, 所以很多学者将他们作为同一种疾病对待, 并且将食管下段腺癌和贲门癌合称为胃食管连接部腺癌^[10]。但瑞典的一项研究显示, 食管腺癌和贲门腺癌的危险因素, 如饮酒, 吸烟, 体质指数, 遗传因素, 低抗氧化剂膳食, 服用食管下括约肌松弛药物等并不相同, 因此应将两者作为不同的疾病分别对待。

贲门腺癌的第二个显著的流行病学特征是其与胃远侧部位肿瘤的不一致性, 80年代以来, 胃远侧部位肿瘤发生率呈明显下降趋势, 但贲门癌发病率却维持在很高水平, 而且贲门癌与胃癌在年龄, 性别, 危险因素等多方面均存在很大差异, 提示贲门癌有别于胃远侧部位的肿瘤, 应作为独立的疾病对待^[11-12]。

3 贲门癌发病机制研究进展

3.1 贲门黏膜的起源问题“贲门”这一医学术语最早由Hippocrates在公元前5世纪提出^[13]。但长期以来, 有关贲门的研究很少。直到1730年贲门才首次在文献中被提到为“从食管到胃的部分”^[14]。近年来随着贲门腺癌发病率的不断增高, 国内外学者对贲门解剖、生理和病理等方面的研究兴趣日益增加, 涌现出很多关于贲门及贲门黏膜的报道, 但到目前为止, 还没有一个国际公认的贲门定义, 并且对贲门是否存在以

及贲门是与生俱来的还是后天因素, 如胃食管反流, 引起的化生上皮存在争议。

贲门是胃和食管的移行部。贲门为正常GEJ及其下2 cm的部分。Kilgore *et al*^[15]和Ormsby *et al*^[16]分别对平均年龄6岁的儿童和平均年龄47岁成人进行尸体解剖, 结果证实贲门是生来即有的自然结构, 长度约为1-4 mm, 平均长度为1.8 mm。一些关于胎儿的研究认为食管末端贲门黏膜是胃泌酸黏膜衍生而来, 在妊娠21 wk后贲门部出现混合黏液泌酸腺体, 并于出生1 wk后发育成贲门黏膜^[17]。但这一观点遭到部分学者的质疑, 他们认为正常的食管和近端胃上皮由鳞状上皮和胃泌酸黏膜构成, 贲门黏膜不是每个人生来就有的正常结构^[7,18], 而是由食管末端鳞状上皮在胃食管反流作用下的化生改变^[19]。资料显示约26%-65%的人群在GEJ没有贲门黏膜^[18-21]。行食管下段切除胃食管吻合术患者常并发严重的反流性食管炎, 在其剩余食管内可见到贲门黏膜^[22]。并有报道贲门黏膜起始长度为1 mm, 他的出现与食管酸反流的程度, 反流持续时间有关^[18,23,25]。

3.2 BE与贲门黏膜 BE的最初定义是食管远端的正常鳞状上皮被柱状上皮替代, 受累长度 ≥ 3 cm, 也称为长节段Barrett's食管(long-segment Barrett's esophagus, LSBE)。1998年美国胃肠病学学会提出短节段Barrett's食管(short-segment Barrett's esophagus, SSBE)的定义, 即食管末端组织活检有肠化生存在, 不考虑受累节段的长度。SSBE强调了与腺癌发病有关的肠化生上皮, 目前被广泛使用。

BE是如何发生的目前尚不清楚。近来国外学者研究认为, 贲门黏膜是真正的化生黏膜, 是肠化生形成的一个动态过程, 是BE的前体。

研究显示^[7]柱状上皮化生是反流性腺癌的最初形态学改变。食管鳞状上皮只有化生为柱状上皮以后, 才能在GERD作用下发生基因突变成腺癌。这一化生过程是由反流物中那些20 kDa的物质作用位于鳞状上皮细胞基底的干细胞而导致的^[25-26]。分化而来的柱状上皮由未分化的黏液细胞构成, 他们在反流物作用下, 继续分化成贲门黏膜和泌酸-贲门黏膜。但结果发现只有贲门黏膜才发生含有杯状细胞的肠化生上皮(表达CDX1和CDX2^[27-28]), 继而进展为不典型增生, 最终形成腺癌。即鳞状上皮 \rightarrow 柱状上皮 \rightarrow 贲门黏膜 \rightarrow 肠化生上皮(BE) \rightarrow 不典型增生 \rightarrow 腺癌。另外, 肠化生的发生率与贲门黏膜的长度

成正比, 贲门黏膜长度>2 cm的人100%存在肠化生, 贲门黏膜长度<2 cm的人39%存在肠化生^[29]。此外, 研究显示mAb DAS-1(7E₁₂H₁₂)可特异性地与Barrett上皮反应。将近1/3的食管贲门型上皮和大约40%的GEJ贲门型黏膜与mAb DAS-1反应阳性^[30]。

3.3 BE与贲门癌 流行病学资料显示大约1.5%的人群可发生BE, 其发展为腺癌的危险性是普通人群的30-125倍^[31]。大量研究发现, 几乎所有的食管腺癌起源于BE, 42%-68%的贲门癌与BE有关^[32]。贲门癌旁BE的长度较短, 在内镜下容易被漏诊^[33]。我们研究发现贲门癌旁BE检出率为53.3%。此外, 在BE组织中发现不典型增生提示贲门癌可能来源于BE^[34]。

目前已知BE是贲门腺癌的危险因素, 虽然研究发现食管末端腺癌和部分贲门癌都在BE的基础上发生, 称其为Barrett食管相关腺癌^[34-35], 但两者的发病机制是否相同尚不清楚。

4 结论

贲门癌的发病率逐年升高, 对其病因和发病机制的研究成为目前的热点。尤其是贲门癌与食管下段腺癌流行病学特征相似, 并且BE已证实是食管腺癌的癌前病变, BE与贲门癌发病是否有关以及是否是引起贲门癌发病率增高的原因更是国内外学者研究的焦点。

由于贲门结构的特殊性, 所以目前对贲门及贲门癌的定义尚不统一。贲门癌来源存在争议。贲门癌的发病可能与BE和贲门肠化生有关, 其中SSBE与贲门癌的相关性更高。并有学者认为贲门黏膜是BE的前体, 这是否更能表明BE与贲门癌的关系, 还须更进一步的研究。从目前的研究结果判断, 我国贲门腺癌发病率有继续增高的趋势。

通过我国人上消化道肿瘤的前瞻性流行病学调查, 查明我国上消化道肿瘤的发病情况, 如有无食管癌构成比的变化, 有无贲门癌发病率的增加? 有无远端胃癌发病率的减少? 通过对我国人胃镜下流行病学调查研究中国人BE的发病率? BE的癌变率? 系统研究贲门癌癌变机制, 以便预防和早期诊断和治疗。

5 参考文献

- 1 Blot WJ, Devesa SS, Kneller RW, Fraumeni JF Jr. Rising incidence of adenocarcinoma of the esophagus and gastric cardia. *JAMA* 1991; 265: 1287-1289
- 2 Wijnhoven BP, Louwman MW, Tilanus HW,

Coebergh JW. Increased incidence of adenocarcinomas at the gastro-oesophageal junction in Dutch males since the 1990s. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002; 14: 115-122

- 3 Botterweck AA, Schouten LJ, Volovics A, Dorant E, van Den Brandt PA. Trends in incidence of adenocarcinoma of the esophagus and gastric cardia in ten European countries. *Int J Epidemiol* 2000; 29: 645-654
- 4 Walther C, Zilling T, Perfekt R, Moller T. Strongly increasing incidence of adenocarcinoma of the esophagus and gastric cardia. *Lakartidningen* 2004; 101: 180-183
- 5 Siewert JR, Holscher AH, Becker K, Gossner W. Cardia cancer: attempt at a therapeutically relevant classification. *Chirurg* 1987; 58: 25-32
- 6 Siewert JR, Feith M, Stein HJ. Biologic and clinical variations of adenocarcinoma at the esophago-gastric junction: relevance of a topographic-anatomic subclassification. *J Surg Oncol* 2005; 90: 139-146; discussion 146
- 7 Chandrasoma P. Controversies of the cardiac mucosa and Barrett's esophagus. *Histopathology* 2005; 46: 361-373
- 8 Prateek Sharma, Richard Sampliner. Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma. Second edition. UK: Blackwell Publishing Ltd, 2006: 267
- 9 王贵齐, 魏文强, 吕宁, 林冬梅, 张宏图, 郝长清, 孙耘田, 王国清, 乔友林, 董志伟. 应用内镜普查研究食管癌高发区贲门癌的发病情况. *中国肿瘤临床* 2003; 30: 156-158
- 10 Jeon J, Luebeck EG, Moolgavkar SH. Age effects and temporal trends in adenocarcinoma of the esophagus and gastric cardia (United States). *Cancer Causes Control* 2006; 17: 971-981
- 11 Saito H, Fukumoto Y, Osaki T, Fukuda K, Tatebe S, Tsujitani S, Ikeguchi M. Distinct recurrence pattern and outcome of adenocarcinoma of the gastric cardia in comparison with carcinoma of other regions of the stomach. *World J Surg* 2006; 30: 1864-1869
- 12 王立东, 郑树. 河南食管癌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
- 13 Hippocrate. *Prorrhetica*. Vol 5, translated by Littré E. Paris: Ballière, 1846: 529, paragraph 72
- 14 Cheselden W. The anatomy of human stomach. London: Bowyer, 1730: 141
- 15 Kilgore SP, Ormsby AH, Gramlich TL, Rice TW, Richter JE, Falk GW, Goldblum JR. The gastric cardia: fact or fiction? *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 921-924
- 16 Ormsby AH, Goldblum JR, Kilgore SP. The frequency and nature of cardiac mucosa and intestinal metaplasia of the esophagogastric junction: a population based study of 223 consecutive autopsies. *Gastroenterology* 1999; 116: G1197
- 17 Zhou H, Greco MA, Daum F, Kahn E. Origin of cardiac mucosa: ontogenic consideration. *Pediatr Dev Pathol* 2001; 4: 358-363
- 18 Oberg S, Peters JH, DeMeester TR, Chandrasoma P, Hagen JA, Ireland AP, Ritter MP, Mason RJ, Crookes P, Bremner CG. Inflammation and specialized intestinal metaplasia of cardiac mucosa is a manifestation of gastroesophageal reflux disease. *Ann Surg* 1997; 226: 522-530; discussion 530-532
- 19 Jain R, Aquino D, Harford WV, Lee E, Spechler SJ.

应用要点

目前我国BE及其腺癌的研究处于初始阶段, 有很多问题仍不清楚, 积极开展BE及其腺癌的相关研究可改善我国BE研究的薄弱状况, 带动并促进国内同行对BE研究的重视, 可为今后BE及其腺癌的进一步研究、治疗和预防提供依据。

同行评价

本文就Barrett食管与贲门癌发病的关系作了较好的综述,层次清楚,语言简洁流畅,提出了一些有建设性的看法,引用的参考文献较新,较全面,有很好的借鉴价值。

- Cardiac epithelium is found infrequently in the gastric cardia. *Gastroenterology* 1998; 114: A106
- 20 Chandrasoma PT, Der R, Ma Y, Dalton P, Taira M. Histology of the gastroesophageal junction: an autopsy study. *Am J Surg Pathol* 2000; 24: 402-409
- 21 Marsman WA, van Sandick JW, Tytgat GN, ten Kate FJ, van Lanschot JJ. The presence and mucin histochemistry of cardiac type mucosa at the esophagogastric junction. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 212-217
- 22 Dresner SM, Griffin SM, Wayman J, Bennett MK, Hayes N, Raimes SA. Human model of duodenogastro-oesophageal reflux in the development of Barrett's metaplasia. *Br J Surg* 2003; 90: 1120-1128
- 23 Nandurkar S, Talley NJ, Martion CJ. Prevalence and associations of cardia epithelium. *Gastroenterology* 2000; 118: A226
- 24 Glickman JN, Fox V, Antonioli DA, Wang HH, Odze RD. Morphology of the cardia and significance of carditis in pediatric patients. *Am J Surg Pathol* 2002; 26: 1032-1039
- 25 Tobey NA, Hosseini SS, Argote CM, Dobrucali AM, Awayda MS, Orlando RC. Dilated intercellular spaces and shunt permeability in nonerosive acid-damaged esophageal epithelium. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 13-22
- 26 Villanacci V, Grigolato PG, Cestari R, Missale G, Cengia G, Klersy C, Rindi G. Dilated intercellular spaces as markers of reflux disease: histology, semiquantitative score and morphometry upon light microscopy. *Digestion* 2001; 64: 1-8
- 27 Phillips RW, Frierson HF Jr, Moskaluk CA. Cdx2 as a marker of epithelial intestinal differentiation in the esophagus. *Am J Surg Pathol* 2003; 27: 1442-1447
- 28 Silberg DG, Swain GP, Suh ER, Traber PG. Cdx1 and cdx2 expression during intestinal development. *Gastroenterology* 2000; 119: 961-971
- 29 Pfaffenbach B, Hullerum J, Orth KH, Langer M, Stabenow-Lohbauer U, Lux G. Bile and acid reflux in long and short segment Barrett's esophagus, and in reflux disease. *Z Gastroenterol* 2000; 38: 565-570
- 30 Griffel LH, Amenta PS, Das KM. Use of a novel monoclonal antibody in diagnosis of Barrett's esophagus. *Dig Dis Sci* 2000; 45: 40-48
- 31 Dulai GS, Guha S, Kahn KL, Gornbein J, Weinstein WM. Preoperative prevalence of Barrett's esophagus in esophageal adenocarcinoma: a systematic review. *Gastroenterology* 2002; 122: 26-33
- 32 Underwood JA, Williams JW, Keate RF. Clinical findings and risk factors for Candida esophagitis in outpatients. *Dis Esophagus* 2003; 16: 66-69
- 33 Clark GW, Smyrk TC, Burdiles P, Hoeft SF, Peters JH, Kiyabu M, Hinder RA, Bremner CG, DeMeester TR. Is Barrett's metaplasia the source of adenocarcinomas of the cardia? *Arch Surg* 1994; 129: 609-614
- 34 Filipe, MI. Borderline lesions of the gastric epithelium: new indicators of gastric risk and clinical implications. In: Fenoglio-Preiser CM, Wolfe M, Rilke F editor. *Progress in Surgical Pathology USA: Field and Wood*, 1992: 269-290
- 35 Cameron AJ, Lomboy CT, Pera M, Carpenter HA. Adenocarcinoma of the esophagogastric junction and Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 1995; 109: 1541-1546

编辑 程剑侠 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

消化内镜诊疗技术研讨班通知 (第一轮)

本刊讯 2007年国家继续医学教育项目“消化内镜诊疗技术研讨班”(项目编号2007-03-03-046)将于2007-11在青岛市举办,由青岛大学医学院附属医院主办、世界华人消化杂志协办,特邀国内外著名专家进行专题讲座和现场演示,欢迎消化内镜工作者投稿参会,优秀稿件可优先发表。回执或投稿请于2007-09底前寄青岛大学医学院附属医院内镜诊治中心,刘希双收,邮编:266003, E-mail: liuxishuang1@sina.com, 电话: 0532-82911525, 13864215672。

根除幽门螺杆菌可否作为胃癌的化学预防手段?

吕宾

吕宾, 浙江中医药大学附属第一医院消化科 浙江省杭州市 310006

吕宾, 1984年于温州医学院获学士学位, 1996年获浙江大学医学院硕士学位, 现任浙江中医药大学附属第一医院消化科教授、主任医师、博士生导师, 长期从事消化道肿瘤、功能性胃肠病及消化内镜的诊疗工作。

通讯作者: 吕宾, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属第一医院消化科. lvbin@medmail.com.cn

电话: 0571-87032028

收稿日期: 2007-05-14 修回日期: 2007-08-26

Is the eradication of *Helicobacter pylori* a way to prevent gastric cancer?

Bin Lv

Bin Lv, Department of Gastroenterology, First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China

Correspondence to: Bin Lv, Department of Gastroenterology, First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China. lvbin@medmail.com.cn

Received: 2007-05-14 Revised: 2007-08-26

Abstract

Helicobacter pylori is a major pathogen of chronic gastritis and peptic ulcers, as well as type I carcinogenesis. Inflammation of gastric mucosa is improved after eradication of *H pylori*. However, does eradication of *H pylori* reverse atrophic gastritis and intestinal metaplasia, and therefore may it be a way to prevent gastric cancer? This paper reviews studies of the relationship between *H pylori* and gastric cancer. It was concluded that eradication of *H pylori* is a potential method to prevent gastric cancer, and that *H pylori* should especially be tested for and treated in high-risk populations.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Bacterial eradication; Gastric cancer; Chemoprevention

Lv B. Is the eradication of *Helicobacter pylori* a way to prevent gastric cancer? *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15(25): 2669-2671

摘要

幽门螺杆菌感染是慢性胃炎、消化性溃疡的

主要病因, 也是胃癌的 I 类致癌原。根除幽门螺杆菌后, 胃黏膜炎症得以明显改善, 是否胃黏膜萎缩、肠化也能因此而逆转, 并成为胃癌的化学预防手段之一? 本文对现有的研究结果进行了系统评述, 认为根除幽门螺杆菌感染是一种潜在的化学预防胃癌的措施, 尤其对于高危人群, 应检测并根除幽门螺杆菌, 进行胃癌预防。

关键词: 幽门螺杆菌; 根除; 胃癌; 化学预防

吕宾. 根除幽门螺杆菌可否作为胃癌的化学预防手段? 世界华人消化杂志 2007;15(25):2669-2671

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2669.asp>

0 引言

遗传和环境因素是胃癌发生的两大主要因素, 大量的流行病学研究提示环境因素是胃癌的主要原因, 这就有可能通过寻找和驱除不利的环境因素以抑制胃癌的形成。幽门螺杆菌(*H pylori*)感染作为外源性因素在胃癌发生中起重要作用, 许多研究显示胃癌和*H pylori*感染的关系与肺癌和吸烟的关系一样重要。近年来的一系列着重于环境因素的研究表明, *H pylori*感染、饮食中缺少抗氧化剂(如维生素C)和吸烟等都能增加癌前病变发展为异型增生、胃癌的风险。因此, 胃癌的化学预防主要集中在控制这些因素方面。

C57BL/6小鼠感染*H pylori*后发生胃癌的组织学进展和Correa提出的“慢性胃炎-多灶性萎缩-肠上皮化生-上皮内瘤变-肠型胃癌”的多步骤过程十分接近, 提示*H pylori*感染在胃癌发生中的突出作用。2001年Uemura *et al*^[1]在新英格兰医学杂志发表了长达12 a的随访研究结果, 显示1200位感染*H pylori*的患者中约3%的人可能会发生胃癌; 而326位未感染*H pylori*的患者中无一发生胃癌, 纵向观察证明*H pylori*是造成胃癌的主要原因之一。

1 根除*H pylori*与胃黏膜病理变化

*H pylori*感染已被认为是胃癌的 I 类致癌原, 那

背景资料

胃癌的发生是多因素、多步骤的过程, 环境和遗传是两大重要因素, 控制与发病相关的危险因素是预防胃癌发生、发展的重要措施。*H pylori*感染被认为是胃癌的 I 类致癌原, 因此, 可能成为胃癌化学预防的靶点。

相关报道

Correa *et al*在2000年发表的干预试验研究报告提示:根除*H pylori*后胃黏膜萎缩和肠化的比例显著高于安慰剂。Wong *et al*在中国进行的长期随访研究发现,对于没有胃癌癌前病变的人群根除*H pylori*可预防胃癌的发生。上述2项研究是相关领域的重要文献。

么,通过根除*H pylori*可否延缓、停止,甚至逆转向胃癌发展的病理进程,或者预防胃癌? Shimizu *et al*^[2]发现接种或感染*H pylori*以后接受根除治疗的蒙古沙鼠腺癌发生率显著低于未接受根除治疗组,首次报道了根除*H pylori*具有预防胃癌发生的作用。但根除治疗后能否有效预防胃癌尚需要大量的临床研究加以阐明。

*H pylori*感染引起正常胃黏膜转变为浅表性胃炎、萎缩性胃炎、肠化是胃癌发生的初始步骤。大多数现行的有关胃癌预防的研究都是利用胃癌发生过程中的中间步骤作为观察终点,这样可以在较短的时间内对相对小样本观察的基础上进行推论。若根除*H pylori*能使胃黏膜萎缩、肠化停止或逆转,将有望成为预防胃癌的有效手段。Correa *et al*^[3]在胃癌高发区哥伦比亚进行了一项随机对照干预试验,有852例*H pylori*感染的萎缩性胃炎和肠化生患者进入研究,随访6 a发现,根除*H pylori*后萎缩和肠化生好转比例明显增加,与安慰剂组比较差异有统计学意义。我们^[4]对259名胃窦部萎缩患者随访3 a,根除*H pylori*后胃黏膜急、慢性炎症明显好转,萎缩评分明显下降,而未进行*H pylori*根除治疗组萎缩评分变化不明显,但肠化加重。Sung *et al*^[5]在中国进行的一项大规模随机、安慰剂对照的前瞻性研究,随访1 a,*H pylori*根除组胃窦部肠化有轻度改善,然而,*H pylori*持续感染组胃体部萎缩有明显进展。Ohkusa *et al*^[6]进行的一项非对照的前瞻性研究,对115名消化不良患者根除*H pylori*后随访12-15 mo,腺体萎缩和肠化改善分别为89%和61%。Ito *et al*^[7]对54名患者随访5 a,显示*H pylori*根除者胃窦和胃体的萎缩和肠化都显著减轻。然而,研究结果并非一致,van der Hulst *et al*^[8]对155名患者根除*H pylori*后随访1 a(无对照组),未发现萎缩、肠化有明显变化,Forbes *et al*^[9]对54名患者随访7 a,其中32名成功根除*H pylori*,但是两组患者萎缩和肠化变化没有差异。

Hojo *et al*^[10]通过Pubmed收集和分析了有关根除*H pylori*治疗后胃黏膜组织学变化的51篇论文(发表于2001-06前,英文),有关萎缩变化的25篇文章中,改善、不变、进展分别为11篇、13篇、1篇,结论不一致的原因有病例数的多少、随访时间的长短等,另外与患者的选择和统计学方法的运用等也可能有关。肠化改善、不变、进展分别有5篇、22篇、1篇文章。认为根除*H pylori*后不能使所有的患者萎缩改善,但可能对某些特定的患者有益;肠化的变化由于方

法学和统计的问题难以作出分析。上述研究或观察时间不够长、或因没有采取随机、样本小,这些缺点和方法学的困难以及在解释癌前病变减轻方面的一致是造成结论不一的主要原因,另外萎缩和肠化是否可以逆转一直存有争议。

以下两项是以胃癌发生为终点的研究,更具有说服力。Wong *et al*^[11]在中国福建长乐地区对1630例*H pylori*感染者(不伴有癌前病变的988例)进行了一项前瞻性随机对照干预试验,随访7.5 a,发现不伴有癌前病变且根除*H pylori*的试验者中无1例发生胃癌,而未根除组发生6例;而原本存在肠化或异型增生者中,根除与未根除*H pylori*组中分别有7例和5例发生胃癌($P>0.05$);结果提示在癌前病变形成前根除*H pylori*可能有助于消除*H pylori*相关胃癌发生的危险。周丽雅 *et al*^[12]通过对胃癌高发区中*H pylori*阳性患者根除*H pylori*后8 a随访发现:长期*H pylori*感染可增加胃癌发病率,萎缩及肠化进行性加重,根除*H pylori*可使胃体萎缩进展缓慢,并有利于减少胃癌的发生。由于这样的研究需要10-20 a的长期随访观察,难度颇大;并且可能还存在伦理方面的顾虑,目前还甚少有类似的研究报道。

2 结论

逻辑上干预目标在早期、容易逆转阶段似乎可以提供更高的预防可能,并得到了临床研究结果的支持,在癌前病变形成前即根除*H pylori*可能有助于消除*H pylori*相关胃癌发生的危险。由于*H pylori*感染主要发生在儿童时期,对儿童进行干预最有希望成为有效的预防措施。*H pylori*感染后需要多少时间可以发展为萎缩或肠化还不清楚,越年轻根除*H pylori*,预防胃癌的有效可能性就越大。然而,通过临床试验来证实这个观点有两 大限制,首先,在无症状儿童中进行胃镜筛选是不现实的;其次,如采用*H pylori*“检测和治疗”措施,则需要非常长的随访时期,因为胃癌的平均发病年龄超过60岁。

总之,根除*H pylori*可使部分患者的胃黏膜萎缩、肠化停止或逆转,为数尚不多的研究显示,根除*H pylori*可降低患胃癌的风险。因此,根除*H pylori*感染是一种潜在的化学预防胃癌的措施,尤其对于高危人群,应检测并根除*H pylori*进行胃癌预防。

3 参考文献

- 1 Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S, Matsumura N,

创新盘点

本文总结分析了根除*H pylori*与胃癌预防方面的文献资料,对于通过根除*H pylori*进行胃癌化学预防的可能性和存在的问题作了系统评述。

- 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
- 2 Shimizu N, Inada K, Nakanishi H, Tsukamoto T, Ikehara Y, Kaminishi M, Kuramoto S, Sugiyama A, Katsuyama T, Tatematsu M. Helicobacter pylori infection enhances glandular stomach carcinogenesis in Mongolian gerbils treated with chemical carcinogens. *Carcinogenesis* 1999; 20: 669-676
- 3 Correa P, Fontham ET, Bravo JC, Bravo LE, Ruiz B, Zarama G, Realpe JL, Malcom GT, Li D, Johnson WD, Mera R. Chemoprevention of gastric dysplasia: randomized trial of antioxidant supplements and anti-helicobacter pylori therapy. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 1881-1888
- 4 Lu B, Chen MT, Fan YH, Liu Y, Meng LN. Effects of Helicobacter pylori eradication on atrophic gastritis and intestinal metaplasia: a 3-year follow-up study. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 6518-6520
- 5 Sung JJ, Lin SR, Ching JY, Zhou LY, To KF, Wang RT, Leung WK, Ng EK, Lau JY, Lee YT, Yeung CK, Chao W, Chung SC. Atrophy and intestinal metaplasia one year after cure of H. pylori infection: a prospective, randomized study. *Gastroenterology* 2000; 119: 7-14
- 6 Ohkusa T, Fujiki K, Takashimizu I, Kumagai J, Tanizawa T, Eishi Y, Yokoyama T, Watanabe M. Improvement in atrophic gastritis and intestinal metaplasia in patients in whom Helicobacter pylori was eradicated. *Ann Intern Med* 2001; 134: 380-386
- 7 Ito M, Haruma K, Kamada T, Mihara M, Kim S, Kitadai Y, Sumii M, Tanaka S, Yoshihara M, Chayama K. Helicobacter pylori eradication therapy improves atrophic gastritis and intestinal metaplasia: a 5-year prospective study of patients with atrophic gastritis. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 1449-1456
- 8 van der Hulst RW, van der Ende A, Dekker FW, Ten Kate FJ, Weel JF, Keller JJ, Kruizinga SP, Dankert J, Tytgat GN. Effect of Helicobacter pylori eradication on gastritis in relation to cagA: a prospective 1-year follow-up study. *Gastroenterology* 1997; 113: 25-30
- 9 Forbes GM, Warren JR, Glaser ME, Cullen DJ, Marshall BJ, Collins BJ. Long-term follow-up of gastric histology after Helicobacter pylori eradication. *J Gastroenterol Hepatol* 1996; 11: 670-673
- 10 Hojo M, Miwa H, Ohkusa T, Ohkura R, Kurosawa A, Sato N. Alteration of histological gastritis after cure of Helicobacter pylori infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 1923-1932
- 11 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
- 12 周丽雅, 林三仁, 丁士刚, 黄雪彪, 郭长吉, 张莉, 崔荣丽, 金珠, 孟灵梅, 张静. 根除幽门螺杆菌对胃癌患病率及胃黏膜组织学变化的八年随访研究. *中华消化杂志* 2005; 25: 324-327

同行评价
本文对根除幽门螺杆菌可否作为胃癌的化学预防手段进行综述, 选题准确, 所引文献权威, 为胃癌的预防提供了一定的理论和实验依据, 有一定的可读性。

编辑 程剑侠 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志关于作者署名的声明

本刊讯 世界华人消化杂志要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献。第一方面是直接参与, 包括: (1) 酝酿和设计实验; (2) 采集数据; (3) 分析/解释数据。第二方面是文章撰写, 包括: (1) 起草文章; (2) 对文章的知识性内容作批评性审阅。第三方面是工作支持, 包括: (1) 统计分析; (2) 获取研究经费; (3) 行政、技术或材料支持; (4) 指导; (5) 支持性贡献。每个人必须在第一至第三方面至少具备一条, 才能成为文章的署名作者。世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者。

胃癌分子靶向治疗的现状与进展

吕伟, 陈凇

背景资料
我国胃癌的年死亡率在各种恶性肿瘤中占首位, 大部分胃癌患者就诊时已进入进展期, 而进展期胃癌手术疗效仍不理想。随着胃癌分子生物学研究的不断深入, 针对肿瘤细胞生长、凋亡、细胞周期、侵袭浸润以及血管生成等分子生物靶点提出的分子靶向治疗成为胃癌综合治疗的重点和热点。

吕伟, 陈凇, 中国人民解放军总医院普通外科 北京市 100853
通讯作者: 陈凇, 100853, 北京市复兴路28号, 中国人民解放军总医院普通外科. chenlinbj@vip.sina.com
电话: 010-66937846
收稿日期: 2007-04-12 修回日期: 2007-09-27

Current status and recent developments in molecular targeted therapy against gastric cancer

Wei Lv, Lin Chen

Wei Lv, Lin Chen, Department of General Surgery, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China
Correspondence to: Professor Lin Chen, Department of General Surgery, General Hospital of Chinese PLA, 28 Fuxing Road, Beijing 100853, China. chenlinbj@vip.sina.com
Received: 2007-04-12 Revised: 2007-09-27

Abstract

Gastric cancer (GC) is one of the most common malignancies of the digestive system and is a major cause of cancer death in China. Recent improvements in both surgical techniques and adjuvant/neoadjuvant chemotherapy, radiotherapy or both have increased the survival rate of patients with early-stage disease. However, most patients with GC have advanced disease at diagnosis. Thus, despite recent advances, these patients still do poorly. Understanding the molecular pathways that characterize cell growth, cell cycle, apoptosis, angiogenesis and invasion has enabled us to use new approaches to treat this disease in clinical situations. These therapeutic strategies include epidermal growth factor receptor inhibitors, angiogenesis inhibitors, cell cycle inhibitors, apoptosis promoters and matrix metalloproteinase inhibitors. This review presents a brief introduction to the current status and advancement of molecular targeted therapies in the treatment of GC.

Key Words: Gastric cancer; Molecular targeted therapy

Lv W, Chen L. Current status and recent developments

in the molecular targeted therapy against gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2007; 15(25): 2672-2678

摘要

胃癌是对人类健康危害极大的常见恶性肿瘤, 大部分患者就诊时已进入进展期。我国胃癌的年死亡率在各种恶性肿瘤中占首位。随着外科手术技术的提高、传统放化疗技术的进步以及新辅助疗法的实施, 早期胃癌术后5 a生存率可达95%以上; 而进展期胃癌疗效仍不理想, 术后5 a生存率仅有30%-40%。随着胃癌分子生物学研究的不断深入, 针对肿瘤细胞生长、凋亡、细胞周期、侵袭浸润以及血管生成等分子生物靶点提出的分子靶向治疗成为胃癌综合治疗的重点和热点。这些策略主要包括: 表皮生长因子受体靶向治疗, 细胞周期抑制剂, 细胞凋亡促进剂, 血管生成抑制剂, 基质金属蛋白酶抑制剂等。本文收集国内外近期文献就胃癌分子靶向治疗的现状与进展进行综述。

关键词: 胃癌; 分子靶向治疗

吕伟, 陈凇. 胃癌分子靶向治疗的现状与进展. 世界华人消化杂志 2007;15(25):2672-2678
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2672.asp>

0 引言

胃癌是消化系统最常见的恶性肿瘤, 但因缺乏特异性的初筛指标以及早期患者症状不明显, 大多数患者在就诊时已经处于进展期。传统手术根治及放化疗对进展期胃癌的疗效仍不理想, 局部复发和远处转移是影响术后5 a生存率的主要原因。世界范围内, 每年胃癌死亡人数占肿瘤死亡人数的第2位^[1]。我国胃癌每10万人口的年死亡率为25.21, 在各种恶性肿瘤中占首位。随着对胃癌发生、发展和转移过程中分子生物学机制研究的不断深入, 表皮生长因子受体抑制剂(EGFR inhibitors), 细胞周期抑制剂(cell cycle inhibitors), 细胞凋亡促进剂(apoptosis promoters), 基质金属蛋白酶抑制剂(matrix

metalloproteinase inhibitors), 抗血管生成因子(angiogenesis inhibitors)等多种特异的分子生物靶向治疗手段在胃癌综合治疗中取得了较大进展.

1 表皮生长因子受体靶向治疗

表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)是一种多功能糖蛋白的跨膜受体, 是酪氨酸激酶生长因子受体家族的一个成员, 与特异性配体如表皮生长因子(EGF)、转化生长因子 α (TGF α)、双向调节蛋白(AR)、 β -细胞素(BTC)等结合, 通过相应酪氨酸激酶的自身磷酸化作用激活受体. 从而激发细胞内的多条信号转导通路如MAPK、PI3K、c-Src等促进肿瘤细胞分裂、迁徙以及促进肿瘤新生血管形成^[2-4]. EGFR在相当一部分肿瘤中都有不同程度的激活表达, 如胃癌、结直肠癌、头颈鳞癌、胰腺癌、肺癌、乳腺癌、肾癌和脑胶质母细胞瘤等^[5-8]. 因此, 选择其特定部位作为靶点, 通过干扰EGFR信号传导, 来达到抑制肿瘤的增殖、浸润和远处转移的目的, 为胃癌分子靶向治疗提供了新的思路^[9-10].

1.1 表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(EGFR-TKI, epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor) 代表药物有吉非替尼(gefitinib, 易瑞沙)、埃罗替尼(erlotinib, 特罗凯)、拉帕替尼(lapatinib)等. 吉非替尼是第一个被FDA批准的强有力的EGFR酪氨酸激酶抑制剂, 2005年在我国上市. Doi *et al*^[11]采用吉非替尼每天250 mg或500 mg *po*治疗75例进展期胃癌患者, 28 d后报告12例患者病情稳定(SD), 1例部分缓解(PR), 肿瘤平均进展时间(median time to progression, mTTP)1.2 mo, 平均总生存时间(median overall survival, mOS)3.5 mo. 另一项使用吉非替尼每天250 mg *po*治疗贲门癌和食管癌的II期临床研究报告: 患者中位缓解期(mean duration)4.6 mo, 临床总有效率达30%^[12]. Rojo *et al*^[13]进一步对胃癌病理组织动态观察研究发现, 使用吉非替尼后EGFR的磷酸化状态显著下降, 通过检测增殖性核抗原Ki-67的表达发现细胞增殖受到明显抑制.

1.2 抗EGFR单抗(Anti-EGFR monoclonal antibodies) 代表药物如西妥昔单抗(cetuximab, erbitux)、EMD72 000单抗等. 西妥昔单抗是IgG1嵌合mAb, 对EGFR具有高度的亲和力和特异性, 能阻止EGFR与其天然配体结合, 打

断细胞自泌性无限增殖的恶性循环, 抑制肿瘤细胞增殖, 诱导细胞凋亡, 2006年在我国上市. Suntharalingam *et al*^[14]于2006年在ASCO年会上报告采用西妥昔单抗治疗胃癌和食管癌的I期临床研究. 37例患者入组, 第1周400 mg/m², 以后250 mg/m²·wk, 连用5 wk, 联合紫杉醇50 mg/m²·wk, 卡铂(AUC为6)连续6 wk, 同时给予50.4 Gy放疗. 30例完成临床试验, 其中67%的患者达到临床完全缓解(clinical complete response). 43%的患者达到病理完全缓解(pathologic complete response), 主要副作用包括脱水、食管炎、皮疹. 这个试验的初步结果显示化疗联合抗EGFR靶向治疗对胃癌和食管癌有良好的抗肿瘤活性.

1.3 抗HER-2单抗(Anti-HER-2 monoclonal antibodies) 代表药物为曲妥珠单抗(trastuzumab, herceptin), 帕妥珠单抗(pertuzumab, Omnitarg). EGFR与同属于erbB家族成员的HER-2能形成异二聚体, 被HER-2激酶激活磷酸化可启动信号转导增强细胞恶性转化和促进肿瘤进展. 曲妥珠单抗是1998年美国FDA批准上市的第一种重组DNA衍生的人源化mAb, 通过与HER2受体特异性结合影响生长信号的传递, 他还可以下调血管内皮生长因子和其他血管生长因子活性. 2002年进入我国市场, 商品名为“赫赛汀”. 帕妥珠单抗为第二代重组人源化单克隆抗HER-2抗体, 与HER-2受体胞外II结合域结合阻止与其他HER-2受体之间的二聚化^[15]. 有学者运用显色原位杂交技术(chromogenic in situ hybridization)检测131例胃癌组织标本和100例贲门癌组织标本, 结果16例(12.2%)胃癌标本和24例(24%)贲门癌标本HER-2/neu过度表达^[16]. 另一项研究报告HER-2/neu过度表达的胃癌患者5 a生存率明显低于对照组(21.4% vs 63.0%; $P<0.05$)^[17]. Matsui *et al*^[18]通过体内、体外试验证明, 抗HER-2 mAb能有效抑制HER-2阳性胃癌细胞裸鼠荷瘤模型的肿瘤生长. 因此采用抗HER-2的mAb封闭HER-2信号通路可能是一个有效治疗HER-2阳性胃癌的新途径.

2 细胞周期抑制剂

细胞周期蛋白依赖激酶(cyclin-dependent kinase, CDKs)是调控细胞周期的一个蛋白家族, 其主要成员CDK1-CDK7与相应的调节亚基(细胞周期蛋白cyclin)结合组成的复合物是细胞周期的主要调节者, 在细胞分裂增殖的调控中处于核心

相关报道
近年来随着分子生物学及其他基础学科的发展, 肿瘤分子靶向治疗的新靶点不断被报道, 为胃癌分子靶向治疗提供了广阔的前景.

创新盘点
本文收集国内外近期文献就胃癌分子靶向治疗的现状、治疗策略的运用以及胃癌分子靶向治疗的研发趋势等多个方面作了较为系统的总结。

地位。研究表明,大多数人类肿瘤的发生、发展与CDKs/cyclins的过度表达或内源性抑制因子表达下降以及pRb基因的突变有关^[19-21]。有效地抑制CDKs的催化活性可以对恶性肿瘤的增殖起到积极的治疗作用,目前对CDKs小分子抑制剂的筛选与研究也是胃癌靶向治疗的研究热点。

Flavopiridol及其衍生物是一类发展较快,最早进入临床并取得一定疗效的CDKs小分子抑制剂。Flavopiridol是一种半合成黄酮类化合物,通过干扰CDK2的ATP结构域来抑制几乎所有CDKs激酶活性(主要包括CDK1、CDK2、CDK4、CDK6),进而减少cyclin D1 mRNA转录导致细胞停滞在G1期并抑制G1期至S期的转化,从而达到抑制细胞增殖的目的^[22-23]。此外,Flavopiridol在极低浓度下可抑制VEGF的生成,降低VEGF mRNA稳定性,下调VEGF蛋白水平从而发挥抗血管生成作用^[24]。Thomas *et al*^[25]在一项I期临床研究中采用flavopiridol 40 mg/m²·d,持续滴注3 d,每2周重复治疗方案治疗晚期肿瘤患者38例,其中有远处转移的进展期胃癌患者1例得到了CR,无病生存时间超过48 mo,主要副反应包括腹泻、体位性低血压,个别患者出现癌性疼痛加重。此外, Motwani *et al*^[26]报道Flavopiridol还可以加强多西紫杉醇对胃癌MKN-74细胞系荷瘤模型肿瘤生长的抑制作用。目前临床主要采用Flavopiridol联合标准化疗方案的方法来提高疗效^[27]。

3 细胞凋亡促进剂

NF- κ B是在B细胞免疫球蛋白的 κ 轻链上被发现的,是一种作用广泛的转录因子,属于NF- κ B/Rel蛋白家族成员,参与细胞的生长、黏附、炎症反应和分化。进一步研究发现,在人类多种恶性肿瘤中, NF- κ B发挥促存活(prosurvival)和抗凋亡作用(anti-apoptotic)^[28-29]。此外,作为幽门螺杆菌(*helicobacter pylori*, Hp)感染导致胃癌的一个重要因素, NF- κ B活化可能在这过程中起到了桥梁作用^[30-32]。临床研究也发现NF- κ B的表达与胃癌的恶性程度呈正相关而与预后呈负相关^[33]。典型的NF- κ B是由P65和P50 2个亚基组成,在胞质中通过与其抑制蛋白-I κ B家族紧密结合,以无活性的形式存在。NF- κ B激活受抑制蛋白I κ B的调控,外界信号可以通过 κ B激酶(I κ B kinase, IKK)复合物活化I κ B而激活NF- κ B, NF- κ B进入核内与靶基因 κ B部位结合,调控特定基因转

录^[34]。硼替佐米(Bortezomib, Velcade)是一种蛋白酶体抑制剂,能特异性抑制哺乳动物细胞内26S蛋白酶体的类胰凝乳蛋白酶(chymotrypsin-like)活性,从而阻碍泛素-蛋白酶体通路对I κ B的降解,进而抑制NF- κ B信号传导通路的活化,最终达到促进细胞凋亡的作用。多项研究表明硼替佐米对多种恶性肿瘤有明显的促凋亡作用^[35-37]。在一项多中心的II期临床研究中^[38],采用了硼替佐米联合伊立替康治疗晚期胃癌的研究方案。共37例晚期胃腺癌患者入组,初治的晚期胃腺癌患者,采用硼替佐米1.3 mg/m²第1, 4, 8, 11天静脉推注,伊立替康125 mg/m²第1, 8天静脉推注,3 wk重复;复治患者,给予硼替佐米单药治疗,1.3 mg/m²第1, 4, 8, 11天静脉推注,3 wk重复。结果:在29例可评价疗效的患者中,联合组有效率为33%,单药组有效率为9%。联合组中位无进展生存时间(median progression-free survival)为1.8 mo,单药组为1.4 mo,联合组中位生存时间(median survival time)为4.8 mo,单药组为5.4 mo,副反应主要包括胃肠道反应、贫血、血小板减少等。目前试验入组仍在进行,最终的结果还有待于进一步观察。

4 基质金属蛋白酶抑制剂

MMPs是锌离子依赖的内分泌蛋白酶,主要由体内单核细胞、组织中的巨噬细胞和相关的组织细胞等多种细胞分泌。目前已发现的MMPs家族成员已达20多种,许多生理及病理过程,如炎症、组织纤维化、新血管形成和肿瘤的侵袭转移等都与MMPs的表达及活化有关。MMPs主要通过降解细胞外基质、调节细胞间黏附以及促进新血管的形成来影响肿瘤的侵袭与转移^[39]。MMP-2, MMP-7, MMP-9以及MMP-14在胃癌组织中都呈现过表达^[40-42],其中MMP-2和MMP-9与胃癌细胞的浸润转移、血管生成及预后密切相关^[43]。天然的MMPs抑制剂称“组织MMPs抑制剂”或TIMPs,虽然已有相当多的临床前研究,但还未成为治疗药物。目前的研究集中于研制低分子量的合成MMPs抑制剂,其中马立马司他(Marimastat, BB2516)是新一代人工合成的MMPI,也是最早进入II期临床试验的口服基质金属蛋白酶抑制剂。

Marimastat是一类异羟酸衍生物,其结构类似于间质组织胶原酶降解的胶原分子起始段,能可逆的结合MMP含锌离子的活性区,从而抑制其活性。Kimata *et al*^[44]采用胃癌TMK-1细胞

系建立裸鼠腹膜荷瘤模型, 予以马立马司他(18 mg/kg·d)联合丝裂霉素(2 mg/kg)ip以及单独使用丝裂霉素(2 mg/kg)ip进行治疗试验. 结果显示: 联合用药组的腹膜播散明显降低, 生存期明显延长. 在一项随机双盲安慰剂对照的临床研究中^[45], 369例无法手术的胃腺癌患者入组, 部分患者接受过5-氟尿嘧啶化疗. 所有患者随机分成实验组(予以马立马司他10 mg po 2次/d)和安慰剂组. 结果安慰剂组中位生存时间为138 d, 实验组为160 d, 2 a生存率分别为3%和9%. 其中123例先前接受过化疗患者的安慰剂组和实验组的2 a生存率分别升至5%和18%. 治疗结果显示马立马司他能够明显延长胃癌患者的生存时间, 对接受过化疗的患者效果更加显著.

5 血管生成抑制剂

肿瘤生长具有明确的血管依赖性, 肿瘤通过新生血管从宿主获取营养成分, 又经过血管向宿主输送肿瘤细胞, 增强肿瘤灶的远处转移能力^[46]. 因此抗血管生成也是胃癌分子靶向治疗的研究热点^[47]. 这类药物最大优点之一是不会产生肿瘤耐药, 在联合化疗中十分有利. 目前有多种血管生成抑制剂正在临床试用.

血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是目前所知作用最强的促血管内皮生成的细胞因子^[48]. 多项研究表明VEGF在进展期胃癌组织中的表达明显增高, 与肿瘤的浸润转移及预后密切相关^[49-50]. 以VEGF为靶点的治疗策略包括: 人源化的抗VEGF的mAb, 如贝伐单抗; 嵌合性抗血管内皮生长因子受体(VEGFR)胞外区的mAb, 如IMC-1C11; 针对VEGFR的酪氨酸激酶抑制剂, 如SU5416, SU6668和ZD6474.

贝伐单抗(Bevacizumab, 商品名: 阿瓦斯丁, Avastin)是一种重组的人源化mAb, 包含93%的人类IgG和7%的鼠源结构, 主要通过VEGF特异性结合来阻断VEGFR受体活化, 从而抑制肿瘤区域新生血管形成. 最近一项多中心II期临床研究中, 有47例有远处转移或无法手术的胃腺癌病例入组, 治疗方案: 第1天贝伐单抗15 mg/kg, 第1, 8天依立替康65 mg/m², 顺铂30 mg/m², 每3周重复. 结果: 在可评价的34例病例中总有效率为65%, 中位进展时间(median time to progression)为8.3 mo, 带瘤生存时间(time to disease progression, TTP)比过去对照提高了75%, 中位生存时间(Median survival)为12.3 mo, 40

例无法手术的患者中仅1人出现显著的上消化道出血^[51]. IMC-1C11是Imclone Systems公司开发的一种抗VEGFR-2的嵌合抗体, 它能够特异地与VEGFR-2细胞外区域相连, 阻止VEGF激活VEGFR-2, 从而有效的抑制新生血管的形成. Posey *et al*^[52]应用IMC-1C11进行结直肠癌肝转移的I期临床治疗研究, 结果发现IMC-1C11虽无明显的毒副作用, 但单纯使用其抗肿瘤疗效并不显著, 提示可能需要长期用药或联合其他抗血管药物进行抗肿瘤治疗. SU5416(semaxinib)是一种新合成的VEGF受体FLK-1/KDR酪氨酸激酶抑制物, 可明显抑制酪氨酸激酶活化, 阻止肿瘤新生血管形成^[53]. Hoff *et al*^[54]报道SU5416联合依立替康治疗晚期结直肠癌的I临床试验中, 10例患者入组均无IV不良反应, 9例可评价疗效, 其中2例PR, 3例SD, 4例PD. SU6668是在SU5416的C-4位上引入1个丙酸基团得到的, 他对VEGFR-2、PDGF和bFGFR均有抑制作用, 是一种口服多靶点酪氨酸激酶抑制剂. Tokuyama *et al*^[55]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. ZD6474(Vandetanib、范得他尼)是一种合成的苯胺喹唑啉化合物, 为口服的小分子VEGFR-2(KDR)、EGFR和RET酪氨酸激酶多靶点抑制剂. McCarty *et al*^[56]应用ZD6474治疗人胃癌TMK-1细胞荷瘤裸鼠模型, 结果显示该药能显著降低肿瘤组织微血管密度, 促进肿瘤细胞凋亡.

6 其他靶向治疗(Other targeted therapies)

6.1 酪氨酸激酶抑制 胃肠间质瘤(GIST)主要是由于c-kit癌基因突变导致酪氨酸激酶持续活化、细胞增殖分化失控所形成. 常规化放疗几乎无效, 主要依赖手术, 但术后复发与转移率很高. 伊马替尼(Imatinib)(ST1571, Gleevec, Glivec格列卫)是一种口服的Bcr-Abl酪氨酸激酶跨膜受体特异性抑制剂, 能够与Abl激酶上的ATP结合位点相互作用, 从而阻止下游蛋白的磷酸. 除了对慢性髓性白血病(CML)高度有效外, 对胃肠间质瘤(GIST)也有显著的临床和放射学效应. Demetri *et al*^[57]在一多中心研究报告, 147例晚期GIST经治疗后, 在可评价的140例患者中有79例(53.7%)PR, 41例(27.9%)SD, 共有81.6%的患者临床受益, 88%的患者存活1 a以上. 该研究组最近使用新型多靶点酪氨酸激酶抑制剂苏尼替尼(sunitinib)治疗伊马替尼耐药的GIST患者也取得了满意的临床疗效, 治疗组肿瘤中位进展

应用要点
胃癌的发生、发展、转归是一个多靶点多环节调控的结果, 因此多靶点联合用药将是胃癌分子靶向治疗的一个发展趋势. 另一方面, 开发具有高特异性、低毒性、低价的新一代小分子治疗药物是提高临床疗效和延长患者生存期的有效手段.

同行评价

本文综述了胃癌分子靶向治疗的现状, 陈述合理, 条理清晰, 引用的参考文献充分, 综述全面, 有一定的参考价值 and 可读性.

时间(Median time to tumour progression)27.3 wk, 而安慰剂组6.4 wk($P<0.0001$)^[58].

6.2 组蛋白去乙酰化酶抑制剂(histone deacetylase inhibitors, HDACIs) 组蛋白乙酰化、磷酸化、甲基化和泛素化等修饰可影响染色质结构和基因功能, 这些修饰会使染色质结合蛋白产生协同或排斥作用. 通过对多种肿瘤细胞中组蛋白乙酰转移酶(histone acetylase, HATs)和组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDACs)的结构和表达水平变化的研究已证实, 组蛋白乙酰化和去乙酰化在细胞增殖、生长中具有重要功能. 研究发现, HDAC抑制剂能引起细胞周期阻断和细胞凋亡基因的激活, 具有潜在的抗肿瘤功能. 另有研究报道高剂量HDACIs可通过破坏2个细胞周期检验点而使其具有肿瘤选择性细胞毒性作用^[59]. 最近Ueda *et al*^[60]研究报告蛋白去乙酰化酶抑制剂Apicidin对子宫内膜癌细胞, 卵巢癌细胞有明显的生长抑制作用, 而相同剂量的Apicidin对正常子宫内膜和卵巢上皮细胞无抑制作用. HDACIs在胃肠道肿瘤治疗中的应用尚未见报道.

6.3 其他靶向治疗包括 抗CD20的单抗, 如利妥昔单抗(rituximab), 在治疗胃黏膜相关组织淋巴瘤(gastric MALT lymphoma)的临床试验中也取得满意疗效^[61]. 胰岛素样生长因子受体(IGFR-1), 如NVP-AEW541IGFR-1使胃肠神经内分泌肿瘤细胞^[62]和结肠癌细胞^[63]周期停止、促进凋亡的发生. aurora激酶抑制剂VX-680能使多株结肠癌细胞株细胞周期停止、促进凋亡的发生^[64].

总之, 胃癌的发生、发展、转归与其他大多数实体肿瘤一样是一个多靶点多环节调控的结果. 目前大部分靶向治疗药物一般仅能针对一个靶点发挥效应, 而且细胞中信号传导机构又是一个复合的、多因素交叉的网络体系, 因此多靶点联合用药将是胃癌分子靶向治疗的一个发展趋势. 另一方面, 进一步从细胞、分子等水平深入研究各靶点在胃癌进展过程中所起的作用, 结合高通量药物筛选等手段, 开发具有高特异性、低毒性、低价价的新一代小分子治疗药物是提高临床疗效和延长患者生存期的有效手段. 此外, 分子靶向药物大多为非细胞毒性药物, 目前大多数仍只作为二线或三线用药, 因此合理有效地与细胞毒药物联合应用将发挥更好的效果. 进入21世纪胃癌分子靶向治疗已取得了巨大进步, 随着临床经验的积累、治疗策略的完善以及用药技术的提高, 分子靶向治疗在胃癌

综合治疗中将会有更加广阔的前景.

7 参考文献

- Shah MA, Schwartz GK. Treatment of metastatic esophagus and gastric cancer. *Semin Oncol* 2004; 31: 574-587
- Olayioye MA, Neve RM, Lane HA, Hynes NE. The ErbB signaling network: receptor heterodimerization in development and cancer. *EMBO J* 2000; 19: 3159-3167
- Migliaccio A, Castoria G, Di Domenico M, Ciociola A, Lombardi M, De Falco A, Nanayakkara M, Bottero D, De Stasio R, Varricchio L, Auricchio F. Crosstalk between EGFR and extranuclear steroid receptors. *Ann N Y Acad Sci* 2006; 1089: 194-200
- Scaltriti M, Baselga J. The epidermal growth factor receptor pathway: a model for targeted therapy. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 5268-5272
- Becker JC, Muller-Tidow C, Serve H, Domschke W, Pohle T. Role of receptor tyrosine kinases in gastric cancer: new targets for a selective therapy. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 3297-3305
- Arnold D, Peinert S, Voigt W, Schmoll HJ. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors: present and future role in gastrointestinal cancer treatment: a review. *Oncologist* 2006; 11: 602-611
- Johnston JB, Navaratnam S, Pitz MW, Maniate JM, Wiehce E, Baust H, Gingerich J, Skliris GP, Murphy LC, Los M. Targeting the EGFR pathway for cancer therapy. *Curr Med Chem* 2006; 13: 3483-3492
- Astsaturon I, Cohen RB, Harari PM. EGFR-targeting monoclonal antibodies in head and neck cancer. *Curr Cancer Drug Targets* 2006; 6: 691-710
- Arteaga CL. Overview of epidermal growth factor receptor biology and its role as a therapeutic target in human neoplasia. *Semin Oncol* 2002; 29: 3-9
- Krozely P. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors: evolving role in the treatment of solid tumors. *Clin J Oncol Nurs* 2004; 8: 163-168
- Doi T, Koizumi W, Siena S, S. Cascinu, A. Ohtsu, M. Michael, H. Takiuchi, H. Swaisland, N. Gallagher, E. Van Cutsem. Efficacy, tolerability and pharmacokinetics of gefitinib (ZD1839) in pretreated patients with metastatic gastric cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2003; 22: abstr 1036
- Adelstein DJ, Rybicki LA, Carroll MA, T. W. Rice, T. Mekhail. Phase II trial of gefitinib for recurrent or metastatic esophageal or gastroesophageal junction (GeJ) cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2005; 23(16 suppl): 4054a
- Rojo J, Tabernero E, Van Cutsem E, A. Ohtsu, J. Albanell, W. Koizumi, M. Peeters. Pharmacodynamic studies of tumor biopsy specimens from patients with advanced gastric carcinoma undergoing treatment with gefitinib (ZD1839). *Proc Am Soc Clin Oncol* 2003; 22: 191 (A764)
- Suntharalingam M, Dipetrillo T, Akerman P, Wanebo H, Daly B, Doyle LA, Krasna MJ, Kennedy T, Safran H. Cetuximab, paclitaxel, carboplatin and radiation for esophageal and gastric cancer. *J Clin Oncol* 2006; 24 Suppl 18S: 4029
- Agus DB, Gordon MS, Taylor C, Natale RB, Karlan B, Mendelson DS, Press MF, Allison DE, Sliwkowski MX, Lieberman G, Kelsey SM, Fyfe G.

- Phase I clinical study of pertuzumab, a novel HER dimerization inhibitor, in patients with advanced cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23: 2534-2543
- 16 Tanner M, Hollmen M, Junttila TT, Kapanen AI, Tammola S, Soini Y, Helin H, Salo J, Joensuu H, Sihvo E, Elenius K, Isola J. Amplification of HER-2 in gastric carcinoma: association with Topoisomerase IIalpha gene amplification, intestinal type, poor prognosis and sensitivity to trastuzumab. *Ann Oncol* 2005; 16: 273-278
 - 17 Park DI, Yun JW, Park JH, Oh SJ, Kim HJ, Cho YK, Sohn CI, Jeon WK, Kim BI, Yoo CH, Son BH, Cho EY, Chae SW, Kim EJ, Sohn JH, Ryu SH, Sepulveda AR. HER-2/neu amplification is an independent prognostic factor in gastric cancer. *Dig Dis Sci* 2006; 51: 1371-1379
 - 18 Matsui Y, Inomata M, Tojigamori M, Sonoda K, Shiraiishi N, Kitano S. Suppression of tumor growth in human gastric cancer with HER2 overexpression by an anti-HER2 antibody in a murine model. *Int J Oncol* 2005; 27: 681-685
 - 19 Malumbres M. Preclinical models for cell cycle-targeted therapies. *Adv Exp Med Biol* 2006; 587: 139-147
 - 20 Shapiro GI. Cyclin-dependent kinase pathways as targets for cancer treatment. *J Clin Oncol* 2006; 24: 1770-1783
 - 21 Yamasaki L, Pagano M. Cell cycle, proteolysis and cancer. *Curr Opin Cell Biol* 2004; 16: 623-628
 - 22 Blagosklonny MV. Flavopiridol, an inhibitor of transcription: implications, problems and solutions. *Cell Cycle* 2004; 3: 1537-1542
 - 23 Swanton C. Cell-cycle targeted therapies. *Lancet Oncol* 2004; 5: 27-36
 - 24 Melillo G, Sausville EA, Cloud K, Lahusen T, Varesio L, Senderowicz AM. Flavopiridol, a protein kinase inhibitor, down-regulates hypoxic induction of vascular endothelial growth factor expression in human monocytes. *Cancer Res* 1999; 59: 5433-5437
 - 25 Thomas JP, Tutsch KD, Cleary JF, Bailey HH, Arzoomanian R, Alberti D, Simon K, Feierabend C, Binger K, Marnocha R, Dresen A, Wilding G. Phase I clinical and pharmacokinetic trial of the cyclin-dependent kinase inhibitor flavopiridol. *Cancer Chemother Pharmacol* 2002; 50: 465-472
 - 26 Motwani M, Rizzo C, Sirotak F, She Y, Schwartz GK. Flavopiridol enhances the effect of docetaxel in vitro and in vivo in human gastric cancer cells. *Mol Cancer Ther* 2003; 2: 549-555
 - 27 Senderowicz AM. Inhibitors of cyclin-dependent kinase modulators for cancer therapy. *Prog Drug Res* 2005; 63: 183-206
 - 28 Kordes U, Krappmann D, Heissmeyer V, Ludwig WD, Scheidereit C. Transcription factor NF-kappaB is constitutively activated in acute lymphoblastic leukemia cells. *Leukemia* 2000; 14: 399-402
 - 29 Tricot G. New insights into role of micro-environment in multiple myeloma. *Lancet* 2000; 355: 248-250
 - 30 Kahl BS. Update: gastric MALT lymphoma. *Curr Opin Oncol* 2003; 15: 347-352
 - 31 Hatakeyama M, Brzozowski T. Pathogenesis of Helicobacter pylori infection. *Helicobacter* 2006; 11 Suppl 1: 14-20
 - 32 Smith MG, Hold GL, Tahara E, El-Omar EM. Cellular and molecular aspects of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2979-2990
 - 33 Zhao XH, Gu SZ, Tian HG, Quan P, Pan BR. Clinical significance of expression of apoptotic signal proteins in gastric carcinoma tissue. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 3846-3849
 - 34 Karin M, Ben-Neriah Y. Phosphorylation meets ubiquitination: the control of NF-[kappa]B activity. *Annu Rev Immunol* 2000; 18: 621-663
 - 35 Sezer O, Vesole DH, Singhal S, Richardson P, Stadtmauer E, Jakob C, Boral AL, Esseltine DL, Mehta J. Bortezomib-induced tumor lysis syndrome in multiple myeloma. *Clin Lymphoma Myeloma* 2006; 7: 233-235
 - 36 Roccaro AM, Hideshima T, Richardson PG, Russo D, Ribatti D, Vacca A, Dammacco F, Anderson KC. Bortezomib as an antitumor agent. *Curr Pharm Biotechnol* 2006; 7: 441-448
 - 37 Mitsiades CS, Mitsiades N, Hideshima T, Richardson PG, Anderson KC. Proteasome inhibition as a new therapeutic principle in hematological malignancies. *Curr Drug Targets* 2006; 7: 1341-1347
 - 38 Ocean AJ, Schnoll-Sussman F, Chen X, S. Holloway, N. Matthews, P. Christos, M. Mazumdar, J. Wright, S. Wadler. Phase II study of PS-341 (VELCADE, bortezomib) with or without irinotecan in patients (pts) with advanced gastric adenocarcinomas (AGA). *Journal of Clinical Oncology* 2006 ASCO Annual Meeting Proceedings (Post-Meeting Edition). 2006; 24: 14040
 - 39 Chambers AF, Matrisian LM. Changing views of the role of matrix metalloproteinases in metastasis. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89: 1260-1270
 - 40 Nomura H, Sato H, Seiki M, Mai M, Okada Y. Expression of membrane-type matrix metalloproteinase in human gastric carcinomas. *Cancer Res* 1995; 55: 3263-3266
 - 41 Honda M, Mori M, Ueo H, Sugimachi K, Akiyoshi T. Matrix metalloproteinase-7 expression in gastric carcinoma. *Gut* 1996; 39: 444-448
 - 42 Sier CF, Kubben FJ, Ganesh S, Heerding MM, Griffioen G, Hanemaaijer R, van Krieken JH, Lamers CB, Verspaget HW. Tissue levels of matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 are related to the overall survival of patients with gastric carcinoma. *Br J Cancer* 1996; 74: 413-417
 - 43 Zheng H, Takahashi H, Murai Y, Cui Z, Nomoto K, Niwa H, Tsuneyama K, Takano Y. Expressions of MMP-2, MMP-9 and VEGF are closely linked to growth, invasion, metastasis and angiogenesis of gastric carcinoma. *Anticancer Res* 2006; 26: 3579-3583
 - 44 Kimata M, Otani Y, Kubota T, Igarashi N, Yokoyama T, Wada N, Yoshimizu N, Fujii M, Kameyama K, Okada Y, Kumai K, Kitajima M. Matrix metalloproteinase inhibitor, marimastat, decreases peritoneal spread of gastric carcinoma in nude mice. *Jpn J Cancer Res* 2002; 93: 834-841
 - 45 Bramhall SR, Hallissey MT, Whiting J, Scholefield J, Tierney G, Stuart RC, Hawkins RE, McCulloch P, Maughan T, Brown PD, Baillet M, Fielding JW. Marimastat as maintenance therapy for patients with advanced gastric cancer: a randomised trial. *Br J Cancer* 2002; 86: 1864-1870
 - 46 Harlozinska A. Progress in molecular mechanisms of tumor metastasis and angiogenesis. *Anticancer Res* 2005; 25: 3327-3333
 - 47 汤涛, 王国斌. 抑制血管生成与胃癌治疗的研究进展. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 433-439
 - 48 Holash J, Wiegand SJ, Yancopoulos GD. New

- model of tumor angiogenesis: dynamic balance between vessel regression and growth mediated by angiopoietins and VEGF. *Oncogene* 1999; 18: 5356-5362
- 49 Lazar D, Raica M, Sporea I, Taban S, Goldis A, Cornianu M. Tumor angiogenesis in gastric cancer. *Rom J Morphol Embryol* 2006; 47: 5-13
- 50 Whisenant J, Bergsland E. Anti-angiogenic strategies in gastrointestinal malignancies. *Curr Treat Options Oncol* 2005; 6: 411-421
- 51 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
- 52 Posey JA, Ng TC, Yang B, Khazaeli MB, Carpenter MD, Fox F, Needle M, Waksal H, LoBuglio AF. A phase I study of anti-kinase insert domain-containing receptor antibody, IMC-1C11, in patients with liver metastases from colorectal carcinoma. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 1323-1332
- 53 Fong TA, Shawver LK, Sun L, Tang C, App H, Powell TJ, Kim YH, Schreck R, Wang X, Risau W, Ullrich A, Hirth KP, McMahon G. SU5416 is a potent and selective inhibitor of the vascular endothelial growth factor receptor (Flk-1/KDR) that inhibits tyrosine kinase catalysis, tumor vascularization, and growth of multiple tumor types. *Cancer Res* 1999; 59: 99-106
- 54 Hoff PM, Wolff RA, Bogaard K, Waldrum S, Abbruzzese JL. A Phase I study of escalating doses of the tyrosine kinase inhibitor semaxanib (SU5416) in combination with irinotecan in patients with advanced colorectal carcinoma. *Jpn J Clin Oncol* 2006; 36: 100-103
- 55 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
- 56 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
- 57 Demetri GD, von Mehren M, Blanke CD, Van den Abbeele AD, Eisenberg B, Roberts PJ, Heinrich MC, Tuveson DA, Singer S, Janicek M, Fletcher JA, Silverman SG, Silberman SL, Capdeville R, Kiese B, Peng B, Dimitrijevic S, Druker BJ, Corless C, Fletcher CD, Joensuu H. Efficacy and safety of imatinib mesylate in advanced gastrointestinal stromal tumors. *N Engl J Med* 2002; 347: 472-480
- 58 Demetri GD, van Oosterom AT, Garrett CR, Blackstein ME, Shah MH, Verweij J, McArthur G, Judson IR, Heinrich MC, Morgan JA, Desai J, Fletcher CD, George S, Bello CL, Huang X, Baum CM, Casali PG. Efficacy and safety of sunitinib in patients with advanced gastrointestinal stromal tumour after failure of imatinib: a randomised controlled trial. *Lancet* 2006; 368: 1329-1338
- 59 Taddei A, Roche D, Bickmore WA, Almouzni G. The effects of histone deacetylase inhibitors on heterochromatin: implications for anticancer therapy? *EMBO Rep* 2005; 6: 520-524
- 60 Ueda T, Takai N, Nishida M, Nasu K, Narahara H. Apicidin, a novel histone deacetylase inhibitor, has profound anti-growth activity in human endometrial and ovarian cancer cells. *Int J Mol Med* 2007; 19: 301-308
- 61 Chaudhary N, Ozer H, Huard D, Lightfoot S, Mesiya S. Successful treatment of Helicobacter pylori-negative gastric MALT lymphoma with rituximab. *Dig Dis Sci* 2006; 51: 775-778
- 62 Hopfner M, Baradari V, Huether A, Schofl C, Scherubl H. The insulin-like growth factor receptor 1 is a promising target for novel treatment approaches in neuroendocrine gastrointestinal tumours. *Endocr Relat Cancer* 2006; 13: 135-149
- 63 Hopfner M, Sutter AP, Huether A, Baradari V, Scherubl H. Tyrosine kinase of insulin-like growth factor receptor as target for novel treatment and prevention strategies of colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 5635-5643
- 64 Harrington EA, Bebbington D, Moore J, Rasmussen RK, Ajose-Adeogun AO, Nakayama T, Graham JA, Demur C, Hercend T, Diu-Hercend A, Su M, Golec JM, Miller KM. VX-680, a potent and selective small-molecule inhibitor of the Aurora kinases, suppresses tumor growth in vivo. *Nat Med* 2004; 10: 262-267

编辑 程剑侠 电编 何基才

SELDI-TOF MS技术在胰腺癌早期诊断中的应用

王磊, 刘海林

王磊, 刘海林, 上海交通大学医学院附属第九人民医院消化科 上海市 200011

上海市科委登山计划资助项目, No. 06JC14047

通讯作者: 王磊, 200011, 上海市制造局路639号, 上海交通大学医学院附属第九人民医院消化科. wanglei197886@sina.com

电话: 021-63138341-5134

收稿日期: 2007-04-30 修回日期: 2007-08-28

Application of surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry for early detection of pancreatic cancer

Lei Wang, Hai-Lin Liu

Lei Wang, Hai-Lin Liu, Department of Gastroenterology, the Ninth People's Hospital Affiliated to the School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200011, China

Supported by: the Mountaineering Program of Shanghai Science and Technology Commission, No. 06JC14047

Correspondence to: Lei Wang, Department of Gastroenterology, the Ninth People's Hospital Affiliated to the School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, 639 Shanghai Zhizaoju Road, Shanghai, 200011, China. wanglei197886@sina.com

Received: 2007-04-30 Revised: 2007-08-28

Abstract

Pancreatic cancer is a devastating and lethal disease. Early detection continues to be a serious, unsolved problem. However, proteomics is emerging as a powerful new tool for the diagnosis of pancreatic cancer. Surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (SELDI-TOF MS) is a new technique that allows for rapid high-throughput screening of protein expression in clinical samples. The progress and challenges in applying SELDI-TOF MS to protein biomarker discovery in pancreatic cancer are reviewed in this paper.

Key Words: Pancreatic cancer; Surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry

Wang L, Liu HL. Application of surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry

for early detection of pancreatic cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2007; 15(25): 2679-2683

摘要

胰腺癌是目前预后最差的恶性肿瘤, 早期诊断被认为是改善胰腺癌预后的重要出路之一. 表面增强激光解吸电离飞行时间质谱(SELDI-TOF MS)技术, 是近年来发展起来一种新的高通量蛋白质组学研究方法, 本文就SELDI-TOF MS技术相关的原理、特点, 在胰腺癌早期诊断中的应用新进展和未来的发展趋势作一综述.

关键词: 胰腺癌; 表面增强激光解吸电离飞行时间质谱

王磊, 刘海林. SELDI-TOF MS技术在胰腺癌早期诊断中的应用. 世界华人消化杂志 2007;15(25):2679-2683

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2679.asp>

0 引言

表面增强激光解吸电离飞行时间质谱(surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, SELDI-TOF MS)技术, 是近年来发展起来一种新的蛋白质组学研究方法, 具有大规模、超微量、高通量、全自动等方面的特点, 本文就SELDI-TOF MS技术相关的原理、特点, 在胰腺癌早期诊断中的应用新进展和未来的发展趋势作一综述.

1 胰腺癌研究的现况和存在问题

胰腺癌是最常见的胰腺恶性肿瘤, 近年来, 胰腺癌的发病率不断增高, 在我国已占居癌症死亡原因的第6位. 据有关资料显示, 以上海为例, 胰腺癌的发病率已达7.21/10万, 较20 a前增加了4倍多, 已成为我国胰腺癌发病率最高的地区之一^[1-3]. 由于胰腺癌早期症状隐匿, 缺乏特异性, 加之其恶性程度高, 早期容易发生转移, 而且缺乏灵敏性特异性均较高的早期诊断方法, 因此临床确诊病例已基本处于晚期. 胰腺癌手术切除率低, 化疗及放疗效果均不理想, 治疗效果极差, 虽经过多

背景资料

表面增强激光解吸电离飞行时间质谱(SELDI-TOF MS)技术, 是近年来引起广泛关注的一种新的蛋白质组学研究方法, 具有大规模、超微量、高通量、全自动等其他方法所无法比拟的优越性, 在生物学和临床医学等方面初步取得了卓越的研究成果.

相关报道
有研究报道将 SELDI-TOF MS 技术用于研究探讨胃癌、大肠癌、食管癌等其他消化系统肿瘤的早期诊断问题, 均分别取得了丰富的研究成果。

年的努力, 但其5 a生存率仍不足5%, 是目前预后最差的恶性肿瘤^[4-7]。寻找有效的早期诊断方法被认为是提高胰腺癌诊治水平的重要出路之一^[8-10]。

2 SELDI-TOF MS技术介绍

蛋白质是基因和细胞功能的执行者, 近年来开展的蛋白质组学(proteomics)研究是后基因组时代的重要研究领域^[11-13]。传统的蛋白质组学技术是以双向凝胶电泳(2D-PAGE)结合质谱为代表的蛋白质分离鉴定技术路线, 但这种方法标本需要量大, 检测过程复杂, 不能较好地区分低丰度小分子蛋白, 因此大大限制了其临床应用范围^[14-20]。近年来建立的SELDI-TOF MS技术, 又称蛋白指纹图谱技术, 可以克服上述缺陷, 具有大规模、超微量、高通量、全自动筛选蛋白质等方面的特点, 为包括胰腺癌在内的蛋白质组学研究提供了一种高效的研究方法^[21-31]。

2.1 组成和基本原理 SELDI-TOF MS技术是在早期开发的基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)技术基础上改进后建立的, 包括蛋白质芯片、芯片质谱阅读器和分析软件3部分^[32-33]。

蛋白质芯片可在不损害蛋白质功能和不增加背景的条件下, 在芯片表面对蛋白质进行固定分离。蛋白质芯片根据表面物质的不同, 可分为化学型和生物型两类^[34]。化学型芯片通过化学作用结合样品中的蛋白质, 并根据其作用原理的不同又可进一步细分为疏水性芯片、亲水性芯片、阳离子芯片、阴离子芯片和金属亲和芯片等类型; 生物型芯片则是把生物活性分子, 如抗体、酶、受体、DNA等结合到芯片表面, 借助抗原-抗体、酶-底物、受体-配体、蛋白质-DNA等相互作用结合样品中的蛋白质。生物芯片特异性高, 可以进行蛋白质定量, 但只能检测已知蛋白质。根据检测目的选择不同的芯片, 将其与被测标本中的蛋白质特异性结合后, 用缓冲液或水洗去未结合的非特异蛋白, 即可获得高分辨率的保留蛋白质谱。保留蛋白质在能量吸收分子(energy absorbing molecule, EAM)溶液作用下形成晶体。

芯片质谱阅读器可以对芯片进行质谱分析, 在固定激光束照射下, 芯片上的蛋白质晶体通过激光解吸电离的方式受到激发, 发生解除吸附和电离。带电离子在通过电场时加速, 检测仪记录不同质量带电离子在电场中的不同飞行时

间, 在高速的模拟数字转换器中转换并记录下来。信号以不同质荷比(M/Z)的蛋白质特异性波峰的形式呈现, 构成了该检测样本特有的指纹图谱, 根据波峰的高低可以了解特定蛋白质的强度和丰度。

收集到的大量数据必须利用分析软件进行处理, 包括基线干扰消减和噪音过滤, 以及蛋白质分子质量精确度校正和自动波峰检测, 标准化处理后的信号被综合聚类, 对同一质荷比处的蛋白质峰相对强度组间平均数做 t 检验, 根据 P 值的大小确定在不同组别样本中显著上调或下调的不同质荷比蛋白质。为了确定哪种蛋白或哪几种蛋白质组合可以对不同样本进行分类和鉴别, 还需要利用分析软件进行某些特殊算法, 常用的有决策树法、人工神经网络法等^[35-36]。

2.2 优势和存在问题 SELDI-TOF MS技术克服了以往使用的蛋白质检测技术的某些缺点, 其优势主要体现在: (1)对待测样本要求低, 适用于多种生物样品, 血清^[37-38]、尿^[39-41]、组织液^[42]等液体不需要进行特殊处理便可以直接点样检测, 一些组织标本还可以结合利用激光显微切割技术(LCM)对特定细胞进行分析^[43]。(2)操作方便迅速, 可实现高通量自动化定量分析检测, 能够满足临床检测和大样本筛查的需要。(3)灵敏度高, 样本用量少(0.5-500 μ L), 可检测的蛋白质分子量范围大(200-500 kDa), 能够检测出一些传统凝胶电泳所无法检测的小分子、低丰度蛋白。(4)特异性较高, 可重复性较好。(5)不会破坏蛋白质结构和构象。(6)应用范围广, 主要包括发现生物标记物进行疾病的发病机制、早期诊断、疗效监测、患者预后评估的研究; 蛋白质纯化、功能鉴定及蛋白质之间相互作用的研究; 蛋白质甲基化、磷酸化、糖基化研究; DNA、RNA及蛋白质调控的研究; 药物研发中筛选确定药物作用靶位、药物毒理学、药物代谢动力学等研究。

SELDI-TOF MS作为一项新兴技术, 与以往任何一种蛋白质研究技术一样不可能是完美的, 也存在着某些方面的问题^[44-46]。使用SELDI-TOF MS检测出的结果给出的仅是蛋白质的质荷比, 还不能直接给出蛋白质的较详细资料如等电点、溶解度、C端N端的序列等, 也无法知道蛋白质的构型, 因此如果进一步鉴定特定蛋白质序列还需要大量后续工作。此外检测费用较高, 蛋白质定量受蛋白质与芯片结合力的影响, 高丰度蛋白质可能干扰低丰度蛋白质的检测, 不

同设备质量控制及标准化设定不统一, 这些问题都还需要在应用实践中不断发展完善。

3 SELDI-TOF MS技术在胰腺癌早期诊断中的研究进展

目前在胰腺癌研究中, SELDI-TOF MS技术主要应用于早期诊断的研究, 研究者分别利用血清、组织和胰液标本, 从中筛选出胰腺癌相对特异性表达的蛋白质标志物, 并建立了具有较高灵敏性和特异性的诊断及鉴别诊断体系。

3.1 血清标本 胰腺癌可以引起外周血蛋白质谱表达的改变, 而且血清标本具有获取方便和成本低廉等优点, Koopmann *et al*^[47]利用SELDI-TOF MS技术分析了60例胰腺癌患者, 120例其他胰腺疾病(胰腺炎、神经内分泌肿瘤、壶腹腺癌、管内乳头状类黏蛋白瘤等)和健康对照组的血清样品, 获得了特异性蛋白质: PC-A, PC-B和CA19-9。这3种蛋白作为蛋白标志对临床样品进一步检测时, PC-A蛋白灵敏度达83%, 特异性达85%, PC-B蛋白灵敏度达70%, 特异性达85%, CA19-9蛋白灵敏度达64%, 特异性达85%。国内亦有研究者使用SELDI蛋白芯片检测了胰腺癌患者的血清蛋白质谱, 并利用决策树法对结果进行分析, 选择了6种标志物建立了一种胰腺癌鉴别体系, 利用该体系进行双盲检测后证明其灵敏度达到80%, 特异度达到84.6%^[48]。

3.2 胰液标本 胰液富含由胰腺导管所分泌的各种蛋白质, 因此可以更有效的从中获取胰腺癌的蛋白质标记物, 但是胰液标本采集较为困难, 胰液标记物的检测可以用于高危人群的筛查。Rosty *et al*^[42]用SELDI蛋白质芯片技术对15例胰腺癌和7例其他胰腺疾病患者的胰液进行比较研究, 发现67%胰腺癌患者胰液样品中有分子质量为16 570的蛋白表达, 而只有1例其他胰腺疾病患者出现此种蛋白的表达。经蛋白质芯片免疫测定后, 确定这种蛋白为HIP/PAP- I, ELISA检测表明HIP/PAP- I 在胰腺癌患者胰液和血清中的表达量远远高于对照组, 因此认为胰液中的HIP/PAP- I 可作为胰腺癌的标志物有助于胰腺癌的诊断。

3.3 组织标本 在组织标本中寻找胰腺癌蛋白质标记物是最直接的研究方法^[49], 通过组织标本研究获得的候选标记物可以提供大量有价值的信息, 但组织标本不易获得, 限制了其临床应用。最近有研究者对胰腺组织标本进行胰腺癌相对特异性蛋白质的筛选, 组织标本分别来源于31

例胰腺癌, 44例胰腺癌旁组织和19例胰腺良性疾病, 经过SELDI-TOF MS技术检测分析, 结果表明在检测出的蛋白质峰中, 有13种在胰腺癌和癌旁组织表达显著差异, 8种在胰腺癌和胰腺良性疾病表达显著差异, 12种在胰腺癌和正常组织表达显著差异。利用logistic回归分析等进行统计建立训练模型, 将不同差异表达的蛋白质进行不同方式的组合, 可以建立有效的胰腺癌鉴别诊断体系, 还可以对胰腺癌标本进行准确性较高的分期^[50]。

4 结论

SELDI-TOF MS技术以其大规模、超微量、高通量、全自动等特点成为胰腺癌早期诊断研究的一项新的有效方法。与早期利用该技术发现一种或几种特异性蛋白质相比, 研究者逐渐认为采用组合式的多标记体系可以有效减少个体间肿瘤蛋白表达差异的影响, 因此更为优越^[47,50]。此外对SELDI-TOF MS技术产生的海量实验信息进行更有效的分析处理需要数学、信息学和计算机技术等多种学科的交叉协作, 例如最近美国匹兹堡大学计算机系的研究人员开发了一种新的多变量未来选择策略的方法, 研究证明这种方法可以建立更加有效的胰腺癌蛋白质标记系统^[51]。相信随着SELDI-TOF MS技术的进一步发展完善, 必将给胰腺癌的早期诊断和其他研究带来更加广阔的前景。

5 参考文献

- 1 郭晓钟. 重视我国胰腺癌的研究现状及发展趋势. 世界华人消化杂志 2006; 14: 3161-3162
- 2 Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Smigal C, Thun MJ. Cancer statistics, 2006. *CA Cancer J Clin* 2006; 56: 106-130
- 3 Michaud DS. Epidemiology of pancreatic cancer. *Minerva Chir* 2004; 59: 99-111
- 4 Boeck S, Hinke A, Wilkowski R, Heinemann V. Importance of performance status for treatment outcome in advanced pancreatic cancer. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 224-227
- 5 Nakao A, Fujii T, Sugimoto H, Kanazumi N, Nomoto S, Kodera Y, Inoue S, Takeda S. Oncological problems in pancreatic cancer surgery. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 4466-4472
- 6 Laurell H, Bouisson M, Berthelemy P, Rochaix P, Dejean S, Besse P, Susini C, Pradayrol L, Vaysse N, Buscail L. Identification of biomarkers of human pancreatic adenocarcinomas by expression profiling and validation with gene expression analysis in endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration samples. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 3344-3351
- 7 Lowenfels AB, Maisonneuve P. Epidemiology and

应用要点
SELDI-TOF MS技术本身的特点为研究成果向临床应用的转化奠定了基础, 具有广阔的应用前景, 但检测质量控制成为亟待解决的问题。

名词解释

SELDI-TOF MS 技术通过蛋白质芯片与被测样本蛋白质特异性结合,在激光束照射激发下,芯片上的蛋白质晶体发生解吸吸附和电离,检测仪记录不同质量带电离子在电场中的飞行时间,信号以蛋白质特异性波峰的形式呈现,构成了该检测样本特有的指纹图谱。

- 8 Yeo TP, Hruban RH, Leach SD, Wilentz RE, Sohn TA, Kern SE, Iacobuzio-Donahue CA, Maitra A, Goggins M, Canto MI, Abrams RA, Laheru D, Jaffee EM, Hidalgo M, Yeo CJ. Pancreatic cancer. *Curr Probl Cancer* 2002; 26: 176-275
- 9 Germanos S, Gourgiotis S, Stavrothanasopoulou A, Alepas P, Zampitis N, Panteli A. Diagnostic and therapeutic approach to pancreatic adenocarcinoma. *J Gastrointestin Liver Dis* 2006; 15: 257-263
- 10 Lu XH, Wang L, Li H, Qian JM, Deng RX, Zhou L. Establishment of risk model for pancreatic cancer in Chinese Han population. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2229-2234
- 11 de Noo ME, Tollenaar RA, Deelder AM, Bouwman LH. Current status and prospects of clinical proteomics studies on detection of colorectal cancer: hopes and fears. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 6594-6601
- 12 翁永强, 邱双健, 刘银坤, 汤钊猷. 肿瘤标志物的蛋白质组学. *世界华人消化杂志* 2004; 12: 1188-1190
- 13 陈阳, 徐维明. 蛋白质组学技术在幽门螺杆菌研究中的应用. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 243-245
- 14 Gygi SP, Corthals GL, Zhang Y, Rochon Y, Aebersold R. Evaluation of two-dimensional gel electrophoresis-based proteome analysis technology. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 9390-9395
- 15 Rabilloud T. Two-dimensional gel electrophoresis in proteomics: old, old fashioned, but it still climbs up the mountains. *Proteomics* 2002; 2: 3-10
- 16 Westermeier R, Marouga R. Protein detection methods in proteomics research. *Biosci Rep* 2005; 25: 19-32
- 17 Miller I, Crawford J, Gianazza E. Protein stains for proteomic applications: which, when, why? *Proteomics* 2006; 6: 5385-5408
- 18 Zhang Y, Fan XG, Chen R, Xiao ZQ, Feng XP, Tian XF, Chen ZH. Comparative proteome analysis of untreated and *Helicobacter pylori*-treated HepG2. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 3485-3489
- 19 Cheng YL, Zhang GY, Xiao ZQ, Tang FQ. Two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis analysis of indomethacin-treated human colon cancer cells. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 2420-2425
- 20 Jazii FR, Najafi Z, Malekzadeh R, Conrads TP, Ziaee AA, Abnet C, Yazdznbod M, Karkhane AA, Salekdeh GH. Identification of squamous cell carcinoma associated proteins by proteomics and loss of beta tropomyosin expression in esophageal cancer. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 7104-7112
- 21 Jr GW, Cazares LH, Leung SM, Nasim S, Adam BL, Yip TT, Schellhammer PF, Gong L, Vlahou A. Proteinchip(R) surface enhanced laser desorption/ionization (SELDI) mass spectrometry: a novel protein biochip technology for detection of prostate cancer biomarkers in complex protein mixtures. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 1999; 2: 264-276
- 22 Paweletz CP, Trock B, Pennanen M, Tsangaris T, Magnant C, Liotta LA, Petricoin EF 3rd. Proteomic patterns of nipple aspirate fluids obtained by SELDI-TOF: potential for new biomarkers to aid in the diagnosis of breast cancer. *Dis Markers* 2001; 17: 301-307
- 23 Vlahou A, Schellhammer PF, Mendrinos S, Patel K, Kondylis FI, Gong L, Nasim S, Wright Jr GL Jr. Development of a novel proteomic approach for the detection of transitional cell carcinoma of the bladder in urine. *Am J Pathol* 2001; 158: 1491-1502
- 24 Kohli M, Siegel E, Bhattacharya S, Khan MA, Shah R, Suva LJ. Surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (SELDI-TOF MS) for determining prognosis in advanced stage hormone relapsing prostate cancer. *Cancer Biomark* 2006; 2: 249-258
- 25 Gast MC, Bonfrer JM, van Dulken EJ, de Kock L, Rutgers EJ, Schellens JH, Beijnen JH. SELDI-TOF MS serum protein profiles in breast cancer: assessment of robustness and validity. *Cancer Biomark* 2006; 2: 235-248
- 26 Ren H, Du N, Liu G, Hu HT, Tian W, Deng ZP, Shi JS. Analysis of variabilities of serum proteomic spectra in patients with gastric cancer before and after operation. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2789-2792
- 27 Engwegen JY, Helgason HH, Cats A, Harris N, Bonfrer JM, Schellens JH, Beijnen JH. Identification of serum proteins discriminating colorectal cancer patients and healthy controls using surface-enhanced laser desorption ionisation-time of flight mass spectrometry. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 1536-1544
- 28 Qian HG, Shen J, Ma H, Ma HC, Su YH, Hao CY, Xing BC, Huang XF, Shou CC. Preliminary study on proteomics of gastric carcinoma and its clinical significance. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 6249-6253
- 29 张靖, 张军, 应天翼, 高川, 宋云扬, 王惠芳. 应用 SELDI-TOF-MS 技术分析 SEB 染毒小鼠血清蛋白质组学变化. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 1111-1114
- 30 丁守怡, 钱冬萌, 闫志勇, 宋旭霞, 牟文凤, 王斌. 蛋白质芯片飞行质谱技术检测体外培养的肝癌细胞株与转染 HBV 的肝癌细胞株蛋白质的差异表达. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 1684-1687
- 31 张妍, 刘华林, 王斌, 钱冬萌, 闫志勇, 丁守怡, 宋旭霞, 宋广辉. 利用 SELDI-TOF-MS 技术研究巨细胞病毒感染致婴儿肝炎综合征的血清蛋白标志物. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 2549-2553
- 32 Pusch W, Kostrzewa M. Application of MALDI-TOF mass spectrometry in screening and diagnostic research. *Curr Pharm Des* 2005; 11: 2577-2591
- 33 Henderson NA, Steele RJ. SELDI-TOF proteomic analysis and cancer detection. *Surgeon* 2005; 3: 383-390, 422
- 34 Zhu H, Snyder M. Protein chip technology. *Curr Opin Chem Biol* 2003; 7: 55-63
- 35 Seibert V, Wiesner A, Buschmann T, Meuer J. Surface-enhanced laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (SELDI TOF-MS) and ProteinChip technology in proteomics research. *Pathol Res Pract* 2004; 200: 83-94
- 36 Qu Y, Adam BL, Yasui Y, Ward MD, Cazares LH, Schellhammer PF, Feng Z, Semmes OJ, Wright GL Jr. Boosted decision tree analysis of surface-enhanced laser desorption/ionization mass spectral serum profiles discriminates prostate cancer from noncancer patients. *Clin Chem* 2002; 48: 1835-1843
- 37 Drake RR, Cazare LH, Semmes OJ, Wadsworth JT. Serum, salivary and tissue proteomics for discovery of biomarkers for head and neck cancers. *Expert Rev Mol Diagn* 2005; 5: 93-100
- 38 Purohit S, Podolsky R, Schatz D, Muir A, Hopkins D, Huang YH, She JX. Assessing the utility of SELDI-TOF and model averaging for serum proteomic biomarker discovery. *Proteomics* 2006; 6: 6405-6415
- 39 Roelofsen H, Alvarez-Llamas G, Schepers M,

- Landman K, Vonk RJ. Proteomics profiling of urine with surface enhanced laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry. *Proteome Sci* 2007; 5: 2
- 40 Traum AZ, Wells MP, Aivado M, Libermann TA, Ramoni MF, Schachter AD. SELDI-TOF MS of quadruplicate urine and serum samples to evaluate changes related to storage conditions. *Proteomics* 2006; 6: 1676-1680
- 41 Schaub S, Wilkins J, Weiler T, Sangster K, Rush D, Nickerson P. Urine protein profiling with surface-enhanced laser-desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Kidney Int* 2004; 65: 323-332
- 42 Rosty C, Christa L, Kuzdzal S, Baldwin WM, Zahurak ML, Carnot F, Chan DW, Canto M, Lillemoe KD, Cameron JL, Yeo CJ, Hruban RH, Goggins M. Identification of hepatocarcinoma-intestine-pancreas/pancreatitis-associated protein I as a biomarker for pancreatic ductal adenocarcinoma by protein biochip technology. *Cancer Res* 2002; 62: 1868-1875
- 43 Batorfi J, Ye B, Mok SC, Cseh I, Berkowitz RS, Fulop V. Protein profiling of complete mole and normal placenta using ProteinChip analysis on laser capture microdissected cells. *Gynecol Oncol* 2003; 88: 424-428
- 44 Reid G, Gan BS, She YM, Ens W, Weinberger S, Howard JC. Rapid identification of probiotic lactobacillus biosurfactant proteins by ProteinChip tandem mass spectrometry tryptic peptide sequencing. *Appl Environ Microbiol* 2002; 68: 977-980
- 45 Gygi SP, Aebersold R. Mass spectrometry and proteomics. *Curr Opin Chem Biol* 2000; 4: 489-494
- 46 Domon B, Aebersold R. Mass spectrometry and protein analysis. *Science* 2006; 312: 212-217
- 47 Koopmann J, Zhang Z, White N, Rosenzweig J, Fedarko N, Jagannath S, Canto MI, Yeo CJ, Chan DW, Goggins M. Serum diagnosis of pancreatic adenocarcinoma using surface-enhanced laser desorption and ionization mass spectrometry. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 860-868
- 48 Yu Y, Chen S, Wang LS, Chen WL, Guo WJ, Yan H, Zhang WH, Peng CH, Zhang SD, Li HW, Chen GQ. Prediction of pancreatic cancer by serum biomarkers using surface-enhanced laser desorption/ionization-based decision tree classification. *Oncology* 2005; 68: 79-86
- 49 Chen R, Pan S, Brentnall TA, Aebersold R. Proteomic profiling of pancreatic cancer for biomarker discovery. *Mol Cell Proteomics* 2005; 4: 523-533
- 50 Scarlett CJ, Smith RC, Saxby A, Nielsen A, Samra JS, Wilson SR, Baxter RC. Proteomic classification of pancreatic adenocarcinoma tissue using protein chip technology. *Gastroenterology* 2006; 130: 1670-1678
- 51 Hauskrecht M, Pelikan R, Malehorn DE, Bigbee WL, Lotze MT, Zeh HJ, Whitcomb DC, Lyons-Weiler J. Feature Selection for Classification of SELDI-TOF-MS Proteomic Profiles. *Appl Bioinformatics* 2005; 4: 227-246

同行评价
本文详细论述了 SELDI-TOF MS 在胰腺癌早期诊断中的应用, 全文层次清楚, 论述有理, 内容先进, 文献准确, 详实, 有较高的参考价值。

编辑 何燕 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

2007 全国早期胃癌及消化病进展研讨会征文通知

本刊讯 由中华医学会消化内镜学会主办, 中华消化内镜学会胃病学组、浙江省消化内镜学会、温州医学院、上海市胃肠肿瘤重点学科承办的2007全国早期胃癌及消化病进展研讨会将于2007-11-16/18在浙江省温州市举行. 邀请国内外专家作专题讲演及内镜操作演示.

1 征文内容和要求

(1)有关早期胃癌及消化病进展; (2)胃癌及消化病诊疗的最新技术及研究成果. 投稿截止日期: 2007-10-10.

2 联系方式

夏宣平, 325000, 浙江省温州市学院西路109号, 温州医学院附属第二医院消化内科; 贾国葆, 325000, 浙江省温州市温州医学院附属第一医院消化内科. Email: feyxh@163.com或xxpsummer@yahoo.com.cn.

TLR4, NF- κ B与急性胰腺炎

王昆宁, 徐敏

背景资料
急性胰腺炎是一种常见的急重症, 尤其是急性坏死性胰腺炎。多种细胞因子如TNF- α 、IL-1 β 、IL-6等的活化与急性胰腺炎的发生进展关系密切, 而Toll样受体4、核因子- κ B与这些细胞因子的活化密切相关。TLR4/NF- κ B通路在AP炎症发生发展中起很重要的作用。因此对TLR4/NF- κ B信号通路的研究倍受关注。

王昆宁, 徐敏, 上海交通大学附属第一人民医院消化科 上海市 200080

通讯作者: 徐敏, 200080, 上海市海宁路100号, 上海交通大学附属第一人民医院. zhengxu19721973@yahoo.com.cn
电话: 021-63240090-3141

收稿日期: 2007-04-10 修回日期: 2007-08-24

Relationship of toll-like receptor 4, nuclear factor kappa B and acute pancreatitis

Kun-Ning Wang, Min Xu

Kun-Ning Wang, Min Xu, Department of Gastroenterology, the First People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200080, China
Correspondence to: Min Xu, the First People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University, 100 Haining Road, Shanghai 200080, China. zhengxu19721973@yahoo.com.cn
Received: 2007-04-10 Revised: 2007-08-24

Abstract

Acute pancreatitis (AP) is a serious commonly-occurring disease. Toll-like receptor 4 (TLR4) and nuclear factor kappa B (NF- κ B) are closely related to the activation of many cytokines that have important roles in the occurrence and development of AP. It is already acknowledged that TLR4 and NF- κ B have roles in the pathogenesis of acute necrotizing pancreatitis (ANP) because they are essential in the inducing and mediating of inflammation. It is thought that TLR4 induces LPS signaling, which leads to the activation and translocation of NF- κ B, and then stimulates the production of proinflammatory cytokines that result in the occurrence of inflammation. Recently, however, new concepts about the specific signaling pathway of TLR4/NF- κ B and the factors participating in it have been proposed. This review summarizes the TLR4/NF- κ B signaling pathway and outlines the factors that can down- or up-regulate TLR4/NF- κ B expression and other factors that activate NF- κ B.

Key Words: Toll-like receptor 4; Nuclear factor kappa B; Acute pancreatitis

Wang KN, Xu M. Relationship of toll-like receptor 4,

nuclear factor kappa B and acute pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15(25): 2684-2689

摘要

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是一种常见的急重症, 经研究证实多种细胞因子的活化与AP的发生进展关系密切。而Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)、核因子- κ B(nuclear factor kappa B, NF- κ B)与这些细胞因子的活化密切相关。他们在AP发生发展中作为介导炎症反应的枢纽起着重要作用。以往认为TLR4触发细胞内信号传导通路, 从而激活NF- κ B, 调控大量细胞因子释放, 介导炎症反应。目前对TLR4/NF- κ B信号通路具体的传导路径及参与因子又有了新的认识, 本文概述了TLR4/NF- κ B信号通路, 且概述了TLR4/NF- κ B信号通路相关下调因子、增强因子, 及能激活NF- κ B的其他因子。

关键词: Toll样受体4; 核因子 κ B; 急性胰腺炎

王昆宁, 徐敏. TLR4, NF- κ B与急性胰腺炎. *世界华人消化杂志* 2007;15(25):2684-2689

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2684.asp>

0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是一种常见的急重症, 发病率较高, 尤其是急性坏死性胰腺炎(acute necrotizing pancreatitis, ANP), 病死率可高达30%^[1]。经研究证实多种细胞因子如TNF- α 、IL-1 β 、IL-6等的活化与急性胰腺炎的发生进展关系密切^[2]。而Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)、核因子- κ B(nuclear factor kappa B, NF- κ B)与这些细胞因子的活化密切相关。

Toll样受体(TLRs)被认为是目前哺乳动物唯一将细胞外抗原识别信息向细胞内传递并引发炎症反应的关键跨膜蛋白^[3]。该受体族作为机体炎症反应链的启动蛋白, 从源头为急性胰腺炎发病机制的研究提供了新的方向。TLR4在该受体家族中最早被发现, 它可以和许多内源性 & 外源性配体结合^[4]。他被激活后通过一系列的

跨膜信号传导激活NF- κ B, 后者通过对多种基因表达的调控, 调控众多炎症介质和细胞因子的表达, 发挥防御和免疫调节作用. NF- κ B的活化在急性胰腺炎的发生与进展中起着特殊的作用, NF- κ B可能调控着ANP的启动. ANP时全身系统性炎症反应综合征(systematic inflammatory response syndrome, SIRS)是引发多器官功能不全综合征(MODS)的一个重要环节, NF- κ B在其中起着“信使”作用. 发病初期, 局部炎症可通过NF- κ B介导多种炎性细胞因子激活, 这些因子逐渐扩散至全身各个器官而引起SIRS. 因此TLRs/NF- κ B通路在AP炎症发生发展中起很重要的作用.

1 TLR4的结构及配体

1.1 TLR4的结构 TLR4是I型跨膜蛋白, 进化中高度保守. 结构上包括3部分: 胞外区、跨膜区和胞内区. 研究发现Toll家族成员胞膜外区的变异程度很高, 说明不同成员可能与不同配体结合. 胞内区为Toll同源结构域(Toll-homology domain), 由于与白介素-1受体(interleukin-1 receptor, IL-1R)家族成员胞质区高度同源, 故又称TLR/IL-1R或TIR结构域. 他是TLR4向下游进行信号传导的核心元件, 这一区段的突变或序列缺失将阻断信号的传递. 高度的同源性使TLR和IL-1R激活的胞内信号转导在很大程度上保持一致性.

1.2 TLR4的配体 TLRs可以识别外源性的病原相关的分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs), 即可引起机体炎症反应的微生物结构成分的统称, 是病原微生物表达的一些保守序列, 包括细菌的细胞壁成分(如革兰氏阴性菌的脂多糖、革兰氏阳性菌的肽聚糖和胞壁酸、酵母细胞壁上的甘露糖及结核分枝杆菌细胞壁上的脂质和多糖)、细菌的鞭毛蛋白、细菌DNA和病毒RNA. TLR4的外源性配体主要是脂多糖(lipopolysaccharide, LPS). TLR4也能识别内源性配体如黏多糖(glycosaminoglycans, GAGs)降解产物如硫酸肝素(heparan sulfate, HS)和透明质酸(hyaluronic, HA)、纤维连接蛋白(fibronectin)中的EDA(extra domain A)片段、热休克蛋白(heat shock protein, HSP)等.

2 NF- κ B的结构

NF- κ B系由两种Rel家族蛋白构成二聚体, 其内部有一保守的中心区域: Rel同源结构域, 内含DNA结合区、二聚体化区与核定位序列(nuclear localization sequence, NLS). 活性NF- κ B以二聚

体形式存在, Rel蛋白I/J可形成多种多样的二聚体p50/p50、p65/p65、p50/p65等, 在诱导细胞特异性、亚细胞结构中的位置、与NF- κ B抑制蛋白(inhibitor of NF- κ B, I κ B)相互作用及活性等方面各有差异, 分别对特定启动子和增强子起独特和重要作用. 当细胞因子、LPS、病毒作用于效应细胞, 通过包括TLRs在内的特异通路激活NF- κ B诱导激酶(NF- κ B inducing kinase, NIK), NIK可以活化I κ B激酶(I κ B kinase, IKK), IKK使I κ B磷酸化而降解, 使NF- κ B获自由从胞质移入胞核内, 激活一系列基因表达, 如细胞因子(IL-1、IL-6、IL-8、MIP2、IL-12)、黏附分子(E-选择素、P-选择素、VCAM-1)、补体(C3、C4)、急性期反应蛋白(C反应蛋白、 α 1-酸糖蛋白)以及酶类(NO合成酶、环氧合酶-2)等.

3 TLR4/NF- κ B信号通路

目前的研究发现, TLR4的活化需要四种接头蛋白(adaptor protein)的调节, 即髓样分化蛋白88(myeloid differentiation factor 88, MyD88)、MyD88接头蛋白(MyD88-adaptor-like, MAL)、Toll样受体相关的干扰素活化子(TRIF)和TRIF相关的接头分子(TRIF-related adaptor molecule, TRAM). 四种接头蛋白都可以将信号传递给TIR结构域, 进而激活NF- κ B. TLR4/NF- κ B信号通路主要有2条胞内信号传导途径^[5](图1).

3.1 MyD88依赖型途径 MyD88依赖型途径, 主要是介导NF- κ B活化和细胞因子产生. MyD88是一种接头分子, TLR4上的TIR结构域与MyD88蛋白羧基端相互作用使其活化. 活化的MyD88可诱导IL-1受体相关激酶(interleukin-1 receptor-associated kinase, IRAK)磷酸化, 进而激活胞质内的肿瘤坏死因子受体相关因子6(TNF receptor-associated factor 6, TRAF6). 活化后的TRAF6通过转化生长因子TGF- β 活化激酶(TGF- β activated kinase, TAK1)与IKK信号级联, 使I κ B磷酸化而降解, 从而使NF- κ B游离并移位到细胞核中, 结合到靶向的DNA, 促使TNF- α 及IL-1、6、8、12等多种炎症基因的转录^[6-10].

3.2 MyD88非依赖型途径

3.2.1 MyD88接头蛋白(MAL, 也可称为TIR domain-containing adaptor protein, TIRAP, 包含TIR结构域的接头蛋白)负责的MyD88非依赖型途径 TLR4上的TIR结构域与MAL通过一系列相互作用使NF- κ B p65亚单位上的S536磷酸化, 从而NF- κ B游离并移位到细胞核中, 结合到

研发前沿
研究认为TLR4/NF- κ B信号通路具体有几条传导途径? 以往认为TLR4/NF- κ B信号通路主要有2条胞内信号传导途径, 分别由接头蛋白——髓样分化蛋白88和MyD88接头蛋白调节. 目前研究发现, TLR4/NF- κ B信号通路有另外2条传导途径: 即通过另外2种接头蛋白——Toll样受体相关的干扰素活化子和TRIF相关的接头分子调节TLR4的活化, 进而激活NF- κ B. 现阶段的研究热点、重点及亟待研究的问题是对TLR4/NF- κ B信号通路中新的调节因子的研究.

相关报道

Toll样受体被认为是目前哺乳动物唯一将细胞外抗原识别信息向细胞内传递并引发炎症反应的关键跨膜蛋白, 该受体家族作为机体炎症反应链的启动蛋白, 从源头为急性胰腺炎发病机制的研究提供了新的方向. TLR4在该受体家族中最早被发现, 它可以和许多内源性 & 外源性配体结合.

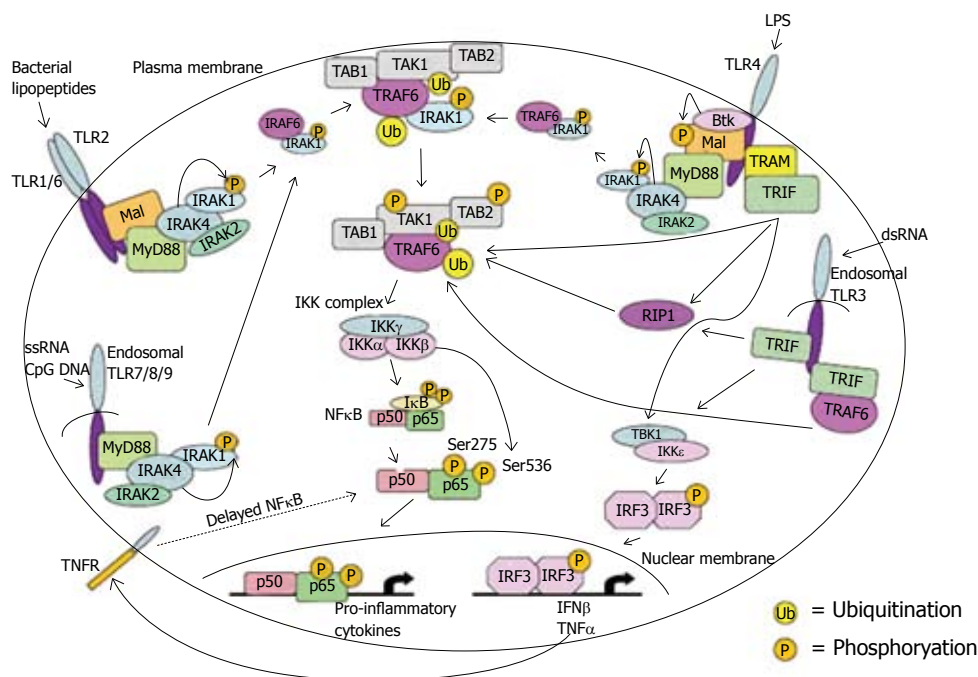


图 1 TLR4/NF-κB信号通路.

靶向的DNA, 促使促炎症细胞因子的表达^[11-13].

3.2.2 Toll样受体相关的干扰素活化子(TRIF接头蛋白, 也称为TIR-containing adaptor molecule-1, TICAM-1, 包含TIR结构域的接头分子)负责的MyD88非依赖型途径 TLR4的TIR结构域先结合TRIF相关的接头分子(TRAM), TRAM和TIRAP高度同源, 是TLR4和TRIF连接的桥梁, 继而结合TRIF^[14-15]. TRIF可以直接结合TRAF6, 使TAK1以一种不依赖于IRAKs的方式活化, 然后导致IKK复合体的活化^[16-17]; TRIF也可先结合到受体相互作用蛋白1(receptor interacting protein 1, RIP1), 然后结合TRAF6导致IKK复合体的活化^[18-20]; TRIF还可以和TANK结合激酶1(TANK binding kinase 1, TBK1)/IκB激酶ε(IKKε)相互作用使干扰素调节因子3(IFN regulatory factor 3, IRF3)活化, 并转移到细胞核, 结合到他的靶向基因.

3.3 TLR4/IRF3信号通路 这是一种延缓的NF-κB的活化方式: 以IRF3-依赖而NF-κB不依赖的方式诱导TNFα表达, 然后TNFα和TNF受体结合, 诱导NF-κB活化^[21-26].

4 TLR4/NF-κB信号通路相关调节因子

4.1 TLR4/NF-κB信号通路相关下调因子 已有研究证实IL-4可下调TLRs的表达^[27]. Nomura *et al*^[28]研究认为, LPS 刺激可引起细胞表面跨膜受体TLR4-MD2(MD2是TLR4识别LPS反应中的一个重要的膜蛋白)表达减少, 而IL-1β通过白细胞介素1受体(interleukin-1 receptor, IL-1R)发挥作用,

不会影响TLR4-MD2的表达. Zhang *et al*^[29]研究证实Toll样蛋白相互作用蛋白(Toll-interacting protein, Tollip)对TLR介导的信号传导通路起负调节作用, 在静止期细胞Tollip与IRAK形成复合物; 当细胞受刺激时, Tollip可抑制IRAK的活性, 从而阻断TLR介导的信号转导. 还有研究认为RIP1可以介导TRIF-诱导的NF-κB活化, 而RIP3能在TRIF-RIP1-诱导的NF-κB通路中起负性调节作用^[18-20]. 另有研究证实单免疫球蛋白白介素1受体相关分子(single immunoglobulin interleukin-1 receptor-related molecule, SIGIRR)在IL-1和LPS/TLR4信号通路中起负性调节作用^[30]. 还有研究发现甲状腺受体互动蛋白6(Thyroid receptor-interacting protein 6, TRIP6)的过度表达可以减轻受体相互作用蛋白2(receptor interacting protein 2, RIP2)介导的NF-κB活化, 而TRIP6的显性失活突变体或受RNA干扰的TRIP6可以抑制TNF、IL-1、TLR2或Nod1活化NF-κB^[31-35]. Wullaert *et al*证实结合锌指蛋白A20(锌指蛋白A20是一种多刺激因子诱导的NF-κB活化的细胞抑制物, 并在阻断NF-κB应答中起重要作用)的NF-κB活化抑制剂-3(A20-binding inhibitor of NF-kappaB activation, ABIN-3)在LPS/TLR4通路中起作用^[36-39]. ABIN-3过度表达可以抑制LPS/TLR4通路中NF-κB依赖的TRAF6下游水平和IκB激酶β(IκB kinase β, IKKβ)上游水平之间的基因表达, 从而可能对TLR4的表达产生影响.

4.2 TLR4/NF-κB信号通路相关增强因子 还有

研究发现了具有特征性的TLR4增强子,可增强TLR4的表达^[40]。Siren *et al*^[41], Ostelund *et al*^[42]研究认为干扰素- α (IFN- α)可以增强TLR信号通路中MyD88及其他调节分子和激酶的表达。IFN- α 通过上调TLR3、TLR4和TLR7的表达增强巨噬细胞TLR的应答。

4.3 能激活NF- κ B的其他因子 Magder *et al*^[43]研究证明TLR4的细胞内信号通路和一个已被证实的NF- κ B的激活因子IL-1的细胞内信号通路很相似,TLR4和TNF- α 调控的细胞内信号通路都可以激活NF- κ B。有研究证实TLR、TNF、IL-1和胞质蛋白Nod 1能诱导NF- κ B活化,这是甲状腺受体互动蛋白6(TRIP6)和多个信号蛋白如肿瘤坏死因子受体相关因子2(TNF receptor-associated factor 2, TRAF2)、肿瘤坏死因子受体相关因子6(TNF receptor-associated factor 6, TRAF6)、MyD88及白细胞介素1受体相关激酶1(IRAK1)相互作用完成的^[31-35]。

4.4 其他 Magder *et al*^[43]还发现有一种LPS的自分泌作用可以直接诱导TNF α 表达。Berclaz *et al*发现TLR4信号通路成员中CD14、RP105(也称CD180,是B细胞所特有的TLR同源体,可以像TLR4一样介导LPS信号通路^[48-49])、IRAK-M的mRNA和蛋白表达是粒-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)依赖性的^[44-47]。但是其他TLR-4通路成员如MD-2、TLR4、IRAK1、IRAK-2、TIRAP/MAL、MyD88、IRAK-4、TRAF-6、NF- κ B及IKK β 的表达既不是GM-CSF依赖性的,也不是转录因子PU.1依赖性的。

5 结论

这些研究说明TLR4表达的多少受IL-4、TLR4增强子、IL-1 β 等细胞因子的影响,而影响TLR4表达量的细胞因子如IL-4、IL-1 β 又和NF- κ B有关,同时这些研究说明能激活NF- κ B的除了TLR4调控的细胞内信号通路外还有TNF- α 、IL-1调控的细胞内信号通路,所以在ANP的发生、发展中,TLR4和NF- κ B可能不是简单的上下游关系,他们在一些细胞因子的共同参与下可能构成复杂的循环网络,相互调节。这打破了以往“TLR4和NF- κ B是上下游关系”的认识,为更进一步深入研究ANP提供了新的方向。认识到TLR4和NF- κ B之间可能是一个循环网络,搞清楚这个循环网络中谁是主角、谁是配角,从而找出治疗ANP准确的干预靶点对重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)的临床治疗有很大意义。

6 参考文献

- 1 Algul H, Tando Y, Schneider G, Weidenbach H, Adler G, Schmid RM. Acute experimental pancreatitis and NF-kappaB/Rel activation. *Pancreatology* 2002; 2: 503-509
- 2 Liu HS, Pan CE, Liu QG, Yang W, Liu XM. Effect of NF-kappaB and p38 MAPK in activated monocytes/macrophages on pro-inflammatory cytokines of rats with acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2513-2518
- 3 Gordon S. Pattern recognition receptors: doubling up for the innate immune response. *Cell* 2002; 111: 927-930
- 4 Johnson GB, Brunn GJ, Platt JL. Cutting edge: an endogenous pathway to systemic inflammatory response syndrome (SIRS)-like reactions through Toll-like receptor 4. *J Immunol* 2004; 172: 20-24
- 5 Doyle SL, O'Neill LA. Toll-like receptors: from the discovery of NFkappaB to new insights into transcriptional regulations in innate immunity. *Biochem Pharmacol* 2006; 72: 1102-1113
- 6 Buss H, Dorrie A, Schmitz ML, Hoffmann E, Resch K, Kracht M. Constitutive and interleukin-1-inducible phosphorylation of p65 NF-[kappa]B at serine 536 is mediated by multiple protein kinases including I[kappa]B kinase (IKK)-[alpha], IKK[beta], IKK[epsilon], TRAF family member-associated (TANK)-binding kinase 1 (TBK1), and an unknown kinase and couples p65 to TATA-binding protein-associated factor II31-mediated interleukin-8 transcription. *J Biol Chem* 2004; 279: 55633-55643
- 7 Wang C, Deng L, Hong M, Akkaraju GR, Inoue J, Chen ZJ. TAK1 is a ubiquitin-dependent kinase of MKK and IKK. *Nature* 2001; 412: 346-351
- 8 Sun L, Deng L, Ea CK, Xia ZP, Chen ZJ. The TRAF6 ubiquitin ligase and TAK1 kinase mediate IKK activation by BCL10 and MALT1 in T lymphocytes. *Mol Cell* 2004; 14: 289-301
- 9 Qian Y, Commene M, Ninomiya-Tsuji J, Matsumoto K, Li X. IRAK-mediated translocation of TRAF6 and TAB2 in the interleukin-1-induced activation of NFkappa B. *J Biol Chem* 2001; 276: 41661-41667
- 10 Jiang Z, Ninomiya-Tsuji J, Qian Y, Matsumoto K, Li X. Interleukin-1 (IL-1) receptor-associated kinase-dependent IL-1-induced signaling complexes phosphorylate TAK1 and TAB2 at the plasma membrane and activate TAK1 in the cytosol. *Mol Cell Biol* 2002; 22: 7158-7167
- 11 Jefferies CA, Doyle S, Brunner C, Dunne A, Brint E, Wietek C, Walch E, Wirth T, O'Neill LA. Bruton's tyrosine kinase is a Toll/interleukin-1 receptor domain-binding protein that participates in nuclear factor kappaB activation by Toll-like receptor 4. *J Biol Chem* 2003; 278: 26258-26264
- 12 Doyle SL, Jefferies CA, O'Neill LA. Bruton's tyrosine kinase is involved in p65-mediated transactivation and phosphorylation of p65 on serine 536 during NFkappaB activation by lipopolysaccharide. *J Biol Chem* 2005; 280: 23496-23501
- 13 Gray P, Dunne A, Brikos C, Jefferies CA, Doyle SL, O'Neill LA. MyD88 adapter-like (Mal) is phosphorylated by Bruton's tyrosine kinase during TLR2 and TLR4 signal transduction. *J Biol Chem* 2006; 281: 10489-10495
- 14 Fitzgerald KA, Rowe DC, Barnes BJ, Caffrey DR, Visintin A, Latz E, Monks B, Pitha PM, Golenbock DT. LPS-TLR4 signaling to IRF-3/7 and NF-kappaB

创新盘点

TLR4表达的多少受IL-4、TLR4增强子、IL-1 β 等细胞因子的影响,而影响TLR4表达量的细胞因子如IL-4、IL-1 β 又和NF- κ B有关,同时这些研究说明能激活NF- κ B的除了TLR4调控的细胞内信号通路外还有TNF- α 、IL-1调控的细胞内信号通路,所以在ANP的发生、发展中,TLR4和NF- κ B可能不是简单的上下游关系,他们在一些细胞因子的共同参与下可能构成复杂的循环网络,相互调节。这打破了以往“TLR4和NF- κ B是上下游关系”的认识,为更进一步深入研究ANP提供了新的方向。

应用要点

认识到TLR4和NF- κ B之间可能是一个循环网络,搞清楚这个循环网络中谁是主角、谁是配角,从而找出治疗ANP准确的干预靶点对重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)的临床治疗有很大意义.

- involves the toll adapters TRAM and TRIF. *J Exp Med* 2003; 198: 1043-1055
- 15 Yamamoto M, Sato S, Hemmi H, Hoshino K, Kaisho T, Sanjo H, Takeuchi O, Sugiyama M, Okabe M, Takeda K, Akira S. Role of adaptor TRIF in the MyD88-independent toll-like receptor signaling pathway. *Science* 2003; 301: 640-643
- 16 Jiang Z, Zamanian-Daryoush M, Nie H, Silva AM, Williams BR, Li X. Poly(I-C)-induced Toll-like receptor 3 (TLR3)-mediated activation of NF-kappa B and MAP kinase is through an interleukin-1 receptor-associated kinase (IRAK)-independent pathway employing the signaling components TLR3-TRAF6-TAK1-TAB2-PKR. *J Biol Chem* 2003; 278: 16713-16719
- 17 Jiang Z, Mak TW, Sen G, Li X. Toll-like receptor 3-mediated activation of NF-kappaB and IRF3 diverges at Toll-IL-1 receptor domain-containing adapter inducing IFN-beta. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 3533-3538
- 18 Meylan E, Burns K, Hofmann K, Blancheteau V, Martinon F, Kelliher M, Tschopp J. RIP1 is an essential mediator of Toll-like receptor 3-induced NF-kappa B activation. *Nat Immunol* 2004; 5: 503-507
- 19 Youn HS, Lee JY, Fitzgerald KA, Young HA, Akira S, Hwang DH. Specific inhibition of MyD88-independent signaling pathways of TLR3 and TLR4 by resveratrol: molecular targets are TBK1 and RIP1 in TRIF complex. *J Immunol* 2005; 175: 3339-3346
- 20 Cusson-Hermance N, Khurana S, Lee TH, Fitzgerald KA, Kelliher MA. Rip1 mediates the Trif-dependent toll-like receptor 3- and 4-induced NF-[kappa]B activation but does not contribute to interferon regulatory factor 3 activation. *J Biol Chem* 2005; 280: 36560-36566
- 21 Covert MW, Leung TH, Gaston JE, Baltimore D. Achieving stability of lipopolysaccharide-induced NF-kappaB activation. *Science* 2005; 309: 1854-1857
- 22 Werner SL, Barken D, Hoffmann A. Stimulus specificity of gene expression programs determined by temporal control of IKK activity. *Science* 2005; 309: 1857-1861
- 23 Li X, Massa PE, Hanidu A, Peet GW, Aro P, Savitt A, Mische S, Li J, Marcu KB. IKKalpha, IKKbeta, and NEMO/IKKgamma are each required for the NF-kappa B-mediated inflammatory response program. *J Biol Chem* 2002; 277: 45129-45140
- 24 Krappmann D, Wegener E, Sunami Y, Esen M, Thiel A, Mordmuller B, Scheidereit C. The IkappaB kinase complex and NF-kappaB act as master regulators of lipopolysaccharide-induced gene expression and control subordinate activation of AP-1. *Mol Cell Biol* 2004; 24: 6488-6500
- 25 Carayol N, Chen J, Yang F, Jin T, Jin L, States D, Wang CY. A dominant function of IKK/NF-kappaB signaling in global lipopolysaccharide-induced gene expression. *J Biol Chem* 2006; 281: 31142-31151
- 26 Anest V, Hanson JL, Cogswell PC, Steinbrecher KA, Strahl BD, Baldwin AS. A nucleosomal protein for IkappaB kinase-alpha in NF-kappaB-dependent gene expression. *Nature* 2003; 423: 659-663
- 27 Staeger H, Schaffner A, Schneemann M. Human toll-like receptors 2 and 4 are targets for deactivation of mononuclear phagocytes by interleukin-4. *Immunol Lett* 2000; 71: 1-3
- 28 Nomura F, Akashi S, Sakao Y, Sato S, Kawai T, Matsumoto M, Nakanishi K, Kimoto M, Miyake K, Takeda K, Akira S. Cutting edge: endotoxin tolerance in mouse peritoneal macrophages correlates with down-regulation of surface toll-like receptor 4 expression. *J Immunol* 2000; 164: 3476-3479
- 29 Zhang G, Ghosh S. Negative regulation of toll-like receptor-mediated signaling by Tollip. *J Biol Chem* 2002; 277: 7059-7065
- 30 Qin J, Qian Y, Yao J, Grace C, Li X. SIGIRR inhibits interleukin-1 receptor- and toll-like receptor 4-mediated signaling through different mechanisms. *J Biol Chem* 2005; 280: 25233-25241
- 31 Li L, Bin LH, Li F, Liu Y, Chen D, Zhai Z, Shu HB. TRIP6 is a RIP2-associated common signaling component of multiple NF-kappaB activation pathways. *J Cell Sci* 2005; 118: 555-563
- 32 Chin AI, Dempsey PW, Bruhn K, Miller JF, Xu Y, Cheng G. Involvement of receptor-interacting protein 2 in innate and adaptive immune responses. *Nature* 2002; 416: 190-194
- 33 Lu C, Wang A, Dorsch M, Tian J, Nagashima K, Coyle AJ, Jaffee B, Ocain TD, Xu Y. Participation of Rip2 in lipopolysaccharide signaling is independent of its kinase activity. *J Biol Chem* 2005; 280: 16278-16283
- 34 Ruefli-Brasse AA, Lee WP, Hurst S, Dixit VM. Rip2 participates in Bcl10 signaling and T-cell receptor-mediated NF-kappaB activation. *J Biol Chem* 2004; 279: 1570-1574
- 35 Sarkar A, Duncan M, Hart J, Hertlein E, Guttridge DC, Wewers MD. ASC directs NF-kappaB activation by regulating receptor interacting protein-2 (RIP2) caspase-1 interactions. *J Immunol* 2006; 176: 4979-4986
- 36 Wullaert A, Verstrepen L, Van Huffel S, Adib-Conquy M, Cornelis S, Kreike M, Haegman M, El Bakkouri K, Sanders M, Verhelst K, Carpentier I, Cavaillon JM, Heyninck K, Beyaert R. LIND/ABIN-3 is a novel lipopolysaccharide-inducible inhibitor of NF-kappaB activation. *J Biol Chem* 2007; 282: 81-90
- 37 Heyninck K, De Valck D, Vanden Berghe W, Van Crielinge W, Contreras R, Fiers W, Haegeman G, Beyaert R. The zinc finger protein A20 inhibits TNF-induced NF-kappaB-dependent gene expression by interfering with an RIP- or TRAF2-mediated transactivation signal and directly binds to a novel NF-kappaB-inhibiting protein ABIN. *J Cell Biol* 1999; 145: 1471-1482
- 38 Van Huffel S, Delaei F, Heyninck K, De Valck D, Beyaert R. Identification of a novel A20-binding inhibitor of nuclear factor-kappa B activation termed ABIN-2. *J Biol Chem* 2001; 276: 30216-30223
- 39 Gon Y, Asai Y, Hashimoto S, Mizumura K, Jibiki I, Machino T, Ra C, Horie T. A20 inhibits toll-like receptor 2- and 4-mediated interleukin-8 synthesis in airway epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004; 31: 330-336
- 40 Rehli M, Poltorak A, Schwarzfischer L, Krause SW, Andreesen R, Beutler B. PU.1 and interferon consensus sequence-binding protein regulate the myeloid expression of the human Toll-like receptor 4 gene. *J Biol Chem* 2000; 275: 9773-9781
- 41 Siren J, Pirhonen J, Julkunen I, Matikainen S. IFN-alpha regulates TLR-dependent gene expression of IFN-alpha, IFN-beta, IL-28, and IL-29. *J Immunol* 2005; 174: 1932-1937
- 42 Osterlund P, Veckman V, Siren J, Klucher KM, Hiscott J, Matikainen S, Julkunen I. Gene expression and antiviral activity of alpha/beta interferons and

- interleukin-29 in virus-infected human myeloid dendritic cells. *J Virol* 2005; 79: 9608-9617
- 43 Magder S, Neculcea J, Neculcea V, Sladek R. Lipopolysaccharide and TNF- α produce very similar changes in gene expression in human endothelial cells. *J Vasc Res* 2006; 43: 447-461
- 44 Berclaz PY, Carey B, Fillipi MD, Wernke-Dollries K, Geraci N, Cush S, Richardson T, Kitzmiller J, O'Connor M, Hermoyian C, Korfhagen T, Whitsett JA, Trapnell BC. GM-CSF regulates a PU.1-dependent transcriptional program determining the pulmonary response to LPS. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2007; 36: 114-121
- 45 Berclaz PY, Shibata Y, Whitsett JA, Trapnell BC. GM-CSF, via PU.1, regulates alveolar macrophage Fc γ R-mediated phagocytosis and the IL-18/IFN- γ -mediated molecular connection between innate and adaptive immunity in the lung. *Blood* 2002; 100: 4193-4200
- 46 Bozinovski S, Jones JE, Vlahos R, Hamilton JA, Anderson GP. Granulocyte/macrophage-colony-stimulating factor (GM-CSF) regulates lung innate immunity to lipopolysaccharide through Akt/Erk activation of NF κ B and AP-1 in vivo. *J Biol Chem* 2002; 277: 42808-42814
- 47 Lendemann S, Rani M, Selbach C, Kreuzfelder E, Schade FU, Flohe S. GM-CSF priming of human monocytes is dependent on ERK1/2 activation. *J Endotoxin Res* 2006; 12: 10-20
- 48 Yazawa N, Fujimoto M, Sato S, Miyake K, Asano N, Nagai Y, Takeuchi O, Takeda K, Okochi H, Akira S, Tedder TF, Tamaki K. CD19 regulates innate immunity by the toll-like receptor RP105 signaling in B lymphocytes. *Blood* 2003; 102: 1374-1380
- 49 Ogata H, Su I, Miyake K, Nagai Y, Akashi S, Mecklenbrauker I, Rajewsky K, Kimoto M, Tarakhovsky A. The toll-like receptor protein RP105 regulates lipopolysaccharide signaling in B cells. *J Exp Med* 2000; 192: 23-29

同行评价
本文较全面的概述了TLR4-NF- κ B信号通路及该通路相关的下调因子和增强因子, 思路明确, 重点突出, 有新意, 对急性胰腺炎引起的全身性炎症反应的发病机制研究有一定的指导意义。

编辑 何燕 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

中华医学会第五届消化内镜学分会青年委员会成立大会暨第三届学会研讨会通知

本刊讯 由中华医学会消化内镜学分会主办, 江西省医学会消化内镜专业委员会、南昌大学第一附属医院承办的中华医学会第五届消化内镜学分会青年委员会成立大会暨第三届学术研讨会将于2007-11-02/04在江西南昌举行. 届时将邀请美国、香港等国家和地区的国际著名消化内镜专家及国内知名消化内镜专家莅临大会.

1 会议内容

中华医学会第五届消化内镜学分会青年委员会成立大会; 青年内镜医师培训讲座; 消化内镜新进展讲座; 青年委员专题讲座.

2 联系方式

徐萍, 330006, 江西省南昌市永外正街17号, 南昌大学第一附属医院消化科. 电话: 0791-8692506或0791-8692540, E-mail: yfyxp@yahoo.com.cn.

幽门螺杆菌致病机制及益生菌防治作用的研究进展

陈云华, 汪春莲, 谢云

背景资料
*H. pylori*是慢性胃炎、消化性溃疡甚至胃癌的主要致病因素,但因耐药率的增加、长期不合理应用抗生素可引起胃肠功能紊乱及胃肠道菌群失调等不良反应,需要我们寻找新的治疗方法来改变或完善现有的抗菌治疗方案。近年随着微生物生态学的兴起,益生菌的应用为防治*H. pylori*相关疾病提供了新的思路。

陈云华, 汪春莲, 中南大学湘雅二医院 湖南省长沙市 410005
谢云, 长沙市卫生学校 湖南省长沙市 410100
通讯作者: 汪春莲, 410005, 湖南省长沙市, 中南大学湘雅二医院. wcl4707@sina.com
电话: 0731-2221389
收稿日期: 2007-05-27 修回日期: 2007-08-25

Progress of research into the pathogenic mechanism of *Helicobacter pylori* and the preventive role of probiotics in *H. pylori* infection

Yun-Hua Chen, Chun-Lian Wang, Yun Xie

Yun-Hua Chen, Chun-Lian Wang, the Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410005, Hunan Province, China
Yun Xie, Changsha Health School, Changsha 410100, Hunan Province, China
Correspondence to: Chun-Lian Wang, the Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410005, Hunan Province, China. wcl4707@sina.com
Received: 2007-05-27 Revised: 2007-08-25

Abstract

Helicobacter pylori, a highly prevalent pathogen, is a major cause of chronic gastritis and peptic ulcer and a risk factor for gastric malignancies or gastric mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma. Antibiotic-based *H. pylori* eradication is currently regarded as the gold standard. However, it is expensive and causes side effects, and the rapid development of antibiotic-resistant strains may soon prevent their large-scale use. Recently, many new therapeutic strategies are being studied to improve the *H. pylori* eradication rate. The use of probiotics in the field of *H. pylori* infection has been proposed for improving eradication, tolerability and compliance with multiple antibiotic regimens. In addition, probiotics have a possible role in the stabilization of the gastric barrier function and reducing mucosal inflammation. In this article, we review the development of research on the molecular mechanism of *H. pylori* infection and the mechanisms of action and clinical significance of probiotics.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Pathogenic mechanism; Probiotics

Chen YH, Wang CL, Xie Y. Progress of research into the pathogenic mechanism of *Helicobacter pylori* and the preventive role of probiotics in *H. pylori* infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15(25): 2690-2697

摘要

幽门螺杆菌(*H. pylori*)已被确认与慢性胃炎、消化性溃疡、胃黏膜相关淋巴样组织淋巴瘤和胃癌密切相关,目前多种抗生素联合治疗仍是抗*H. pylori*感染的主要方法,但是由于细菌抗药性的出现、以及长期不合理应用抗生素可引起不良反应,因此近年提出了抗*H. pylori*感染一些新方法,其中益生菌在提高*H. pylori*根除率及减少药物不良反应方面尤显优势,而且还具有维持胃肠道微生态的稳定、减轻黏膜炎症反应等多种作用,本文就*H. pylori*的致病机制及益生菌治疗*H. pylori*感染的研究进展作一综述。

关键词: 幽门螺杆菌; 致病机制; 益生菌; 治疗

陈云华, 汪春莲, 谢云. 幽门螺杆菌致病机制及益生菌防治作用的研究进展. 世界华人消化杂志 2007;15(25):2690-2697
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2690.asp>

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)从发现到现在已有20多年的历史了,在这期间,胃肠病学及微生物学工作者对*H. pylori*进行了大量而深入的研究,*H. pylori*已被确认与慢性胃炎、消化性溃疡、胃黏膜相关淋巴样组织淋巴瘤(MALT)和胃癌密切相关,世界卫生组织已将*H. pylori*列为I类致癌因子,正是由于*H. pylori*与胃十二指肠疾病的关系如此密切,*H. pylori*的致病机制及*H. pylori*感染防治一直是胃肠病工作者所关注的热门课题^[1]。近年运用多种抗生素联合治疗*H. pylori*感染虽具有积极的临床意义,但因细菌抗药性的出现导致*H. pylori*根除率降低,且长期不合理应用抗生素可引起胃肠功能紊乱及胃肠

道菌群失调等不良反应^[2-3]。面对*H pylori*治疗上的困境, 迫切需要一些新的治疗方法来改变或完善现有的抗菌治疗方案, 近年随着微生物学的兴起, 益生菌的应用为防治*H pylori*相关疾病提供了新的思路, 他不仅能抗*H pylori*感染, 而且还能调节机体的免疫机能, 改善胃肠道微生态环境, 提高*H pylori*根除治疗的依从性等多种作用, 本文就*H pylori*的致病机制及益生菌治疗*H pylori*感染的研究进展作一综述。

1 *H pylori*的致病机制

*H pylori*致病机制非常复杂, 目前认为*H pylori*对胃黏膜的损伤不仅与其黏附作用、毒力因子对黏膜细胞的直接损伤有关, 而且与其促进胃黏膜炎症、免疫反应等有密切联系。

1.1 *H pylori*的定植 *H pylori*在胃内定植致病的前提, *H pylori*本身的动力装置、黏附特性、有毒性作用的酶以及多种毒素既有利于其定植, 也有助于*H pylori*在高酸环境下存活, 最终致病。

*H pylori*在体内呈螺旋状, 一端有4-6根单极带鞘鞭毛, 这是*H pylori*特殊的动力装置, 使他能够快速穿过胃腔的酸性环境, 并穿过厚厚的黏液层而定居于胃黏膜表面。近年发现幽门螺杆菌中的flaA1和WbpB这两个基因与脂多糖的生物合成、鞭毛的装配及蛋白质糖基化有密切关系, 他们在*H pylori*的发病机制上起着重要的作用, 上述两个基因缺失的突变体能阻止脂多糖生物合成。WbpB突变体仍能产生鞭毛, 而flaA1突变体不能产生鞭毛蛋白, 但无鞭毛, 两个突变体都是不运动的, 无鞭毛的*H pylori*突变株不能定植于悉生乳猪胃黏膜上, 说明*H pylori*的鞭毛对其定植是必需的^[4-5]。

幽门螺杆菌要在人胃肠道居留, 必须能适应高酸性的环境, *H pylori*中的尿素酶在中和胃酸方面发挥重要作用, 他能水解尿素产生氨和二氧化碳, 中和菌体周围的酸环境, 在菌的周围形成一个中性层, 保护*H pylori*免遭破坏, 近年研究发现尿素酶的主要作用可能不仅是在胃内低pH环境下起保护作用, 在*H pylori*的定植中可能还存在其他机制, 如尿素酶亦是细胞外膜蛋白, 可作为黏附分子参与*H pylori*的定植; 尿素酶参与ATP合成, 即与*H pylori*的能量代谢有关, 而促进其在胃黏膜定植^[6], 另有研究报道尿素酶在调节氮代谢过程中, 对中性粒细胞和单核细胞均有趋化作用, 促使炎症反应细胞对胃上皮形成损伤, 这种趋化能被机体尿素酶特异性抗体所抑制^[7]。

*H pylori*在胃内定植是致病的前提, 而黏附则是定植的关键, *H pylori*之所以能够在胃蠕动时不与食物一起被驱除的原因与其多种黏附素对胃上皮细胞的黏附能力有关, 黏附因子是细菌黏附定居的物质基础, 他通常是位于细菌特定结构上的一种蛋白, 其靶细胞上的受体一般是糖蛋白的糖基成分, 不同*H pylori*菌株含有的黏附分子和其相对应的受体是不同的, 目前得到证实的有下列几种: (1)中性粒细胞活化蛋白(NAP), *H pylori*的中性粒细胞活化蛋白可以诱导中性粒细胞黏附于内皮细胞上, 这种黏附作用与中性粒细胞表面CD11b/CD18整合素的表达量呈正相关^[8], 他还能选择性地与中性粒细胞酸性糖鞘脂相结合而调节白细胞的功能, 导致胃黏膜的受损^[9]; (2)HpaA也是*H pylori*的主要黏附素之一, 通过与胃黏膜上皮细胞上的特异性受体结合, 使*H pylori*紧密黏附于胃上皮细胞, 发挥*H pylori*对胃黏膜的损伤作用, 有研究发现, 运用HpaA mAb可有效阻碍*H pylori*在胃黏膜上皮细胞的黏附和定植, 预防*H pylori*的感染^[10-11]。另外BabA、脂多糖连接的Lewis抗原、Hsp60也是重要的黏附因子。

1.2 *H pylori*的毒力因子

1.2.1 空泡毒素A 空泡毒素A(VacA)是由vacA基因编码的95 kDa蛋白质, 在酸性环境作用下, 形成环状六或七聚体, 通过与靶细胞膜上特异性受体蛋白酪氨酸磷酸酶结合, 作用于靶细胞的Na⁺-K⁺-ATP酶, 使离子蛋白功能紊乱, 破坏细胞的正常功能, 并进入靶细胞内诱发细胞溶酶体及内质网损伤, 造成细胞空泡变形^[12]; 而且还可以直接损伤胃黏膜, 抑制上皮细胞损伤修复, 干扰细胞信号转导, 引起细胞凋亡等功能^[13]。

1.2.2 CagA蛋白 CagA蛋白是由cagA基因编码的一种具有强抗原性的亲水性外膜蛋白, 他虽然不具有直接表达毒素的活性, 但与毒素表达密切相关, 并且最近研究显示CagA可能为VacA的伴侣蛋白, 与VacA的合成、修饰、转运有关^[14]。Shimoyama *et al*^[15]报道, CagA可使*H pylori*表达大量的LewisX和LewisY蛋白, 使黏膜局部排斥反应减轻, 有利于*H pylori*在胃黏膜的长久定居; 而且CagA的表达与胃黏膜中*H pylori*密度呈正相关, 即CagA⁺的菌株更易在胃黏膜定植, 引起更严重的胃炎^[16]。CagA通过幽门螺杆菌注入到宿主细胞后使酪氨酸磷酸化, 一旦磷酸化, CagA可与酪氨酸磷酸化酶(SHP2)结合并使其激活, 从而导致胃上皮细胞增殖与凋亡的失衡^[17]。通过对CagA特异性T细胞的研究, 已明确CagA作

研发前沿
近年来运用益生菌治疗*H pylori*感染受到了国内外学者广泛的关注, 较多的研究表明: 益生菌防治*H pylori*感染机制主要与其产生抑制*H pylori*的物质、抑制*H pylori*的定植、抑制*H pylori*感染后的炎症及免疫反应等作用有关。

相关报道

Myllyluoma *et al* 学者报道益生菌治疗组和安慰剂组 *H pylori* 的根除率无明显差别, 益生菌亦不能改善 *H pylori* 根除治疗中出现的一些新的症状, 因此益生菌防治 *H pylori* 感染的作用有待更进一步的研究。

为胞浆毒性蛋白被宿主细胞获得并进入MHC I 类抗原传递途径^[18]。

上述毒性因子是幽门螺杆菌致病的主要因素, 除此之外, 还有一些因子也越来越引起研究人员的重视, 如热休克蛋白、脂多糖、Lewis抗原、iceA基因、脂酶和蛋白酶、生长抑制因子等都是幽门螺杆菌的重要毒性因子。

1.3 *H pylori* 感染后的炎症与免疫反应 *H pylori* 感染后, *H pylori* 与宿主相互作用, 介导机体对细菌的免疫反应而导致肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、干扰素 γ (IFN- γ)、IL-1、IL-6、IL-8等多种细胞因子表达上调, 这些细胞因子构成一个复杂的炎性免疫调节网络, 并通过旁分泌、内分泌等途径, 作用于B淋巴细胞、NK细胞、巨噬细胞, 使其在胃黏膜局部增殖、分化、激活, 产生特异性和非特异性免疫反应, 损伤局部组织, 导致胃肠疾病的发生^[19-20]。

在众多的细胞因子中, IL-8尤为重要, IL-8主要由单核细胞、内皮细胞、纤维母细胞及T淋巴细胞在IL-1、TNF、脂多糖等刺激下产生。IL-8在炎症形成时可引起中性粒细胞趋化和脱颗粒引起黏膜局部的炎症, 导致胃十二指肠溃疡的发生和发展, 研究显示, IL-8的水平与炎症程度呈正相关^[21], *H pylori* 感染患者高毒力菌株血清IL-8、TNF- α 的水平高于低毒力菌株及未感染组, 并认为 *H pylori* 感染诱导胃黏膜上皮细胞分泌IL-8、TNF- α , 且具有菌株特异性, 即CagA⁺的菌株其诱导分泌的IL-8、TNF- α 水平高于CagA⁻的菌株^[22-23]。

TNF- α 是一种多功能的细胞因子, 主要由巨噬细胞和T细胞产生, 参与多种生理病理过程, 具有双重的生物学作用。一方面是机体的免疫防护的重要介质, 另一方面可参与机体的免疫病理损伤, 在免疫性疾病的发病机制上具有十分重要的临床价值。Yamaoka *et al*^[24]研究发现, 在慢性胃炎、消化性溃疡患者中, *H pylori* 阳性患者胃窦黏膜上皮细胞TNF- α mRNA表达阳性率高于 *H pylori* 阴性患者, CagA⁺菌株感染者高于CagA⁻患者, 且与 *H pylori* 密度、炎性细胞浸润程度呈正比; *H pylori* 清除后, 在胃黏膜炎症明显减轻、中性粒细胞浸润明显减少的同时, 局部的TNF- α 表达显著降低^[25]。

COX即前列腺素H2合成酶, 是催化花生四烯酸形成前列腺素(PGs)的关键酶, 该酶有两种异构体, COX-1呈原生性表达, 存在于大多数

细胞, 被认为是“看家基因”所编码, 而COX2又称诱生型表达, 当细胞接受各种刺激后才表达。近年研究表明, 与 *H pylori* 阳性患者相比, *H pylori* 阴性患者胃黏膜中COX-2 mRNA和蛋白表达明显增强, 根除 *H pylori* 后COX-2表达下降, 且COX-2水平与慢性炎症的程度呈正相关^[26]。Xiao *et al*^[27]通过成功制作C57BL/6小鼠 *H pylori* 相关增生性胃炎模型, 发现模型组COX-2表达及PGE2水平显著高于对照组, 感染 *H pylori* 后, 胃黏膜纤维母细胞可释放更多PGE2, 故认为, *H pylori* 是通过COX-2影响PGE2, 表明COX-2在慢性 *H pylori* 感染中具有重要作用, Romano *et al*^[28]将 *H pylori* 菌株培养上清液与MKN28胃癌细胞株孵育24 h后, COX-2 mRNA和PGE2水平分别升高5倍和3倍, 提示 *H pylori* 及其毒素可直接诱导细胞株表达COX-2。

2 目前的抗 *H pylori* 治疗方法及其存在的问题

目前以质子泵抑制剂(PPI)或铋剂联合两种抗生素组成的三联疗法是公认的根除 *H pylori* 的标准方案, 抗生素可选用阿莫西林、克拉霉素或硝基咪唑类的, 但因药物不良反应较大、依从性差, 而且对克拉霉素和甲硝唑等的耐药问题使根除效果并不理想^[29]。 *H pylori* 对抗生素的耐药性是根除失败的主要因素。甲硝唑的耐药率从90年代初的不足20%, 发展到90年代末的50%-70%。克拉霉素的耐药率也在不断上升, 且甲硝唑和克拉霉素之间还存在混合耐药^[30]。大量的研究发现抗生素的联合大量应用可导致肠道正常菌群失调, 致肠道对致病菌抗定植能力减弱, 各种过路菌及耐药菌株乘机形成优势菌群定植于肠道大量繁殖, 而致病菌株的增多可再次造成肠道定植菌的进一步减少; 质子泵抑制剂的应用使得胃内pH升高, 亦是过路菌大量繁殖的原因之一。以上原因致肠道微生态环境发生不良变化, 出现腹胀、纳差、腹泻及便秘等一系列消化道症状^[31]; 还可以引起较严重的不良反应, 如抗生素相关性肠炎, 甚至发生伪膜性肠炎。欧美及日本等国对 *H pylori* 感染患者接受抑酸剂和抗生素联合治疗后, 发生艰难梭状芽孢菌性腹泻(CDAD)已予以关注^[32]。近来许多研究人员提出需要一些抗 *H pylori* 感染的新方法, 如包括益生菌、抗氧化剂等非抗生素制剂, 以改变或完善现有的抗菌治疗方案。其中益生菌在提高 *H pylori* 根除率及减少药物不良反应方面

尤显优势^[33].

3 益生菌防治幽门螺杆菌感染

3.1 益生菌 微生物学是研究正常微生物群的结构、功能及其与宿主相互依赖和相互制约关系的一门新兴学科, 微生态疗法系补充对人体有益的活菌制剂, 恢复正常菌群的生态平衡, 以抵御病原菌的定植侵袭. 微生态制剂可分为益生菌、益生元和合生元. 其中益生菌系指能促进肠道内菌群平衡、对宿主起到有益作用的活的微生态制剂. 常见的菌株包括: 乳酸菌属(乳酸杆菌、双歧杆菌、粪肠球菌、粪链球菌、枯草杆菌); 芽孢杆菌属(蜡状芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌); 非常驻菌属(丁酸梭菌、酪酸梭菌). 剂型分为固态(胶囊、颗粒、片剂)和液态(口服液、发酵乳), 根据所含菌种数可分为多联活菌制剂和单菌制剂^[34]. 近年研究发现益生菌具有广谱抗菌活性, 不仅能提高消化道内其他有益菌的数量和活性, 而且也可抑制*H pylori*在胃黏膜上皮的定植和生长, 抑制*H pylori*感染后的炎症及免疫反应^[35-36].

3.2 益生菌防治*H pylori*感染作用 近年来运用益生菌治疗*H pylori*感染受到了国内外学者广泛的关注, Gotteland *et al*^[37]研究了益生菌嗜酸性乳酸杆菌LB(LB)或共生菌酵母益生菌加菊粉(SbI)对于*H pylori*感染患儿的治疗作用, 在圣地亚哥市挑选254名无症状儿童, 将*H pylori*阳性儿童随机化分为3组, 各组治疗方法分别为: 给予抗生素(兰索拉唑、甲基红霉素和羟氨苄青霉素)治疗8 d; 每天服用SbI, 连续8 wk; 每天服用LB, 连续8 wk. 治疗后3组的*H pylori*感染根治率分别为66%, 12%和6.5%. 患儿服用活的SbI后, $\delta^{13}\text{CO}_2$ 基准值差异发生了中等程度的、但是具有显著性意义的变化, 而服用LB的患儿则没有这种变化, 结果显示酵母益生菌可干扰*H pylori*在人体内的增殖过程, 因而具有临床应用前景. Wang *et al*^[38]一项临床实验研究, 59例*H pylori*阳性患者在餐后予以嗜酸性乳酸杆菌La5及双歧杆菌Bb12或AB-yogurt治疗, 11例*H pylori*阳性服用牛奶作为安慰组, 分别在治疗前4 wk和治疗后8 wk, 用¹³C-尿素呼气试验确定*H pylori*感染情况, 结果显示La5可以抑制*H pylori*在胃黏膜的定植, 降低胃黏膜中*H pylori*的密度, 减轻胃炎程度, 但不能彻底根除*H pylori*的感染; Linsalata *et al*^[39]将29例*H pylori*感染患者随机分为*L. brevis*(CD2)菌株组和安慰剂组, 治疗1 mo后发现*L. brevis*(CD2)

虽不能根除*H pylori*, 但可以减少胃内*H pylori*数量; Iakovenko *et al*^[40]一项对照研究中, 将98例*H pylori*感染患者随机分为2组, 1组接受三联抗生素加益生菌治疗, 另1组只接受三联抗生素治疗, 其*H pylori*根除率分别为89.1%和63.5%; Sheu *et al*^[41]也证实了三联疗法加AB-Yogurt组比单用三联疗法*H pylori*根除率高(91% vs 78%, $P < 0.05$), 且可以明显减少三联疗法治疗过程中出现的恶心、呕吐、腹泻、头痛的发生率. 随着研究深入, 也有学者认为微生态制剂并不能提高*H pylori*的根除率, 如Myllyluoma *et al*^[42]一项随机双盲实验研究, 用¹³C-尿素呼气试验和酶免疫分析法从338例志愿者中筛选出47例*H pylori*阳性的患者, 在进行根除治疗时分别予益生菌(鼠李糖乳杆菌LGG、短双歧杆菌Bb99等)和安慰剂3 wk, 结果显示益生菌组和安慰剂组*H pylori*的根除率无明显差别(91% vs 79%, $P = 0.42$), 益生菌亦不能改善*H pylori*根除治疗中出现的一些新的症状, 但可以提高根除*H pylori*治疗的依从性; Wendakoon *et al*^[43]研究中27例*H pylori*阳性患者, 连续每天服用含有*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*等菌株的酵母乳30 d后, 仍有26例患者*H pylori*阳性, 说明这些菌株并不能提高*H pylori*根除的根除率.

3.3 益生菌防治*H pylori*机制

3.3.1 产生抑制*H pylori*的物质 早在1989年Bhatia就发现乳酸杆菌通过产生短链脂肪酸而发挥抗*H pylori*作用, 近年大量的实验研究发现多种乳酸杆菌及其代谢产物能抑制或杀灭*H pylori*^[44]. Nam *et al*^[45]PL9001菌株培养的上清液可以降低*H pylori*的活力, 破坏细胞壁, 使细菌由螺旋型变成了球形, 即使在低的pH值、胃蛋白酶、蛋白水解酶的环境下仍有抗*H pylori*活性, 其抗菌机制可能是与PL9001产生的细菌素有关. Oh *et al*^[46]也证实酵母菌和乳酸杆菌上清液可以杀灭*H pylori*, 机制可能是与发酵的过程中产生的有机物、抑菌素有关, 如乳酸链球菌肽(Nisin)可以选择性的杀灭革兰氏阳性菌, kefir可以抑制革兰氏阳性菌. 柯连安 *et al*^[47]发现Nisin在柠檬酸的协同作用下对*H pylori*具有明显的抑杀作用, 电镜观察被作用后的*H pylori*菌株细胞质膜破碎和细胞发生球形样变, 提示Nisin作用机制主要是破坏对*H pylori*菌株的细胞质膜. 现已证实通过类似机制抗*H pylori*的益生菌还有*Lact. Acidophilus* A1、*johnsonii*菌株等. Sgouras

创新盘点
本文就*H pylori*的致病机制、抗*H pylori*的治疗方法及其存在的问题、益生菌防治*H pylori*感染的作用机制予以了详尽的阐述.

应用要点

目前国内外学者对益生菌防治 *H pylori* 感染的作用机制研究甚少, 益生菌在上消化道的生物学特性和行为尚未完全明确, 所以在临床应用方面尚存在一些需要解决的问题, 如菌株的选择、其剂量、疗程及如何与其他药物联合应用, 有待更进一步的研究。

et al^[48]体外实验发现活性的 *L.casei* Shirota株可以抑制 *H pylori* 的生长, 而其上清液却没有这种作用, 说明只有活的 *Shirota*株才能发挥抑菌作用。Pinchuk *et al*^[49]发现枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*3)培养上清液能抑制 *H pylori* 的生长, 使用薄层色谱分析和高效液相色谱分析鉴定出其上清液中含有一种叫amicoumacin A细菌素, 他对所有的 *H pylori*菌株具有杀灭作用, 且其抗菌活性与pH值和有机酸的浓度无关, 其在固体和液体培养的 *H pylori*中最小抑菌浓度范围分别为1.7-6.8 mg/L和0.75-2.5 mg/L。

3.3.2 抑制 *H pylori* 的定植 *H pylori*在胃黏膜表面的黏附是其在胃内定植和感染的基础, 如果能够通过合适的方法干扰或阻断 *H pylori*黏附, 从而使其在胃蠕动时随食物一起被排空, 对于 *H pylori*感染的预防以及辅助治疗都应该是一种有益的途径^[50], Nam *et al*^[45]发现 *Weissella confuse* PL9001菌株可以和人胃上皮细胞MKN-45结合, 从而可以竞争性抑制 *H pylori*在胃中的定植, Mukai *et al*^[51]在9种 *L.reuteri*菌中发现JCM1081株和TM105株可以与 *H pylori*共享表面糖脂连接蛋白, 从而竞争性抑制 *H pylori*与宿主胃上皮细胞结合。刘祥 *et al*^[52]将乳酸杆菌WR22在体外与胃上皮细胞爬片共同孵育2 h后, 采用光镜、电镜技术观察其黏附效果, 再用WR22与幽门螺杆菌SS1对胃上皮细胞竞争性黏附2 h后, 荧光抗体染色法定性评价黏附于胃上皮细胞上的幽门螺杆菌密度, 结果显示, 乳酸杆菌WR22在活菌和死菌状态下都能大量地黏附于上皮细胞, 显著降低幽门螺杆菌在胃上皮细胞上的黏附密度, 但死菌状态下抑制能力次于活菌状态。

3.3.3 抑制 *H pylori* 感染后的炎症及免疫反应 予正常小鼠和无胸腺小鼠同时灌注乳酸杆菌和 *H pylori*, 研究发现正常小鼠胃内的 *H pylori*较无胸腺无菌小鼠更易被乳酸杆菌所抑制, 提示乳酸杆菌抑制的效应与免疫因素有关, Brzozowski *et al*^[53]证实 *L.rhamnosus*, *L.acidophilus*除了可以抑制 *H pylori*的定植、减轻胃黏膜炎症, 平衡胃黏膜血流的分布、胃酸的分泌, 还可以逆转 *H pylori*感染引起的胃黏膜中COX-2的升高; 抑制Bax蛋白的表达, 从而抑制胃上皮细胞的凋亡。Sgouras *et al*在动物实验中, 用 *L.casei* Shirota株治疗感染 *H pylori*的小鼠。分别在治疗1, 2, 3, 6, 9 mo时取病检及做 *H pylori*培养, 结果发现 *Shirota*治疗组胃窦、胃体定植的 *H pylori*数量明显减少, 且随着治疗时间的延长, 胃黏膜炎症也逐渐

减轻, 血液中的抗 *H pylori* IgG也有下降的趋势, 机制可能是通过调节免疫系统从而减轻 *H pylori* 的致病性和胃炎活动程度。另一动物实验中先用乳杆菌感染小鼠后, 再给小鼠喂服 *H pylori*, 则 *H pylori*无法在胃内定植, 而给已感染 *H pylori*的小鼠服用乳杆菌后, 乳杆菌可清除 *H pylori*, 且血清中抗体滴度明显降低^[54]。Kabir *et al*^[55]还发现, 乳酸杆菌不仅可以抑制 *H pylori*与人胃上皮细胞的黏附, 还可以抑制 *H pylori*感染所致IL-8的分泌, 降低胃黏膜的炎症反应, Sgouras *et al*^[56]研究表明 *Lactobacillus johnsonii* La1上清液可以显著减少 *H pylori*诱导的GAS胃癌细胞IL-8的分泌, 抑制胃上皮细胞中巨噬细胞炎性蛋白-2(MIP-2)角质细胞起源趋化因子(KC)的表达, 同时伴有组织中中性粒细胞和淋巴细胞减少, 血清中抗 *H pylori*免疫球蛋白(IgG)下降, 这可能是乳酸杆菌抗 *H pylori*感染的重要机制。Linsalata *et al*^[39]发现 *L.brevis*(CD2)虽不能根除 *H pylori*, 但可以减少胃内 *H pylori*数量, 机制可能是 *L.brevis*(CD2)菌中精氨酸脱亚氨基酶能催化精氨酸的分解代谢和抑制多胺的合成代谢, 降低胃内鸟氨酸脱羧酶的活性和多胺水平有密切关系。

3.4 益生菌提高 *H pylori* 根除治疗的依从性 较多研究表明, 益生菌用于防治 *H pylori* 相关性疾病是安全有效的, 虽然益生菌还不能替代传统的抗生素疗法, 但可与抗生素联合使用, 特别是在抗生素耐药的情况下, 可以平衡胃肠道正常菌群, 降低抗生素的副作用。Cremonini *et al*^[57]使用三联疗法加乳酸杆菌株(*Lactobacillus GG*, *Saccharomyces boulardii*)治疗 *H pylori*感染患者, 结果显示加乳酸杆菌株虽不能增加 *H pylori* 的根除率, 但是可以明显减轻抗生素使用过程中出现的腹泻, 便秘, 味觉异常等不良反应, 提高了治疗的耐受性。曹艳菊 *et al*^[58]探讨双歧三联活菌胶囊对根除 *H pylori*治疗中所致抗生素相关性腹泻(AAD)的预防作用, 将128例 *H pylori*阳性的胃及十二指肠溃疡患者随机分成A组(阿莫西林、甲硝唑、奥美拉唑、果胶铋四联治疗组)和B组(四联加培菲康治疗组)两组, 抗生素疗程均为2 wk, 奥美拉唑及果胶铋疗程为4 wk; 抗生素治疗结束4 wk后复查¹³C-尿素呼气试验及尿素酶试验, 结果发现2组 *H pylori*根除率分别为92.19%和96.88%(*P*>0.05), 但B组AAD发生率明显低于A组(*P*<0.05)。Duman *et al*^[59]将389例患者经常规三联抗 *H pylori*治疗2 wk予以 *S.boulardii*治疗, 发现在治疗期间, *S.boulardii*

治疗组和对照组腹泻的发生率分别为5.9%和11.5% ($P < 0.05$), 随访期腹泻的发生率分别为1.0%和3.8% ($P < 0.05$), Gotteland *et al*^[44]的一项系统性回顾报道13组临床试验, 其中6组(180例)单独应用益生菌, 有5组胃内*H pylori*明显减少或清除; 另7组(682例)研究采用益生菌制剂加入*H pylori*根除治疗的联合方案: 有2组显示*H pylori*根除率增加, 且腹泻、味觉障碍等不良反应减少, 有4组显示效果优于单用益生菌组。

4 结论

*H pylori*作为慢性胃炎、消化性溃疡甚至胃癌的主要致病因素, 随着耐药率的增加、长期不合理应用抗生素可引起胃肠功能紊乱及胃肠道菌群失调等不良反应, 微生态疗法恰是从一个崭新的角度解决了传统疗法存在的多种问题, 他不仅可以抗感染, 还能调节机体的免疫机能, 平衡胃肠道正常菌群, 降低抗生素的副作用等多种生物学功能, 因此益生菌的运用将对*H pylori*相关疾病的防治具有重要的意义。至今, 国内外学者对益生菌防治*H pylori*感染的研究大多集中在临床, 对其作用机制研究甚少, 益生菌在上消化道的生物学特性和行为尚未完全明确, 目前在临床应用方面尚存在一些需要解决的问题, 如菌株的选择, 其剂量、疗程及如何与其他药物联合应用, 有待更进一步的研究。

5 参考文献

- 1 Hatakeyama M, Brzozowski T. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2006; 11 Suppl 1: 14-20
- 2 楼金环, 陈洁. 三联疗法抗幽门螺杆菌感染对儿童肠道菌群状态的影响. *中国微生态学杂志* 2005; 17: 124-125
- 3 李颖波. 根除幽门螺杆菌治疗对肠道微生态环境的影响. *山东医药* 2005; 45: 53-54
- 4 Merckx-Jacques A, Obhi RK, Bethune G, Creuzenet C. The *Helicobacter pylori* flaA1 and wbpB genes control lipopolysaccharide and flagellum synthesis and function. *J Bacteriol* 2004; 186: 2253-2265
- 5 McGee DJ, Mobley HL. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Curr Opin Gastroenterol* 2000; 16: 24-31
- 6 Radosz-Komoniewska H, Bek T, Jozwiak J, Martirosian G. Pathogenicity of *Helicobacter pylori* infection. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11: 602-610
- 7 Fujii R, Morihara F, Oku T, Hifumi E, Uda T. Epitope mapping and features of the epitope for monoclonal antibodies inhibiting enzymatic activity of *Helicobacter pylori* urease. *Biotechnol Bioeng* 2004; 86: 434-444
- 8 Brisslert M, Enarsson K, Lundin S, Karlsson A, Kusters JG, Svennerholm AM, Backert S, Quiding-Jarbrink M. *Helicobacter pylori* induce neutrophil transendothelial migration: role of the bacterial HP-

- NAP. *FEMS Microbiol Lett* 2005; 249: 95-103
- 9 Dundon WG, Nishioka H, Polenghi A, Papinutto E, Zanotti G, Montemurro P, Del GG, Rappuoli R, Montecucco C. The neutrophil-activating protein of *Helicobacter pylori*. *Int J Med Microbiol* 2002; 291: 545-550
- 10 Fantini J, Garmy N, Yahi N. Prediction of glycolipid-binding domains from the amino acid sequence of lipid raft-associated proteins: application to HpaA, a protein involved in the adhesion of *Helicobacter pylori* to gastrointestinal cells. *Biochemistry* 2006; 45: 10957-10962
- 11 Carlsohn E, Nystrom J, Bolin I, Nilsson CL, Svennerholm AM. HpaA is essential for *Helicobacter pylori* colonization in mice. *Infect Immun* 2006; 74: 920-926
- 12 de Bernard M, Cappon A, Del Giudice G, Rappuoli R, Montecucco C. The multiple cellular activities of the VacA cytotoxin of *Helicobacter pylori*. *Int J Med Microbiol* 2004; 293: 589-597
- 13 Fischer W, Gebert B, Haas R. Novel activities of the *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin: from epithelial cells towards the immune system. *Int J Med Microbiol* 2004; 293: 539-547
- 14 Lu H, Yamaoka Y, Graham DY. *Helicobacter pylori* virulence factors: facts and fantasies. *Curr Opin Gastroenterol* 2005; 21: 653-659
- 15 Shimoyama T, Fukuda S, Tanaka M, Sugawara N, Kurimoto F, Munakata A. Serum anti-Lewis X antibody is associated with VacA seropositivity but not atrophic gastritis in patients with *Helicobacter pylori* infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001; 13: 227-231
- 16 Brandt S, Kwok T, Hartig R, Konig W, Backert S. NF-kappaB activation and potentiation of proinflammatory responses by the *Helicobacter pylori* CagA protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 9300-9305
- 17 Hatakeyama M. Oncogenic mechanisms of the *Helicobacter pylori* CagA protein. *Nat Rev Cancer* 2004; 4: 688-694
- 18 van Doorn NE, Namavar F, Sparrius M, Stoof J, van Rees EP, van Doorn LJ, Vandenbroucke-Grauls CM. *Helicobacter pylori*-associated gastritis in mice is host and strain specific. *Infect Immun* 1999; 67: 3040-3046
- 19 Beswick EJ, Suarez G, Reyes VE. *H pylori* and host interactions that influence pathogenesis. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 5599-5605
- 20 Abdel-Latif MM, Windle H, Terres A, Eidhin DN, Kelleher D, Reynolds JV. *Helicobacter pylori* extract induces nuclear factor-kappa B, activator protein-1, and cyclooxygenase-2 in esophageal epithelial cells. *J Gastrointest Surg* 2006; 10: 551-562
- 21 Lopes AI, Quiding-Jarbrink M, Palha A, Ruivo J, Monteiro L, Oleastro M, Santos A, Fernandes A. Cytokine expression in pediatric *Helicobacter pylori* infection. *Clin Diagn Lab Immunol* 2005; 12: 994-1002
- 22 董明宏, 孙晨光, 贺士平. 幽门螺杆菌感染患者血清IL-8和TNF α 的水平变化及临床意义探讨. *检验医学* 2004; 19: 106-108
- 23 Kamali-Sarvestani E, Bazargani A, Masoudian M, Lankarani K, Taghavi AR, Saberifirooz M. Association of *H pylori* cagA and vacA genotypes and IL-8 gene polymorphisms with clinical outcome of infection in Iranian patients with gastrointestinal diseases. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 5205-5210
- 24 Yamaoka Y, Kita M, Kodama T, Sawai N, Kashima

名词解释

- 1 微生物学是研究正常微生物群的结构、功能及其与宿主相互依赖和相互制约关系的一门新兴学科。
- 2 微生态疗法是补充对人体有益的活菌制剂, 恢复正常菌群的生态平衡, 以抵御病原菌的定植侵袭。
- 3 益生菌是指能促进肠道内菌群平衡、对宿主起到有益作用的活的微生态制剂。

同行评价

本文对所研究的问题进行了细致的论述, 提供了充分的相关信息, 整个研究内容有一定的新颖性, 是目前的研究热点之一, 具有一定的临床意义, 是一篇质量较高的综述。

- K, Imanishi J. Induction of various cytokines and development of severe mucosal inflammation by cagA gene positive *Helicobacter pylori* strains. *Gut* 1997; 41: 442-451
- 25 张维, 赵志泉, 刘平, 张红杰. 具有cagA基因的幽门螺杆菌感染与宿主产生白介素-8、肿瘤坏死因子- α 的关系. *中华消化杂志* 2000; 20: 411-412
- 26 Li GQ, Xia HH, Chen MH, Gu Q, Wang JD, Peng JZ, Chan AO, Cho CH, So HL, Lam SK, Hu PJ, Liang YJ, Lin HL, Berg DE, Feng ZH, Langenbach R, Wong BC. Effects of cyclooxygenase-1 and -2 gene disruption on *Helicobacter pylori*-induced gastric inflammation. *J Infect Dis* 2006; 193: 1037-1046
- 27 Xiao F, Furuta T, Takashima M, Shirai N, Hanai H. Involvement of cyclooxygenase-2 in hyperplastic gastritis induced by *Helicobacter pylori* infection in C57BL/6 mice. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15: 875-886
- 28 Romano M, Ricci V, Memoli A, Tuccillo C, Di Popolo A, Sommi P, Acquaviva AM, Del Vecchio Blanco C, Bruni CB, Zarrilli R. *Helicobacter pylori* up-regulates cyclooxygenase-2 mRNA expression and prostaglandin E2 synthesis in MKN 28 gastric mucosal cells in vitro. *J Biol Chem* 1998; 273: 28560-28563
- 29 周殿元, 陈烨. 幽门螺杆菌感染的药物治疗新进展. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 157-159
- 30 胡伏莲. 幽门螺杆菌感染治疗中的困惑与共识. *中国实用内科杂志* 2005; 25: 281-283
- 31 Higuchi K, Maekawa T, Nakagawa K, Chouno S, Hayakumo T, Tomono N, Orino A, Tanimura H, Asahina K, Matsuura N, Endo M, Hirano M, Sakamoto C, Inomoto T, Arakawa T. Efficacy and safety of *Helicobacter pylori* eradication therapy with omeprazole, amoxicillin and high- and low-dose clarithromycin in Japanese patients: a randomised, double-blind, multicentre study. *Clin Drug Investig* 2006; 26: 403-414
- 32 Archimandritis A, Souyiultzis S, Katsorida M, Tzivras M. *Clostridium difficile* colitis associated with a 'triple' regimen, containing clarithromycin and metronidazole, to eradicate *Helicobacter pylori*. *J Intern Med* 1998; 243: 251-253
- 33 Ables AZ, Simon I, Melton ER. Update on *Helicobacter pylori* treatment. *Am Fam Physician* 2007; 75: 351-358
- 34 丁倩. 益生菌制剂的临床应用. *天津药学* 2005; 17: 56-58
- 35 Parvez S, Malik KA, Ah Kang S, Kim HY. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *J Appl Microbiol* 2006; 100: 1171-1185
- 36 刘东红. 微生物制剂的进展与临床应用评价. *中国医院用药评价与分析* 2006; 6: 139-142
- 37 Gotteland M, Poliak L, Cruchet S, Brunser O. Effect of regular ingestion of *Saccharomyces boulardii* plus inulin or *Lactobacillus acidophilus* LB in children colonized by *Helicobacter pylori*. *Acta Paediatr* 2005; 94: 1747-1751
- 38 Wang KY, Li SN, Liu CS, Perng DS, Su YC, Wu DC, Jan CM, Lai CH, Wang TN, Wang WM. Effects of ingesting *Lactobacillus*- and *Bifidobacterium*-containing yogurt in subjects with colonized *Helicobacter pylori*. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 737-741
- 39 Linsalata M, Russo F, Berloco P, Caruso ML, Matteo GD, Cifone MG, Simone CD, Ierardi E, Di Leo A. The influence of *Lactobacillus brevis* on ornithine decarboxylase activity and polyamine profiles in *Helicobacter pylori*-infected gastric mucosa. *Helicobacter* 2004; 9: 165-172
- 40 Iakovenko EP, Grigor'ev IA, Iakovenko AV, Agafonova NA, Prishchikov AS, Sheregova EN, Vasil'ev IV, Komleva IuV, Oprishchenko IV, Anashkin VA. Effects of probiotic bifiform on efficacy of *Helicobacter pylori* infection treatment. *Ter Arkh* 2006; 78: 21-26
- 41 Sheu BS, Wu JJ, Lo CY, Wu HW, Chen JH, Lin YS, Lin MD. Impact of supplement with *Lactobacillus*- and *Bifidobacterium*-containing yogurt on triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 1669-1675
- 42 Myllyluoma E, Veijola L, Ahlroos T, Tynkynen S, Kankuri E, Vapaatalo H, Rautelin H, Korpela R. Probiotic supplementation improves tolerance to *Helicobacter pylori* eradication therapy--a placebo-controlled, double-blind randomized pilot study. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 21: 1263-1272
- 43 Wendakoon CN, Thomson AB, Ozimek L. Lack of therapeutic effect of a specially designed yogurt for the eradication of *Helicobacter pylori* infection. *Digestion* 2002; 65: 16-20
- 44 Gotteland M, Brunser O, Cruchet S. Systematic review: are probiotics useful in controlling gastric colonization by *Helicobacter pylori*? *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 23: 1077-1086
- 45 Nam H, Ha M, Bae O, Lee Y. Effect of *Weissella confusa* strain PL9001 on the adherence and growth of *Helicobacter pylori*. *Appl Environ Microbiol* 2002; 68: 4642-4645
- 46 Oh Y, Osato MS, Han X, Bennett G, Hong WK. Folk yogurt kills *Helicobacter pylori*. *J Appl Microbiol* 2002; 93: 1083-1088
- 47 柯连安, 胡国平, 叶嗣颖. Nisin对幽门螺杆菌生物学作用的实验研究. *中国微生物学杂志* 2003; 15: 96-97
- 48 Sgouras D, Maragkoudakis P, Petraki K, Martinez-Gonzalez B, Eriotou E, Michopoulos S, Kalantzopoulos G, Tsakalidou E, Mentis A. In vitro and in vivo inhibition of *Helicobacter pylori* by *Lactobacillus casei* strain Shirota. *Appl Environ Microbiol* 2004; 70: 518-526
- 49 Pinchuk IV, Bressollier P, Verneuil B, Fenet B, Sorokulova IB, Megraud F, Urdaci MC. In vitro anti-*Helicobacter pylori* activity of the probiotic strain *Bacillus subtilis* 3 is due to secretion of antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 3156-3161
- 50 Chmiela M, Michetti P. Inflammation, immunity, vaccines for *Helicobacter* infection. *Helicobacter* 2006; 11 Suppl 1: 21-26
- 51 Mukai T, Asasaka T, Sato E, Mori K, Matsumoto M, Ohori H. Inhibition of binding of *Helicobacter pylori* to the glycolipid receptors by probiotic *Lactobacillus reuteri*. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2002; 32: 105-110
- 52 刘祥, 潘素华, 张朝武, 别明江, 马洪升, 余倩. 乳酸杆菌胃分离株WR22体外抑制幽门螺杆菌黏附胃上皮细胞研究. *中国人兽共患病学报* 2006; 22: 246-248
- 53 Brzozowski T, Konturek PC, Mierzwa M, Drozdowicz D, Bielanski W, Kwiecien S, Konturek SJ, Stachura J, Pawlik WW, Hahn EG. Effect of probiotics and triple eradication therapy on the cyclooxygenase (COX)-2 expression, apoptosis, and functional gastric mucosal impairment in *Helicobacter pylori*-infected Mongolian gerbils. *Helicobacter* 2006; 11: 10-20
- 54 Drouin E. *Helicobacter pylori*: novel therapies. *Can*

- J Gastroenterol* 1999; 13: 581-583
- 55 Kabir AM, Aiba Y, Takagi A, Kamiya S, Miwa T, Koga Y. Prevention of *Helicobacter pylori* infection by lactobacilli in a gnotobiotic murine model. *Gut* 1997; 41: 49-55
- 56 Sgouras DN, Panayotopoulou EG, Martinez-Gonzalez B, Petraki K, Michopoulos S, Mentis A. *Lactobacillus johnsonii* La1 attenuates *Helicobacter pylori*-associated gastritis and reduces levels of proinflammatory chemokines in C57BL/6 mice. *Clin Diagn Lab Immunol* 2005; 12: 1378-1386
- 57 Cremonini F, Di Caro S, Covino M, Armuzzi A, Gabrielli M, Santarelli L, Nista EC, Cammarota G, Gasbarrini G, Gasbarrini A. Effect of different probiotic preparations on anti-*helicobacter pylori* therapy-related side effects: a parallel group, triple blind, placebo-controlled study. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2744-2749
- 58 曹艳菊, 张豫生, 屈昌民, 袁群. 幽门螺杆菌治疗中抗生素相关性腹泻的预防. *中华医院感染学杂志* 2005; 16: 559-560
- 59 Duman DG, Bor S, Ozutemiz O, Sahin T, Oguz D, Istan F, Vural T, Sandkci M, Isksal F, Simsek I, Soyuturk M, Arslan S, Sivri B, Soykan I, Temizkan A, Bessk F, Kaymakoglu S, Kalayc C. Efficacy and safety of *Saccharomyces boulardii* in prevention of antibiotic-associated diarrhoea due to *Helicobacter pylori* eradication. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005; 17: 1357-1361

编辑 何燕 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •



APASL 2008 Seoul

**The 18th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver**

March 23 (Sun) - 26 (Wed), 2008

COEX Convention Center, Seoul, Korea

Online abstract submission and registration is available at www.apaslseoul2008.org**Tentative Scientific Program****1** Postgraduate Courses: Viral Hepatitis; present and future**2** Symposia: Liver cancer: a critical reappraisal of current practice; New insights in NAFLD; New therapeutic approach to HCC; Therapy for viral hepatitis: promises and pitfalls; Management for complications of liver cirrhosis; Liver pathology: an update; Metabolic and autoimmune liver diseases**3** Plenary Presentations**4** New APASL Guideline of Chronic Hepatitis B Treatment**5** Research Workshop**6** State-of-the-art Lectures**7** Imaging Courses**8** Surgical Hepatology/ Transplantation**9** Endoscopy Course**10** AASLD-APASL Joint Workshop**Contact:** APASL 2008 Seoul Secretariat, Tel: +82-2-3452-7241/Fax: +82-2-521-8683,E-mail: info@apaslseoul2008.orgwww.wjgnet.com

幽门螺杆菌耐药分子机制研究进展

林国友

背景资料
幽门螺杆菌是寄居于胃黏膜的人类最常见的病原菌之一, 危害很大。幽门螺杆菌感染与慢性胃炎、消化性溃疡乃至胃癌、胃黏膜相关淋巴样组织(MALT)淋巴瘤等多种消化系统疾病具有密切的关系, 但他的治疗仍是一大难题, 其中最突出的困难是治疗药物的耐受性问题。

林国友, 温岭市第四人民医院消化内科 浙江省温岭市 317511

通讯作者: 林国友, 317511, 浙江省温岭市, 温岭市第四人民医院. wllinguoyou@163.com

电话: 0576-86609279

收稿日期: 2007-05-19 修回日期: 2007-08-25

Progress in research into the molecular mechanism of drug resistance of *Helicobacter pylori*

Guo-You Lin

Guo-You Lin, the Fourth People's Hospital of Wenling City, Wenling 317511, Zhejiang Province, China

Correspondence to: Guo-You Lin, Department of Gastroenterology, the Fourth People's Hospital of Wenling City, Wenling 317511, Zhejiang Province, China. wllinguoyou@163.com

Received: 2007-05-19 Revised: 2007-08-25

Abstract

Helicobacter pylori is a pathogen of chronic and active gastritis. It is the main cause of chronic gastritis and peptic ulcer disease, and is directly related to diseases of the stomach and duodenum. This pathogen can also induce gastric carcinoma. With the extensive use of antibiotics, the number of drug resistant strains of *H pylori* has rapidly increased. As a result, there are some difficulties in applying clinical therapy for diseases related to *H pylori*. This paper aimed to first analyze the status and prevalence of antibiotic resistance, and then to review various drugs such as macrolides, imidazoles, tetracyclines, β -lactams and quinolones for systematically treating *H pylori* infection. The mechanisms of various drug resistances, as well as detection and identification assays for typing drug resistance, are discussed. This paper presents accumulated clinical data and evidence for the clinical diagnosis and treatment of diseases related to *H pylori*.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Drug resistance; Molecular mechanisms

Lin GY. Progress in research into the molecule mechanism

of drug resistance of *Helicobacter pylori*. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2007; 15(25): 2698-2703

摘要

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H pylori*)是慢性活动性胃炎的病原菌, 是慢性胃炎和消化性溃疡的主要病因, 与人体胃、十二指肠的疾病密切相关, 并诱发胃癌的发生。随着抗生素药物的广泛使用, *H pylori*耐药株也日异增多, 给临床*H pylori*的治疗带来巨大的困难。本文对*H pylori*的耐药现状与趋势进行分析, 系统地综述了大环内酯类药物、硝基咪唑类药物、四环素类、 β -内酰胺类药物、喹诺酮类药物对*H pylori*的耐药情况。探讨对于每种药物的耐药机制及耐药类型检测的不同手段, 为与*H pylori*导致的相关疾病的临床诊断、治疗提供可靠的依据, 积累临床资料。

关键词: 幽门螺杆菌; 耐药性; 分子机制

林国友. 幽门螺杆菌耐药分子机制研究进展. 世界华人消化杂志 2007;15(25):2698-2703

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2698.asp>

0 引言

*H pylori*是一种微需氧的革兰氏阴性螺旋杆菌, 他是由Marshall和Warren从患有慢性胃炎的患者胃部分离得到的^[1]。*H pylori*感染是临床最常见的慢性细菌感染。据新近流行病学调查显示^[2], *H pylori*的人群感染率为50%-90%。目前认为所有的十二指肠溃疡、大多数慢性胃炎、胃溃疡与非溃疡性消化不良、胃癌、胃淋巴瘤等都与*H pylori*感染相关。现在对其根除治疗一般推荐使用联合用药, 即质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)或铋剂, 联合应用1-3种抗生素, 如大环内酯类、硝基咪唑类或四环素类等^[3]。随着抗菌药的大量使用, *H pylori*的耐药率日渐增高。因此, 分析*H pylori*的耐药现状与趋势, 探索*H pylori*的耐药机制、建立*H pylori*的耐药检测手段, 对指导临床用药, 有效控制*H pylori*相关疾病的传播有着十分重要的意义。本文对国内外

的有关*H pylori*的耐药研究近况作一简要综述。

1 对大环内酯类药物的耐药性

大环内酯类药物,其中以克拉霉素最具代表性,其对酸稳定,能溶解于低pH的胃液,口服后生物利用度好,不良反应小,单一用药的*H pylori*根除率为42%-54%,是目前已知抗生素中对*H pylori*作用最强的药物之一。但目前*H pylori*对克拉霉素的耐药率已达到10%-15%^[4]。1项临床研究显示^[5],既往有大环内酯类药物应用史的*H pylori*感染者,其克拉霉素耐药率可达到30%(37/125, $P<0.001$)。*H pylori*对大环内酯类药物的耐药性根据不同国家和地区情况不一致,国外相对高一些。Masuda *et al*^[6]研究发现日本从1989-2000 *H pylori*对克拉霉素耐药率由0%增长到20.4%,尤其是1995年后4 a时间由10%迅速增长到20%; Meyer *et al*^[7]对1993-1999的研究做了1项Meta分析,发现美国*H pylori*对克拉霉素的总体耐药率是10.1%,有明显的地区差异。我国近年来才开始使用克拉霉素,耐药率相对低一些,但呈迅速上升趋势。上海地区的耐药率已由1995年的0%上升到2000-2001的14.93%,且克拉霉素耐药菌株的根除率明显低于克拉霉素敏感菌株^[8]。

*H pylori*对大环内酯类药耐药的机制主要为:大环内酯类抗生素能结合在野生型*H pylori*的50S大亚基的23S亚单位上,抑制肽酰基转移酶,影响核蛋白位移,抑制细菌蛋白合成和肽链延伸。而有耐药性的*H pylori*的23S rRNA的V区上发生了点突变,导致核糖体的构象改变,使大环内酯类抗生素结合位点也随之发生改变,进而使*H pylori*与大环内酯类药亲和能力减弱,药物也就不能阻止细菌的蛋白合成,最终产生耐药性。因此,23S rRNA的突变导致肽酰基转移酶环改变,减少与药物结合是*H pylori*耐药的主要机制^[9]。目前在有关*H pylori*耐药性的研究中,23S rRNA发生基因突变,致使其与大环内酯类药的亲和力减弱,是*H pylori*发生大环内酯类耐药的主要原因,而争论主要集中在23S rRNA突变的位置和形式,对突变形式与耐药水平之间关系的研究也较多。突变形式以A2142G和A2143G最为常见,占突变的45.2%-82.1%,其他的突变形式有A2142C、G2115A、G2141A、A2142T、A2143C,甚至发生在染色体的其他区段^[10]。突变的形式与耐药程度密切相关,研究表明^[11],A2143G突变的*H pylori*菌株MIC值通常大于64 ng/L,而A2144G突变的菌株其MIC常小于此值。

Fontana *et al*^[12]研究发现T2717C的突变与克拉霉素耐药低水平耐药性有关,该突变存在于*H pylori* 23S rRNA的高度保守区VI区,严重影响了其23S rRNA的二级结构。

传统的*H pylori*耐药检测方法为通过胃镜下取材,细菌培养,E-test或琼脂稀释法做药敏试验。目前*H pylori*对克拉霉素耐药的分子生物学检测方法主要立足于检测其23S rRNA基因的点突变。测序是最准确的方法,另外还有Real-time PCR、PCR/DNA酶免疫测定^[13]和PCR-反向杂交(LiPA)^[14]。目前应用最多的是聚合酶链式反应-限制性片段长度多态性图谱分析(PCR-RFLP)法,此法检测点突变较为敏感,且简便易行。Versalovic *et al*^[15]最早于1996年用PCR-RFLP的方法检测到A2142G、A2143G的突变。Alarcon *et al*^[16]利用PCR-RFLP检测96例4-18岁儿童感染的*H pylori*对克拉霉素耐药性,耐药率为29.1%,而且A2143G的突变率到达82.1%,是所用点突变中最高的。随着基因检测技术的不断发展进步,Real-time PCR目前已经成为检测*H pylori*耐药性的主要工具。Oleastro *et al*^[17]利用Real-time PCR快速准确地检测出*H pylori* 23S rRNA上最常见的3种点突变:A2142C、A2142G和A2143G。他们检测了200例患者的组织样品,其中157例出现单一点突变;41例出现2种突变;而1例同时出现3种点突变。他们还同时进行PCR-RFLP对比,结果基本相同。Lascols *et al*^[18]分别利用组织培养技术、组织显微解剖技术和Real-time PCR技术对196例(66例患病)胃部组织样品进行检测,他们的准确率分别为90.9%、87.9%和97.0%。PCR的灵敏度可达到 12×10^6 个细菌/L反应体系。

2 对硝基咪唑类药物的耐药性

硝基咪唑类药物如甲硝唑和苯并咪唑,其杀菌活性不受胃内酸性pH的影响,且在胃内浓集,具有较强的抗*H pylori*活性,因而成为抗*H pylori*感染的主要药物之一。近年随着甲硝唑的广泛应用,*H pylori*对其耐药呈上升趋势,各地报道的甲硝唑耐药率有很大差异,西欧和美国的耐药率为20%-45%,而在发展中国家的甲硝唑耐药率更高,达到50%左右^[19]。甲硝唑耐药的发生严重影响了*H pylori*的根除。其耐药率高的原因主要有:甲硝唑在其他感染中的广泛应用;使用低于治疗剂量的甲硝唑进行抗*H pylori*治疗;甲硝唑药理作用中的诱变特性;曾经用药对*H pylori*的选择压力^[9]。

研发前沿
目前用于根除幽门螺杆菌的药物主要有喹诺酮类、硝基咪唑类、大环内酯类、 β -内酰胺类等。近年来随着广泛使用抗生素治疗幽门螺杆菌,其耐药率亦呈逐渐上升趋势。高耐药率给患者造成了巨大的经济负担,研究幽门螺旋杆菌基因多态性与药物耐受性的关系,开发快速有效的幽门螺杆菌耐药基因多态性检测技术,建立个体化给药治疗方法具有重要意义。

创新盘点

本文根据国内外最新资料,列出了幽门螺杆菌对其耐药的5类抗生素,分别在分子水平上综述了相应耐药机制的产生和部分耐药株的检测方法。

甲硝唑的有效成分硝基咪唑是药物前提,须经*H pylori*的氧不敏感的NADPH硝基还原酶还原成亚硝基衍生物后方可发挥杀菌作用。此亚硝基衍生物可引起菌体的DNA损伤,最终导致细菌死亡。*H pylori*对硝基咪唑耐药性的产生,主要就是由于细菌还原硝基的能力下降,无法使硝基咪唑还原成足够的具有杀菌活性的亚硝基衍生物:编码氧不敏感的NADPH硝基还原酶的*rdxA*基因突变失活是*H pylori*发生甲硝唑耐药的根本原因之一^[4]。1998年,Goodwin *et al*^[20]首次阐明*H pylori*对甲硝唑耐药是由于*rdxA*基因的突变失活。他分别观察了取自加拿大、立陶宛及秘鲁的*H pylori*耐药菌株,发现*rdxA*基因上的移码突变和错义突变导致了终止密码子出现,从而产生截短蛋白。Tankovic *et al*^[21]研究了法国与北非*H pylori*菌株中*rdxA*基因突变与甲硝唑耐药的相关性,发现同一患者感染的耐药株与敏感株,其遗传学特征非常相似,而不同患者间耐药株与敏感株的基因型都很不同,这就表明*H pylori*对甲硝唑的耐药是由于基因的突变引起,而不是其他菌株的混合感染。Kwon *et al*^[22]研究表明*H pylori*的甲硝唑耐药性还与*fixA*基因有关。他认为*rdxA*突变失活可导致细菌产生耐药,但*fixA*突变不能单独引起耐药,只能增强*H pylori*对甲硝唑的耐药性,提高其最低抑菌浓度(MIC)。Marais *et al*^[23]认为*H pylori*对甲硝唑耐药可能还存在其他机制,如:*rdxA*和*fixA*基因表达调控、膜转运及DNA修复在某种程度上也可能导致耐药。胡伟玲 *et al*^[24]发现甲硝唑和外膜的结合作用下降,可能会影响外膜对甲硝唑的渗透性,导致胞质中的甲硝唑浓度下降,从而出现耐药。

虽然对硝基咪唑类耐药的*H pylori*在世界各地的发生率都较高,但由于其耐药的分子机制可能存在很多原因,尚无法最终确定,因此还没有具体分子生物学方法直接检测对其耐药的*H pylori*。同时,又因为在甲硝唑敏感菌株中都有RdxA蛋白的表达,而在耐药株中却没有带蛋白的表达,所以,目前有人采用免疫印迹法检测该蛋白来间接确定*H pylori*是否对甲硝唑敏感。Latham *et al*^[25]将*rdxA*基因克隆到载体质粒Pmal-c2上后诱导表达,用亲和层析法得到净化的融合蛋白,并用他免疫兔子得到抗RdxA抗体,用免疫印迹法检测17株甲硝唑敏感菌株,均可得到一个相应RdxA蛋白的免疫复合物,而在27株耐药菌中有25株该免疫复合物缺失。

3 对β-内酰胺类物的耐药性

β-内酰胺类药物中常用于抗*H pylori*的是阿莫西林,在体内其抗菌活性不易受胃酸影响,可口服。尽管过去20多年中阿莫西林广泛应用于抗菌治疗,但*H pylori*对阿莫西林耐药是最近才发现的,世界各地报道的耐药率都较低,故阿莫西林仍然是抗*H pylori*的强效药物。Murakami *et al*^[26]研究表明,*H pylori*对阿莫西林继发性耐药的发生率低,初次治疗失败后仍然敏感,并且在联合治疗时能降低克拉霉素继发性耐药的发生率。

*H pylori*对阿莫西林耐药状况主要有以下几个特点:(1)不同国家和地区报道的耐药率不同,虽然方法和判断标准不一致,但仍显示了发达国家比发展中国家明显的趋势;(2)在不同性别、种族、年龄、疾病严重程度之间耐药率无明显差别;(3)用药时无明显的相关性,提示*H pylori*对阿莫西林继发性耐药的发生率低。

β-内酰胺类抗生素可专一性地与细菌内膜上的靶位点结合,抑制肽聚糖代谢的终末阶段,干扰细胞壁合成而导致细菌死亡。由于这些位点能与青霉素G共价结合,故称之为青霉素结合蛋白(PBPs)。Okamoto *et al*^[27]研究发现阿莫西林耐药菌株*H pylori* A116和*H pylori* O1的PBPs基因发生了多个位点突变,而敏感菌株则未发生,这说明PBP基因青霉素结合位点区的突变是引起阿莫西林耐药的原因。目前,在*H pylori*中已发现3种高分子量PBPs(PBP1、PBP2、PBP3)和6种中低分子量PBPs。Paul *et al*^[28]发现将PBP1突变基因转移到敏感株可引起中度耐药,而将PBP2突变基因转移到敏感株中却不会引起耐药,因此认为PBP1突变与阿莫西林耐药机制有关,但单独PBP1突变不足以引起高水平耐药,可能还有其他基因突变参与。不过,Kwon *et al*^[29]却发现PBP1A羧基端的10个氨基酸突变以及细胞通透性改变可能是*H pylori*对阿莫西林中、高度耐药(MIC≥8 mg/L)的原因。之所以会产生这2种不同的观点是由于*H pylori*的阿莫西林耐药可能还与β-内酰胺酶的合成、细胞膜对药物通透性的改变以及PBPs的结构或数量异常等原因有关。总之,目前关于*H pylori*对阿莫西林耐药机制的研究结果中,较为肯定的是PBP1基因突变使PBP1蛋白对阿莫西林的亲和力下降,但是具体的突变位点以及是否存在其他机制尚待于进一步研究。

4 对四环素类药物的耐药性

四环素是一类治疗*H pylori*感染的比较价廉有

效的药物, 在欧美, 四环素类药物一般广泛应用于“三联疗法”(阿莫西林或甲硝唑+克拉霉素+质子泵抑制剂)失败后的2次补救治疗(四环素+甲硝唑+柠檬酸铋+质子泵抑制剂)中, 效果比较显著。但近10年*H pylori*对四环素的耐药率也逐渐上升(但大多在5%左右)。1996年, 澳大利亚的Midolo和同事首次发现了*H pylori*四环素耐药菌株^[30], 而1997年意大利*H pylori*的四环素耐药率已达到6%^[31]。2000年巴西的耐药率为7%^[32]。由于我国使用四环素类药物进行抗菌治疗的时间较长, 所以*H pylori*的耐药率明显高于其他国家, 已达到58.8%, MIC值小于16 mg/L^[33]。

一般认为*H pylori*对四环素产生耐药主要是由于编码16S rRNA基因上的四环素结合位点发生突变造成的。16S rRNA是30S核糖体亚单位的1个组成元件, 四环素与其结合就会干扰氨酰tRNA进入核糖体的A位点, 进而抑制蛋白的合成, 起到杀菌作用。一旦16S rRNA发生突变, 就会使四环素的杀菌作用降低甚至丧失^[34]。近来研究人员利用X射线衍射技术分析了四环素结合的30S核糖体亚基, 显示存在1个主要结合位点和至少5个次要结合位点^[35]。另外, *H pylori*对四环素耐药率的高低与16S rRNA的碱基突变数量有关。Gerrits *et al*^[36]报道*H pylori* 16S rDNA上的三碱基突变AGA-TTC(926-928)会引起高水平的四环素耐药性, 而单个或两个碱基的突变则只会引起中低水平的耐药性。Lawson *et al*^[37]利用Real-time PCR检测英格兰和威尔士的四环素耐药菌株也发现相同的结果。不过, 从世界范围看, *H pylori*对四环素的耐药率很低, 现在对其耐药机制的研究相对较少, 很难形成具体方法对其耐药性做出明确的判断。

5 对喹诺酮类药物的耐药性

随着临床抗菌药应用种类的日益广泛, *H pylori*耐药谱亦在不断改变, 如喹诺酮类药物的耐药。喹诺酮类药物中的代表是环丙沙星, 其耐药率约为10%。原发性喹诺酮类药物耐药很少见, 低于1.0%, 然而获得性耐药多见, 有70%-100%的菌株迅速产生耐药性, 该类药物存在交叉耐药性^[38]。Boyanova *et al*^[39]曾报道保加利亚的索非亚地区*H pylori*的环丙沙星耐药率为3.9%, 甲硝唑与环丙沙星的交叉耐药率为2.3%。Fujimura *et al*^[40]从55名感染*H pylori*的日本儿童胃部分离得到耐药菌株并对其进行研究, 发现其中3株(5.5%)对环丙沙星耐药, 且其中1株同时对克拉

霉素耐药。

喹诺酮类主要抑制DNA旋转酶和拓扑异构酶Ⅳ而产生抗菌活性。DNA旋转酶使超螺旋的DNA松弛, 并将负超螺旋引入DNA, 使细菌的染色体保持在负超螺旋状态。此外, 该酶参与了DNA复制、重组和转录过程^[41]。DNA旋转酶由*gyrA*基因编码的2个A亚单位和*gyrB*编码的2个B亚单位组成。作为细胞复制所必需的酶, DNA旋转酶很明显是抗生素的靶酶。*H pylori*对喹诺酮类的耐药主要与其靶酶DNA旋转酶的改变有关^[29,42]。Moore *et al*^[43]和Nishizawa *et al*^[44]对*gyrA*基因进行克隆和测序发现, 在11个环丙沙星耐药的突变株中, 有10个分别存在以下4种类型的突变: Asn87-Lys; Ala88-Val; Asp91-Gly/Asn/Tyr和第91和97位的双重取代: Ala-Val。最常见的是第91位的改变^[45]。使用耐药菌株的*gyrA*基因的扩增片断作为供体DNA, 可使敏感菌株产生对环丙沙星的耐药性。总之, *H pylori*对喹诺酮的耐药主要是由于*gyrA*基因的改变^[46-48]。

总之, 现有的国内外研究表明, 虽然目前对*H pylori*耐药性的研究取得了一定进展, 但仍存在许多问题, 如对耐药机制的观点不一致等。因此今后的研究方向, 将是扩大临床菌株研究的数量, 以证实现有研究中关于分子基础与耐药性之间的联系。同时, 建立快速、准确、特异的分子检测方法和研制新的对*H pylori*有效的抗菌药, 为临床与*H pylori*相关性疾病的诊断、治疗提供依据和积累资料。

6 参考文献

- 1 Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984; 1: 1311-1315
- 2 An international association between *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer. The EUROGAST Study Group. *Lancet* 1993; 341: 1359-1362
- 3 Qian J, Chen P, Wu L. Evaluation of the effect of the three antimicrobial therapies on eradication of *Helicobacter pylori*. *World J Gastroenterol* 1998; 4 (Suppl 2): tk70
- 4 张燕捷, 吴叔明. 幽门螺杆菌耐药性的研究现状. 上海第二医科大学学报 2005; 25: 93-96
- 5 McMahon BJ, Hennessy TW, Bensler JM, Bruden DL, Parkinson AJ, Morris JM, Reasonover AL, Hurlburt DA, Bruce MG, Sacco F, Butler JC. The relationship among previous antimicrobial use, antimicrobial resistance, and treatment outcomes for *Helicobacter pylori* infections. *Ann Intern Med* 2003; 139: 463-469
- 6 Masuda H, Hiyama T, Yoshihara M, Tanaka S, Haruma K, Chayama K. Characteristics and trends of clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori* isolates in Japan over a decade. *Pathobiology* 2004;

应用要点

本文对幽门螺杆菌的耐药现状与趋势进行分析, 系统地综述了大环内酯类药物、硝基咪唑类药物、四环素类、β-内酰胺类药物、喹诺酮类药物对幽门螺杆菌的耐药情况, 探讨对于每种药物的耐药机制及耐药类型检测的不同手段, 为与幽门螺杆菌导致的相关疾病的临床诊断、治疗提供可靠的依据, 积累临床资料。

名词解释

聚合酶链式反应-限制性片段长度多态性图谱分析(PCR-RFLP)法: 采用聚合酶链式反应(PCR)扩增目的DNA片段, 然后将待检测的DNA片段用限制性内切酶酶切, 限制性内切酶识别并切割特异的序列, 然后将酶切后的产物进行电泳, 再由限制酶图谱(restriction map)分析此段序列的特异切位点, 即由片段的多样性 α 比对不同来源基因序列的差异性。

- 71: 159-163
- 7 Meyer JM, Silliman NP, Wang W, Siepmann NY, Sugg JE, Morris D, Zhang J, Bhattacharyya H, King EC, Hopkins RJ. Risk factors for *Helicobacter pylori* resistance in the United States: the surveillance of *H. pylori* antimicrobial resistance partnership (SHARP) study, 1993-1999. *Ann Intern Med* 2002; 136: 13-24
- 8 吴叔明, 张燕捷. 功能性消化不良和十二指肠溃疡患者的幽门螺杆菌根除治疗及耐药性研究. *中华医学杂志* 2002; 82: 51-52
- 9 黄德强, 吕农华. 幽门螺杆菌耐药机制的研究进展. *中国实用内科学杂志* 2004; 24: 54-55
- 10 van Doorn LJ, Glupczynski Y, Kusters JG, Megraud F, Midolo P, Maggi-Solca N, Queiroz DM, Nouhan N, Stet E, Quint WG. Accurate prediction of macrolide resistance in *Helicobacter pylori* by a PCR line probe assay for detection of mutations in the 23S rRNA gene: multicenter validation study. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 1500-1504
- 11 Piana A, Are BM, Maida I, Dore MP, Sotgiu G, Realdi G, Mura I. Genotypic characterization of clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori* strains. *New Microbiol* 2002; 25: 123-130
- 12 Fontana C, Favaro M, Minelli S, Criscuolo AA, Pietroiusti A, Galante A, Favalli C. New site of modification of 23S rRNA associated with clarithromycin resistance of *Helicobacter pylori* clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 3765-3769
- 13 Marais A, Monteiro L, Occhialini A, Pina M, Lamouliatte H, Megraud F. Direct detection of *Helicobacter pylori* resistance to macrolides by a polymerase chain reaction/DNA enzyme immunoassay in gastric biopsy specimens. *Gut* 1999; 44: 463-467
- 14 van Doorn LJ, Debets-Ossenkopp YJ, Marais A, Sanna R, Megraud F, Kusters JG, Quint WG. Rapid detection, by PCR and reverse hybridization, of mutations in the *Helicobacter pylori* 23S rRNA gene, associated with macrolide resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 1779-1782
- 15 Versalovic J, Shortridge D, Kibler K, Griffy MV, Beyer J, Flamm RK, Tanaka SK, Graham DY, Go MF. Mutations in 23S rRNA are associated with clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40: 477-480
- 16 Alarcon T, Vega AE, Domingo D, Martinez MJ, Lopez-Brea M. Clarithromycin resistance among *Helicobacter pylori* strains isolated from children: prevalence and study of mechanism of resistance by PCR-restriction fragment length polymorphism analysis. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 486-499
- 17 Oleastro M, Menard A, Santos A, Lamouliatte H, Monteiro L, Barthelemy P, Megraud F. Real-time PCR assay for rapid and accurate detection of point mutations conferring resistance to clarithromycin in *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 397-402
- 18 Lascols C, Lamarque D, Costa JM, Copie-Bergman C, Le Glaunec JM, Deforges L, Soussy CJ, Petit JC, Delchier JC, Tankovic J. Fast and accurate quantitative detection of *Helicobacter pylori* and identification of clarithromycin resistance mutations in *H. pylori* isolates from gastric biopsy specimens by real-time PCR. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 4573-4577
- 19 Gerrits MM, van der Wouden EJ, Bax DA, van Zwet AA, van Vliet AH, de Jong A, Kusters JG, Thijs JC, Kuipers EJ. Role of the *rdxA* and *frxA* genes in oxygen-dependent metronidazole resistance of *Helicobacter pylori*. *J Med Microbiol* 2004; 53: 1123-1128
- 20 Goodwin A, Kersulyte D, Sisson G, Veldhuyzen van Zanten SJ, Berg DE, Hoffman PS. Metronidazole resistance in *Helicobacter pylori* is due to null mutations in a gene (*rdxA*) that encodes an oxygen-insensitive NADPH nitroreductase. *Mol Microbiol* 1998; 28: 383-393
- 21 Tankovic J, Lamarque D, Delchier JC, Soussy CJ, Labigne A, Jenks PJ. Frequent association between alteration of the *rdxA* gene and metronidazole resistance in French and North African isolates of *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 608-613
- 22 Kwon DH, El-Zaatari FA, Kato M, Osato MS, Reddy R, Yamaoka Y, Graham DY. Analysis of *rdxA* and involvement of additional genes encoding NAD(P)H flavin oxidoreductase (*FrxA*) and ferredoxin-like protein (*FdxB*) in metronidazole resistance of *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 2133-2142
- 23 Marais A, Bilardi C, Cantet F, Mendz GL, Megraud F. Characterization of the genes *rdxA* and *frxA* involved in metronidazole resistance in *Helicobacter pylori*. *Res Microbiol* 2003; 154: 137-144
- 24 胡伟玲, 戴宁, 朱永良. 幽门螺杆菌外膜和甲硝唑的结合与耐药性的关系. *世界华人消化杂志* 2002; 10: 1054-1055
- 25 Latham SR, Owen RJ, Elviss NC, Labigne A, Jenks PJ. Differentiation of metronidazole-sensitive and -resistant clinical isolates of *Helicobacter pylori* by immunoblotting with antisera to the *RdxA* protein. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 3052-3055
- 26 Murakami K, Fujioka T, Okimoto T, Sato R, Kodama M, Nasu M. Drug combinations with amoxicillin reduce selection of clarithromycin resistance during *Helicobacter pylori* eradication therapy. *Int J Antimicrob Agents* 2002; 19: 67-70
- 27 Okamoto T, Yoshiyama H, Nakazawa T, Park ID, Chang MW, Yanai H, Okita K, Shirai M. A change in PBP1 is involved in amoxicillin resistance of clinical isolates of *Helicobacter pylori*. *J Antimicrob Chemother* 2002; 50: 849-856
- 28 Paul R, Postius S, Melchers K, Schafer KP. Mutations of the *Helicobacter pylori* genes *rdxA* and *pbp1* cause resistance against metronidazole and amoxicillin. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 962-965
- 29 Kwon DH, Dore MP, Kim JJ, Kato M, Lee M, Wu JY, Graham DY. High-level beta-lactam resistance associated with acquired multidrug resistance in *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 2169-2178
- 30 Midolo PD, Korman MG, Turnidge JD, Lambert JR. *Helicobacter pylori* resistance to tetracycline. *Lancet* 1996; 347: 1194-1195
- 31 Piccolomini R, Di Bonaventura G, Catamo G, Carbone F, Neri M. Comparative evaluation of the E test, agar dilution, and broth microdilution for testing susceptibilities of *Helicobacter pylori* strains to 20 antimicrobial agents. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 1842-1846
- 32 Mendonca S, Ecclissato C, Sartori MS, Godoy AP, Guersoni RA, Degger M, Pedrazzoli J Jr. Prevalence of *Helicobacter pylori* resistance to metronidazole, clarithromycin, amoxicillin, tetracycline, and

- furazolidone in Brazil. *Helicobacter* 2000; 5: 79-83
- 33 Wu H, Shi XD, Wang HT, Liu JX. Resistance of helicobacter pylori to metronidazole, tetracycline and amoxicillin. *J Antimicrob Chemother* 2000; 46: 121-123
- 34 Nonaka L, Connell SR, Taylor DE. 16S rRNA mutations that confer tetracycline resistance in *Helicobacter pylori* decrease drug binding in *Escherichia coli* ribosomes. *J Bacteriol* 2005; 187: 3708-3712
- 35 Brodersen DE, Clemons WM Jr, Carter AP, Morgan-Warren RJ, Wimberly BT, Ramakrishnan V. The structural basis for the action of the antibiotics tetracycline, pactamycin, and hygromycin B on the 30S ribosomal subunit. *Cell* 2000; 103: 1143-1154
- 36 Gerrits MM, Berning M, Van Vliet AH, Kuipers EJ, Kusters JG. Effects of 16S rRNA gene mutations on tetracycline resistance in *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 2984-2986
- 37 Lawson AJ, Elviss NC, Owen RJ. Real-time PCR detection and frequency of 16S rDNA mutations associated with resistance and reduced susceptibility to tetracycline in *Helicobacter pylori* from England and Wales. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56: 282-286
- 38 郭佳鹤, 王丽珠. 幽门螺杆菌耐药性研究进展. *中国综合临床* 2002; 18: 780-781
- 39 Boyanova L, Stancheva I, Spassova Z, Katzarov N, Mitov I, Koumanova R. Primary and combined resistance to four antimicrobial agents in *Helicobacter pylori* in Sofia, Bulgaria. *J Med Microbiol* 2000; 49: 415-418
- 40 Fujimura S, Kato S, Iinuma K, Watanabe A. In vitro activity of fluoroquinolone and the gyrA gene mutation in *Helicobacter pylori* strains isolated from children. *J Med Microbiol* 2004; 53: 1019-1022
- 41 Glocker E, Kist M. Rapid detection of point mutations in the gyrA gene of *Helicobacter pylori* conferring resistance to ciprofloxacin by a fluorescence resonance energy transfer-based real-time PCR approach. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 2241-2246
- 42 Wang G, Wilson TJ, Jiang Q, Taylor DE. Spontaneous mutations that confer antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 727-733
- 43 Moore RA, Beckthold B, Wong S, Kureishi A, Bryan LE. Nucleotide sequence of the gyrA gene and characterization of ciprofloxacin-resistant mutants of *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 107-111
- 44 Nishizawa T, Suzuki H, Umezawa A, Muraoka H, Iwasaki E, Masaoka T, Kobayashi I, Hibi T. Rapid detection of point mutations conferring resistance to fluoroquinolone in gyrA of *Helicobacter pylori* by allele-specific PCR. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 303-305
- 45 Pasquali F, Rossi M, Manfreda G, Zanoni R. Complete nucleotide sequence of the gyrA gene of *Helicobacter pullorum* and identification of a point mutation leading to ciprofloxacin resistance in poultry isolates. *Int J Antimicrob Agents* 2007; 30: 222-228
- 46 Miyachi H, Miki I, Aoyama N, Shirasaka D, Matsumoto Y, Toyoda M, Mitani T, Morita Y, Tamura T, Kinoshita S, Okano Y, Kumagai S, Kasuga M. Primary levofloxacin resistance and gyrA/B mutations among *Helicobacter pylori* in Japan. *Helicobacter* 2006; 11: 243-249
- 47 Cattoir V, Nectoux J, Lascos C, Deforges L, Delchier JC, Megraud F, Soussy CJ, Cambau E. Update on fluoroquinolone resistance in *Helicobacter pylori*: new mutations leading to resistance and first description of a gyrA polymorphism associated with hypersusceptibility. *Int J Antimicrob Agents* 2007; 29: 389-396
- 48 Bogaerts P, Berhin C, Nizet H, Glupczynski Y. Prevalence and mechanisms of resistance to fluoroquinolones in *Helicobacter pylori* strains from patients living in Belgium. *Helicobacter* 2006; 11: 441-445

同行评价
本文列出了幽门螺杆菌对其耐药的5类抗生素, 分别在分子水平上综述了相应耐药机制的产生和部分耐药株的检测, 科学性较强, 有一定的临床参考价值 and 学术价值, 是一篇较好的文章。

编辑 何燕 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

中国学术期刊综合引证报告(2006)

本刊讯 根据《中国学术期刊综合评价数据库(CAJCED)》2005年6182种统计刊源析出的214万条中国期刊引文数据库及CNKI“中国期刊网”中心网站2005-01/12全文下载记录(1.5亿篇次)的大样本数据统计分析得到: 世界华人消化杂志[标准刊号: ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R; 类目名称: 医药科学\临床医学\呼吸及消化系统疾病(YK5.2.3)]总被引频次为2471, 影响因子为0.661, 5年影响因子为0.644, 即年指标为0.079, 他引总引比为0.73, 被引期刊数为491, 被引半衰期为4.6, 2005载文量为768, 基金论文比为0.44, Web即年下载率为0.6. [中国学术期刊(光盘版)电子杂志社; 中国科学文献计量评价研究中心].

NM-3含药血清对体外胃癌细胞株SGC-7901生长和VEGF及其受体KDR、Flt-1表达的影响

宋明全, 朱金水, 朱励, 张强, 李沁, 郭花, 张卫平

背景资料
NM-3这种特异性肿瘤血管抑制剂对胃癌的抑制作用, 是通过抑制肿瘤血管还是通过调节胃癌细胞的凋亡相关基因, 仍然有争议。

宋明全, 朱金水, 朱励, 张强, 郭花, 张卫平, 上海交通大学附属第六人民医院消化科 上海市 200233
李沁, 美国休斯顿大学药学院 美国休斯顿 77024
通讯作者: 朱金水, 200233, 上海市宜山路600号, 上海交通大学附属第六人民医院消化科. zhujs1803@hotmail.com
电话: 021-64369181-8970 传真: 021-64837019
收稿日期: 2007-06-04 修回日期: 2007-09-01

Effects of NM-3-containing serum on endothelial growth factor and its receptors KDR and Flt-1 in human gastric cancer SGC-7901 cell line

Ming-Quan Song, Jin-Shui Zhu, Li Zhu, Qiang Zhang, Qin Li, Hua Guo, Wei-Ping Zhang

Ming-Quan Song, Jin-Shui Zhu, Li Zhu, Qiang Zhang, Hua Guo, Wei-Ping Zhang, Department of Gastroenterology, Shanghai JiaoTong University Affiliated Shanghai Sixth People's Hospital, Shanghai 200233, China
Qin Li, Pharmacy College of Houston University, Houston, TX 77024, USA

Correspondence to: Jin-Shui Zhu, Department of Gastroenterology, Shanghai JiaoTong University Affiliated Sixth People's Hospital, Shanghai 200233, China. zhujs1803@hotmail.com
Received: 2007-06-04 Revised: 2007-09-01

Abstract

AIM: To study the inhibitory effect of anti-angiogenesis agent NM-3-containing serum on human gastric cancer SGC-7901 cell line.

METHODS: Human gastric cancer SGC-7901 cell line was cultured with high, medium and low doses of NM-3-containing serum, and two control groups were cultured with medium alone and medium with serum. Cell cycle distribution and apoptosis rate were determined by flow cytometry. After 72 hours incubation, mRNA for vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors, including KDR and Flt-1, was detected by reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR).

RESULTS: The apoptosis rate in the high- (25.20% \pm 0.86%, 43.62% \pm 3.53%, 54.35% \pm 5.42%)

and medium-dose (16.80% \pm 0.40%, 26.95% \pm 3.25%, 39.85% \pm 4.10%) groups was significantly increased compared with that in the two control groups were cultured with medium alone (5.34% \pm 0.28%, 6.91% \pm 1.06%; 6.87% \pm 1.24%) and medium with serum (5.66% \pm 0.72%, 8.90% \pm 0.86%, 8.06% \pm 0.78%) after 6, 24 and 72 hours culture. The apoptosis rate was increased with prolongation of incubation time and NM-3 dose. The apoptosis rate in the high-dose group was higher than in the medium and low dose groups ($P < 0.05$). After 72 hours in the high-dose group, the proportion of cells in G₀/G₁ phase was higher, and the number in S, G₂/M phase was lower than that in the medium- and low-dose groups. There were significant differences between the proportion of cells in G₀/G₁, S and G₂/M phase in the high- and medium-dose groups and the two control groups ($P < 0.01$). mRNA of VEGF and its receptors KDR and Flt-1 decreased in SGC-7901 cells in the high-, medium- and low-dose NM-3 groups after 72 hours. Compared with the two control groups, the high-dose group significantly inhibited mRNA transcription for VEGF and its receptors KDR and Flt-1 ($P < 0.01$), and the medium- and low-dose groups obviously inhibited mRNA transcription ($P < 0.05$).

CONCLUSION: NM-3-containing serum can inhibit vascular formation in gastric carcinoma, and can induce apoptosis of human gastric carcinoma cells.

Key Words: Gastric cancer; Tumor cell lines; NM-3; Vascular endothelial growth factor; KDR; Flt-1; Reverse-transcriptase polymerase chain reaction

Song MQ, Zhu JS, Zhu L, Zhang Q, Li Q, Guo H, Zhang WP. Effects of NM-3-containing serum on endothelial growth factor and its receptors KDR and Flt-1 in human gastric cancer SGC-7901 cell line. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15(25): 2704-2708

摘要

目的: 探讨NM-3含药血清对胃癌SGC-7901细胞的抑制作用。

方法: 将SGC-7901胃癌细胞分成空白对照组、血清对照组、NM-3含药血清低、中、高剂量实验组共5组. 在不同时间段以流式细胞仪检测细胞的凋亡率, 分析细胞周期分布; 应用逆转录聚合酶链式反应(RT-PCR)法检测各组胃癌细胞中VEGF及其受体KDR, Flt-1 mRNA的表达.

结果: NM-3含药血清3组随着时间的延长凋亡率增高, 呈时间剂量依赖性, 其高、中剂量组在6 h($16.80\% \pm 0.40\%$, $25.20\% \pm 0.86\%$)、24 h($26.95\% \pm 3.25\%$, $43.62\% \pm 3.53\%$)、72 h($39.85\% \pm 4.10\%$, $54.35\% \pm 5.42\%$)内的细胞早期凋亡率与空白, 血清两个对照组相比有显著性差异($5.34\% \pm 0.28\%$, $5.66\% \pm 0.72\%$; $6.91\% \pm 1.06\%$, $8.90\% \pm 0.86\%$; $6.87\% \pm 1.24\%$, $8.06\% \pm 0.78\%$; $P < 0.01$). 随着NM-3药物剂量的增加, G_0/G_1 期细胞增多, 而S期及 G_2/M 期细胞则相应减少. 细胞培养72 h后, NM-3含药血清高、中、低剂量组与两对照组比较可显著抑制VEGF及其受体KDR, Flt-1 mRNA的表达($P < 0.05$). 在72 h后细胞凋亡率, 细胞周期以及胃癌细胞中VEGF及其受体KDR, Flt-1 mRNA的表达上, 高剂量组与中低剂量组均有明显差异($P < 0.05$).

结论: NM-3含药血清可抑制胃癌组织的血管生长, 并可诱导胃癌细胞凋亡.

关键词: 胃癌; 癌细胞株; NM-3; 血管内皮生长因子; KDR; Flt-1; 逆转录聚合酶链式反应

宋明全, 朱金水, 朱励, 张强, 李沁, 郭花, 张卫平. NM-3含药血清对体外胃癌细胞株SGC-7901生长和VEGF及其受体KDR、Flt-1表达的影响. 世界华人消化杂志 2007;15(25):2704-2708 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2704.asp>

0 引言

肿瘤的生长和转移与肿瘤内血管的形成有极为密切的关系, 肿瘤内血管不仅为肿瘤的生长提供了必需的营养成分, 还可为肿瘤细胞进入循环系统导致远处转移提供通道^[1-4]. NM-3是一种新型的香豆素合成衍生物, 其全称2-[(8-羟基-6甲氧基-1-氧-1-氢-2-苯并吡喃-3-炔基)]丙酸, 可显著加强放疗对肿瘤新生血管的抑制作用, 选择性的抑制肿瘤血管内皮细胞的分化增殖, 延迟肿瘤生长^[5-6]. 本实验室曾研究发现在人胃癌裸鼠模型中, NM-3对裸鼠内人胃癌具有明显的抗肿瘤疗效, 但是NM-3对胃癌的抑制作用是通过抑制肿瘤血管还是通过调节胃癌细胞的凋亡相关基因仍然存在争论^[7]. 本试验通过NM-3含药血清对体外人胃癌细胞SGC-7901的作用,

进一步探讨NM-3抑制肿瘤细胞的作用机制.

1 材料和方法

1.1 材料 RPMI 1640培养基、小牛血清、胰蛋白酶(Gibico公司); MTT、DMSO(Sigma公司); ANNEXIN V试剂盒(Beckman Coulter公司); NM-3由纽约州立大学美国国家肿瘤研究中心Robert教授提供, 2.5 g/瓶的粉剂, 生理盐水溶解. 人胃腺癌细胞系SGC-7901(中科院上海细胞生物研究所). 仪器设备: 流式细胞仪: COULTER EPICS XL(Becton Coulter公司产品), 汞激光激发波长为488 nm, 运用CellQuest软件收集分析数据; 恒温CO₂培养箱(Sheldon公司); 倒置显微镜(重庆光学仪器厂), 离心机(Eppendorf公司). Fisher344近交系 δ 大鼠40只, 中科院上海实验动物中心提供, 清洁级, SYXK010号, 体质量120-140 g.

1.2 方法

1.2.1 NM-3含药血清的制备 近交系大鼠40只, 随机分为4组. 给药组分别按NM-3低剂量10 mg/kg、中剂量20 mg/kg、高剂量30 mg/kg ip, 对照组给予相同体积的生理盐水, 每日1次, 连用1 wk, 末次用药后1 h, 在无菌条件下, 自腹主动脉采血8 mL/只, 1700 r/min离心制备含药血清; 将所采各组动物血清分别混合, -70℃冷藏备用, 临用前需56℃灭活备用.

1.2.2 人胃癌细胞培养 复苏SGC-7901细胞株, 用含100 mL/L FBS的RPMI 1640培养液, 置于37℃, 50 mL/L CO₂培养箱中培养48-72 h, 每24 h换培养液1次. 待培养瓶底铺满胃癌细胞后, 弃去培养液, 用2.5 g/L胰酶消化胃癌细胞, 含100 mL/L FBS的RPMI 1640培养液3 min配成浓度为 $2 \times 10^6/L$ 接种于3 cm \times 6 cm的培养瓶中. 设空白对照组、血清对照组、NM-3含药血清低剂量、中剂量、高剂量实验组共5组. 空白对照组给予常规培养液; 血清对照组给予常规培养液的同时加用正常生理盐水腹腔注射后所制备的大鼠血清; 低剂量组给予常规培养液的同时加用低剂量10 mg/kg NM-3 ip大鼠组的含药血清; 中剂量组给予常规培养液的同时加用中剂量20 mg/kg NM-3 ip大鼠组的含药血清; 高剂量组给予常规培养液的同时加用高剂量30 mg/kg NM-3 ip大鼠组的含药血清. 所加血清均为细胞培养液总体积的10%. 药物作用24 h后的细胞予以换液, 以恒定药物浓度. 共同培养2代后, 以倒置显微镜观察各组胃癌细胞株的细胞学形态变化及倍增指数, 用流式细胞仪检测细胞生长周期变化.

研发前沿
VEGF是目前所知最强的直接作用于血管内皮细胞的促血管形成因子, 胃癌中VEGF过表达与淋巴结转移和预后显著相关, 生物靶向治疗时代的到来, 使目前寻找诸如NM-3靶向作用强的抗血管生成药物成为新的热点和研究方向.

创新盘点

NM-3含药血清避免了在体外实验中药物直接与细胞作用的各种干扰因素,接近药物在体内环境中产生药理效应的真实过程。本研究成功制备了NM-3含药血清,并诱导了人胃癌细胞SGC-7901凋亡。

表 1 VEGF, KDR, Flt-1引物序列

	正向引物	反向引物
VEGF	5'-AATGCTTTCTCCGCTCTG-3'	5'-TTGCTGCTCTACCTCCAC-3'
KDR	5'-ACGCTGACATGTACGGTCTAT-3'	5'-GCCAAGCTTGTACCATGTGAG-3'
Flt-1	5'-GTCACAGAAGAGGATGAAGGTGTCTA-3'	5'-CACAGTCCGGCAGCTAGGTGATT-3'
β -actin	5'-ATCGTGGGGCGCCCCAGGCAC-3'	5'-CTCCTTAATGTCACGCACGATTTC-3'

由于Annexin V能特异地与细胞膜上凋亡早期的标志物磷脂酰丝氨酸(Phosphatidylserine, PS)结合,因此其与异硫氰酸荧光素(Fluorescein Isothiocyanate, FITC)连结后能使凋亡细胞的膜特异地染上绿色。在细胞凋亡晚期或死亡时,其膜的完整性开始受到破坏,此时,碘化丙啶(Propidium Iodide, PI)就可进入细胞与染色体结合,使核呈红色。胃癌SGC-7901细胞在培养过程中也发生少量的细胞凋亡现象,但以正常细胞为主,此类细胞Annexin V-FITC及PI均无染色。将NM-3含药血清作用6, 24, 72 h的胃癌SGC-7901细胞用流式细胞仪检测细胞凋亡,每个样品记数 3×10^6 个细胞。

1.2.3 胃癌细胞凋亡检测 将5组作用好的胃癌SGC-7901细胞用4℃ PBS液洗涤2次,用2.5 g/L的胰酶在37℃下充分消化至细胞成流沙状,加4℃ PBS液终止消化,离心5 min,去除上清,加入Buffer 100 mL,悬浮沉淀细胞。流式细胞仪检测,用Buffer液调整细胞浓度,控制细胞流量为500个/s。加入ANNEXIN V 3.5 μ g,置冰上孵育10 min,再加入PI 4 μ L,置冰上5 min染色。用流式细胞仪测定细胞周期及凋亡细胞率。

1.2.4 VEGF及其受体KDR, Flt-1的mRNA表达影响 胃癌细胞内总RNA的提取用TRIzol试剂盒(Gibico公司)一步提取法,按说明书进行操作。提取后的RNA经紫外线分光光度计和琼脂糖电泳进行完整性、纯度及浓度测定,溶于DEPC水中, -70℃冰箱保存备用。引物设计合成参照人VEGF, KDR, Flt-1的序列设计引物,由上海生工生物工程有限公司设计合成(表1)。RT-PCR: 取2 μ g RNA溶于DEPC处理的水中,加入Oligo dT 0.5 μ L后, 70℃ 5 min,取出迅速置冰上1 min,加入 2×10^8 U/L M-MLV逆转录酶1 μ L, 4×10^7 U/L Rnasin 0.5 μ L, 5×RT Buffer 5 μ L, 10 mmol/L dNTPs 1.5 μ L, 42℃ 60 min,合成cDNA第一链, 65℃ 5 min灭活逆转录酶。取cDNA 5 μ L, 10×PCR Buffer 12.5 μ L, 2 mmol/L, dNTPs 3 μ L, 正链和负链引物终浓度均为0.8 μ mol/L, 5 IU/L LA

Taq酶0.5 μ L, 补加水至25 μ L。VEGF反应条件为: 94℃ 1 min, 55℃ 1 min, 72℃ 2 min, 30个循环, 72℃延伸7 min; KDR, Flt-1反应条件为: 95℃ 2 min, 94℃ 1 min, 60℃ 1 min, 72℃ 2 min, 30个循环, 72℃延伸7 min。PCR产物经20 g/L琼脂糖凝胶电泳, EB染色后拍照,用全自动图像处理系统分析mRNA各条带的OPTDI(面积与平均光密度之乘积)与 β -actin的OPTDI的比值(A)作为其相对的表达量。

统计学处理 采用SPSS10.5统计软件统计分析。两组间差别显著性检验进行方差分析及t检验分析, $P < 0.05$ 为存在差异性, $P < 0.01$ 为差异性显著。

2 结果

2.1 NM-3含药血清对细胞形态学和细胞周期分布的影响 细胞形态学观察显示, SGC-7901细胞经低、中、高剂量NM-3含药血清处理后,细胞出现逐渐变小变圆,间隙增宽,细胞内颗粒增多,折光度下降等细胞凋亡的典型特征,培养72 h后未见细胞密度明显增加,大部分细胞仍贴壁生长,少部分漂浮于培养液中;而对照组处理后的细胞无明显上述改变。流式细胞仪测定结果显示: NM-3含药血清高剂量、中剂量组在6、24、72 h内的凋亡率与两个对照组相差异显著增高($P < 0.01$); NM-3含药血清低剂量组与两个对照组相比细胞凋亡率无明显差异($P > 0.05$); NM-3含药血清高剂量组与中低剂量组比较,细胞凋亡率有明显差别($P < 0.05$)。结果示NM-3含药血清随着时间的延长,剂量的增加诱导胃癌细胞凋亡率增高,呈时间剂量依赖性(表2)。胃癌细胞株SGC-7901在常规生长状态下大多数处于S期, G_0/G_1 期次之, G_2/M 期最少。检测结果表明,用药组与对照组相比,处于不同细胞周期的细胞所占比例有明显的差异,并且随剂量的增加有所变化(表3),与对照组相比较, NM-3高、中剂量组 G_0/G_1 期细胞比例显著增加($P < 0.01$);高剂量组与中低剂量组之间也存在明显差异($P < 0.05$)。随

表 2 各组SGC-7901细胞的凋亡率(mean ± SD, %)

时间(h)	重复次数	空白对照	血清对照	低剂量	中剂量	高剂量
6	3	5.34 ± 0.28	5.66 ± 0.72	9.28 ± 0.60	16.80 ± 0.4 ^{ab}	25.20 ± 0.86 ^b
24	3	6.91 ± 1.06	8.90 ± 0.86	14.80 ± 0.41	26.95 ± 3.25 ^{ab}	43.62 ± 3.53 ^b
72	3	6.87 ± 1.24	8.06 ± 0.78	26.50 ± 4.03 ^a	39.85 ± 4.10 ^{ab}	54.35 ± 5.42 ^b

^a*P* < 0.05 vs 高剂量组; ^b*P* < 0.01 vs 两对照组。

着NM-3药物剂量的增加, G₀/G₁期细胞增多, 而S期及G₂/M期细胞则相应减少。结果表明NM-高中剂量有显著诱导SGC-7901细胞凋亡的作用。

2.2 NM-3含药血清对VEGF及其受体KDR, Flt-1 mRNA表达的影响 检测结果表明, 胃癌细胞培养过程中均可见VEGF及其受体KDR、Flt-1的表达, 在细胞培养72 h后, 与两组对照组相比, NM-3含药血清组胃癌细胞中的VEGF、KDR、Flt-1 mRNA的表达相对减弱。高剂量组与两对照组有显著差异(*P* < 0.01), 中低剂量组与两对照组有明显差异(*P* < 0.05); 并且随着剂量的增加VEGF及其受体KDR、Flt-1 mRNA的表达逐渐减少; 高剂量组与中低剂量组也有明显差异(*P* < 0.05)(表4)。

3 讨论

作为致死率较高的恶性肿瘤, 胃癌的早期患者仅占就诊患者的10%左右; 而无法行手术切除的晚期胃癌却占12.9%-32.1%。因此化疗成为中晚期胃癌患者的主要治疗手段。然而大剂量、全身静脉化疗存在选择性低, 毒副作用大等不良反应, 寻找一种治疗晚期胃癌的新方案具有重要的临床意义^[1]。2-(8-羟基-6甲氧基-1-氧-1-氢-2-苯并吡喃-3-炔基)丙酸(NM-3)是一种合成的新型异构香豆素衍生物, 是近年研究的一种肿瘤血管抑制剂。该药物能调整肿瘤血管生长促进因子和抑制因子的平衡, 选择性的抑制肿瘤血管内皮细胞的分化增殖, 从而有效地抑制肿瘤生长、转移和复发, 是肿瘤防治的又一条新途径^[2-4]。针对乳腺癌, 肺癌等化疗方案中, 用NM-3分别联合小剂量5-FU, 紫杉醇和CPA, 发现能有效抑制实体肿瘤生长, 甚至使肿瘤消失。NM-3联合小剂量卡铂腹腔化疗, 发现能明显提高卡铂对胃癌生长的抑制作用, 同时减少化疗药物的剂量, 从而降低毒副作用^[5-7]。

VEGF是肿瘤细胞系中的一种生长因子, 他特异性的作用于血管内皮细胞, 促进血管内皮细胞增殖。VEGF是胃癌发生发展过程中促进血

表 3 各组SGC-7901细胞培养72 h后在不同细胞周期所占比例(mean ± SD)

分组	各细胞周期细胞比例(%)		
	G ₀ /G ₁ 期	S期	G ₂ /M
高剂量	73.2 ± 4.4 ^b	16.7 ± 4.8 ^b	5.1 ± 0.5 ^b
中剂量	61.1 ± 4.6 ^{ab}	27.6 ± 3.5 ^{ab}	9.6 ± 1.2 ^{ab}
低剂量	59.2 ± 4.6 ^a	38.3 ± 2.2	11.6 ± 0.1
血清对照	36.2 ± 5.6	46.7 ± 6.9	18.1 ± 3.7
空白对照	38.3 ± 7.3	42.5 ± 5.1	19.2 ± 3.1

^a*P* < 0.05 vs 高剂量组; ^b*P* < 0.01 vs 两对照组。

管增生和形成的最关键的因子之一, 在胃癌细胞中广泛表达, VEGF的高表达可以促进胃癌发生浸润、转移, 其表达与胃癌的发生发展及预后密切相关, 特别是VEGF-C和VEGF-D的表达更是胃癌细胞淋巴结转移的重要标志。VEGF有2种特异性的受体: KDR和Flt-1。VEGF与2种受体中的任何一个结合, 经酪氨酸激酶受体的信号系统首先活化内在的酪氨酸激酶, 然后受体胞质区上的酪氨酸残基通过分泌血管源性因子产生作用。最近研究显示胃癌细胞广泛存在KDR和Flt-1^[8-13]。本实验结果说明, NM-3含药血清能抑制胃癌组织中VEGF, KDR和Flt-1 mRNA的表达, 并且对胃癌组织中VEGF, KDR和Flt-1表达与用药时间和剂量呈正相关。

NM-3抗肿瘤虽然能间接地抑制肿瘤血管生长和形成, 但迄今为止的实验研究没有显示其有直接杀癌细胞的作用^[14-16]。NM-3对胃癌的作用是仅仅局限于抑制肿瘤微血管生成还是直接作用于调节胃癌细胞的凋亡, 在这一观点上仍然存在争论^[5-7]。

由于含药血清的血药浓度真实地反映了当时机体的血药浓度, 药物进入体内后, 不同药物剂量其在体内的吸收、分布、代谢、排泄不同, 血药浓度达峰时间亦不同, 起效时间亦不同。在其他条件一致的情况时, 主要与给药剂量有关, 在一定范围内, 动物给药剂量越多, 其

应用要点

NM-3能抑制胃癌血管生成因子受体的信号传导并诱导胃癌细胞凋亡, 在治疗胃癌的初步实验中显示良好的应用前景, 有望成为临床治疗胃癌的新药物。

名词解释

NM-3: 是一种新合成的异构香豆素小分子衍生物, 一种血管生成抑制剂。

同行评价

本文研究了NM-3含药血清对体外胃癌细胞株SGC-7901生长和血管内皮生长因子及其受体KDR、Flt-1表达的影响, 总体设计合理, 方法得当, 结果可靠, 有较好的实际指导意义。

表 4 NM-3含药血清培养72 h后对VEGF及其受体KDR, Flt-1 mRNA表达的影响($n = 30$, dmm², mean \pm SD)

分组	VEGF	KDR	Flt-1
高剂量	63.45 \pm 2.36 ^b	62.62 \pm 1.78 ^b	78.43 \pm 2.45 ^b
中剂量	85.26 \pm 2.12 ^{ac}	76.53 \pm 1.87 ^{ac}	114.34 \pm 2.67 ^{ac}
低剂量	89.23 \pm 2.32 ^{ac}	104.26 \pm 2.24 ^{ac}	159.86 \pm 3.24 ^{ac}
血清对照	139.24 \pm 3.65	148.46 \pm 2.56	236.23 \pm 3.54
空白对照	140.34 \pm 2.45	151.52 \pm 2.62	257.23 \pm 4.65

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 两对照组; ^c $P < 0.05$ vs 高剂量组。

吸收进入血循环的药物就越多, 血药浓度就高, 因而所取含药血清的体外药理效应就越强。本试验应用NM-3含药血清处理体外培养胃癌细胞SGC-7901, 发现NM-3能够在体外诱导胃癌SGC-7901细胞凋亡。NM-3和对照组相比较其凋亡率在统计学上具有显著性差异。同时检测NM-3含药血清对细胞周期分布的影响, 结果显示NM-3在诱导SGC-7901细胞凋亡的同时, 能够使细胞阻滞于G₀/G₁期, 进入S期、M期细胞比例降低, 从而证实NM-3含药血清可能通过诱导细胞凋亡、影响细胞周期进程来抑制细胞增殖。本实验室曾经直接应用不同浓度NM-3对体外培养胃癌细胞SGC-7901的实验, 发现NM-3没有明显的诱导细胞凋亡^[16]。与过去诸多直接应用NM-3细胞培养的实验认为该血管抑制剂仅能抑制肿瘤生长而没有直接杀伤癌细胞作用的结论相一致。本实验应用NM-3腹腔注射后使机体产生诱导胃癌细胞凋亡的血清, 因此我们认为NM-3除了对胃癌细胞新生血管内皮细胞特异性抑制作用外, 还可能通过对机体免疫系统的调节作用, 从而产生了其直接诱导胃癌细胞凋亡的效果, 为研究该药物的抗癌功效提出了新的研究思路。

4 参考文献

- Browder T, Butterfield CE, Kraling BM, Shi B, Marshall B, O'Reilly MS, Folkman J. Antiangiogenic scheduling of chemotherapy improves efficacy against experimental drug-resistant cancer. *Cancer Res* 2000; 60: 1878-1886
- Kerbel RS. Tumor angiogenesis: past, present and

- the near future. *Carcinogenesis* 2000; 21: 505-515
- Carmeliet P, Jain RK. Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature* 2000; 407: 249-257
- Hagedorn M, Bikfalvi A. Target molecules for anti-angiogenic therapy: from basic research to clinical trials. *Crit Rev Oncol Hematol* 2000; 34: 89-110
- Yin L, Ohno T, Weichselbaum R, Kharbanda S, Kufe D. The novel isocoumarin 2-(8-hydroxy-6-methoxy-1-oxo-1H-2-benzopyran-3-yl) propionic acid (NM-3) induces lethality of human carcinoma cells by generation of reactive oxygen species. *Mol Cancer Ther* 2001; 1: 43-48
- Salloum RM, Jaskowiak NT, Mauceri HJ, Seetharam S, Beckett MA, Koons AM, Hari DM, Gupta VK, Reimer C, Kalluri R, Posner MC, Hellman S, Kufe DW, Weichselbaum RR. NM-3, an isocoumarin, increases the antitumor effects of radiotherapy without toxicity. *Cancer Res* 2000; 60: 6958-6963
- Zhu JS, Shen B, Chen JL, Chen GQ, Yu XH, Yu HF, Zhu ZM. Molecule action mechanisms of NM-3 on human gastric cancer SGC-7901 cells in vivo or in vitro. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2366-2369
- Kaneko T, Konno H, Baba M, Tanaka T, Nakamura S. Urokinase-type plasminogen activator expression correlates with tumor angiogenesis and poor outcome in gastric cancer. *Cancer Sci* 2003; 94: 43-49
- Keyes KA, Mann L, Cox K, Treadway P, Iversen P, Chen YF, Teicher BA. Circulating angiogenic growth factor levels in mice bearing human tumors using Luminex Multiplex technology. *Cancer Chemother Pharmacol* 2003; 51: 321-327
- Ferrara N, Chen H, Davis-Smyth T, Gerber HP, Nguyen TN, Peers D, Chisholm V, Hillan KJ, Schwall RH. Vascular endothelial growth factor is essential for corpus luteum angiogenesis. *Nat Med* 1998; 4: 336-340
- Zhang H, Wu J, Meng L, Shou CC. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors KDR and Flt-1 in gastric cancer cells. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 994-998
- Li QM, Kan FJ, Min CY. Effect of Weikangning on gastric cancer cell growth and expression of vascular endothelial growth factor and its receptors KDR and Flt-1. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 938-942
- Takahashi Y, Cleary KR, Mai M, Kitadai Y, Bucana CD, Ellis LM. Significance of vessel count and vascular endothelial growth factor and its receptor (KDR) in intestinal-type gastric cancer. *Clin Cancer Res* 1996; 2: 1679-1684
- Kalluri R, Sukhatme VP. Fibrosis and angiogenesis. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2000; 9: 413-418
- Maeshima Y, Manfredi M, Reimer C, Holthaus KA, Hopfer H, Chandamuri BR, Kharbanda S, Kalluri R. Identification of the anti-angiogenic site within vascular basement membrane-derived tumstatin. *J Biol Chem* 2001; 276: 15240-15248
- 李沁, 朱金水. NM-3对体外胃癌细胞株SGC-7901的作用和机制探讨. *中国临床医学* 2006; 13: 77-79

编辑 程剑侠 电编 何基才

肝瘤口服液含药血清对人肝癌BEL-7402细胞系侵袭和转移的影响

郭昱, 郭霞, 韩俊岭, 姚树坤

郭昱, 河北医科大学第二医院 河北省石家庄市 050000
郭霞, 姚树坤, 河北医科大学第四医院 河北省石家庄市 050011
韩俊岭, 秦皇岛市人民医院 河北省秦皇岛市 066000
河北省自然科学基金资助, No. 303516
通讯作者: 姚树坤, 050011, 河北省石家庄市, 河北医科大学第四医院. yao.sk@hbmdu.edu
电话: 0311-87222951
收稿日期: 2007-03-13 修回日期: 2007-08-27

Effects of ganzheng solution on invasion and metastasis of human hepatocellular line BEL-7402 *in vitro*

Yu Guo, Xia Guo, Jun-Ling Han, Shu-Kun Yao

Yu Guo, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Xia Guo, Shu-Kun Yao, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei Province, China
Jun-Ling Han, People's Hospital of Qinhuangdao City, Qinhuangdao 066000, Hebei Province, China

Supported by: Natural Science Foundation of Hebei Province, No. 303516

Correspondence to: Shu-Kun Yao, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei Province, China. yao.sk@hbmdu.edu

Received: 2007-03-13 Revised: 2007-08-27

Abstract

AIM: To explore the effect and mechanism of serum containing ganzheng solution on invasion and metastasis of human hepatocellular line BEL-7402.

METHODS: Using a serum pharmacologic method, the human hepatocellular line BEL-7402 was cultured with serum from hepatocellular cancer (HCC) patients before and after taking ganzheng solution. Invasion and adhesion assays were conducted in a Boyden chamber, and cell migration and morphology observed. The protein expression of matrix metalloproteinase 2 (MMP2), tissue inhibitor of MMP2 (TIMP2), integrin β_1 , and E-cadherin (E-cd) of the human hepatocellular line BEL-7402 were determined by flow cytometry.

RESULTS: Serum containing ganzheng solution inhibited invasion (25.79 ± 2.31 vs 49.54 ± 4.32 , $P < 0.05$), adhesion (42.38 ± 3.19 vs 68.67 ± 5.36 , $P < 0.05$) and migration (34.72 ± 3.43 vs 54.16 ± 5.35 , $P < 0.05$) of hepatocellular BEL-7402 cells. As well, the expression of MMP2 and integrin β_1 was decreased (MMP2, 289.61 ± 25.32 vs 439.28 ± 22.45 ; and integrin β_1 , 286.05 ± 28.47 vs 389.57 ± 21.23 , both $P < 0.05$), and the expression of TIMP2 and E-cd was significantly increased (TIMP2, 348.75 ± 34.58 vs 250.53 ± 16.48 ; and E-cd, 385.57 ± 26.36 vs 230.72 ± 13.41 , both $P < 0.05$). The MMP2/TIMP2 ratio was significantly decreased (0.83 vs 1.76 , $P < 0.05$). Morphologically, cells treated with serum not containing ganzheng solution showed variously shaped pseudopods, while those treated with serum containing ganzheng solution stayed round with relatively fewer pseudopods.

CONCLUSION: Serum containing ganzheng solution inhibits the invasion and adhesion of the human hepatocellular line BEL-7402. This may be associated with decreases in the MMP2/TIMP2 ratio and the expression of integrin β_1 , and with increased expression of E-cd.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Invasion; Adhesion; Metastasis; Ganzheng solution; Medicinal serum; Flow cytometry

Guo Y, Guo X, Han JL, Yao SK. Effects of ganzheng solution on invasion and metastasis of human hepatocellular line BEL-7402 *in vitro*. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2007; 15(25): 2709-2713

摘要

目的: 探讨肝瘤口服液含药血清对人肝癌BEL-7402细胞系侵袭和转移的影响及其机制。

方法: 应用细胞培养技术培养人肝癌细胞株BEL-7402, 采用血清药理学的方法, 以原发性肝癌患者服用肝瘤口服液前后血清处理肝癌细胞, 通过Boyden小室模型测定其侵袭力和黏附力, 细胞迁移实验测定细胞运动能力, 同

背景资料

原发性肝癌是一种高侵袭性、高转移性肿瘤, 疗效欠佳。阻断肿瘤细胞的侵袭、转移是肿瘤治疗的重要途径。自研中药肝瘤口服液经临床和基础实验证实对肝癌癌前病变及癌变有明显的阻断作用, 表现为促进肝癌细胞凋亡, 抑制肝癌细胞增殖等, 是否能阻断肝癌细胞侵袭、转移尚缺乏研究。

相关报道

此前对肝瘤口服液进行了系列研究, 包括其对肝癌细胞增殖、凋亡、细胞周期、信号转导等广泛领域。崔刘福 *et al* 发现其药物血清可抑制肝癌细胞血管内皮生长因子的表达, 提示肝瘤口服液可能抑制肝癌细胞侵袭、转移, 但未对侵袭转移的影响做直接的观察。

时观察细胞形态, 流式细胞术测定肝癌细胞基质金属蛋白酶2(MMP2), 基质金属蛋白酶抑制剂2(TIMP2), 整合素 β_1 (integrin β_1)和上皮钙黏附素(E-cd)表达的改变。

结果: 肝瘤口服液含药血清能明显抑制肝癌细胞侵袭力(25.79 ± 2.31 *vs* 49.54 ± 4.32 , $P < 0.05$)、黏附力(42.38 ± 3.19 *vs* 68.67 ± 5.36 , $P < 0.05$)及运动能力(34.72 ± 3.43 *vs* 54.16 ± 5.35 , $P < 0.05$)。形态学观察发现, 服药后血清组细胞形态较圆, 伪足数目较少, MMP2阳性表达细胞减少(289.61 ± 25.32 *vs* 439.28 ± 22.45 , $P < 0.05$), TIMP2阳性表达细胞增多(348.75 ± 34.58 *vs* 250.53 ± 16.48 , $P < 0.05$), MMP2/TIMP2比值下降(0.83 *vs* 1.76 , $P < 0.05$); integrin β_1 表达减少(286.05 ± 28.47 *vs* 389.57 ± 21.23 , $P < 0.05$), E-cd的表达则增加(385.57 ± 26.36 *vs* 230.72 ± 13.41 , $P < 0.05$)。

结论: 肝瘤口服液含药血清能抑制肝癌BEL-7402细胞侵袭与转移, 其机制可能与直接抑制细胞迁移运动, 抑制细胞基质溶解相关基因蛋白MMP2表达, 促进TIMP2表达; 抑制黏附分子integrin β_1 的表达, 促进E-cd表达有关。

关键词: 肝细胞癌; 侵袭; 黏附; 肿瘤转移; 肝瘤口服液; 含药血清; 流式细胞术

郭昱, 郭霞, 韩俊岭, 姚树坤. 肝瘤口服液含药血清对人肝癌BEL-7402细胞系侵袭和转移的影响. 世界华人消化杂志 2007;15(25):2709-2713

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2709.asp>

0 引言

侵袭和转移是恶性肿瘤的显著特点, 转移是肿瘤治疗失败的主要原因。原发性肝癌(primary hepatocellular carcinoma, PHC)是一种高侵袭性、高转移性肿瘤, 疗效欠佳。阻断肿瘤细胞的侵袭、转移是肿瘤治疗的重要途径。自研中药肝瘤口服液经临床和基础实验证实对肝癌癌前病变及癌变有明显的阻断作用^[1-3]。本实验观察了肝瘤口服液含药血清对人肝癌细胞株BEL-7402侵袭和转移的影响, 并探讨其作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料 人肝癌BEL-7402细胞株由河北医科大学细胞室冻存; Matrigel基质为美国Becton Dickinson公司产品; Boyden小室为Coster公司产品; 抗金属蛋白酶2(MMP2)mAb及其兔抗组织抑制因子(TIMP2)多抗为北京中山生物技术有

限公司产品; 上皮钙黏附素(E-cd)、抗 β_1 -整合素(integrin β_1)mAb为Santa公司产品; 羊抗鼠FITC-IgG为北京中山生物技术有限公司产品。肝瘤口服液由半支莲、白花蛇舌草、三棱、莪术、黄芪等组成, 由河北医科大学第四医院制剂室经水煎、浓缩及醇沉制成。

1.2 方法

1.2.1 含药血清的制备 原发性肝癌(HCC)患者, 根据1999年第四届全国肝癌学术会议修订的HCC的诊断标准和临床分期标准, 选择II b期或III期, 但没有远处转移、肝功能Child-Pugh B级, 不能手术的并且无任何治疗干预的HCC患者。给予肝瘤口服液40 mL/d, 持续8 wk, 分别于服药前及服药8 wk末采集清晨空腹血10 mL, 分离血清, 0.22 μ m滤器过滤, -70℃低温冰箱冻存, 临用前用含50 g/L的FCS的RPMI 1640培养液稀释成10 g/L浓度。

1.2.2 细胞培养 人肝癌BEL-7402细胞株常规培养于含100 mL/L小牛血清, 100 U/L青霉素, 100 μ g/L链霉素的RPMI 1640培养液中, 在37℃, 50 mL/L CO₂培养箱内培养。实验分为2组: (1)服药前血清组: 加入HCC患者服药前血清100 μ L; (2)服药后血清组: 加入HCC患者服药后血清100 μ L。药物作用48 h, 收集细胞, 作以下检查, 每组设5个副孔。

1.2.3 Boyden小室法检测细胞体外侵袭力和运动能力 实验在Boyden小室中进行, 上下室之间置8 μ m微孔聚碳酸酯滤膜, 膜上铺Matrigel 25 μ L, 胶干后, 上室加预处理的细胞悬液0.5 mL(5×10^5 /室), 下室加入培养液200 μ L; 50 mL/L培养箱中培养24 h, 取出滤膜, 以湿棉签小心擦除滤膜上室面的细胞; 苏木素染色, 随机取5个视野, 显微镜200倍下计数侵袭至滤膜背面的细胞数, 取均值。细胞运动能力的检测方法与体外侵袭力的检测相同, 只是不在聚碳酸酯滤膜上铺Matrigel 25 μ L, 置于培养箱中12 h后取出。

1.2.4 黏附测定 96孔培养板覆以Matrigel 100 μ g/孔, 胶干后, 加入预处理的细胞悬液50 μ L(5×10^5 孔), 37℃摇床100 r/min, 作用30 min; 每孔加无血清RPMI 1640培养液150 μ L及MTT(1 g/L)50 μ L, 37℃继续作用4 h; 弃上清, 每孔加入DMSO原液100 μ L; 10 min后上酶标仪, 在490 nm单波长下测定A值。细胞黏附率 = (试验组A值/对照组A值) \times 100%。

1.2.5 形态学观察及MMP2, TIMP2, integrin β_1 和E-cd的测定 将对照组与处理组细胞置于倒置显

创新盘点

本文从抑制肝癌细胞侵袭、转移方面研究肝瘤口服液的作用机制, 视角新颖, 研究方法符合中药研究现代化的要求。

显微镜下观察. 取单细胞悬液 $1 \times 10^9/L$, 加入鼠抗人mAb工作液0.1 mL, 室温孵育30 min, 加入PBS 10 mL洗涤1次, 弃上清, 加入羊抗鼠FITC-IgG二抗工作液100 μ L, 避光室温孵育30 min, 加入PBS 10 mL, 500 r/min离心2 min, 弃上清以除去未结合的荧光二抗, 上机检测前加入PBS 0.1 mL经500目铜网过滤后上机检测. 采用美国Beckman Coulter公司生产的Epics-XL II流式细胞仪, 激发光源为15 mW氩离子激光器, 激发波长为488 nm, 应用Expo 32 ADC进行免疫荧光数据分析. 以均值表示蛋白含量.

统计学处理 全部数据用SPSS10.0软件包进行统计处理, 计量资料用mean \pm SD表示, 各组比较用 t 检验.

2 结果

2.1 肝瘤口服液含药血清对人肝癌细胞体外侵袭力及黏附力的影响 本研究引入Matrigel基质胶, 模拟体外侵袭与黏附模型中细胞外基质(ECM)的作用, 观察肝瘤口服液含药血清对肝癌细胞侵袭力、黏附力的影响, 可以看出服药后血清组肝癌细胞侵袭力、黏附力和迁移能力明显下降(表1).

2.2 肝瘤口服液含药血清对人肝癌细胞形态及MMP2, TIMP2, integrin β_1 和E-cd表达的影响 服药后组表现出纤维母细胞样形态, 伸出形态各异的伪足, 而服药前组细胞形态较圆, 伪足数目相对较少. 对照组MMP2、TIMP2表达分别为 439.28 ± 22.45 、 250.53 ± 16.48 , MMP2/TIMP2比值为1.76; 肝瘤口服液作用后MMP2表达降低, TIMP2表达增高, MMP2/TIMP2比值明显下降. 肝瘤口服液组细胞integrin β_1 表达较对照组降低, E-cd的表达则增加(表1).

3 讨论

肿瘤细胞的侵袭与转移是恶性肿瘤的基本特征之一, 尤其是在肿瘤发展的最后阶段, 控制转移是决定患者预后的关键因素. 目前认为恶性肿瘤的侵袭能力在其恶性转化的早期即可获得, 部分肿瘤随着病情进展, 其侵袭能力还有逐渐增强的趋势, 黏附和侵袭的过程增加了恶性肿瘤的增殖和转移能力. 如何阻断癌细胞的侵袭与转移, 实现带瘤生存是目前肿瘤治疗研究的热点之一, 已有研究表明某些中草药具有抑制肿瘤侵袭与转移的作用. 我们体外观察了肝瘤口服液含药血清对肝癌细胞侵袭、黏附及转移

表 1 肝瘤口服液含药血清对人肝癌细胞体外侵袭力, 黏附力, 迁移能力, MMP2, TIMP2, integrin β_1 和E-cd表达的影响(mean \pm SD)

	服药前血清	服药后血清
侵袭力	49.54 \pm 4.32	25.79 \pm 2.31 ^a
黏附力	68.67 \pm 5.36	42.38 \pm 3.19 ^a
迁移能力	54.16 \pm 5.35	34.72 \pm 3.43 ^a
MMP2	439.28 \pm 22.45	289.61 \pm 25.32 ^a
TIMP2	250.53 \pm 16.48	348.75 \pm 34.58 ^a
MMP2/TIMP2	1.76	0.83 ^a
integrin β_1	389.57 \pm 21.23	286.05 \pm 28.47 ^a
E-cd	230.72 \pm 13.41	385.57 \pm 26.36 ^a

^a $P < 0.05$ vs 服药前血清.

的影响, 发现他在抑制肝癌细胞黏附、侵袭、转移方面具有显著作用, 其机制可能与影响某些基质金属蛋白酶及黏附分子的表达有关.

癌的侵袭与转移是一个多因素、多步骤、多阶段的复杂过程^[4], 按Liotta *et al*^[5]提出的癌细胞侵袭、转移的3步假说, 从分子水平将这个过程分为黏附、降解和运动. 其中细胞外基质(ECM)的降解和基底膜的破坏是一个关键步骤, ECM是肿瘤侵袭和转移的天然屏障. 肿瘤细胞通过自身或诱导宿主细胞产生多种基质蛋白溶解酶, 如基质金属蛋白酶(MMP)、纤溶酶原激活物、胱氨酸蛋白酶等. 其中MMP家族是其中关键因素之一. 在肿瘤组织中, 肿瘤细胞和基质细胞均可表达并分泌MMP, 导致ECM的降解, 然而MMP的活性受其组织抑制因子(TIMP)调节, TIMP、MMP之间存在着动态平衡, 二者按1:1化学比形成非共价牢固结合, 从而抑制MMP活性, 使机体内的ECM的代谢更新处于动态平衡中^[6]. 一旦调节失控, MMP和TIMP的蛋白水解平衡向MMP转变, 就成为肿瘤细胞侵袭和转移的重要条件. MMP2、TIMP2是这两个家族中具有代表性的两个因子^[7]. 我们的研究表明肝瘤口服液能明显抑制人肝癌细胞的体外侵袭能力, 使MMP2表达下降, TIMP2表达上升, MMP2/TIMP2比值下降. 提示肝瘤口服液通过影响肝癌细胞基质降解相关蛋白MMP2和TIMP2表达及其MMP2/TIMP2比值, 而达到抑制癌细胞侵袭的作用.

恶性肿瘤细胞在侵袭和转移过程中, 与宿主组织成分发生多次黏附. 新近资料表明, 这一现象与细胞黏附分子的作用有密切关系^[8]. 其中引人注目的是钙黏附素、整合素家族成员. 钙

应用要点
肝瘤口服液经近20 a的临床验证和一系列基础研究表明对肝癌具有显著作用, 本研究结果加深了其作用及作用机制的认识, 为其进一步开发应用奠定了基础.

同行评价

本文研究了肝癌口服液含药血清对人肝癌BEL-7402细胞系侵袭和转移的影响,有一定的创新性,设计合理,采用的方法较简单,有一定的基础研究价值。

黏附素主要介导正常和肿瘤组织中细胞与细胞间的黏附^[9]。E-cd属钙黏附素超家族经典II族成员,依赖细胞外Ca²⁺介导同种亲和性的细胞与细胞间的黏附,在相邻细胞间形成钙黏附拉链,参与建立和维持细胞间连接,在同种细胞间起着相互联系、相互制约的作用。他的表达程度及功能活性直接影响着细胞的脱离和再附着^[10-11]。多数学者认为,如果E-cd介导的黏附功能受损或表达减少,肿瘤细胞连接松散,易脱落^[12-13]。许多癌组织中均出现E-cd的表达缺失或基因突变^[14]。某些恶性肿瘤导入E-cd基因后,能明显降低肿瘤细胞侵袭和转移的能力。integrin β_1 是由 α 、 β 亚单位通过二硫键形成的二聚体跨膜蛋白,可以同时与细胞基质成分及细胞骨架结合而形成配体-integrin β_1 -细胞骨架跨膜信息系统,介导肿瘤细胞的黏附和转移。Strobel *et al*^[15]的实验研究表明阻断卵巢癌integrin β_1 可以有效抑制肿瘤的腹膜播散。Fujita *et al*^[16]研究了包括肝癌在内的27种癌细胞系,结果表明全部细胞均不同程度的表达integrin β_1 。Reinmuth *et al*^[17]将integrin β_1 的抗体用于结肠癌肝转移鼠原位模型,发现能显著抑制结肠癌肝转移灶的形成,及转移灶的血管生成。褚忠华 *et al*^[18]研究表明肝癌多种黏附分子基因mRNA表达量与肿瘤大小、有无转移,结节数目有关, E-cd与肿瘤大小、有无转移,结节数目呈负相关, integrin β_1 与之呈正相关。我们的研究结果表明肝癌口服液具有抗肝癌细胞黏附的作用,同时发现含药血清组E-cd表达增多、integrin β_1 表达下降,认为肝癌口服液通过促进E-cd表达,抑制integrin β_1 表达而使癌细胞间连接紧密,避免了癌细胞从原发灶处的脱落、游离,达到抑制肿瘤侵袭转移的作用。这可能是其抑制肿瘤侵袭转移的机制之一。另外,有研究表明整合素可以调控基质金属蛋白酶的生成和活性。Brooks *et al*^[19]发现integrin β_1 与MMP2共同定位于血管生成细胞表面和黑色素瘤细胞的表面, MMP2直接连接于integrin β_1 上。在乳腺癌细胞中共同表达MMP1和integrin β_1 可明显加强MMP2的自动催化成熟。本研究显示服药前组具有高表达的integrin β_1 与MMP2,服药后组二者的表达均降低,表明二者具有协同作用,验证了上述结果。

肿瘤细胞的运动性在侵袭转移过程中的作用已被众多实验所证实,运动能力与侵袭之间的关系呈正相关^[20]。在肿瘤转移过程中的某些阶段,他表现出较强的运动能力。如肿瘤细胞从

原发瘤灶分离并侵入邻近组织以及再穿过血管壁进入血循环和穿出血管壁进入继发部位等。1979年Roos *et al*将瘤细胞接种到门静脉内,观察了瘤细胞在肝内侵袭过程的超微结构变化。他们观察到瘤细胞在肝内的侵袭过程有3个起始步骤: (1)瘤细胞伸出伪足,进入内皮细胞,内皮细胞形成一个小的隔离; (2)瘤细胞的伪足深入内皮细胞,使内皮细胞形成一个开口; (3)瘤细胞穿过内皮细胞又形成一个大的突起伪足,呈锯齿状与肝细胞接触,进而增殖形成小的瘤细胞灶。肿瘤细胞的运动能力与细胞形态尤其是伪足密切相关。本试验中服药前组肝癌细胞表现出纤维母细胞样形态,伪足数目不等;服药后组细胞形态较圆,伪足数目也较少,过河实验显示服药后组较服药前组运动能力明显下降,这可能是肝癌口服液抑制肝癌细胞转移的机制之一。

4 参考文献

- 1 姚树坤, 韩俊岭, 殷飞. 肝癌口服液对大鼠肝癌前病变的预防作用. 中国中西医结合脾胃杂志 2000; 8: 268-269
- 2 宋海澄, 王燕云, 姚树坤, 陆艳萍, 韩依轩, 舒荣, 崔刘福. 肝癌口服液含药血清对肝癌细胞SMMC-7721细胞增殖的影响. 中国中医基础医学杂志 2006; 12: 190-191
- 3 崔刘福, 王志文, 姚树坤, 刘志忠, 宋海澄. 肝癌口服液人含药血清对人肝癌细胞SMMC-7721细胞凋亡及细胞周期的影响. 四川中医 2004; 22: 9-11
- 4 Yokota J. Tumor progression and metastasis. *Carcinogenesis* 2000; 21: 497-503
- 5 Liotta LA. Tumor invasion and metastases--role of the extracellular matrix: Rhoads Memorial Award lecture. *Cancer Res* 1986; 46: 1-7
- 6 Zucker S, Cao J, Chen WT. Critical appraisal of the use of matrix metalloproteinase inhibitors in cancer treatment. *Oncogene* 2000; 19: 6642-6650
- 7 Fan YZ, Zhang JT, Yang HC, Yang YQ. Expression of MMP-2, TIMP-2 protein and the ratio of MMP-2/TIMP-2 in gallbladder carcinoma and their significance. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 1138-1143
- 8 Hazan RB, Qiao R, Keren R, Badano I, Suyama K. Cadherin switch in tumor progression. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1014: 155-163
- 9 Sun JJ, Zhou XD, Liu YK, Tang ZY, Feng JX, Zhou G, Xue Q, Chen J. Invasion and metastasis of liver cancer: expression of intercellular adhesion molecule 1. *J Cancer Res Clin Oncol* 1999; 125: 28-34
- 10 Garcia S, Martini F, De Micco C, Andrac L, Sappa P, Hardwigsen J, Lavaut MN, Le Treut YP, Charpin C. Prognostic value of E-cadherin expression in hepatocellular carcinoma. *Ann Pathol* 1998; 18: 98-102
- 11 Wu LQ, Lu Y, Lu HJ, Zhang B, Yang JY, Ma X. Prognostic value of E-cadherin, CD34 in the patients with hepatocellular carcinoma. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi* 2006; 44: 774-777
- 12 Qin LX, Tang ZY. Recent progress in predictive biomarkers for metastatic recurrence of human hepatocellular carcinoma: a review of the literature.

- J Cancer Res Clin Oncol* 2004; 130: 497-513
- 13 Kuefer R, Hofer MD, Zorn CS, Engel O, Volkmer BG, Juarez-Brito MA, Eggel M, Gschwend JE, Rubin MA, Day ML. Assessment of a fragment of e-cadherin as a serum biomarker with predictive value for prostate cancer. *Br J Cancer* 2005; 92: 2018-2023
- 14 Kuefer R, Hofer MD, Gschwend JE, Pienta KJ, Sanda MG, Chinnaiyan AM, Rubin MA, Day ML. The role of an 80 kDa fragment of E-cadherin in the metastatic progression of prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 6447-6452
- 15 Strobel T, Cannistra SA. Beta1-integrins partly mediate binding of ovarian cancer cells to peritoneal mesothelium in vitro. *Gynecol Oncol* 1999; 73: 362-367
- 16 Fujita K, Tsujimura A, Miyagawa Y, Kiuchi H, Matsuoka Y, Takao T, Takada S, Nonomura N, Okuyama A. Isolation of germ cells from leukemia and lymphoma cells in a human in vitro model: potential clinical application for restoring human fertility after anticancer therapy. *Cancer Res* 2006; 66: 11166-11171
- 17 Reinmuth N, Fan F, Liu W, Parikh AA, Stoeltzing O, Jung YD, Bucana CD, Radinsky R, Gallick GE, Ellis LM. Impact of insulin-like growth factor receptor-I function on angiogenesis, growth, and metastasis of colon cancer. *Lab Invest* 2002; 82: 1377-1389
- 18 褚忠华, 闵军, 凌云彪, 赵海燕, 刘建平, 区庆嘉. 多种粘附分子基因在原发性肝癌的表达及其临床意义. *中国病理生理杂志* 2004; 20: 1672-1676
- 19 Brooks PC, Stromblad S, Sanders LC, von Schalscha TL, Aimes RT, Stetler-Stevenson WG, Quigley JP, Cheresch DA. Localization of matrix metalloproteinase MMP-2 to the surface of invasive cells by interaction with integrin alpha v beta 3. *Cell* 1996; 85: 683-693
- 20 Bischof P, Meisser A, Campana A. Biochemistry and molecular biology of trophoblast invasion. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 943: 157-162

编辑 何燕 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

欢迎订阅 2008 年《世界华人消化杂志》

本刊讯 《世界华人消化杂志》为中国科技核心期刊、2003年百种中国杰出学术期刊、《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学类的核心期刊、中国科技论文统计源期刊,《世界华人消化杂志》发表的英文摘要被美国《化学文摘(Chemical Abstracts)》,荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica)》,俄罗斯《文摘杂志(Abstracts Journals)》收录。

《世界华人消化杂志》综合介绍以下内容: 消化基础研究、消化临床研究、消化内科、消化内镜、消化外科、消化肿瘤、消化介入治疗、消化护理、消化医学影像、消化病理、消化预防医学、消化误诊误治、消化中西医结合、消化检验、消化新技术应用、消化病诊断、消化病治疗、消化新药应用。

《世界华人消化杂志》2008年由北京报刊发行局发行,国际标准刊号 ISSN 1009-3079,国内统一刊号 CN 14-1260/R,邮发代号82-262,出版日期每月8, 18, 28日,月价72.00,年价864元。欢迎广大消化科医务工作者及科教人员、各大图书馆订阅。联系地址: 100023,北京市2345信箱。联系电话: 010-85381901-1020; 传真: 010-85381893; E-mail: wjcd@wjgnet.com; <http://www.wjgnet.com>。

多巴胺调控实验性梗阻性黄疸围手术期肾髓质水通道蛋白2表达

王勇, 陈卫民, 高林林, 刘金钢

背景资料
梗阻性黄疸是普通外科常见疾病, 肾功能损伤是其常见并发症。多年来对于临床危重症肾功能保护常规应用小剂量多巴胺, 取得了一定的临床效果。但近些年来针对其是否具有保护肾功能作用争议较大。水通道蛋白是近些年发现的哺乳动物水代谢的主要蛋白, 二者之间是否具有联系尚不清楚。

王勇, 陈卫民, 高林林, 中国医科大学盛京医院麻醉科 辽宁省沈阳市 110004
刘金钢, 中国医科大学盛京医院第二胆道微创外科 辽宁省沈阳市 110004
辽宁省教育厅基金资助项目, No. 2004D282
通讯作者: 刘金钢, 110004, 辽宁省沈阳市和平区三好街36号, 中国医科大学盛京医院第二胆道微创外科.
wangy54321@hotmail.com
电话: 024-25700868
收稿日期: 2007-04-19 修回日期: 2007-08-20

Dopamine modulates perioperative renal medulla aquaporin 2 expression in experimental obstructive jaundice

Yong Wang, Wei-Min Chen, Lin-Lin Gao, Jin-Gang Liu

Yong Wang, Wei-Min Chen, Lin-Lin Gao, Department of Anesthesiology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China
Jin-Gang Liu, Department of the Second Minimally Invasive Surgery and Biliary Surgery, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China
Supported by: the Educational Science Foundation of Liaoning Province, No. 2004D282
Correspondence to: Jin-Gang Liu, Department of the Second Minimally Invasive Surgery and Biliary Surgery, Shengjing Hospital of China Medical University, 36 Sanhao Street, Heping District, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. wangy54321@hotmail.com
Received: 2007-04-19 Revised: 2007-08-20

Abstract

AIM: To investigate the changes in aquaporin 2 expression after bile duct recanalization and the effects of low-dose dopamine on perioperative renal aquaporin 2 expression.

METHODS: Seventy wistar rats were randomly allocated to 4 groups. Sixty rats underwent common bile duct ligation, while the other 10 underwent sham operation. The common duct was ligated on a silicon tube of 2 mm external diameter. Seven days later, the experimental rats were randomly allocated into another 3 groups. Rats in the obstructive jaundice group were injected

with 9 g/L normal saline (NS), while those in the other 2 groups were injected with dopamine at 5 or 10 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{min})$, respectively. After 2 h treatment, half in each group were killed and the others were killed 24 h later. Serum was collected from each rat to assess hepatic and renal functions. The right renal medulla was separated and kept at -80°C until used to measure aquaporin 2 expressions by Western blotting.

RESULTS: In the early period of bile duct recanalization, serum bilirubin levels decreased. There were no significant changes in blood urine or creatine. Renal aquaporin 2 expression was detected by Western blotting. Aquaporin 2 expression in the experimental group treated with dopamine 5 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{min})$ was nearly the same as that in the normal group, both at 0 and 24 h ($16\,010 \pm 646$ and $22\,715 \pm 575$ vs $21\,966 \pm 1544$ and $21\,917 \pm 2661$), and better than the group treated with dopamine 10 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{min})$.

CONCLUSION: Low-dose dopamine injection appears to modulate expression of aquaporin 2 in the renal collective tubule epithelium, and to have a positive effect on perioperative renal function in obstructive jaundice.

Key Words: Dopamine; Obstructive jaundice; Aquaporin 2; Western blotting

Wang Y, Chen WM, Gao LL, Liu JG. Dopamine modulates perioperative renal medulla aquaporin 2 expression in experimental obstructive jaundice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15(25): 2714-2717

摘要

目的: 探讨梗阻性黄疸围手术期应用小剂量多巴胺对肾髓质水通道蛋白2(aquaporin 2)蛋白表达影响。

方法: δ Wistar大鼠70只随机分为4组, 分别为对照组($n = 10$)、梗阻性黄疸组($n = 20$)、多巴胺5 μg 组($n = 20$)和多巴胺10 μg 组($n = 20$)。梗阻性黄疸组及多巴胺组大鼠全身麻醉后建

立梗阻性黄疸动物模型; 对照组大鼠行假手术. 7 d后全麻下解除胆管梗阻, 对照组再次行假手术. 多巴胺组于胆管再通手术之前于股静脉套管针穿刺泵入多巴胺, 剂量分别为 $5 \mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{min})$ 和 $10 \mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{min})$; 而假手术组及梗阻性黄疸组大鼠泵入 9 g/L 生理盐水, 泵注持续2 h, 并将各组动物随机均分为立即取材组和24 h后取材组. 腔静脉血离心后收集血清冻存检测胆红素、肌酐和尿素氮; 分离肾脏髓质冻存, 免疫印迹法(Western blotting)法检测aquaporin 2的表达.

结果: 解除梗阻早期鼠血清胆红素水平下降. 血尿素氮及肌酐未见明显改变. 通过Western blotting对肾脏髓质aquaporin 2表达测定发现, 梗阻性黄疸组解除梗阻0 h取材组aquaporin 2表达较对照组明显下降($15\ 665 \pm 1181$ vs $21\ 966 \pm 1544$, $P < 0.01$), 而解除梗阻24 h后aquaporin 2表达出现明显上升($36\ 490 \pm 1822$ vs $21\ 917 \pm 2661$, $P < 0.01$). 多巴胺 $5 \mu\text{g}$ 组0与24 h aquaporin 2表达更接近CO组($16\ 010 \pm 646$, $22\ 715 \pm 575$ vs $21\ 966 \pm 1544$, $21\ 917 \pm 2661$); $10 \mu\text{g}$ 组各时间点aquaporin 2表达与梗黄组接近($13\ 581 \pm 1662$, $32\ 313 \pm 1453$ vs $15\ 665 \pm 1181$, $36\ 490 \pm 1822$), 未见多巴胺有明显调节aquaporin 2表达作用.

结论: 胆管梗阻损伤肾脏集合管上皮细胞结构并抑制水重吸收功能; 低浓度多巴胺可调控集合管水通道蛋白2表达.

关键词: 多巴胺; 梗阻性黄疸; 水通道蛋白2; 免疫印迹

王勇, 陈卫民, 高林林, 刘金钢. 多巴胺调控实验性梗阻性黄疸围手术期肾脏髓质水通道蛋白2表达. 世界华人消化杂志 2007;15(25):2714-2717
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2714.asp>

0 引言

梗阻性黄疸是胆道外科常见疾病, 其病情复杂, 而且全身各重要脏器损伤出现早、损伤重, 8%左右围手术期出现急性肾功能不全^[1]. 胆管梗阻时肾脏损伤多伴发较严重的肾集合管病变, 且围手术期这种损伤进一步加重, 对肾集合管结构和功能的研究有助于肾功能保护. 1991年Peter Agre发现水通道蛋白之后, 为分子水平研究肾损伤提供了条件^[2]. 水通道蛋白2(aquaporin2, aqp2)定位在集合管上皮主细胞顶质膜, 是肾集合管上皮结构蛋白. 近期针对药物、缺血性肾功能衰竭时水通道蛋白2变化的

研究屡见报道^[3]. 临床上广泛应用的药物多巴胺具有调节尿量的作用, 但其对肾水通道蛋白2表达的影响却未见相关报道. 本文旨在探讨梗阻性黄疸围手术期静脉泵入小剂量多巴胺对于大鼠肾aqp2蛋白表达的影响.

1 材料和方法

1.1 材料 δ Wistar大鼠70只, 体质量250-300 g, 由中国医科大学第二医院实验动物中心提供. 经隔离检疫7 d, 无疾病者入选. 鼠操作台, 消毒设备, 无菌手术器械, 0号无菌丝线, 0.9 mm 22 G套管针, 5 mL注射器(BD公司), 2 mm灭菌硅胶导管(ED公司), 环氧乙烷灭菌子弹头, 无菌纱布, 灭菌真空采血管(促凝管), 小儿外科缝合针, 美国Sigma 1-13台式离心机, ALIAS微量输液泵(Baxter公司), 液氮罐, -20和-80℃冰箱(Hitachi公司), 100 g/L水合氯醛, Penicillin注射液400万单位, 多巴胺注射液10 g/L, 灭菌生理盐水100 mL, aquaporin 2一抗: 兔抗aquaporin 2(武汉博士德公司, No. BA0649); 羊抗兔IgG二抗(美国Sigma公司, No. A3687).

1.2 方法 动物随机分为4组, 分别为假手术对照组(CO, $n = 10$), 体质量为 $271.4 \pm 17.9 \text{ g}$; 梗阻性黄疸盐水组(OJ, $n = 20$), 体质量为 $265.9 \pm 21.2 \text{ g}$; 梗阻性黄疸多巴胺 $5 \mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{min})$ 组(DP5, $n = 20$), 体质量为 $272.7 \pm 11.2 \text{ g}$. 梗阻性黄疸多巴胺 $10 \mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{min})$ 组(DP10, $n = 20$), 体质量为 $271.4 \pm 13.5 \text{ g}$.

1.2.1 动物模型的构建 im 100 g/L水合氯醛3 mL/kg麻醉大鼠, 麻醉成功后将鼠固定于工作台上. 剑突下1 cm备皮, 约2 cm长正中切口进腹, 锐性分开腹直肌进入腹腔. 暴露胆总管、用0号丝线用硅胶导管作为垫片将胆总管固定于导管上, 然后逐层关腹. 4 h后正常进饮食, 7 d后再次麻醉, 解除梗阻时, 仅需要在结扎部位切口, 找到导管、并切断丝线、取出导管即可. 手术之前, 消毒腹股沟区, 切一横行1 cm切口, 暴露股静脉, 远心端结扎, 22G套管针近心端穿刺成功后固定. 对照组和梗阻性黄疸生理盐水组泵入 9 g/L 生理盐水 $5 \text{ mL}/(\text{kg}\cdot\text{h})$, 而多巴酚丁胺 $5 \mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{min})$ 组和多巴酚丁胺 $10 \mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{min})$ 组泵入多巴酚丁胺, 速度分别为 $5 \mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{min})$ 和 $10 \mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{min})$. 而总量均为 $5 \text{ mL}/(\text{kg}\cdot\text{h})$. 总输液时间控制在2 h. 输液结束后按存活数量将各组动物随机均分为立即取材组和24 h后取材组. 头皮针穿刺取腔静脉血6-8 mL置于真空采血管内, 静

创新盘点
本文着重探讨解除梗阻早期肾功能的变化与水通道蛋白2表达的关系, 有利于研究解除梗阻时体内内环境变化对肾集合管上皮细胞功能的影响.

应用要点
通过梗阻性黄疸与水通道蛋白2表达变化的研究,可以更加及时的了解肾功能的改变,并及时对肾功能损伤加以有效的预防。

表 1 各组直接胆红素, 肌酐, 尿素氮和aqp2(mean ± SD)

分组	直接胆红素(μmol/L)	肌酐(μmol/L)	尿素氮(mmol/L)	aqp2
CO 0 h	2.44 ± 1.32	21.20 ± 4.49	8.00 ± 0.28	21 966 ± 1544
24 h	2.86 ± 3.89	29.00 ± 9.03	10.41 ± 2.04	21 917 ± 2661
OJ 0 h	66.16 ± 10.24	22.80 ± 8.59	9.26 ± 0.89	15 665 ± 1181
24 h	45.95 ± 8.39 ^b	25.00 ± 6.55	9.90 ± 2.27	36 490 ± 1822 ^h
DP5 0 h	66.27 ± 11.88	20.30 ± 5.36	9.99 ± 1.42	16 010 ± 646
24 h	51.86 ± 10.01 ^d	25.00 ± 6.85	9.95 ± 2.20	22 715 ± 575 ⁱ
DP10 0 h	67.53 ± 10.71	23.30 ± 8.34	11.00 ± 2.79	13 581 ± 1662
24 h	46.64 ± 10.67 ^e	23.80 ± 5.59	10.93 ± 3.15	32 313 ± 1453 ¹

^b*P* < 0.01 vs OJ 0 h; ^d*P* < 0.01 vs DP5 0 h; ^e*P* < 0.01 vs DP10 0 h; ^h*P* < 0.01 vs CO 24 h; ⁱ*P* < 0.01 vs OJ 24 h; ¹: 与DP10组0 h对照: *t* = 5.667, *P* = 0.000.

置30 min后, 3000 r/min离心10 min, 取上清置于灭菌子弹头内冻于-20℃冰箱内待测直接胆红素(D-bil), 肌酐(CREA)和尿素氮的含量. 取右侧肾脏分离出髓质置于灭菌子弹头内用液氮罐转移至-80℃冰箱内待测.

1.2.2 Western blot检测 称取150 mg标本加入6倍体积的细胞裂解液A匀浆, 4℃ RCF 20 000 *g* 离心1.5 h, 上清为胞质蛋白样品. 沉淀(膜的成分)加入细胞裂解液B 1 mL在冰水中匀浆, 超声粉碎20 s, 间隔20 s, 3次, 4℃静置过夜, 4℃ RCF 20 000 *g* 离心1.5 h, 取上清为胞膜蛋白样品. Lorry法蛋白定量: 各取样品50 μL蛋白定量, 以浓度最低管为基准, 调节蛋白浓度, 加5×样品缓冲液, 煮沸3-5 min. 按顺序过胶, 转膜和扫描.

统计学处理 所有计量资料均采用mean ± SD表示, 采用SPSS11.5软件包, 经方差齐性检验后入选, 采用单因素方差分析或独立样本*t*检验, *P* < 0.05为有统计学意义.

2 结果

各组动物均顺利完成实验. 胆管梗阻3 d后大鼠耳缘、尾部见黄染. 同时尿液颜色逐渐加深. 取材时梗阻性黄疸组大鼠腹腔见较多腹水, 胆管增粗、管壁变薄. 胆管张力不大, 可能与再通有关. 各组血生化结果见表1, 胆红素解除梗阻后aqp2表达见图1.

3 讨论

梗阻性黄疸围手术期的肾功能损伤中肾小管损伤后果比较严重, 易引发急性肾小管坏死^[4]. 梗阻性黄疸肾功能损伤可能存在几种机制, 即缺血再灌注损伤, 胆红素损伤, 内毒素损伤^[5-8].

肾功能的损伤包括结构的损伤和功能损伤

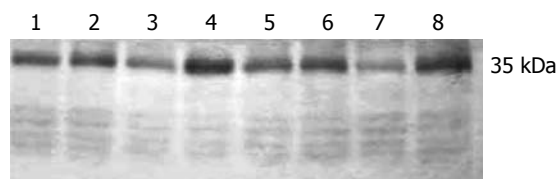


图 1 各组aqp2蛋白的表达(Western blot). 1: CO 0 h; 2: CO 24 h; 3: OJ 0 h; 4: OJ 24 h; 5: DP5 0 h; 6: DP5 24 h; 7: DP10 0 h; 8: DP10 24 h.

2个相互关联的部分, 能够灵敏反映肾脏结构、功能变化的指标, 对于研究肾损伤是非常重要的. 1991年Agre Peter发现肾脏水代谢依赖于一种细胞膜蛋白, 并最终定名为水通道蛋白, 这一发现合理的解释了肾脏自由水代谢的问题^[9]. 经过10余年的研究, 水通道蛋白的研究重点逐渐转向水通道蛋白变化导致疾病的研究. 由于肾脏是水代谢的主要器官, 水通道蛋白在肾脏的研究对于揭示肾脏的病理生理改变具有重要作用^[10]. 在药物、缺血等引起的肾功能衰竭的研究中发现aqp2表达明显下调, 且这一变化与集合管上皮细胞损伤程度明显相关^[11-12]. 而梗阻性黄疸围手术期是肾集合管功能损伤进展最快的阶段, 早期临床上却可能没有任何症状, 难以引起临床医生足够重视^[13]. 梗阻性黄疸早期肾小管功能损伤是否涉及肾小管上皮主细胞水通道蛋白2表达的改变目前国内未见报道. 而肾脏水重吸收能力的调节主要在肾集合管, 一旦集合管受到损伤则直接影响全身水代谢的调节^[14]. 本实验中应用Western印迹技术发现胆管梗阻-再通早期大鼠肾内aqp2蛋白表达较假手术组明显下降, 再通24 h后aqp2表达明显上调, aqp2含量甚至超过假手术组. 通过大量的关于aqp2的相关报道发现, 肾集合管aqp2表达的变化受到蛋白

质翻译的影响. 自由基、一氧化氮、肿瘤坏死因子等细胞因子都会导致肾集合管aqp2蛋白表达下降^[15-17]. 前期研究证实梗阻性黄疸时血胆红素、自由基、肿瘤坏死因子、内毒素等细胞因子含量较高. 因此, 胆管再通时aqp2表达受到抑制可能与此有关^[18].

多巴胺对于肾aqp2表达的调节作用在本实验中得到证实. 应用Western印迹对泵入多巴胺的大鼠肾脏研究发现, 在解除梗阻后的2个时间点5 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{min})$ 组较10 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{min})$ 组aqp2表达更接近假手术组; 同样是低浓度多巴胺, 5 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{min})$ 组对于肾脏aqp2表达的调节作用强于10 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{min})$ 组, 其肾脏aqp2蛋白较其他各组更接近假手术组; 而10 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{min})$ 组肾脏aqp2蛋白与假手术组比较存在较大差异. 目前推测可能存在以下几种可能原因. 首先, 多巴胺低浓度有助于肾灌注的改善, 并可因而降低自由基、一氧化氮等缺血相关的细胞因子肾内浓度, 减少aqp2合成的抑制; 另外, aqp2可以通过血管加压素进行调节, 而多巴胺具有类似加压素的作用, 因此具有调节aqp2表达的作用^[19]. 总之, 胆管梗阻-再通术后肾内aqp2含量明显降低; 24 h后这一变化得到纠正, 5 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{min})$ 泵入多巴胺调节肾集合管上皮细胞aqp2表达的作用明显.

致谢: 感谢中国医科大学盛京医院中心试验室卢岩、高红老师的大力支持.

4 参考文献

- 1 Fogarty BJ, Parks RW, Rowlands BJ, Diamond T. Renal dysfunction in obstructive jaundice. *Br J Surg* 1995; 82: 877-884
- 2 King LS, Kozono D, Agre P. From structure to disease: the evolving tale of aquaporin biology. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004; 5: 687-698
- 3 Sohn EJ, Kang DG, Lee HS. Protective effects of glycyrrhizin on gentamicin-induced acute renal failure in rats. *Pharmacol Toxicol* 2003; 93: 116-122
- 4 Inan M, Sayek I, Tel BC, Sahin-Erdemli I. Role of endotoxin and nitric oxide in the pathogenesis of renal failure in obstructive jaundice. *Br J Surg* 1997; 84: 943-947
- 5 王勇, 刘金钢, 宋军, 田野, 余云. 生长激素对大鼠梗阻性黄疸肠菌移位的影响. *中华实验外科杂志* 2002; 19: 85
- 6 刘金钢, 王勇, 宋军, 田野, 王道顺, 余云. 生长激素对实验性梗阻性黄疸大鼠内毒素血症的防治. *中华普通外科杂志* 2001; 16: 493-494
- 7 刘金钢, 宋军, 田野, 余云. 生长激素对梗阻性黄疸时肿瘤坏死因子- α 及内毒素血症的影响. *中华实验外科杂志* 2002; 19: 473
- 8 刘金钢, 那延立, 郭宏斌, 田野, 宋军, 王勇, 余云. 生长激素减轻梗阻性黄疸时肠菌及内毒素移位的实验研究. *中国普外基础与临床杂志* 2002; 9: 172-174
- 9 Preston GM, Carroll TP, Guggino WB, Agre P. Appearance of water channels in *Xenopus* oocytes expressing red cell CHIP28 protein. *Science* 1992; 256: 385-387
- 10 Nielsen S, Frokiaer J, Marples D, Kwon TH, Agre P, Knepper MA. Aquaporins in the kidney: from molecules to medicine. *Physiol Rev* 2002; 82: 205-244
- 11 Gong H, Wang W, Kwon TH, Jonassen T, Frokiaer J, Nielsen S. Reduced renal expression of AQP2, p-AQP2 and AQP3 in haemorrhagic shock-induced acute renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 2551-2559
- 12 Nejsum LN. The renal plumbing system: aquaporin water channels. *Cell Mol Life Sci* 2005; 62: 1692-1706
- 13 Padillo FJ, Cruz A, Briceno J, Martin-Malo A, Pera-Madrazo C, Sitges-Serra A. Multivariate analysis of factors associated with renal dysfunction in patients with obstructive jaundice. *Br J Surg* 2005; 92: 1388-1392
- 14 Kim SW, Jeon YS, Lee JU, Kang DG, Kook H, Ahn KY, Kim SZ, Cho KW, Kim NH, Han JS, Choi KC. Diminished adenylate cyclase activity and aquaporin 2 expression in acute renal failure rats. *Kidney Int* 2000; 57: 1643-1650
- 15 Lee S, Kim W, Moon SO, Sung MJ, Kim DH, Kang KP, Jang YB, Lee JE, Jang KY, Park SK. Rosiglitazone ameliorates cisplatin-induced renal injury in mice. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 2096-2105
- 16 Misharin AV, Resnenko AB, Fidelina OV, Grinevich VV, Akmaev IG. Antidiuretic hormone-V2-receptor-aquaporin-2 system in rat kidneys during acute inflammation. *Bull Exp Biol Med* 2004; 138: 452-456
- 17 Cauwels A. Nitric oxide in shock. *Kidney Int* 2007; 72: 557-565
- 18 Uslu A, Cayci M, Nart A, Karaca C, Zalluhoglu N, Gurkan A, Varilsuha C, Adagulu H. Renal failure in obstructive jaundice. *Hepatogastroenterology* 2005; 52: 52-54
- 19 Jung JS, Lee RH, Koh SH, Kim YK. Changes in expression of sodium cotransporters and aquaporin-2 during ischemia-reperfusion injury in rabbit kidney. *Ren Fail* 2000; 22: 407-421

同行评价
本文探讨梗阻性黄疸围手术期应用小剂量多巴胺对肾髓质水通道蛋白2表达影响, 有一定的创新性, 实验方法比较合理, 具有一定的学术参考价值.

编辑 何燕 电编 何基才

肠易激综合征大鼠内脏敏感性和脊髓背角5-HT和c-fos的表达

孙刚, 杨云生, 彭丽华, 王巍峰

背景资料
肠易激综合征(IBS)患者对直肠球囊扩张刺激的内脏敏感性异常是其重要的病理生理机制,可能牵涉外周神经和中枢神经系统结构和神经递质异常。本研究应用IBS大鼠模型研究直肠球囊扩张刺激对模型脊髓背角5-HT及c-fos表达的影响,探讨5-HT和c-fos在脊髓水平对内脏敏感性调节的可能机制。

孙刚, 杨云生, 彭丽华, 王巍峰, 中国人民解放军总医院消化科 北京市 100853
通讯作者: 杨云生, 100853, 北京市复兴路28号, 解放军总医院消化科. sunny888@medmail.com.cn
电话: 010-66939747
收稿日期: 2007-05-28 修回日期: 2007-08-27

Visceral sensitivity and expression of 5-hydroxytryptamine and c-fos in the spinal dorsal horn in a rat model with irritable bowel syndrome

Gang Sun, Yun-Sheng Yang, Li-Hua Peng, Wei-Feng Wang

Gang Sun, Yun-Sheng Yang, Li-Hua Peng, Wei-Feng Wang, Department of Gastroenterology, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China
Correspondence to: Yun-Sheng Yang, Department of Gastroenterology, General Hospital of Chinese PLA, 28 Fuxing Road, Beijing 100853, China. sunny888@medmail.com.cn
Received: 2007-05-28 Revised: 2007-08-27

Abstract

AIM: To study the visceral sensitivity by rectal balloon distension and expression of 5-hydroxy-tryptamine (5-HT) and c-fos in the spinal dorsal horn of a rat model with constipation-predominant irritable bowel syndrome (C-IBS).

METHODS: The rat model was established by intragastric injection with ice-cold water (0-4°C). The perception thresholds and the number of abdominal withdrawal reflexes (AWRs) were recorded during rectal balloon distention in order to evaluate visceral sensitivity in the model group (A, $n = 10$) and control group (B, $n = 10$). Expression of 5-HT and c-fos in the spinal dorsal horn was shown by immunohistochemical staining, and analyzed semi-quantitatively by computerized color image analyzer using immunoreactive areas and optical density (OD). The statistical difference of the OD and immunoreactive

areas between the two groups was examined by t test.

RESULTS: The perception threshold in group A was slightly higher than that in group B during rectal balloon distention, but there was no significant difference (0.59 ± 0.09 vs 0.57 ± 0.13 , $P > 0.05$). The number of AWRs to the lower balloon content (1.0 mL) was much lower in group A than in group B (10.3 ± 3.3 vs 18.3 ± 5.5 , $P < 0.05$), although no difference was found to the higher balloon content (1.5 and 2.0 mL). Immunoreactive area and OD of 5-HT- and c-fos-positive neurons and fibers in group A were significantly higher than those in group B (5-HT immunoreactive area, 146.5 ± 15.1 vs 109.3 ± 18.5 ; 5-HT OD, 45826 ± 2563.2 vs 29358 ± 8965.5 ; c-fos immunoreactive area, 125.4 ± 23.3 vs 88.7 ± 23.2 ; c-fos OD, 46258 ± 4642 vs 33238 ± 4587 ; all $P < 0.05$).

CONCLUSION: The model of C-IBS has a decreased visceral sensitivity to rectal balloon distention. The increased expression of 5-HT and c-fos in the spinal dorsal horn is probably involved in the process.

Key Words: Irritable bowel syndrome; Visceral sensitivity; 5-hydroxytryptamine; c-fos

Sun G, Yang YS, Peng LH, Wang WF. Visceral sensitivity and expression of 5-hydroxytryptamine and c-fos in the spinal dorsal horn in a rat model with irritable bowel syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15(25): 2718-2722

摘要

目的: 探讨便秘型肠易激综合征(C-IBS)大鼠模型对直肠球囊扩张的内脏敏感性改变和脊髓背角5-羟色胺(5-HT)、c-fos的分布和异常表达。

方法: C-IBS大鼠模型组应用冰水灌胃方法建立(A组, $n = 10$), 和正常对照大鼠(B组, $n = 10$)。所有大鼠给予直肠内球囊扩张, 检测球囊扩张引起腹部收缩反射的最小容量阈值及球囊不

同容量扩张时腹部收缩反射的次数. 腰骶段脊髓背角5-HT和c-fos表达应用免疫组织化学染色及计算机图像分析系统半定量进行分析.

结果: 直肠内球囊扩张时, A组引起腹部收缩的最小容量阈值略高于B组, 无明显统计学差异(0.59 ± 0.09 vs 0.57 ± 0.13 , $P > 0.05$). 直肠球囊扩张体积1.0 mL时A组腹部收缩反射次数低于B组(10.3 ± 3.3 vs 18.3 ± 5.5 , $P < 0.05$); 体积1.5和2.0 mL大容量扩张时两组无明显差异($P > 0.05$). A组腰骶段脊髓背角5-HT、c-fos阳性神经组织的面积均明显高于B组(5-HT面积: 146.5 ± 15.1 vs 109.3 ± 18.5 ; 5-HT OD: 45826 ± 2563.2 vs 29358 ± 8965.5 ; c-fos面积: 125.4 ± 23.3 vs 88.7 ± 23.2 ; c-fos OD: 46258 ± 4642 vs 33238 ± 4587 ; 均 $P < 0.05$).

结论: C-IBS大鼠模型存在对直肠球囊扩张的内脏敏感性异常, 脊髓背角5-HT、c-fos的异常表达可能参与C-IBS大鼠内脏敏感性异常的调节.

关键词: 肠易激综合征; 内脏敏感性; 5-羟色胺; c-fos

孙刚, 杨云生, 彭丽华, 王巍峰. 肠易激综合征大鼠内脏敏感性和脊髓背角5-HT和c-fos的表达. 世界华人消化杂志 2007;15(25):2718-2722
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2718.asp>

0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是指腹痛或腹部不适同时伴有排便异常为特征的一种功能性肠病, 目前IBS的病因和发病机制尚不清楚, 其中对直肠球囊扩张刺激的内脏敏感性异常被认为是IBS重要的病理生理机制^[1-4]. 5-HT是一种重要的神经递质, 在外周和中枢对内脏感觉传递和调节方面起重要作用, 一些研究显示IBS与5-HT异常有一定的关系^[5-7]. 本研究通过观察C-IBS大鼠直肠球囊扩张后脊髓背角5-HT及c-fos异常表达, 探讨5-HT和c-fos在脊髓水平对内脏敏感性调节的可能机制.

1 材料和方法

1.1 材料 4周龄的♂Wistar大鼠20只, 体质量120-150 g, 军事医学科学院实验动物中心提供. 兔抗大鼠c-fos抗体、兔抗人5-HT多克隆抗体、生物素标记羊抗兔IgG、辣根过氧化物酶标记的链霉卵蛋白及DAB显色剂均购自北京中山生物技术有限公司. Olympus CX40光学显微镜, 德国

Braun公司8F导尿管, 导管直径2 mm, 球囊最大容量3 mL, 最大直径2 cm, 用作直肠内球囊扩张导管. 直径6 cm鼠固定器, 日本ICM株式会社制作.

1.2 方法 大鼠20只随机分为2组, 模型组(A组)10只, 采用本研究小组彭丽华 *et al*^[8]冰水ig法建立C-IBS大鼠模型. 每日给予0-4℃冰水灌胃1次, 2 mL/只, 共14 d, 停止灌胃后正常饲养. 正常对照组(B组)10只, 每日正常饲养. 第28天肠球囊扩张后处死大鼠并制备组织标本.

1.2.1 内脏敏感性测定 第28天, 2组大鼠分别于清醒状态下放入鼠固定器内, 限制大鼠的各项活动, 但可观察到腹部收缩反射. 将Braun 8F带气囊导尿管外涂石蜡油后经肛门插入, 气囊末端距肛门1 cm. 用4号手术缝线在导尿管平肛门外缘水平打结固定于鼠尾, 相隔2 cm处同样方法固定. 15 min后大鼠适应环境呈安静状态, 经导尿管外口向球囊内注入常温水(26-28℃生理盐水)扩张. 记录引起大鼠腹部收缩反射(AWR)的最小注水量为最小容量阈值. 重复扩张3次, 每次间隔15 min, 以3次扩张测得的最小容量阈值的均值为该鼠直肠扩张引起腹部收缩反射的最小容量阈值. 测定阈值后第2天, 分别测定注水量为1.0, 1.5和2.0 mL时3 min内AWR次数, 每次间隔30 min. 采用引起大鼠AWR的最小容量阈值和直肠内球囊不同容量扩张时3 min内大鼠AWR的次数评价大鼠对直肠内扩张刺激的内脏敏感性.

1.2.2 标本制备及免疫组化染色 2组大鼠直肠内球囊扩张结束1 h后, 给予大鼠ip 200 g/L乌拉坦2 mL/只处死动物, 心脏穿刺插管至主动脉根部, 剪破右心耳, 生理盐水200 mL经左心室和升主动脉快速灌注冲洗, 待冲洗液清亮后予40 g/L甲醛250 mL灌注固定. 取大鼠的脊髓腰骶段(L5-S2)以40 g/L甲醛固定, 常规石蜡包埋. 脊髓进行连续切片, 片厚2 μm, 隔5张取1张. 每例每部位取2张, 置于经APES(3-氨丙基三乙氧基硅烷)防脱片剂处理的载玻片上, 烤箱56℃ 60 min以使切片紧密黏附. 应用工作浓度为1:100稀释的兔抗5-HT和c-fos抗体, 按SABC免疫化学法进行标记, 操作步骤按试剂说明. DAB室温显色5-10 min, 镜下控制反应时间, 以着棕色者为染色阳性. 应用计算机图像分析系统半定量分析5-HT和c-fos阳性反应的面积和不透光率密度A值. A值反应组织染色强度, 即A值越大, 染色越强; 面积表示阳性细胞染色像素的总和.

研发前沿
本研究涉及IBS内脏敏感性异常、脑-肠轴异常机制, 利用c-fos作为痛觉传递和神经元兴奋的标志物对5-HT在脊髓背角调节内脏敏感性的可能机制进行探讨, 阐明了5-HT可能作为一种重要的神经递质在脊髓水平参与内脏敏感性异常.

创新盘点
应用本课题组创建的IBS大鼠模型进行5-HT在脊髓背角异常表达对内脏敏感性的影响,初步揭示该神经递质可能的作用途径和机制;把c-fos作为脊髓伤害性感受神经元兴奋的标记物,研究脊髓背角内脏感觉通路。

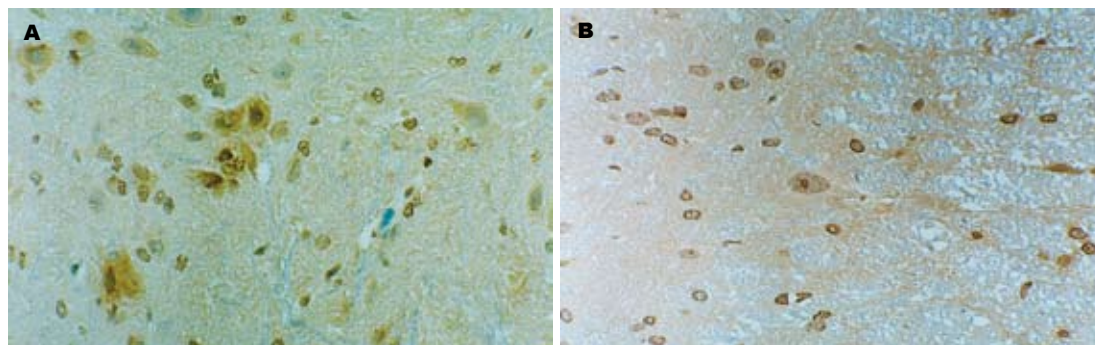


图1 脊髓背角(SABC × 200). A: c-fos阳性神经元; B: 5-HT阳性神经纤维。

统计学处理 计数资料用mean ± SD描述, 组间资料进行t检验. 采用SAS6.0软件完成, $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果

2.1 大鼠内脏敏感性测定 C-IBS模型组大鼠直肠扩张引起腹部收缩的最小容量阈值为 0.59 ± 0.09 mL, 正常对照组为 0.57 ± 0.13 mL, 两组直肠扩张引起腹部收缩的最小容量阈值无明显差异 ($P > 0.05$). 两组大鼠直肠内球囊1.0 mL低容量扩张时, A组3 min内腹部收缩反射次数为 10.3 ± 3.3 次, 低于B组的 18.3 ± 5.5 次 ($P < 0.05$); 而直肠球囊体积1.5和2.0 mL高容量扩张时, 两组大鼠3 min内腹部收缩反射次数无明显差异 ($P > 0.05$) (表1)。

2.2 脊髓背角5-HT及c-fos的表达 根据Rexed提出的脊髓灰质板层构筑学说, 从背角到前角可分为10个板层, 背角包括: I层相当于背角缘层, II层相当于胶状质, III、IV层相当于背角固有核, V、VI层位于背角基部. 两组大鼠c-fos阳性神经组织在脊髓灰质分布较多的区域有背角I、II和V层, 其他板层也有少量阳性细胞. 集中于神经元细胞, 胞质阳性, 呈黄至棕色(图1A). 而5-HT阳性神经元在脊髓背角罕见, 在脊髓背角I层和II层可见较多的5-HT阳性神经纤维, 胞质阳性, 呈黄至棕色(图1B). 根据计算机图像分析, C-IBS模型组大鼠脊髓背角5-HT、c-fos表达的A值和面积均明显超过正常对照组 ($P < 0.05$) (表1)。

3 讨论

对直肠球囊扩张的内脏敏感性异常被认为是IBS重要的病理生理特征, 推测可能涉及肠道、肠神经系统和中枢神经系统. 利用动物模型研究表明脊髓背角作为感觉传导的次级中枢参与内脏敏感性调节, 并有多种神经递质表达异

表1 两组直肠内球囊引起AWR阈值、不同容量扩张时AWR次数及脊髓背角5-HT和c-fos表达的比较

	A	B
阈值	0.59 ± 0.09	0.57 ± 0.13
1.0 mL	10.3 ± 3.3^a	18.3 ± 5.5
1.5 mL	18.8 ± 7.3	23.1 ± 11.0
2.0 mL	25.1 ± 6.5	29.3 ± 12.9
5-HT		
A	$45\ 826 \pm 2563.2^a$	$29\ 358 \pm 8965.5$
面积	146.5 ± 15.1^a	109.3 ± 18.5
c-fos		
A	$46\ 258 \pm 4642^a$	$33\ 238 \pm 4587$
面积	125.4 ± 23.3^a	88.7 ± 23.2

^a $P < 0.05$ vs B组.

常^[9-11]. 5-HT作为一种重要的神经递质, 在脊髓水平的感觉信息尤其是伤害性信息传递和调节中起重要作用^[12-13], 已有研究表明IBS患者中血清和结肠黏膜5-HT异常增加并与内脏敏感性异常相关^[14-17], 但在脊髓水平5-HT有无表达异常及与内脏敏感性改变的关系研究较少. 本研究利用C-IBS大鼠模型研究直肠球囊扩张后脊髓背角5-HT异常表达, 并利用伤害性感觉神经元兴奋的标记物c-fos探讨5-HT参与IBS发病的可能机制。

本课题组采用冰水灌胃法建立的C-IBS大鼠模型, 表现为便秘及对直肠球囊扩张存在内脏敏感性改变, 较好的模拟了人类IBS的特点. 脊髓是肠道的内脏感觉等传入纤维与大脑间进行信号传递的中继站, 在脑肠互动中起重要的作用. 根据Rexed提出脊髓灰质板层构筑学说, 外周伤害性感受器信息通过A δ 、C类传入纤维传至脊髓背角I、II、IV层, 释放化学性物质(谷氨酸、SP), 使背角I、IV及VII-X段投射神经元兴奋, 将伤害性冲动经轴突组成上行通路,

传递到高级中枢. 同时, 脊髓背角接收来自高级中枢下行通路对内脏感觉进行调节, 因此, 脊髓背角是抗伤害性感受调节的关键部位.

c-fos被认为是一种即刻早基因, 在神经元活动时c-fos蛋白表达增强, 可作为神经元被激活的标志, 机体受到外界伤害性刺激后, 诱导表达的c-fos蛋白主要出现在与痛觉传递有关的神经元细胞核内, 因此表达产物被认为是伤害性感受神经元兴奋的标志物^[18-19], 据此c-fos被用作痛觉传导神经通路的研究. 本研究发现直肠球囊扩张后两组大鼠腰骶部脊髓背角Rex I、II及V层c-fos阳性表达, 提示背角c-fos阳性神经元很可能参与内脏痛觉信息传递和调控. 利用大鼠前爪掌心sc福尔马林方法造成的炎性痛大鼠模型中, 脊髓免疫组化染色显示c-fos阳性神经元于同侧脊髓背角I、II及V层表达明显增多, 这一部位与传递外周伤害性信息的初级传入纤维的终止区及背角痛敏神经元的分布区一致; 也与电生理记录的对伤害性刺激反应的背角神经元的分布部位相重叠^[20], 提示脊髓背角c-fos阳性神经元很可能介导痛觉信息传递. 本研究中对于大鼠直肠球囊扩张刺激后, 两组大鼠脊髓背角均可见c-fos蛋白表达, 与文献一致^[21-23]. 而冰水灌胃组c-fos表达强度和范围明显高于正常组, 这可能与肠道致敏大鼠脊髓背角痛觉神经元接受过多的来自肠神经系统上传的伤害性信号有关, 或与反复冰水灌胃刺激后脊髓背角痛觉神经元可塑性的改变有关.

5-HT是脊髓内主要的抑制性神经递质, 正常大鼠来自脑中缝核簇的5-HT样阳性终末密集地分布于脊髓背角浅层的Rex I、II层, 与向丘脑投射的神经元和局部环路神经元形成以对称性为主的突触联系^[24-25], 并对脊髓背角浅层神经元的活动有抑制作用^[26-27]. 本研究发现, C-IBS大鼠脊髓背角浅层的5-HT能神经纤维数量分布和表达增强, 说明脊髓背角的5-HT能神经可能在脊髓水平参与内脏痛觉的调控, 表现为对于直肠球囊扩张的敏感性下降, 说明脊髓背角5-HT能神经纤维可能是内脏敏感性改变的物质基础之一. 由于5-HT不能直接抑制脊髓背角浅层神经元, 他可能先作用于 γ -氨基丁酸(GABA)受体和甘氨酸(Gly)受体共存神经元, 这些共存神经元释放的GABA和/或Gly作用于初级传入纤维的终末和脊髓背角浅层的痛觉神经元, 通过突触后机制抑制他们的电活动, 从而间接达到抑制外周伤害性信息向中枢神经系统

内传递的效应^[25,28-31].

内脏敏感性异常可能牵涉肠道、肠神经系统、脊髓和脑, 脊髓背角作为脑-肠轴的“中继站”是内脏敏感性调节的关键部位, 脊髓背角的c-fos阳性痛觉神经元和来自下行通路的5-HT能神经纤维参与内脏敏感性的调控, 其结构和功能的异常可能是内脏敏感性异常的物质基础之一. 近年来多项研究发现神经、免疫、内分泌系统的多种细胞及活性物质可能参与IBS患者内脏敏感性异常的调节, 为IBS的神经、免疫、内分泌网络调控提供间接和直接依据^[2], 但在其中哪种物质起到始动作用或关键作用尚需大量工作证实.

4 参考文献

- 1 Azpiroz F. Hypersensitivity in functional gastrointestinal disorders. *Gut* 2002; 51 Suppl 1: i25-28
- 2 杨云生. 肠易激综合征神经免疫内分泌网络调控机制. *胃肠病学和肝病杂志* 2002; 11: 320-322
- 3 董文珠, 邹多武, 李兆申, 许国铭, 邹晓平, 朱爱勇, 尹宁, 满晓华. 肠易激综合征患者内脏高敏感性的机制研究. *中华消化杂志* 2004; 24: 18-22
- 4 肖文斌, 刘玉兰, 赵丽莉. 腹泻型、便秘型肠易激综合征和功能性便秘患者的直肠感觉阈值比较. *世界华人消化杂志* 2002; 10: 1291-1294
- 5 Spiller RC, Jenkins D, Thornley JP, Hebden JM, Wright T, Skinner M, Neal KR. Increased rectal mucosal enteroendocrine cells, T lymphocytes, and increased gut permeability following acute *Campylobacter* enteritis and in post-dysenteric irritable bowel syndrome. *Gut* 2000; 47: 804-811
- 6 Miwa J, Echizen H, Matsueda K, Umeda N. Patients with constipation-predominant irritable bowel syndrome (IBS) may have elevated serotonin concentrations in colonic mucosa as compared with diarrhea-predominant patients and subjects with normal bowel habits. *Digestion* 2001; 63: 188-194
- 7 姜敏, 凌立平, 傅宝玉. 肠易激综合征患者结肠5-HT的分布特点. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 541-543
- 8 彭丽华, 杨云生, 孙刚, 王巍峰. 便秘型肠易激综合征新概念模型的建立. *世界华人消化杂志* 2004; 12: 112-116
- 9 王巍峰, 杨云生, 孙刚, 彭丽华. 肠易激综合征大鼠P物质能神经通路的改变. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 214-218
- 10 王巍峰, 杨云生, 孙刚, 彭丽华. 肠易激综合征大鼠模型脊髓后角神经递质表达的改变. *胃肠病学和肝病杂志* 2006; 15: 405-408
- 11 Ragnarsson G, Hallbook O, Bodemar G. Abdominal symptoms and anorectal function in health and irritable bowel syndrome. *Scand J Gastroenterol* 2001; 36: 833-842
- 12 O'Mahony S, Dinan TG, Keeling PW, Chua AS. Central serotonergic and noradrenergic receptors in functional dyspepsia. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2681-2687
- 13 Sarkar S, Hobson AR, Furlong PL, Woolf CJ, Thompson DG, Aziz Q. Central neural mechanisms mediating human visceral hypersensitivity.

应用要点
 本研究方法可应用于在脊髓和高级中枢其他神经递质和蛋白分子的研究, 将来对IBS治疗新药疗效和机制的评估有潜在的应用价值.

同行评价

本文研究得出脊髓背角5-HT₁ c-fos的异常表达可能参与c-IBS大鼠内脏敏感性异常的调节,设计合理,目的明确,方法先进,技术路线正确,数据可信,对基础与临床研究有一定的参考价值。

- Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 281: G1196-1202
- 14 迟雁, 刘新光, 李江. 5-羟色胺₄受体在调节应激大鼠内脏敏感性中的作用. *中华消化杂志* 2004; 24: 533-536
- 15 李运红, 朱晓蕾, 徐肇敏. 腹泻型肠易激综合征患者结肠黏膜5-羟色胺和5-羟色胺₃受体的研究. *胃肠病学杂志* 2006; 11: 477-480
- 16 祝淑贞, 周福生. 5-HT与肠易激综合征发病的内在相关性. *临床消化病杂志* 2004; 16: 229-230
- 17 陈文科, 邹益友, 李富军, 罗丹. 肠易激综合征精神心理因素、肠黏膜肥大细胞及5-羟色胺的变化. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 46-50
- 18 Monnikes H, Ruter J, Konig M, Grote C, Kobelt P, Klapp BF, Arnold R, Wiedenmann B, Tebbe JJ. Differential induction of c-fos expression in brain nuclei by noxious and non-noxious colonic distension: role of afferent C-fibers and 5-HT₃ receptors. *Brain Res* 2003; 966: 253-264
- 19 Nakagawa T, Katsuya A, Tanimoto S, Yamamoto J, Yamauchi Y, Minami M, Satoh M. Differential patterns of c-fos mRNA expression in the amygdaloid nuclei induced by chemical somatic and visceral noxious stimuli in rats. *Neurosci Lett* 2003; 344: 197-200
- 20 Berrocal YA, Pearse DD, Andrade CM, Hechtman JF, Puentes R, Eaton MJ. Increased spinal c-Fos expression with noxious and non-noxious peripheral stimulation after severe spinal contusion. *Neurosci Lett* 2007; 413: 58-62
- 21 Ghanima A, Bennis M, Rampin O. c-Fos expression as endogenous marker of lumbosacral spinal neuron activity in response to vaginocervical-stimulation. *Brain Res Brain Res Protoc* 2002; 9: 1-8
- 22 Anand P, Aziz Q, Willert R, van Oudenhove L. Peripheral and central mechanisms of visceral sensitization in man. *Neurogastroenterol Motil* 2007; 19: 29-46
- 23 Ren TH, Wu J, Yew D, Ziea E, Lao L, Leung WK, Berman B, Hu PJ, Sung JJ. Effects of neonatal maternal separation on neurochemical and sensory response to colonic distension in a rat model of irritable bowel syndrome. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 292: G849-856
- 24 Holden JE, Farah EN, Jeong Y. Stimulation of the lateral hypothalamus produces antinociception mediated by 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} and 5-HT₃ receptors in the rat spinal cord dorsal horn. *Neuroscience* 2005; 135: 1255-1268
- 25 Suzuki R, Rahman W, Rygh LJ, Webber M, Hunt SP, Dickenson AH. Spinal-supraspinal serotonergic circuits regulating neuropathic pain and its treatment with gabapentin. *Pain* 2005; 117: 292-303
- 26 周静, 李辉, 刘翔宇, 王亚云, 李云庆, 武胜昔. 5-HT_{2A/5}受体亚型mRNAs在大鼠不同节段脊髓背、腹角的表达. *第四军医大学学报* 2004; 25: 1345-1348
- 27 Liu FY, Xing GG, Qu XX, Xu IS, Han JS, Wan Y. Roles of 5-hydroxytryptamine (5-HT) receptor subtypes in the inhibitory effects of 5-HT on C-fiber responses of spinal wide dynamic range neurons in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2007; 321: 1046-1053
- 28 Tanaka H, Amamiya S, Miura N, Araki A, Ohinata J, Fujieda K. Postnatal development of brainstem serotonin-containing neurons projecting to lumbar spinal cord in rats. *Brain Dev* 2006; 28: 586-591
- 29 Tanimoto T, Takeda M, Nishikawa T, Matsumoto S. The role of 5-hydroxytryptamine₃ receptors in the vagal afferent activation-induced inhibition of the first cervical dorsal horn spinal neurons projected from tooth pulp in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 2004; 311: 803-810
- 30 Kawamata T, Omote K, Toriyabe M, Yamamoto H, Namiki A. The activation of 5-HT₃ receptors evokes GABA release in the spinal cord. *Brain Res* 2003; 978: 250-255
- 31 Li H, Lang B, Kang JF, Li YQ. Serotonin potentiates the response of neurons of the superficial laminae of the rat spinal dorsal horn to gamma-aminobutyric acid. *Brain Res Bull* 2000; 52: 559-565

编辑 何燕 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志的同行评价

本刊讯 《世界华人消化杂志》对所有文章进行在线同行评价,采用匿名方式.通常每篇文章邀请2-3位专家审阅,至少2人通过方可录用,否则退稿.每期最后一页致谢本期所有审稿人(含退稿).文章等级评定:○A级 ○B级 ○C级 ○D级 ○E级 ○不清楚.其中A和B属于很好,C和D不算太好,E是很差,还有一部分是不清楚.

暂时性金属支架扩张术治疗贲门失弛缓症对食管动力中远期的影响

陈尼维, 朱金水, 陈维雄, 孙群, 王如华

陈尼维, 朱金水, 陈维雄, 孙群, 王如华, 上海交通大学附属第六人民医院消化科 上海市 200233
通讯作者: 陈尼维, 200233, 上海市宜山路600号, 上海交通大学附属第六人民医院消化科. chenniwei@online.sh.cn
收稿日期: 2007-04-17 修回日期: 2007-08-26

Long-term effects of achalasia on esophageal motility following temporary internal metal stent dilation

Ni-Wei Chen, Jin-Shui Zhu, Wei-Xiong Chen, Qun Sun, Ru-Hua Wang

Ni-Wei Chen, Jin-Shui Zhu, Wei-Xiong Chen, Qun Sun, Ru-Hua Wang, Department of Gastroenterology, Shanghai Sixth People's Hospital Affiliated Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China
Correspondence to: Ni-Wei Chen, Department of Gastroenterology, Shanghai Sixth People's Hospital Affiliated Shanghai Jiaotong University, 600 Yishan Road, Shanghai 200233, China. chenniwei@online.sh.cn
Received: 2007-04-17 Revised: 2007-08-26

Abstract

AIM: To explore the long term effects of achalasia on esophageal motility following temporary internal metal stent dilation.

METHODS: Nineteen patients with achalasia had temporary internal metal stents (20–25 mm diameter) placed under X-ray guidance. After stent dilation over 3–7 days, the stents were removed by endoscopy. We measured lower esophageal sphincter (LES) pressure, LES relaxation rate, and 24-hours pH in the 19 patients and 12 healthy control subjects (HS).

RESULTS: LES residual pressure before stent dilation was markedly higher than at 2 weeks and 2 years after stent dilation (47.43 ± 9.84 mmHg vs 12.32 ± 5.87 mmHg, and 14.21 ± 7.34 mmHg; $P < 0.05$). LES relaxation rate was significantly different before stent dilation that at 2 weeks and 2 years after (13.33% vs 76.66% , and 73.46% , $P < 0.05$). The frequency of gastroesophageal reflux (GER) at 2 years after stent dilation was

markedly higher than before and two weeks and before stent dilation (66.12% vs 27.72% , 2.95% , $P < 0.01$); residual pressure and relax rate showed no significant difference between HS and after stent dilation of 2 weeks and 2 years.

CONCLUSION: Temporary internal metal stent dilation results in lower LES pressure and a higher rate of GER for patients with achalasia in the long term.

Key Words: Achalasia; Temporary internal metal stent; Esophageal motility

Chen NW, Zhu JS, Chen WX, Sun Q, Wang RH. Long-term effects of achalasia on esophageal motility following temporary internal metal stent dilation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15(25): 2723-2725

摘要

目的: 探讨暂时性金属支架治疗贲门失弛缓症对食管动力中远期的影响。

方法: 19例贲门失弛缓症患者在X线下置入国产可扩张带膜金属支架, 术后3–7 d由胃镜取出。治疗前、后2 wk及2 a测定LES静息压、松弛率、食管内24 h pH监测, 12例健康人测定下食管括约肌(LES)静息压、松弛率。

结果: 扩张后2 wk和2 a LES静息压显著低于扩张前LES静息压(12.32 ± 5.87 mmHg, 14.21 ± 7.34 mmHg vs 47.43 ± 9.84 mmHg, $P < 0.05$), 松弛率显著高于扩张前松弛率压(76.66% , 73.46% vs 13.33% , $P < 0.05$), 但他们均与正常人无显著差异。扩张后2 a GER阳性率显著高于扩张后2 wk及扩张前(66.12% vs 27.72% , 2.95% ; $P < 0.01$)。

结论: 中远期暂时性金属支架扩张术仍能显著降低贲门失弛缓症患者的LES压力, 但GER也显著增加。

关键词: 贲门失弛缓症; 暂时性支架; 食管动力

陈尼维, 朱金水, 陈维雄, 孙群, 王如华. 暂时性金属支架扩张术

背景资料

贲门失弛缓症近年来发病率有上升趋势, 应用暂时性金属支架治疗贲门失弛缓症, 是一种快捷的治疗方法, 但暂时性金属支架放置后会引发胃食管返流等的发生率增高, 所以暂时性金属支架扩张术对食管动力远期影响应给以全面的探讨。

应用要点

本文通过暂时性金属支架扩张治疗贲门失弛缓症,及对食管动力的影响,认为这是目前治疗贲门失弛缓症方法中安全、有效、疗效持久的方法,但随着时间的增长胃食管返流也在增加,并为今后如何根据病情采用不同直径、不同支撑力的金属内支架以及放置时间的长短,提供了一定的临床客观依据。该问题有待进一步研究和解决。

治疗贲门失弛缓症对食管动力中远期的影响. 世界华人消化杂志 2007;15(25):2723-2725

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2723.asp>

0 引言

贲门失弛缓症是常见的食管运动障碍性疾病,近年来发病率有上升趋势。目前临床常用口服钙离子拮抗剂、X线透视下球囊导管扩张术、经内镜注射肉毒杆菌毒素、Heller肌切开术等治疗方法,但疗效各有优缺点^[1-5]。本研究采用暂时性金属支架治疗贲门失弛缓症^[6-8],并通过测定暂时性金属内支架治疗贲门失弛缓症前、后2 wk及2 a的下食管括约肌(LES)压力、松弛率和食管内24 h pH监测,以探讨暂时性金属支架扩张术对食管动力远期影响。

1 材料和方法

1.1 材料 1996-08/2001-12间住院患者19例。男13例,女6例,年龄29-63(平均37.2)岁,均因吞咽困难而就诊。采用stooler吞咽困难程度分级法,其中9例患者吞咽评分为3级,6例评分为4级,4例评分为5级。全部病例均经上消化道钡剂造影、胃镜以及多功能胃肠动力测定仪检查确诊为贲门失弛缓症。健康人(HS)对照组共12例,男8例,女4例,年龄20-65(平均45.6)岁。无消化系统疾病史及胃肠道症状;无其他影响食管动力的全身性疾病;精神状态良好。支架为国产镍钛合金部分带膜支架(江苏省常州智业医疗器械有限公司)。支架长6-8 cm,直径20-25 mm,支撑力90 g/mm,记忆温度36.0℃,单喇叭口或双喇叭口,喇叭口直径23-28 mm,支架内表面被覆的是硅胶膜,目的是阻挡肉芽组织向腔内生长,膜位于支架的中段,支架口近端1-2 cm为无膜区主要是防止支架移位。测压管为PMC-4型,4通道,4个侧孔,相距5 cm,内经0.8 mm,外径3.5 mm;传感器为PCBDPT-6009型;压力换能器为Synectics PC Polyraf HR(均为CTD-Synectics公司产品)。Digitrapper MK3型24 h pH监测仪。

1.2 方法 术前常规检查出凝血时间,空腹4 h以上,在X线下置入带膜金属内支架,术后3-7 d由胃镜取出。患者在支架扩张前和扩张后2 wk及2 a测定LES静息压、松弛率及食管内24 h pH监测,检查前3 d停用影响胃肠动力药和抑酸剂,空腹6 h,测压采用液导法,食管内24 h pH监测,分析软件Windows3.02。酸反流总计分>14分和pH<4的总时间>4%者为胃食管反流(GER)阳性。

表 1 贲门失弛缓症扩张前、后及正常人LES静息压,松弛率和GER率比较

分组	n	LES静息压 (mmHg)	松弛率 (%)	GER率 (%)
扩张前	19	47.43 ± 9.84	13.33	2.95 ^c
扩张后2 wk	19	12.32 ± 5.87 ^a	76.66 ^a	27.72 ^c
扩张后2 a	19	14.21 ± 7.34 ^a	73.46 ^a	66.12
正常人	12	14.24 ± 6.16	90.00	-

^aP<0.05 vs 扩张前; ^cP<0.05 vs 扩张后2 a。

12例健康人测定LES静息压、松弛率。

统计学处理 用SPSS10.0软件中的t检验和卡方检验进行统计分析,P<0.05为差异有显著性。

2 结果

扩张后2 wk和2 a LES静息压显著低于扩张前LES静息压,松弛率显著高于扩张前松弛率压(P<0.05),但他们均与正常人无显著差异。扩张后2 a GER阳性率显著高于扩张后2 wk及扩张前(表1,P<0.05)。

3 讨论

贲门失弛缓症是常见的食管运动障碍性疾病,尽管目前临床有多种治疗方法,但疗效均不够理想^[9-12]。本研究采用暂时性金属支架扩张治疗贲门失弛缓症^[13-16],并测定食管动力改变情况,以判定其远期疗效。

19例贲门失弛缓症患者在暂时性金属支架扩张治疗前、后2 wk、后2 a测定LES和松弛率。治疗后较治疗前有显著改善且2 wk后于2 a后无明显差异,提示本治疗方法有着较好的远期疗效。以往有研究也表明金属支架随着患者的体温逐渐扩张后较规则撕裂肌层^[17-18]而不同程度地破坏食管的LES结构与功能从而能较长期的改善吞咽障碍^[19-22]。

然而暂时性金属支架扩张后GER率显著高于扩张前,且随着时间的延长胃食管返流也在进一步的增加(P<0.05)。虽然暂时性金属支架置入扩张后造成LES肌层撕裂较规则,但也一定程度地破坏食管LES的结构与功能,使扩张后GER增加。尽管其反流程度较Heller肌切开术和永久性内支架要轻,但仍比正常人GER的发生率明显增高^[23-26]。评判一种治疗贲门失弛缓症方法的疗效应包括两方面:(1)是否解决吞咽障碍;(2)是否能使LES保留一定的抗反流功能,即尽可能恢复LES的生理功能。我们采用暂时性金属内支

架扩张术治疗贲门失弛缓症就是试图达到这一目的。在今后治疗中如何根据病情采用不同直径、不同支撑力的金属支架以及放置时间的长短, 以达到这一目的。

通过暂时性金属支架置扩张术治疗贲门失弛缓症的近期和远期食管动力变化的测定, 我们认为这是目前治疗贲门失弛缓症方法中安全、有效、疗效较持久的治疗方法, 但随着时间的增长胃食管返流也在增加, 该问题有待进一步研究和解决^[12,27-29]。

4 参考文献

- Nijhawan S, Mathur A, Kumar D, Tandon M, Rastogi M, Joshi A, Shende A, Agarwal N, Rai RR. Achalasia cardia: A study of 113 patients managed with indigenous dilator. *Trop Gastroenterol* 2006; 27: 31-33
- Gockel I, Junginger T, Eckardt VF. Long-term results of conventional myotomy in patients with achalasia: a prospective 20-year analysis. *J Gastrointest Surg* 2006; 10: 1400-1408
- Zhou JH, Wang RW, Jiang YG, Fan SZ, Gong TQ, Zhao YP, Tan QY, Ma Z, Deng B. Management of achalasia with transabdominal esophagocardiomyotomy and partial posterior fundoplication. *Dis Esophagus* 2006; 19: 389-393
- Bessell JR, Lally CJ, Schloithe A, Jamieson GG, Devitt PG, Watson DI. Laparoscopic cardiomyotomy for achalasia: long-term outcomes. *ANZ J Surg* 2006; 76: 558-562
- Thomas V, Harish K, Sunilkumar K. Pneumatic dilation of achalasia cardia under direct endoscopy: the debate continues. *Gastrointest Endosc* 2006; 63: 734
- Ayoubi M, Framarin L, Solerio E, Rosina F, Bonardi L. Achalasia. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2003; 49: 167-172
- Cheng YS, Li MH, Chen WX, Chen NW, Zhuang QX, Shang KZ. Selection and evaluation of three interventional procedures for achalasia based on long-term follow-up. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2370-2373
- Siersema PD, Homs MY, Haringsma J, Tilanus HW, Kuipers EJ. Use of large-diameter metallic stents to seal traumatic nonmalignant perforations of the esophagus. *Gastrointest Endosc* 2003; 58: 356-361
- Wright AS, Williams CW, Pellegrini CA, Oelschlager BK. Long-term outcomes confirm the superior efficacy of extended Heller myotomy with Toupet fundoplication for achalasia. *Surg Endosc* 2007; 21: 713-718
- Lenglinger J, Eisler M, Riegler M. Lessons learned from surgical management of achalasia: does "cardia" result from pouch-like transformation of distal esophagus? *Ann Surg* 2007; 245: 334-335; author reply 335-336
- Kala Z, Prochazka V, Marek F, Dolina J, Hep A, Kroupa R. Laparoscopic procedure according to Heller. *Rozhl Chir* 2006; 85: 357-360
- Annese V, Bassotti G. Non-surgical treatment of esophageal achalasia. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 5763-5766
- Tsunoda S, Shimada Y, Watanabe G, Nakau M, Imamura M. Covered metallic stent treatment of a patient with spontaneous rupture of the esophagus. *Dis Esophagus* 2001; 14: 254-257
- Song HY, Park SI, Do YS, Yoon HK, Sung KB, Sohn KH, Min YI. Expandable metallic stent placement in patients with benign esophageal strictures: results of long-term follow-up. *Radiology* 1997; 203: 131-136
- Song HY, Do YS, Han YM, Sung KB, Choi EK, Sohn KH, Kim HR, Kim SH, Min YI. Covered, expandable esophageal metallic stent tubes: experiences in 119 patients. *Radiology* 1994; 193: 689-695
- De Palma GD, Catanzano C. Removable self-expanding metal stents: a pilot study for treatment of achalasia of the esophagus. *Endoscopy* 1998; 30: S95-96
- 程英升, 尚克中. 食管自扩金属支架(SEMS)的临床应用现状. *国外医学临床放射学分册* 1996; 19: 224-225
- 宛新建, 李兆申, 许国铭, 王雯, 孙振兴, 吴仁培. 食管支架术后食管局部粘膜超微结构的变化分析. *胃肠病学* 1999; 4: 207-209
- Xinopoulos D, Dimitroulopoulos D, Tsamakidis K, Korkolis D, Fotopoulou A, Bazinis A, Kontis M, Vasilopoulos P, Paraskevas E. Palliative treatment of advanced esophageal cancer with metal-covered expandable stents. A cost-effectiveness and quality of life study. *J BUON* 2005; 10: 523-528
- Cheng YS, Li MH, Chen WX, Chen NW, Zhuang QX, Shang KZ. Selection and evaluation of three interventional procedures for achalasia based on long-term follow-up. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2370-2373
- 陈尼维, 程英升, 陈维雄, 孙群, 金勇, 陈玮. 暂时性金属内支架治疗贲门失弛缓症对食管动力的影响. *介入放射学杂志* 2003; 2: 124-125
- 程英升, 杨仁杰, 尚克中, 李明华, 陈维雄, 庄奇新, 许建荣, 陈尼维, 杨世坝. 暂时性金属内支架治疗食管良性狭窄疗效分析. *介入放射学杂志* 1999; 1: 31-33
- Alonso P, Gonzalez-Conde B, Macenlle R, Pita S, Vazquez-Iglesias JL. Achalasia: the usefulness of manometry for evaluation of treatment. *Dig Dis Sci* 1999; 44: 536-541
- Onopriev VI, Durlleshter VM, Ryabchun VV. Comparative pre- and postoperative results analysis of functional state of the esophagus assessment in patients with various stages of achalasia. *Eur J Cardiothorac Surg* 2005; 28: 1-6
- Mukherjee S, Kaplan DS, Parasher G, Sippl MS. Expandable metal stents in achalasia--is there a role? *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 2185-2188
- Lee JG, Hsu R, Leung JW. Are self-expanding metal mesh stents useful in the treatment of benign esophageal stenoses and fistulas? An experience of four cases. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 1920-1925
- Prakash C, Freedland KE, Chan MF, Clouse RE. Botulinum toxin injections for achalasia symptoms can approximate the short term efficacy of a single pneumatic dilation: a survival analysis approach. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 328-333
- Yamada T. Text book of Gastroenterology. vol1, 2nd, philadopia, *JB Lippincott* 1998: 1182-1194
- De Palma GD, Iovino P, Masone S, Persico M, Persico G. Self-expanding metal stents for endoscopic treatment of esophageal achalasia unresponsive to conventional treatments. Long-term results in eight patients. *Endoscopy* 2001; 33: 1027-1030

名词解释

LES静息压: 食管下括约肌静息压力, 测压导管位于LES内所测到的相对于胃内压的压力(呼气末或呼吸终点)称为LES静息压力。正常人LES静息压15-30 mm Hg(1 mm Hg = 133 Pa), 如果LES压力小于6 mm Hg提示LES功能不全。

同行评价

本文应用暂时性金属支架扩张术治疗贲门失弛缓症患者, 并采用食管内测压等方法观察其对食管动力功能的中远期影响, 选题实用, 数据客观, 有重要的临床意义和借鉴价值。

编辑 程剑侠 电编 何基才

实时灰阶超声造影在肝肿瘤诊断中的价值

王洪波, 侯秀娟, 王晓蕾, 王虹, 刘爱武

背景资料
肝细胞肝癌是我国常见高发肿瘤之一, 预后极差。如何进一步提高肝癌诊断的准确性是影像学科所关注的课题。超声造影可得到丰富的肝肿瘤供血及血流灌注信息, 对肝肿瘤的诊断与鉴别诊断有重要意义。

王洪波, 侯秀娟, 王晓蕾, 王虹, 刘爱武, 哈尔滨医科大学附属第二医院超声科 黑龙江省哈尔滨市 150086
黑龙江省教育厅基金资助项目, No.11521177
通讯作者: 王洪波, 150086, 黑龙江省哈尔滨市学府路246号, 哈尔滨医科大学附属第二医院超声科. tba0207@sina.com
电话: 0451-86605925 传真: 0451-86662965
收稿日期: 2007-07-25 修回日期: 2007-08-30

Diagnostic value of real-time grey-scale contrast-enhanced ultrasonography for hepatic tumors

Hong-Bo Wang, Xiu-Juan Hou, Xiao-Lei Wang, Hong Wang, Ai-Wu Liu

Hong-Bo Wang, Xiu-Juan Hou, Xiao-Lei Wang, Hong Wang, Ai-Wu Liu, Department of Ultrasonography, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China
Supported by: Education Foundation of Heilongjiang Province, No. 11521177
Correspondence to: Dr. Hong-Bo Wang, Department of Ultrasonography, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 246 Xuefu Road, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. tba0207@sina.com
Received: 2007-07-25 Revised: 2007-08-30

Abstract

AIM: To investigate the diagnostic value of new contrast agent SonoVue and real-time gray-scale contrast-enhanced ultrasonography for hepatic tumors.

METHODS: We used color Doppler flow imaging, power Doppler imaging and real-time gray-scale contrast-enhanced ultrasonography to examine 50 patients with 54 solid hepatic lesions. All lesions were confirmed by pathology following surgery or needle biopsy.

RESULTS: Fifty lesions were variously enhanced on gray-scale ultrasonography after injection of SonoVue, except for 2 cases with liver metastases, 1 of which had an operational scar and the other inflammatory pseudotumor of the liver. The sensitivity, specificity and accuracy of contrast-enhanced ultrasonography for the diagnosis of hepatic malignant tumor were 91.7% (33/36), 100% (18/18) and 94.4% (51/54), respectively.

CONCLUSION: Real-time gray-scale contrast-enhanced ultrasonography is useful for diagnosing and discriminating hepatic tumors.

Key Words: Contrast enhanced ultrasonography; Hepatic tumor; Contrast media

Wang HB, Hou XJ, Wang XL, Wang H, Liu AW. Diagnostic value of real-time grey-scale contrast-enhanced ultrasonography for hepatic tumors. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15(25): 2726-2729

摘要

目的: 评价实时灰阶超声造影在肝肿瘤诊断中的价值。

方法: 利用实时灰阶超声造影观察50例54个肝实质性肿块的动态增强表现作出造影诊断, 并与病理对照。

结果: 除2例少血供胃肠道肝转移癌、1例手术后疤痕及1例炎性假瘤未见增强外, 其余肿块均有不同程度的增强。肝恶性肿瘤早期动脉相强化, 消失较快; 肝血管瘤(HCH)增强速度较慢, 呈周边强化; 肝局灶性结节性增生(FNH)早期动脉相强化, 但持续时间较长; 肝硬化结节与肝实质呈同步强化。如以动脉相增强呈高回声而门脉相消失呈低回声考虑为肝恶性肿瘤, 则本组超声造影诊断肝恶性肿瘤的敏感性、特异性及准确性分别为91.7%(33/36), 100%(18/18)和94.4%(51/54)。

结论: 实时灰阶超声造影可得到丰富的肝肿瘤供血及血流灌注信息, 对肝肿瘤的诊断、鉴别诊断有重要的临床应用价值。

关键词: 实时灰阶超声造影; 肝肿瘤; 造影剂

王洪波, 侯秀娟, 王晓蕾, 王虹, 刘爱武. 实时灰阶超声造影在肝肿瘤诊断中的价值. 世界华人消化杂志 2007;15(25):2726-2729
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2726.asp>

0 引言

原发性肝癌中肝细胞肝癌(HCC)占90%以上, 是我国常见高发肿瘤之一, 近年来发病率有上

研发前沿
超声造影是现代超声领域研究的热点之一, 尤其是肝脏肿瘤的研究十分活跃。但是, 一些少血管病灶的鉴别诊断存在一定困难, 各种局灶性病灶的造影表现有一定相互重叠现象, 这些都有待于进一步研究。

升趋势, 其病死率占恶性肿瘤的第2位, 预后极差^[1]. 如何进一步提高肝癌诊断的准确性是影像学科所关注的课题. 本文通过观察实时灰阶造影成像技术对肝肿瘤的灌注过程及回声变化规律, 探讨其在肝脏肿瘤诊断及鉴别诊断中的应用价值.

1 材料和方法

1.1 材料 2005-07/2006-10经手术病理或超声引导下穿刺组织活检证实的50例患者共54个肝实质性肿块, 肿块直径10-65(平均33) mm, 其中 HCC 24例26个, 转移性肝癌(MLT)8例10个, 肝血管瘤(HCH)10例10个, 肝局灶性结节性增生(FNH)4例4个, 肝硬化结节(Cirrhotic nodule)2例2个, 炎性假瘤(inflammatory pseudotumor of liver, IPL)1例1个, 手术后疤痕(operational scar)1例1个. 本研究采用意大利Bracco公司生产的超声造影剂SonoVue.

1.2 方法 使用西门子Sonoline Antares彩超诊断仪, 探头频率为2.5-5.0 MHz. 具有实时超声造影匹配成像技术, 机械指数MI为0.03-0.06. 造影剂使用前利用常规灰阶超声、彩色多普勒超声成像(CDFI)和能量多普勒超声成像(PDI)观察. 选取清晰的切面, 启动实时灰阶造影成像技术, 使扫查处于低机械指数状态, 即刻观察整个动态灰阶超声表现, 并做出造影后诊断.

统计学处理 采用SPSS10.0统计软件, 计量资料以mean±SD表示, 方法为方差分析, $P<0.05$ 为显著差异.

2 结果

本组除2例少血供胃肠道MLT、1例operational scar及1例IPL未见增强外, 24例HCC、6例MLT、10例HCH、4例FNH、以及2例Cirrhotic nodule, 经注射SonoVue后, 肝肿块在实时灰阶超声图像上均有不同程度、不同特点的增强表现即病灶内回声增多增亮(表1). 肝实质性肿块超声造影增强过程中的时相变化见表2. 如以肝肿块造影剂在动脉相快速增强门脉相快速消退作为诊断肝恶性肿瘤的指标, 则超声造影诊断肝恶性肿瘤的敏感性、特异性及准确性分别为91.7%(33/36)、100%(18/18)和94.4%(51/54).

3 讨论

本组资料显示, 肝良恶性肿瘤增强时相及灌注方式不同. 本组HCC24例26个肿块在实时超声造影上均表现为在早期动脉相快速整体增强,

表 1 注射SonoVue后各种肝实质性肿块的增强表现

	肿块数目	动脉相	门脉相	肝实质相
HCC	26	19个均匀增强、7个不均匀增强	25个低回声、1个等回声	25个明显的低回声、1个等回声
MLT	10	2个不均匀增强、6个边缘增强、2个不增强	10个略低回声	10个明显的低回声
HCH	10	9个肿块周边呈薄环形增强、1个未强化	1个肿块周边呈薄环形增强、肿块均向心性充盈	9个肿块内进一步增强、1个低回声
FNH	4	3个呈车轮状或轮辐状增强、1个均匀增强	4个中等高回声或等回声	3个中等高回声或等回声、1个低回声
Cirrhotic nodule	2	2个无增强	2个与周围正常肝实质呈同步增强	2个回声与肝组织相等无明显分界而不易辨认
Operational scar	1	无增强	呈清晰的低回声	呈清晰的低回声
IPL	1	无增强	呈清晰的低回声	呈清晰的低回声

即呈现“快进”特点. 有25个肿块在门脉相快速消退呈略低回声改变, 呈现“快出”特点, 此特点与动态增强CT表现的快进快出有类似之处^[2-3]. 超声造影又不同于动态增强CT, 首先超声造影剂微泡不会进入血管外间隙, 为真正的血池显像, 其次, 超声造影可观察某一病灶造影剂进入及流出的全过程, 这个实时操作过程是其他影像学技术无法比拟的^[4]. 由于HCC主要由肝动脉供血, 而周围肝实质约75%由门静脉供血, 门静脉显影需经过一次微循环才能到达肝脏, 因此延迟数秒, 两者出现的增强效应时相不同. 由于动静脉瘘的形成, 门脉期造影剂快速消退, 而周围正常肝实质出现强化, 肿瘤内回声强度明显低于周围正常肝组织, 呈现“快出”现象^[5-6], 本组占96%. MLT根据其原发病灶血运情况分为多血管型与少血管型. 来源于胃肠道的MLT以少血管型为主, 在动脉相主要表现为点线样增强或不增强, 而在门脉相与实质相则表现为低回声, 与周围增强的实质呈鲜明对比. 对于在B型超声中遗漏的病例能清晰显示, 提高了诊断的准确性、敏感性与特异性^[7-8].

魏瑞雪 *et al*^[9]对32例患者进行彩色多普勒

相关报道

随着新型微泡超声造影剂的研制成功及实时灰阶超声造影成像技术应用于临床, 使超声能按时相评价肝肿瘤的血流灌注特点. 近期国内外文献报道, 超声造影有望成为无创性评价肝肿瘤的微循环及肿瘤新生血管形成过程的重要影像手段, 显示了其重要的临床应用价值.

应用要点

实时灰阶超声造影成像技术的应用大大提高了超声对肝肿瘤的诊断和鉴别诊断能力.

名词解释

超声造影即实时灰阶超声造影,是借助于微泡与声波的谐振高度选择性地获得血流信息,真正做到微血管超声造影增强。超声造影适合于长时间实时地观察和记录组织血流变化,对于肝脏血流,可像CT造影那样明确区分动脉相、门静脉相和延迟相。

表 2 肝脏实质性肿块超声造影增强过程中时相变化的比较(mean ± SD, s)

病理类型	肿块数目	开始增强时间	达到峰值时间	增强消退时间	增强持续时间
HCC	26	18.1 ± 6.6	33.2 ± 5.5	57.3 ± 18.2	163.5 ± 16.8
MLT	8	17.3 ± 3.1	31.8 ± 2.8	63.4 ± 10.2	145.6 ± 24.0
HCH	10	25.3 ± 5.1 ^{bd}	68.9 ± 7.2 ^{bde}	180.9 ± 27.3 ^{bd}	467.3 ± 34.1 ^{bd}
FNH	4	19.0 ± 2.2	38.3 ± 1.7	155.3 ± 21.4 ^{bd}	374.3 ± 39.3 ^{bd}

^bP<0.01 vs HCC; ^dP<0.01 vs MLT; ^eP<0.01 vs FNH.

超声造影和实时灰阶谐波超声造影,两种方法均可观察肿块增强的时相变化,灰阶谐波造影时肝脏恶性肿瘤的表现快速增强,快速减退,其增强达峰值的时间及减退时间均早于肝良性病变,其增强的持续时间明显短于肝良性病变。彩色多普勒造影时造影剂注射方式不同,但反映的增强的动态变化规律相似。本组研究中肝脏恶性肿瘤的增强消退时间明显早于肝脏良性肿块,增强持续时间明显短于肝脏良性肿块,这与国内外文献报道相一致^[10-12]。

由于HCH是由大小不等的血窦组成,其血流速度相对于HCC来说比较缓慢,因此造影剂不易进出^[13]。本组实时灰阶超声造影显示HCH在晚期动脉相或门脉相于肿块周边出现薄环状增强,且呈缓慢的周围向心性增强,增强达峰值时间为68.9 ± 7.2 s明显长于其他肿瘤,同时在峰值时,呈环状、结节状增强,增强持续时间为467.3 ± 34.1 s明显长于恶性肿瘤,呈持续增强型,持续至整个门脉相及实质相。血管瘤的这种“慢进慢出”的增强方式具有较高的特异性,可达90%(9/10)。

FNH为富血供肿块,内部有较粗、欠平整的动脉进入中心部,并可见多条分支呈放射状或车轮状流向肿块边缘,其血供较肝癌更为丰富、规则^[14]。本组4例FNH造影后3例显示了在早期动脉相造影剂快速增强,在门脉相均呈高回声或等回声,在实质相只有1个为低回声。在肝实质相肝实质和肿块均强化,反使肿块显示不清,这对鉴别诊断多血管恶性肿瘤是非常有帮助的。这种增强方式和增强特点具有较高的特异性,可达75%(3/4)。本组1例炎性假瘤及1例手术后疤痕整个造影过程中无增强,实质相呈边界清晰的低回声区。

肝硬化结节中不存在异常血供^[15],造影后动脉相无增强,门脉相与周围肝实质呈同步增强。

从本组肝实质性肿块的表现特点来看,实

时灰阶超声造影能准确反映肝肿瘤的整体血供状况,利用造影后肿瘤回声增强的表达时相来鉴别良恶性肿瘤,大大提高了超声诊断的敏感性与准确性,为临床提供重要参考资料。然而,由于造影增强时间较短暂,使检查者执行与观察时间明显受限,不可能用多个不同的连续切面详细分析肝肿瘤造影改变。另外,一些少血管病灶的鉴别诊断存在一定困难,各种局灶性肿块的造影表现有一定相互重叠现象,这也为鉴别诊断增加了难度。

4 参考文献

- 1 陈敏华. 消化系统疾病超声学. 第1版. 北京: 北京出版社, 2003: 83
- 2 Numata K, Tanaka K, Kiba T, Saito S, Ikeda M, Hara K, Tanaka N, Morimoto M, Iwase S, Sekihara H. Contrast-enhanced, wide-band harmonic gray scale imaging of hepatocellular carcinoma: correlation with helical computed tomographic findings. *J Ultrasound Med* 2001; 20: 89-98
- 3 D'Onofrio M, Rozzanigo U, Caffarri S, Zogno A, Procacci C. Contrast-enhanced US of hepatocellular carcinoma. *Radiol Med (Torino)* 2004; 107: 293-303
- 4 黄丽萍, 解丽梅, 唐少珊, 刘守君. 实时超声造影对肝脏恶性肿瘤鉴别诊断的应用研究. *中国超声医学杂志* 2007; 23: 134-136
- 5 Choi BI, Lee JY, Han JK, Lee JM, Kim SH. Contrast-enhanced sonography for hepatocellular carcinoma. *Intervirology* 2004; 47: 162-168
- 6 陈敏华, 严昆, 戴莹, 沈理, 姜晓龙, 尹珊珊. 灰阶超声造影新技术对肝肿瘤诊断及射频治疗的应用价值. *中国医学影像技术* 2004; 20: 326-330
- 7 齐铮琴, 赵玉珍. 超声造影在肝肿瘤诊断中的应用. *临床荟萃* 2004; 19: 600-601
- 8 Seitz K. Contrast-enhanced ultrasound in the diagnosis of hepatocellular carcinoma and liver metastases. *Ultraschall Med* 2005; 26: 267-269
- 9 魏瑞雪, 王文平, 齐青, 丁红, 黄备建. 肝肿瘤实时灰阶谐波超声造影与彩色多普勒超声造影比较研究. *中国医学影像技术* 2004; 20: 331-334
- 10 王文平, 丁红, 齐青, 毛枫, 张韵华, 黄备建, 徐智章. 动态灰阶超声造影在肝肿瘤鉴别诊断中的应用. *中华超声影像学杂志* 2003; 12: 101-104
- 11 王文平, 丁红, 齐青, 毛枫, 张韵华, 徐智章. 动态灰阶超声造影在肝肿瘤诊断中的初步探索. *中国医学影像*

同行评价

本文对实时灰阶超声造影在肝肿瘤诊断中的价值进行了评价,为临床提供了一种新的鉴别诊断肝脏良恶性肿瘤的影像学方法,具有较强的临床应用价值。

- 技术 2001; 17: 1178-1179
- 12 Strobel D, Krodel U, Martus P, Hahn EG, Becker D. Clinical evaluation of contrast-enhanced color Doppler sonography in the differential diagnosis of liver tumors. *J Clin Ultrasound* 2000; 28: 1-13
- 13 徐金锋, 吴瑛, 熊奕, 彭启慧, 宋红, 冯晓凤, 丁志敏. 超声造影在肝脏占位性病变诊断中的应用研究. *中国现代医学杂志* 2006; 16: 3305-3308
- 14 王文平, 魏瑞雪, 丁红, 齐青, 黄备建. 肝肿瘤实时超声造影的血流动力学分析. *中华超声影像学杂志* 2004; 13: 359-362
- 15 梁莉, 简文豪. 超声造影在肝占位性病变诊断中的应用. *中华医学超声杂志* 2006; 2: 358-362

编辑 何燕 电编 郭海丽

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

第三届国际微创外科论坛暨 2007 年天津市 消化内镜学年会征文通知

本刊讯 为了跟踪国际发展的最新态势, 加强该领域的交流与合作, 由天津市医学会主办, 天津市南开医院、天津市微创外科中心承办的“第三届国际微创外科论坛暨2007年天津市消化内镜学年会”将于2007-11-02/04在天津举办。

本次会议还将邀请澳大利亚、奥地利、日本、香港等国家和地区及国内内镜、腹腔镜领域的知名专家与会, 以专题讲座及操作演示等方式展示当前微创外科(肝胆胰脾胃肠)领域的最新前沿技术, 其中包括: 大会专题演讲及大会论文交流; 微创手术实况演示; 内镜操作实况演示; 世界级大师精彩手术实况演示; 国家级继续教育项目; 微创手术新技术与新器械; 微创外科手术设备与器械展示。

1 征文内容和要求

征文内容: 凡是与本次会议内容相关的实验研究、临床工作总结、新方法、新技术、新器械等论文, 尚未在全国性学术会议上交流和尚未在国内外正式刊物上发表过的论文。征文要求: 论文、摘要、软盘各一份, 论文字数限4000字以内, 摘要800字以内, 按“目的、方法、结果、结论”。摘要中写明: “题目、作者、单位(包括城市和邮编)。

2 联系方式

邹富胜, 300100, 天津市南开区三纬路122号, 天津市南开医院. 注明会议论文。

亚硒酸钠作用的树突状细胞体外抗乙型肝炎病毒效应

陈显兵, 管小琴, 肖明

背景资料
抗乙型肝炎病毒的体外实验开展得很多,但大多是观察药物直接对细胞或对病毒的作用。而大量研究发现机体免疫功能低下是造成HBV感染及慢性化的原因之一。HBV感染及慢性化与DC的关系已成为目前研究的热点,现已证实DC是免疫激活途径中最重要的抗原呈递细胞,是免疫应答启动的一个重要环节,而且DC在免疫应答的发展和终止中也发挥决定性作用。因此改善DC功能状态在治疗乙肝方面具有广阔前景。

陈显兵, 重庆医科大学病理教研室(现在湖北民族学院工作) 重庆市 400016
管小琴, 肖明, 重庆医科大学病理教研室 重庆市 400016
通讯作者: 管小琴, 400016, 重庆市, 重庆医科大学病理学教研室. guanxiaojin2003@yahoo.com.cn
电话: 023-68485789
收稿日期: 2007-03-12 修回日期: 2007-08-24

Cytotoxic-T-lymphocyte-mediated anti-HBV effects of dendritic cells sensitized by sodium selenite *in vitro*

Xian-Bing Chen, Xiao-Qin Guan, Ming Xiao

Xian-Bing Chen, Department of Pathology, Chongqing University of Medical Science, Chongqing 400016, China
Xiao-Qin Guan, Ming Xiao, Department of Pathology, Chongqing University of Medical Science, Chongqing 400016, China

Correspondence to: Xiao-Qin Guan, Department of Pathology, Chongqing University of Medical Science, Chongqing 400016, China. guanxiaojin2003@yahoo.com.cn
Received: 2007-03-12 Revised: 2007-08-24

Abstract

AIM: To investigate the cytotoxic-T-lymphocyte (CTL)-mediated anti-HBV effects of dendritic cells (DCs) from patients with HBV sensitized by sodium selenite *in vitro*.

METHODS: DCs isolated from peripheral blood mononuclear cells of HBV patients were cultured and proliferated *in vitro*. They were divided into the sodium-selenite-stimulated group and the HBV group. DCs were stimulated with pure sodium selenite before maturation and then co-cultured with autolymphocytes after DC maturation. Lymphocytes were harvested 3 d later and added to the supernatant of 2.2.15 cell cultures. Supernatants were collected at 24, 48 and 72 h. ELISA was used to detect hepatitis B e antigen (HBeAg) and hepatitis B surface antigen (HBsAg), and to measure the concentration of interferon (IFN)- γ in the culture supernatants.

RESULTS: Proliferation, cytotoxicity and IFN- γ concentration of autolymphocytes were markedly enhanced in the sodium-selenite-stimulated

DCs and control groups compared with the HBV group (34.22 ± 3.17 ng/L and 38.39 ± 2.43 ng/L vs 21.47 ± 2.24 ng/L, $P < 0.05$). Compared with the liver group, CTLs activated in the sodium selenite and control groups had specific inhibitory effects on the expression of HBeAg in 2.2.15 cell supernatants ($25.90\% \pm 1.85\%$ and $23.03\% \pm 1.51\%$ vs $18.05\% \pm 3.64\%$; $37.26\% \pm 5.11\%$ and $36.88\% \pm 5.92\%$ vs $29.52\% \pm 2.63\%$; $38.76\% \pm 4.00\%$ and $40.76\% \pm 5.04\%$ vs $35.59\% \pm 3.09\%$; $P < 0.05$).

CONCLUSION: Human DCs sensitized by sodium selenite *in vitro* appear to efficiently enhance cytotoxicity and increase the level of IFN- γ , and effectively inhibit the expression of HBeAg in 2.2.15 cell supernatant. This may indicate a new route for therapy against chronic hepatitis B.

Key Words: Chronic Hepatitis B; Dendritic cells; Sodium selenite; Antivirus effects

Chen XB, Guan XQ, Xiao M. Cytotoxic-T-lymphocyte-mediated anti-HBV effects of dendritic cells sensitized by sodium selenite *in vitro*. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15(25): 2730-2733

摘要

目的: 探讨亚硒酸钠作用的树突状细胞(DCs)体外诱导自体淋巴细胞特异性抗乙型肝炎病毒的效应。

方法: 从乙型肝炎患者外周单个核细胞(PBMC)中诱导DCs, 在DCs成熟前加入营养浓度的亚硒酸钠作用, 将成熟后的DCs与自身淋巴细胞体外共培养, 3 d后收集淋巴细胞, 分组(乙肝组, 加硒组)加入2.2.15细胞培养液中, 分别收集24, 48和72 h的培养上清, 检测其表面抗原(HBsAg)和e抗原的分泌以及其与淋巴细胞共培养产生IFN- γ 的含量。

结果: 经亚硒酸钠作用后的DCs组和正常对照组的DCs与自身淋巴细胞共培养产生IFN- γ 的浓度, 以及在24, 48和72 h对2.2.15细胞培养上清中HBeAg分泌的抑制效应明显高于乙肝组(34.22 ± 3.17 ng/L, 38.39 ± 2.43 ng/L vs 21.47

± 2.24 ng/L; $25.90\% \pm 1.85\%$, $23.03\% \pm 1.51\%$ vs $18.05\% \pm 3.64\%$; $37.26\% \pm 5.11\%$, $36.88\% \pm 5.92\%$ vs $29.52\% \pm 2.63\%$; $38.76\% \pm 4.00\%$, $40.76\% \pm 5.04\%$ vs $35.59\% \pm 3.09\%$, $P < 0.05$).

结论: 体外经亚硒酸钠作用后的乙肝患者的DC功能可在一定程度上恢复, 增强自身淋巴细胞毒性作用并可提高产生IFN- γ 的含量, 可有效的起到抗乙肝病毒的效应, 为以后基于DC的慢性乙型肝炎的免疫治疗提供新思路.

关键词: 慢性乙型肝炎; 树突状细胞; 亚硒酸钠; 抗病毒作用

陈显兵, 管小琴, 肖明. 亚硒酸钠作用的树突状细胞体外抗乙型肝炎病毒效应. 世界华人消化杂志 2007;15(25):2730-2733
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2730.asp>

0 引言

树突状细胞(dendritic cell, DC)是免疫激活途径中最重要的抗原呈递细胞, 广泛分布于淋巴组织和非淋巴组织, 是免疫应答启动的一个重要环节, 而且DC在免疫应答的发展和终止中也发挥决定性作用. HBV感染慢性化与DC的关系已成为目前研究的热点. 本研究采用营养浓度的亚硒酸钠体外作用于慢性HBV感染者外周DC后, 初步探讨经亚硒酸钠作用后的DCs诱导自身淋巴细胞产生的抗病毒效应及其产生IFN- γ 的情况.

1 材料和方法

1.1 材料 本院附属医院就诊慢性乙型肝炎患者10例, 年龄23-49(平均37.6)岁, 男女各5例. 慢性乙型肝炎诊断符合2000年西安中华医学会传染病与寄生虫病学会、肝病学分会联合修订标准^[1], 排除HAV, HCV, HDV, HEV等病毒及其他原因(药物、酒精、中毒)造成的急慢性肝损伤. 健康自愿者8例, 年龄18-43(平均31.7)岁, 男女各4例. 研究对象均无心脑血管等疾病, 及其他器官合并症. 所有患者及健康志愿者血液采集均经本人知情同意. 2.2.15细胞株(为HepG₂肝癌细胞转染HBV后能稳定表达HBsAg, HBeAg和HBV DNA的细胞), 由重庆医科大学病毒性肝炎研究所提供. 人重组粒细胞-单核细胞刺激集落因子(rhGM-CSF)、人重组白细胞介素4(rhIL-4)、干扰素 α (IFN- α)、无血清培养基AIM-V购自美国Gibco公司, 淋巴细胞分离液(1.077×10^3 g/L)购自天津TBD公司. IFN- γ ELISA试剂盒购自晶美公

司. HBVsAg, HBVeAg ELISA检测试剂盒为河南理利生物工程有限公司产品, 亚硒酸钠购自北京中联试剂公司AR级试剂.

1.2 方法 把乙肝患者外周血来源的DC分成2份, 一份直接培养诱导为乙肝组; 另一份加入亚硒酸钠共培养为加硒组, 健康人外周血DC为对照组. 从外周血单核细胞中分离培养DC, 具体方法参照Romani *et al*^[2]方法.

1.2.1 亚硒酸钠浓度的确定 取诱导成熟的DC细胞制成 5×10^7 /L细胞悬液, 接种于96孔培养板内, 每孔200 μ L, 设3个复孔, 24 h后加入不同浓度的亚硒酸钠, 使其终浓度为0.05, 0.1, 0.3, 0.5, 1, 1.5, 2 mmol/L, 分别在加药后24, 48 h后, 采用MTT法检测各组细胞的光吸光度值, 具体方法如下: 在预定结束前4 h, 每个不同浓度组和对照组中加入20 μ L MTT(5 g/L), 继续培养4 h, 离心后吸去全部上清, 每孔加200 μ L二甲亚砜(DMSO), 摇匀振荡, 使结晶充分溶解, 在酶联免疫检测仪570 nm波长下测吸光度值(A值). 根据A值来确定亚硒酸钠对DC细胞适宜浓度范围, 选取中值浓度进行实验.

1.2.2 淋巴细胞与2.2.15细胞共培养 2.2.15细胞长满培养瓶后, 加入2.5 g/L胰酶, 37 $^{\circ}$ C消化, 加培养液吹打, 加入细胞计数板计数, 配制成 2×10^8 个细胞/L后接种于24孔细胞培养板, 每孔1 mL, 37 $^{\circ}$ C, 50 mL/L CO₂培养.

收集各组经IFN- α 刺激成熟的DC, AIM-V悬浮, 丝裂霉素25 mg/L处理45 min, Hank's洗4遍, 调整浓度为 2×10^8 /L, 5×10^3 /孔加入效应细胞孔中, 与自身淋巴细胞按1:20比例, 每孔 1×10^5 个细胞, 加入24孔板中, 37 $^{\circ}$ C, 50 mL/L CO₂培养3 d. 阴性孔不加DC, 用同一个体相同数量的淋巴细胞代替. 每组设3个复孔, 培养3 d, 收集上清, -70 $^{\circ}$ C冰箱中保存备用.

将上述经DC激活的自身淋巴细胞以1:20比例与接种于24孔板中呈对数生长期的2.2.15细胞(靶细胞, 每孔 2×10^5)共同培养, 同时分别设自身未经DC细胞激活的淋巴细胞为对照, 每组3个复孔, 倒置显微镜下观察. 分别于培养24, 48, 72 h收集2.2.15细胞培养上清液, -70 $^{\circ}$ C冰箱中保存备用.

1.2.3 上清中IFN- γ , HBsAg和HBeAg的测定 操作按试剂盒说明书进行. 抑制率 = 对照孔HBsAg(或HBeAg)效价-试验孔HBsAg(或HBeAg)效价/对照孔HBsAg(或HBeAg)效价. IFN- γ 检测采用IFN- γ ELISA试剂盒检测, 严格按

创新盘点
亚硒酸钠是微量元素, 在抗氧化损伤、抗衰老、提高机体免疫力方面具有作用. 但对DC功能的影响报道较少.

应用要点
为以后基于DC的乙肝免疫治疗提供理论依据;为微量元素硒的运用和开发利用提供了基础;将为DC治疗性疫苗的体内研究打下基础。

表 1 DC刺激自身淋巴细胞后分泌IFN- γ 的水平和对2.2.15细胞HBsAg、HBeAg抑制作用

分组	n	IFN- γ (ng/L)	HBsAg抑制率(%)			HBeAg抑制率(%)		
			24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
乙肝	10	21.47 \pm 2.24	12.27 \pm 1.13	12.58 \pm 0.74	13.87 \pm 1.10	18.05 \pm 3.64	29.52 \pm 2.63	35.59 \pm 3.09
加硒	10	34.22 \pm 3.17 ^a	12.70 \pm 2.61	13.64 \pm 0.87	16.12 \pm 1.29 ^a	25.90 \pm 1.85 ^a	37.26 \pm 5.11 ^a	38.76 \pm 4.00
对照	8	38.39 \pm 2.43	11.54 \pm 0.86	13.17 \pm 1.30	18.30 \pm 1.60 ^a	23.03 \pm 1.51 ^a	36.88 \pm 5.92 ^a	40.76 \pm 5.04 ^a

^a $P < 0.05$ vs 乙肝组.

照说明书操作,酶标仪读数,作标准曲线,确定含量.

统计学处理 用SAS9.0程序进行方差分析,结果以均数 \pm 标准差(mean \pm SD)表示, $P < 0.05$ 表示差异显著.

2 结果

2.1 亚硒酸钠浓度 亚硒酸钠在0.1-0.5 mmol/L浓度范围内作用DC 24, 48 h后A值的变化较小,当浓度高于0.5 mmol/L时A值显著降低,取中值浓度(0.3 mmol/L)进行实验.

2.2 DC刺激自身淋巴细胞后细胞因子IFN- γ 的检测 经亚硒酸钠作用后的DCs组和正常对照组的DCs与自身淋巴细胞共培养产生IFN- γ 的浓度明显高于乙肝组($P < 0.05$,表1).

2.3 DC激活的淋巴细胞与2.2.15细胞培养时上清中HBsAg, HBeAg的分泌情况 试验发现乙肝组DC激活的淋巴细胞,对2.2.15细胞培养上清中HBeAg分泌的抑制效应比加硒组和对照组明显减弱($P < 0.05$),且随着培养时间的延长抑制作用越强.但3组中对HBsAg的抑制作用不明显,仅在培养72 h加硒组和对照组对其抑制率比乙肝组高, $P < 0.05$ (表1).

3 讨论

DCs是体内功能最强大的抗原呈递细胞,就有激活MHC相同的自身反应性T细胞和激活MHC不同的同种反应性T细胞双重作用,在人体抗病毒的免疫应答过程中,成熟的DC表达高水平的MHC-抗原复合物、共刺激分子和分泌多种细胞因子,并作为机体免疫应答的始动子和调节子,成为抗病毒免疫应答的中心环节^[3-4].我们前期研究发现慢性HBV感染者外周血DC功能存在障碍,表现在分泌的细胞因子IL-12减少,刺激淋巴细胞增殖的能力下降,同时还发现细胞内乙肝患者DC功能缺陷可能与HBV感染DC后产生的氧自由基损伤和GSH-Px过度消耗有关.体

外经亚硒酸钠作用后的乙肝患者的DC可有效的刺激淋巴细胞增殖反应,并可提高IL-12分泌水平,保持膜流动性,增强对自由基损伤的抵抗能力,提示可在一定程度上恢复DC的功能^[5].

目前针对乙肝病毒的体外实验开展得很多^[6],大多是观察药物直接对细胞和病毒的作用.肝癌细胞系2.2.15可以稳定地分泌HBsAg, HBcAg和HBeAg及HBV DNA.实验中我们用乙肝组、加硒组和对照组的DC刺激自身的淋巴细胞,再与2.2.15细胞共培养,观察其对肝癌细胞株2.2.15培养上清中HBsAg和HBeAg表达影响.本实验结果显示,各组淋巴细胞与2.2.15细胞培养时,对抗原的分泌没有影响.经DC激活的淋巴细胞中,乙肝组对抗原的抑制率比对照组显著要低($P < 0.05$),加硒组对HBeAg的抑制作用与乙肝组比较明显升高($P < 0.05$).研究认为HBeAg为可溶性蛋白,可自感染细胞分泌至细胞外,也可定位于感染细胞膜,成为机体免疫应答杀伤和破坏的细胞靶抗原, HBeAg与HBV DNA在血液循环中的消长动态相符,故通常认为检出HBeAg是体内有HBV复制的标志^[7].本试验结果提示慢性乙肝患者DC经亚硒酸钠作用后一定程度上恢复其功能,能一定程度上恢复CTL等免疫活性细胞的功能,从而抑制乙肝病毒HBeAg的分泌和病毒复制的作用.但实验中对HBsAg抑制作用均不明显.

T细胞介导的免疫应答在抗肿瘤和抗病毒免疫中起主导作用, T细胞的致敏激活和扩增依赖于抗原提呈细胞(APC)提呈相应的抗原多肽和提供刺激信号,分泌Th1型应答主导因子,诱导机体生成抗原特异性CTL,并通过细胞裂解机制、细胞凋亡机制和CTL活化时产生的细胞因子(TNF- α , IFN- γ 等)对病毒或肿瘤产生杀伤或抑制作用,因此APC是启动机体产生抗肿瘤免疫和抗病毒免疫的中心环节.同样,乙肝病毒清除机制也是CTL细胞通过杀伤感染的肝细胞和释放

抗病毒的细胞因子来清除乙肝病毒^[8-9], 而CTL的激活依赖于APC提供的抗原肽复合物、共刺激分子及其释放的细胞因子如IL-12. 然而HBV慢性感染者体内的CTL反应是低下的. 有报道在包括HBV感染在内的各种不同病毒感染中, 存在抗原提呈功能的缺陷^[10]. 特别是DC功能的缺陷, 而且这种特异性的免疫调节和抗原提呈功能的缺陷往往预示着感染HBV后发展成慢性肝炎^[11]. 所以, 除母婴垂直传播引起的先天性免疫缺陷外, 抗原提呈细胞(主要是DC)功能缺陷或异常是HBV慢性感染者体内CTL反应低下的重要原因. 因此通过提高DC功能来提高CTL反应活性、打破免疫低下的方法很可能成为治愈慢性乙型肝炎的一种重要的治疗手段. 由于体内具有杀伤活性的T细胞应答不足以清除病毒, 而通过体外培养扩增患者的抗原提呈细胞, 并经体外功能修复后进一步刺激激活T细胞的活性, 可能有助于病毒的清除, 这将为DC治疗性疫苗的体内研究打下基础. 补充微量元素硒将有助于提高机体的免疫力和抗HBV感染具有一定作用.

4 参考文献

- 1 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案. 中华肝脏病杂志 2000; 8: 324-329
- 2 Romani N, Reider D, Heuer M, Ebner S, Kampgen E, Eibl B, Niederwieser D, Schuler G. Generation of mature dendritic cells from human blood. An improved method with special regard to clinical applicability. *J Immunol Methods* 1996; 196: 137-151
- 3 van den Broeke LT, Daschbach E, Thomas EK, Andringa G, Berzofsky JA. Dendritic cell-induced activation of adaptive and innate antitumor immunity. *J Immunol* 2003; 171: 5842-5852
- 4 Holtl L, Zelle-Rieser C, Gander H, Papesch C, Ramoner R, Bartsch G, Rogatsch H, Barsoum AL, Coggin JH Jr, Thurnher M. Immunotherapy of metastatic renal cell carcinoma with tumor lysate-pulsed autologous dendritic cells. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 3369-3376
- 5 陈显兵, 管小琴. 亚硒酸钠对慢性乙型肝炎患者外周血树突状细胞的作用及机制. 世界华人消化杂志 2007; 15: 528-532
- 6 Mancini-Bourgine M, Fontaine H, Scott-Algara D, Pol S, Brechot C, Michel ML. Induction or expansion of T-cell responses by a hepatitis B DNA vaccine administered to chronic HBV carriers. *Hepatology* 2004; 40: 874-882
- 7 梁英锐, 丁灏, 朱世能. 现代肝脏病理学. 天津: 天津科学技术出版社, 1998: 245-254
- 8 Nayersina R, Fowler P, Guilhot S, Missale G, Cerny A, Schlicht HJ, Vitiello A, Chesnut R, Person JL, Redeker AG, Chisari FV. HLA A2 restricted cytotoxic T lymphocyte responses to multiple hepatitis B surface antigen epitopes during hepatitis B virus infection. *J Immunol* 1993; 150: 4659-4671
- 9 Rehmann B, Fowler P, Sidney J, Person J, Redeker A, Brown M, Moss B, Sette A, Chisari FV. The cytotoxic T lymphocyte response to multiple hepatitis B virus polymerase epitopes during and after acute viral hepatitis. *J Exp Med* 1995; 181: 1047-1058
- 10 李用国. 树突细胞与抗HIV免疫. 国外医学流行病学传染病学分册 2000; 27: 244-246
- 11 Egea E, Iglesias A, Salazar M, Morimoto C, Kruskall MS, Awdeh Z, Schlossman SF, Alper CA, Yunis EJ. The cellular basis for lack of antibody response to hepatitis B vaccine in humans. *J Exp Med* 1991; 173: 531-538

同行评价
本文研究亚硒酸钠提高抗原提呈细胞功能的机制, 立题新颖, 设计合理, 方法成熟, 对临床研究有一定的参考意义和指导价值.

编辑 程剑侠 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

关于2006年度山西省期刊质量评估结果的通报

本刊讯 为推动期刊出版事业的繁荣和发展, 中共山西省委宣传部、山西省新闻出版局、山西省科学技术厅共同组织了2006年度期刊质量评估工作. 此次参评的为2005年度山西省出版的196种期刊, 其中, 社科期刊110种、科技期刊86种. 评估结果如下: 一级(优秀)期刊共88种, 其中社科期刊42种, 科技期刊46种, 包括世界胃肠病学杂志和世界华人消化杂志; 二级期刊共103种, 其中社科期刊64种, 科技期刊39种; 三级期刊共5种, 其中社科期刊4种, 科技期刊1种. (中共山西省委宣传部、山西省新闻出版局、山西省科学技术厅)

腹腔镜联合胆道镜治疗胆管结石160例

刘树清, 陈书忠, 吴云光, 余明豪

背景资料
胆管结石的微创治疗是近几年讨论的热点问题, 其微创治疗方法已有多种, 本文旨在探讨应用简便、治疗效果确切、治疗周期短、并发症少的治疗方法。

刘树清, 陈书忠, 吴云光, 余明豪, 河南省职工医院微创外科
河南省郑州市 450002
通讯作者: 刘树清, 450002, 河南省郑州市农业路71号, 河南省
职工医院微创外科. lsq371@126.com
电话: 0371-63916976
收稿日期: 2007-07-30 修回日期: 2007-09-06

Laparoscopy combined with choledochoscopy for the treatment of bile duct calculi: 160 cases analysis

Shu-Qing Liu, Shu-Zhong Chen, Yun-Guang Wu,
Ming-Hao She

Shu-Qing Liu, Shu-Zhong Chen, Yun-Guang Wu, Ming-Hao She, Department of Minimally Invasive Surgery, Worker's Hospital of He'nan Province, Zhengzhou 450002, He'nan Province, China

Correspondence to: Shu-Qing Liu, Department of Minimally Invasive Surgery, Worker's Hospital of He'nan Province, 71 Nongye Road, Zhengzhou 450002, He'nan Province, China. lsq371@126.com

Received: 2007-07-30 Revised: 2007-09-06

Abstract

AIM: To discuss techniques and effects of laparoscopy combined with choledochoscopy in choledocholithotomy.

METHODS: A retrospective analysis was performed of clinical data on 160 patients with choledocholithiasis that were treated with laparoscopic common bile duct exploration and stone removal with choledochoscopy from January 1998 to December 2006 at our hospital.

RESULTS: The laparoscopic operation was successfully completed in 159 patients, and a conversion to open surgery was needed in only 1 patient. The primary suture of the bile duct was performed in 68 patients, while T-tube drainage was conducted in 92 patients. The stones were completely removed during the operation in 156 patients; stone removal under choledochoscopy was required in 4 patients after the operation. The operation duration was 70-120 minutes (mean, 115 minute). The postoperative hospital stay was 4-11 days (mean, 6 days). No bile duct

hemorrhage or abdominal infection was seen. No fatalities were noted. Postoperative biliary leakage occurred in 2 patients, and both were cured with a second suture and drainage with laparoscopy. Follow-up observations in 120 patients for 6-36 months (mean, 18 months) found no recurrence of bile duct stones or long-term complications.

CONCLUSION: Laparoscopy combined with choledochoscopy for choledocholithotomy has the advantage of less invasion, rapid recovery and shorter hospitalization. It is a safe and effective method for bile duct stones.

Key Words: Laparoscopy; Choledochoscopy; Common bile duct stone

Liu SQ, Chen SZ, Wu YG, She MH. Laparoscopy combined with choledochoscopy for the treatment of bile duct calculi: 160 cases analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15(25): 2734-2736

摘要

目的: 探讨腹腔镜联合胆道镜在胆总管切开取石中的应用方法及疗效。

方法: 回顾性分析1998-01/2006-12我院160例胆总管结石行胆总管探查、胆道镜取石的临床资料。

结果: 159例在腹腔镜下顺利完成手术, 1例中转开腹。胆总管一期缝合68例, 置T管92例, 术中取尽结石156例, 术后胆道镜取石4例。手术时间70-120(平均115) min, 术后住院时间4-11(平均6) d。无胆道出血及腹腔感染, 无手术死亡。术后胆漏2例, 经再次腹腔镜下缝合与引流治愈。120例随访6-36(平均18) mo, 无结石复发和远期并发症。

结论: 腹腔镜联合胆道镜胆总管探查取石术具有创伤小、恢复快、住院时间短的优点, 治疗胆总管结石安全有效。

关键词: 腹腔镜; 胆道镜; 胆总管结石

刘树清, 陈书忠, 吴云光, 余明豪. 腹腔镜联合胆道镜治疗胆管结

石160例. 世界华人消化杂志 2007;15(25):2734-2736
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2734.asp>

0 引言

在腹腔镜胆囊切除术(LC)广泛普及以后, 胆管结石的微创治疗已成为近几年讨论的热点, 临床报道不断增加. 自1998-01/2006-12, 我们应用腹腔镜联合纤维胆道镜行胆总管探查取石术(LCBDE)160例, 临床效果满意, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 本组160例中, 男63例, 女97例, 年龄25-81(平均52)岁. 胆总管结石合并胆囊结石138例, 合并肝内胆管结石8例. 患者均有右上腹痛病史, 其中132例有黄疸或黄疸史, 3例有胰腺炎发作史, 3例在入院前曾行EST取石失败. 术前诊断根据B超、CT、磁共振胆胰管成像. 160例中胆总管单发结石74例, 多发结石86例, 肝内胆管单发结石3例, 多发结石5例, 胆总管直径7-24 mm.

1.2 方法 均行气管插管全麻, Trocar穿刺部位同LC, 剑突下穿刺点稍偏下以利于缝合胆管. 术中先切除胆囊, 用电凝钩电切解剖肝十二指肠韧带浆膜层, 辨认清胆总管, 用细针穿刺予以证实, 电钩或电针纵行切开胆总管, 长约1.5-2 cm. 先用拨棒自下而上挤压胆管, 看到结石直接取出, 然后将纤维胆道镜经剑下10 cm套针转换器孔插入腹腔和胆管切口内观察, 见到结石用取石网篮取出, 取出困难者置入常规取石器械试取或用钬激光碎石, 取出的结石放入收集袋. 导尿管冲洗胆管, 再行胆道镜检查有无残石, 并观察胆管末端通畅情况, 决定是置T管还是一期缝合. 本组92例放置T管, 68例一期缝合. 缝合采用雪橇针, 3或4-0薇乔线, 间断、连续缝合均可, 温氏孔处常规放置引流管. 置T管者T管从右锁骨中线套管孔引出腹腔, 术后2 wk造影, 如无残石, 夹闭T管, 术后3-4 wk拔除T管.

2 结果

本组160例中, 159例镜下顺利完成手术, 1例因有开腹胆道手术史, 腹腔粘连严重中转开腹. 手术时间70-210(平均115) min. 分别取出结石1-30枚. 术后8-20 h下床活动, 仅7例患者术后应用了止疼药物, 术后住院4-11(平均6) d. 本组无死亡病例, 无切口感染. 发生并发症2例, 1例为一期缝合胆总管患者, 腹腔引流管拔除后第2天出现

少量胆漏, 再次行腹腔镜检查, 见胆管切口有1针缝线松脱, 镜下加缝1针治愈. 另1例为置T管患者, 术后21 d拔除T管后出现胆漏腹痛, 再次腹腔镜探查见窦道形成不全, 经窦道重新安放引流管, 1 mo后拔管治愈. 4例术后残留结石, 其中2例为肝内多发结石术中未能取净, 2例为胆总管残石, 6 wk后门诊行胆道镜经T管窦道取石成功. 本组120例术后随访6-36 mo, 未见有结石复发和术后肠粘连梗阻.

3 讨论

LCBDE由于具有创伤小、恢复快、并发症少、保留了Oddi括约肌功能等优点, 被认为是目前治疗胆总管结石较好的选择方案^[1-4], 尤其适用于胆囊结石合并胆总管结石^[5]. 根据我们的体会, LCBDE在技术上是安全可行的, 但要求术者具有熟练的腹腔镜、胆道镜操作经验和镜下缝合打结技术, 在手术操作中还应注意以下环节: (1) 切开胆总管的位置要选择在胆总管与肝总管交界处前壁, 尽量避免在十二指肠上缘切开, 该处血管较多, 切开时易出血; (2) 取石后用胆道镜全面、仔细、按顺序检查胆道至少2次, 确认结石取净, 并仔细观察胆管末端通畅情况; (3) 助手要随时吸引出胆管切口溢出的冲洗液和胆汁, 避免流到腹腔其他部位以引起术后感染; (4) 缝合时选用可吸收无损伤缝线, 掌握好1.5-2 mm的针距和边距, 要打外科结, 缝合完毕用小块干纱布检查有无渗漏.

纤维胆道镜是LCBDE术中不可缺少的工具, 他的意义在于探查和取石两方面, 还可以在镜下对胆道狭窄处进行扩张. 取石主要用网篮, 对下端嵌顿结石, 将网篮越过结石轻轻拉动, 使结石逐渐向近侧滑动, 如不能成功, 可用活检钳将结石夹碎. 如结石较多较大, 可拔出剑突下Trocar, 从套管孔置入常规器械取石, 可明显缩短操作时间. 胆管末端或乳头嵌顿紧密的结石和肝内结石有时取出非常困难, 也是LCBDE的难点, 当上述方法不能奏效时, 我们采用钬激光碎石(美国科医人公司激光机), 将光导纤维经胆道镜通道置入, 对准结石, 将其击成碎块后用网篮取出或冲洗出. 钬激光对周围组织热损伤很小, 使用安全性高^[6-7]. 本组应用钬激光碎石18例, 均使结石全部清除, 效果良好. 钬激光碎石技术使胆道镜的功能更加完善, 大大降低了胆道镜取石的难度, 提高了胆道探查术取净结石的比例^[8].

应用要点
腹腔镜下胆管取石在临床上尚未广泛开展, 尤其是基层医院. 本文的操作方法及经验有一定的指导意义.

同行评价

本文采用腹腔镜联合胆道镜治疗160例胆管结石患者, 结果发现临床效果较好, 得出的结论有一定的参考价值和应用前景。

腹腔镜下胆总管切开取石后是放置T管引流还是一期缝合胆管, 是该术式目前讨论和争议的热点^[9-10], 主要问题是担心一期缝合后出现胆漏和胆管狭窄。根据国内外多篇报导^[11-13]和我们的体会, 一期缝合更具有微创的优越性, 患者康复更快, 胆汁也未丢失, 也避免了长时间带管的不便。由于腹腔镜有5倍左右的放大作用, 且视野良好, 使胆道的缝合非常清楚可靠, 缝合质量可接近显微手术水平^[14], 一般不易引起胆漏和胆管狭窄。本组仅在开展初期出现1例缝线松脱引起胆漏, 第2次镜下加缝1针治愈。虽然一期缝合有明显的优点, 但要严格掌握其适应证, 只有同时具备下列条件才可一期缝合: (1)术中确认结石已取净, 包括肝内结石; (2)胆管末端及开口通畅; (3)胆管壁炎症较轻; (4)全面胆道探查未发现胆道其他病变。否则应置T管引流以策安全, 我们体会安放T管后应先缝合T管下端, 由于镜下进针角度原因, 后缝合上端更易缝合严密。魏琪 *et al*^[15]在腹腔镜胆总管切开取石后采用经胆囊管放置输尿管导管引流(用Lapro-Clip固定), 术后5 d拔管, 认为该临时性胆道减压引流方法有利于防止胆漏发生, 并可避免T管相关并发症, 其应用前提是确认术中结石已取净。由于腹腔镜手术对腹腔干扰小, 腹腔内粘连轻, 窦道形成时间晚, 放置T管后拔管时间一般要延至4 wk以上, 本组1例术后3 wk拔管时出现胆漏, 应引以为训。

4 参考文献

- 1 Tranter SE, Thompson MH. Comparison of endoscopic sphincterotomy and laparoscopic exploration of the common bile duct. *Br J Surg* 2002; 89: 1495-1504
- 2 张阳德, 路晓林, 万小平, 李年丰, 龚连生, 刘蔚东. 腹腔镜手术治疗胆囊结石合并胆总管结石的临床研究. *中国内镜杂志* 2005; 11: 113-115, 118
- 3 Paganini AM, Feliciotti F, Guerrieri M, Tamburini A, Campagnacci R, Lezoche E. Laparoscopic cholecystectomy and common bile duct exploration are safe for older patients. *Surg Endosc* 2002; 16: 1302-1308
- 4 Wei Q, Wang JG, Li LB, Li JD. Management of choledocholithiasis: comparison between laparoscopic common bile duct exploration and intraoperative endoscopic sphincterotomy. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2856-2858
- 5 Rojas-Ortega S, Arizpe-Bravo D, Marin Lopez ER, Cesin-Sanchez R, Roman GR, Gomez C. Transcystic common bile duct exploration in the management of patients with choledocholithiasis. *J Gastrointest Surg* 2003; 7: 492-496
- 6 Kuo RL, Kim SC, Lingeman JE, Paterson RF, Watkins SL, Simmons GR, Steele RE. Holmium laser enucleation of prostate (HoLEP): the Methodist Hospital experience with greater than 75 gram enucleations. *J Urol* 2003; 170: 149-152
- 7 吴忠, 丁强, 姜昊文, 郑景存, 杨醒, 张元芳. 钦激光碎石治疗输尿管结石238例. *中国微创外科杂志* 2005; 5: 437-438
- 8 吴成军, 张扬, 叶冠雄. 术中胆道镜钦激光碎石治疗难取性肝内胆管结石. *中国微创外科杂志* 2006; 6: 290-291
- 9 Decker G, Borie F, Millat B, Berthou JC, Deleuze A, Drouard F, Guillon F, Rodier JG, Fingerhut A. One hundred laparoscopic choledochotomies with primary closure of the common bile duct. *Surg Endosc* 2003; 17: 12-18
- 10 张雷达, 别平, 陈平, 王曙光, 马宽生, 董家鸿. 腹腔镜胆道探查术后胆管一期缝合与T管引流的疗效比较. *中华外科杂志* 2004; 42: 520-523
- 11 Martin IJ, Bailey IS, Rhodes M, O'Rourke N, Nathanson L, Fielding G. Towards T-tube free laparoscopic bile duct exploration: a methodologic evolution during 300 consecutive procedures. *Ann Surg* 1998; 228: 29-34
- 12 尹思能, 李青亮, 张诗诚, 蔡斌, 易斌, 郑坚, 李涛, 肖宏, 陈先林, 赵晓峰. 腹腔镜胆总管探查的临床价值(附530例报告). *中国微创外科杂志* 2003; 3: 122-124
- 13 王京立, 杨放霖, 陆春雷. 腹腔镜胆总管探查、一期缝合的应用研究. *中国微创外科杂志* 2006; 6: 19-20
- 14 张海峰, 张光永, 胡三元. 腹腔镜胆总管探查一期缝合术的临床应用. *腹腔镜外科杂志* 2005; 10: 183-185
- 15 魏琪, 蔡小燕, 李立波, 王观宇, 虞洪. 腹腔镜胆总管切开后胆道引流. *世界华人消化杂志* 2004; 12: 1223-1225

编辑 何燕 电编 郭海丽

观察和检测肠胆反流现象方法学的建立

吴硕东, 金俊哲, 张振海, 孙韶龙, 田雨, 王昊霖, 张立魁

吴硕东, 金俊哲, 张振海, 孙韶龙, 田雨, 王昊霖, 张立魁, 中国医科大学附属盛京医院第一微创、胆道外科 辽宁省沈阳市 110004

通讯作者: 吴硕东, 110004, 辽宁省沈阳市, 中国医科大学附属盛京医院第一微创、胆道外科. wushuodong@yahoo.com.cn
电话: 024-83955062

收稿日期: 2007-04-14 修回日期: 2007-08-22

Establishing a methodology for detection and confirmation of duodenal-biliary reflux

Shuo-Dong Wu, Jun-Zhe Jin, Zhen-Hai Zhang, Shao-Long Sun, Yu Tian, Hao-Lin Wang, Li-Kui Zhang

Shuo-Dong Wu, Jun-Zhe Jin, Zhen-Hai Zhang, Shao-Long Sun, Yu Tian, Hao-Lin Wang, Li-Kui Zhang, Department of the First Minimally Invasive Surgery and Biliary Surgery, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China
Correspondence to: Shuo-Dong Wu, Department of the First Minimally Invasive Surgery and Biliary Surgery, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. wushuodong@yahoo.com.cn
Received: 2007-04-14 Revised: 2007-08-22

Abstract

AIM: To determine methods for detection and confirmation of duodenal-biliary reflux.

METHODS: One hundred and twenty-three patients with a T tube after cholecystectomy and choledochotomy were randomly divided into reflux and non-reflux groups by measuring the amount of radioactivity of ^{99m}Tc -DTPA, ICG, amylase, lipase and pepsinogen II in the bile. The incidence rate for barium in the biliary tract after barium meal examination was recorded to confirm the existence of duodenal-biliary reflux.

RESULTS: The amount of radioactivity of ^{99m}Tc -DTPA, ICG, amylase and lipase in the bile of patients with a T tube after cholecystectomy and choledochotomy was detected to a varying extent. Radioactivity of ^{99m}Tc -DTPA provided the most sensitive measure.

CONCLUSION: Establishing a methodology for detection and confirmation of duodenal-biliary reflux has an important role in research into estimat-

ing the structure and function of the Oddi sphincter and formation of bile duct pigment stones.

Key Words: Duodenal-biliary reflux; Detection; Methods

Wu SD, Jin JZ, Zhang ZH, Sun SL, Tian Y, Wang HL, Zhang LK. Establishing a methodology for detection and confirmation of duodenal-biliary reflux. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15(25): 2737-2740

摘要

目的: 寻找和建立有效的观察和检测肠胆反流现象的方法。

方法: 对胆道术后留有T型管的患者, 口服核素 ^{99m}Tc -DTPA和吲哚菁绿(ICG), 定时留取T型管引流的胆汁进行测定; 对胆道术后患者和Oddi括约肌切开(EST)术后患者给予口服稀钡胶浆, X线下观察平卧位及头低位钡剂在胆道中的显示; 对胆道术后留有T型管的患者胆汁中胰脂肪酶、胰淀粉酶以检测肠胆反流。

结果: 核素 ^{99m}Tc -DTPA法简单易行、廉价、可定量、检测结果容易理解。ICG检测肠胆反流具有核素检查同样的优势, 但敏感性不及核素检测。以胰淀粉酶和胰脂肪酶为标记物, 肠胆反流检出率高于核素检测, 但不能排除胰胆反流的影响, 缺乏特异性。钡餐对肠胆反流的观察虽然可以直视观察, 但仍有灵敏度不高, 难定量评价的缺点。

结论: 观察和检测肠胆反流现象的方法中核素法更具有优越性, 建立肠胆反流观察的方法学对于研究肠胆反流性疾病具有重要意义。

关键词: 肠胆反流; 检测; 方法

吴硕东, 金俊哲, 张振海, 孙韶龙, 田雨, 王昊霖, 张立魁. 观察和检测肠胆反流现象方法学的建立. *世界华人消化杂志* 2007;15(25):2737-2740

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2737.asp>

0 引言

Oddi括约肌是胆胰管进入十二指肠处的平滑肌,

背景资料
肠胆反流是胆汁细菌感染的重要环节, 而细菌感染和胆色素结石的形成有着密切的关系。因而, 寻找和建立有效的观察和检测肠胆反流现象的方法对于研究肠胆反流在胆色素结石形成过程中的作用具有重要意义。

相关报道

李幼生 *et al* 指出正常情况下大分子核素在体内均不被胃肠黏膜吸收, 因此, 本文提出, 依据大分子核素的放射性, 口服后可从T管引流胆汁证实经Oddi括约肌是否存在反流。

具有调控胆汁、胰液排泄的重要作用。迄今已知胆源性胰腺炎、先天性胆管囊状扩张症、胆囊切除术后综合征等均与其异常有关。胆管胆色素结石被认为与肠道细菌反流入胆管内形成的胆道感染存在密切联系。然而, 有关肠胆反流现象的观察和检测方法尚未见到系统报道。我们将对一系列观察和检测肠胆反流现象的方法进行总结, 以求寻找和建立有效的观察和检测肠胆反流现象的途径。

1 材料和方法

1.1 材料 2004-04/2006-02因胆道残石在我院住院治疗的患者123例, 男48例, 女75例, 平均年龄58.1(27-81)岁, 全部患者均已行胆囊切除、胆总管探查取石及T型管引流术, 平均手术后时间2.5 mo。另取同期肝门胆管癌及十二指肠壶腹部恶性肿瘤患者11例, 男8例, 女3例, 平均年龄55.9(29-73)岁。行PTCD置管1-2 wk并经造影证实胆总管末端完全梗阻且PTCD管未通过梗阻远端。

1.2 方法

1.2.1 口服核素^{99m}Tc-DTPA法 123例患者于检查前禁食一夜, 口服含有185 MBq的^{99m}Tc-DTPA水1 mL, 接着240 mL水漱服, 立即平卧位。经T型引流管或PTCD管收集接下来的2 h胆汁, 取其中的20 mL, 采用RM905型放射活性检测仪计数放射性活度。如果胆汁中可以检测到放射性活度, 则认为该患者存在十二指肠胆道反流。所有的^{99m}Tc-DTPA均在服用前配制, 并且经放射色谱检测其放射化学纯度(radiochemical purity)。所有选用的药品^{99m}Tc-DTPA的放射化学纯度大于99%, 即游离^{99m}Tc小于1%。

1.2.2 口服吲哚菁绿 胆道残石的患者12例, 男4例, 女8例, 平均年龄58.3(48-80)岁, 患者口服含有吲哚菁绿(ICG) 25 mg液体及水240 mL。按上法收集胆汁后立即用分光光度计比色, 波长806 nm。根据标准曲线, 计算实际测得的ICG含量。如胆汁中检测的ICG \geq 1 mg/L, 则认为存在十二指肠胆道反流。

1.2.3 检测胆汁中胰酶含量 胆道残石的患者26例, 男12例, 女14例, 平均年龄57.5(31-79)岁, 收集T型管引流胆汁20 mL, 用日立7170A生化分析仪测定胆汁中胰淀粉酶和胰脂肪酶含量, 以胰淀粉酶 >100 U/L, 胰脂肪酶 >60 U/L为阳性标准观察和判定肠胆反流的存在。

1.2.4 钡餐的观察 X线下观察胆道结石术后患者

表 1 胆汁中胰淀粉酶和胰脂肪酶的水平及肠胆反流

反流	胰淀粉酶		胰脂肪酶	
	n(%)	平均值(U/L)	n(%)	平均值(U/L)
阳性	12(46.2)	4022.0	22(84.6)	2607.5
阴性	14(53.8)	15.4	4(15.4)	42.2

和Oddi括约肌切开(EST)后患者口服稀钡胶浆后, 平卧位及头低位钡剂在胆道中显示的情况, 观察和判定肠胆反流。

2 结果

2.1 口服核素^{99m}Tc-DTPA法 11例PTCD引流患者术后2 h胆汁引流量为 43.9 ± 19.7 mL, 胆汁中全部都未测出放射活度。行胆道取石T管引流术的患者123例中有44例检测到十二指肠胆道反流(35.8%)。其中, 44例反流阳性患者2 h胆汁引流量 38.5 ± 17.2 mL, 放射计数 99.7 ± 1.0 kBq。79例未检测到放射性活度的患者, 2 h胆汁引流量 35.9 ± 20.0 mL。

2.2 口服吲哚菁绿(ICG)检测和观察肠胆反流 以不同浓度梯度的含有ICG胆汁与分光光度吸收A值做成标准曲线, 可得到回归方程 $Y(A值) = 0.277 \times (ICG浓度mg/L)$, 根据测得A值计算ICG浓度。12例ICG测定发现2例为阳性。而在同样标本中核素检测有4例为阳性(16.7%)。

2.3 检测胆汁中胰酶含量 血液中胰淀粉酶正常值为0-100 U/L, 胰脂肪酶0-60 U/L。为此我们设定胆汁中胰酶含量超过血中正常值上限时为反流阳性(表1)。

2.4 钡餐观察肠胆反流 采用钡餐透视观察非胆系疾病(对照组), 胆囊息肉、胆囊结石、胆管结石(胆管结石组1)和行EST切开取石后胆管结石组(胆管结石组2)及胆肠R-Y吻合术组。肠胆反流结果见表2。

3 讨论

消化道存在若干括约肌或肌性高压区, 起到防止逆流之作用。Oddi括约肌解剖和功能的异常将能影响到胰胆反流、胆胰反流和十二指肠胆道反流的发生^[1]。Oddi括约肌的正常活动受神经体液的双重控制。不但Oddi括约肌与胆囊需要协调性工作, 而且胃肠蠕动变化也会改变Oddi括约肌的功能状态。正常的Oddi括约肌的功能性运动, 使胆汁及胰液排入十二指肠参与食物

消化和吸收. 一般不会出现十二指肠液向胆胰管道内的逆流. 以往人们推测胆道细菌感染的可能途径之一是由肠道反流进入胆道, 胆管结石发生中, 如 β -G酶^[2]、磷脂酶的作用等均与细菌感染密切相关^[3]. 我们针对几百例术后留置T管的胆道疾病患者采用胆道镜治疗和观察时发现, 不少病例肝内外胆管附壁上存在胃肠内容物样物质, 如蔬菜叶、米粒或食糜黏液等. 同样, 胆道镜很容易经Oddi括约肌开口进入十二指肠腔内.

那么如何观察和证实肠胆反流现象的存在呢? 目前, 人们观察十二指肠胆道反流的方法主要有: 口服泛影葡胺的放射线检查^[4]、口服苏打后超声波检测^[5]、超声多普勒检查^[6]以及服用核素标记的大分子物质, 如^{99m}Tc-DTPA后在闪烁扫描仪(8Pect)下测定^[7]. 这些结果只有依靠影像专家才能识别, 个体判定变化大, 灵敏度不高, 难以定量. 我们在关于胆管胆色素结石成因研究中建立和使用了一系列观察和检测肠胆反流现象的方法. 通过胆管结石患者T管引流胆汁, 分别定量检测其中核素、ICG、胰酶和胃蛋白酶原使判定更加精确化.

正常情况下大分子核素在体内均不被胃肠黏膜吸收^[8], 依据其特有的放射性, 可从T管引流胆汁证实经Oddi括约肌是否存在反流. 11例PTCD引流胆汁的检测均为阴性, 这也证实, 当胆管完全梗阻, 由肝内分泌的胆汁不具有放射性. 此方法简单易行、价廉、可定量、检测结果容易理解. ICG以往多用于评价肝脏储备功能, 浓度和吸光度呈线性关系^[9], 不经尿液排泄, 无肠肝循环, 在人体内不参与任何化学反应, 黑暗条件下可以室温存放24 h保持稳定^[10]. 因此可以对反流入胆管中的ICG进行定量. 本研究中ICG检测反流阳性率为核素检测的一半, 两种检测方法具有良好的对应关系, ICG检测肠胆反流具有核素检查同样的优势, 但敏感性不及核素检测. 胆汁中胰酶主要有3个来源: 血液中滤过; 胰胆反流和肠胆反流, 其中以前者为主. 因此将胆汁中胰酶超过血清正常值上限确定为反流阳性, 以胰淀粉酶和胰脂肪酶为标记物, 阳性率高于核素检测, 由于尚不能排除胰胆反流的影响, 目前, 其作用价值还有待于进一步探讨. 钡餐对肠胆反流的观察以往曾有应用, 虽然比较直视, 但仍有灵敏度不高, 不能定量, 难于观察等缺点, 从以上结果可以看到在已有的方法中, 核素方法更具有优越性.

表 2 各组患者钡餐后肠胆反流的观察结果n(%)

分组	n	阳性	阴性
对照	23	0(0)	23(100)
胆囊息肉	21	0(0)	21(100)
胆囊结石	48	0(0)	48(100)
胆管结石(1)	33	1(3.03)	32(96.97)
胆管结石(2)	42	30(73.81)	12(26.19)
胆肠R-Y吻合	19	4(21.05)	15(78.95)

作为防止十二指肠液反流的Oddi括约肌, 其功能状态与肠胆反流的发生存在密切的关系. 当Oddi括约肌功能运动不良时, 便失去了对胆汁排泄所起的单向阀门作用, 不能阻止十二指肠内容物反流至胆管内, 引发胆汁的感染和胆汁成分的析出, 沉淀最终成为结石. 故十二指肠胆道反流在胆管色素结石的形成中起着重要作用, 而Oddi括约肌异常则可能是根源所在. 这一点在我们的系列研究中也已得到证实^[11-17]. 建立系统有效而又简便易行的观察和检测肠胆反流的方法对研究胆管色素结石与Oddi括约肌的异常关系具有重要的意义.

4 参考文献

- Calabuig R, Weems WA, Moody FG. Choledochoduodenal flow: effect of the sphincter of Oddi in opossums and cats. *Gastroenterology* 1990; 99: 1641-1646
- Rege RV. The role of biliary calcium in gallstone pathogenesis. *Front Biosci* 2002; 7: e315-325
- Denson LA, Sturm E, Echevarria W, Zimmerman TL, Makishima M, Mangelsdorf DJ, Karpen SJ. The orphan nuclear receptor, shp, mediates bile acid-induced inhibition of the rat bile acid transporter, ntcp. *Gastroenterology* 2001; 121: 140-147
- Bilbao MK, Dotter CT. Reflux cholangiography in sphincteroplasty or enterobiliary anastomosis. *Radiology* 1975; 115: 585-588
- Wu CH, Chiu HM, Liu KL, Lin JT, Wang HP. Sonographic demonstration of duodenobiliary reflux with soda enhancement. *J Clin Ultrasound* 2004; 32: 249-252
- Germain A, Proux C, Oury F. Significance of radiocinematology in the diagnosis of duodenobiliary reflux and biliodigestive fistulas. *Mem Acad Chir (Paris)* 1961; 87: 854-858
- 冯变喜, 李德伟, 刘桂荣, 冯贵生. 胆囊结石病人存在肠胆返流. *山西医药杂志* 1996; 25: 250-251
- 李幼生, 李宁, 康健, 朱虹, 李福建, 黎介寿. ^{99m}Tc-DTPA测定肠道通透性的方法及应用. *肠外与肠内营养* 1998; 5: 227-229
- Caesar J, Shaldon S, Chiandussi L, Guevara L, Sherlock S. The use of indocyanine green in the measurement of hepatic blood flow and as a test of hepatic function. *Clin Sci* 1961; 21: 43-57
- Meijer DK, Weert B, Vermeer GA. Pharmacokinetics

应用要点
观察和检测肠胆反流现象的方法中核素法更具有优越性, 建立肠胆反流观察的方法学对于研究肠胆反流性疾病具有重要意义.

同行评价

本文总结了近2 a关于肠胆反流观察方法建立的临床科研工作, 行文流畅, 内容全面, 具有科学性和实用性, 尤其对临床工作有一定的指导意义.

- of biliary excretion in man. VI. Indocyanine green. *Eur J Clin Pharmacol* 1988; 35: 295-303
- 11 Sun SL, Wu SD, Zhang XB. Oral (99m)Tc-DTPA simultaneous determination of duodenobiliary reflux and intestinal permeability in patients after choledocholithotomy plus T-tube drainage. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2005; 4: 593-596
- 12 金俊哲, 吴硕东, 苏洋, 张振海, 张立魁. 肠胆反流在胆管胆色素结石患者中存在及其意义探讨. *中国老年学杂志* 2006; 26: 474-476
- 13 金俊哲, 吴硕东, 苏洋, 张振海, 张立魁, 孔静. 肠胆反流对胆管胆色素结石形成的影响. *世界华人消化杂志*

2006; 14: 727-730

- 14 孙韶龙, 吴硕东, 徐微娜, 于树鹏. 口服^{99m}Tc-DTPA同时检测T管引流术后患者十二指肠胆道反流与肠道通透性. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 148-150
- 15 吴硕东, 张振海, 孙韶龙. 99Tcm-DTPA直接肠道灌注检测肠胆反流. *中华核医学杂志* 2006; 26: 373-375
- 16 吴硕东, 于宏, 王昊霖, 苏洋, 张振海, 孙韶龙, 孔静, 田雨, 田忠, 魏义, 金红旭, 金俊哲. Oddi括约肌与胆管色素结石形成关系的探讨. *中华外科杂志* 2007; 45: 58-61
- 17 吴硕东, 田雨. Oddi括约肌功能异常与胆管胆色素结石病. *外科理论与实践* 2007; 12: 313-314

编辑 程剑侠 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

2007 年国际会议

Meeting Falk Workshop: Mechanisms of Intestinal Inflammation

10 October 2007

Dresden

symposia@falkfoundation.de

Meeting APDW 2007 - Asian Pacific Digestive Disease Week 2007

15-18 October 2007

Kobe

apdw@convention.co.jp

Meeting Falk Symposium 161: Future Perspectives in Gastroenterology

11-12 October 2007

Dresden

symposia@falkfoundation.de

15th United European Gastroenterology Week, UEGW 27-31 October 2007

Le Palais des Congrès de Paris, Paris, France

American College of Gastroenterology Annual Scientific Meeting

12-17 October 2007

Pennsylvania Convention Center

Philadelphia, PA

Meeting The Liver Meeting® 2007 - 57th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases

2-6 November 2007

Boston - MA

www.aasld.org

胰腺神经鞘瘤50例

李新星, 郑继慧, 戴朝六, 闫兆鹏, 张逸婧

李新星, 戴朝六, 闫兆鹏, 张逸婧, 中国医科大学附属盛京医院肝胆外科 辽宁省沈阳市 110004
郑继慧, 中国医科大学附属第四医院 辽宁省沈阳市 110032
通讯作者: 戴朝六, 110004, 辽宁省沈阳市, 中国医科大学附属盛京医院肝胆外科. daicl-sy@tom.com
电话: 024-83955232
收稿日期: 2007-07-09 修回日期: 2007-08-25

Analysis of 50 cases of pancreatic schwannoma

Xin-Xing Li, Ji-Hui Zheng, Chao-Liu Dai, Zhao-Peng Yan, Yi-Jing Zhang

Xin-Xing Li, Chao-Liu Dai, Zhao-Peng Yan, Yi-Jing Zhang, the Second Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China
Ji-Hui Zheng, the Fourth Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110032, Liaoning Province, China
Correspondence to: Chao-Liu Dai, the Second Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. daicl-sy@tom.com
Received: 2007-07-09 Revised: 2007-08-25

Abstract

AIM: To analyze the incidence of pancreatic schwannoma and investigate its diagnosis and treatment.

METHODS: A retrospective study of clinical data from 50 patients with pancreatic schwannoma.

RESULTS: The lesion was located in the head of pancreas in 25 patients, the body in 9 (18%), the body and tail in 6, the tail in 5, the head and body in 2, the neck in 1, and the location was not specified in 2 patients. Solid tumors were found in 18 patients, cystic tumors in 25, and the nature of the tumor was not specified in 7 patients. Forty-nine patients received operative therapy. Thirteen patients underwent a Whipple operation, 12 distal pancreatectomy, 12 local resection, 8 simple enucleation, and in 2 patients the surgical procedure was not specified. The tumor in 1 patient was unresectable. One patient underwent biopsy. One patient refused surgery. The longest follow-up was 9 years, and there have been no reports of local recurrence or metastasis.

CONCLUSION: Preoperative diagnosis of pancreatic schwannoma is difficult. Definite diagnosis depends on pathological examination. Benign tumors can be effectively treated by local excision but those with malignancy should be treated by simple enucleation. Intraoperative frozen sections are useful for determining which kind of operation should be undertaken.

Key Words: Pancreas; Schwannoma; Diagnosis; Treatment

Li XX, Zheng JH, Dai CL, Yan ZP, Zhang YJ. Analysis of 50 cases of pancreatic schwannoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15(25): 2741-2746

摘要

目的: 分析胰腺神经鞘瘤的特点并探讨其诊治方法。

方法: 对文献上报告的49例及我院收治的1例胰腺神经鞘瘤患者的临床特点进行回顾性分析。

结果: 胰头病变25例, 胰体9例, 胰体/尾部6例, 胰尾部5例, 胰头/体部2例, 定位不明的2例, 胰颈部1例。实性肿瘤18例, 囊性25例, 7例患者肿瘤的性质不能确定。49例患者手术切除, 胰十二指肠切除术13例, 远端胰腺切除术12例, 肿瘤局部切除术12例, 单纯肿瘤核除术8例, 术式不明2例, 肿瘤无法切除1例, 活检1例, 拒绝手术1例。随访时间最长的达到9 a, 无肿瘤复发和转移。

结论: 胰腺神经鞘瘤术前诊断困难, 绝大部分为良性, 恶性少见, 确诊靠病理。良性者可行肿瘤核除术, 恶性者可根治性切除, 术中快速病理切片有助于决定手术方式。

关键词: 胰腺; 神经鞘瘤; 诊断; 治疗

李新星, 郑继慧, 戴朝六, 闫兆鹏, 张逸婧. 胰腺神经鞘瘤50例. *世界华人消化杂志* 2007;15(25):2741-2746
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2741.asp>

0 引言

胰腺神经鞘瘤(雪旺细胞瘤Schwannoma)临床

背景资料
胰腺神经鞘瘤(雪旺细胞瘤Schwannoma)临床少见, 可发生于任何部位有Schwann细胞膜神经, 尤好发于脊髓和脑, 四肢、颈部等部位大神经也较多见, 发生于消化系统少见, 发生于胰腺甚少见, 国外Cornil *et al*于1948年首先报道, 至今共计42例。国内至今共报道7例。患者的年龄从17岁至89岁不等, 无性别差异, 多为单发病灶, 且大多数肿瘤位于胰头部。

应用要点
对于良性肿瘤, 建议行单纯肿瘤核除术, 但恶性肿瘤需行根治性切除术, 术中快速病理切片有助于决定手术方式, 无法切除者, 可行放疗, 但疗效还有待观察。

少见, 自1948年Cornil首次报道本病以来, 至2007-03国外共发表有关文献36篇, 总计42例. 国内文献报道共7例, 最近我院收治1例, 现结合文献就国内外报告的50例加以综合分析.

1 材料和方法

1 材料 收集国外1948/2007-03发表的有关胰腺神经鞘瘤文献36篇(42例)(表1), 国内文献7篇(7例)及我院收治的1例患者, 共计8例(表1).

2 方法 总结国内外报告的50例胰腺神经鞘瘤患者的临床资料, 分析其临床病理特点, 探讨胰腺神经鞘瘤的临床诊治原则.

2 结果

我院1例患者, 男, 42岁, 1 mo前体检超声发现胰头肿块. 无腹痛、体质量下降、黄疸, 既往无酗酒、创伤及胰腺炎病史. 查体: 皮肤巩膜无黄染, 腹部未扪及包块. 实验室检查(包括血糖、血清胰岛素、血清淀粉酶及脂肪酶等)均正常. 血清肿瘤标记物(CEA、CA199、CA125等)亦在正常范围. CT平扫示胰头内圆形低密度灶, 大小约7.3 cm×4.1 cm×4.0 cm(图1A), 增强CT肿物略增强, 密度不均, CT值10-36 HU(图1B). 剖腹手术见肿瘤位于胰头部, 周围无炎症征象. 术中冰冻切片提示良性神经鞘瘤, 遂行单纯肿物核除术. 大体标本见肿物呈灰红色, 大小6 cm×4 cm×3 cm, 包膜完整, 切面呈灰黄色, 实性, 质韧. 镜下, 瘤细胞呈梭形, 排列成漩涡状及栅栏状(图1C), 病理诊断: 胰头神经鞘瘤.

50例胰腺神经鞘瘤患者的详细情况见表1. 患者平均年龄55.94(范围17-89)岁, 表明胰腺神经鞘瘤易发于中老年人群. 男女比例24:26. 最常见的主诉为腹痛, 见于29例患者(58%). 平均大小是6.60(范围1.0-26) cm. 腹痛组肿瘤的平均大小小于非腹痛组(6.09 cm vs 7.25 cm), 表明腹痛不依赖于肿瘤的大小, 且为胰腺神经鞘瘤的早期症状之一. 胰头部病变25例, 占50%, 胰体部9例, 占18%, 胰体/尾部6例, 占12%, 胰尾部5例, 占10%, 胰头/体部2例, 占4%, 定位不明2例, 占4%, 胰颈部1例, 占2%, 实性肿物18例, 占36%, 囊性肿物25例, 占50%, 7例患者肿瘤的性质不确定.

25例胰头病变的患者中, 行胰十二指肠切除术13例, 6例单纯肿物核除术, 4例肿物局部切除术, 1例活检, 1例拒绝手术. 9例胰体病变的患者中, 行远端胰腺切除术4例, 3例肿物局部切除术, 2例单纯肿物核除术. 6例胰体/尾病变的患者中, 行

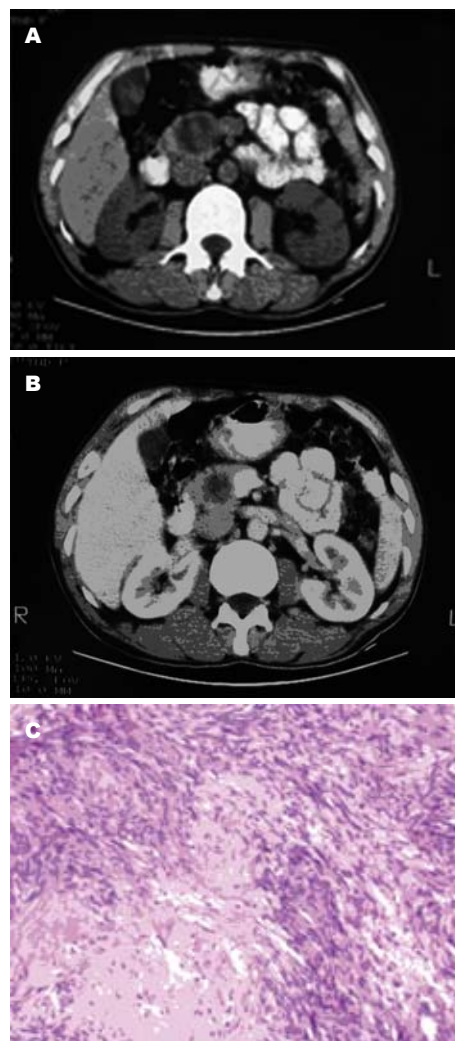


图1 胰腺神经鞘瘤. A: CT平扫示胰头内圆形低密度灶, 边界较清; B: 增强CT示肿物略增强, 内部密度欠均匀; C: 镜下见瘤细胞呈梭形, 形成束状及编织状结构, 核长, 梭形, 形成Verocay小体(HE×100).

远端胰腺切除术3例, 2例肿物局部切除术, 1例肿物无法切除. 5例胰尾病变的患者, 均实施了远端胰腺切除术. 2例胰头/体部病变患者中, 1例行肿物局部切除术, 1例术式不明. 2例占位不明患者均行肿物局部切除术. 1例胰颈病变的患者术式不明.

英文文献42例中25例随访了平均 $19.6 \pm 21.65(3-108)$ mo, 另外17例未随访. 国内文献病例随访不明. 随访病例中无复发或死亡.

4例恶性患者, 均来自英文文献, 有3例肿瘤在胰头部, 行胰十二指肠切除术, 1例在胰体/尾部, 已无法切除, 但均无远处转移. 3例患者随访期间(4-24) mo无复发或死亡.

3 讨论

神经鞘瘤又称雪旺细胞瘤(schwannoma), 是由神经鞘膜增生形成, 来源于神经外胚层的Schwann

表 1 42例英文文献和8例国内胰腺神经鞘瘤患者临床资料

名词解释
神经鞘瘤又称雪旺细胞瘤(schwannoma), 是由神经鞘膜增生形成, 来源于神经外胚层的Schwann细胞和中胚层的神经内膜, 可发生于任何部位有Schwann细胞膜的神经, 尤好发于脊髓和脑, 四肢、颈部等部位大神经也较多见, 发生于消化系统少见, 发生于胰腺甚为少见。胰腺神经鞘瘤源自迷走神经分支的自主性交感神经或副交感神经纤维。

病例	年份	性别	年龄	主要症状	部位	性状	大小	术式	恶变	随访(mo)
国外										
1 ^[3]	2007	M	36	上腹不适	钩突	囊性	4.0	核除	-	无
2 ^[12]	2006	M	42	无症状	体	实性	2.5	远端胰腺, 脾切除	-	无
3 ^[7]	2005	F	46	衰弱, 体质量减轻	头	实性伴中心坏死	3.0	胰十二指肠切除	-	24
4 ^[11]	2005	M	71	上腹痛, 食欲减退	头	囊性	1.0	核除	-	10
5 ^[9]	2005	F	64	无症状	头	实性	2.5	核除	-	24
6 ^[4]	2004	F	69	左上腹痛伴恶心呕吐	头	囊性	5.0	肿物局部切除 ¹	-	无
7 ^[2]	2004	F	77	上腹痛, 体质量减轻	体	实性	3.5	核除	-	3
8 ^[6]	2004	F	55	无症状	头	囊性	8.0	胰十二指肠切除	-	10
9 ^[8]	2004	F	67	无症状	头	囊性	5.0	胰十二指肠切除	-	43
10 ^[10]	2003	M	46	右上腹痛	头	囊性	2.2	胰十二指肠切除	-	无
11 ^[1]	2001	F	47	后背痛	头	实性	5.5	胰十二指肠切除	-	15
12 ^[1]	2001	F	73	急性腹痛	头	囊性	3.0	胰十二指肠切除	-	17
13 ^[13]	2001	F	63	上腹痛	尾	囊性	10	远端胰腺切除	-	6
14 ^[14]	1999	F	50	上腹痛	体/尾	囊性	9.5	远端胰腺, 脾切除	-	7
15 ^[15]	1998	M	52	无症状	体	囊性	5.5	肿物局部切除 ¹	-	无
16 ^[15]	1998	M	69	无症状	头	囊性	6	胰十二指肠切除	-	无
17 ^[16]	1998	F	70	上腹痛	体/尾	囊性	18.0	肿物局部切除 ¹	-	24
18 ^[17]	1997	M	63	无症状	体	实性	2	核除	-	24
19 ^[17]	1997	F	54	腹痛并向背部放散	头	实性	2	核除	-	24
20 ^[18]	1997	F	46	上腹痛	头	囊性	12.0	肿物局部切除 ¹	-	无
21 ^[19]	1995	M	47	右腹痛	体	NS	3.5	远端胰腺切除	-	48
22 ^[19]	1995	M	63	腹痛	体	囊性	NS	远端胰腺切除	-	无
23 ^[19]	1995	F	68	上腹痛	头/体	囊性	NS	NS	-	6
24 ^[20]	1995	M	41	腹痛	钩突	囊性	1.5	胰十二指肠切除	-	无
25 ^[21]	1994	M	59	无症状	钩突	实性	4	胰十二指肠切除	-	10
26 ^[22]	1993	M	89	上腹痛, 发热, 呕吐	体/尾	囊性	20	远端胰腺切除	-	无
27 ^[23]	1993	M	46	右腹痛	钩突	囊性	6	肿物局部切除 ¹	-	无
28 ^[24]	1992	F	56	右下腹痛	体	囊性	4	远端胰腺切除	-	无
29 ^[25]	1992	M	73	右上腹痛	体/尾	实性	2	肿物局部切除 ¹	-	无
30 ^[26]	1990	F	72	贫血, 黑便	头	实性伴中心坏死	7	胰十二指肠切除	+	无
31 ^[27]	1990	F	75	急性腹痛, 呕吐, 腹泻	头	实性	7	拒绝手术	-	7
32 ^[28]	1989	F	35	腹痛, 贫血, 黑便	头	NS	NS	胰十二指肠切除	+	24
33 ^[29]	1988	F	46	胆绞痛	头	实性	4	核除	-	108
34 ^[30]	1987	F	40	上腹痛, 黄疸, 体质量减轻	头	实性伴中心坏死	10	胰十二指肠切除	+	9
35 ^[31]	1984	M	70	腹痛, 腹胀, 便秘	体	囊性	4	肿物局部切除 ¹	-	无
36 ^[32]	1982	M	60	腰背痛, 体质量减轻	体/尾	囊性	17.5	无法切除	+	4
37 ^[33]	1982	F	48	上腹不适, 嗝气	体/尾	囊性	26	远端胰腺切除	-	无
38 ^[34]	1978	F	50	腹部无痛性肿物	尾	实性	19	远端胰腺切除	-	13
39 ^[35]	1969	F	66	无症状	NS	囊性	NS	肿物局部切除 ¹	-	无
40 ^[36]	1962	F	65	腹痛	尾	NS	NS	远端胰腺切除	-	12
41 ^[36]	1962	F	32	腹痛	尾	NS	NS	远端胰腺切除	-	12
42 ^[2]	1948	M	36	黑便	头	NS	NS	活检	-	6
国内										
43 ^{本院}	2007	M	42	无症状	头	实性	6.0	核除	-	无
44 ^[5]	2006	M	72	上腹痛	头/体	实性	1.0	肿物局部切除 ¹	-	无
45 ^[37]	2005	M	17	上腹痛, 呕吐	NS	实性伴中心坏死	4.0	肿物切除, 十二指肠侧侧吻合术	-	无
46 ^[38]	2005	M	72	上腹胀痛	颈	NS	1.0	NS	-	无
47 ^[39]	2004	M	65	左上腹不适	尾	囊性	4.0	远端胰腺, 脾切除	-	无
48 ^[40]	1999	M	44	无症状	头	实性	6.0	肿物局部切除 ¹	-	无
49 ^[41]	1996	M	50	上腹不适	体	囊性	4.2	肿物局部切除 ¹	-	无
50 ^[42]	1990	F	38	右上腹隐痛	头	NS	12.0	胰十二指肠切除	-	无

¹切除局部肿物具体术式不详, NS(国外)具体资料不详, NS(国内)环状胰腺无法定位。

同行评价
本文总结和归纳了胰腺神经鞘瘤的临床病理特点、治疗、预后。全文层次清楚,逻辑性强,分析全面深入,有较强的临床实用性。

细胞和中胚层的神经内膜,可发生于任何部位有Schwann细胞膜的神经,尤好发于脊髓和脑,四肢、颈部等部位大神经也较多见,发生于消化系统少见,发生于胰腺甚为少见^[1]。胰腺神经鞘瘤源自迷走神经分支的自主性交感神经或副交感神经纤维^[2]。国外Cornil *et al*于1948年首先报道,至今共计42例。国内至今共报道7例。患者的年龄从17岁至89岁不等,无性别差异,多为单发病灶,且大多数肿瘤位于胰腺头部。

胰腺神经鞘瘤可发生于胰腺的任何部位,以胰腺头部多见,其次是胰体、胰体/尾部^[3]。患者一般无特异临床表现,常表现为不同程度的上腹胀满、不适、隐痛,也可伴有体质量降低、恶心、黑便、黄疸等,少数患者无临床症状。胰腺神经鞘瘤多为单发,生长缓慢,表面一般有完整的包膜,略半透明,如有囊性变、出血时可呈粉红色、黄色、灰褐色。肿瘤由Schwann细胞和不同含量的网状纤维组成, Schwann细胞是支持周围神经的主要元件,除了产生和维持髓鞘外,他还包绕并机械性地保护无髓鞘神经元轴突,引导神经纤维的再生。Schwann细胞能产生两种类型的肿瘤:神经鞘瘤或Schwann细胞瘤,神经纤维瘤。神经鞘瘤是一种典型的包膜完整的神经鞘膜瘤,不含神经细胞和胶原,在显微镜下,观察切片免疫过氧化物酶染色, S-100蛋白、弹性蛋白、CD56为强阳性,而包括索蛋白、细胞角蛋白AE1/AE3、中间蛋白、平滑肌肌球蛋白、CD34和CD117在内的其他肿瘤标记物为阴性^[4]。组织学上分析肿瘤组织有2种结构: (1) Antoni A区: 高度细胞化,有致密的细胞结构和网状纤维,细胞呈栅栏样编织状或旋涡状排列,无有丝分裂的迹象; (2) Antoni B区: 典型的细胞减少样,肿瘤细胞多形性,基质缺少纤维,细胞核稀少或仅在边缘有平行排列的网状结构,通常表现为退化性变,例如淀粉样变、囊形成、间质出血、钙化,多数胰腺神经鞘瘤可见到A、B两区共存或两区相互移行状态^[4]。

胰腺神经鞘瘤的术前诊断很困难, CT扫描通常是确定胰腺肿瘤的最佳选择。在CT扫描中,肿瘤常为边界清晰,包膜完整, CT值在0-30 HU的低密度病灶,通常呈均一密度或花斑状^[5]。这些低密度区是由多种因素混合造成的,包括低细胞质以及囊性退变。病理分型与CT表现密切相关,以Antoni A区为主的胰腺神经鞘瘤,由于肿瘤脂质成分高,而网状血管成分使其对比增强,病变看起来质地不均,呈复合体样,有时可

见多处分隔及不同程度的中心坏死或出血的低密度灶,而以Antoni B区为主的胰腺神经鞘瘤,由于疏松细胞不成形的结构、无明显纤维成分的基质, CT呈囊性外观,无对比增强^[5-6]。

胰腺神经鞘瘤在磁共振成像上具有特征性的表现: 典型的包膜,在T1加权上为低信号, T2加权上为高信号^[7]。除了信号强度的变化,磁共振可以提示涉及血管的情况,这可以更进一步确定病灶的恶变潜能。胰腺神经鞘瘤在T2加权上为高信号,且相对于其他胰腺组织的特征性对比增强,有助于与腺癌的鉴别。

由于临床上本病常无特异症状,与其他胰腺肿瘤不易鉴别。囊性胰腺神经鞘瘤与胰腺假性囊肿非常相似,因此胰腺炎的有无非常重要;一个残留囊肿通常继发于慢性胰腺炎。棘球蚴疾病,可有囊壁钙化,及其他部位受累,容易根据临床和实验室检查诊断。小细胞质液性腺瘤呈蜂窝状,中央星形瘢痕,中央或周围有钙化是其可靠指标。囊性淋巴管瘤密度同水,多分叶状,偶有板层钙化,与胰腺神经鞘瘤不易区别。无功能胰岛细胞肿瘤最常见于胰体部, CT示其质地为均匀的低密度影,因此很难与胰腺神经鞘瘤鉴别。

此外,孤立性神经纤维瘤等具有梭形细胞特征的胰腺非上皮性肿瘤,也与胰腺神经鞘瘤类似。然而,神经纤维瘤没有Antoni A和Antoni B特点,且对S-100蛋白的染色不均匀^[8]。胰腺神经鞘瘤多有包膜,而神经纤维瘤则没有。在磁共振上见到沿肿瘤边缘的低信号影,可以作为胰腺神经鞘瘤与神经纤维瘤鉴别诊断的标准。胰腺神经鞘瘤和神经纤维瘤的鉴别非常重要,因为神经纤维瘤与Recklinghausen病(多发性神经纤维瘤病)明显相关,极易恶变^[8]。胰腺神经鞘瘤可以是良性或恶性,但良性恶变极为少见^[9]。继发于神经纤维瘤的恶变类似梭形细胞肉瘤,而胰腺神经鞘瘤的恶变通常呈上皮样表现,这种上皮样表现提示可能为转移癌^[10]。恶性胰腺神经鞘瘤现在被称为恶性周围神经鞘瘤,以区别于良性胰腺神经鞘瘤恶变。肿瘤生长迅速、周围组织侵袭、实性不均匀,边界不清、CT呈特征性的对比增强,以及血栓形成可能均为恶性的常见特征。细胞角蛋白阳性而S-100蛋白阴性,缺少经典的Antoni A或Antoni B特征可以帮助区别良恶性胰腺神经鞘瘤。

尽管胰腺神经鞘瘤的最终确诊有赖于肿瘤的病理学检查,但影像学检查,可以帮助确定病

灶的良性本质, 明确解剖定位, 缩小鉴别诊断范围. 细针穿刺细胞学检查或术中冰冻切片可以提高术前诊断的准确性^[3].

胰腺神经鞘瘤最好的治疗就是外科切除. 因为胰腺神经鞘瘤的恶变发生率极低, 所以该肿瘤提倡创伤小的单纯肿瘤核除术; 肿瘤的早期发现与早期治疗可以提高核除术的比例以及避免创伤性很大的胰十二指肠切除术^[11]. 50例中, 只有8例进行了单纯肿瘤核除术(大小: 1-4 cm之间). 绝大多数胰腺神经鞘瘤可根据他们的大小和部位行核除术. 术中冰冻切片活检有助于确立良性胰腺神经鞘瘤的诊断, 这对于术式的选择很有意义, 可以将其限于核除术而非进一步的根治切除. 胰腺神经鞘瘤切除术后复发极为罕见, 因此, 术中为避免损伤神经或周围组织, 即使肿瘤包膜不能完整切除, 甚至行肿瘤次全切除术也是可以的^[9]. 如肿瘤大位于胰头部、侵袭壶腹部或脾门部均可根据具体情况行根治性手术. 最近有报告: 胰腺神经鞘瘤对放疗有较好反应, 但具体疗效仍不清楚^[12].

文献中, 随访时间最长者达到9 a, 无肿瘤复发和转移. 4例活检为恶性的患者, 其确诊方法并不一致, 有3例未采用或无法采用免疫荧光染色. 获得随访的3例(1例没有报道)在术后4-24 mo均无瘤或带瘤生存. Paranjape *et al*^[2]认为可能是误诊的神经纤维瘤恶变.

胰腺神经鞘瘤虽属罕见, 但应注意与胰腺其他疾病鉴别. 术前影像检查有助于诊断; 确诊需要组织学检查. 对于良性肿瘤, 建议行单纯肿瘤核除术, 但恶性肿瘤需行根治性切除术. 无法切除者, 可行放疗, 但疗效还有待观察.

4 参考文献

- Almo KM, Traverso LW. Pancreatic schwannoma: an uncommon but important entity. *J Gastrointest Surg* 2001; 5: 359-363
- Paranjape C, Johnson SR, Khwaja K, Goldman H, Kruskal JB, Hanto DW. Clinical characteristics, treatment, and outcome of pancreatic Schwannomas. *J Gastrointest Surg* 2004; 8: 706-712
- Fasanella KE, Lee KK, Kaushik N. Clinical challenges and images in GI. Benign schwannoma of the pancreatic head. *Gastroenterology* 2007; 132: 489, 830
- Bui TD, Nguyen T, Huerta S, Gu M, Hsiang D. Pancreatic schwannoma. A case report and review of the literature. *JOP* 2004; 5: 520-526
- Yu RS, Sun JZ. Pancreatic schwannoma: CT findings. *Abdom Imaging* 2006; 31: 103-105
- von Dobschuetz E, Walch A, Werner M, Hopt UT, Adam U. Giant ancient schwannoma of pancreatic head treated by extended pancreatoduodenectomy. *Pancreatology* 2004; 4: 505-508
- Novellas S, Chevallier P, Saint Paul MC, Gugenheim J, Bruneton JN. MRI features of a pancreatic schwannoma. *Clin Imaging* 2005; 29: 434-436
- Akiyoshi T, Ueda Y, Yanai K, Yamaguchi H, Kawamoto M, Toyoda K, Hayashi T, Ohuchida J. Melanotic schwannoma of the pancreas: report of a case. *Surg Today* 2004; 34: 550-553
- Soumaoro LT, Teramoto K, Kawamura T, Nakamura N, Sanada T, Sugihara K, Arai S. Benign schwannoma of the pancreas. *J Gastrointest Surg* 2005; 9: 288-290
- Tan G, Vitellas K, Morrison C, Frankel WL. Cystic schwannoma of the pancreas. *Ann Diagn Pathol* 2003; 7: 285-291
- Wu YL, Yan HC, Chen LR, Chen J, Gao SL, Li JT. Pancreatic benign schwannoma treated by simple enucleation: case report and review of literature. *Pancreas* 2005; 31: 286-288
- Di Benedetto F, Spaggiari M, De Ruvo N, Masetti M, Montalti R, Quintini C, Ballarin R, Di Sandro S, Costantini M, Gerunda GE. Pancreatic schwannoma of the body involving the splenic vein: Case report and review of the literature. *Eur J Surg Oncol* 2007; 33: 926-928
- Lee JS, Kim HS, Jung JJ, Han SW, Kim YB. Ancient schwannoma of the pancreas mimicking a cystic tumor. *Virchows Arch* 2001; 439: 697-699
- Morita S, Okuda J, Sumiyoshi K, Taketani M, Moriguchi A, Katsu K, Tanigawa N. Pancreatic Schwannoma: report of a case. *Surg Today* 1999; 29: 1093-1097
- Brown SZ, Owen DA, O'Connell JX, Scudamore CH. Schwannoma of the pancreas: a report of two cases and a review of the literature. *Mod Pathol* 1998; 11: 1178-1182
- Hsiao WC, Lin PW, Chang KC. Benign retroperitoneal schwannoma mimicking a pancreatic cystic tumor: case report and literature review. *Hepatogastroenterology* 1998; 45: 2418-2420
- Feldman L, Philpotts LE, Reinhold C, Duguid WP, Rosenberg L. Pancreatic schwannoma: report of two cases and review of the literature. *Pancreas* 1997; 15: 99-105
- Todd KE, Lewis MP, Gloor B, Kusske AM, Ashley SW, Reber HA. Management decisions for unusual periampullary tumors. *Am Surg* 1997; 63: 927-932
- Ferrozzi F, Bova D, Garlaschi G. Pancreatic schwannoma: report of three cases. *Clin Radiol* 1995; 50: 492-495
- Sugiyama M, Kimura W, Kuroda A, Muto T. Schwannoma arising from peripancreatic nerve plexus. *AJR Am J Roentgenol* 1995; 165: 232
- Steven K, Burcharth F, Holm N, Pedersen IK. Single stage pancreaticoduodenectomy (Whipple's procedure), radical cystectomy and bladder substitution with the urethral Kock reservoir. Case report. *Scand J Urol Nephrol* 1994; 28: 199-200
- Melato M, Bucconi S, Marus W, Spivach A, Perulli A, Mucelli RP. The schwannoma: an uncommon type of cystic lesion of the pancreas. *Ital J Gastroenterol* 1993; 25: 385-387
- David S, Barkin JS. Pancreatic schwannoma. *Pancreas* 1993; 8: 274-276
- Urban BA, Fishman EK, Hruban RH, Cameron JL. CT findings in cystic schwannoma of the pancreas.

- J Comput Assist Tomogr* 1992; 16: 492-493
- 25 Burd DA, Tyagi G, Bader DA. Benign schwannoma of the pancreas. *AJR Am J Roentgenol* 1992; 159: 675
- 26 Coombs RJ. Case of the season. Malignant neurogenic tumor of duodenum and pancreas. *Semin Roentgenol* 1990; 25: 127-129
- 27 Liessi G, Barbazza R, Sartori F, Sabbadin P, Scapinello A. CT and MR imaging of melanocytic schwannomas; report of three cases. *Eur J Radiol* 1990; 11: 138-142
- 28 Walsh MM, Brandspigel K. Gastrointestinal bleeding due to pancreatic schwannoma complicating von Recklinghausen's disease. *Gastroenterology* 1989; 97: 1550-1551
- 29 Barcena Barros JM, Manuel Palazuelos JC, Concha Garcia A, Val Bernal JF, Naranjo Gomez A, Casado Martin F. Benign schwannoma of the pancreas. *Rev Quir Esp* 1988; 15: 158-159
- 30 Eggermont A, Vuzevski V, Huisman M, De Jong K, Jeekel J. Solitary malignant schwannoma of the pancreas: report of a case and ultrastructural examination. *J Surg Oncol* 1987; 36: 21-25
- 31 Veroux G, Cannizzaro MA, Amodeo C, Nicotra P, Imme A. Neurinoma of the pancreas. *Minerva Chir* 1984; 39: 1219-1228
- 32 Moller Pedersen V, Hede A, Graem N. A solitary malignant schwannoma mimicking a pancreatic pseudocyst. A case report. *Acta Chir Scand* 1982; 148: 697-698
- 33 Wimmer B, Gospos C, Ruf G, Wagner R. Neurilemmoma of the pancreas. *Rofo* 1982; 137: 731-734
- 34 Ladouce P, Ravisse P, Triquet J, Wermynck J. An isolated neurinoma in the pancreas (author's transl). *J Chir (Paris)* 1978; 115: 285-288
- 35 Dautre LP, Paccalin J, Traissac D, Traissac FJ. Exogastric schwannoma considered and treated as a posttraumatic pseudocyst of the pancreas. *Arch Fr Mal App Dig* 1969; 58: 563-567
- 36 Frileux C, Terquem J, Wiel R, Henry JG. On schwannomas of the pancreas. (Apropos of 2 cases). *Arch Mal Appar Dig Mal Nutr* 1962; 51: 721-725
- 37 林妙承. 环状胰腺神经鞘瘤致十二指肠慢性梗阻囊内出血致急性梗阻1例. *实用医学杂志* 2005; 21: 598
- 38 余日胜, 孙建忠, 王也玲. 胰颈部神经鞘瘤. *中华医学杂志* 2005; 85: 1007
- 39 田锦林, 任金武, 王勇. 胰尾神经鞘瘤一例. *临床放射学杂志* 2004; 23: 171
- 40 田伟, 赵川. 胰腺头部神经鞘瘤一例. *中华放射学杂志* 1999; 33: 491
- 41 陈穗惠, 沈复兴. 罕见的胰腺囊性肿瘤的CT所见(附4例报告). *临床放射学杂志* 1996; 15: 227-229
- 42 俞松林, 刘载丰. 胰腺神经鞘瘤1例. *实用外科杂志* 1990; 10: 356

编辑 程剑侠 电编 郭海丽

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

第四届哈尔滨全国消化内镜学术会议通知

本刊讯 为促进消化内镜诊治技术的发展和学术交流, 由中华消化内镜学会、黑龙江省医学会、黑龙江省医院、黑龙江省临床消化病研究所联合举办的第四届全国消化内镜学术会议定于2007-12-22/23在哈尔滨召开. 大会将邀请国内外著名专家作消化内镜进展方面专题报告及内镜演示, 并制定中华消化内镜学会消化内镜消毒指南(讨论稿). 欢迎消化届同仁积极投稿及参与, 参会代表授予国家继续教育 I 类学分.

1 投稿要求

论著要求800字以内摘要(目的、方法、结果、结论), 电脑打印(WORD格式), 网上投稿. 截稿时间: 2007-10-31.

2 联系方式

朱春兰, 150001, 哈尔滨和平邨宾馆(中山路171号), 哈尔滨市果戈里大街405号, 黑龙江省医院, 电话: 13845048249或0451-88025055, 传真: 0451-53625617, E-mail: zhuchulan@medmail.com.cn

中西医结合治疗急性重症胰腺炎28例

王黎明, 罗华, 王懿娜, 曾英, 苏惠芬

王黎明, 罗华, 曾英, 苏惠芬, 成都中医药大学附属绵阳医院
四川省绵阳市 621000
王懿娜, 成都中医药大学针灸英语 四川省成都市 610075
通讯作者: 王黎明, 621000, 四川省绵阳市, 成都中医药大学附
属绵阳医院. mywlmvip@126.com
收稿日期: 2007-04-18 修回日期: 2007-08-22

Integrated traditional Chinese and Western medicine in treatment of severe acute pancreatitis: an analysis of 28 cases

Li-Ming Wang, Hua Luo, Yi-Na Wang, Ying Zeng,
Hui-Fen Su

Li-Ming Wang, Hua Luo, Ying Zeng, Hui-Fen Su, Mi-
anyang Affiliated Hospital of Chengdu University of
Traditional Chinese Medicine, Mianyang 621000, Sichuan
Province, China
Yi-Na Wang, Chengdu University of Traditional Chinese
Medicine, Chengdu 610075, Sichuan Province, China
Correspondence to: Li-Ming Wang, Mianyang Affiliated
Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese
Medicine, Mianyang 621000, Sichuan Province,
China. mywlmvip@126.com
Received: 2007-04-18 Revised: 2007-08-22

Abstract

AIM: To observe the differences in therapeutic effects on severe acute pancreatitis between integrated traditional Chinese and Western medicine (therapeutic group) and Western medicine alone (control group).

METHODS: The therapeutic group was administered a combination of routine Western medicine and a series of traditional Chinese medicine approaches, such as injecting a modified decoction of chengqi including bupleurum and peony into the stomach and bowels via a stomach tube and a retention enema with applying an ointment of mirabilite powder and honey to the surface projection of the pancreas, acupuncture, and point injection with neostigmine. The control group was treated by routine Western medicine. The lengths of hospital stay, times before abdominal pain and distension improved, enterokinesia recovered, and amylzyme of blood reduced to

normal, as well as complications and mortality rates between the two groups were summarized and then analyzed.

RESULTS: The hospital stay of the therapeutic group was shorter than in the controls (24 ± 3.6 d *vs* 32.5 ± 2.5 d). Abdominal pain and distension in the therapeutic group improved quicker than in the controls (13.2 ± 4.8 h *vs* 25.6 ± 5.1 h, and 7.62 ± 4.30 h *vs* 12.5 ± 5.1 h). The time for recovery of enterokinesia, and amylzyme of blood reduced to normal was shorter in the therapeutic group than in the controls (3.8 ± 2.5 h *vs* 8.2 ± 2.25 h, and 6.5 ± 1.0 d *vs* 11.3 ± 2.3 d). Complications and mortality rate in the therapeutic group were clearly lower than in the controls (25% *vs* 80%, and 7.14% *vs* 15%, respectively).

CONCLUSION: There are significant therapeutic effects on severe acute pancreatitis from treatment with integrated traditional Chinese and Western medicine. Hence the method is worth recommending for widespread use.

Key Words: Severe acute pancreatitis; Integrated traditional Chinese and Western medicine methods; Evaluation of therapeutic effect

Wang LM, Luo H, Wang YN, Zeng Y, Su HF. Integrated traditional Chinese and Western medicine in treatment of severe acute pancreatitis: an analysis of 28 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15(25): 2747-2749

摘要

目的: 观察对照组(传统治疗组)与治疗组(中西医结合治疗组)对急性重症胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)的临床疗效。

方法: 48例随机分为对照组和治疗组, 治疗组在西医常规治疗的基础上, 以柴芍承气汤加减, 汤药鼻管注入和直肠滴入, 在胰腺体表投影部位芒硝碾碎成粉末与蜂蜜搅拌调制成药状外敷、配合针灸、穴位注射新斯的明等中医药技术; 分别对两组患者住院时间, 腹痛腹胀缓解时间, 肠鸣音恢复时间, 血淀粉酶恢复时间及并发症及死亡率进行统计分析。

结果: 治疗组在住院天数(24 ± 3.6 d *vs* 32.5 ± 2.5

背景资料
重症胰腺炎是一种全身性的炎症反应, 是以胰腺弥漫性出血和组织坏死为特征的急性胰腺炎, 发病急骤, 病情凶险。近年来, 多主张以内科治疗为主, 强调个体化治疗原则下的综合治疗。治疗上针对疾病的几个重要环节, 采用中西医结合方法, 抑制和阻断疾病发行和发展的级联反应, 并认为中药的口服、灌肠, 可抑制胰酶的活性、松弛Oddi括约肌, 尽早恢复胃肠功能, 减少并发症, 缩短疗程。另外, 对于胆总管结石所致胰腺炎, 建议尽早行十二指肠乳头切开取石。

应用要点
中西医结合治疗重症胰腺炎,可明显降低入院费用、缩短病程、减少并发症、降低死亡率,值得基层医院推广运用。

d), 腹痛(13.2 ± 4.8 h vs 25.6 ± 5.1 h), 腹胀缓解时间(7.62 ± 4.30 h vs 12.5 ± 5.1 h), 肠鸣音恢复时间(3.8 ± 2.5 h vs 8.2 ± 2.25 h), 血淀粉酶恢复时间(6.5 ± 1.0 d vs 11.3 ± 2.3 d), 并发症(25% vs 80%)及死亡率(7.14% vs 15%)明显短于或低于对照组。

结论: 中西医结合治疗SAP的疗效确切, 值得推广应用。

关键词: 急性重症胰腺炎; 中西医结合; 疗效评价

王黎明, 罗华, 王懿娜, 曾英, 苏惠芬. 中西医结合治疗急性重症胰腺炎28例. 世界华人消化杂志 2007;15(25):2747-2749
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2747.asp>

0 引言

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)发病急变化快, 临床表现复杂, 并发症多、预后凶险, 文献报告死亡率高达20%-40%, 我院自1999-05/2007-03共收治SAP 48例, 应用中西医结合个体化治疗原则下的综合治疗, 取得了满意的疗效, 现总结如下。

1 材料和方法

1.1 材料 本组48例患者SAP中, 男30例, 女18例, 年龄28-79(平均年龄为45)岁, 所有患者均以腹胀腹痛, 呕吐或发热为主诉, 病因中高脂饮食18例, 酗酒15例, 胆道疾病3例, 不明原因12例, 均符合SAP诊断^[1]。

1.2 方法 将48例随机分为对照组(传统药物治疗组)和治疗组(中西医结合治疗组), 两组在年龄、性别方面无明显差异。对照组: 20例, 早期常规保守治疗即禁食、胃肠减压, H₂-受体阻滞剂, 预防性抗生素, 生长抑素抑制胰酶分泌以及补充血浆、白蛋白以减少胰液渗出, 胆总管结石引起者, 早期行即经内镜十二指肠乳头括约肌切开引流(EST)。治疗组: 28例, 在常规对照组治疗的基础上, 加用中医药技术(1)中药方剂以柴芍承气汤加減(柴胡、黄芩、木香、枳实、厚朴、生大黄后下、桃仁、红花、赤芍、芒硝另包等), 每剂水煎300 mL备用, 先胃肠减压, 抽出胃肠积气液后经胃管注入药液150-200 mL, 注入后夹闭管2 h, 经直肠内滴入药液100 mL, 每4-8小时胃管给药和直肠给药1次; (2)胰腺体表投影处, 用芒硝500 g碾成粉末与蜂蜜搅拌调成膏状外敷, 每1-2天换药1次; (3)腹胀明显者, 针剂足三里、中脘、胃俞等穴位, 同时给予新斯的明0.5 mg足三里封闭, 通便后1-2次/d; (4)活血

表 1 两组患者病情缓解情况(mean \pm SD)

缓解时间	治疗组(n = 28)	对照组(n = 20)
腹痛(h)	13.2 ± 4.8^a	25.6 ± 5.1
腹胀(h)	7.62 ± 4.30^a	12.5 ± 5.1
肠鸣(h)	3.8 ± 2.5^a	8.2 ± 2.25
血淀粉酶(d)	6.5 ± 1.0^a	11.3 ± 2.3
平均住院日(d)	24 ± 3.6^a	32.5 ± 2.5

^a $P < 0.05$.

化瘀, 丹参注射粉剂0.4 g稀释后, 加液体中iv, 1次/d. 观察和监测腹胀腹痛症状缓解时间, 肠鸣音恢复时间, 血淀粉酶恢复正常时间以及白细胞、血气分析、血糖、电解质、肝、肾功、心肌酶学, B超、CT等指标。疗效判定标准: 痊愈: 症状、体征消失, 血清淀粉酶恢复正常, 局部并发症消失, CT或B超检查胰腺正常。显效: 症状消失, 但血清淀粉酶、CT或B超检查及并发症如腹内炎症, 感染未全消失。无效: 症状不缓解、血清淀粉酶, CT或B超检查及合并症不减轻或加重转外科手术。死亡: 病情恶化进而死亡。

统计学处理 数据采用SPSS11.0统计软件, 比较采用t检验。

2 结果

2.1 两组患者经治疗后, 治疗组的腹胀痛缓解时间, 肠鸣音恢复时间及实验室检查结果明显短于或低于对照组($P < 0.05$, 表1)。

2.2 愈合情况 对照组20例中, 痊愈6例, 显效8例, 未愈转外科3例, 死亡3例, 并发胰周感染3例, 多器官功能衰竭4例, 败血症1例, 二重感染2例, 上消化道出血3例, 假性囊肿3例。痊愈好转率70%(14/20), 并发症发生率80%(16/20)。治疗组28例, 痊愈10例, 显效15例, 未愈转外科1例, 死亡1例, 并发胰周感染1例, 多器官功能衰竭2例, 二重感染1例, 上消化道出血1例, 假性囊肿2例。病愈好转率89.3%(25/28), 死亡率7.14%(2/28), 并发症发生率25%(7/28)。

3 讨论

SAP是临床危急重症病之一, 常以腹胀腹痛为主要症状, 血尿淀粉酶的检查, 对胰腺炎有较高的诊断价值, 但淀粉酶的增高并非与胰腺本身的病理损害成正比关系, 48例SAP患者中, 我们发现6例血尿淀粉酶结果正常, 有3例胰腺B超显示正常, 所有SAP最后经胰腺CT得以证实, 所以

CT为SAP最有效检查手段之一。从表1显示, 两组患者病情缓解情况及愈合好转率、并发症发生率及死亡率看, 治疗组的腹胀痛缓解时间, 肠鸣音恢复时间及并发症发生率明显短于对照组, 治疗组死亡率也明显低于对照组。

对于SAP的治疗, 强调个体化治疗原则下的综合治疗。中医认为SAP是由于脏腑气机阻滞, 湿热蕴结, 腑气不通, 气血运行不畅, 经脉痹阻所致, 虽可分为各类证型, 究其根本病机, 总的治疗应强调“腑以通为用”, 故疏泄通导的原则贯穿到SAP的各类证型的辨证治疗过程中。崔乃强 *et al*^[2]根据临床观察将SAP分为初期(气血瘀闭期、全身反应期), 进展期(热毒炽盛期、全身感染期)和恢复期, 建议在初期采用主要措施是力争在24 h内通里攻下, 使肠道恢复功能, 减轻腹胀, 改善心肺功能, 减少毒性吸收。对于SAP治疗、禁食不禁中药的原则早已被临床医生接受并行之有效, 治疗组中, 我们应用中药(柴芍承气汤加减)胃管和直肠给药, 无1例发现肠梗阻并发症, 证实胃肠给药是安全可靠的。从SAP治疗效果发现, 预后好坏与肠鸣音早期恢复时间, 通便次数密切相关。肠鸣恢复越早, 排便次数越多, 并发症越少, 预后越早且越好, 如果肠鸣音恢复不佳, 我们建议缩短胃肠给药间隔时间即增加给药次数或加大大黄用药剂量, 配合针灸治疗, 通调脏腑之气机, 调气以和血, 疏通经络, 取腑会穴及胃募穴中脘, 大肠募穴天枢, 小肠募穴关元及六腑下合穴足三里等, 调节胃肠功能, 行气止痛, 且能解除平滑肌痉挛, 特别是十二指肠乳头肌痉挛, 利于胆汁和胰液排泄, 同时配合穴位注射, 通过经脉循行使药到病除, 给予新斯的明0.5 mg足三里封闭, 通便后1-2次/d, 促进肠道蠕动, 柴芍承气汤治疗SAP一味关键的中药为生大黄, 可清热解毒, 泻下通腑, 可除有形积滞和无形邪热。现代研究生大黄治疗SAP的机制^[3-7]: (1)抑制胰酶。(2)影响胰腺外分泌。(3)改善胃肠黏膜血流灌注及微循环, 缓解缺血缺氧状态, 提高胰腺组织对缺氧的耐受。而生大黄通里攻下作用可促进胃肠蠕动, 加快有毒物质排出, 松弛奥狄氏括约肌^[8], 利胆利胰, 故大黄对治疗麻痹性肠梗阻^[9], 恢复胃肠蠕动具有显著疗效。

治疗组中, 我们发现芒硝外敷7-14 d后, B超提示胰腺恢复正常, 胰周渗液吸收。药理研究^[10-11]表明, 芒硝外用后可使局部血管扩张, 血流加快, 改善微循环, 从而调动机体抗病能力, 使单核细胞吞噬能力增强, 加快炎症吸收与消

散, 又因其高渗作用, 也加速了组织肿胀的吸收、消散其外用方法简单, 疗效确切。现代许多临床试验均证实其外敷具有消炎止痛、预防感染、吸收腹腔渗液、促进脓肿吸收、促进与恢复消化道功能等功效。从治疗结果不难看出治疗组并发的胰腺假性囊肿及腹腔胰周感染明显低于对照组。

刘续宝 *et al*^[12]研究发现胰腺炎可引起红细胞聚集和红细胞变形能力降低, 所致血黏度增大是导致胰腺微循环障碍的原因之一, 治疗组我们应用了中药丹参粉针剂, 其作用为改善胰腺微循环, 促进胰周炎症水肿的吸收, 并取得良好的效果。48例SAP中有3例胆总管下段结石, 我们行EST治疗。目前逆行胰胆管造影(ERCP)后行EST并ENBD治疗胆源性胰腺炎的价值已明确, 因其微创、并发症少、费用低, 正逐渐取代外科手术, 因此对于胆总管结石引起胰腺炎建议尽量在72 h内行EST^[13-14], 可明显降低胆胰内压, 减少胆道感染的机会, 减少SAP并发症的发生。

总之, 我们认为中西医结合治疗SAP疗效可靠, 可以明显缩短住院日, 降低并发症及死亡率, 值得应用推广。

4 参考文献

- 1 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组. 中国急性胰腺炎诊治指南(草案). 中华消化杂志 2004; 24: 190-192
- 2 崔乃强, 吴咸中. 重症急性胰腺炎治疗的现状和展望. 中国危重病急救医学 2004; 16: 705-707
- 3 王婧, 阴赓宏, 张淑文, 王宝恩. 大黄类药物治疗重症急性胰腺炎的进展. 中国中西医结合急救杂志 2005; 12: 318-320
- 4 刘晓红, 赵雪卿, 钱家鸣. 大黄对大鼠急性出血性胰腺炎的影响. 中华消化杂志 2004; 24: 14-17
- 5 周静, 孙志广. 大黄在急性胰腺炎中的应用近况. 中国中医急症 2007; 16: 347-348
- 6 巫协宁. 重症胰腺炎的规范化治疗和治疗策略. 中华消化杂志 2001; 21: 300-302
- 7 赵雪卿, 刘晓红. 大黄对急性胰腺炎多靶点的治疗作用. 胃肠病学 2003; 8: 316-317
- 8 吴建新, 徐家裕, 袁耀宗. 大黄素与善得定对重症胰腺炎胰缺血的影响及机制. 中国中西医结合杂志 1997; 17: 356-359
- 9 张喜平, 李宗芳. 大黄治疗急性胰腺炎研究概况. 中国中西医结合外科杂志 2003; 9: 332-333
- 10 薛志祥, 葛茂军, 龚航军. 芒硝外敷辅助治疗外科急腹症的临床观察. 上海中医药大学学报 2000; 14: 23-24
- 11 秦月花, 傅文安, 王丽敏. 芒硝联合施他宁治疗重症急性胰腺炎的临床研究. 中国中西医结合急救杂志 2006; 13: 187-188
- 12 刘续宝, 严律南, 张肇达, 谭建三, 吴和光, 吴言涛. 急性胰腺炎由水肿型向坏死型转化时血液流变学的变化. 中华实验外科杂志 1997; 14: 211-214
- 13 王兴鹏. 重症急性胰腺炎的临床治疗策略. 中华急诊医学杂志 2006; 15: 101-102
- 14 周文策, 李玉民, 李汛, 曹农, 朱有全, 孟文勃, 张磊, 陈昊. 内镜治疗急性胆源性胰腺炎的临床价值. 腹部外科 2005; 18: 209-210

同行评价
本文探讨了中西医结合治疗SAP的临床疗效, 文章层次清楚, 方法成熟, 数据可信, 有一定的可读性和参考价值。

双气囊电子小肠镜检查小肠疾病62例

付峻林, 叶华曦, 熊锋宝, 陈江琴, 姚彩芳, 孙明明

背景资料
小肠疾病诊断一直是个难点, 近年发明的胶囊内镜和双气囊小肠镜新技术, 使内科医生便捷地直接观察到了小肠黏膜。但胶囊内镜还有很多如不能控制、图像不清晰、不能活检等技术上的难题未解决, 离临床实用还有很大距离。

付峻林, 叶华曦, 熊锋宝, 姚彩芳, 孙明明, 南昌大学第三附属医院消化科 江西省南昌市 330008
陈江琴, 南昌大学第三附属医院麻醉科 江西省南昌市 330008
江西省南昌市科技局重点攻关科技资助项目, No. [2006]125
通讯作者: 付峻林, 330008, 江西省南昌市, 南昌大学第三附属医院消化科. fusuolin@163.com
电话: 0791-8862387
收稿日期: 2007-06-11 修回日期: 2007-08-23

Diagnostic value of double-balloon enteroscopy: an analysis of 62 cases

Suo-Lin Fu, Hua-Xi Ye, Feng-Bao Xiong, Jiang-Qin Chen, Cai-Fang Yao, Ming-Ming Sun

Suo-Lin Fu, Hua-Xi Ye, Feng-Bao Xiong, Cai-Fang Yao, Ming-Ming Sun, Department of Gastroenterology, the Third Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330008, Jiangxi province, China
Jiang-Qin Chen, Department of Anaesthesia, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330008, Jiangxi Province, China

Supported by: A Grant from the Natural Science Foundation of Nanchang Science and Technology Committee, No. [2006]125

Correspondence to: Dr. Suo-Lin Fu, Department of Gastroenterology, the Third Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330008, Jiangxi Province, China. fusuolin@163.com

Received: 2007-06-11 Revised: 2007-08-23

Abstract

AIM: To establish the diagnostic value, security and performance of double-balloon enteroscopy (DBE) for small bowel diseases, and to further enhance the diagnostic yield of small bowel diseases.

METHODS: Sixty-two patients with alimentary canal symptoms who were referred to our hospital from August 2005 to December 2006 after negative upper gastrointestinal endoscopy, colonoscopy, barium meal and abdominal computed tomography underwent DBE. All procedures were carried out under intravenous local anesthesia. Outcome data, including positive rate, inspectable area and complications, were collected for analysis, and combined with the surgical and pathological findings.

RESULTS: Among the 62 patients, only 5 had complications of mild respiratory depression and hypotension related to anesthesia. No severe complications were observed during the manipulation of DBE, except for throat injury and mucosal bruising. Fifty-three patients were found with various lesions, and the positive rate was 85.5% (53/62). Ten of these were neoplastic diseases (18.9%). Inflammatory diseases, including inflammatory bowel disease and non-specific erosion or ulcer, were found in 20 patients (37.7%), angiodysplasia was found in 7 patients (13.2%), and verminosis was found in 6 patients (11.3%). Other diseases were found in 10 patients (18.9%), and 9 patients had no lesions.

CONCLUSION: DBE can detect abnormalities in the whole alimentary tract, and it has a high diagnostic yield for such lesions, especially in the small intestine. It provides an effective method for the diagnosis of small bowel diseases.

Key Words: Double balloon enteroscopy; Small intestine disease; Diagnosis

Fu SL, Ye HX, Xiong FB, Chen JQ, Yao CF, Sun MM. Diagnostic value of double-balloon enteroscopy: an analysis of 62 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15(25): 2750-2753

摘要

目的: 评价双气囊小肠镜对小肠疾病诊断价值及其安全性和操作性能, 增加小肠疾病的检出率。

方法: 2005-08/2006-12期间62例有消化道症状, 经胃镜、结肠镜、全消化道钡餐、腹部CT等检查无阳性发现的患者应用双气囊电子小肠镜检查, 结合手术、病理结果、观察、分析其阳性率、检查范围、并发症等, 所有检查均在静脉麻醉下完成。

结果: 62例患者中仅有5例发生轻度呼吸抑制、血压下降等麻醉相关的并发症; 检查过程除了咽喉损伤、黏膜擦伤外无严重并发症发生。62例患者通过双气囊小肠镜检查发现有

病变者53例, 病变检出率85.5%; 其中肿瘤性疾病10例, 占18.9%(10/53); 炎症性疾病包括炎症性肠病和非特异性糜烂、溃疡20例, 占37.7%(20/53); 血管性疾病7例, 占13.2%(7/53); 寄生虫病6例, 占11.3%(6/53); 其他10例, 占18.9%(10/53); 未发现病灶9例。

结论: 双气囊小肠镜可直视检查全消化道腔内病变, 对消化道特别是小肠病变检出率高, 是诊断和治疗小肠疾病的有力工具。

关键词: 双气囊小肠镜; 小肠疾病; 诊断

付峻林, 叶华曦, 熊锋宝, 陈江琴, 姚彩芳, 孙明明. 双气囊电子小肠镜检查结果分析62例. 世界华人消化杂志 2007;15(25):2750-2753
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2750.asp>

0 引言

小肠一直是消化道内镜检查的盲区, 许多不明原因的消化道出血、腹痛、腹泻、消瘦等症状虽经胃镜、结肠镜、全消化道钡剂造影等检查, 仍不能明确病因。双气囊电子小肠镜不仅可直视整个小肠的病变情况, 而且可对病灶进行活检病理检查, 该技术的应用, 为小肠内镜检查开辟了全新的领域。我院于2005-08引进该技术, 至2006-12共有62例患者接受检查, 现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 双气囊小肠镜: 使用日本富士公司的双气囊电子小肠镜(型号: EN450P5/28), 2005-08/2006-12期间因消化道出血(隐性或显性), 长期反复腹痛或腹胀、腹泻, 不明原因的消瘦来我院就诊的62例患者接受检查, 年龄14-78(平均51.2)岁, 男46例, 女16例。全部经常规胃镜、结肠镜、腹部B超、腹部CT/MRI等检查未发现可解释临床症状的病灶者。全部受检者无胃肠镜检查的禁忌症, 包括严重的心、肺、肝疾病全身过度衰弱不能耐受检查及完全性肠梗阻等。主诉消化道出血36例, 慢性腹痛16例, 慢性腹泻6例, 慢性腹胀3例, 不明原因消瘦1例。

1.2 方法

1.2.1 术前准备 患者术前准备经口者与胃镜检查相同, 禁食12 h, 咽喉需要局部浸润麻醉和润滑; 经肛者与肠镜相同, 做好肠道清洁准备。由2名医师及1名护士共同完成双气囊小肠镜检查, 操作者负责操控内镜旋钮和插镜, 助手负责托镜和插送外套管, 另一名护士可帮助给药和活

检等。为减轻患者痛苦所有患者均在静脉麻醉下接受检查。主要给予丙泊酚和芬太尼静脉麻醉, 麻醉过程中给予心电监护。根据经验, 所有检查均未在X线监视下进行。

1.2.2 检查方法 视患者症状和其他检查(如全消化道钡剂造影等)结果决定先从上消化道或下消化道进镜, 发现可解释临床症状的病灶即完成检查向后退镜。如从上消化道进镜未发现病灶者, 先予美蓝染色定位, 小肠镜经严格消毒后再从下消化道进镜, 直到与上消化道进镜部位重叠(染色处)。

1.2.3 小肠镜操作方法 采用双人操作法。操作前先将外套镜身管套在上, 注入橄榄油起润滑作用, 安装内镜气囊。当内镜前端进入肠腔, 继续进镜有困难时, 将内镜气囊充气, 使内镜头端不易滑动, 然后将外套管沿镜身滑入, 至内镜前端将气囊充气, 2个气囊一起充盈, 使肠壁相对固定, 缓慢拉镜使肠道缩拢在外套管上, 可缩短肠道, 将内镜气囊放气后, 又可继续进镜, 重复上述过程, 可使小肠镜不断推进, 使镜身得以进入小肠深部, 直至检见病灶。两个气囊注气及抽气均由气泵自动控制, 抽气时压力为-6.0 kPa~-6.5 kPa; 注气时压力为7.0 kPa-7.5 kPa。操作时如遇内镜盘曲, 进镜困难, 除采用拉直内镜及套管的方法外, 尚可使用变换受检者体位、向肠腔注入温水放松肠段及手掌按压腹壁等辅助手段。

2 结果

2.1 检查结果 62例患者均在静脉麻醉下顺利完成检查, 仅有5例发生轻度呼吸抑制、血压下降等麻醉相关的并发症; 检查过程除了咽喉损伤、黏膜擦伤外无严重并发症发生。62例患者通过双气囊小肠镜检查发现有病变者53例, 病变检出率85.5%; 其中肿瘤性疾病10例, 占18.9%(10/53), 包括息肉4例、恶性间质瘤3例(图1A)、腺癌2例和淋巴瘤1例, 均经手术和病理确诊; 炎症性疾病包括炎症性肠病和非特异性糜烂、溃疡20例, 占37.7%(20/53), 其中小肠克罗恩病4例(图1B), 其余为小肠非特异性溃疡、糜烂和炎症; 血管性疾病7例, 占13.2%(7/53), 均为空回肠血管扩张畸形并出血; 寄生虫病6例, 占11.3%(6/53), 其中小肠钩虫病4例, 蛔虫病2例; 其他10例, 占18.9%(10/53), 含小肠吸收不良综合征3例, 空肠憩室2例, 回肠结核1例, 小肠淋巴管扩张症1例(图1C), 十二指肠球后溃疡2例, 结肠癌1例。主诉消化道出血36例, 有31例查出病

相关报道
上海瑞金医院孙波 *et al* 发表在 *Am J Gastroenterol* 的重点研究了双气囊小肠镜对不明原因消化道出血的诊断与治疗效果, 75.7%的患者发现了出血灶, 其中89%的患者经治疗未再出血, 与本文消化道出血部分结果相近。

应用要点
双气囊小肠镜可以像胃镜诊断胃病一样方便实用,但操作难度大、耗时长、费用高、患者痛苦也更大,需要进一步研究检查的镇痛技术(全麻费用高,相信随着双气囊小肠镜的推广应用,小肠疾病的诊治水平会进一步提高。

因,主要为肿瘤和血管性疾病,另外4例钩虫病和2例球后溃疡症状均为上消化道出血;慢性腹痛16例,有14例查出病因,含全部4例克罗恩病;慢性腹泻6例,有5例查出病因;慢性腹胀3例,有1例查出病因,为小肠吸收不良综合症;不明原因消瘦1例,查出病因为回肠结核。未发现病灶9例。1例结肠癌和2例球后溃疡均为在外院胃镜镜检查阴性。

2.2 检查的安全性和可靠性 62例患者中56例仅进行单向检查,6例患者进行了双向检查(即经口和经肛)。操作过程中刚进入小肠时均较顺利,到达空回肠交界处开始困难,主要因为镜身打弯影响进镜速度,经反复牵拉、退镜、再向前推进可继续完成操作。从下消化道进镜者进入回盲瓣时镜身容易弹出,经按压腹部和变换体位后可防止弹出并继续检查。副反应主要表现为恶心、呕吐、腹胀、腹痛,予镇静及解痉治疗后可缓解。检查过程无并发症发生。检查时间50-120(平均90) min。

3 讨论

小肠疾病诊断困难,高达50%的小肠疾病难以获得诊断^[1]。常规的小肠病变检查手段主要包括全消化道钡剂造影、腹部B超、腹部CT/MRI、数字减影血管造影(DSA)、核素扫描及传统推进式小肠镜。全消化道钡剂造影、腹部B超、CT、MRI等虽属无创伤、无痛苦检查,但均非可视性检查,敏感性和特异性均较差,因而对小肠疾病的诊断价值小。多数患者经胃镜、结肠镜检查排除上消化道和结肠疾病后,行上述检查仍不能明确诊断。

传统的小肠镜虽可进行直视检查,但仅能到达空肠上段屈氏韧带以下约40-100 cm,对小肠的检查范围小,病灶的检出率仅为32%-42%。由于小肠的生理弯曲较多,小肠镜镜身容易在肠腔内打弯,检查时间长,患者需忍受的痛苦大,故在临床的应用不广泛^[2]。

双气囊小肠镜在传统的推进式小肠镜的基础上进行了改进,在小肠镜前端和外套管远端各加用一气囊,在检查的过程中小肠镜和外套管交替向前推进,同时交替使用气囊,使外套管得以固定在小肠壁内,向后退镜时外套管和小肠镜均不会脱出,这样便可避免小肠镜在小肠内打弯从而顺利到达病灶^[3]。该方法最先由日本 Yamamoto *et al*^[4]于2001年报道使用,成功到达回盲部,耗时约2 h。本组62例患者成功发现病灶53

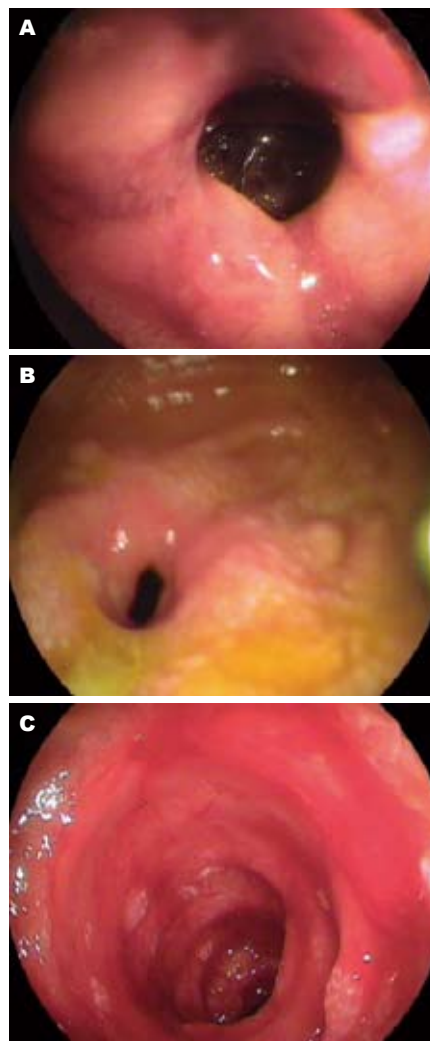


图1 双气囊小肠镜检查。A: 外生性恶性间质瘤,在空肠腔形成憩室样改变;B: 小肠克罗恩病,肠腔高度狭窄并息肉样改变;C: 淋巴管扩张症,小肠广泛多发鱼鳞状改变,肠腔见血液。

例,病灶检出率为85.5%,与钟捷 *et al*^[5]和沙卫红 *et al*^[3]的结果相似。虽有9例患者未检出病灶,但病灶的检出率较普通小肠镜明显提高。

胶囊内镜是近年推出的胃肠道检查新方法,许多研究报道认为其具有较好的安全性和无创性,且对小肠病灶的检出有良好的敏感性和特异性,故在临床的应用逐渐广泛。据2002年美国消化病周会议上11篇摘要报道的376例不明原因的消化道出血,胶囊内镜检查的病变检出率为68.4%(257/376),综合戈之铮 *et al*^[6]6篇关于胶囊内镜诊断小肠疾病的报道,其病变检出率为76.6%(162/213),略高于国外报道。但胶囊内镜亦存在一定的局限性,包括(1)不能取病理检查,明确病灶的性质;(2)对出血病灶不能进行内镜下治疗;(3)不能进行重复观察,对微小病灶容易漏诊;(4)影响图象清晰程度的因素较多,如肠道

名词解释
小肠淋巴管扩张症:是一种临床上较为罕见的疾病,以小肠黏膜及黏膜下淋巴毛细管扩张为特征,是一种蛋白丢失性疾病,可有消化道出血。

的清洁度、胃肠蠕动的快慢及胃肠道的通畅程度等。而这些局限性又正是双气囊电子小肠镜不可比拟的优越性^[5-11]。

与胶囊内镜费用昂贵、漏诊率高相比, 双气囊小肠镜费用相对较低, 诊断率及准确性都更高, 特别对更多见的不明原因消化道出血有较高的诊断价值。本组36例31例获得诊断(86.1%), 与Sun *et al*^[12]的大样本资料结果相近。但仍有4例未能找到病变, 说明该技术不能取代传统检查, 而与DSA等方法结合运用可提高诊断率。

本组62例患者消化道出血36例, 占58.1%(36/62); 慢性腹痛16例, 占25.8%(16/62); 慢性腹泻6例, 占9.6%(6/62); 其他腹胀、不明原因消瘦共4例(6.5%); 以出血为主。与以往报道不同, 詹俊 *et al*^[13]报道, 224例小肠疾病症状分析, 腹痛占58%, 腹部肿块占18%, 发热17%, 出血12%。诊断的病因谱特别是小肠出血也与以往报道的不同, 张德中^[14]分析国内外研究结果, 均以肿瘤和血管病变为主, 本组钩虫病^[15]亦为常见病因, 可能与农村患者较多有关。随着小肠检查技术的发展, 相信认识会越来越深入。

双气囊小肠镜保留了传统内镜的缺点, 即造成受检者痛苦, 且检查时间更长、患者需忍受的痛苦大、耐受差以及对操作者的操作技术要求高等缺点^[3]。所以本组全部检查均在静脉麻醉下进行。但同时增加了患者耐受麻醉的风险, 需要术者与麻醉师密切协作。

与普通推进式小肠镜相比, 双气囊小肠镜由于进镜原理的创新性, 在通常情况下可抵达回肠中下段, 部分可达末端回肠, 检查范围大大扩展。与胶囊内镜相比具有视野广、图像清晰和充气、吸引、活检等基本功能, 并可内行内镜下治疗。其上行和下行镜相结合的进镜方式能使整个小肠得到全面、彻底的检查, 是小肠疾病检查最理想的手段。但其并不能完全取代其他检查方法, 只有各种技术联合应用、互相补充, 才是提高小肠疾病诊断水平的有效途径^[11]。

尽管如此, 双气囊电子小肠镜的应用仍然是小肠病变内镜检查的一个突破性进步, 优点是可直视检查全小肠腔内病变, 必要时可活检行病理检查及内镜下治疗, 病变检出率高, 是诊断和治疗小肠疾病的有利工具, 具有较好的临床应用价值。同时我们的研究结果也证明他是一项安全、直观、可靠的检查手段。

4 参考文献

- 1 张子其, 陈孝, 张建平, 张钰. 胶囊内镜对小肠疾病的诊断价值分析. 中华消化内镜杂志 2003; 20: 227-229
- 2 衣农志, 宋波, 黄留业, 邢艳芳, 吴承荣, 童艳. 双气囊小肠镜检查13例分析. 中国内镜杂志 2005; 11: 428-429
- 3 沙卫红, 李瑜元, 聂玉强, 黎庆宁, 周永健, 王红, 梁培智, 余庆珠, 吴惠生. 双气囊推进式电子小肠镜对小肠疾病的诊断应用. 中化消化内镜杂志 2004; 21: 177-180
- 4 Yamamoto H, Sugano K. A new method of enteroscopy--the double-balloon method. *Can J Gastroenterol* 2003; 17: 273-274
- 5 钟捷, 张晨莉, 张吉, 吴云林, 江石湖. 推进式双气囊电子小肠镜在小肠疾病诊断中的应用. 中华消化杂志 2003; 23: 591-594
- 6 戈之铮, 胡运彪, 萧树东. 胶囊内镜与推进式小肠镜诊断不明原因消化道出血的评价. 中华消化内镜杂志 2003; 20: 223-326
- 7 吴云林, 张曙, 褚晔, 孙波, 钟捷, 翟祖康. M2A胶囊内镜在消化病诊断中的应用研究. 中华消化内镜杂志 2003; 20: 230-233
- 8 李运红, 徐肇敏, 陈隆典, 韩树堂, 于成功. 胶囊内镜对胃肠道疾病的诊断意义. 中华消化内镜杂志 2003; 20: 234-236
- 9 褚行琦, 周翠萍, 熊元治, 王建云, 马颖才, 杨永耿, 杨桂英, 沈有秀, 马丽莉, 杜娟. 胶囊内镜临床应用37例分析. 中华消化内镜杂志 2003; 20: 237-239
- 10 朱森林, 陈旻湖, 胡品津. 胶囊内镜检查对小肠疾病的诊断价值. 中华消化内镜杂志 2003; 20: 240-243
- 11 吴云林. 小肠疾病内镜检查的现状与发展. 上海第二医科大学学报 2005; 25: 873-876
- 12 Sun B, Rajan E, Cheng S, Shen R, Zhang C, Zhang S, Wu Y, Zhong J. Diagnostic yield and therapeutic impact of double-balloon enteroscopy in a large cohort of patients with obscure gastrointestinal bleeding. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 2011-2015
- 13 詹俊, 甘小玲, 吴小玲, 李劲高, 曾志勇. 224例小肠疾病的临床分析. 中华内科杂志 2000; 39: 592-593
- 14 张德中. 小肠出血的病因和诊治原则. 胃肠病学 2002; 7: 96-98
- 15 付峻林, 杨铁一, 姚彩芳, 孙明明, 吴云林, 何利平. 双气囊小肠镜检见小肠钩虫病1例. 江西医药 2005; 40: 封3

同行评价
本文报告了62例双气囊小肠镜检查结果, 临床效果良好, 弥补胃镜结肠镜的不足之处, 分析全面, 数据可信, 有较强的临床意义和应用价值。

编辑 程剑侠 电编 何基才

亚甲基四氢叶酸还原酶基因C677T多态与结直肠癌遗传易感性的相关性

金夏祥, 朱忠政, 王爱忠, 贾杭若

背景资料
有关MTHFR基因与恶性肿瘤关系的研究广泛, 但目前对该基因多态性研究仍处于初步阶段, MTHFR基因C677T多态性与包括结直肠癌在内的肿瘤相关性的报道缺乏一致性, 明确二者的相关性, 有助于揭示人类罹患结直肠癌的遗传学基础。

金夏祥, 朱忠政, 王爱忠, 贾杭若, 中国人民解放军第一一三医院病理科 浙江省宁波市 315040
国家自然科学基金资助项目, No. 30470791
南京军区医学科学技术研究 “ 十一五 ” 计划资助项目, No. 06MA27
通讯作者: 朱忠政, 315040, 浙江省宁波市中山东路377号, 中国人民解放军第一一三医院病理科. zzzhu1170@yahoo.com
电话: 0574-27754043
收稿日期: 2007-07-10 修回日期: 2007-08-24

Association of methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism with genetic susceptibility to colorectal cancer

Xia-Xiang Jin, Zhong-Zheng Zhu, Ai-Zhong Wang, Hang-Ruo Jia

Xia-Xiang Jin, Zhong-Zheng Zhu, Ai-Zhong Wang, Hang-Ruo Jia, Department of Pathology, 113 Hospital of Chinese PLA, Ningbo 315040, Zhejiang Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30470791; Medical Science and Technology Research Foundation for the 11th 5-Year Program of the Nanjing Military Area of Chinese PLA, No. 06MA27
Correspondence to: Dr. Zhong-Zheng Zhu, Department of Pathology, 113 Hospital of Chinese PLA, 377 Zhongshan East Road, Ningbo 315040, Zhejiang Province, China. zzzhu1170@yahoo.com
Received: 2007-07-10 Revised: 2007-08-24

Abstract

AIM: To investigate the possible association between the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism and genetic susceptibility to colorectal cancer (CRC).

METHODS: The MTHFR C677T genotypes were determined by TaqMan assays in 449 cases of CRC and 672 controls. Odds ratios (ORs) for CRC and 95% confidence intervals (CIs) from unconditional logistic regression models were used to evaluate relative risks. Potential CRC risk factors, including sex, age, cigarette smoking, alcohol drinking, body mass index and first-degree family history of CRC, were included in the logistic regression models as covariates in the multivariate analyses of genotype and CRC risk.

RESULTS: The frequency of the T allele in the MTHFR C677T polymorphism was 0.360 in CRC and 0.444 in the controls. The T allele showed a significantly decreased risk for CRC (OR = 0.70, 95% CI = 0.58-0.83, $P < 0.01$) when compared to the C allele. Compared to CC homozygotes, CT heterozygotes had a 0.73-fold decreased risk (95% CI = 0.56-0.95, $P < 0.05$), whereas TT homozygotes had a 0.47-fold decreased risk (95% CI = 0.33-0.68, $P < 0.01$) of CRC. The inverse association of the C677T polymorphism with CRC risk was slightly stronger among non-drinkers (CT, OR = 0.72, 95% CI = 0.53-0.98; TT, OR = 0.40, 95% CI = 0.26-0.62). Among drinkers, however, no significant association of the MTHFR genotypes with CRC risk was observed, with an OR of 0.83 (95% CI = 0.47-1.44) for heterozygotes and 0.75 (95% CI = 0.37-1.55) for TT homozygotes when compared with CC homozygotes. No correlation was found between MTHFR C677T genotypes and tumor number, location, morphological patterns, histologic grade, presence of lymph node metastases, Dukes stage, or age at diagnosis. The TT genotype was more frequently found in patients with a larger size tumor (> 4 cm) than with a smaller size tumor (16.3% vs 8.3%, $P < 0.05$), and was more frequently found in patients with mucinous adenocarcinoma than with tubular adenocarcinoma (22.2% vs 17.1%, 10.3%, $P = 0.084$).

CONCLUSION: The MTHFR C677T polymorphism is associated with a decreased risk of CRC, and alcohol consumption may negate some of the protective effect. The TT genotype may influence CRC progression.

Key Words: Colorectal cancer; Methylenetetrahydrofolate reductase; Genetic polymorphism; Genetic susceptibility

Jin XX, Zhu ZZ, Wang AZ, Jia HR. Association of methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism with genetic susceptibility to colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15(25): 2754-2757

摘要

目的: 探讨亚甲基四氢叶酸还原酶基因

(MTHFR)C677T多态与结直肠癌(CRC)遗传易感性的关系.

方法: 采用TaqMan方法检测CRC 449例与对照672例的MTHFR C677T的基因型分布及差异. 以非条件Logistic回归法计算表示相对危险度的比值比(*OR*)及其95%可信区间(*CI*). *OR*值均经性别、年龄、吸烟、饮酒、体质指数和一级亲属CRC家族史等因素校正.

结果: CRC组677T等位基因频率显著低于对照组, 其为CRC发生的保护因素(*OR*: 0.70, 95% *CI*: 0.58-0.83, $P<0.01$). 与CC纯合子相比, CT杂合子的CRC风险显著降低至0.73倍(95% *CI*: 0.56-0.95, $P<0.05$), 而TT纯合子的CRC风险进一步降至0.47倍(95% *CI*: 0.33-0.68, $P<0.01$). 在非饮酒人群中, C677T的CRC风险保护效应略有增强; 而在饮酒人群中, CT和TT基因型携带者的CRC发病风险虽仍低于CC基因型携带者, 但差异无统计学意义. 在CRC人群中, 荷大肿瘤(最大直径>4 cm)者携带TT基因型的比例高于荷小肿瘤者(16.3% vs 8.3%, $P<0.05$); 荷黏液腺癌者携带TT基因型的比例高于荷乳头状腺癌及管状腺癌者(22.2% vs 17.1%, 10.3%, $P=0.084$).

结论: MTHFR C677T降低CRC发病风险, 饮酒可能削弱该多态的CRC风险保护效应. TT基因型可能与CRC肿瘤进展有关.

关键词: 结直肠肿瘤; 亚甲基四氢叶酸还原酶; 基因多态; 遗传易感性

金夏祥, 朱忠政, 王爱忠, 贾杭若. 亚甲基四氢叶酸还原酶基因C677T多态与结直肠癌遗传易感性的相关性. 世界华人消化杂志 2007;15(25):2754-2757
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2754.asp>

0 引言

亚甲基四氢叶酸还原酶(methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR)是叶酸代谢的限速酶, 介导5, 10-亚甲基四氢叶酸转变成5-甲基四氢叶酸, 后者为细胞内的DNA甲基化反应提供原料, 而前者与DNA合成及修复过程密切相关^[1]. MTHFR基因在人群中具有多态性, 其中以位于催化区的C677T(dbSNP: rs1801133)最为常见, 导致酶活性和热稳定性下降. 国外以不同人群为对象的多项研究提示, 该多态对结直肠癌(CRC), 特别是高叶酸摄入人群的CRC发生有保护作用^[2], 然而以我国人群为对象的各项研究结果不一致^[3-7]. 本研究在大样本基础上进一步探讨了

MTHFR C677T与CRC发病风险的关系, 并且初步探讨了该多态与CRC肿瘤特征的相关性.

1 材料和方法

1.1 材料 449例CRC为宁波市解放军第一一三医院和李惠利医院2002-2005年住院病例, 诊断均经组织病理学证实. 对照组为同一地区健康无血缘关系的个体, 共672例. 以问卷调查和病历记录方法取得所有研究对象的有关资料. 饮酒情况以调查对象每周饮酒1次或1次以上、持续半年以上定义为饮酒. 对照组与病例组在性别、年龄、吸烟和饮酒方面保持均衡可比.

1.2 方法 按常规蛋白酶K、酚氯仿法提取外周血白细胞或癌旁正常结肠组织基因组DNA. MTHFR基因C677T多态基因型分析采用TaqMan方法. 引物和探针的设计用Primer Express软件(Applied Biosystems, Foster City, CA)完成. 引物和探针的序列如下: 上游引物: 5'-AGG CTG ACC TGA AGC ACT TGA A-3'; 下游引物: 5'-CTC AAA GAA AGC TGC GTG ATG A-3'; 等位基因C特异性TaqMan探针, 5'-FAM-TGT CTG CGG GAG CCG ATT TCA-MGB-3'; 等位基因T特异性TaqMan探针, 5'-TET-AGG TGT CTG CGG GAG TCG ATT TCA-MGB-3'; 扩增片段长度74 bp. PCR扩增体系(25 μ L)中含: 1 \times TaqMan PCR master mix (Applied Biosystems, Foster City, CA), 1 μ L(50 mg/L)基因组DNA, 1 μ mol/L上游引物, 1 μ mol/L下游引物, 0.2 μ mol/L FAM-标记探针, 0.2 μ mol/L TET-标记探针. 扩增参数: 50 $^{\circ}$ C预热2 min, 95 $^{\circ}$ C预变性10 min, 然后95 $^{\circ}$ C变性15 s, 62 $^{\circ}$ C复性1 min, 共40个循环. 最后在ABI 7700上检测荧光信号. 基因型分析用Sequence Detector System 2.0软件(Applied Biosystems, Foster City, CA).

统计学处理 以非条件Logistic回归法计算表示相对危险度的比值比(*OR*)及其95%可信区间(*CI*). *OR*值均经性别、年龄、吸烟、饮酒、体质指数和一级亲属CRC家族史等因素校正. 数据统计用统计分析系统进行(Stata, 9.0版).

2 结果

2.1 两组人群CRC混淆因素比较 两组人群的性别、年龄、吸烟、饮酒和体质指数构成差异无显著意义($P>0.05$). CRC组和对照组的一级亲属CRC家族史阳性者分别占10.0%和4.9%, 两者比较有显著意义($P<0.001$).

2.2 MTHFR C677T与CRC风险 对照组和CRC组

相关报道
国外以不同人群为对象的多项研究提示, MTHFR C677T对高叶酸摄入人群的CRC发生有保护作用, 但国内各项研究结果不一致.

创新盘点
本研究在大样本基础上探讨了MTHFR C677T与结直肠癌发病风险的关系,并且初步探讨了该多态与结直肠癌肿瘤特征的相关性。

表 1 MTHFR C677T基因型频率、等位基因频率及其与CRC风险

MTHFR C677T	不饮酒				饮酒				合计(不饮酒+饮酒)			
	对照组 <i>n</i> (%)	CRC组 <i>n</i> (%)	<i>OR</i> (95%CI) ¹	<i>P</i> 值 ¹	对照组 <i>n</i> (%)	CRC组 <i>n</i> (%)	<i>OR</i> (95%CI) ¹	<i>P</i> 值 ¹	对照组 <i>n</i> (%)	CRC组 <i>n</i> (%)	<i>OR</i> (95%CI) ¹	<i>P</i> 值 ¹
基因型												
CC	162 (32.4)	143 (42.8)	1.00		49 (28.5)	39 (33.9)	1.00		211 (31.4)	182 (40.5)	1.00	
CT	236 (47.2)	154 (46.1)	0.72 (0.5 - 0.98)	0.037	89 (51.7)	57 (49.6)	0.83 (0.47 - 1.44)	0.498	325 (48.4)	211 (47.0)	0.73 (0.56 - 0.95)	0.019
TT	102 (20.4)	37 (11.1)	0.40 (0.2 - 0.62)	<0.001	34 (19.8)	19 (16.5)	0.75 (0.37 - 1.55)	0.443	136 (20.2)	56 (12.5)	0.47 (0.33 - 0.68)	<0.001
等位基因												
C	560 (56.0)	440 (65.9)	1.00		187 (54.4)	135 (58.7)	1.00		747 (55.6)	575 (64.0)	1.00	
T	440 (44.0)	228 (34.1)	0.65 (0.5 - 0.79)	<0.001	157 (45.6)	95 (41.3)	0.87 (0.6 - 1.23)	0.423	597 (44.4)	323 (36.0)	0.70 (0.58 - 0.83)	<0.001

¹经性别、年龄、吸烟、饮酒、体质指数和一级亲属CRC家族史校正。

基因型分布均符合Hardy-Weinberg遗传平衡定律($P>0.05$)。总体上, C677T在两组人群中的等位基因和基因型分布差异有统计学意义($P<0.001$)。CRC组及对照组677T等位基因频率分别为36.0%及44.4%, 677T型的CRC发病风险是677C型的0.70倍(95% CI: 0.58-0.83, $P<0.001$), 提示其为CRC的保护因素。与CC纯合子相比, CT杂合子的CRC风险显著降低至0.73倍(95% CI: 0.56-0.95, $P<0.05$), 而TT纯合子的CRC风险进一步降低至0.47倍(95% CI: 0.33-0.68, $P<0.001$)(表1)。

2.3 混淆因素分层分析MTHFR C677T与CRC风险 饮酒因素分层分析结果显示, C677T的CRC保护效应在非饮酒人群中略增强: 与CC基因型相比, CT和TT基因型的CRC发病风险分别降至0.72倍(95% CI: 0.53-0.98, $P<0.05$)和0.40倍(95% CI: 0.26-0.62, $P<0.001$)。而在饮酒人群中, CT和TT基因型的CRC发病风险较CC基因型虽仍有所降低, 但差异无统计学意义(CT: *OR*: 0.83, 95% CI: 0.47-1.44, $P>0.05$; TT: *OR*: 0.75, 95% CI: 0.37-1.55, $P>0.05$)(表1)。经性别、年龄、吸烟、体质指数和一级亲属CRC家族史等因素分层分析, C677T多态的CRC风险无明显差异($P>0.05$)。

2.4 MTHFR C677T与CRC肿瘤特征的相关性 荷大肿瘤(最大直径>4 cm)的CRC人群携带TT基因型的比例高于荷小肿瘤者($P<0.05$); 荷黏液腺癌者携带TT基因型的

比例高于荷乳头状腺癌及管状腺癌者($P = 0.084$)。C677T多态与肿瘤数目、位置、大体形态、组织学分级、淋巴结转移、Dukes分期以及诊断时年龄等均无显著性相关($P>0.05$)(表2)。

3 讨论

本研究结果提示MTHFR C677T是我国浙江宁波地区人群患CRC的一个遗传保护因素。这与Jiang *et al*^[3]以浙江嘉善地区人群(高叶酸摄入人群)为对象的研究结果相类似, 该研究显示TT基因型携带者患结肠癌的风险显著降低, 患直肠癌的风险虽有所降低, 但差异无显著性。我们在大样本基础上的研究结果则清楚地显示, TT基因型显著降低CRC发生风险, 对结肠癌和直肠癌发生的保护效应无明显差异, 而且CT基因型也显著降低CRC发生风险。由于嘉善与宁波两地同属浙江省, 膳食结构和生活习惯等方面相近, 因此本研究所获结果也很可能反映高叶酸摄入人群MTHFR C677T与CRC发病风险的关系。国内其他研究结果与本研究及Jiang *et al*^[3]不同, 或提示二者无关^[4-5], 或提示TT基因型增加CRC或男性结肠癌风险^[6-7]。这种不一致的研究结果可能主要与叶酸摄入量、样本数量差异及疾病遗传异质性等有关。

酒精摄入可降低叶酸的小肠吸收和肝脏摄取并可增加叶酸的肾脏排泄, 酒精代谢产物也可对叶酸产生破坏^[8], 因此饮酒可能影响MTHFR C677T与CRC遗传易感性的关系。与此推测相一致, 我们的研究结果显示, 饮酒因素削弱了677T的CRC风险保护效应。Ma *et al*^[9]对饮酒的半定量分析结果表明,

表 2 MTHFR C677T基因型频率与CRC肿瘤特征n(%)

肿瘤特征	MTHFR C677T基因型			P值
	CC	CT	TT	
大小(cm)				
4	92 (42.6)	106 (49.1)	18 (8.3)	0.038
> 4	90 (38.6)	105 (45.1)	38 (16.3)	
数目(个)				
1	174 (40.3)	205 (47.5)	53 (12.3)	0.583
2	8 (47.1)	6 (35.3)	3 (17.7)	
位置				
结肠	99 (39.4)	117 (46.6)	35 (13.9)	0.709
结直肠交界	1 (25.0)	2 (50.0)	1 (25.0)	
直肠	82 (42.3)	92 (47.4)	20 (10.3)	
大体形态				
隆起型	59 (41.8)	60 (42.6)	22 (15.6)	0.490
溃疡型	100 (39.1)	126 (49.2)	30 (11.7)	
浸润型	23 (44.2)	25 (48.1)	4 (7.7)	
组织学类型				
乳头状腺癌	13 (37.1)	16 (45.7)	6 (17.1)	0.084
管状腺癌	144 (41.0)	171 (48.7)	36 (10.3)	
黏液腺癌	25 (39.7)	24 (38.1)	14 (22.2)	
组织学分级				
高分化	28 (45.2)	25 (40.3)	9 (14.5)	0.248
中分化	94 (38.8)	124 (51.2)	24 (9.9)	
低分化	60 (41.4)	62 (42.8)	23 (15.9)	
淋巴结转移				
阴性	114 (41.6)	123 (44.9)	37 (13.5)	0.482
阳性	68 (38.9)	88 (50.3)	19 (10.9)	
Dukes分期				
A期	41 (45.6)	38 (42.2)	11 (12.2)	0.868
B期	62 (39.7)	74 (47.4)	20 (12.8)	
C期	54 (40.9)	64 (48.5)	14 (10.6)	
D期	25 (35.7)	34 (48.6)	11 (15.7)	
诊断时年龄(岁)				
50	38 (33.6)	59 (52.2)	16 (14.2)	0.224
> 50	144 (42.9)	152 (45.2)	40 (11.9)	

以携带CC基因型的少量或不饮酒者为参照, 携带TT基因型的少量或不饮酒者、中量饮酒者和大量饮酒者的CRC发病风险分别降低7倍、1倍和不降低。类似的, Chen *et al*^[10]报道, 每周饮酒5次或5次以上可拮抗TT基因型的CRC风险保护效应。这些研究结果提示, 饮酒可削弱甚至拮抗677T的CRC风险保护效应。

MTHFR C677T与肿瘤数目、位置、大体形态、组织学分级、淋巴结转移、Dukes分期以及诊断时年龄等均无显著相关性, 但结果提示TT基因型与肿瘤大小(最大直径>4 cm)和组织学类型(黏液腺癌)有关。Jakobsen *et al*^[11]报道, 携

带TT基因型的CRC患者对5-氟尿嘧啶的化疗敏感性高于其他基因型携带者。Odin *et al*^[12]报道, 677T携带与CRC复发有关。以上结果共同提示, MTHFR C677T可能与CRC进展有关。因此, 二者相关性研究值得深入进行。

总之, MTHFR C677T至少是我国浙江地区人群患CRC的一个遗传保护因素, 可作为该地区人群CRC发病风险的筛选指标; 饮酒可削弱该多态的CRC风险保护效应; TT基因型可能与CRC肿瘤进展有关。

4 参考文献

- 1 Brockton NT. Localized depletion: the key to colorectal cancer risk mediated by MTHFR genotype and folate? *Cancer Causes Control* 2006; 17: 1005-1016
- 2 Kono S, Chen K. Genetic polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase and colorectal cancer and adenoma. *Cancer Sci* 2005; 96: 535-542
- 3 Jiang Q, Chen K, Ma X, Li Q, Yu W, Shu G, Yao K. Diets, polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase, and the susceptibility of colon cancer and rectal cancer. *Cancer Detect Prev* 2005; 29: 146-154
- 4 何铭均, 罗劲根, 柳息洪, 陈盛强. MTHFR C677T基因多态性与直肠癌相关性的初步探讨. 解剖学研究 2005; 27: 91-93, 96
- 5 黄萍, 周紫垣, 马恒太, 刘晋伟, 周燕虹, 曹佳, 葛海燕, 余佩武, Toshiro Takezaki. 重庆地区人群亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性与结直肠癌易感性关系研究. 第三军医大学学报 2003; 25: 1710-1713
- 6 缪小平, 杨桑, 谭文, 张雪梅, 叶颖江, 林东昕, 王杉. 亚甲基四氢叶酸还原酶基因单核苷酸多态性与大肠癌风险的关系. 中华预防医学杂志 2005; 39: 409-411
- 7 高长明, Takezaki TOShiro, 吴建中, 丁建华, 周建农, 刘燕婷, 李苏平, 苏平, 曹佳, Hamajima Nobuyuki, Tajima Kazuo. 亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性与结直肠癌易感性的关系. 肿瘤防治杂志 2005; 12: 1215-1222
- 8 Halsted CH, Villanueva JA, Devlin AM, Chandler CJ. Metabolic interactions of alcohol and folate. *J Nutr* 2002; 132: 2367S-2372S
- 9 Ma J, Stampfer MJ, Giovannucci E, Artigas C, Hunter DJ, Fuchs C, Willett WC, Selhub J, Hennekens CH, Rozen R. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, dietary interactions, and risk of colorectal cancer. *Cancer Res* 1997; 57: 1098-1102
- 10 Chen J, Giovannucci E, Kelsey K, Rimm EB, Stampfer MJ, Colditz GA, Spiegelman D, Willett WC, Hunter DJ. A methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and the risk of colorectal cancer. *Cancer Res* 1996; 56: 4862-4864
- 11 Jakobsen A, Nielsen JN, Gyldenkerne N, Lindeberg J. Thymidylate synthase and methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism in normal tissue as predictors of fluorouracil sensitivity. *J Clin Oncol* 2005; 23: 1365-1369
- 12 Odin E, Wettergren Y, Carlsson G, Danenberg PV, Termini A, Willen R, Gustavsson B. Expression and clinical significance of methylenetetrahydrofolate reductase in patients with colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer* 2006; 5: 344-349

同行评价

本文探讨了亚甲基四氢叶酸还原酶基因C677T多态与结直肠癌遗传易感性的相关性, 研究目的明确, 方法设计合理, 结果可信, 结论具有一定的指导意义。对既往的相关性研究内容有新的补充和新的见解, 有一定的参考价值。

编辑 何燕 电编 郭海丽

超声诊断非肿瘤性肠壁增厚性病变73例

陶春梅, 李 瀾, 王学梅

背景资料
超声对肠道病变诊断的报道多局限在肠肿瘤方面, 而对克隆病溃疡性结肠炎、肠结核等非肿瘤性肠壁增厚性病变报道较少。

陶春梅, 王学梅, 中国医科大学第一附属医院超声中心 辽宁省沈阳市 110001
李瀾, 营口市中心医院超声中心 辽宁省营口市 115000
通讯作者: 陶春梅, 110001, 辽宁省沈阳市和平区南京北街155号, 中国医科大学第一附属医院超声中心. xudongyang78@163.com
电话: 024-83282097
收稿日期: 2007-04-13 修回日期: 2007-08-26

Diagnostic value of ultrasonography in nontumorous wall-thickening diseases of the intestine: an analysis of 73 cases

Chun-Mei Tao, Mi Li, Xue-Mei Wang

Chun-Mei Tao, Xue-Mei Wang, Department of Ultrasound Center, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China
Mi Li, Department of Ultrasound, the Second People's Hospital of Yingkou City, Yingkou 115000, Liaoning Province, China
Correspondence to: Chun-Mei Tao, Department of Ultrasound Center, the First Affiliated Hospital of China Medical University, 155 Nanjing North Street, Heping District, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. xudongyang78@163.com
Received: 2007-04-13 Revised: 2007-08-26

Abstract

AIM: To explore the diagnostic value of ultrasonography in non-tumorous wall-thickening diseases of the intestine.

METHODS: Ultrasound was used to examine 73 patients with a clear diagnosis of non-tumorous wall-thickening diseases of the intestine. The characteristics of the images were determined.

RESULTS: The ultrasonographic features of non-tumorous wall-thickening diseases of the intestine appeared to be thickening of the intestinal wall, reduction of echo, and absence of a normal constitution. Thickening of the intestinal wall was most obvious in Crohn's disease, which was often accompanied with intestinal fistula and mass lesions, and easily complicated with intestinal obstruction. Ulcerative colitis, which often occurs in the sigmoid colon and descending colon, mainly appeared as thickening of the intestinal wall, occasionally with complications

such as intestinal obstruction. Intestinal tuberculosis, frequently occurring in the ileocecal junction, was always accompanied with ankylosing mass lesions and lymphonodes, and ascites also could be seen in the intestines examined.

CONCLUSION: Ultrasonography is useful in the diagnosis of non-tumorous wall-thickening diseases of the intestine and for observation of treatment effects.

Key Words: Ultrasound; Non-tumorous wall-thickening diseases of the intestine; Diagnostic

Tao CM, Li M, Wang XM. Diagnostic value of ultrasonography in nontumorous wall-thickening diseases of the intestine: an analysis of 73 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15(25): 2758-2761

摘要

目的: 探讨超声检查在非肿瘤性肠壁增厚性病变诊断中的应用价值。

方法: 对临床诊断明确的非肿瘤性肠壁增厚性病变患者73例进行超声检查, 观察超声图像特点。

结果: 非肿瘤性肠壁增厚性病变声像图特征性表现为肠壁增厚, 回声减低, 正常结构可消失。克隆病肠壁增厚最明显, 多伴有肠瘘形成包块, 易合并肠梗阻; 溃疡性结肠炎以肠壁增厚为主, 少伴有肠梗阻等并发症; 肠结核多发于回盲部, 多伴有肠粘连包块, 可见肠间淋巴结回声和肠间积液。

结论: 超声检查可用于非肿瘤性肠壁增厚性病变的诊断与疗效观察。

关键词: 超声; 非肿瘤性肠壁增厚性病变; 诊断

陶春梅, 李瀾, 王学梅. 超声诊断非肿瘤性肠壁增厚性病变73例. *世界华人消化杂志* 2007;15(25):2758-2761
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2758.asp>

0 引言

非肿瘤性肠壁增厚性病变主要为各种慢性或非

特异性炎症, 包括克隆病、溃疡性结肠炎、肠结核等。以往诊断多是通过纤维结肠镜检查, 病理诊断, 为探讨超声在非肿瘤性肠壁增厚性病变诊断中的应用价值, 本文对73例临床诊断明确的非肿瘤性肠壁增厚性病变的患者进行超声检查, 总结非肿瘤性肠壁增厚性病变超声检查的图像特点, 以期在临床诊断与疗效观察方面提供更多的信息。

1 材料和方法

1.1 材料 我院2003-2004年非肿瘤性肠壁增厚性病变患者73例, 经纤维结肠镜或既往经纤维结肠镜检查病理证实; 或手术病理证实。克隆病17例, 溃疡性结肠炎46例, 肠结核10例。男30例, 女43例, 年龄14-95岁平均(45.58)岁。病史2 d至20 a。临床有脓血便, 不同程度的腹痛、腹胀, 腹泻或/和便秘。临床检查可有便潜血阳性, 不同程度的腹部压痛, 28例有不同程度的贫血, 血红蛋白浓度52-118(平均88.0) g/L。ATLSonoCT5000型多普勒彩色超声诊断仪, 探头频率, 腹部探头3.5-5.0 MHz, 浅表探头7-12 MHz, 腔内探头5-9 MHz。

1.2 方法 患者无需特殊准备, 仰卧于检查床上, 腹部肠管扫查, 发现肠管病变, 加以记录。

2 结果

2.1 超声检查图像特点 17例克隆病超声检查结果可见病变均累及回肠末端至回盲部, 4例伴有升结肠病变, 2例从空肠至回肠均有病变, 7例伴有包块回声, 其中4例伴有肠瘘, 均经手术证实。7例肠腔有多处狭窄, 2例一处狭窄。病变分布有节段性, 肠壁明显增厚, 可达2.5 cm, 回声减低最明显, 病变累及全肠壁, 早期肠壁正常结构即可消失、不均匀, 病变肠壁增厚, 僵硬, 蠕动消失, 增厚的肠壁彩色血流显示增多(表1, 图1A-B)。

10例肠结核患者病变均累及回盲部, 超声可见肠壁增厚, 一般小于1.0 cm, 回声稍低, 黏膜回声稍高, 可见与周围组织粘连征象, 肠系膜增厚, 肠间淋巴结肿大。累及回肠3例, 累及升结肠5例, 回肠及升结肠均受累2例, 5例可见腹部包块(表1, 图1C-D)。

46例溃疡性结肠炎患者, 超声检查病变范围为全结肠16例, 降结肠和乙状结肠上段30例, 伴有直肠病变26例、横结肠和升结肠病变各2例, 其中6例伴有肠梗阻。超声检查可见病变分布范围较广, 肠壁回声减低, 增厚, 一般小于1.2 cm, 以黏膜及黏膜下层为主, 病变肠黏膜回声增高, 多可见溃疡样高回声, 肠壁结构多可辨认。

表1 克隆病、溃疡性结肠炎、肠结核超声检查图像比较

	克隆病 (n = 17)	溃疡性结 肠炎(n = 46)	肠结核 (n = 10)
病变好发部位	回盲部 近端结肠	乙状结肠、 降结肠	回盲部、 空肠
肠黏膜	增厚、凹 陷、隆起	增强、凹陷	增强
病变肠段间正常	病变弥漫分布	病变弥漫分布	
病变肠壁厚度	增厚明显 达2.5 cm	增厚, 0.6 - 1.2 cm	多无明显 增厚
回声显示	明显减低, 不均质	减低, 较均质	不明显, 较均质
正常结构	早期即可 消失	可分辨	多可分辨
肠腔狭窄	多个狭窄、 偏心性	弥漫狭窄、 同心性	少见
肠间淋巴结	12	4	6
肠间积液	9	2	7
肠梗阻	13	6	5
粘连包块	7	少见	5
包块特点	肠壁增厚、 回声明显 减低不均、 正常结构 消失, 包块 回声明显 减低	-	肠壁增厚 不明显、与 周围组织 粘连明显 呈低回声 包块

有的可见肠壁僵硬, 肠腔狭窄, 蠕动消失, 增厚的肠壁彩色血流显示增多(表1, 图1E-F)。

2.2 非肿瘤性肠壁增厚性病变纤维结肠镜检查结果 17例克隆病患者均经纤维结肠镜检查, 可见病变肠黏膜凹陷、隆起, 可见多处溃疡, 肠黏膜有糜烂、水肿, 有的可见明显的铺路石样改变, 6例可见黏膜结节或息肉样改变, 可见肠壁僵硬蠕动较差或消失。

46例溃疡性结肠炎患者, 纤维结肠镜检查病变部位分别为全结肠18例、降结肠和乙状结肠、直肠28例、其中伴有横结肠病变5例、升结肠病变2例。纤维结肠镜检查可见肠黏膜充血、水肿、糜烂和溃疡, 有的可见肠腔狭窄, 肠壁僵硬蠕动消失。

10例肠结核患者纤维结肠镜检查均可见回盲部挛缩, 可见回盲瓣变窄, 盲肠变形, 累及升结肠的可见肠黏膜充血水肿, 可伴有溃疡。

2.3 非肿瘤性肠壁增厚性病变超声检查结果与纤维结肠镜检查比较 超声检查除可检出病变肠段肠黏膜的改变, 肠腔有无狭窄、肠壁的蠕动

相关报道

本文总结了非肿瘤性肠疾病超声检查图像不同的特点, 提出超声在上述疾病的诊断中可以提供临床有意义的信息, 对上述疾病治疗过程中的疗效可以动态对比观察。

同行评价
本文分析了73例非肿瘤性肠壁增厚性病变的超声图像特点,有一定的可读性,对临床应用有积极的意义。

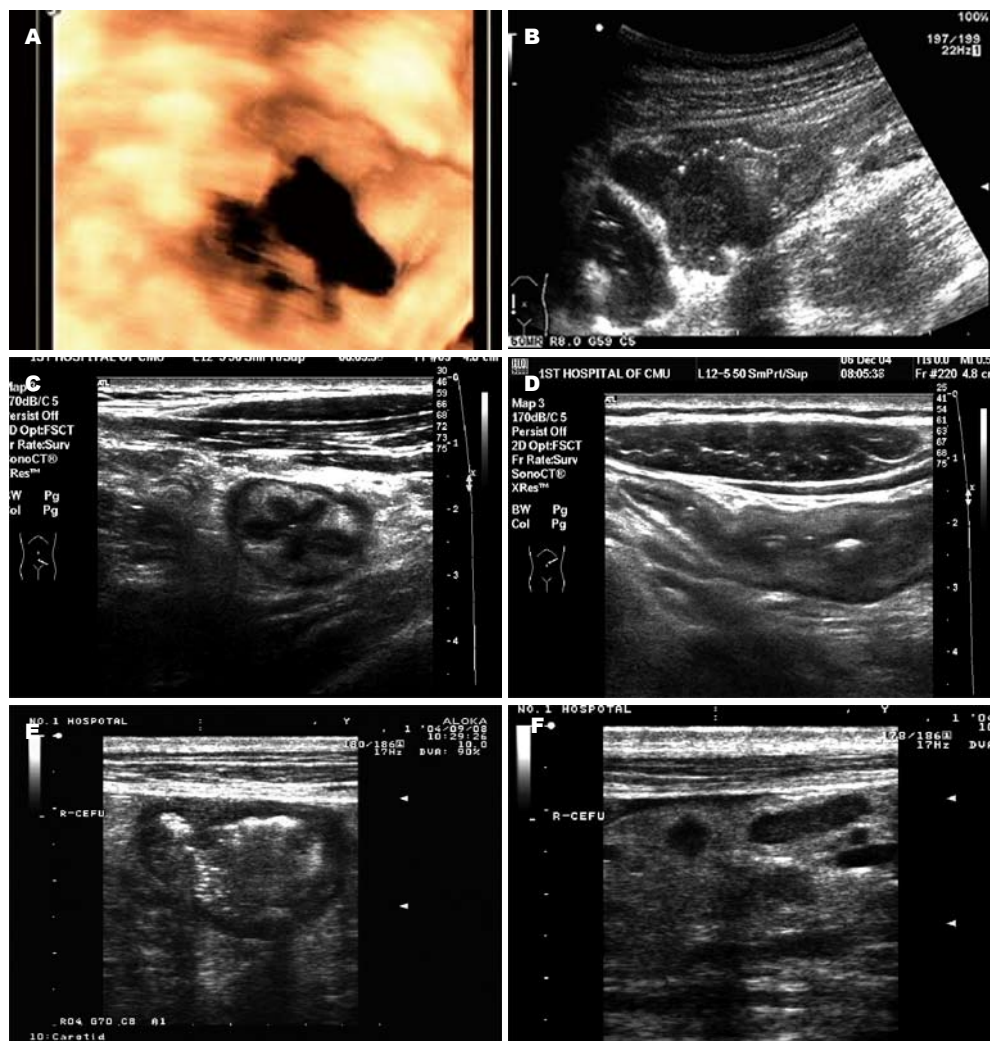


图1 克隆病, 肠结核和溃疡性结肠炎的超声图像。A: 克隆病三维图像可见肠腔黏膜乳头样突起; B: 克隆病肠壁回声明显减低, 黏膜可见溃疡; C: 肠结核肠壁厚, 回声减低, 黏膜可见溃疡; D: 肠结核肠系膜增厚, 淋巴结肿大; E: 溃疡性结肠炎可见肠壁增厚, 以黏膜及黏膜下层为主; F: 溃疡性结肠炎肠壁结构清晰, 黏膜可见溃疡。

等情况, 病变肠段肠壁不同程度增厚, 与正常肠壁或周围结缔组织相比回声减低, 回声不均匀, 可伴有结节样回声及溃疡浸及深度等结构的变化。对肠外病变显示更清晰, 如粘连包块, 包块内回声, 病变累及周围组织范围, 肠间积液和量, 肠系膜及肠间淋巴结肿大等情况, 如22例可见肿大淋巴结, 18例可见肠间积液, 12例可见包块样回声。超声还可检出纤维结肠镜无法检出的空、回肠病变, 肠腔狭窄肠镜无法到达的病变肠段, 特别是在克隆病时。

纤维结肠镜可更清晰地观察结肠黏膜病变, 特别是早期病变更准确, 可以取得病变组织, 进行病理检查, 得到确切的临床诊断, 但无法检出肠壁全层改变及肠外腹腔病变。

3 讨论

非肿瘤性肠壁增厚性病变主要为各种慢性或

非特异性炎症, 其发病率低于肠道肿瘤, 临床表现与肿瘤颇为相似, 包括克隆病、溃疡性结肠炎、肠结核等。超声对于肠道病变诊断的报道多局限于肠道肿瘤^[5-9], 炎症性肠病报道少见^[3-5]。随着消化道超声检查与研究的深入, 对此类病变已有一定认识, 超声作为一种常规检查方法越来越受到重视^[1-2]。本组病例表明, 无论何种原因引起的肠壁增厚均能被超声检出, 而且在声像图上具有各自不同的特点。超声在非肿瘤性肠壁增厚性病变的检查中, 既能检出增厚的肠壁及肠黏膜的变化, 肠腔狭窄情况, 也可以观察到肠间病变, 如肿大的淋巴结, 增厚的网膜、肠系膜, 及肠间积液, 病变与周围组织形成的粘连包块等。还可以较长时间的动态观察肠管的蠕动情况及影像的对比观察。但超声对横结肠和直肠病变的检出率偏低。纤维结肠镜检查可以清晰观察肠黏膜的病变, 肠腔狭窄, 可以取得病

变组织, 最后得到病理诊断. 但对肠外病变是个盲区, 患者需要进行肠道准备, CT即可以观察肠内、肠间和腹腔病变, 但不利于重复使用和较长时间的动态观察. 在非肿瘤性肠壁增厚性病变的诊断中, 超声具有一定的优势. 超声检查作为一种无痛性影像学检查, 经济、方便, 可以反复使用, 对被检者无伤害, 并且无须作特殊肠道准备, 在检查过程中可以动态观察病变情况, 与周围组织粘连情况, 特别是在治疗过程中可以作为对疗效的观察及评估, 对横结肠病变漏诊可能与横结肠位置变化较大有关, 在直肠病变显示率低可能与检查前未做肠道清洗及膀胱不充盈有关.

非肿瘤性肠壁增厚性病超声检查时应与肠肿瘤相鉴别. 前者主要以肠壁增厚为主, 黏膜面虽有溃凹陷但位置浅在, 管腔相对平坦, 重症病例肠壁明显增厚, 壁间可见结节, 一般病变范围及长度均明显大于肿瘤. 而肠肿瘤时肠壁明显增厚, 典型的呈假肾样或靶环样肿块, 管腔不规则狭窄, 有较大深在溃疡凹陷, 可有浆膜面的缺失, 肿块内回声明显不均匀. 克隆病肠瘘形成包块时不易与肠肿瘤鉴别, 可根据病史鉴别, 克隆病病史较长, 反复发作, 临床一般少有脓血便. 超声检查虽能检出肠壁增厚性病变, 但仅凭超声图像表现并不能完全区别克隆病、溃疡性结肠炎和肠结核, 不能作为最后的确诊手段, 仍需纤维结肠镜检查或手术做病理检查确诊. 超声的不足之处是给出

的图像是一个个断面, 整体解剖和病变全貌直观形象性较差. 须仔细扫查、动态观察, 提高病变的检出率. 随着超声诊断仪器的发展, 分辨率的提高, 以及超声在临床各领域的广泛应用, 超声对肠道疾病, 特别是在非肿瘤肠壁增厚性疾病的诊断方面, 也可以作为一种常规的检查手段. 超声检查即可以观察肠黏膜的横向病变, 也可以观察肠壁厚度及结构的纵向变化, 还可以观察到肠腔外及腹腔的改变, 给临床医师提供有价值的信息, 可以在非肿瘤性肠壁增厚性病的治疗过程中, 作为对疗效的评价手段, 反复应用, 无痛苦, 简便, 经济.

4 参考文献

- 1 陈敏华. 消化系疾病超声学. 第1版. 北京: 北京出版社, 2003: 321-324
- 2 叶任高. 内科学. 第5版. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 332-340
- 3 陶春梅, 王学梅, 欧国成. 溃疡性结肠炎的超声诊断价值. 中国医科大学学报 2005; 34: 351-352
- 4 杭桂芳, 武心萍, 丁文波. 克罗恩病的超声诊断价值. 中华现代影像学杂志 2006; 3: 538
- 5 王彬, 陈敏华. Crohn's病的超声表现与诊断. 中华医学杂志 1993; 73: 482-483
- 6 周波. 四种检查方法对结肠癌诊断价值的评价. 肿瘤防治杂志 2003; 10: 525-527
- 7 王炽秋. 超声在直肠癌诊断中的应用. 中国冶金工业医学杂志 2005; 22: 550-551
- 8 郭俊骥, 赵天平, 张霞, 郭俊骊, 原金凤. 经腹壁实时超声诊断消化道癌性病变的临床研究. 世界华人消化杂志 1998; 6: 425
- 9 柳伟, 洪斌. 超声显像诊断大肠癌128例分析. 中国误诊学杂志 2006; 6: 3159

编辑 程剑侠 电编 郭海丽

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志在线办公系统

本刊讯 自2005-12-15起, 世界华人消化杂志正式开通了在线办公系统(<http://www.wjgnet.com/wcjd/ch/index.aspx>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者、编者之间的信息反馈交流. 凡在在线办公系统注册的用户, 将可获得世界华人消化杂志最新出版消息.

致谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

曹秀峰 主任医师

南京医科大学附属南京第一医院肿瘤中心

陈公琰 主任医师

哈尔滨医科大学附属肿瘤医院内一科

陈海龙 教授

大连医科大学附属第一医院院办

陈积圣 教授

中山大学孙逸仙纪念医院肝胆外科

龚国忠 教授

中南大学湘雅二医院肝病研究中心

郭晓钟 教授

沈阳军区总医院消化内科

黄颖秋 教授

本溪钢铁(集团)有限责任公司总医院消化内科

金瑞 教授

首都医科大学附属北京佑安医院消化科

李国威 教授

西安交通大学医学院第二附属医院普通外科

李延清 教授

山东大学齐鲁医院消化科

梁力建 教授

中山大学附属第一医院肝胆外科

彭曦 副研究员

重庆市西南医院烧伤研究所

钱林学 教授

首都医科大学附属北京友谊医院内科

秦环龙 教授

上海交通大学附属第六人民医院外科

任超世 研究员

中国医学科学院生物医学工程研究所

邵成浩 主治医师

第二军医大学长海医院普外科

孙诚谊 教授

贵阳医学院附属医院院长办

唐采白 副教授

徐州医学院第二附属医院消化科

王鲁 副教授

复旦大学附属中山医院肝外科、复旦大学肝癌研究所

王晓艳 副教授

中南大学湘雅三医院消化内科

王新月 教授

北京中医药大学东直门医院消化科

吴泰璜 教授

山东省立医院肝胆外科

向德兵 讲师

中国人民解放军第三军医大学大坪医院肿瘤中心

徐大华 副主任医师

首都医科大学宣武医院普外科

许玲 副教授

第二军医大学长征医院中医科

杨林 副研究员

中山大学附属第三医院感染病科

张锦生 教授

复旦大学上海医学院病理学系

张声生 教授

首都医科大学附属北京中医医院消化中心

郑鹏远 教授

郑州大学第二附属医院消化科

朱传武 副主任医师

苏州市第五人民医院传染科