

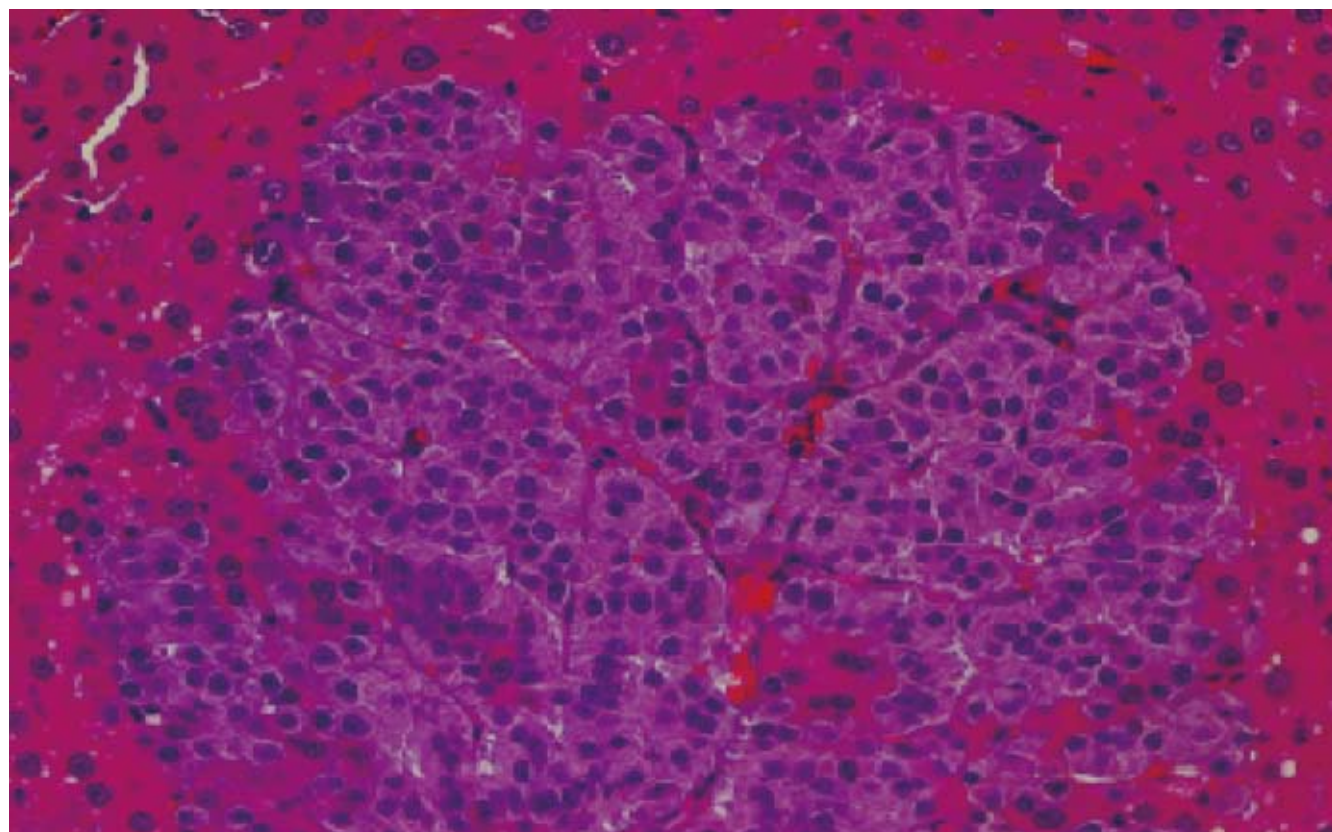
ISSN 1009-3079 (print)  
ISSN 2219-2859 (online)  
CN 14-1260/R

# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2011 年 11 月 8 日 第 19 卷 第 31 期 (Volume 19 Number 31)



**31 / 2011**

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

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

# 世界华人消化杂志®

## 编辑委员会

2009-01-01/2011-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

### 总顾问

陈可冀教授  
黄象谦教授  
黄志强教授  
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

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  
杨思凤教授  
姚希贤教授  
岳茂兴教授  
张万岱教授  
周学文教授

### 常务编委

程英升教授  
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  
聂青和教授  
王小众教授

### 编委

#### 消化内科学

白爱平副教授  
苒新明教授  
陈国忠副主任医师  
陈洪刚教授  
陈其奎教授  
陈卫昌教授  
陈贻胜教授  
程斌教授  
迟宝荣教授  
崔立红教授

邓长生教授  
丁士刚教授  
董蕾教授  
杜雅菊主任医师  
杜奕奇副教授  
樊晓明主任医师  
房静远教授  
冯志杰主任医师  
傅春彬主任医师  
高峰副教授  
戈之铮教授  
关玉盘教授  
关晓辉主任医师  
郭晓钟教授  
郝建宇教授  
何松教授  
洪天配教授  
侯晓华教授  
胡伏莲教授  
胡和平主任医师  
黄培林教授  
黄晓东主任医师  
黄颖秋教授  
黄缘教授  
霍丽娟教授  
季国忠教授  
江米足主任医师  
姜春萌教授  
姜慧卿教授  
姜相君主任医师  
金瑞教授  
蓝宇教授  
李定国教授  
李淑德教授  
李瑜元教授  
李玉民教授  
李玉明教授  
廖家智副主任医师  
林志辉教授  
刘冰熔教授  
刘凤斌教授  
刘改芳主任医师  
刘海峰主任医师  
刘海林主任医师  
刘铁夫教授  
刘莹副主任医师  
刘占举教授  
陆伦根教授  
吕志武教授  
马红主任医师  
马欣主任医师  
毛高平教授

孟庆华教授  
倪润洲教授  
欧希龙副教授  
潘秀珍教授  
朴云峰教授  
秦成勇教授  
任粉玉副教授  
任建林教授  
邵先玉教授  
沈琳主任医师  
沈守荣教授  
沈薇教授  
施瑞华教授  
宋军副教授  
宋于刚教授  
唐世刚教授  
田宇彬教授  
宛新建副教授  
王邦茂教授  
王炳元教授  
王承党教授  
王江滨教授  
王俊平教授  
王晓艳副教授  
闻勤生教授  
夏冰教授  
夏时海副教授  
徐可树教授  
许乐主任医师  
杨建民教授  
姚树坤教授  
叶红军主任医师  
张春清教授  
张国梁主任医师  
张军教授  
张小晋主任医师  
张晓岚教授  
张筱茵副教授  
张志坚教授  
郑培永副教授  
郑鹏远教授  
郑素军副主任医师  
周国雄主任医师  
周晓东副教授  
周宇教授  
朱春兰主任医师  
邹晓平主任医师  
诸琦教授  
于珮主任医师

#### 消化外科学

白雪巍副主任医师

蔡开琳副教授  
蔡三军主任医师  
曹杰主任医师  
陈光教授  
陈海龙教授  
陈积圣教授  
陈进宏副主任医师  
陈力教授  
陈立波教授  
陈凇教授  
陈强谱教授  
陈汝福教授  
陈亚军主任医师  
陈钟教授  
程爱国教授  
程爱群主任医师  
程树群副教授  
崔云甫教授  
戴朝六教授  
戴冬秋教授  
丁义涛教授  
董明教授  
杜成友教授  
杜顺达副主任医师  
房林副教授  
傅红副教授  
傅华群教授  
傅志仁主任医师  
高成新教授  
葛海燕教授  
巩鹏副教授  
谷俊朝主任医师  
顾国利副主任医师  
顾岩教授  
韩天权教授  
郝纯毅主任医师  
郝立强副教授  
何超教授  
何晓顺教授  
何裕隆教授  
黄志勇教授  
季加孚教授  
姜卫东教授  
姜波健教授  
蒋龙元副教授  
金山副教授  
黎乐群教授  
李革副教授  
李国威教授  
李华副教授  
李华山主任医师

李杰教授  
李奇林教授  
李胜研究员  
李涛副主任医师  
李文岗教授  
李小荣教授  
李旭副教授  
李永翔主任医师  
李志霞教授  
李宗芳教授  
梁力建教授  
刘宝林教授  
刘超副教授  
刘建教授  
刘颖斌主任医师  
卢实春教授  
陆才德教授  
陆云飞教授  
禄韶英副主任医师  
吕明德教授  
吕云福教授  
彭吉润主任医师  
彭心宇教授  
齐清会教授  
秦春宏副主任医师  
秦华东教授  
秦环龙教授  
秦建民副主任医师  
邱宝安主任医师  
邱双健副教授  
邱伟华副主任医师  
仇毓东副教授  
裘正军教授  
单云峰副主任医师  
沈柏用副教授  
沈世强教授  
施宝民教授  
施诚仁教授  
施晓雷副主任医师  
石毓君副研究员  
宋振顺教授  
孙诚谊教授  
孙学英教授  
孙延平副主任医师  
邵升副教授  
谭晓冬教授  
汤朝晖副主任医师  
汤恢焕教授  
汤绍涛教授  
唐南洪教授  
田晓峰教授  
汪波副主任医师

汪根树副教授  
王春友教授  
王德盛副主任医师  
王凤山教授  
王广义教授  
王健生教授  
王鲁副教授  
王蒙副教授  
王石林主任医师  
王文跃主任医师  
王悦华副主任医师  
王振宁教授  
王正康教授  
王志刚副主任医师  
王忠裕教授  
吴河水教授  
吴健雄教授  
吴金术教授  
吴泰璜教授  
吴志勇教授  
伍晓汀教授  
谢敏主任医师  
谢晓华副教授  
邢光明教授  
徐大华主任医师  
徐迅迪教授  
徐洪副教授  
徐戈良教授  
许剑民教授  
薛东波教授  
严律南教授  
杨柏霖副主任医师  
杨桦教授  
杨家和主任医师  
杨维良教授  
杨银学教授  
杨尹默教授  
伊力亚尔·夏合丁教授  
殷正丰教授  
于聪慧教授  
于则利教授  
禹正杨副教授  
郁宝铭教授  
元云飞教授  
张必翔主任医师  
张宏伟教授  
张佳林教授  
张进祥副教授  
张俊副研究员  
张力为副教授  
张群华教授  
张水军教授  
张宗明教授  
赵刚副教授

智绪亭教授  
周伟平教授  
邹小明教授

### 消化感染病学

陈国凤主任医师  
陈红松研究员  
陈建杰教授  
陈仕珠主任医师  
陈志辉副主任医师  
党双锁教授  
丁惠国教授  
范建高教授  
范小玲主任医师  
高润平教授  
高泽立副教授  
高志良主任医师  
龚国忠教授  
管世鹤副教授  
郝春秋副教授  
何生松教授  
胡国信副主任医师  
靳雪源副主任医师  
林菊生教授  
刘正稳教授  
宁琴教授  
牛俊奇教授  
钱林学主任医师  
孙殿兴主任医师  
谭德明教授  
汤华研究员  
唐霓副研究员  
唐晓鹏教授  
王凯教授  
王怡主任医师  
魏来教授  
吴建国教授  
吴君主任医师  
宣世英教授  
杨江华副教授  
杨林副研究员  
姚鹏副教授  
张继明教授  
张明辉副主任医师  
张占卿主任医师  
赵桂鸣主任医师  
赵连三教授  
赵秀英副教授  
周霞秋教授  
朱传武教授  
庄林主任医师

### 消化中医药学

蔡淦教授

陈治水主任医师  
杜群副研究员  
黄恒青主任医师  
李军祥教授  
李康副教授  
李晓波教授  
李勇副教授  
李振华教授  
刘成海研究员  
刘平教授  
刘绍能主任医师  
龙致贤教授  
南极星教授  
牛英才研究员  
沈洪教授  
司富春教授  
唐志鹏研究员  
王富春教授  
王新月教授  
邢建峰副教授  
徐列明教授  
许玲副教授  
徐庆教授  
袁红霞研究员  
张声生教授

### 消化肿瘤学

曹秀峰教授  
曹志成院士  
陈公琰主任医师  
陈克能教授  
代智副研究员  
华海清教授  
李瑗教授  
刘宝瑞教授  
刘彬彬副研究员  
刘云鹏教授  
秦叔逵教授  
沈克平主任医师  
王阁教授  
向德兵副教授  
肖文华主任医师  
谢丹教授  
熊斌教授  
张凤春教授

### 消化影像学

白彬主任医师  
陈克敏教授  
官泳松教授  
韩新巍教授  
胡红杰主任医师  
李健丁教授  
龙学颖副主任医师

倪才方教授  
施海彬教授  
魏经国教授  
肖恩华教授  
徐爱民副教授  
徐辉雄教授  
徐克教授  
严惟力副教授  
杨业发教授  
杨建勇教授  
赵卫主任医师

### 消化内镜及介入治疗学

丁佑铭教授  
郝俊鸣副主任医师  
茅爱武教授  
潘林娜教授  
孙明军教授  
万军教授  
吴硕东教授  
袁友红副教授

### 消化中西医结合学

唐文富副教授  
王学美研究员  
魏睦新教授  
杨钦河教授  
张春虎副教授

### 消化基础研究

曹洁副教授  
曹鹏副研究员  
曹师承教授  
陈敬贤教授  
陈秋生教授  
陈志龙教授  
崔莲花副教授  
樊红教授  
高春芳研究员  
高国全教授  
高英堂研究员  
管冬元副教授  
何敏教授  
黄昆教授  
黄文林教授  
黄园教授  
李东辉教授  
李刚教授  
李杰副教授  
李君文研究员  
李永哲副研究员  
李增山副教授  
刘克辛教授  
刘森副教授

梅林教授  
钱其军研究员  
钱睿哲教授  
任超世研究员  
任浩副教授  
任晓峰副教授  
台桂香教授  
谭学瑞教授  
田文静副教授  
田颖刚副研究员  
汪思应教授  
王钦红教授  
魏继福副研究员  
吴道澄教授  
吴军研究员  
吴俊华副教授  
徐宁志研究员  
许文燮教授  
姚登福教授  
阴赅宏研究员  
郁卫东副研究员  
喻荣彬教授  
张青云研究员  
张学教授  
赵平副教授  
周南进研究员  
周士胜教授  
周素芳教授  
周晓东研究员  
周晓武副主任医师  
朱进霞教授

### 消化病理学

杜祥教授  
李菊玲副教授  
李淳副教授  
李晟磊副主任医师  
刘丽江教授  
刘勇钢副主任医师  
吕宁主任医师  
马大烈教授  
门秀丽教授  
潘兴华副主任医师  
孙伟副研究员  
王鲁平主任医师  
王娅兰教授  
颜宏利副教授  
于颖彦教授  
余宏宇教授  
张锦生教授  
赵春玲副教授  
赵景民教授  
朱亮副教授



# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2011 年 11 月 8 日 第 19 卷 第 31 期 (总第363期)

## 述 评

3201 PPIs抑制空泡型质子泵逆转胃癌化疗多药耐药

李建琦, 陈敏, 邹晓平

## 基 础 研 究

3207 IFN $\alpha$ -2a对CCl<sub>4</sub>诱导肝纤维化的作用及影响因素

张伟, 易珍, 叶长根, 刘翠芸, 孙水林, 李金明, 席文娜

3212 SOCS3在重症急性胰腺炎大鼠胰腺中的表达和作用

王彬, 张晓华, 朱人敏, 杨妙芳, 李敏利, 吴晓尉, 许小兵

## 临 床 研 究

3217 TWEAK及其受体Fn14蛋白在食管鳞癌中的表达及临床病理意义

杨建萍, 李晟磊

3222 胃癌*Pdx1*启动子载体构建及其受DNA甲基化的调节

马娟, 刘庆华, 王蓓蓓, 廖山婴, 沙卫红, 王启仪

## 文 献 综 述

3229 炎症性肠病的生物学活性标志物的研究进展

周丽峰, 缪应雷

## 研 究 快 报

3237 SD大鼠自发性胰岛细胞癌伴多发性肝转移1例

柳云恩, 姚宝玉, 杨冬华, 王捷

3242 溃疡性结肠炎模型的建立及影响因素

侯丽娟, 唐方, 王晓红, 孙晓萍

## 临 床 经 验

3246 mir-183在食管鳞癌中的表达水平及其与临床病理、预后的关系

彭兵锋, 毛伟敏, 罗君, 袁嘉敏, 郑智国, 凌志强

3250 超声造影在评估肝纤维化程度分级中的临床价值

王刚, 刘健

3255 射频消融对比手术切除治疗小肝癌的Meta分析

孙彪, 郑传胜, 冯敢生, 王勇, 夏向文, 阙雪锋

3264 <sup>125</sup>I放射性粒子植入治疗肝转移癌的近期疗效

郑加贺, 畅智慧, 刘兆玉, 卢再鸣, 郭启勇

3268 丙氨酰-谷氨酰胺联合柴芍承气汤治疗重症急性胰腺炎72例

吕春艳, 李莉, 韩俊岭, 徐梅梅, 纪桂贤, 郑岳

3272 胰腺癌切除术后辅助放化疗治疗疗效的Meta分析

王思亮, 林艳, 高嵩, 胡天玉, 吴荣

3277 混合型5-HT<sub>4</sub>受体激动剂/5-HT<sub>3</sub>受体拮抗剂治疗肠易激综合征的系统评价

何宛蓉, 张法灿, 梁列新

附 录	3284 《世界华人消化杂志》投稿须知 3289 2011年国内国际会议预告
志 谢	3290 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	3206 《世界华人消化杂志》入选北京大学图书馆2008年版《中文核心期刊要目总览》 3216 《世界华人消化杂志》参考文献要求 3228 <i>WJG</i> 成功通过评审被PMC收录 3236 《世界华人消化杂志》入选《中国学术期刊评价研究报告-RCCSE权威、核心期刊排行榜与指南》 3241 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.625 3245 <i>WJG</i> 总被引频次排名位于第174名 3263 《世界华人消化杂志》外文字符标准 3267 《世界华人消化杂志》修回稿须知 3271 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 3283 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费
封面故事	柳云恩, 姚宝玉, 杨冬华, 王捷. SD大鼠自发性胰岛细胞癌伴多发性肝转移1例. 世界华人消化杂志 2011; 19(31): 3237-3241 <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3237.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3237.asp</a>
本期责任人	编务 周媛; 送审编辑 李军亮; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 李军亮; 审核编辑 李军亮; 形式规范 马连生

<p><b>世界华人消化杂志</b></p> <p><b>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</b></p> <p>吴阶平 题写封面刊名 陈可冀 题写版权刊名 (旬刊)</p> <p>创 刊 1993-01-15 改 刊 1998-01-25 出 版 2011-11-08 原刊名 新消化病学杂志</p> <p>名誉总编辑 潘伯荣 总 编 辑 马连生 编辑部主任 李军亮</p> <p>期 刊 名 称 世界华人消化杂志 主 管 单 位 山西省科学技术厅 主 办 单 位 太原消化病研治中心</p>	<p><b>编辑</b> 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 <a href="http://www.wjgnet.com">http://www.wjgnet.com</a></p> <p><b>出版</b> 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 <a href="http://www.wjgnet.com">http://www.wjgnet.com</a></p> <p><b>印刷</b> 北京科信印刷厂</p> <p><b>发行</b> 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)</p> <p><b>订购</b> 全国各地邮电局</p> <p><b>邮购</b> 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 <a href="http://www.wjgnet.com">http://www.wjgnet.com</a></p>	<p>世界华人消化杂志是一份同行评议性的旬刊, 是一份被《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊.《世界华人消化杂志》的英文摘要被美国《化学文摘》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘》和俄罗斯《文摘杂志》收录.</p> <p>世界华人消化杂志正式开通了在线办公系统(<a href="http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx">http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx</a>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者、编者之间的信息反馈交流.</p> <p><b>特别声明</b> 本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.</p> <p>2011年版权归世界华人消化杂志所有</p>
<p>中国标准连续出版物号 <b>ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)</b> 邮发代号 国外代号 国内定价 广告经营许可证 CN 14-1260/R 82-262 M 4481 每期56.00元 全年2016.00元 1401004000050</p> <p><a href="http://www.wjgnet.com">www.wjgnet.com</a></p>		

# World Chinese Journal of Digestology

## November 2011 Contents in Brief Volume 19 Number 31

<b>EDITORIAL</b>	<p>3201 PPIs reverse multidrug resistance to chemotherapy in gastric cancer by inhibiting vacuolar H<sup>+</sup>-ATPase signal pathway <i>Li JQ, Chen M, Zou XP</i></p>
<b>BASIC RESEARCH</b>	<p>3207 Interferon <math>\alpha</math>-2a reduces carbon tetrachloride-induced hepatic fibrosis in rats <i>Zhang W, Yi Z, Ye CG, Liu CY, Sun SL, Li JM, Xi WN</i></p> <p>3212 Expression and role of SOCS3 in severe acute pancreatitis in rats <i>Wang B, Zhang XH, Zhu RM, Yang MF, Li ML, Wu XW, Xu XB</i></p>
<b>CLINICAL RESEARCH</b>	<p>3217 Clinical pathological significance of expression of TWEAK and its receptor Fn14 in esophageal squamous cell carcinoma <i>Yang JP, Li SL</i></p> <p>3222 Construction of a reporter vector regulated by the <i>Pdx1</i> promoter and evaluation of the effect of DNA methylation on <i>Pdx1</i> promoter activity in gastric cancer cells <i>Ma J, Liu QH, Wang BB, Liao SY, Sha WH, Wang QY</i></p>
<b>REVIEW</b>	<p>3229 Progress in research of biological activity markers for inflammatory bowel disease <i>Zhou LF, Miao YL</i></p>
<b>RAPID COMMUNICATION</b>	<p>3237 Spontaneous islet cell carcinoma with multiple liver metastases in a Sprague-Dawley rat <i>Liu YE, Yao BY, Yang DH, Wang J</i></p> <p>3242 Establishment of a rat model of ulcerative colitis and analysis of factors influencing the development of this model <i>Hou LJ, Tang F, Wang XH, Sun XP</i></p>
<b>CLINICAL PRACTICE</b>	<p>3246 Correlation between miR-183 expression and pathological features of esophageal squamous cell carcinoma <i>Peng BF, Mao WM, Luo J, Yuan JM, Zheng ZG, Ling ZQ</i></p> <p>3250 Clinical value of contrast-enhanced ultrasound in assessing the degree of hepatic fibrosis <i>Wang G, Liu J</i></p> <p>3255 Radiofrequency ablation versus surgical resection for small hepatocellular carcinoma: a meta-analysis <i>Sun B, Zheng CS, Feng GS, Wang Y, Xia XW, Kan XF</i></p> <p>3264 <sup>125</sup>I radioactive seed interstitial brachytherapy for liver metastases <i>Zheng JH, Chang ZH, Liu ZY, Lu ZM, Guo QY</i></p> <p>3268 Therapeutic effect of alanyl-glutamine combined with Chaishao Chengqi Decoction on severe pancreatitis: an analysis of 36 cases <i>Lv CY, Li L, Han JL, Xu MM, Ji GX, Zheng Y</i></p> <p>3272 Efficacy of adjuvant chemoradiotherapy in pancreatic cancer patients after surgical resection: a meta-analysis <i>Wang SL, Lin Y, Gao S, Hu TY, Wu R</i></p> <p>3277 Mixed 5-HT<sub>3</sub> antagonists/5-HT<sub>4</sub> agonists for irritable bowel syndrome: a systematic review <i>He WR, Zhang FC, Liang LX</i></p>

<b>APPENDIX</b>	3284 Instructions to authors of World Chinese Journal of Digestology 3289 Meeting events calendar in 2011
<b>ACKNOWLEDGMENT</b>	3290 Acknowledgments to reviewers of World Chinese Journal of Digestology
<b>COVER</b>	<i>Liu YE, Yao BY, Yang DH, Wang J.</i> Spontaneous islet cell carcinoma with multiple liver metastases in a Sprague-Dawley rat. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2011; 19(31): 3237-3241 <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3237.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3237.asp</a>
<b>RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE</b>	Assistant Editor: <i>Yuan Zhou</i> Review Editor: <i>Jun-Liang Li</i> Electronic Page Editor: <i>Jin-Li Yan</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Jun-Liang Li</i> Proof Editor: <i>Jun-Liang Li</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

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

## Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993  
**Renamed** on January 25, 1998  
**Publication date** November 8, 2011

### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

### RESPONSIBLE INSTITUTION

Department of Science and Technology  
of Shanxi Province

### SPONSOR

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

### EDITING

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

### PRINTING

Beijing Kexin Printing House

### PUBLISHING

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

### OVERSEAS DISTRIBUTOR

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

### HONORARY EDITOR-IN-CHIEF

Bo-Rong Pan

### EDITOR-IN-CHIEF

Lian-Sheng Ma

### SCIENCE EDITORS

Director: Jun-Liang Li

### SUBSCRIPTION

RMB 56 Yuan for each issue  
RMB 2016 Yuan for one year

### CSSN

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

### COPYRIGHT

© 2011 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](http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp). If you do not have web access please contact the editorial office.

**Copyright** © 2011 by Editorial Department of *World Chinese Journal of Digestology*

# PPIs抑制空泡型质子泵逆转胃癌化疗多药耐药

李建琦, 陈敏, 邹晓平

李建琦, 陈敏, 邹晓平, 南京大学医学院附属鼓楼医院消化科 江苏省南京市 210008

国家自然科学基金, No. 81071816, No. 81101814

中央高校基本科研业务费资助项目, No. 021414340018

作者贡献分布: 本文由李建琦综述; 陈敏与邹晓平选题和审校。

通讯作者: 邹晓平, 教授, 主任医师, 博士生导师, 210008, 江苏省南京市, 南京大学医学院附属鼓楼医院消化科。

zouxiaoping795@hotmail.com

收稿日期: 2011-09-20 修回日期: 2011-10-18

接受日期: 2011-11-02 在线出版日期: 2011-11-08

## PPIs reverse multidrug resistance to chemotherapy in gastric cancer by inhibiting vacuolar H<sup>+</sup>-ATPase signal pathway

Jian-Qi Li, Min Chen, Xiao-Ping Zou

Jian-Qi Li, Min Chen, Xiao-Ping Zou, Department of Gastroenterology, the Affiliated Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81071816 and 81101814; and the Basic Research and Special Operation Fund of University, No. 021414340018

Correspondence to: Xiao-Ping Zou, Professor, Department of Gastroenterology, the Affiliated Drum Tower Hospital of Nanjing university Medical School, Nanjing 210008, Jiangsu Province,

China. zouxiaoping795@hotmail.com

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

Accepted: 2011-11-02 Published online: 2011-11-08

## Abstract

Multidrug resistance (MDR) in gastric cancer influences the effects of chemotherapy. The change in tumor microenvironment is intimately associated with multidrug resistance. Acidification and hypoxia are the two major characteristics of tumor microenvironment. The glucose metabolism in hypoxic conditions by the neoplasms leads to an intercellular pH drift towards acidity. But tumor cells can maintain intracellular to neutro-alkalinity. Vacuolar H<sup>+</sup>-ATPases may be involved in this process by regulating H<sup>+</sup> excretion. Acidification of extracellular pH would trigger the intracellular PI3K/Akt signal pathway, activate mTOR, up-regulate the expression of HIF-1 $\alpha$ , and promote the expression of P-gp

and MRP1, resulting in multidrug resistance in gastric cancer. PPIs may change the tumor microenvironment by inhibiting the expression of vacuolar H<sup>+</sup>-ATPases, trigger the PI3K/Akt/mTOR/HIF-1 $\alpha$  signal pathway and reverse multidrug resistance to chemotherapy in gastric cancer.

**Key Words:** Proton pump inhibitors; Gastric cancer; Multidrug resistance

Li JQ, Chen M, Zou XP. PPIs reverse multidrug resistance to chemotherapy in gastric cancer by inhibiting vacuolar H<sup>+</sup>-ATPase signal pathway. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(31): 3201-3206

## 摘要

肿瘤多药耐药性影响着胃癌化疗的效果, 肿瘤微环境变化与多药耐药密切相关, 而酸化与缺氧是微环境的两大特征. 肿瘤细胞内无氧酵解生成大量H<sup>+</sup>, 但却仍能维持胞内中性pH环境, 推测与调节肿瘤泌酸功能的空泡型质子泵密切相关. 胞外pH值的酸化可活化胞内PI3K/Akt信号通路, 活化mTOR, 上调HIF-1 $\alpha$ , 进而促进P-gp及MRP1的表达产生胃癌化疗耐药. PPIs可能是通过抑制空泡型质子泵的表达, 改变肿瘤微环境, 影响PI3K/Akt/mTOR/HIF-1 $\alpha$ 信号通路而逆转胃癌化疗多药耐药.

**关键词:** 质子泵抑制剂; 胃癌; 多药耐药

李建琦, 陈敏, 邹晓平. PPIs抑制空泡型质子泵逆转胃癌化疗多药耐药. *世界华人消化杂志* 2011; 19(31): 3201-3206

http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3201.asp

## 0 引言

胃癌是消化系最常见的恶性肿瘤之一, 早期发现率低, 多数为进展期胃癌, 单纯手术常难以根治, 化疗在综合治疗中发挥了重要作用, 成为治疗胃癌的主要方法之一<sup>[1]</sup>, 但肿瘤多药耐药性 (MDR), 即一种药物作用于肿瘤细胞使之产生耐药性后, 该肿瘤细胞逐渐对未接触过的、结构无关、作用靶点和机制不同的多种抗肿瘤药

## ■背景资料

酸化与缺氧是微环境的两大特征, 肿瘤细胞内无氧酵解生成大量H<sup>+</sup>, 但肿瘤细胞仍能维持胞内中性pH环境, 考虑与调节肿瘤泌酸功能的空泡型质子泵密切相关, 胞外pH值的酸化可能活化胞内PI3K/Akt信号通路, 活化mTOR, 上调HIF-1 $\alpha$ , 进而促进P-gp及MRP1的表达产生胃癌化疗耐药.

## ■同行评议者

曹秀峰, 教授, 南京医科大学附属南京第一医院肿瘤中心



## ■研发前沿

PPIs可抑制空泡型质子泵的表达, 增加胃癌化疗的敏感性, 但目前具体的机制还不明确. PI3K/Akt/mTOR/HIF-1 $\alpha$ 信号通路与肿瘤的增殖, 转移和化疗耐药有着密切的关系, 急需进一步证实PPIs抑制空泡型质子泵逆转胃癌化疗耐药是通过PI3K/Akt/mTOR/HIF-1 $\alpha$ 信号通路发挥作用的.

## ■相关报道

mTOR是雷帕霉素的靶蛋白, 作为一种重要的信号传导分子, 在细胞增殖, 生长, 分化和凋亡过程中起着中心调控点的作用. 且研究证实mTOR不仅是PI3K/Akt下游靶蛋白, 也是HIF-1 $\alpha$ 的上游关键调节分子.

物也具有交叉耐药性, 影响着胃癌化疗的效果<sup>[2]</sup>. 肿瘤细胞获得性耐药能力的产生与宿主本身的因素有着密切关系, 且遗传因素和后生环境的变化也起到了重要的作用. 传统的耐药机制包括: (1)药物转运蛋白的活化; (2)细胞内药物摄入减少; (3)降低药物活化或增强胞内药物解毒功能; (4)药物靶点的改变和损伤靶点的修复增强; (5)肿瘤细胞凋亡抑制或存活肿瘤细胞增加<sup>[3]</sup>. 阻断这些途径可望逆转肿瘤细胞多药耐药, 增强肿瘤细胞化疗的敏感性, 对改善患者预后起着至关重要的作用. 目前人们也着眼于新的耐药机制的研究, 尤其是对肿瘤微环境认识, 发现肿瘤细胞处于一种酸性、缺氧的环境中, 内外存在PH值梯度, 可刺激肿瘤细胞内部一系列的信号转导分子的产生, 导致耐药相关基因的表达, 且据Kang等<sup>[4]</sup>在耐5-氟尿嘧啶、阿霉素或顺铂的胃癌细胞株中发现了250多种特异性耐药基因的表达, 故肿瘤微环境可能激活肿瘤细胞内部产生一系列的信号转导通路, 促进特异性的耐药基因的表达, 活化药物转运蛋白, 增强对化疗药物的抵抗性.

## 1 酸化和缺氧是肿瘤微环境的两大主要特征

肿瘤细胞无限增殖, 血液和营养处于低灌注状态, 代谢产生乳酸与其他多种有害分子一起共同构成了肿瘤的微环境<sup>[5]</sup>, 提示肿瘤细胞可能存在某种机制避免胞内毒性分子聚集造成的损伤, 研究发现其中最有效的机制为质子的外排作用<sup>[6]</sup>. 肿瘤细胞内外存在pH梯度, 胞外pH值偏酸性, 而胞内pH值偏中性. 肿瘤细胞主要通过空泡型质子泵(Vacuolar H<sup>+</sup>-ATPases), Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>交换及碳酸酐酶的作用调节胞内外pH值<sup>[6]</sup>, 这种pH梯度可影响化疗药物在肿瘤细胞内的聚集与分布<sup>[7]</sup>, 因绝大多数化疗药物为弱碱性, 在酸性环境中易于离子化, 故肿瘤细胞胞外pH值呈酸性使碱性化疗药物易于解离, 脂溶性降低, 从而阻碍这些化疗药物透过细胞膜进入胞内得以阻止其发挥细胞毒作用<sup>[8,9]</sup>. 有报道称许多肿瘤在慢性的酸暴露情况下可增强其侵袭、转移能力, 产生对细胞毒性药物的耐药, 且这种异常的pH值梯度与肿瘤相关的细胞功能密切相关, 如酸性囊泡的转运功能增强, 多药耐药性的提高, 以及水解酶和巨噬细胞的功能异常等<sup>[10-12]</sup>. 实际上, 肿瘤细胞外酸性环境是恶性肿瘤的显著特征, 质子泵是造成肿瘤细胞外酸性环境的主要原因. 据Warburg效应, 肿瘤细胞内无氧酵解旺盛使胞内

生成大量H<sup>+</sup>, 但肿瘤细胞仍能维持胞内中性pH环境, 考虑与调节肿瘤泌酸功能的空泡型质子泵密切相关<sup>[13-15]</sup>. 且空泡型质子泵在恶性肿瘤中的活性极强, 在细胞膜和酸性囊泡膜上高度表达<sup>[16]</sup>. 已有研究证实空泡型质子泵在肿瘤细胞中表达过量且活性增强, 在肿瘤细胞耐药株中表达更高<sup>[17]</sup>. 据研究者You等<sup>[18]</sup>证实用小RNA干扰技术抑制空泡型质子泵的ATP6L亚基表达, 可以逆转耐阿霉素的乳腺癌细胞株的多药耐药, 这提示着空泡型质子泵是产生多药耐药的重要初始和促进因子之一, 故抑制其功能或表达有望为逆转肿瘤化疗多药耐药提供新思路.

缺氧是肿瘤微环境的另一特征. 已有研究证实肿瘤细胞的缺氧是肿瘤发生增殖、侵袭、转移的始动因素, 也会导致肿瘤细胞对放化疗的抵抗性增强, 而且使肿瘤细胞更具有侵袭性, 容易发生远处转移, 导致治疗失败<sup>[19,20]</sup>. 肿瘤缺氧状态时HIF-1 $\alpha$ 表达上调, 参与耐药机制的形成, 包括耐药蛋白P-糖蛋白(P-gp), MRP表达的增强<sup>[21]</sup>. 缺氧诱导因子-1(HIF-1)是细胞传递缺氧信号并引发“缺氧效应”的关键分子, 为缺氧诱导的重要转录调控因子, 由 $\alpha$ 、 $\beta$ 两个亚基组成<sup>[22]</sup>. HIF-1 $\alpha$ 在人类胃癌细胞中过度表达, 通过转录激活众多下游基因参与肿瘤细胞的血管生成、无氧代谢、对化疗药物抵抗及肿瘤细胞侵袭和转移等<sup>[23]</sup>. Rohwer等<sup>[24]</sup>采用RNA干扰技术抑制HIF-1 $\alpha$ 和P53的表达, 可提高胃癌细胞株AGS和MKN28对5-氟尿嘧啶和顺铂的化疗敏感性, 并证实HIF-1 $\alpha$ 决定了胃癌细胞株对5-氟尿嘧啶和顺铂的化疗敏感性, 说明抑制P53的表达可抑制肿瘤细胞的周期停滞与凋亡. 且在P53基因突变的胃癌细胞株中, HIF-1 $\alpha$ 并不影响其化疗的敏感性, 同时发现NF- $\kappa$ B在其中起着重要的作用. 据Daskalow等<sup>[25]</sup>发现与野生型鼠肝细胞癌相比, 采用依托泊苷处理HIF-1 $\alpha$ 缺陷的肝癌细胞可产生更明显的抗增殖作用, 但并未发现其在肿瘤生长和血管发生方面的中枢调节作用. 因此预示着HIF-1 $\alpha$ 抑制剂可以作为化疗的辅助增敏剂, 增强肿瘤化疗的敏感性. 另有实验<sup>[26]</sup>证实泮托拉唑预处理24 h可显著抑制HIF-1 $\alpha$ 蛋白表达及胞内分布, 且泮托拉唑可呈浓度依赖性地提高阿霉素在胃癌细胞敏感株和耐药株的胞内浓度. 阿霉素为ABC转运蛋白超家族P-gp和MRP1的共同底物之一<sup>[27]</sup>, 且进一步研究还证实泮托拉唑还可抑制P-gp和MRP1的蛋白表达及胞内分布, 但其相关机制及途径尚未阐明.

## 2 质子泵抑制剂逆转胃癌细胞多药耐药

质子泵抑制剂(PPIs)作为抑酸药物, 主要用于治疗酸相关性疾病, 大都是脂溶性弱碱性苯并咪唑类化合物的衍生物, 吸收进入血液后转运至胃粘膜壁细胞, 最后到达分泌管酸性腔, 在此酸性环境下易被离子化而带正电荷, 使药物不断聚集, 并在酸催化下转化为具有嗜硫的环化次磺酰胺, 再与壁细胞膜表面的 $H^+/K^+-ATPase$ 质子通道上的巯基(-SH)脱水偶联形成一个共价二硫键, 从而抑制该酶 $H^+$ 的转运, 发挥抑酸作用<sup>[28,29]</sup>. 据Luciani等<sup>[30]</sup>对肿瘤耐药细胞株研究证实, PPIs预处理可以增强肿瘤耐药细胞对化疗药物敏感性, 其机制与增加化疗药物在胞质内聚集、抑制空泡型质子泵活性、降低细胞内和溶酶体内pH值有关. 质子泵抑制剂可促使肿瘤胞内的酸化, 激活半胱天冬酶, 增加肿瘤细胞早期胞内活性氧的聚集, 触发快速的细胞死亡, 且在诸多人类肿瘤细胞均发现PPIs的此类反应, 如黑色素瘤、骨肉瘤、淋巴瘤和各种腺癌, 质子泵有望成为一种新型的抗癌制剂<sup>[6]</sup>. 据Spugnini等<sup>[31]</sup>证实肿瘤细胞外pH值为5.5-6.8, 胞内的pH值为7.3-7.8. 且发现PPIs的抗癌作用具有pH依赖性, 酸性pH值环境可明显增强埃索美拉唑对黑色素瘤的抗癌作用<sup>[32]</sup>. Vacuolar  $H^+-ATPases$ 主要分布在肿瘤细胞的细胞膜和胞内酸性囊泡膜上, 且在肿瘤细胞中高度表达, 而正常组织细胞的胞膜上不表达Vacuolar  $H^+-ATPases$ , 只在其胞内酸性囊泡中少量表达<sup>[6,16,33,34]</sup>, 其主要功能就是将肿瘤细胞胞浆中糖酵解代谢的 $H^+$ 泵出细胞外或泵入胞内的酸性囊泡, 维持胞浆内的弱碱性环境, 参与肿瘤的浸润和远处转移, 且与肿瘤化疗的多药耐药密切相关<sup>[18]</sup>. PPIs能在体内外阻断肿瘤细胞 $H^+$ 的转运, 逆转肿瘤细胞胞内外pH值梯度<sup>[35]</sup>, 改善肿瘤细胞微环境, 增加肿瘤细胞和组织的坏死和凋亡<sup>[36,37]</sup>. 实验证实<sup>[26]</sup>泮托拉唑(20  $\mu g/mL$ )预处理24小时后可明显抑制胃癌细胞(SGC7901)敏感株和耐药株中空泡型质子泵的表达, 并改变其胞内蛋白定位, 提高胞外pH值, 降低胞内pH值, 可提高化疗药物的细胞毒性, 体内试验证实泮托拉唑灌胃可提高阿霉素对裸鼠移植瘤的抗肿瘤疗效, 并可提高瘤体组织早期凋亡率和总凋亡率, 故泮托拉唑可提高胃癌细胞株对化疗药物的敏感性. 总之, PPIs有望在今后作为一种新型的化疗增敏剂和耐药逆转剂用于临床肿瘤化疗, 但其具体的机制尚不明确, 有待进一步证实.

## 3 PI3K/AKT/mTOR/HIF-1 $\alpha$ 信号通路与胃癌多药耐药

肿瘤作为一个相互作用的细胞群体, 瘤细胞与微环境之间存在密切的联系, 共同构成复杂的信号传递网络, 且PPIs可有效增强胃癌化疗药物的敏感性, 故需进一步证实PPIs与空泡型质子泵作用后如何通过胞内信号网络通路来逆转肿瘤多药耐药. 研究<sup>[38]</sup>证实胞外pH值的酸化可活化胞内磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(PI3K/Akt)信号通路, 而泮托拉唑能使胞外pH值明显升高, 故可能对胞内该信号通路产生抑制作用. PI3K/Akt信号通路可调节细胞的生长、增殖, 促进凋亡和细胞骨架的形成<sup>[39-41]</sup>. 目前发现只有IA型PI3Ks与肿瘤的发生密切相关, 由催化亚基(P110)和调节亚基(P85)组成<sup>[41-43]</sup>. Akt(蛋白激酶B)位于PI3K的下游, 是逆转录病毒致癌基因v-Akt的细胞同系物, 是控制细胞存活和凋亡的关键分子, Akt的活化受到双重机制的调节, 包括Akt向细胞膜的易位和Thr308、Ser473的磷酸化. 结节性硬化复合物1/2(TSC1/2)属于抑癌基因<sup>[44]</sup>, 位于Akt下游, 是PI3K/Akt信号通路重要的调控位点. 当Akt激活后, 磷酸化TSC2(Tuberin), 导致TSC1与TSC2解离, 而解除TSC1/2对Rheb(大脑中大量存在的一种Ras同源物)的抑制<sup>[45,46]</sup>. TSC2上被Akt磷酸化的位点在人类是Ser939和Thr1462, 而在果蝇则是Ser924和Thr1518<sup>[47-49]</sup>直接的生化研究数据证实TSC2在体外对Rheb具有GAP(GTP活化蛋白)活性, 同时TSC2在体内可调节Rheb-GTP的水平, 且证实Rheb是TSC2下游的直接靶点, 在mTOR(哺乳动物雷帕霉素靶蛋白)的上游发挥作用, 调节翻译和细胞增殖<sup>[45,50]</sup>. mTOR也是一种保守的丝/苏氨酸蛋白激酶, 作为一种重要的信号传导分子, 通过调节细胞周期, 蛋白质合成, 细胞能量代谢等多种途径发挥重要的生理功能, 在细胞增殖、生长、分化和凋亡过程中起着中心调控点的作用<sup>[51-54]</sup>, 且主要发挥作用的是mTORC1<sup>[55]</sup>(图1). 研究证实mTOR不仅是PI3K/Akt下游靶蛋白, 也是HIF-1 $\alpha$ 的上游关键调节分子<sup>[52,56]</sup>. 据Liu等<sup>[21]</sup>研究证实使用雷帕霉素可以抑制HIF-1 $\alpha$ 的表达, 故说明抑制mTOR表达可下调HIF-1 $\alpha$ 表达. 而目前研究<sup>[26]</sup>还证实泮托拉唑可抑制空泡型质子泵, HIF-1 $\alpha$ , P-gp及MRP1的蛋白表达并改变胞内蛋白分布, 因此mTOR可能在其中起着重要的“中转站”作用<sup>[51,57]</sup>. 故在此推测, 泮托拉唑可能通过下调PI3K/Akt/mTOR信号通路来抑制HIF-1 $\alpha$ ,

### ■创新盘点

本文初步证实PPIs逆转胃癌细胞化疗多药耐药的机制是通过PI3K/Akt/mTOR/HIF-1 $\alpha$ 信号通路.

### ■应用要点

PPIs可通过抑制空泡型质子泵的表达,提高肿瘤细胞对化疗药物的敏感性,故有望成为一种新型的肿瘤化学治疗的佐剂;同时肿瘤微环境形成的细胞内外pH值梯度可激活胞内PI3K/Akt信号通路,为我们研究逆转肿瘤多药耐药提供了新思路。

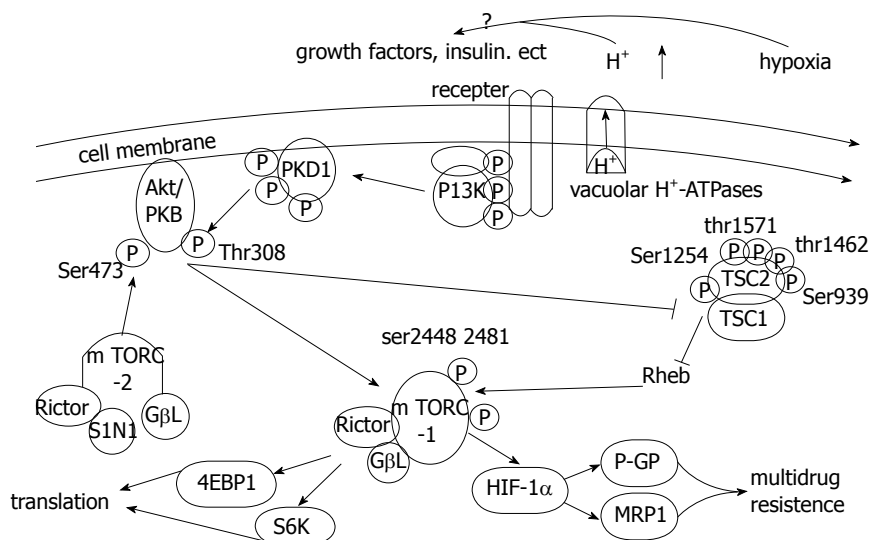


图1 肿瘤细胞微环境影响胞内PI3K/Akt/mTOR/HIF-1 $\alpha$ 信号传导通路图。胞外pH值的酸化可活化胞内PI3K/Akt信号通路,活化mTOR,上调HIF-1 $\alpha$ ,进而促进P-gp及MRP1的表达产生胃癌化疗耐药。

而HIF-1 $\alpha$ 的下调可进一步抑制药物转运蛋白P-gp和MRP1的表达,从而提高胞内化疗药物浓度进而逆转多药耐药。因此有待进一步研究证实PPIs是否通过抑制空泡型质子泵改变胞内外pH值而影响PI3K/Akt/mTOR信号通路从而下调HIF-1 $\alpha$ 表达,进而抑制P-gp及MRP1的表达,逆转肿瘤多药耐药。

## 4 结论

质子泵抑制剂可通过抑制空泡型质子泵的表达,逆转肿瘤细胞内外pH梯度,促使肿瘤细胞内酸化,改变肿瘤细胞微环境,同时抑制缺氧诱导因子HIF-1 $\alpha$ 、P-gp及MRP1的表达,促进肿瘤细胞的凋亡,提高肿瘤细胞对化疗药物的敏感性,逆转肿瘤多药耐药。故质子泵抑制剂有望成为一种新型的肿瘤化学治疗的佐剂,但目前的研究尚处于细胞和动物水平,还缺乏大量的临床试验研究。同时肿瘤微环境形成的细胞内外pH值梯度可激活胞内PI3K/Akt信号通路,为我们研究逆转肿瘤多药耐药提供了新思路<sup>[58,59]</sup>。目前进一步研究肿瘤化疗多药耐药胞内信号转导途径,摸清肿瘤多药耐药的根经络对我们逆转肿瘤化疗多药耐药性,改善患者预后将起到至关重要的作用。

## 5 参考文献

- Cunningham D, Allum WH, Stenning SP, Thompson JN, Van de Velde CJ, Nicolson M, Scarffe JH, Lofts FJ, Falk SJ, Iveson TJ, Smith DB, Langley RE, Verma M, Weeden S, Chua YJ. Perioperative chemotherapy versus surgery alone for resectable gas-
- troesophageal cancer. *N Engl J Med* 2006; 355: 11-20
- Liang XJ, Aszalos A. Multidrug transporters as drug targets. *Curr Drug Targets* 2006; 7: 911-921
- Gillet JP, Gottesman MM. Mechanisms of multidrug resistance in cancer. *Methods Mol Biol* 2010; 596: 47-76
- Kang HC, Kim IJ, Park JH, Shin Y, Ku JL, Jung MS, Yoo BC, Kim HK, Park JG. Identification of genes with differential expression in acquired drug-resistant gastric cancer cells using high-density oligonucleotide microarrays. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 272-284
- DeClerck K, Elble RC. The role of hypoxia and acidosis in promoting metastasis and resistance to chemotherapy. *Front Biosci* 2010; 15: 213-225
- Fais S. Proton pump inhibitor-induced tumour cell death by inhibition of a detoxification mechanism. *J Intern Med* 2010; 267: 515-525
- Rauch C. Toward a mechanical control of drug delivery. On the relationship between Lipinski's 2nd rule and cytosolic pH changes in doxorubicin resistance levels in cancer cells: a comparison to published data. *Eur Biophys J* 2009; 38: 829-846
- Mahoney BP, Raghunand N, Baggett B, Gillies RJ. Tumor acidity, ion trapping and chemotherapeutics. I. Acid pH affects the distribution of chemotherapeutic agents in vitro. *Biochem Pharmacol* 2003; 66: 1207-1218
- Kung SK. Introduction of shRNAs into primary NK cells with lentivirus. *Methods Mol Biol* 2010; 612: 233-247
- Lugini L, Matarrese P, Tinari A, Lozupone F, Federici C, Iessi E, Gentile M, Luciani F, Parmiani G, Rivoltini L, Malorni W, Fais S. Cannibalism of live lymphocytes by human metastatic but not primary melanoma cells. *Cancer Res* 2006; 66: 3629-3638
- Martínez-Zaguilán R, Raghunand N, Lynch RM, Bellamy W, Martinez GM, Rojas B, Smith D, Dalton WS, Gillies RJ. pH and drug resistance. I. Functional expression of plasmalemmal V-type H<sup>+</sup>-ATPase in drug-resistant human breast carcinoma cell lines. *Biochem Pharmacol* 1999; 57: 1037-1046
- Glunde K, Guggino SE, Solaiyappan M, Pathak AP,

- Ichikawa Y, Bhujwalla ZM. Extracellular acidification alters lysosomal trafficking in human breast cancer cells. *Neoplasia* 2003; 5: 533-545
- 13 Huber V, De Milito A, Harguindey S, Reshkin SJ, Wahl ML, Rauch C, Chiesi A, Pouyssegur J, Gatenby RA, Rivoltini L, Fais S. Proton dynamics in cancer. *J Transl Med* 2010; 8: 57
- 14 Jefferies KC, Cipriano DJ, Forgac M. Function, structure and regulation of the vacuolar (H<sup>+</sup>)-ATPases. *Arch Biochem Biophys* 2008; 476: 33-42
- 15 Pedersen PL. Transport ATPases: structure, motors, mechanism and medicine: a brief overview. *J Bioenerg Biomembr* 2005; 37: 349-357
- 16 Sennoune SR, Luo D, Martínez-Zaguilán R. Plasma-membral vacuolar-type H<sup>+</sup>-ATPase in cancer biology. *Cell Biochem Biophys* 2004; 40: 185-206
- 17 Kubota S, Seyama Y. Overexpression of vacuolar ATPase 16-kDa subunit in 10T1/2 fibroblasts enhances invasion with concomitant induction of matrix metalloproteinase-2. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 278: 390-394
- 18 You H, Jin J, Shu H, Yu B, De Milito A, Lozupone F, Deng Y, Tang N, Yao G, Fais S, Gu J, Qin W. Small interfering RNA targeting the subunit ATP6L of proton pump V-ATPase overcomes chemoresistance of breast cancer cells. *Cancer Lett* 2009; 280: 110-119
- 19 Mizokami K, Kakeji Y, Oda S, Irie K, Yonemura T, Konishi F, Maehara Y. Clinicopathologic significance of hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  overexpression in gastric carcinomas. *J Surg Oncol* 2006; 94: 149-154
- 20 Brökers N, Le-Huu S, Vogel S, Hagos Y, Katschinski DM, Kleinschmidt M. Increased chemoresistance induced by inhibition of HIF-prolyl-hydroxylase domain enzymes. *Cancer Sci* 2010; 101: 129-136
- 21 Liu L, Sun L, Zhang H, Li Z, Ning X, Shi Y, Guo C, Han S, Wu K, Fan D. Hypoxia-mediated up-regulation of MGR1-Ag/37LRP in gastric cancers occurs via hypoxia-inducible-factor 1-dependent mechanism and contributes to drug resistance. *Int J Cancer* 2009; 124: 1707-1715
- 22 Semenza GL. HIF-1 and tumor progression: pathophysiology and therapeutics. *Trends Mol Med* 2002; 8: S62-S67
- 23 Rohwer N, Lobitz S, Daskalow K, Jöns T, Vieth M, Schlag PM, Kemmer W, Wiedenmann B, Cramer T, Höcker M. HIF-1 $\alpha$  determines the metastatic potential of gastric cancer cells. *Br J Cancer* 2009; 100: 772-781
- 24 Rohwer N, Dame C, Haugstetter A, Wiedenmann B, Detjen K, Schmitt CA, Cramer T. Hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  determines gastric cancer chemosensitivity via modulation of p53 and NF- $\kappa$ B. *PLoS One* 2010; 5: e12038
- 25 Daskalow K, Rohwer N, Raskopf E, Dupuy E, Kühl A, Loddikenemper C, Wiedenmann B, Schmitz V, Cramer T. Role of hypoxia-inducible transcription factor 1 $\alpha$  for progression and chemosensitivity of murine hepatocellular carcinoma. *J Mol Med (Berl)* 2010; 88: 817-827
- 26 Chen M, Zou X, Luo H, Cao J, Zhang X, Zhang B, Liu W. Effects and mechanisms of proton pump inhibitors as a novel chemosensitizer on human gastric adenocarcinoma (SGC7901) cells. *Cell Biol Int* 2009; 33: 1008-1019
- 27 Aller SG, Yu J, Ward A, Weng Y, Chittaboina S, Zhuo R, Harrell PM, Trinh YT, Zhang Q, Urbatsch IL, Chang G. Structure of P-glycoprotein reveals a molecular basis for poly-specific drug binding. *Science* 2009; 323: 1718-1722
- 28 Shin JM, Sachs G. Pharmacology of proton pump inhibitors. *Curr Gastroenterol Rep* 2008; 10: 528-534
- 29 De Milito A, Fais S. Proton pump inhibitors may reduce tumour resistance. *Expert Opin Pharmacother* 2005; 6: 1049-1054
- 30 Luciani F, Spada M, De Milito A, Molinari A, Rivoltini L, Montinaro A, Marra M, Lugini L, Logozzi M, Lozupone F, Federici C, Iessi E, Parmiani G, Arancia G, Belardelli F, Fais S. Effect of proton pump inhibitor pretreatment on resistance of solid tumors to cytotoxic drugs. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 1702-1713
- 31 Spugnini EP, Citro G, Fais S. Proton pump inhibitors as anti vacuolar-ATPases drugs: a novel anticancer strategy. *J Exp Clin Cancer Res* 2010; 29: 44
- 32 De Milito A, Canese R, Marino ML, Borghi M, Iero M, Villa A, Venturi G, Lozupone F, Iessi E, Logozzi M, Della Mina P, Santinami M, Rodolfo M, Podo F, Rivoltini L, Fais S. pH-dependent antitumor activity of proton pump inhibitors against human melanoma is mediated by inhibition of tumor acidity. *Int J Cancer* 2010; 127: 207-219
- 33 Sun-Wada GH, Wada Y. Vacuolar-type proton pump ATPases: roles of subunit isoforms in physiology and pathology. *Histol Histopathol* 2010; 25: 1611-1620
- 34 Toei M, Saum R, Forgac M. Regulation and isoform function of the V-ATPases. *Biochemistry* 2010; 49: 4715-4723
- 35 McCarty MF, Whitaker J. Manipulating tumor acidification as a cancer treatment strategy. *Altern Med Rev* 2010; 15: 264-272
- 36 De Milito A, Fais S. Tumor acidity, chemoresistance and proton pump inhibitors. *Future Oncol* 2005; 1: 779-786
- 37 Fais S, De Milito A, You H, Qin W. Targeting vacuolar H<sup>+</sup>-ATPases as a new strategy against cancer. *Cancer Res* 2007; 67: 10627-10630
- 38 Rafiee P, Theriot ME, Nelson VM, Heidemann J, Kanaa Y, Horowitz SA, Rogaczewski A, Johnson CP, Ali I, Shaker R, Binion DG. Human esophageal microvascular endothelial cells respond to acidic pH stress by PI3K/AKT and p38 MAPK-regulated induction of Hsp70 and Hsp27. *Am J Physiol Cell Physiol* 2006; 291: C931-C945
- 39 Amin RM, Hiroshima K, Miyagi Y, Kokubo T, Hoshi K, Fujisawa T, Nakatani Y. Role of the PI3K/Akt, mTOR, and STK11/LKB1 pathways in the tumorigenesis of sclerosing hemangioma of the lung. *Pathol Int* 2008; 58: 38-44
- 40 Liu JF, Zhou XK, Chen JH, Yi G, Chen HG, Ba MC, Lin SQ, Qi YC. Up-regulation of PIK3CA promotes metastasis in gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 4986-4991
- 41 Vivanco I, Sawyers CL. The phosphatidylinositol 3-Kinase AKT pathway in human cancer. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 489-501
- 42 Cantley LC. The phosphoinositide 3-kinase pathway. *Science* 2002; 296: 1655-1657
- 43 Simpson L, Parsons R. PTEN: life as a tumor suppressor. *Exp Cell Res* 2001; 264: 29-41
- 44 van Slegtenhorst M, Nellist M, Nagelkerken B, Cheadle J, Snell R, van den Ouweland A, Reuser A,

# ■名词解释

MDR: 肿瘤化疗多药耐药, 即一种药物作用于肿瘤细胞使之产生耐药性后, 该肿瘤细胞逐渐对未接触过的、结构无关、作用靶点和机制不同的多种抗肿瘤药物也具有交叉耐药性, 影响着胃癌化疗的效果。

HIF-1: 缺氧诱导因子-1, 是细胞传递缺氧信号并引发“缺氧效应”的关键分子, 由 $\alpha$ 、 $\beta$ 两个亚基组成。

## ■同行评价

质子泵抑制剂有望成为一种新型的肿瘤化学治疗的佐剂,同时肿瘤微环境形成的细胞内外pH值梯度可激活胞内PI3K/Akt信号通路,本文为研究逆转肿瘤耐药药提供了新思路,学术价值很高。

- Sampson J, Halley D, van der Sluijs P. Interaction between hamartin and tuberlin, the TSC1 and TSC2 gene products. *Hum Mol Genet* 1998; 7: 1053-1057
- 45 Huang J, Manning BD. The TSC1-TSC2 complex: a molecular switchboard controlling cell growth. *Biochem J* 2008; 412: 179-190
- 46 Urano J, Sato T, Matsuo T, Otsubo Y, Yamamoto M, Tamanoi F. Point mutations in TOR confer Rheb-independent growth in fission yeast and nutrient-independent mammalian TOR signaling in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 3514-3519
- 47 Dan HC, Sun M, Yang L, Feldman RI, Sui XM, Ou CC, Nellist M, Yeung RS, Halley DJ, Nicosia SV, Pledger WJ, Cheng JQ. Phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway regulates tuberous sclerosis tumor suppressor complex by phosphorylation of tuberlin. *J Biol Chem* 2002; 277: 35364-35370
- 48 Manning BD, Tee AR, Logsdon MN, Blenis J, Cantley LC. Identification of the tuberous sclerosis complex-2 tumor suppressor gene product tuberlin as a target of the phosphoinositide 3-kinase/akt pathway. *Mol Cell* 2002; 10: 151-162
- 49 Inoki K, Li Y, Zhu T, Wu J, Guan KL. TSC2 is phosphorylated and inhibited by Akt and suppresses mTOR signalling. *Nat Cell Biol* 2002; 4: 648-657
- 50 Nobukini T, Thomas G. The mTOR/S6K signalling pathway: the role of the TSC1/2 tumour suppressor complex and the proto-oncogene Rheb. *Novartis Found Symp* 2004; 262: 148-154; discussion 154-159, 265-268
- 51 Caron E, Ghosh S, Matsuoka Y, Ashton-Beaucage D, Therrien M, Lemieux S, Perreault C, Roux PP, Kitano H. A comprehensive map of the mTOR signaling network. *Mol Syst Biol* 2010; 6: 453
- 52 Advani SH. Targeting mTOR pathway: A new concept in cancer therapy. *Indian J Med Paediatr Oncol* 2010; 31: 132-136
- 53 Segerström L, Baryawno N, Sveinbjörnsson B, Wickström M, Elfman L, Kogner P, Inge Johnsen J. Effects of small molecule inhibitors of PI3K/Akt/mTOR signaling on neuroblastoma growth in vitro and in vivo. *Int J Cancer* 2011; 129: 2958-2965
- 54 Sudarsanam S, Johnson DE. Functional consequences of mTOR inhibition. *Curr Opin Drug Discov Devel* 2010; 13: 31-40
- 55 Pollizzi K, Malinowska-Kolodziej I, Stumm M, Lane H, Kwiatkowski D. Equivalent benefit of mTORC1 blockade and combined PI3K-mTOR blockade in a mouse model of tuberous sclerosis. *Mol Cancer* 2009; 8: 38
- 56 Wouters BG, Koritzinsky M. Hypoxia signalling through mTOR and the unfolded protein response in cancer. *Nat Rev Cancer* 2008; 8: 851-864
- 57 Borders EB, Bivona C, Medina PJ. Mammalian target of rapamycin: biological function and target for novel anticancer agents. *Am J Health Syst Pharm* 2010; 67: 2095-2106
- 58 Emerling BM, Akcakanat A. Targeting PI3K/mTOR Signaling in Cancer. *Cancer Res* 2011; Oct 10. [Epub ahead of print]
- 59 Zhou Q, Lui VW, Yeo W. Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway in hepatocellular carcinoma. *Future Oncol* 2011; 7: 1149-1167

编辑 李军亮 电编 闫晋利

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

## • 消息 •

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

本刊讯 《中文核心期刊要目总览》(2008年版)采用了被索量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、获国家奖或被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标,选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达80余种,统计文献量达32400余万篇次(2003-2005年),涉及期刊12400余种。本版还加大了专家评审力度,5500多位学科专家参加了核心期刊评审工作。经过定量评价和定性评审,从我国正在出版的中文期刊中评选出1980余种核心期刊,分属七大编73个学科类目。《世界华人消化杂志》入选本版核心期刊库(见R5内科学类核心期刊表,第66页)。(编辑部主任:李军亮 2010-01-08)



# IFN $\alpha$ -2a对CCl<sub>4</sub>诱导肝纤维化的作用及影响因素

张伟, 易珍, 叶长根, 刘翠芸, 孙水林, 李金明, 席文娜

张伟, 易珍, 叶长根, 刘翠芸, 孙水林, 李金明, 席文娜, 南昌大学第二附属医院感染性疾病科 江西省南昌市 330006  
张伟, 硕士研究生, 主要从事肝纤维化的治疗研究.  
江西省科技厅基金资助项目, No. 2009BSB11115  
作者贡献分布: 课题设计由孙水林主持; 研究过程由张伟、易珍、叶长根、刘翠芸、李金明及席文娜共同完成; 数据分析由张伟完成; 论文写作由张伟与孙水林共同完成.  
通讯作者: 孙水林, 教授, 主任医师, 330006, 江西省南昌市, 南昌大学第二附属医院感染性疾病科. sunshuilin2280@126.com  
收稿日期: 2011-09-13 修回日期: 2011-10-30  
接受日期: 2011-11-02 在线出版日期: 2011-11-08

## Interferon $\alpha$ -2a reduces carbon tetrachloride-induced hepatic fibrosis in rats

Wei Zhang, Zhen Yi, Chang-Gen Ye, Cui-Yun Liu, Shui-Lin Sun, Jin-Ming Li, Wen-Na Xi

Wei Zhang, Zhen Yi, Chang-Gen Ye, Cui-Yun Liu, Shui-Lin Sun, Jin-Ming Li, Wen-Na Xi, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China  
Supported by: the Foundation of Jiangxi Department of Science and Technology, No. 2009BSB11115  
Correspondence to: Shui-Lin Sun, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. sunshuilin2280@126.com  
Received: 2011-09-13 Revised: 2011-10-30  
Accepted: 2011-11-02 Published online: 2011-11-08

## Abstract

**AIM:** To observe the effect of IFN $\alpha$ -2a on liver fibrosis induced with carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) in rats.

**METHODS:** Fifty female Sprague-Dawley rats were equally and randomly into five groups: groups A, B, C, D and E. Liver fibrosis was induced in rats of groups B, C and D with CCl<sub>4</sub>. Group A was treated with normal saline, while groups C, D and E were treated with 60 000, 120 000 and 60 000 U/kg IFN $\alpha$ -2a, respectively. At week 8, blood and liver tissue samples were collected to measure liver function (ALT, AST, TBIL, TP), evaluate liver fibrosis (HA, LN, PCIII) and pathological changes (HE staining, masson staining and reticular fiber staining).

**RESULTS:** Hepatic fibrosis was successfully in-

duced by CCl<sub>4</sub> injection, and significant fibrosis around the portal area and formation of spiky fibers and fibrous septa were observed. Serum levels of ALT, AST, TBI, HA and LN levels were significantly higher in groups B, C and D than in group A ( $F = 14.8, 4.4, 7.8, 51.3, 68.9$ ; all  $P < 0.05$ ). Serum levels of ALT, AST and TBI were significantly lower in groups C and D than in group B, and in group D than in group C.

**CONCLUSION:** IFN $\alpha$ -2a reduces CCl<sub>4</sub>-induced liver fibrosis in a dose-dependent manner in rats.

**Key Words:** Liver fibrosis; Interferon  $\alpha$ -2a; extracellular matrix

Zhang W, Yi Z, Ye CG, Liu CY, Sun SL, Li JM, Xi WN. Interferon  $\alpha$ -2a reduces carbon tetrachloride-induced hepatic fibrosis in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(31): 3207-3211

## 摘要

**目的:** 观察干扰素 $\alpha$ -2a(interferon alfa-2a, IFN $\alpha$ -2a)对CCl<sub>4</sub>诱导肝纤维化的作用及影响因素.

**方法:** 建立CCl<sub>4</sub>诱导大鼠肝纤维化模型, SD雌性大鼠50只, 分成5组, 每组10只, 即生理盐水对照组(A组)、纤维化模型组(B组)、 $6 \times 10^4$  U/kg IFN $\alpha$ -2a干预组(C组)、 $12 \times 10^4$  U/kg IFN $\alpha$ -2a干预组(D组)及 $6 \times 10^4$  U/kg IFN $\alpha$ -2a对照组(E组). 造模8 wk时采集血标本及肝组织标本, 分别进行肝功能指标ALT、AST、TBIL、TP, 肝纤维化指标HA、LN、PCIII检测, 及组织病理形态学观察包括HE染色、Masson染色和网状纤维染色.

**结果:** CCl<sub>4</sub>腹腔注射成功诱导大鼠肝纤维化模型, 表现为汇管区周围纤维化明显, 有芒状纤维和纤维间隔形成. 血清学检测: B、C、D组ALT、AST、TBI、HA、LN均明显高于A组( $F$ 值分别为14.8, 4.4, 7.8, 51.3, 68.9; 均 $P < 0.05$ ); C、D组ALT、AST、TBI均明显低于B组; D组的上述指标又明显低于C组. 组织病理: HE染色、Masson染色和网状纤维染色

## ■背景资料

肝纤维化是一个可逆性的病变, 临床上对肝纤维化缺乏较好的治疗手段, 如能寻求一种有效的抗纤维化方法或药物, 及时阻断、逆转肝纤维化将为临床上各种肝纤维化患者带来希望的曙光.

## ■同行评议者

范学工, 教授, 中南大学湘雅医院感染病科

## ■研究前沿

IFN $\alpha$ 是治疗病毒性肝炎的主要药物,研究发现其抗病毒作用的同时有抗肝纤维化作用,大多数学者认为其抗肝纤维化作用是通过抗病毒作用实现的。

均显示, C、D组肝组织炎症及肝纤维化程度较B组显著减轻, D组较C组肝纤维化程度更轻, A、E组肝组织未见炎症及纤维化。

**结论:** IFN $\alpha$ -2a能够阻断CCl $_4$ 诱导肝纤维化, 其作用效果随IFN $\alpha$ -2a剂量增加而增强。

**关键词:** 肝纤维化; 干扰素 $\alpha$ -2a; 细胞外基质

张伟, 易珍, 叶长根, 刘翠芸, 孙水林, 李金明, 席文娜. IFN $\alpha$ -2a对CCl $_4$ 诱导肝纤维化的作用及影响因素. 世界华人消化杂志 2011; 19(31): 3207-3211

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3207.asp>

## 0 引言

肝纤维化(hepatic fibrosis)是一切慢性肝病的共同病理基础, 其实质是肝脏内纤维结缔组织增生, 肝内细胞外基质(extra cellular matrix, ECM)合成大于降解, 导致大量ECM过度沉积于肝脏<sup>[1,2]</sup>. 有25%-40%的肝纤维化患者最终发展为肝硬化甚至肝癌, 严重危害人们健康. 肝纤维化是一个可逆性的病变<sup>[3]</sup>, 临床上对肝纤维化缺乏较好的治疗手段, 如能寻求一种有效的抗纤维化方法或药物, 及时阻断、逆转肝纤维化将为临床上各种病因所致肝纤维化患者带来希望的曙光. IFN $\alpha$ 是治疗病毒性肝炎的主要药物<sup>[4,5]</sup>, 研究发现其抗病毒作用的同时有抗肝纤维化作用<sup>[6]</sup>, 大多数学者认为其抗肝纤维化作用是通过抗病毒作用得以实现的<sup>[7,8]</sup>, IFN $\alpha$ 对非嗜肝细胞病毒感染性肝纤维化是否也有作用? 其影响因素如何? 本研究建立以CCl $_4$ 诱导肝纤维化的动物模型, 用干扰素 $\alpha$ -2a(interferon alfa-2a, IFN $\alpha$ -2a)进行干预, 以便了解其对非嗜肝细胞病毒感染性肝纤维化的阻断效果、影响因素。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** ♂清洁级健康SD大鼠50只, 体质量200 g $\pm$ 20 g, 由南昌大学医学院动物科学部提供; 注射用人重组IFN $\alpha$ -2a( $3\times 10^6$  U/支, 批号6920559000259)购自长春长生基因药业股份有限公司; 肝纤四项放射免疫试剂盒购自北京生方生物技术研究所。

### 1.2 方法

**1.2.1 建立大鼠肝纤维化模型:** 采用随机对照原则将SD大鼠分为5组, 每组10只. A组: 予2 mL/kg生理盐水肌肉注射, 隔日1次; B组: 予50% CCl $_4$  2 mL/kg(用花生油稀释), 腹腔注射, 2次/wk; C组: 建立CCl $_4$ 诱导肝纤维化模型的同时予 $6\times 10^4$  U/kg

IFN $\alpha$ -2a肌肉注射, 隔日1次; D组: 建立CCl $_4$ 诱导肝纤维化模型的同时予 $12\times 10^4$  U/kg IFN $\alpha$ -2a肌肉注射, 隔日1次; E组: IFN $\alpha$ -2a  $6\times 10^4$  U/kg肌肉注射, 隔日1次; 共8 wk。

**1.2.2 标本收集:** 造模8 wk时, 处死SD大鼠前, 乙醚吸入麻醉大鼠, 采眼球内眦静脉血5 mL, 静置离心后取上层血清送肝功能及肝纤维化指标检测. 固定大鼠, 断颈、开腹, 取出肝组织, 用100 g/L福尔马林固定, 然后进行病理形态学HE染色、Masson染色和网状纤维染色。

**1.2.3 血生化学检测:** 全自动生化分析仪检测肝功能指标ALT、AST、TBIL、TP; 放射免疫法检测肝纤维化指标HA、LN、PCIII。

**1.2.4 病理形态学检测:** 分别进行HE、Masson、网状纤维染色, 并在光学显微镜下观察、拍照。

**统计学处理** 实验数据用SPSS17.0统计软件处理, 对各个实验组数据进行方差分析(ANOVA分析)及多重比较(最小显著差法, LSD),  $P<0.05$ 认为有统计学差异。

## 2 结果

**2.1 血清学检测** 肝功能结果: ALT、AST、TBIL: B组显著高于A组, C、D组显著低于B组, D组显著低于C组( $P<0.05$ ), 对照组A、E组之间无差异; 各组之间TP无差异(表1). 表明IFN $\alpha$ -2a能有效降低肝功能ALT、AST水平, 且此作用随IFN $\alpha$ -2a剂量的增加而增强. 肝纤维化指标结果: HA: B组显著高于A组, B组低于C组( $P<0.05$ ), D组与对照A、E组之间无显著差异; LN各实验组之间均有显著性差异( $P<0.01$ , 表2)。

**2.2 病理形态学改变** 对照组(A、E组): HE染色可见汇管区仅少量炎症细胞浸润; Masson染色和网状纤维染色汇管区纤维化非常轻. 纤维化模型组(B组): HE染色可见胆管再生, 界面炎症较重; Masson染色和网状纤维染色可见汇管区周围纤维化明显, 有芒状纤维和纤维间隔形成.  $6\times 10^4$  U/kg IFN $\alpha$ -2a干预C组: HE染色可见小胆管增生, 界面炎症比较轻微; Masson染色和网状纤维染色汇管区周围可见纤维化.  $12\times 10^4$  U/kg IFN $\alpha$ -2a干预D组: HE染色可见汇管区稍扩大, 界面炎症较轻; Masson染色和网状纤维染色可见汇管区纤维化较轻(图1-3). 炎症活动度分级及纤维化程度分期(表3)。

## 3 讨论

我国是病毒性肝炎的高发区, 仅慢性HBV感染

表 1 各实验组肝功能指标结果分析

分组	ALT(IU/L)	AST(IU/L)	TBIL( $\mu$ mol/L)	TP(g/L)
A组	53.8 $\pm$ 7.2	230.2 $\pm$ 66.2	4.5 $\pm$ 0.8	73.3 $\pm$ 7.4
B组	143.7 $\pm$ 46.3 <sup>a</sup>	310.3 $\pm$ 34.2 <sup>a</sup>	8.8 $\pm$ 1.7 <sup>a</sup>	65.4 $\pm$ 5.7
C组	84.0 $\pm$ 10.2 <sup>ac</sup>	286.8 $\pm$ 16.0 <sup>ac</sup>	6.5 $\pm$ 2.2 <sup>ac</sup>	76.8 $\pm$ 5.7
D组	34.9 $\pm$ 9.8 <sup>ce</sup>	269.0 $\pm$ 26.9 <sup>ace</sup>	6.5 $\pm$ 1.0 <sup>ace</sup>	75.2 $\pm$ 5.3
E组	54.4 $\pm$ 5.8 <sup>ce</sup>	216.0 $\pm$ 13.4 <sup>ceg</sup>	4.7 $\pm$ 0.9 <sup>ceg</sup>	73.8 $\pm$ 6.8
F值	14.8	4.4	7.8	2.6
P值	<0.01	<0.01	<0.01	>0.05

<sup>a</sup> $P$ <0.05 vs A组; <sup>c</sup> $P$ <0.05 vs B组; <sup>a</sup> $P$ <0.05 vs C组; <sup>e</sup> $P$ <0.05 vs D组.

表 2 各实验组肝纤维化指标结果分析

分组	HA(ng/mL)	LN(ng/mL)	PCIII(ng/mL)
A组	65.7 $\pm$ 4.0	43.8 $\pm$ 9.5	—
B组	171.4 $\pm$ 34.6 <sup>a</sup>	179.2 $\pm$ 38.8 <sup>a</sup>	31.4
C组	179.2 $\pm$ 16.1 <sup>a</sup>	256.2 $\pm$ 23.7 <sup>ac</sup>	31.0
D组	76.9 $\pm$ 9.1 <sup>ce</sup>	124.4 $\pm$ 21.7 <sup>ace</sup>	3.2
E组	72.7 $\pm$ 7.9 <sup>ce</sup>	76.0 $\pm$ 4.9 <sup>ceg</sup>	—
F值	51.3	68.9	—
P值	<0.01	<0.01	—

<sup>a</sup> $P$ <0.05 vs A组; <sup>c</sup> $P$ <0.05 vs B组; <sup>a</sup> $P$ <0.05 vs C组; <sup>e</sup> $P$ <0.05 vs D组.

者就高达9 300万, 其中慢性乙型肝炎患者有2 000万, 相当一部分患者伴有肝纤维化. 如未接受及时治疗, 约25%-40%患者可发展为肝硬化, 病情多反复, 预后很差. 肝纤维化是一个可逆性的病变, 临床上对肝纤维化缺乏较好的治疗手段, 如能寻求一种有效的治疗方法或药物及时阻断、逆转肝纤维化, 将为临床上各种肝纤维化患者带来希望. IFN $\alpha$ 具有较强的免疫调节、抗病毒、抗肿瘤等作用, 他是目前的治疗病毒性肝炎的主要药物, 研究发现其抗病毒的同时有抗肝纤维化的作用. 大多数学者认为IFN $\alpha$ 抗肝纤维化作用是通过抗病毒作用而得以实现的. 在前期的实验研究中发现IFN $\alpha$ 对CCl $_4$ 诱导肝纤维化也有阻断作用<sup>[10]</sup>, Kovalszky等认为IFN $\alpha$ 抗肝纤维化作用不依赖其抗病毒作用<sup>[11]</sup>. Watanabe等报道IFN- $\alpha$ 可提高MMP活性, 促进EMC降解<sup>[12]</sup>. Ninomiya等认为IFN- $\alpha$ 可以直接影响MMP及TIMP的比率, 从而促进胶原的降解, 进而改善肝纤维化<sup>[13]</sup>. IFN $\alpha$ 对非嗜肝细胞病毒感染性肝纤维化是否亦有作用及影响因素如何? 本实验进行了一些探讨.

实验结果显示, IFN $\alpha$ -2a干预组(C、D组)较

表 3 肝组织炎症活动度分级及纤维化程度分期

分组	炎症活动度分级	纤维化程度分期
A组	G <sub>0</sub> 级	S <sub>0</sub> 期
B组	G <sub>2</sub> 级	S <sub>2</sub> 期
C组	G <sub>1</sub> 级	S <sub>1-2</sub> 期
D组	G <sub>0-1</sub> 级	S <sub>0-1</sub> 期
E组	G <sub>0</sub> 级	S <sub>0</sub> 期

炎症活动度分级及纤维化程度分期标准参照《肝纤维化诊断及诊疗评估共识》<sup>[9]</sup>.

纤维化模型组(B组)肝功能ALT、AST、TBIL均有显著性差异( $P$ <0.01), 对照组(A、E组)的ALT、AST、TBIL指标较IFN $\alpha$ -2a干预组(C、D组)又更低; 以上结果表明IFN $\alpha$ -2a能有效降低大鼠肝功能ALT、AST水平, 提示其能减轻肝脏的炎症.

病理形态学HE染色亦较直观的反映出IFN $\alpha$ -2a能减轻肝脏的炎症: 对照组(A、E组)汇管区仅少量炎症细胞浸润; 纤维化模型组(B组)胆管再生, 界面炎症较重; IFN $\alpha$ -2a干预组C组小胆管增生, 界面炎症比较轻微; D组汇管区稍扩大, 界面炎症较轻.

肝纤维化指标HA: 肝纤维化模型组(B组)及IFN $\alpha$ -2a干预C组显著升高, 均高于对照组A组, 但C组高于B组, D组显著低于B组, ( $P$ <0.05), A、D、E组之间无显著差异( $P$ >0.05); LN: 各实验组之间均有显著差异( $P$ <0.01), B、C、D组较A组均显著升高, B组低于C组, D组低于B组( $P$ <0.05); PCIII: B组高于D组, A、E组未测出, 表明A、E组PCIII含量很低, 提示对照组无明显肝纤维化. 以上实验结果均与肝纤维化的形成过程相吻合, 在肝纤维化形成的早期阶段主要以HA、LN分泌升高为主, 肝纤维化形成的后期阶段以PCIII、

#### ■相关报道

Watanabe等报道IFN- $\alpha$ 可提高MMP活性, 促进EMC降解. Ninomiya等认为IFN- $\alpha$ 可以直接影响MMP及TIMP的比率, 从而促进胶原的降解, 改善肝纤维化.



### ■创新盘点

本研究建立以CCl<sub>4</sub>诱导肝纤维化的动物模型,用IFN $\alpha$ -2a进行干预,以便了解其对非嗜肝细胞病毒感染性肝纤维化的阻断效果及其影响因素。

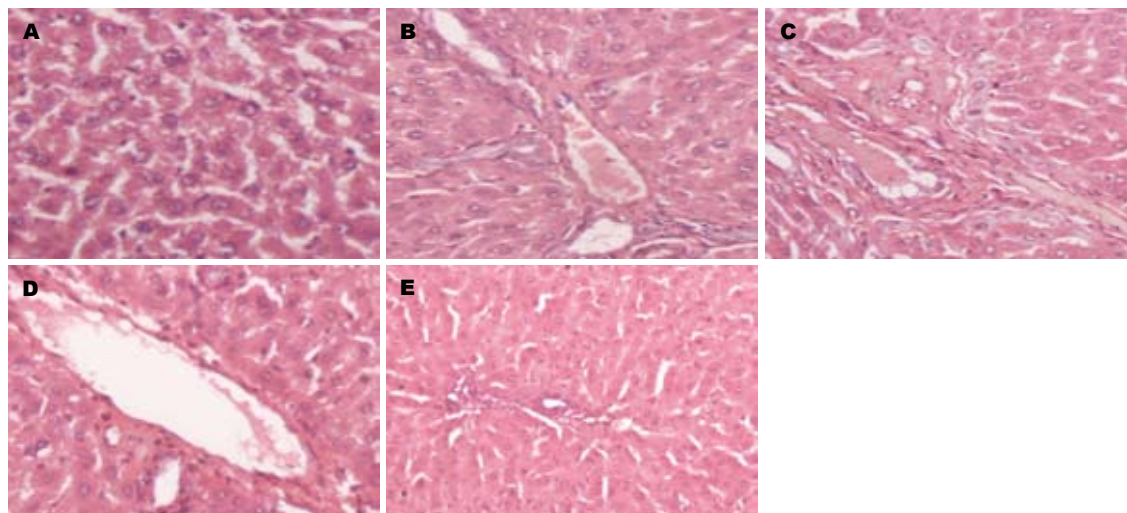


图 1 肝组织HE染色图片( $\times 100$ ). A、E组: 汇管区仅少量炎症细胞浸润; B组: 胆管再生, 界面炎症较重; C组: 小胆管增生, 界面炎症比较轻微; D组: 汇管区稍扩大, 界面炎症较轻。

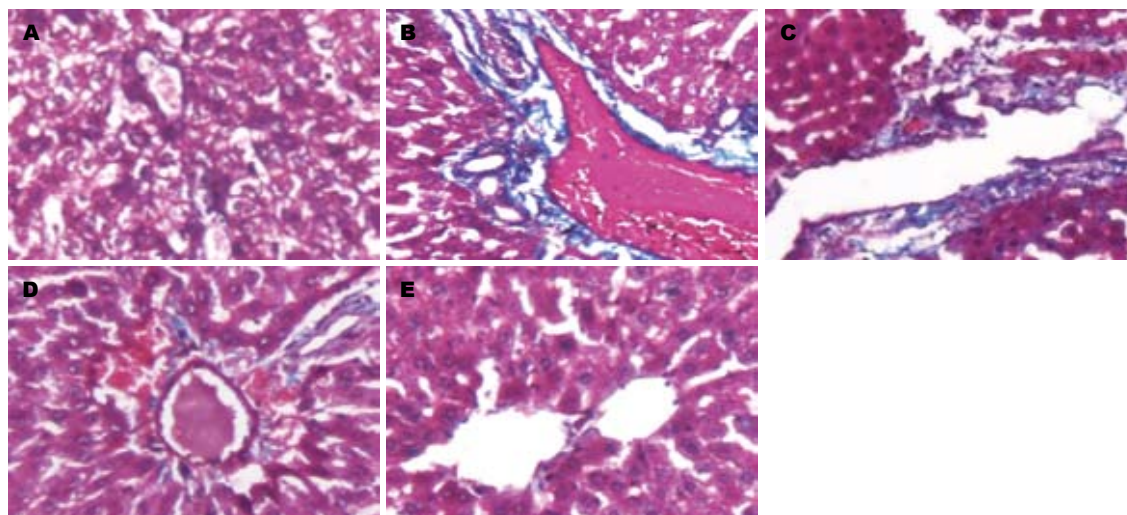


图 2 肝组织Masson染色图片( $\times 200$ ). A、E组: 汇管区纤维化非常轻; B组: 汇管区周围纤维化明显, 有星状纤维形成; C组: 汇管区周围可见纤维化; D组: 汇管区纤维化较轻。

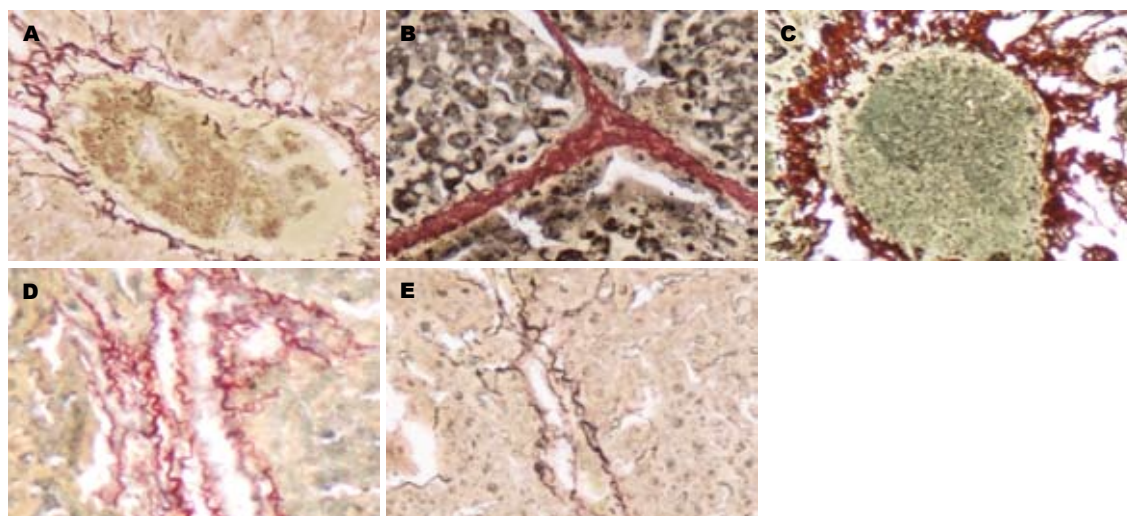


图 3 肝组织网状纤维染色图片( $\times 200$ ). A、E组: 汇管区纤维化非常轻; B组: 汇管区周围纤维化明显, 有纤维间隔形成; C组: 汇管区周围可见纤维化; D组: 汇管区纤维化较轻。

### ■应用要点

IFN $\alpha$ 是治疗病毒性肝炎的主要药物, 临床发现其抗病毒的同时有改善肝纤维化的作用, 为临床上各种病因所致肝纤维化的治疗提供新思路。

IVC升高为主<sup>[14]</sup>; B组的HA、LN检测结果低于C组可能因B组已进入肝纤维化阶段, 肝脏炎症趋于稳定, HA、LN分泌相对减少, 而C组仍处于炎症活动阶段, HA、LN分泌仍旺盛。故C组的HA、LN较B组更高, 提示IFN $\alpha$ -2a有延缓或阻断CCl<sub>4</sub>诱导大鼠肝纤维化的作用。D组较C组明显降低, 进一步证实IFN $\alpha$ -2a能有效改善肝纤维化, 且作用效果与IFN $\alpha$ -2a的剂量相关。

IFN $\alpha$ -2a能有效改善肝纤维化的作用亦可从组织病理得到证实: 肝纤维化模型组(B组)Masson染色和网状纤维染色可见汇管区周围纤维化明显, 有芒状纤维和纤维间隔形成, 纤维化程度分期处于S<sub>2</sub>期; IFN $\alpha$ -2a干预C组Masson染色和网状纤维染色显示其纤维化程度较B组显著减轻, 纤维化程度分期处于S<sub>1-2</sub>期。以上结果表明IFN $\alpha$ -2a能够有效阻断CCl<sub>4</sub>诱导性肝纤维化, 与本实验的前期研究结果相似<sup>[10]</sup>。

进一步分析还发现IFN $\alpha$ -2a干预组(C、D组)之间, D组较C组肝功能及肝纤维化指标检测均明显降低( $P < 0.05$ ); D组Masson染色和网状纤维染色显示D组纤维化程度较C组有明显的改善。此结果提示, IFN $\alpha$ -2a阻断CCl<sub>4</sub>诱导的肝纤维化的效果与IFN $\alpha$ -2a的剂量呈正相关,  $12 \times 10^4$  U/kg IFN $\alpha$ -2a干预剂量对CCl<sub>4</sub>诱导的肝纤维化的阻断效果较 $6 \times 10^4$  U/kg IFN $\alpha$ -2a干预剂量更佳。对照组(A、E组)肝功能、肝纤指标及组织病理均显示两组之间无显著差异, 表明IFN $\alpha$ -2a作为单因素干预不影响本实验研究结果。

总之, IFN $\alpha$ -2a能有效阻断CCl<sub>4</sub>诱导的肝纤维化, 作用随IFN $\alpha$ -2a的剂量增加而增强。

#### 4 参考文献

- 1 Tsukada S, Parsons CJ, Rippe RA. Mechanisms of liver fibrosis. *Clin Chim Acta* 2006; 364: 33-60
- 2 Manning DS, Afdhal NH. Diagnosis and quantitation of fibrosis. *Gastroenterology* 2008; 134: 1670-1681
- 3 Benyon RC, Iredale JP. Is liver fibrosis reversible?

- Gut* 2000; 46: 443-446
- 4 Okazaki I, Watanabe T, Inagaki Y. [Recent advance in understanding mechanisms of fibrogenesis and fibrolysis in hepatic fibrosis]. *Nihon Shokakibyo Gakkaï Zasshi* 2002; 99: 353-364
- 5 Adinolfi LE, Utili R, Tonziello A, Ruggiero G. Effects of alpha interferon induction plus ribavirin with or without amantadine in the treatment of interferon non-responsive chronic hepatitis C: a randomised trial. *Gut* 2003; 52: 701-705
- 6 Poynard T, McHutchison J, Manns M, Trepo C, Lindsay K, Goodman Z, Ling MH, Albrecht J. Impact of pegylated interferon alfa-2b and ribavirin on liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2002; 122: 1303-1313
- 7 Inagaki Y, Nemoto T, Kushida M, Sheng Y, Higashi K, Ikeda K, Kawada N, Shirasaki F, Takehara K, Sugiyama K, Fujii M, Yamauchi H, Nakao A, de Crombrughe B, Watanabe T, Okazaki I. Interferon alfa down-regulates collagen gene transcription and suppresses experimental hepatic fibrosis in mice. *Hepatology* 2003; 38: 890-899
- 8 Fort J, Pilette C, Veal N, Oberti F, Gallois Y, Douay O, Rosenbaum J, Calès P. Effects of long-term administration of interferon alpha in two models of liver fibrosis in rats. *J Hepatol* 1998; 29: 263-270
- 9 Gabrielli GB, Capra F, Casaril M, Corrocher R, Colombari R, De Sandre G. Serum laminin P1 in chronic viral hepatitis: correlations with liver histological activity and diagnostic value. *Clin Chim Acta* 1996; 252: 171-180
- 10 席文娜, 孙水林, 李方春, 罗杰, 肖影群, 章萍, 张伟.  $\alpha$ -2a干扰素对大鼠肝组织bcl-2基因表达的影响及意义. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 3237-3240
- 11 Kovalszky I, Nagy P, Szende B, Lapis K, Szalay F, Jeney A, Schaff Z. Experimental and human liver fibrogenesis. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1998; 228: 51-55
- 12 Watanabe T, Niioka M, Ishikawa A, Hozawa S, Arai M, Maruyama K, Okada A, Okazaki I. Dynamic change of cells expressing MMP-2 mRNA and MT1-MMP mRNA in the recovery from liver fibrosis in the rat. *J Hepatol* 2001; 35: 465-473
- 13 Ninomiya T, Yoon S, Nagano H, Kumon Y, Seo Y, Kasuga M, Yano Y, Nakaji M, Hayashi Y. Significance of serum matrix metalloproteinases and their inhibitors on the antifibrogenetic effect of interferon-alfa in chronic hepatitis C patients. *Intervirolgy* 2001; 44: 227-231
- 14 王辉, 惠小阳, 李闻捷, 许育, 范华杰, 杜大海. 血清PCIII水平与肝纤维化活跃程度的相关性. *现代检验医学杂志* 2006; 21: 68-70

#### ■同行评价

本文采用动物实验, 观察了IFN $\alpha$ -2a的抗肝纤维化作用, 获得了阳性结果, 有潜在的临床应用价值。

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利



# SOCS3在重症急性胰腺炎大鼠胰腺中的表达和作用

王彬, 张晓华, 朱人敏, 杨妙芳, 李敏利, 吴晓尉, 许小兵

## ■背景资料

目前关于细胞因子在SAP发病机制中作用的研究是危重症领域的前沿课题之一, 阐明其活化与调控机制将有助于从细胞和分子水平深化对SAP本质的认识, 并为临床治疗提供帮助。

王彬, 张晓华, 朱人敏, 杨妙芳, 李敏利, 吴晓尉, 许小兵, 南京大学医学院临床学院 中国人民解放军南京军区南京总医院干部消化内科 江苏省南京市 210002

王彬, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究。

南京军区南京总医院科研基金资助项目, No. 2009M012

作者贡献分布: 王彬与张晓华对此文所作贡献均等; 此课题张晓华设计; 研究过程由王彬操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由张晓华提供; 数据分析由王彬、张晓华、朱人敏、杨妙芳、李敏利、吴晓尉及许小兵完成; 本论文写作由王彬与张晓华完成。

通讯作者: 张晓华, 硕士研究生导师, 210002, 江苏省南京市中山东路305号, 中国人民解放军南京军区南京总医院干部消化内科, jszhxh@sina.com

电话: 025-80860027

收稿日期: 2011-09-13 修回日期: 2011-10-20

接受日期: 2011-10-27 在线出版日期: 2011-11-08

## Expression and role of SOCS3 in severe acute pancreatitis in rats

Bin Wang, Xiao-Hua Zhang, Ren-Min Zhu, Miao-Fang Yang, Min-Li Li, Xiao-Wei Wu, Xiao-Bing Xu

Bin Wang, Xiao-Hua Zhang, Ren-Min Zhu, Miao-Fang Yang, Min-Li Li, Xiao-Wei Wu, Xiao-Bing Xu, Department of Gastroenterology, Medical College of Nanjing University; Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, Nanjing 210002, Jiangsu Province, China  
Supported by: the Research Foundation of Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command, No. 2009M012  
Correspondence to: Xiao-Hua Zhang, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, Nanjing 210002, Jiangsu Province, China. jszhxh@sina.com

Received: 2011-09-13 Revised: 2011-10-20

Accepted: 2011-10-27 Published online: 2011-11-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the mechanism of action of suppressor of cytokine signaling 3 (SOCS3) in experimental severe acute pancreatitis (SAP) in rats.

**METHODS:** A rat model of SAP was reproduced by retrograde injection of 4% sodium taurocholate into the biliopancreatic duct. Thirty-two male SD rats were randomly and equally assigned into four groups: normal control group (NC) and three SAP groups (6, 12 and 18 h). Serum amylase (AMY) was measured dynamically. Pathological changes in the pancreas and lung were observed under a light microscope. The concentrations of IL-6 and IL-18 were determined by ELISA. The lo-

calization and expression of SOCS3 protein in the pancreas were detected by immunohistochemical staining and Western blotting.

**RESULTS:** Compared to the NC group, serum level of AMY increased significantly in the three SAP groups ( $2675.18 \pm 278.32$ ,  $3541.15 \pm 215.43$ ,  $4568.89 \pm 357.86$  vs  $651.38 \pm 52.94$ , all  $P < 0.05$ ). Pancreatic injuries revealed under a light microscope were gradually aggravated with disease progression. Serum concentrations of IL-6 and IL-18 in the SAP groups increased significantly compared to the NC group (all  $P < 0.05$ ). The levels of SOCS3 protein in the SAP groups increased significantly compared to the NC group (all  $P < 0.05$ ). The changes in SOCS3 protein expression were correlated with the severity of pancreatic injury and serum concentrations of IL-6 and IL-18.

**CONCLUSION:** SOCS3 plays an important role in inhibiting inflammatory reaction in rats with SAP.

**Key Words:** Suppressor of cytokine signaling 3; Severe acute pancreatitis; Cytokine; JAK/STAT pathway

Wang B, Zhang XH, Zhu RM, Yang MF, Li ML, Wu XW, Xu XB. Expression and role of SOCS3 in severe acute pancreatitis in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(31): 3212-3216

## 摘要

**目的:** 探讨细胞因子信号转导抑制子3(SOCS3)在实验性重症急性胰腺炎(SAP)中的表达和作用。

**方法:** 32只♂ Sprague-Dawley大鼠随机分为对照组(NC组)和3组SAP 6 h、12 h、18 h组, 每组8只。以4%牛磺胆酸钠胰胆管逆行注射诱导SAP模型, 动态测定各组血清淀粉酶(AMY)水平; 光镜下观察胰腺大体及组织学表现; ELISA方法测定大鼠血清中IL-6、IL-18的表达情况; 蛋白印迹法(Western blotting)和免疫组织化学法测定胰腺组织中SOCS3的定位和表达。

**结果:** 与NC组相比, SAP各组AMY水平均明

## ■同行评议者

韩天权, 教授, 上海交通大学医学院附属瑞金医院外科、上海消化外科研究所

显升高( $2675.18 \pm 278.32$ ,  $3541.15 \pm 215.43$ ,  $4568.89 \pm 357.86$  vs  $651.38 \pm 52.94$ , 均 $P < 0.05$ ); 光镜下胰腺组织损伤随病情进展而逐渐加重; 各组血清中均有IL-6、IL-18表达; 与NC组比较, SAP各组IL-6、IL-18表达水平显著上调( $P < 0.05$ ); NC组有极少量的SOCS3表达, SAP各组SOCS3蛋白表达明显高于NC组, 且随造模时间延长逐渐增高( $P < 0.05$ ); SOCS3表达变化与胰腺组织的严重程度和血清炎症因子的变化均一致。

**结论:** SOCS3在SAP的发病和病情变化中起到非常重要的抑炎作用。

**关键词:** SOCS3; 重症急性胰腺炎; 细胞因子; JAK/STAT信号通路

王彬, 张晓华, 朱人敏, 杨妙芳, 李敏利, 吴晓尉, 许小兵. SOCS3在重症急性胰腺炎大鼠胰腺中的表达和作用. 世界华人消化杂志 2011; 19(31): 3212-3216

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3212.asp>

## 0 引言

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)是一种多系统疾病, 为临床常见急腹症之一, 可致全身炎症反应和远处器官损伤<sup>[1,2]</sup>。已有研究发现JAK/STAT信号通路通过对多种炎症因子的信号转导和调控在全身的炎症反应中起到重要作用<sup>[3,4]</sup>, 而炎症因子又通过JAK/STAT途径诱导细胞因子信号转导抑制子(suppressor of cytokine signaling, SOCS)基因表达, 其表达产物又特异性地抑制炎症因子介导的JAK/STAT通路, 构成一负反馈环路, 从而使机体处于动态平衡<sup>[5,6]</sup>。其中SOCS3是SOCS家族中负性调控JAK/STAT信号通路作用最强的抑制蛋白之一, 但SAP时SOCS3介导机体分泌IL-6、IL-18等炎症因子的机制目前仍不清楚<sup>[7]</sup>。本实验通过建立SAP大鼠模型, 探讨SAP时SOCS3与IL-6、IL-18炎症因子表达水平的关系, 明确SOCS3在SAP中的抗炎作用, 旨在为SAP的临床治疗提供一个新思路。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 健康清洁级SD大鼠32只, 体质量220-250 g; 牛磺胆酸、SABC免疫组织化学试剂盒(Sigma公司); 兔抗大鼠SOCS3单克隆抗体(Cell Signaling Technology); 兔抗大鼠 $\beta$ -actin抗体和GAPDH标记的山羊抗兔IgG(武汉博士德生物有限公司); 大鼠血清IL-6、IL-18 ELISA试剂盒(美国ADL公司); NC膜(Millipore公司); 增强

化学发光(ECL)试剂盒(美国Amersham公司); X光胶片(柯达公司); 大鼠血清IL-6、IL-18 ELISA试剂盒(美国ADL公司); 组织裂解液购自上海碧云天公司; 其他常用试剂均为国产分析纯。

### 1.2 方法

**1.2.1 分组和造模:** 将大鼠随机分为对照组和3组SAP模型组, 每组8只。各组适应性饲养1 wk, 术前禁食18 h, 自由饮水。大鼠腹腔注射100 mg/kg氯胺酮麻醉后固定, 无菌条件下取上腹正中切口入腹, 显露胰腺, 确认胰胆管, 于近肝门处以创动脉夹夹毕胰胆管(远端于近十二指肠处, 近端于左右肝管汇合处); 于贴近十二指肠开口处逆行穿刺胰管, 以微量注射泵注射4%牛磺胆酸钠1 mL/kg, 速度0.2 mL/min; 注射完毕后继续夹毕胰胆管以使牛磺胆酸钠充分进入胰腺, 约5 min后胰腺组织出现肉眼可见的充血、水肿, 表明SAP模型制作成<sup>[8,9]</sup>; 确认腹腔内无活动性出血后两层关腹, 术后立即背部皮下注10 mL/kg 0.9%NaCl溶液以补充液体量。对照组模拟胰胆管穿刺操作, 但不予注射药物。3组SAP模型组分别于造模后6 h、12 h、18 h处死, 每一时间点8只, 正常对照组于造模后12 h处死, 右心房取血, 并取胰腺组织2份, 一份放入10%中性甲醛溶液中固定24 h, 常规石蜡包埋。另一份置于-70 °C冰箱中保存备用。

**1.2.2 血清淀粉酶检测及病理学观察:** 采用Olympus AU2700型全自动生化分析仪检测血清淀粉酶(AMY)水平。常规制作胰腺组织HE石蜡切片, 由病理科医生在光学显微镜下观察胰腺组织学改变。

**1.2.3 血清IL-6、IL-18含量检测:** 采用酶联免疫吸附(ELISA)法检测, 具体步骤严格按试剂盒使用说明操作。通过绘制标准曲线得出样品中相应细胞因子的含量(该方法检测灵敏度为1 pg/mL)。

**1.2.4 免疫组织化学SABC法测定胰腺组织SOCS3定位和表达:** 将石蜡包埋的胰腺组织4  $\mu$ m连续切片, 常规脱蜡, 3% $H_2O_2$ 孵育10 min清除内源性过氧化物酶; 5%BSA封闭液室温孵育1 h; 加入兔抗大鼠SOCS3单克隆抗体(1:100) 4 °C过夜; 加入生物素标记的羊抗兔IgG室温放置1 h; 加入亲和素复合物室温反应1 h; DAB显色, 苏木素轻度复染; 脱水, 透明, 中性树胶封片。以上各步骤间均以0.01 mol/L PBS洗5 min  $\times$  3次。以PBS代替一抗作为阴性对照。

**1.2.5 蛋白印迹法测定胰腺组织SOCS3表达:** 取200 mg胰腺组织, RIPA裂解液裂解后冰浴下

### ■研究前沿

SOCS3是SOCS家族中负性调控JAK/STAT信号通路作用最强的抑制蛋白之一, 在许多疾病的各种器官损伤中起着重要的调节作用, 是近几年的研究热点, 其通过对JAK/STAT信号通路的抑制调控炎症因子释放的作用有望成为治疗SAP的新思路。

### ■相关报道

SOCS3是近几年的研究热点, 但SOCS3在重症急性胰腺炎(SAP)炎症反应中的作用尚未见报道。

## ■创新盘点

本文用ELISA法检测血清中IL-6、IL-18含量;免疫组织化学和Western blotting方法直接检测胰腺组织中SOCS3表达量的变化,结合胰腺组织的严重程度,分析其在SAP中的抑炎作用。

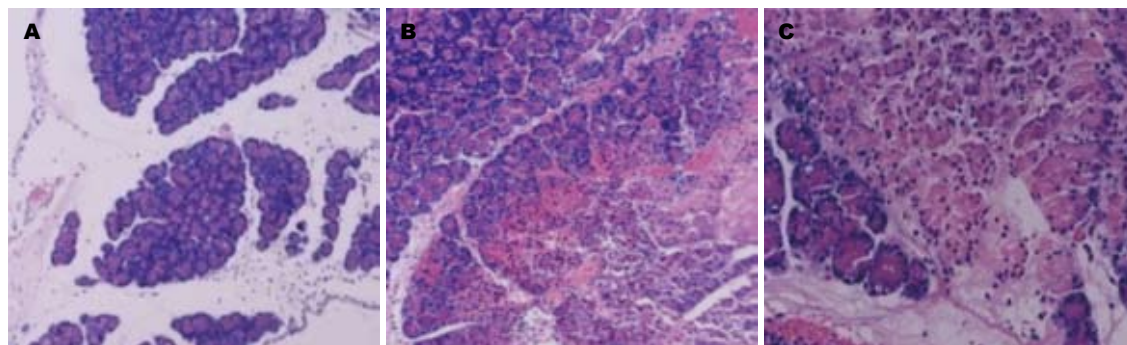


图1 胰腺组织病理学表现(HE × 200). A: NC组; B: SAP 6 h组; C: SAP 12 h组。

玻璃匀浆器中匀浆, 10 000 r/min 4 °C 离心15 min, 取上清液, -70 °C 冰箱冻存。Bradford法蛋白定量, 每孔加样量30 μg, 7.5% SDS-PAGE电泳; 蛋白转移至PVDF膜, 新鲜配制的含5% BSA的TBST液室温封闭1 h, 加入兔抗大鼠SOCS3单克隆抗体(1:1 000)和兔抗大鼠β-actin抗体(1:1 000), 4 °C 反应过夜; 将膜取出, TBST液洗5 min × 3次, 加入HRP标记的山羊抗兔IgG二抗孵育; ECL显影, BandScan 5.0凝胶电泳图像分析软件行条带灰度扫描, 以β-actin为内参照对SOCS3行灰度值半定量分析。以上实验重复3次, 取均值。

**统计学处理** 组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用LSD-*t*检验, 数据采用SPSS17.0统计软件包进行统计分析,  $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 血清AMY水平** NC组血清AMY水平(pg/mL)较低, SAP 6 h、12 h和18 h组血清AMY水平逐渐升高, 与NC组比较有显著性差异( $2\,675.18 \pm 278.32$ ,  $3\,541.15 \pm 215.43$ ,  $4\,568.89 \pm 357.86$  vs  $651.38 \pm 52.94$ , 均 $P < 0.05$ ), 各SAP组之间比较亦有显著性差异( $P < 0.05$ )。

**2.2 胰腺病理组织学检查** 肉眼观察NC组胰腺外观正常; SAP 6 h组大鼠胰腺肿胀明显, 局部可见紫色坏死灶, 少量淡红色腹腔积液, 胰周皂化; SAP 12 h组胰腺大片坏死, 血性腹水增多, 胰周可见皂化斑; SAP 18 h组坏死程度进一步加重, 大量血性腹水, 皂化斑明显增多。光镜下观察, NC组大鼠胰腺组织结构清晰, 腺泡小叶完整, 偶可见间质区轻度水肿, 红细胞及中性粒细胞少见; 各SAP组胰腺组织出现不同程度出血、坏死、炎性细胞浸润, 胰腺组织脂肪坏死, 且随造模时间延长逐渐加重(图1)。

表1 各组血清IL-6、IL-18含量比较(pg/mL, mean ± SD,  $n = 8$ )

分组	IL-6	IL-18
NC组	34.82 ± 5.13	14.05 ± 3.20
SAP 6 h组	119.58 ± 15.75 <sup>a</sup>	313.42 ± 19.57 <sup>a</sup>
SAP 12 h组	343.24 ± 18.13 <sup>ac</sup>	435.95 ± 21.84 <sup>ac</sup>
SAP 18 h组	458.72 ± 22.89 <sup>ace</sup>	496.70 ± 25.11 <sup>ace</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs NC组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs SAP 6 h组; <sup>e</sup> $P < 0.05$  vs SAP 12 h组。

**2.3 血清IL-6、IL-18含量** NC组及各SAP组均有IL-6、IL-10和IL-18表达。造模后可见血清中IL-6、IL-18含量均明显升高, 各SAP组间比较有显著性差异( $P < 0.05$ , 表1)。

**2.4 胰腺组织SOCS3定位和表达情况** 免疫组化染色显示, 正常对照组SOCS3不表达或弱阳性表达(图2A)。SAP 6 h组胰腺组织可见少量SOCS3免疫阳性细胞<sup>[7]</sup>, 免疫阳性物质呈棕褐色, 主要物质定位于细胞质(图2B); 12 h组SOCS3表达开始增强, 着色逐渐加深(图2C); 18 h组SOCS3表达最强, 以胰腺细胞坏死区最为明显, 胞质和胞核中均可见阳性表达(图2D)。蛋白印迹法检测结果显示, 正常胰腺组织几乎无SOCS3蛋白表达, SAP 6 h组胰腺组织可见少量SOCS3蛋白表达; SAP 12 h组表达开始增强; SAP 18 h表达最强, SAP各组相对表达量均显著高于NC组( $P < 0.05$ , 图3)。

## 3 讨论

SOCS是JAK/STAT通路的反馈抑制因子, 又被称为细胞的“分子刹车”。其中SOCS3是SOCS家族中负性调节JAK/STAT信号通路作用最强的抑制蛋白之一, 因作用广泛广受广大研究者的关注。近几年对其功能以及临床研究等方面都取得了许多新的进展<sup>[10,11]</sup>。

炎症因子通过JAK/STAT信号通路诱导

## ■应用要点

本文主要研究SOCS3在SAP中的抑炎作用, 从而为SAP的临床治疗提供一条新的思路。



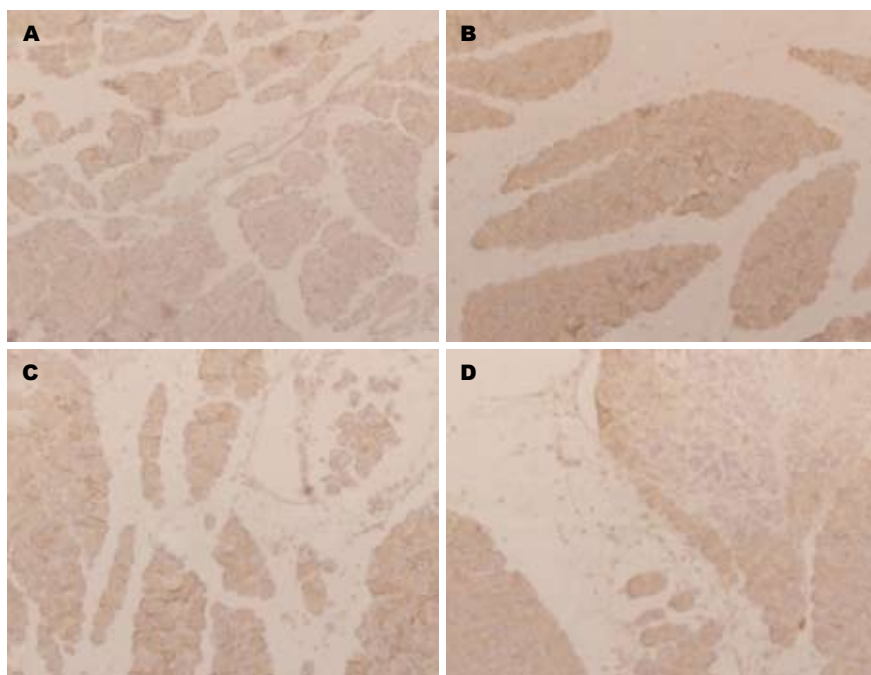


图 2 各组胰腺组织中SOCS3的表达和定位(×200). A: NC组; B: SAP 6 h组; C: SAP 12 h组; D: SAP 18 h组.

#### ■同行评价

本文从动物实验研究细胞因子信号传导抑制因子3(SOCS3)重症急性胰腺炎(SAP)的表达. 结果显示, SAP大鼠的胰腺SOCS3表达高于对照组, 随时间延长而增高, 与胰腺病变严重程度以及炎症因子含量相关. SOCS3是研究的热点, 文章对于临床与基础研究SAP有一定意义.

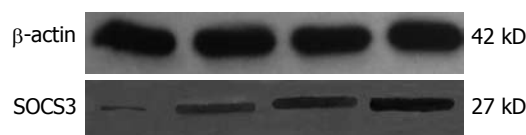


图 3 蛋白印迹法检测SOCS3的表达和定位. A: NC组; B: SAP 6 h组; C: SAP 12 h组; D: SAP 18 h组.

SOCS3基因表达, 其表达产物又特异性地抑制炎症因子介导的JAK/STAT信号通路, 形成对JAK/STAT通路的负反馈调节. SOCS3的这种负反馈调节作用主要通过3种方式进行: 一种是利用和STAT相似的SH2结构域, 竞争结合细胞因子受体胞质区的磷酸化Tyr位点, 阻止转录因子STAT的活化; 另外SOCS3还可以利用SH2结构域与通路中的JAK结合, 竞争性抑制JAK与底物的结合, 靠近SH2结构域N端的激酶抑制区(kinase inhibitory region, KIR)在对JAK的抑制中也起了作用. 第3种作用方式是通过C端的SOCS盒与伸蛋白BC(elongin BC)复合体结合, 将SOCS3结合的蛋白如JAK和STAT等通过泛素化途径降解, 从而阻断细胞因子的信号传递. SOCS3蛋白通过以上3种方式形成对JAK/STAT信号通路的负反馈调节, 抑制炎症因子的表达与释放, 起到抑炎作用<sup>[12,14]</sup>. 目前, 有关SOCS3在SAP炎症反应中作用的研究尚未见文献报道, 为了进一步探讨SOCS3在SAP炎症反应中的作用机制, 笔者利用牛磺胆酸钠诱导建立了大鼠SAP模型, 并采用免疫组化染色及Western blotting检测胰腺组织中SOCS3的表达; IL-6、IL-18是2个较为敏

感的炎症因子, 在炎症早期就有高度表达, 并可诱导IL-1等其他炎症介质的释放, 具有较好的代表性. 尤其IL-18是最近新发现的一种炎症因子, 是最近研究较热的炎症因子<sup>[15,16]</sup>; 有研究发现SAP患者血清IL-6、IL-18水平与SAP病情的发展有着密切的联系, 可较好的反映SAP炎症反应的严重程度<sup>[17,18]</sup>. 所以采用ELISA法检测血清中IL-6、IL-18含量, 代表整体炎症因子的水平, 观察SOCS3在SAP大鼠胰腺中的表达及与炎症因子的关系. 本研究发现NC组大鼠胰腺组织中有极少量SOCS3免疫反应阳性细胞及蛋白表达, 各SAP组大鼠胰腺组织中SOCS3表达则明显增加, 且与处理时间呈正相关. 同时, 与NC组相比, 各SAP组血清IL-6、IL-18表达水平均显著升高, 且与SOCS3表达在动态变化上基本保持一致. 该结果提示SAP发生时, JAK/STAT信号通路被激活, IL-6、IL-18炎症因子表达释放, IL-6、IL-18又通过JAK/STAT信号通路诱导SOCS3表达, 特异性的抑制炎症因子介导的JAK/STAT信号通路, 抑制炎症因子的过度释放. 另外, 结合血清淀粉酶、胰腺组织病理形态学改变可见, 随病程延长, 胰腺组织损伤程度增加, 胰腺SOCS3表达增加, 进一步提示SAP时炎症反应不断加重, SOCS3抑炎作用增强, 起到对机体自我保护作用.

总之, 本研究结果提示SOCS3在SAP的发病和病情变化中起到重要的抑炎作用. 全身炎症反应是SAP防治过程中最为棘手的问题之一, 抑

制炎症因子的释放是抑制全身炎症反应的关键, SOCS3作为机体为数不多的抑炎蛋白之一, 在炎症反应中起到非常重要的抑炎作用, 可为SAP临床治疗提供一条新的思路, 但其详细作用机制还需大量基础和临床研究进一步证实。

#### 4 参考文献

- 1 张晓华, 袁柏思, 朱人敏. Fas/FasL在急性胰腺炎肝损伤中的作用. 世界华人消化杂志 2008; 16: 1661-1665
- 2 Brisinda G, Vanella S, Crocco A, Mazzari A, Tomaiuolo P, Santullo F, Grossi U, Crucitti A. Severe acute pancreatitis: advances and insights in assessment of severity and management. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2011; 23: 541-551
- 3 李敏利, 朱人敏, 张晓华, 史薇, 杨妙芳, 季洪赞, 郭婧芸. JAK/STAT信号通路在胰弹性蛋白酶诱导大鼠Kupffer细胞分泌IL-18中的作用. 世界华人消化杂志 2009; 17: 877-881
- 4 Lim H, Park H, Kim HP. Effects of flavonoids on matrix metalloproteinase-13 expression of interleukin-1 $\beta$ -treated articular chondrocytes and their cellular mechanisms: inhibition of c-Fos/AP-1 and JAK/STAT signaling pathways. *J Pharmacol Sci* 2011; 116: 221-231
- 5 Cooney RN. Suppressors of cytokine signaling (SOCS): inhibitors of the JAK/STAT pathway. *Shock* 2002; 17: 83-90
- 6 Croker BA, Kiu H, Nicholson SE. SOCS regulation of the JAK/STAT signalling pathway. *Semin Cell Dev Biol* 2008; 19: 414-422
- 7 Xu WP, Li WD. [SOCS3: a potential therapeutic target for many human diseases]. *Yaoxue Xuebao* 2011; 46: 747-752
- 8 Jenkins J, Dunn J. Siblings within families: levels of analysis and patterns of influence. *New Dir Child Adolesc Dev* 2009; 2009: 79-93
- 9 Aho HJ, Nevalainen TJ. Experimental pancreatitis in the rat. Ultrastructure of sodium taurocholate-induced pancreatic lesions. *Scand J Gastroenterol* 1980; 15: 417-424
- 10 Yoshimura A, Naka T, Kubo M. SOCS proteins, cytokine signalling and immune regulation. *Nat Rev Immunol* 2007; 7: 454-465
- 11 Drennan M, Elewaut D. Regulating the regulators: SOCS3 joins the dance. *Ann Rheum Dis* 2011; 70: 2061-2062
- 12 Tamiya T, Kashiwagi I, Takahashi R, Yasukawa H, Yoshimura A. Suppressors of cytokine signaling (SOCS) proteins and JAK/STAT pathways: regulation of T-cell inflammation by SOCS1 and SOCS3. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011; 31: 980-985
- 13 Arbouzova NI, Zeidler MP. JAK/STAT signalling in Drosophila: insights into conserved regulatory and cellular functions. *Development* 2006; 133: 2605-2616
- 14 Yoshimura A. [Suppression of leptin and insulin signaling by SOCS3]. *Nihon Rinsho* 2011; 69 Suppl 1: 782-789
- 15 Kang M, Park KS, Seo JY, Kim H. Lycopene inhibits IL-6 expression in cerulein-stimulated pancreatic acinar cells. *Genes Nutr* 2011; 6: 117-123
- 16 Bao Z, Ye Q, Gong W, Xiang Y, Wan H. Humanized monoclonal antibody against the chemokine CXCL-8 (IL-8) effectively prevents acute lung injury. *Int Immunopharmacol* 2010; 10: 259-263
- 17 王要军, 葛文松. TNF- $\alpha$ 、IL-6、TAP与急性胰腺炎严重程度的相关性研究. 中国误诊学杂志 2009; 9: 1261-1262
- 18 Pastor CM, Morel DR, Vonlaufen A, Schiffer E, Les-cuyer P, Frossard JL. Delayed production of IL-18 in lungs and pancreas of rats with acute pancreatitis. *Pancreatol* 2010; 10: 752-757

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

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

#### • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》参考文献要求

**本刊讯** 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上角注角码号。如马连生<sup>[1]</sup>报告……, 潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认为……; PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>。文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献, 包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和World Journal of Gastroenterology(<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>)。期刊: 序号, 作者(列出全体作者), 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。



# TWEAK及其受体Fn14蛋白在食管鳞癌中的表达及临床病理意义

杨建萍, 李晟磊

杨建萍, 李晟磊, 郑州大学第一附属医院病理科 郑州大学基础医学院病理教研室 河南省肿瘤病理重点实验室 河南省郑州市 450052

杨建萍, 主治医师, 主要从事肿瘤病理方面的研究。

河南省教育厅自然科学基金, No. 2010A310008

作者贡献分布: 杨建萍与李晟磊对此文所作贡献均等; 此课题由杨建萍与李晟磊共同设计; 研究过程由杨建萍与李晟磊共同操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由李晟磊提供; 数据分析由杨建萍完成; 本论文写作由杨建萍与李晟磊共同完成。

通讯作者: 李晟磊, 副主任医师, 副教授, 450052, 河南省郑州市建设东路1号, 郑州大学第一附属医院病理科。lsbljys@126.com

收稿日期: 2011-09-20 修回日期: 2011-10-18

接受日期: 2011-11-04 在线出版日期: 2011-11-08

## Clinical pathological significance of expression of TWEAK and its receptor Fn14 in esophageal squamous cell carcinoma

Jian-Ping Yang, Sheng-Lei Li

Jian-Ping Yang, Sheng-Lei Li, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University; Department of Pathology, Basic Medical College of Zhengzhou University; Henan Key Laboratory of Tumor Pathology, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Supported by: Natural Science Foundation of Henan Province, No. 2010A310008

Correspondence to: Sheng-Lei Li, Associate Professor, Department of Clinical Pathology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1st Jianshe Road, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. lsbljys@yahoo.com.cn

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

Accepted: 2011-11-04 Published online: 2011-11-08

## Abstract

**AIM:** To explore the role of TWEAK and its receptor Fn14 in the development, progression, invasion and metastasis of esophageal squamous cell carcinoma (ESCC).

**METHODS:** Immunohistochemistry was used to detect the expression of TWEAK and Fn14 in 45 cases of ESCC specimens, 22 cases of adjacent atypical hyperplasia epithelial specimens and 22 cases of normal esophageal epithelial specimens.

**RESULTS:** The expression of TWEAK protein was closely correlated with tumor infiltration,

lymphatic metastasis and TNM grade in ESCC ( $\chi^2 = 6.455, 11.645$  and  $4.185$ , all  $P < 0.05$ ). The positive rate of TWEAK protein expression in normal esophageal epithelium, adjacent atypical hyperplasia epithelium and ESCC were 27.3% (6/22), 40.9% (9/22) and 64.4% (29/45), respectively, showing a significant upward trend ( $\chi^2 = 9.018, P < 0.05$ ). The expression of Fn14 protein was closely correlated with the tumor grade, infiltration, lymphatic metastasis and TNM grade in ESCC ( $\chi^2 = 10.873, 12.513, 9.244$  and  $13.137$ , all  $P < 0.05$ ). The positive rate of Fn14 protein expression in normal esophageal epithelium, adjacent atypical hyperplasia epithelium and ESCC were 22.7% (5/22), 59.1% (13/22) and 62.2% (28/45), also showing a significant upward trend ( $\chi^2 = 9.872, P < 0.05$ ). There was a positive correlation between the expression of TWEAK and Fn14 in ESCC ( $\gamma_p = 0.091, P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** TWEAK and Fn14 play an important role in the development, infiltration, and metastasis of ESCC.

**Key Words:** TWEAK; Fn14; Esophageal squamous cell carcinoma; Immunohistochemistry; Invasion and metastasis

Yang JP, Li SL. Clinical pathological significance of expression of TWEAK and its receptor Fn14 in esophageal squamous cell carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi*. 2011; 19(31): 3217-3221

## 摘要

**目的:** 探讨肿瘤坏死因子样凋亡微弱诱导剂 (TNF-like weak inducer of apoptosis, TWEAK) 及其受体早期反应蛋白14 (fibroblast growth factor-inducible 14, Fn14) 表达与食管鳞状细胞癌发生、发展及浸润、转移的关系。

**方法:** 应用免疫组化法分别检测手术切除的45例食管鳞癌组织、22例癌旁不典型增生组织及22例正常食管黏膜组织中TWEAK及Fn14蛋白表达, 并且对二者在食管鳞状细胞癌组织中的表达情况进行相关性分析。

## ■背景资料

TWEAK是一类II型跨膜蛋白, 具有诱导细胞凋亡、增殖, 参与炎症反应并可促进细胞因子的分泌, 参与免疫调节等作用。

## ■同行评议者

门秀丽, 教授, 河北联合大学病理生理学教研室

## ■ 研发前沿

关于TWEAK在食管癌发生、发展及演进过程中的作用国内外少见报道。

**结果:** 食管鳞癌组织中TWEAK蛋白表达与癌的浸润深度、淋巴结转移及TNM分期均密切相关( $\chi^2$ 分别为6.455, 11.645及4.185,  $P$ 均 $<0.05$ ); 在食管鳞癌癌变过程中TWEAK蛋白表达在正常黏膜组织、癌旁不典型增生组织及癌组织中的表达率依次增高, 分别为27.3%(6/22)、40.9%(9/22)、64.4%(29/45), 组间比较差异具有统计学意义( $\chi^2 = 9.018$ ,  $P < 0.05$ ); Fn14蛋白表达也与癌的组织学分级、浸润深度、淋巴结转移及TNM分期均密切相关( $\chi^2$ 分别为10.873、12.513、9.244及13.137; 均 $P < 0.05$ ); Fn14蛋白在正常黏膜组织、癌旁不典型增生组织及癌组织中的表达率依次增高, 分别为22.7%(5/22)、59.1%(13/22)、62.2%(28/45), 组间比较差异具有统计学意义( $\chi^2 = 9.872$ ,  $P < 0.05$ ). TWEAK及Fn14的表达无相关性( $\gamma_p = 0.091$ ,  $P > 0.05$ ).

**结论:** TWEAK及Fn14蛋白在食管鳞癌组织中表达显著升高, 并与食管鳞癌生物学特性密切相关, 提示TWEAK及Fn14过表达可能参与了食管鳞状细胞癌的发生、发展。

**关键词:** 肿瘤坏死因子样凋亡微弱诱导剂; 早期反应蛋白14; 食管鳞状细胞癌; 免疫组化; 浸润转移

杨建萍, 李晟磊. TWEAK及其受体Fn14蛋白在食管鳞癌中的表达及临床病理意义. 世界华人消化杂志 2011; 19(31): 3217-3221

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3217.asp>

## 0 引言

肿瘤坏死因子样凋亡的微弱诱导剂(TNF-like weak inducer of apoptosis, TWEAK)是肿瘤坏死因子配体超家族成员之一, 根据其发现的顺序被命名为了肿瘤坏死因子配体超家族成员12(TNFSF12). 他是一类II型跨膜蛋白, 具有诱导细胞凋亡、增殖, 参与炎症反应并可促进细胞因子的分泌, 参与免疫调节等作用<sup>[1]</sup>. Fn14是TWEAK的受体, 可以通过连接不同的含有肿瘤坏死因子受体相关因子(TNF receptor-associated Factor, TRAF)结构域的受体蛋白或胞浆蛋白而启动细胞内多条信号转导途径, 诱发相应的基因活化<sup>[2]</sup>. 目前的研究结果显示, TWEAK/Fn14信号转导通路参与许多疾病的发生, 尤其是实体肿瘤的发生、发展及演进过程, 但其确切机制至今不清. 为揭示TWEAK及Fn14与食管鳞状细胞癌的关系, 本研究采用免疫组织化学法系统地检测了TWEAK与Fn14基因在食管鳞状细

胞癌患者不同部位组织内的表达情况, 并对二者在食管鳞状细胞癌组织中的表达情况进行了相关性分析, 深入地探讨了TWEAK与Fn14在食管癌演进过程中的作用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 本研究所采用的全部45例标本均取自食管癌高发区河南省安阳市肿瘤医院, 所有病例术前均无化疗、放疗及免疫治疗史, 中位年龄(57.8  $\pm$  2.61)岁. 取无坏死癌组织为主要研究对象, 另选取癌旁3 cm以内及远端正常食管黏膜组织(所有标本均经HE染色证实, 45例癌旁组织中有22例为II级以上不典型增生或原位癌)为对照. 所有标本均经40 g/L的多聚甲醛固定, 常规脱水, 石蜡包埋, 连续切片, 切片厚度4-6  $\mu$ m, 分别用于HE染色及免疫组织化学染色. 兔抗人多克隆TWEAK抗体及羊抗人Fn14多克隆抗体均购自美国Santa Cruz公司, PV9000免疫组化试剂盒、II抗及DAB显色购自北京中杉金桥生物技术开发公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 免疫组织化学染色步骤:** 采用PV9000法, TWEAK及Fn14单抗稀释, 稀释倍数分别为1:100和1:200, DAB显色, 苏木素复染. 所有实验操作步骤严格按说明书进行, 以PBS液代替一抗作为阴性对照, 用已知高表达的扁桃体组织作为阳性对照。

**1.2.2 结果判定方法:** TWEAK及Fn14蛋白阳性信号均呈黄色至棕黄色颗粒样物质, 位于细胞质内. 200倍镜下随机选取5个视野, 分别按阳性细胞所占百分比及着色深浅进行结果判定. (1)按阳性细胞数占同类细胞数的百分比:  $<30\%$ 为1分,  $30\%-70\%$ 为2分,  $>70\%$ 为3分; (2)按切片中细胞着色深浅评分: 0分, 细胞无显色; 1分, 浅黄色; 2分, 棕黄色; 3分, 棕褐色. 取(1)、(2)的乘积作为总评分,  $\geq 1$ 分者为阳性<sup>[3,4]</sup>.

**统计学处理** 应用SPSS13.0统计学软件, 采用 $\chi^2$ 检验. 检验水准 $\alpha = 0.05$ .

## 2 结果

**2.1 食管鳞癌组织中TWEAK蛋白的表达及其与食管鳞状细胞癌临床生物学行为的关系** TWEAK蛋白阳性表达主要位于食管鳞状细胞癌细胞的胞质中, 呈浅黄色至深黄色颗粒信号(图1). 结果显示: 其在食管鳞癌组织中过表达, 在正常黏膜组织、癌旁不典型增生组织及癌组织中的表达率均明显降低, 分别为

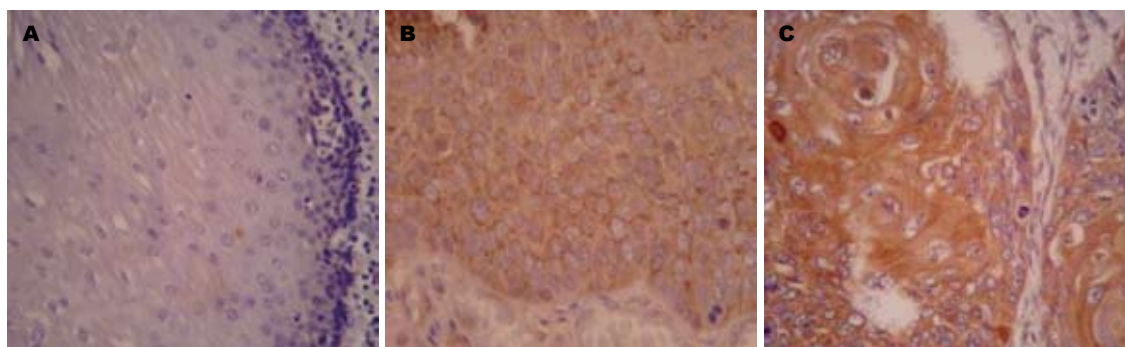


图 1 TWEAK的表达(SP×400). A: 正常黏膜; B: 癌旁组织; C: 癌组织.

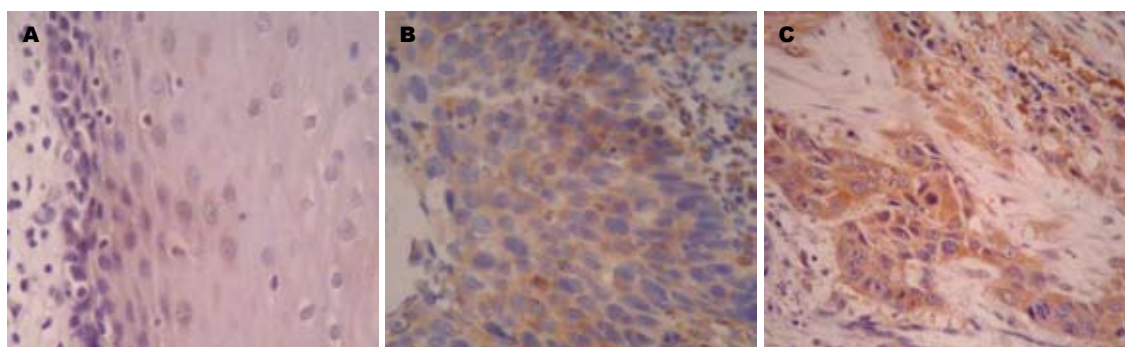


图 2 Fn14的表达(SP×400). A: 正常黏膜; B: 癌旁组织; C: 癌组织.

表 1 TWEAK及Fn14在食管鳞癌组织、非典型增生及正常黏膜组织中的表达

	n	TWEAK			$\chi^2$ 值	P值		Fn14			$\chi^2$ 值	P值
		-	+	阳性率(%)				-	+	阳性率(%)		
正常黏膜上皮	22	16	6	27.3	9.018	0.011	17	5	22.7	9.872	0.007	
非典型增生	22	13	9	40.9			9	13	59.1			
鳞癌	45	16	29	64.4			17	28	62.2			

64.4%(29/45)、40.9%(9/22)、27.3%(6/22), 组间比较差异有统计学意义( $\chi^2=9.018$ ,  $P<0.05$ , 表1). 另外, TWEAK蛋白表达与食管鳞癌组织的浸润深度、淋巴结转移及TNM分期均有关( $\chi^2$ 分别为6.455, 11.645及4.185,  $P$ 均 $<0.05$ , 表2).

**2.2 食管鳞癌组织中Fn14蛋白表达及其与食管鳞状细胞癌临床生物学行为的关系** Fn14蛋白阳性着色定位于细胞质内, 呈棕黄色或深黄色颗粒样信号(图2). 结果显示: 其在食管鳞癌癌变过程中过表达, 在正常黏膜组织、癌旁不典型增生组织表达率均明显降低, 分别为22.7%(5/22)、59.1%(13/22)、62.2%(28/45), 组间比较差异有统计学意义( $\chi^2=9.872$ ,  $P<0.05$ , 表1). Fn14蛋白阳性表达率与食管鳞癌组织学分级、浸润深度、淋巴结转移及TNM分期均密切相关( $\chi^2$ 分别为10.873、12.513、9.244及13.137;

$P$ 均 $<0.05$ , 表2).

**2.3 TWEAK及Fn14在食管鳞癌组织中表达的相关性分析** 在全部45例食管鳞状细胞癌组织中, TWEAK阳性表达的29例中, 其Fn14蛋白表达阳性占19例; 而TWEAK表达阴性的16病例中, 其Fn14蛋白表达阴性的占7例. TWEAK及Fn14蛋白在食管鳞癌组织中的表达无关( $\gamma_p=0.091$ ,  $P>0.05$ , 表3).

### 3 讨论

TWEAK是肿瘤坏死因子超家族成员之一, 国内外的研究结果显示, 其广泛表达于人类多种正常组织如扁桃体、淋巴结、心、肺、脾等. 此外, 在多种实体肿瘤细胞的细胞系中也有不同程度的表达. TWEAK定位于人类17号染色体的13区3带, 分子量大约为30 kDa, 可以水解产生

### ■相关报道

国内外研究结果均显示: TWEAK/Fn14信号转导通路参与许多疾病的发生, 尤其是实体肿瘤的发生、发展及演进过程.

## ■创新盘点

本文首次采用免疫组织化学法联合检测了食管鳞状细胞癌组织中TWEAK及Fn14的表达情况,并分析了二者与食管鳞状细胞癌临床病理学特征的关系。

表 2 TWEAK及Fn14蛋白表达与食管鳞癌临床生物学行为的关系

病理特征	TWEAK				Fn14		
	<i>n</i>	阳性表达率(%)	$\chi^2$ 值	<i>P</i> 值	阳性表达率(%)	$\chi^2$ 值	<i>P</i> 值
组织学分级							
I	18	12(66.7)	0.087	0.958	6(33.3)	10.873	0.004
II	13	8(61.5)			10(76.9)		
III	14	9(64.3)			12(85.7)		
浸润深度							
浅层	17	7(41.2)	6.455	0.011	5(29.4)	12.513	0.000
深层	28	22(78.6)			23(82.1)		
淋巴结转移							
无	24	10(41.7)	11.645	0.001	10(41.7)	9.244	0.002
有	21	19(90.5)			18(85.7)		
TNM分期							
I、II	19	9(47.4)	4.185	0.041	6(31.6)	13.137	0.000
III、IV	26	20(76.9)			22(84.6)		

表 3 TWEAK及Fn14在食管鳞癌组织中表达的相关性分析

TWEAK	<i>n</i>	Fn14		$\chi^2$ 值	<i>P</i> 值
		+	-		
+	29	19	10	0.091	0.550
-	16	9	7		

出一个约18 kDa的具有多种生物特性的可溶性因子,从而发挥远距离的生物学效应<sup>[5-9]</sup>。还有研究发现,可溶性的TWEAK不仅可以介导细胞的凋亡,诱导某些细胞分化,而且还具有促进细胞因子分泌及内皮细胞的增生及血管生成的作用;与此同时还参与了先天性的免疫调节作用。然而,TWEAK如何参与并诱导血管形成作用机制还不十分清楚<sup>[10,11]</sup>。

Fn14是TWEAK的多功能受体之一,其同源体位于人类16号染色体短臂的13区三带,在人体在组织中以心、肾表达量最高,近些年来的研究发现,Fn14同样也参与了内皮细胞增殖及血管的生成<sup>[12-16]</sup>。最初的研究发现,TWEAK通过与细胞膜表面的死亡受体3(Death Receptotr 3)结合而传递死亡信号,并诱导细胞凋亡,此后的研究发现并非所有的细胞均表达死亡受体3(DR3),TWEAK仅在有限的细胞中传递微弱的诱导凋亡信号。多项研究结果表明,TWEAK可以诱导Fn14转染体的凋亡性细胞死亡,TWEAK诱导细胞的死亡通路可能是由Fn14单独介导的,二者在肿瘤的发生、凋亡及增殖、分化过程中可能起到重要的协同作用<sup>[17-23]</sup>。

本研究结果显示,TWEAK及Fn14在食管鳞癌组织中的表达远高于其在相对应的癌旁不典型增生组织及正常食管黏膜内,说明TWEAK及Fn14高表达的食管鳞癌具有更强的侵袭能力。本实验还发现,随食管鳞癌组织浸润深度的增加,TNM分期的增加及伴有淋巴结转移的发生,TWEAK蛋白染色阳性率呈逐渐增强趋势,组间比较差异具有统计学意义( $P<0.05$ );而Fn14的异常过表达则与食管鳞癌的组织学分级、浸润深度、TNM分期及淋巴结均密切相关( $P<0.05$ ),这就提示二者可能在食管鳞癌的癌变过程及演进过程中均可能起到了重要的作用。TWEAK及Fn14蛋白在食管鳞状细胞癌中的表达无关,但在总共45例食管鳞状细胞癌组织中二者共同表达阳性的病理达到了19例(42.2%),我们分析这可能与标本量过小有一定的关系,进一步加大实验标本量可能会改变实验结果。因此,下一步我们拟采用siRNA技术及翻译寡核苷酸技术下调TWEAK的表达并检测其对细胞凋亡作用的影响等实验。

总之,联合检测TWEAK及Fn14蛋白的表达可能会有利于我们进一步了解食管鳞状细胞癌的生物特性,为食管鳞状细胞癌的早期诊断和预防治疗提供一个新的思路。

参考文献

## 4 参考文献

- 1 Dionne S, Levy E, Levesque D, Seidman EG. PPAR-gamma ligand 15-deoxy-delta 12,14-prostaglandin J2 sensitizes human colon carcinoma cells to TWEAK-induced apoptosis. *Anticancer Res* 2010; 30: 157-166
- 2 Watts GS, Tran NL, Berens ME, Bhattacharyya AK,



- Nelson MA, Montgomery EA, Sampliner RE. Identification of Fn14/TWEAK receptor as a potential therapeutic target in esophageal adenocarcinoma. *Int J Cancer* 2007; 121: 2132-2139
- 3 高冬玲, 李晟磊, 陈奎生, 赵志华, 赵秋民, 刘宗文, 张云汉. 金属蛋白酶抑制基因RECK在食管鳞癌中的表达及生物学意义. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 1634-1638
- 4 李晟磊, 赵秋民, 刘宗文, 赵志华, 高冬玲, 郑湘予, 陈奎生, 张云汉. 食管鳞癌中RECK和MMP-9蛋白表达的相关性及临床病理意义. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 1082-1086
- 5 Zou H, Wang D, Gan X, Jiang L, Chen C, Hu L, Zhang Y. Low TWEAK expression is correlated to the progression of squamous cervical carcinoma. *Gynecol Oncol* 2011; 123: 123-128
- 6 Zhou H, Marks JW, Hittelman WN, Yagita H, Cheung LH, Rosenblum MG, Winkles JA. Development and characterization of a potent immunoconjugate targeting the Fn14 receptor on solid tumor cells. *Mol Cancer Ther* 2011; 10: 1276-1288
- 7 Ikner A, Ashkenazi A. TWEAK induces apoptosis through a death-signaling complex comprising receptor-interacting protein 1 (RIP1), Fas-associated death domain (FADD), and caspase-8. *J Biol Chem* 2011; 286: 21546-21554
- 8 Pelekanou V, Notas G, Theodoropoulou K, Kampa M, Takos D, Alexaki VI, Radojicic J, Sofras F, Tsapis A, Stathopoulos EN, Castanas E. Detection of the TNFSF members BAFF, APRIL, TWEAK and their receptors in normal kidney and renal cell carcinomas. *Anal Cell Pathol (Amst)* 2011; 34: 49-60
- 9 Abend JR, Uldrick T, Ziegelbauer JM. Regulation of tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis receptor protein (TWEAKR) expression by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus microRNA prevents TWEAK-induced apoptosis and inflammatory cytokine expression. *J Virol* 2010; 84: 12139-12151
- 10 Peternel S, Manestar-Blažić T, Brajac I, Prpić-Massari L, Kaštelan M. Expression of TWEAK in normal human skin, dermatitis and epidermal neoplasms: association with proliferation and differentiation of keratinocytes. *J Cutan Pathol* 2011; 38: 780-789
- 11 Kawakita T, Shiraki K, Yamanaka Y, Yamaguchi Y, Saitou Y, Enokimura N, Yamamoto N, Okano H, Sugimoto K, Murata K, Nakano T. Functional expression of TWEAK in human colonic adenocarcinoma cells. *Int J Oncol* 2005; 26: 87-93
- 12 Sanz AB, Sanchez-Niño MD, Ortiz A. TWEAK, a multifunctional cytokine in kidney injury. *Kidney Int* 2011; 80: 708-718
- 13 Michaelson JS, Amatucci A, Kelly R, Su L, Garber E, Day ES, Berquist L, Cho S, Li Y, Parr M, Wille L, Schneider P, Wortham K, Burkly LC, Hsu YM, Joseph IB. Development of an Fn14 agonistic antibody as an anti-tumor agent. *MAbs* 2011; 3: 362-375
- 14 Lu J, Kwan BC, Lai FM, Choi PC, Tam LS, Li EK, Chow KM, Wang G, Li PK, Szeto CC. Gene expression of TWEAK/Fn14 and IP-10/CXCR3 in glomerulus and tubulointerstitium of patients with lupus nephritis. *Nephrology (Carlton)* 2011; 16: 426-432
- 15 Zimmermann M, Koreck A, Meyer N, Basinski T, Meiler F, Simone B, Woehrl S, Moritz K, Eiwegger T, Schmid-Grendelmeier P, Kemeny L, Akdis CA. TNF-like weak inducer of apoptosis (TWEAK) and TNF- $\alpha$  cooperate in the induction of keratinocyte apoptosis. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 127: 200-207, 207. e1-10
- 16 Weinberg JM. TWEAK-Fn14 as a mediator of acute kidney injury. *Kidney Int* 2011; 79: 151-153
- 17 Feng SL, Guo Y, Factor VM, Thorgerisson SS, Bell DW, Testa JR, Peifley KA, Winkles JA. The Fn14 immediate-early response gene is induced during liver regeneration and highly expressed in both human and murine hepatocellular carcinomas. *Am J Pathol* 2000; 156: 1253-1261
- 18 Burkly LC, Dohi T. The TWEAK/Fn14 pathway in tissue remodeling: for better or for worse. *Adv Exp Med Biol* 2011; 691: 305-322
- 19 Burkly LC. Introductory words about TWEAK/Fn14. *Adv Exp Med Biol* 2011; 691: 275-277
- 20 Schölzke MN, Röttinger A, Murkinati S, Gehrig N, Leib C, Schwaninger M. TWEAK regulates proliferation and differentiation of adult neural progenitor cells. *Mol Cell Neurosci* 2011; 46: 325-332
- 21 Muñoz-García B, Madrigal-Matute J, Moreno JA, Martín-Ventura JL, López-Franco O, Sastre C, Ortega L, Burkly LC, Egido J, Blanco-Colio LM. TWEAK-Fn14 interaction enhances plasminogen activator inhibitor 1 and tissue factor expression in atherosclerotic plaques and in cultured vascular smooth muscle cells. *Cardiovasc Res* 2011; 89: 225-233
- 22 Frauenknecht K, Bargiotas P, Bauer H, von Landenberg P, Schwaninger M, Sommer C. Neuroprotective effect of Fn14 deficiency is associated with induction of the granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) pathway in experimental stroke and enhanced by a pathogenic human antiphospholipid antibody. *J Neuroimmunol* 2010; 227: 1-9
- 23 Zhang JX, Sang M, Zhao W, Ai HX, Shui Y, Li JF, Song R, Zhang SQ. Molecular characterization of the canine cytokine TWEAK (CD255) and its receptor, Fn14 (CD266). *Vet Immunol Immunopathol* 2010; 137: 172-175

## ■同行评价

本研究的内容充实, 有一定的创新性, 具有一定的临床参考价值。

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利



# 炎症性肠病的生物学活性标志物的研究进展

周丽峰, 缪应雷

周丽峰, 缪应雷, 昆明医学院第一附属医院消化内科 云南省昆明市 650032

作者贡献分布: 本文由周丽峰完成; 缪应雷审阅.

通讯作者: 缪应雷, 教授, 650032, 云南省昆明市西昌路295号, 昆明医学院第一附属医院消化内科. myldu@sina.com.cn  
电话: 0871-5324888-2532

收稿日期: 2011-09-04 修回日期: 2011-10-18

接受日期: 2011-10-29 在线出版日期: 2011-11-08

## Progress in research of biological activity markers for inflammatory bowel disease

Li-feng Zhou, Ying-Lei Miao

Li-feng Zhou, Ying-Lei Miao, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical College, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Correspondence to: Ying-Lei Miao, Associate Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical College, Kunming 650032, Yunnan Province, China. myldu@sina.com.cn

Received: 2011-09-04 Revised: 2011-10-18

Accepted: 2011-10-29 Published online: 2011-11-08

## Abstract

The incidence of inflammatory bowel disease (IBD) has been increasing in recent years. The clinical manifestations of IBD are complicated, and both intestinal and extraintestinal symptoms may develop. Due to the lack of specific index, IBD is easy to be misdiagnosed, and evaluating disease activity is more difficult. Radiology, endoscopic and histological biopsy for diagnosis are expensive. Currently, there is an urgent need of a simple, noninvasive, sensitive, economic, and highly specific method for diagnosis of IBD. Biological activity markers may meet this demand. In this paper, the clinical applicability of biological activity markers, which come from both ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD), in identifying the presence or extent of inflammatory response, is reviewed.

**Key Words:** Inflammatory bowel disease; Biological activity markers

Zhou LF, Miao YL. Progress in research of biological activity markers for inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(31): 3229-3236

## 摘要

随着诊疗手段的日益进步, 炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)发病率近年来呈逐年上升趋势. 然而由于临床表现复杂多样, 不仅有消化道症状, 还可有肠外表现, 并且缺乏特异性指标, IBD诊断容易误诊, 且评估疾病活动性也较困难. 放射学, 内镜及组织学活检都为诊断及评估提供了方法, 但这些方法受射线、有创性、昂贵等缺点限制. 目前临床上需要一种简单、无创、敏感、经济、特异性强、在临床上易推广的方法来应用于对IBD的诊断及活动性的判定, 因此生物活性标志物被大量研究. 本文从鉴别溃疡性结肠炎(ulcerative colitis)和克罗恩病(Crohn's disease)及反应炎症的存在或程度两方面就临床有适用性的生物学活性标志物的研究进行了综述.

**关键词:** 炎症性肠病; 生物活性标志物

周丽峰, 缪应雷. 炎症性肠病的生物学活性标志物的研究进展. *世界华人消化杂志* 2011; 19(31): 3229-3236

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3229.asp>

## 0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD). IBD的临床表现复杂多样, 不仅有消化道症状, 还可有肠外表现. 由于缺乏特异性指标, 诊断容易误诊, 且评估疾病活动性也较困难. 目前他的诊断及活动性判定主要包括以下2种: 第1种是内镜下活组织检查方法, 包括Truelove-witts标准和CDAI(Crohn's disease activity index)<sup>[1]</sup>等, 目前该法仍是IBD诊断的金标准, 但由于昂贵、侵入性以及患者耐受性差的缺点, 限制了他的发展前景; 第2种是临床疾病活动性指数和目前常用的客观检查方法, 主要有ESR、CRP等. 两者相对比较简便实用, 但前者主观性强, 结果判定较粗糙, 作为指导治疗的依据不够可靠; 后者敏感性和特异性低, 临床应用价值有限.

因此, 临床上需要一种简单、无创、敏

## ■背景资料

炎症性肠病(IBD)的诊断及活动性判定目前主要依靠临床表现、放射学检查、内镜及组织学活检等方法, 但临床应用复杂、主观性强, 且受射线、有创、昂贵等限制. 生物活性标志物由于其简单、无创、敏感、经济、特异性强等优点受到广泛的研究.

## ■同行评议者

任建林, 教授, 厦门大学附属中山医院消化内科

## ■ 研发前沿

目前, IBD血清学方面的生物活性标志物受到大家广泛关注, 主要集中在2个方面: (1)对已经证实的抗体, 发现新的检测方法以提高其检测的准确性, 明确联合诊断的标准及价值以指导IBD的诊断和治疗; (2)进一步研究其他抗体, 以期发现更多的标志物, 提高IBD的诊断与鉴别诊断水平, 并在疾病监测、进一步分型、反映治疗效果指标等方面有所突破。

感、经济、特异性强且在临床上易推广的方法来应用于对IBD的诊断及活动性的判定, 而生物活性标志物无疑在此方面有绝对的优势<sup>[2]</sup>。目前, 被研究的关于IBD的生物活性标志物可大致分为2大类: 一类对鉴别UC与CD有较高的特异性和敏感性, 主要包括自身免疫抗体与微生物抗体; 另一类仅反映炎症的存在或程度, 可用于鉴别肠道炎性反应与非炎性反应疾病以及动态判断炎性反应的活动度, 这一类包括粪便标志物及急性相蛋白等血清标志物。

## 1 鉴别CD与UC的生物活性标志物

目前鉴别UC与CD的生物标志物主要集中在自身免疫抗体与抗微生物抗体, 包括已广为研究的抗中性粒细胞胞浆抗体(Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies, ANCA), 抗酿酒酵母抗体(Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies, ASCA), 抗小肠杯状细胞抗体(autoantibodies to intestinal goblet cells, GAB)和抗胰外分泌腺抗体(Antibodies against exocrine pancreas, PAB), 抗细胞外膜孔道蛋白C抗体(Against outer membrane porin C, Anti-OmpC), I2抗体(Against Pseudomonas-associated sequence I2, Anti-I2), 抗Cbir1抗体(against bacterial flagellin cBir1, Anti-cBir1)等, 以及近年来出现的抗乙糖苷昆布糖抗体(Anti-laminaribioside carbohydrate antibodies, ALCA), 抗乙糖苷壳糖抗体(Anti-chitobioside carbohydrate antibodies, ACCA), 抗mannobioside糖抗体(Anti-mannobioside carbohydrate antibodies, AMCA)等。这些抗体在诊断更易引起并发症的CD患者上意义更大, 但亦存在敏感性、特异性不强的缺点, 使他们不足以单独使用, 联合检测意义更大<sup>[3,4]</sup>。

**1.1 抗中性粒细胞胞浆抗体(ANCA)和抗酿酒酵母抗体(ASCA)** ANCA是一类直接作用于中性粒细胞胞浆成分的自身抗体, 分细胞浆型(c-ANCA)、核周染色型(p-ANCA)和非典型型(a-ANCA), 其中pANCA与IBD相关。大量研究证实UC患者血中pANCA阳性率较正常人明显增高(60%-80%), UC患者的健康亲属其pANCA阳性率也高。

ASCA是一种针对真菌菌属的抗体, 并非为自身抗体。这种抗体被命名为酿酒酵母菌细胞壁甘露聚糖的血清反应性抗体。有报道ASCA存在于50%-70%的CD患者和6%-14%的UC患者中, 是一种对CD具有高度特异性的抗体, 且具有家族聚集性<sup>[5,6]</sup>。

由于在腹泻性疾病中ANCA和ASCA的敏感性都较低, 而在原发性硬化性胆管炎、自身免疫性肝炎与其他结肠炎ANCA检出率较高。ASCA的特异性虽然较高, 但是最近在10%的腹部疾病和自身免疫性肝炎患者中也可检测出ASCA, 所以单独检测ANCA或ASCA对诊断IBD的价值有限<sup>[7]</sup>。但联合检测ANCA和ASCA对CD与UC的鉴别诊断有重要价值<sup>[8]</sup>。2010年世界胃肠病学实践指南明确指出可联合检测ASCA和ANCA指标作为UC与CD鉴别的辅助检查, 即ASCA阳性/pANCA 阴性者提示CD, 而pANCA阳性/ASCA阴性者提示UC<sup>[1]</sup>。但这指南在我国的应用尚待进一步论证。国内高翔等<sup>[9]</sup>的研究结果指出, 联合检测血清pANCA和ASCA对汉族UC与CD的鉴别诊断并无价值。另外, ASCA和ANCA对评估药物疗效方面价值亦有限<sup>[10]</sup>。

**1.2 抗乙糖苷昆布糖抗体(ALCA)、抗乙糖苷壳糖抗体(ACCA)和抗mannobioside糖抗体(AMCA)** ALCA、ACCA和AMCA是继ASCA、ANCA研究之后广泛兴起的3种抗体, 此3种抗体在鉴别CD与UC方面的作用已获得了大家的一致肯定。Simondi等<sup>[11]</sup>通过对116例CD患者, 53例UC患者, 45例其他胃肠道患者及51例健康对照者通过测定几种抗体以及临床诊断IBD的常用检查, 进行队列分析, 发现此3种抗体与CD有很好的相关性, 1/3 ASCA阴性患者至少有其中1种阳性。Dotan等<sup>[12,13]</sup>也证实3种抗体对CD有很高特异性, 尤其是ASCA阴性的患者, 因此对ASCA阴性的CD患者有诊断价值。3种抗体虽对CD特异性较高, 但由于敏感性低的特点使他们不能独立用于诊断CD, 限制了他们在临床上的使用。

**1.3 抗小肠杯状细胞抗体(GAB)和抗胰外分泌腺抗体(PAB)** 有关GAB和PAB检测的临床意义近年来逐渐受到国内外研究者的重视。Desplat等<sup>[14]</sup>应用间接免疫荧光法检测109名CD患者血清PAB阳性率为36.7%, 认为该法检测PAB可作为诊断CD的特异性标志物。但也有研究发现UC患者PAB阳性率有增高现象, 可达到24%左右, 从而认为PAB应视作IBD而非CD的特异性指标<sup>[15]</sup>。GAB一直作为作为诊断UC的特异性指标, 但近来Lakatos等<sup>[16]</sup>研究表明其在UC中仅为15.4%, 且未在UC中发现其表型, 因此不能作为UC的指标。Lawrance等<sup>[17]</sup>则报道PAB和GAB都是UC和CD特异的诊断指标, 但敏感性差。亦有研究指出2种抗体可联合pANCA共同检测IBD, 进而提高

IBD尤其是UC的诊断的特异性<sup>[18]</sup>。但目前研究结果不一, 此2种抗体对于IBD的鉴别诊断的作用尚需要进一步研究。

**1.4 其他抗体** 抗细胞外膜孔道蛋白c抗体(Anti-OmpC)是一种直接抗大肠埃希菌细胞外膜孔道蛋白C的抗体。该抗体对CD具有特异性(55%), 在诊断IBD方面能与其他血清学标志物互补, 但因检测率较低(30%)限制了其在临床实践中的应用<sup>[19]</sup>。

I2抗体(Anti-I2)是一种细菌DNA片段, 是针对荧光假单胞菌的抗体, 此细菌参与人类肠道损害<sup>[20]</sup>。已证实重组体I2蛋白的IgA血清学反应对CD具有特异性<sup>[21]</sup>。Joossens等<sup>[19]</sup>在一项研究中证实, 50%的CD患者存在I2抗体, 并认为这种抗体的存在增加了IBD的持续时间。另有研究证实I2抗体阳性者手术治疗需求率更高<sup>[22]</sup>。

抗cBir1(Anti-cBir1)是在IBD大鼠模型上被发现的引起结直肠炎的第1个细菌抗原抗体, 可以导致IBD患者发生病理上的免疫应答<sup>[23]</sup>。目前研究认为其与疾病持续时间、CD亚型有重要关系。Papadakis等<sup>[24]</sup>研究结果则提示在检测3种CD相关抗原(ASCA、I2、OmpC)频度系统中增加对抗cBir1频度的检测, 能提高CD患者中存在的小肠疾病、UC-like(ulcerative colitis-like)CD表型以及其他复杂表型, 如FS(fibrostenosis)或IP(internal penetrating)的检出率, 但对于小肠手术而言则没有任何差别。而Targan等<sup>[25]</sup>通过多量线性回归分析发现, CBir1与I2、OmpC、ASCA(IgA和IgG)抗体之间不存在相关性, 但与CD的确是呈独立相关性。抗CBir1与IBD的关系研究刚刚起步, 由于缺乏他对IBD发病机制的直接阐释, 他作为IBD的生物标志物尚待进一步研究。

另外L抗体(anti-laminarin)、C抗体(anti-chitin)在评估IBD的意义方面近年来亦有众多研究, 只是目前研究结果不一, 要应用于临床, 尚待进一步证实<sup>[13,25,26]</sup>。关于上述抗体联合检测对IBD的意义已如前述。ASCA与pANCA, ALCA与ACCA的意义已得到证实。亦有学者将ASCA、PANCA、抗OmpC和I2抗体联合评估IBD, 证实4种抗体阳性的CD患者病情更加复杂。而将抗OmpC, 抗CBir1, 和I2抗体3种抗体联合研究则证实此3种抗体阳性的患者比阴性患者手术切除率更高(72% vs 23%)<sup>[22,27,28]</sup>, 联合检测能增加对IBD诊断和活性判定的敏感性及特异性。但目前研究种目繁多, 无统一标准, 如何让其简单用

于临床仍是研究的重点<sup>[29]</sup>。

## 2 鉴别炎症性疾病及判定活动性的生物活性标志物

**2.1 粪便标志物** 粪便标志物因为容易被患者接受, 可反复进行, 并客观而连续地反映肠道局部炎症的变化情况这些优点, 近年来受到广泛重视, 进行了大量相关研究<sup>[30]</sup>。目前主要研究的有钙卫蛋白、乳铁蛋白、抗胰蛋白酶、a2巨球蛋白、髓过氧化物酶、S100A12等, 其中最具价值的是钙卫蛋白与乳铁蛋白。

**2.1.1 钙卫蛋白** 钙卫蛋白(calprotectin)是粪便标志物中较早开始研究的标志物之一。它是一种来源于中性粒细胞和巨噬细胞的含钙蛋白, 其在粪便中极其稳定, 且亦被检测, 故优于以往的粪便标志物<sup>[31]</sup>。Konikoff等<sup>[32,33]</sup>研究显示粪便钙卫蛋白与内镜分级标准具有极明显的相关性, 可以作为反映病情变化的连续指标; 同血液指标CRP和ESR相比, 敏感性明显高于后两者<sup>[34]</sup>。Costa等<sup>[35]</sup>研究临床缓解的患者, 发现钙卫蛋白浓度较高的患者复发的可能性也更大, 较之低浓度, CD患者为其2倍, 而UC患者则为14倍。近年来亦有研究认为钙卫蛋白在评定复发方面, 在UC患者中的作用明显高于CD。Costa等<sup>[36]</sup>报告预测在UC复发中敏感性与特异性分别为89%和82%, 在CD的特异性为43%, 但Gisbert<sup>[37]</sup>等研究则认为两者是效果一致。尽管此结论尚不清楚, 但钙卫蛋白在炎症性肠病的诊断、判定治疗疗效、评估复发方面的作用的得到了大家的一致认同<sup>[36-38]</sup>。但由于钙卫蛋白仅是一种机体炎性反应的标志物, 对IBD无特异性, 在许多炎性反应情况下均可能升高; 且除受疾病影响外, 还受如药物、饮酒等的影响, 因此他目前不能用来作为疾病的初诊依据, 只能用来作为复查的筛选工具<sup>[39]</sup>。如何提高初诊的准确性, 是将其成为炎症性肠病的生物标志物研究中的一个重要内容。

**2.1.2 乳铁蛋白** 乳铁蛋白(lactoferrin)是贮藏在中性粒细胞特殊颗粒中的铁结合蛋白, 能及时反映急性炎症的情况。Gisbert<sup>[32]</sup>等对1 001位IBD患者进行检测, 发现其用来诊断IBD的敏感性与特异性分别为80%和82%, 研究证实乳铁蛋白在诊断疾病的方面有很好的敏感性和特异性。而其在活动性IBD患者粪便中的浓度亦明显高于非活动性, 肠易激综合征患者及健康对照组, 因此其可作为IBD活动性监测的有效标志<sup>[40,41]</sup>。另外其在评估药物治疗疗效方面也展示了很好前景<sup>[42]</sup>。Buderus等<sup>[43]</sup>研究在儿童严重CD患者使用了发

### ■相关报道

有Florian等通过分析824个参与者(其中包括363例CD, 130例UC, 74例其他胃肠道患者以及257位健康对照者)者血清中抗体, 认为虽然gASCA与pANCA联合检测是诊断CD的最可靠的血清方法, 但联合检测多种抗体更有利于UC与CD的鉴别诊断。

## ■创新盘点

文章从鉴别UC与CD以及鉴别肠道炎性疾病和判定活动性两方面综述了血清、粪便的主要生物活性标志物,尤其对近几年来的新的研究成果进行了全面准确的概括,具有一定的临床参考价值。

现英夫力昔单抗治疗后,乳铁蛋白含量明显下降,从而认为其还是一种可用来监测英夫力昔单抗治疗疗效的可靠指标。近来有研究显示乳铁蛋白与钙卫蛋白在评估疾病活动性方面有相似作用,只是钙卫蛋白的含量与IBD的内镜下的慢性炎症程度有很好相关性,而乳铁蛋白则与组织活检相关性较好<sup>[35,43]</sup>。

**2.1.3 其他标志物** 髓过氧化物酶(myeloperoxidase MPO)是中性粒细胞嗜天青颗粒产生的一种重要的过氧化物酶,主要存在于嗜中性粒细胞和单核粒细胞,对于宿主防御以及炎症的发生、发展非常重要,并可直接影响机体的免疫功能。研究发现,IBD活动组与非活动组患者MPO活性均高于对照组,但IBD活动组患者较IBD非活动组MPO活性有显著提高。说明对于已确诊IBD(尤其是UC)的患者,可用MPO作为检测病变活动性的一个特异和敏感指标<sup>[44]</sup>。但由于他在粪便中存在时间短、不稳定,限制了其在临床中的使用<sup>[45]</sup>。

S100A12是由活化的中性粒细胞分泌,在IBD患者肠黏膜中过度表达,且在粪便中能稳定存在的一种含钙蛋白质。他因检测IBD患者的敏感性、特异性均高,且在鉴别IBD与IBS方面有很大意义,受到大家的广泛关注,但其单独应用于临床需更多的研究证实<sup>[46-48]</sup>。抗胰蛋白酶在IBD中已经被广泛研究,但许多研究结果相冲突,且缺少对药物或手术治疗的疗效检测的研究,故没在临床上广泛应用<sup>[49]</sup>。肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、 $\alpha$ 2巨球蛋白等因子对判断IBD活动性有一定意义,但前者研究多集中在儿童,以及检验的特殊性限制其使用;后者目前国内外对其研究较少,其作为标志物的适用性尚待进一步证实。

**2.2 血清标志物** 血清标志物较早进行研究,研究的种类也最多。其中的急性相反应蛋白(ARP)与血沉(ESR)已广泛用于临床多年,取得了不错的好评,但适用于大部分炎症性疾病,缺少特异性。血清纤维化指标、血小板参数、细胞因子等虽然在临床上也用来鉴别UC和CD,但和ARP与ESR一样,缺少特异性,多用于与其他检测方法联合使用鉴别炎性疾病与判断活动程度。

**2.2.1 急性相蛋白** 急性相反应蛋白(ARP)是由肝脏合成,参与炎症反应的细胞因子,如IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 等,他可以促进肝脏合成ARP增加。经典的急性相反应蛋白包括 $\alpha$ 1-酸性糖蛋白( $\alpha$ 1-acid Glycoprotein  $\alpha$ 1-AGP)、C-反应

蛋白(C-reactive protein CRP)、纤维蛋白原、乳铁蛋白、血清类淀粉A及 $\alpha$ 1-抗胰蛋白酶( $\alpha$ 1-antitrypsin  $\alpha$ 1-AT)等,均与疾病活动度相关。

CRP主要调理炎症部位的反应和对抗创伤及感染部位释放的溶蛋白酶的有害作用等,是机体对细菌感染和损伤的急性时相反应蛋白。其半衰期短,血清浓度在IBD炎症早期即升高,缓解后迅速下降,故可及时反映患者临床状态,是一种对IBD诊断、疾病活动性、治疗疗效均有意义的生物活性标志物<sup>[50-53]</sup>。但CRP产生不只受炎症刺激,也受感染、组织坏死、瘤、压力等影响,在疾病中广泛存在,缺少特异性。

血沉(ESR)作为实验室常规检查,可快速粗略地反映急性相血浆蛋白浓度的改变。作为急性时相蛋白,少受其他因素影响,可以保持一个稳定水平,因而全面反应IBD的活动性,是临床工作中应用最广泛的指标<sup>[54]</sup>。虽然在IBD患者活动期明显升高,但对于活动期严重程度无明显特异性,且半衰期长,受年龄、贫血、吸烟、饮酒等诸多因素影响而限制了他的使用<sup>[55]</sup>。

**2.2.2 血小板参数** 近年来许多研究表明,在IBD患者体内存在血液高凝状态,血栓发生的危险性增加,提示微血栓的形成可能是IBD的重要发病机制之一,同时IBD亦是血栓栓塞性疾病发生的独立危险因素<sup>[56]</sup>。有研究已经证实作为血小板激活标志的p选择素和GP53在IBD患者中显著升高。IBD患者(无论活动期还是非活动期)与非IBD组的患者相比,血小板球蛋白与血小板因子4均明显增高,且血小板计数,血小板球蛋白与血小板因子4与疾病活动指数成正相关<sup>[57]</sup>。Kapsoritakis等<sup>[58-60]</sup>研究显示,活动期IBD患者血小板平均容积(Mean platelet volume MPV)较健康对照和非活动期患者明显降低,血小板平均容积与红细胞沉降率、白细胞计数、血小板因子4和C反应蛋白均呈负相关,提示血小板平均容积可作为判断IBD疾病活动性的指标。Cabrera-Abreu等<sup>[61]</sup>使用血小板计数和血红蛋白评估IBD,特异性达80.0%,敏感性达90.8%,两者都较CRP、ESR高。越来越多的证据表明血小板参数是诊断IBD的有效指标,但血小板参数名目繁多,研究结果不一,且其存在于骨髓到外周血,对其炎症作用机制尚不清楚,所以临床应用需进一步研究。

**2.2.3 细胞因子** 细胞因子(cytokines, CK)是由抗原递呈细胞(antigen presenting cells, APCs)、T辅助细胞(T helper cell, Th)、调节性T细胞(regula-

tory T cells, Treg)等多种细胞产生的多肽或低分子糖蛋白. 主要包括白细胞介素(interleukin, IL)、干扰素- $\gamma$ (interferon gamma, INF- $\gamma$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )等. 他不仅在IBD的发病机制、治疗靶点, 亦在诊断方面被广为研究<sup>[62-64]</sup>. 依据他们在炎症反应中的作用不同可将其分为2类: 致炎细胞因子(IL-1、IL-6、IL-18、INF- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 等)和抗炎细胞因子(IL-4、IL-10、IL-13、TGF- $\beta$ 等).

目前研究较多的有IL-1、IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、IL-10、IL-13、INF- $\gamma$ 和TNF- $\alpha$ . IL-1由单核巨噬细胞, 自然杀伤(NK)细胞和B细胞产生, IL-1 $\beta$ 是IL-1的主要活性形式<sup>[65]</sup>. Ashwood等<sup>[66]</sup>研究表明UC患者肠道病变组织IL-1 $\beta$ 水平显著升高, 急性期时IL-1 $\beta$ 分泌增多, 缓解期则否, 故能反映疾病的活动度. Nielsen等<sup>[67]</sup>发现, CD患者血浆IL-6的水平与C反应蛋白(CRP)和白蛋白的水平显著相关, UC患者血浆和唾液中IL-6的水平与活性指数(AI)评分、白蛋白水平显著相关. 说明IBD患者的唾液中存在IL-6, 证明胃肠道向口腔延伸的关系, 检测IL-6可能是监测和评价IBD疾病活动度的方法之一.

另外IL-4、IL-17、IL-23、IL-21、TNF- $\alpha$ 、INF- $\gamma$ 也在炎症性肠病的发生发展中起重要作用, 可进一步研究其在诊断和评价活动性、预后方面的作用. 但在疾病的炎症过程中, 单一细胞因子仅是片刻作用, 更多情况下是多因子共同作用的结果<sup>[67]</sup>. 因此尚需更多研究多因子联合检测对炎症性肠病的诊断的意义.

**2.2.4 细胞黏附分子** 细胞黏附分子(cell adhesion molecules, CAMs)由免疫细胞、内皮细胞表达, 而内皮细胞释放的CAMs在肠黏膜局部发挥作用. 循环CAMs包括可溶性细胞间CAM(soluble intercellular CAM-1, sICAM-1, CD54)、血管CAM(soluble vascular CAM-1, sVCAM-1, CD44)、sE-选择素、sP-选择素. 这4种CAMs在内皮细胞膜血管腔面均有表达. IBD患者炎性肠黏膜中sICAM-1增多, 且与血液中sICAM浓度相关<sup>[68]</sup>. UC患者sP-选择素浓度较正常人明显升高, 且与疾病严重程度、预后有关<sup>[69]</sup>. 活动性IBD患者血浆sE-选择素增多, 并与C反应蛋白水平相关. Arijis等<sup>[70]</sup>通过研究61例IBD患者应用英夫利昔单抗治疗前后因子变化, 发现未治疗前CAMs在IBD患者肠黏膜表达上调, 而治疗后显著下

降, 故认为其可作为IBD诊断及判定疗效的有效指标. 但因CAMs量在IBD与正常对照组、UC与CD、IBD活动期及缓解期均有很大重叠, 且测量方法较复杂, 故CAMs作为IBD活动性的分子标志物应用受限<sup>[70]</sup>.

**2.2.5 其他因子** IBD表现为肠道长期慢性炎症反应, 肠壁组织反复损伤和修复所致的肠腔瘢痕乃至狭窄是IBD的严重并发症. 目前, 有关IBD肠壁纤维化的研究日益引起重视. 表层黏蛋白、IV型胶原、透明质酸和III型前胶原氨基端肽的变化是目前临床常用的纤维化检测指标<sup>[71]</sup>. IBD患者血清层黏蛋白水平增高, IV型胶原水平降低, 可能成为肠壁组织炎症和修复的间接标志物, 血清水平可间接反映IBD疾病活动度, 但具体机制需进一步研究.

血清a2-巨球蛋白(a2-Macroglobulin a2-AMG)、 $\beta$ 2-微球蛋白( $\beta$ 2-MG)水平升高常提示病变呈活动性<sup>[72]</sup>, 但需进一步研究支持. 白蛋白、新喋呤也被研究证实与IBD活动性有关, 但缺乏特异性.

### 3 结论

大多数IBD的患者都要经历由活动性转为慢性再而复发的恶性循环病程, 所以如何早期发现, 并进行规律治疗不仅影响疾病的预后, 还关系着患者的生存质量. 但由于其临床表现多样, 缺乏特异性和敏感性均高的临床检测手段, 故而给临床医师的判断带来一定困难. 生物活性标志物在此方面具有绝对优势.

IBD的各种生物活性标志物可分为血清学标志物、粪便标志物及混合性标志物. 这些标志物中CRP、ESR、细胞因子、ANCA、ASCA及粪便中的钙卫蛋白、乳铁蛋白已广为被研究并逐步开始应用于临床; 而血小板参数、血清纤维化指标、细胞黏附分子、GAB、PAB、ALCA、ACCA及粪便中的MPO、 $\alpha$ 1-AT等也逐步被大家认识. 这些标志物或单独检测或联合研究对IBD的诊断及活动度判定有一定意义, 但也存在敏感性、特异性以及临床适用性等方面的不足. 目前还没有一种标志物或联合应用方案能有效的评估IBD. 为满足于以下几个方面的需求: (1)区分CD与UC, IBD与非IBD; (2)评估IBD的活动性; (3)预测IBD的风险(包括手术及并发症); (4)评估治疗疗效; (5)预测复发. IBD的生物活性标志物仍需要向发现新的或联合应用两个方面进一步发掘.

### ■名词解释

生物活性标志物: 用来监测和评价体内生物化学和生理改变的指标, 他必须独立、特异、敏感、非侵入性, 能反映疾病活动, 并能简单应用于临床.



## ■同行评价

文章囊括了近年来国内外在IBD生物活性标志物的研究中较为有意义的标志物,并从优缺点方面进行阐述;尤其是对鉴别UC与CD有重要意义的血清学抗体进行了详实的阐述,有利于学者总结研究成果,了解最新动态,并为深入研究应用提供参考。

## 4 参考文献

- Bernstein CN, Fried M, Krabshuis JH, Cohen H, Eliakim R, Fedail S, Gearry R, Goh KL, Hamid S, Khan AG, LeMair AW, Malfetheriner Q, Rey JF, Sood A, Steinwurz F, Thomsen OO, Thomson A, Watermeyer G. World Gastroenterology Organization Practice Guidelines for the diagnosis and management of IBD in 2010. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 112-124
- Beniwal P, Harrell L. The status of diagnostic markers for inflammatory bowel disease. *Curr Gastroenterol Rep* 2010; 12: 479-484
- Sandborn WJ. Serologic markers in inflammatory bowel disease: state of the art. *Rev Gastroenterol Disord* 2004; 4: 167-174
- Dubinsky M. Can serologic markers help determine prognosis and guide therapy? *Dig Dis* 2010; 28: 424-428
- Peyrin-Biroulet L, Standaert-Vitse A, Branche J, Chamaillard M. IBD serological panels: facts and perspectives. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 1561-1566
- Tamboli CP, Doman DB, Patel A. Current and future role of biomarkers in Crohn's disease risk assessment and treatment. *Clin Exp Gastroenterol* 2011; 4: 127-140
- Vaughan EJ, Koziol TH, Hitchcock K. What blood tests are helpful in diagnosing inflammatory bowel disease? *Evidence-Based Practice* 2010; 13: 6-7
- Bahari A, Aarabi M, Aarabi M, Hedayati M, Jarollahi A, Firouzi F, Aghazadeh R, Zali MR, Hashemi M. Diagnostic value of antineutrophil cytoplasmic antibodies and anti-Saccharomyces cerevisiae antibody in Iranian patients with inflammatory bowel disease. *Acta Gastroenterol Belg* 2009; 72: 301-305
- 高翔, 胡品津, 何瑶, 廖山婴, 彭穗, 陈旻湖. 炎症性肠病患者血清中自身抗体检测的临床意义. *中华内科杂志* 2005; 44: 428-430
- Pasha SF, Leighton JA. Novel Techniques in the Diagnosis of Inflammatory Bowel Disease. *Inflammatory Bowel Disease* 2011: 231-253
- Simondi D, Mengozzi G, Betteto S, Bonardi R, Ghignone RP, Fagoonee S, Pellicano R, Sguazzini C, Pagni R, Rizzetto M, Astegiano M. Antiglycan antibodies as serological markers in the differential diagnosis of inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 645-651
- Dotan I, Fishman S, Dgani Y, Schwartz M, Karban A, Lerner A, Weishauss O, Spector L, Shtevi A, Altstock RT, Dotan N, Halpern Z. Antibodies against laminaribioside and chitobioside are novel serologic markers in Crohn's disease. *Gastroenterology* 2006; 131: 366-378
- Ferrante M, Henckaerts L, Joossens M, Pierik M, Joossens S, Dotan N, Norman GL, Altstock RT, Van Steen K, Rutgeerts P, Van Assche G, Vermeire S. New serological markers in inflammatory bowel disease are associated with complicated disease behaviour. *Gut* 2007; 56: 1394-1403
- Desplat-Jégo S, Johanet C, Escande A, Goetz J, Fabien N, Olsson N, Ballot E, Sarles J, Baudon JJ, Grimaud JC, Veyrac M, Chamouard P, Humbel RL. Update on Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies, anti-nuclear associated anti-neutrophil antibodies and antibodies to exocrine pancreas detected by indirect immunofluorescence as biomarkers in chronic inflammatory bowel diseases: results of a multicenter study. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 2312-2318
- Joossens S, Vermeire S, Van Steen K, Godefridis G, Claessens G, Pierik M, Vlietinck R, Aerts R, Rutgeerts P, Bossuyt X. Pancreatic autoantibodies in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2004; 10: 771-777
- Lakatos PL, Altortay I, Szamosi T, Palatka K, Vitalis Z, Tumpek J, Sipka S, Udvardy M, Dinya T, Lakatos L, Kovacs A, Molnar T, Tulassay Z, Miheller P, Barta Z, Stocker W, Papp J, Veres G, Papp M. Pancreatic autoantibodies are associated with reactivity to microbial antibodies, penetrating disease behavior, perianal disease, and extraintestinal manifestations, but not with NOD2/CARD15 or TLR4 genotype in a Hungarian IBD cohort. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 365-374
- Lawrance IC, Hall A, Leong R, Pearce C, Murray K. A comparative study of goblet cell and pancreatic exocrine autoantibodies combined with ASCA and pANCA in Chinese and Caucasian patients with IBD. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11: 890-897
- Homsak E, Micetic-Turk D, Bozic B. Autoantibodies pANCA, GAB and PAB in inflammatory bowel disease: prevalence, characteristics and diagnostic value. *Wien Klin Wochenschr* 2010; 122 Suppl 2: 19-25
- Joossens S, Colombel JF, Landers C, Poulain D, Geboes K, Bossuyt X, Targan S, Rutgeerts P, Reinisch W. Anti-outer membrane of porin C and anti-I2 antibodies in indeterminate colitis. *Gut* 2006; 55: 1667-1669
- Wei B, Huang T, Dalwadi H, Sutton CL, Bruckner D, Braun J. Pseudomonas fluorescens encodes the Crohn's disease-associated I2 sequence and T-cell superantigen. *Infect Immun* 2002; 70: 6567-6575
- Sutton CL, Kim J, Yamane A, Dalwadi H, Wei B, Landers C, Targan SR, Braun J. Identification of a novel bacterial sequence associated with Crohn's disease. *Gastroenterology* 2000; 119: 23-31
- Mow WS, Vasiliasukas EA, Lin YC, Fleshner PR, Papadakis KA, Taylor KD, Landers CJ, Abreu-Martin MT, Rotter JL, Yang H, Targan SR. Association of antibody responses to microbial antigens and complications of small bowel Crohn's disease. *Gastroenterology* 2004; 126: 414-424
- Vernier G, Sendid B, Poulain D, Colombel JF. Relevance of serologic studies in inflammatory bowel disease. *Curr Gastroenterol Rep* 2004; 6: 482-487
- Papadakis KA, Yang H, Ippoliti A, Mei L, Elson CO, Hersherberg RM, Vasiliasukas EA, Fleshner PR, Abreu MT, Taylor K, Landers CJ, Rotter JL, Targan SR. Anti-flagellin (CBir1) phenotypic and genetic Crohn's disease associations. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 524-530
- Targan SR, Landers CJ, Yang H, Lodes MJ, Cong Y, Papadakis KA, Vasiliasukas E, Elson CO, Hersherberg RM. Antibodies to CBir1 flagellin define a unique response that is associated independently with complicated Crohn's disease. *Gastroenterology* 2005; 128: 2020-2028
- Seow CH, Stempak JM, Xu W, Lan H, Griffiths AM, Greenberg GR, Steinhart AH, Dotan N, Silverberg MS. Novel anti-glycan antibodies related to inflammatory bowel disease diagnosis and phenotype. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 1426-1434
- Rieder F, Schleder S, Wolf A, Dirmeier A, Strauch U, Obermeier F, Lopez R, Spector L, Fire E, Yarden J, Rogler G, Dotan N, Klebl F. Association of the novel

- serologic anti-glycan antibodies anti-laminarin and anti-chitin with complicated Crohn's disease behavior. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 263-274
- 28 Papp M, Altorjay I, Norman GL, Shums Z, Palatka K, Vitalis Z, Foldi I, Lakos G, Tumpek J, Udvardy ML, Harsfalvi J, Fischer S, Lakatos L, Kovacs A, Bene L, Molnar T, Tulassay Z, Miheller P, Veres G, Papp J, Lakatos PL. Seroreactivity to microbial components in Crohn's disease is associated with ileal involvement, noninflammatory disease behavior and NOD2/CARD15 genotype, but not with risk for surgery in a Hungarian cohort of IBD patients. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 984-992
  - 29 Dubinsky MC, Lin YC, Dutridge D, Picornell Y, Landers CJ, Farrior S, Wrobel I, Quiros A, Vasiliaskas EA, Grill B, Israel D, Bahar R, Christie D, Wahbeh G, Silber G, Dallazadeh S, Shah P, Thomas D, Kelts D, Hershsberg RM, Elson CO, Targan SR, Taylor KD, Rotter JL, Yang H. Serum immune responses predict rapid disease progression among children with Crohn's disease: immune responses predict disease progression. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 360-367
  - 30 Lewis JD. The utility of biomarkers in the diagnosis and therapy of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2011; 140: 1817-1826. e2
  - 31 Angriman I, Scarpa M, D'Incà R, Basso D, Ruffolo C, Polese L, Sturniolo GC, D'Amico DF, Plebani M. Enzymes in feces: useful markers of chronic inflammatory bowel disease. *Clin Chim Acta* 2007; 381: 63-68
  - 32 Gisbert JP, McNicholl AG. Questions and answers on the role of faecal calprotectin as a biological marker in inflammatory bowel disease. *Dig Liver Dis* 2009; 41: 56-66
  - 33 Konikoff MR, Denson LA. Role of fecal calprotectin as a biomarker of intestinal inflammation in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 524-534
  - 34 Schoepfer AM, Beglinger C, Straumann A, Trummer M, Vavricka SR, Bruegger LE, Seibold F. Fecal calprotectin correlates more closely with the Simple Endoscopic Score for Crohn's disease (SES-CD) than CRP, blood leukocytes, and the CDAI. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 162-169
  - 35 Costa F, Mumolo MG, Ceccarelli L, Bellini M, Romano MR, Sterpi C, Ricchiuti A, Marchi S, Bottai M. Calprotectin is a stronger predictive marker of relapse in ulcerative colitis than in Crohn's disease. *Gut* 2005; 54: 364-368
  - 36 Gisbert JP, Bermejo F, Pérez-Calle JL, Taxonera C, Vera I, McNicholl AG, Algaba A, López P, López-Palacios N, Calvo M, González-Lama Y, Carneros JA, Velasco M, Maté J. Fecal calprotectin and lactoferrin for the prediction of inflammatory bowel disease relapse. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 1190-1198
  - 37 Wagner M, Peterson CG, Ridefelt P, Sangfelt P, Carlson M. Fecal markers of inflammation used as surrogate markers for treatment outcome in relapsing inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 5584-5589; discussion 5588
  - 38 Bunn SK, Bisset WM, Main MJ, Golden BE. Fecal calprotectin as a measure of disease activity in childhood inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001; 32: 171-177
  - 39 García-Sánchez V, Iglesias-Flores E, González R, Gisbert JP, Gallardo-Valverde JM, González-Galilea A, Naranjo-Rodríguez A, de Dios-Vega JF, Muntané J, Gómez-Camacho F. Does fecal calprotectin predict relapse in patients with Crohn's disease and ulcerative colitis? *J Crohns Colitis* 2010; 4: 144-152
  - 40 Logan R. Faecal calprotectin for the diagnosis of inflammatory bowel disease. *BMJ* 2010; 341: c3636
  - 41 Gisbert JP, González-Lama Y, Maté J. [Role of biological markers in inflammatory bowel disease]. *Gastroenterol Hepatol* 2007; 30: 117-129
  - 42 Walker TR, Land ML, Kartashov A, Saslowsky TM, Lysterly DM, Boone JH, Rufo PA. Fecal lactoferrin is a sensitive and specific marker of disease activity in children and young adults with inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2007; 44: 414-422
  - 43 Buderus S, Boone J, Lysterly D, Lentze MJ. Fecal lactoferrin: a new parameter to monitor infliximab therapy. *Dig Dis Sci* 2004; 49: 1036-1039
  - 44 Sipponen T, Savilahti E, Kolho KL, Nuutinen H, Turunen U, Färkkilä M. Crohn's disease activity assessed by fecal calprotectin and lactoferrin: correlation with Crohn's disease activity index and endoscopic findings. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 40-46
  - 45 Masoodi I, Kochhar R, Dutta U, Vaishnavi C, Prasad KK, Vaiphei K, Kaur S, Singh K. Fecal lactoferrin, myeloperoxidase and serum C-reactive are effective biomarkers in the assessment of disease activity and severity in patients with idiopathic ulcerative colitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 1768-1774
  - 46 Silberer H, Küppers B, Mickisch O, Baniewicz W, Drescher M, Traber L, Kempf A, Schmidt-Gayk H. Fecal leukocyte proteins in inflammatory bowel disease and irritable bowel syndrome. *Clin Lab* 2005; 51: 117-126
  - 47 Kaiser T, Langhorst J, Wittkowski H, Becker K, Friedrich AW, Rueffer A, Dobos GJ, Roth J, Foell D. Faecal S100A12 as a non-invasive marker distinguishing inflammatory bowel disease from irritable bowel syndrome. *Gut* 2007; 56: 1706-1713
  - 48 Manolakis AC, Kapsoritakis AN, Georgoulas P, Tzavara C, Valotassiou V, Kapsoritaki A, Potamianos SP. Moderate performance of serum S100A12, in distinguishing inflammatory bowel disease from irritable bowel syndrome. *BMC Gastroenterol* 2010; 10: 118
  - 49 Sidler MA, Leach ST, Day AS. Fecal S100A12 and fecal calprotectin as noninvasive markers for inflammatory bowel disease in children. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 359-366
  - 50 Desai D, Faubion WA, Sandborn WJ. Review article: biological activity markers in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25: 247-255
  - 51 Vermeire S, Van Assche G, Rutgeerts P. C-reactive protein as a marker for inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2004; 10: 661-665
  - 52 Vermeire S, Van Assche G, Rutgeerts P. Laboratory markers in IBD: useful, magic, or unnecessary toys? *Gut* 2006; 55: 426-431
  - 53 Lewis JD. C-reactive protein: anti-placebo or predictor of response. *Gastroenterology* 2005; 129: 1114-1116
  - 54 Henriksen M, Jahnsen J, Lygren I, Stray N, Sauar J, Vatn MH, Moum B. C-reactive protein: a predictive factor and marker of inflammation in inflammatory bowel disease. Results from a prospective population-based study. *Gut* 2008; 57: 1518-1523
  - 55 Sabery N, Bass D. Use of serologic markers as a screening tool in inflammatory bowel disease com-

- pared with elevated erythrocyte sedimentation rate and anemia. *Pediatrics* 2007; 119: e193-e199
- 56 Osei-Bimpong A, Meek JH, Lewis SM. ESR or CRP? A comparison of their clinical utility. *Hematology* 2007; 12: 353-357
- 57 Danese S, Motte Cd Cde L, Fiocchi C. Platelets in inflammatory bowel disease: clinical, pathogenic, and therapeutic implications. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 938-945
- 58 Andoh A, Yoshida T, Yagi Y, Bamba S, Hata K, Tsujikawa T, Kitoh K, Sasaki M, Fujiyama Y. Increased aggregation response of platelets in patients with inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol* 2006; 41: 47-54
- 59 Kapsoritakis AN, Koukourakis MI, Sfiridaki A, Potamianos SP, Kosmadaki MG, Koutroubakis IE, Kouroumalis EA. Mean platelet volume: a useful marker of inflammatory bowel disease activity. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 776-781
- 60 Yüksel O, Helvacı K, Başar O, Köklü S, Caner S, Helvacı N, Abaylı E, Altıparmak E. An overlooked indicator of disease activity in ulcerative colitis: mean platelet volume. *Platelets* 2009; 20: 277-281
- 61 Cabrera-Abreu J, Davies P, Matek Z, Murphy M. Mean Platelet Volume may be Reflects the Disease Activity of Ulcerative Colitis. *Eur J Gen Med* 2010; 7: 259-263
- 62 Cabrera-Abreu JC, Davies P, Matek Z, Murphy MS. Performance of blood tests in diagnosis of inflammatory bowel disease in a specialist clinic. *Arch Dis Child* 2004; 89: 69-71
- 63 Strober W, Fuss IJ. Proinflammatory cytokines in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2011; 140: 1756-1767
- 64 Veerappan SG, O'Morain CA, Daly JS, Ryan BM. Review article: the effects of antitumour necrosis factor- $\alpha$  on bone metabolism in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 33: 1261-1272
- 65 Danese S, Semeraro S, Armuzzi A, Papa A, Gasbarrini A. Biological therapies for inflammatory bowel disease: research drives clinics. *Mini Rev Med Chem* 2006; 6: 771-784
- 66 Ashwood P, Harvey R, Verjee T, Wolstencroft R, Thompson RP, Powell JJ. Functional interactions between mucosal IL-1, IL-ra and TGF-beta 1 in ulcerative colitis. *Inflamm Res* 2004; 53: 53-59
- 67 Aleksandra Nielsen A, Nederby Nielsen J, Schmedes A, Brandslund I, Hey H. Saliva Interleukin-6 in patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 2005; 40: 1444-1448
- 68 Liaskou E, Karikoski M, Reynolds GM, Lalor PF, Weston CJ, Pullen N, Salmi M, Jalkanen S, Adams DH. Regulation of mucosal addressin cell adhesion molecule 1 expression in human and mice by vascular adhesion protein 1 amine oxidase activity. *Hepatology* 2011; 53: 661-672
- 69 Fantini MC, Monteleone G, Macdonald TT. New players in the cytokine orchestra of inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 1419-1423
- 70 Arijis I, De Hertogh G, Machiels K, Van Steen K, Lemaire K, Schraenen A, Van Lommel L, Quintens R, Van Assche G, Vermeire S, Schuit F, Rutgeerts P. Mucosal gene expression of cell adhesion molecules, chemokines, and chemokine receptors in patients with inflammatory bowel disease before and after infliximab treatment. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 748-761
- 71 Danese S, Semeraro S, Marini M, Roberto I, Armuzzi A, Papa A, Gasbarrini A. Adhesion molecules in inflammatory bowel disease: therapeutic implications for gut inflammation. *Dig Liver Dis* 2005; 37: 811-818
- 72 Koutroubakis IE, Petinaki E, Dimoulis P, Vardas E, Roussomoustakaki M, Maniatis AN, Kouroumalis EA. Serum laminin and collagen IV in inflammatory bowel disease. *J Clin Pathol* 2003; 56: 817-820

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

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

## • 消息 •

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

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

# 胃癌*Pdx1*启动子载体构建及其受DNA甲基化的调节

马娟, 刘庆华, 王蓓蓓, 廖山婴, 沙卫红, 王启仪

## ■背景资料

*Pdx1*即胰十二指肠同源异型基因1, 与胚胎消化道发育分化有关。我们前期研究已经报道*Pdx1*在胃癌中表达下调, 但何种潜在机制调节*Pdx1*在胃癌中的表达尚不明。

马娟, 王蓓蓓, 廖山婴, 沙卫红, 王启仪, 广东省人民医院 广东省医学科学院消化内科 广东省广州市 510080  
刘庆华, 中山大学附属第一医院肾内科 广东省广州市 510080  
马娟, 博士, 主治医师, 主要从事消化系统肿瘤的研究。  
国家自然科学基金资助项目, No. 81001112  
广东省自然科学基金资助项目, No. 9451008004002824  
作者贡献分布: 马娟与刘庆华对此文所作贡献均等; 此课题由马娟与王启仪设计; 主要研究内容由马娟与刘庆华操作完成; 研究所用部分新试剂及分析工具由沙卫红与廖山婴提供; 数据分析由马娟与王蓓蓓完成; 本论文写作由马娟完成, 刘庆华参与修改。  
通讯作者: 王启仪, 主任医师, 510080, 广东省广州市, 广东省人民医院/广东省医学科学院消化内科。mjlqh@163.com  
电话: 020-83827812  
收稿日期: 2011-09-27 修回日期: 2011-11-02  
接受日期: 2011-11-04 在线出版日期: 2011-11-08

## Construction of a reporter vector regulated by the *Pdx1* promoter and evaluation of the effect of DNA methylation on *Pdx1* promoter activity in gastric cancer cells

Juan Ma, Qing-Hua Liu, Bei-Bei Wang, Shan-Ying Liao, Wei-Hong Sha, Qi-Yi Wang

Juan Ma, Bei-Bei Wang, Shan-Ying Liao, Wei-Hong Sha, Qi-Yi Wang, Department of Gastroenterology and Hepatology, Guangdong General Hospital (Guangdong Academy of Medical Science), Guangzhou 510080, Guangdong Province, China

Qing-Hua Liu, Department of Nephrology, the First Affiliated Hospital of Sun Ya-sen University, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81001112; and the Natural Science Foundation of Guangdong Province, No. 9451008004002824

Correspondence to: Qi-Yi Wang, Professor, Department of Gastroenterology and Hepatology, Guangdong General Hospital (Guangdong Academy of Medical Sciences), Guangzhou 510080, Guangdong Province, China. mjlqh@163.com

Received: 2011-09-27 Revised: 2011-11-02

Accepted: 2011-11-04 Published online: 2011-11-08

## Abstract

**AIM:** To construct a reporter vector regulated by the *Pdx1* promoter to determine the effect of DNA methylation on the promoter activity of *Pdx1* gene.

**METHODS:** PCR amplification was performed to obtain nine potential *Pdx1* promoter frag-

ments, which were then cloned into the pGL3-basic vector to obtain recombinant pGL3-*Pdx1* constructs. Promoter activity of different *Pdx1* fragments in gastric cancer cells was detected by luciferase assay to identify the potential promoter area. The activity of the *Pdx1* promoter with or without SssI methylase treatment was also evaluated by luciferase assay.

**RESULTS:** Luciferase assay showed that three fragments (F383, F720 and F1039), all of which contained the F383 sequence, had stronger promoter activity than pGL3-basic control. The promoter activity of these three fragments decreased significantly after SssI methylase treatment (all  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** A luciferase reporter gene system containing the *Pdx1* promoter was successfully constructed. F383 is the potential core area of the *Pdx1* promoter. These results provide a basis for studying the epigenetic mechanism of *Pdx1* gene silencing in gastric cancer.

**Key Words:** Gastric cancer; Pancreatic duodenum homeobox 1; Promoter; Plasmid Construction; Methylation

Ma J, Liu QH, Wang BB, Liao SY, Sha WH, Wang QY. Construction of a reporter vector regulated by the *Pdx1* promoter and evaluation of the effect of DNA methylation on *Pdx1* promoter activity in gastric cancer cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(31): 3222-3228

## 摘要

**目的:** 构建胰十二指肠同源盒基因1 (pancreatic duodenum homeobox 1, *Pdx1*)启动子调控的荧光素酶基因表达载体, 筛选*Pdx1*启动子, 探讨*Pdx1*启动子活性受DNA甲基化的影响。

**方法:** 针对*Pdx1*基因启动子区域进行PCR扩增, 经限制性酶切法将扩增产物克隆至荧光素酶基因报告载体中, 构建pGL3-*Pdx1*重组质粒。荧光素酶检测法检测胃癌细胞中*Pdx1*各段报告基因的启动子活性, 并用DNA甲基化酶SssI处理胃癌细胞, 比较各报告基因的启动子活性变化。

## ■同行评议者

傅春彬, 主任医师, 吉化集团公司总医院一院消化内科



**结果:** 经过酶切和PCR法鉴定成功构建了9个携带*Pdx1*启动子的重组荧光素酶基因报告载体; 荧光素酶检测法显示与pGL3-basic比较, 含有F383的3个报告基因F383、F720和F1039有强启动子活性, 组间比较无显著性差异; 与对照组比较, SssI甲基化酶处理的F383、F720和F1039启动子活动明显降低( $P<0.05$ ).

**结论:** 成功获得由*Pdx1*启动子调控的荧光素酶基因表达载体, 并筛选出具有强启动子活性的3个报告基因(F383、F720和F1039), 且其启动子活性受DNA甲基化影响. 其中F383可能是*Pdx1*启动子核心, 这些结果为研究胃癌中*Pdx1*基因沉默的表现遗传学机制建立了基础.

**关键词:** 胃癌; 胰十二指肠同源异型基因1; 启动子; 载体构建; 甲基化

马娟, 刘庆华, 王蓓蓓, 廖山婴, 沙卫红, 王启仪. 胃癌*Pdx1*启动子载体构建及CpG甲基化对*Pdx1*启动子活性的影响. 世界华人消化杂志 2011; 19(31): 3222-3228

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3222.asp>

## 0 引言

*Pdx1*即胰十二指肠同源异型基因1(Pancreatic Duodenal homeobox 1), 编码胰十二指肠同源框蛋白1(pancreatic duodenal homeoprotein 1), 又称IPF-1、IDX-1、IUF-1, 属于同源异型基因ParaHox亚族转录因子的一员<sup>[1,2]</sup>, 位于染色体13q12.1上, 与胚胎消化道发育分化有关. 我们前期研究报道*Pdx1*基因在胃癌中表达下降<sup>[3,4]</sup>, 但相关机制尚不明确. 已知抑癌基因或肿瘤抑制因子启动子的DNA高甲基化与肿瘤发生发展密切相关<sup>[5]</sup>, 已有研究证实某些同源异型基因存在DNA甲基化并参与该基因在一系列肿瘤中的转录调节<sup>[6-13]</sup>, 然而胃癌中*Pdx1*启动子转录调控的表现遗传学修饰研究未见报道, 因此我们假设启动子CpG岛高甲基化抑制胃癌*Pdx1*基因表达. 为验证假设, 本研究构建*Pdx1*启动子报告基因载体, 并转染胃癌细胞, 初步探讨DNA甲基化对*Pdx1*启动子活性的影响, 用于进一步研究胃癌中*Pdx1*沉默的可能机制.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 人胃癌细胞AGS和TMK1购自美国ATCC细胞库(Manassas, VA); 质粒pGL3-basic购自Invitrogen公司; 大肠杆菌DH5 $\alpha$ 保存于本实验室. 质粒提取试剂盒、PCR产物回收试剂盒、限制性内切酶(XhoI和HindIII)、T4连接酶、CpG

Methyltransferase (M.SssI)(Cat.No.M0226S)酶分别购自美国New England Biolabs公司; DNA提取试剂盒(DNeasy<sup>®</sup> Blood & Tissue Kit, Cat. No.69504)购自美国QIAGEN GmbH公司; 基因组DNA的亚硫酸钠修饰试剂盒(Chemicon Cp-Genome<sup>™</sup> DNA Modification Kit, Cat.No.S7820)购自美国Chemicon公司; pGEM-T4载体(Cat. No.A3600)购自美国Promega公司.

### 1.2 方法

**1.2.1 *Pdx1*启动子荧光素酶报告基因载体的构建与鉴定:** (1)*Pdx1*基因启动子CpG岛预测和引物设计: 根据Promoter Database(<http://rulai.cshl.edu/cgi-bin/TRED/tred.cgi?process=home>)和MethPrimer(<http://www.urogene.org/methprimer/index1.html>), 获得*Pdx1*基因-2000 bp- +600 bp区域的启动子序列, 针对启动子序列的6个CpG岛(图1), 在线设计特异性引物(<http://frodo.wi.mit.edu/>), 由天恒科技有限公司Sigma-Aldrich技术合成(表1). (2)启动子基因扩增: 将胃癌细胞用含100 mL/LFBS的RPMI 1640培养基在37 °C, 50 mL/LCO<sub>2</sub>的培养箱中培养, 收集对数生长期细胞提取基因组DNA取基因组DNA模板2  $\mu$ L、Hot-start Taq DNA聚合酶0.2  $\mu$ L、上下游引物(10 pmol)各0.5  $\mu$ L、dNTP Mixture(2.5 mM) 0.5  $\mu$ L, 经95 °C预变性3 min; 94 °C变性 30 s, 56 °C退火30 s, 72 °C延伸45 s, 共40个循环; 72 °C补延伸10 min后, 分别获得9个扩增片段, 长度分别为345 bp、297 bp、383 bp、610 bp、720 bp、1039 bp、314 bp、283 bp、724 bp. 取10  $\mu$ L PCR扩增产物经2%琼脂糖凝胶电泳, 紫外线下观察, 凝胶成像系统成像(图2). (3)PCR产物与pGL3载体的构建与鉴定: 分别取上述PCR产物及pGL3-basic载体, 经Xho I 和HindIII双酶切后纯化回收. 取纯化后的pGL3-Basic载体1  $\mu$ L及PCR产物7  $\mu$ L混合, 45 °C孵育5 min; 随后加入T4连接酶和T4连接酶缓冲液(10x)各1  $\mu$ L, 混匀后置于16 °C温育16 h, 最终使各段启动子基因序列插入无启动子的pGL3-basic载体中. 再取5  $\mu$ L连接产物转化感受态大肠杆菌, 将转化后的克隆培养, 使用小量质粒抽提试剂盒抽提质粒, 4 °C保存. 使用Xho I 和HindIII双酶切法(图3)及PCR扩增法(图4)初步筛选阳性克隆, 最后经过基因测序挑选出构建成功的重组报告基因载体pGL3-F345、pGL3-F297、pGL3-F383、pGL3-F610、pGL3-F720、pGL3-F1039、pGL3-F314、pGL3-F283、pGL3-F724.

### ■ 研发前沿

表观遗传学是近年来的研究热点、重点, DNA甲基化是其重要组成部分. 抑癌基因或肿瘤抑制因子启动子的DNA高甲基化与肿瘤发生发展密切相关.

## ■相关报道

某些同源异型基因如CDX2、HOPX-beta、Hoxa9启动子甲基化与消化道肿瘤相关。

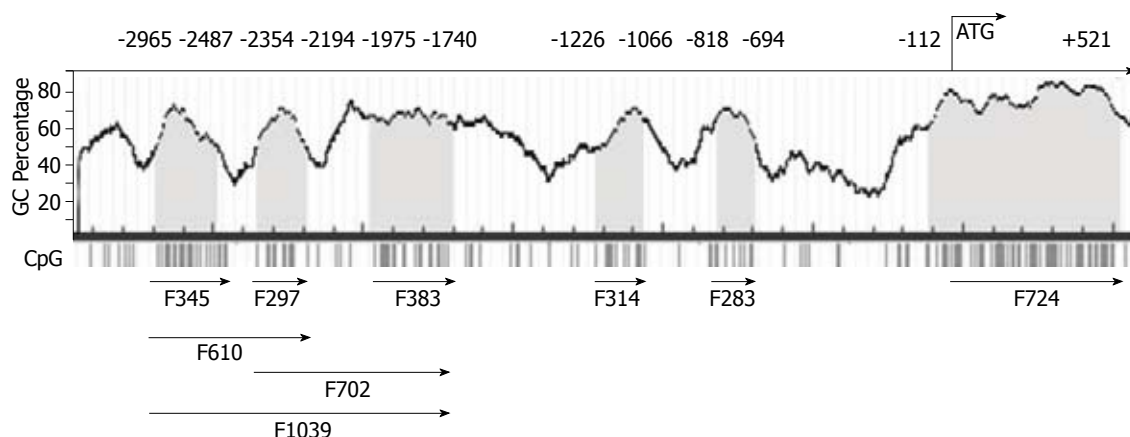


图 1 *Pdx1*启动子片段图谱。

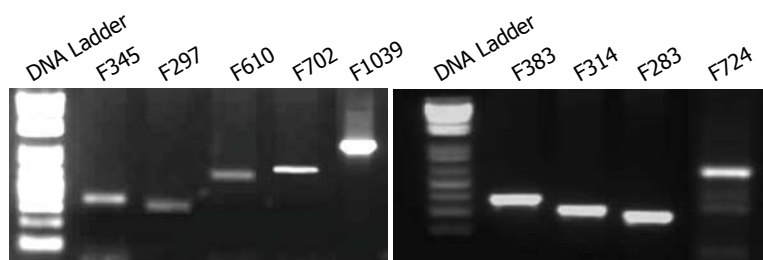


图 2 *Pdx1*启动子PCR扩增产物。

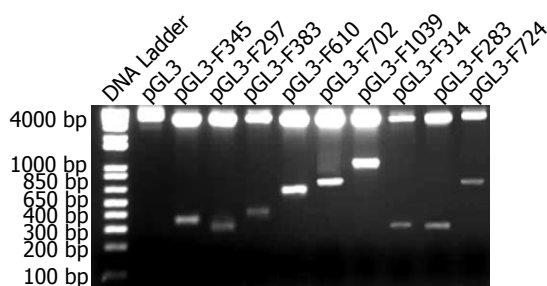


图 3 *Pdx1*启动子报告基因酶切法鉴定。

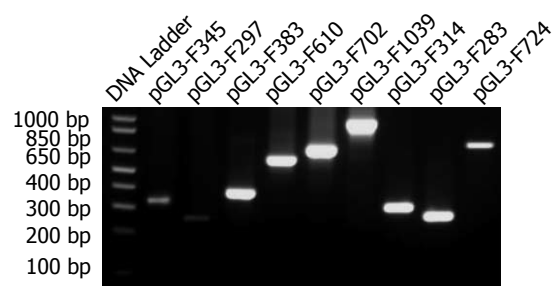


图 4 *Pdx1*启动子报告基因PCR法鉴定。

**1.2.2 *Pdx1*报告基因的瞬时转染:** (1)在转染前一天把约 $1 \times 10^6$ 细胞悬液种植到24孔板内,次日细胞能达到80%-90%满密度时,按照0.8  $\mu$ g质粒DNA: 2  $\mu$ L Lipofectamine 2000的比例转染空质粒pGL3和9个报告基因,同时每孔均转染内参照Renilla. 37  $^{\circ}$ C, 50 mL/LCO<sub>2</sub>环境下培养4 h后,吸除含有Lipofectamine-DNA的培养液。每孔加入1 mL含有10%FBS的新鲜RMPI 1640培养液继续培养24 h。每组3个复孔,独立重复实验3次。(2)为进一步观察*Pdx1*报告基因的启动子活性受DNA甲基化的影响,将报告基因经SssI甲基化酶泛甲基化处理后瞬时转染胃癌细胞,培养24 h,检测*Pdx1*报告基因的Luciferase活性。未经SssI酶处理的报告基因转染组是对照。

**1.2.3 *Pdx1*报告基因的启动子活性检测:** 转染

24 h后收集细胞,按照试剂盒Dual-Luciferase<sup>®</sup> Reporter Assay System(Cat.E1960)操作步骤,使用Lumat LB 9507光度计(Berthold Technologies GmbH & Co.KG, 德国)分别读取各组firefly萤光素酶活性值和内参Renilla的萤光素酶活性值。计算各报告基因的萤光素酶活性相对值,即firefly萤光素酶活性值/Renilla的萤光素酶活性值。每组3个复孔,独立3次试验。

**统计学处理** 计数资料用mean $\pm$ SD表示,组间比较用*t*-test,  $P < 0.05$ 认为有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 *Pdx1*启动子基因的克隆** 以胃癌细胞基因组DNA为模板,扩增9段报告基因,分别获得9个扩增片段, F345、F297、F383、F610、F720、

表 1 *Pdx1*启动子CpG岛基因片段的PCR扩增引物序列

部位(bp)	引物名称	引物序列	合成片段(bp)
-2965 - -2487	F345-I 1	L: <u>GCCTCGAGGTTAAATGGCTCGGGAAGGT</u> R: <u>CGAAGCTTTGCCTGCGACCTATAGAAGG</u>	345
-2354 - -2194	F297-I 2	L: <u>GCCTCGAGGCTCCCTGGGTCCCTTCTAT</u> R: <u>CGAAGCTTACCCCGGAGTGTTTACTTT</u>	297
-1975 - -1704	F383-I 3	L: <u>GCCTCGAG CGCAGACTGAGTCCAGAGTG</u> R: <u>CGAAGCTT CGGTGATTTCTTCAGGGAAA</u>	383
-2965 - -2194	F610-I 1/I 2	L: <u>GCCTCGAGGTTAAATGGCTCGGGAAGGT</u> R: <u>CGAAGCTTACCCCGGAGTGTTTACTTT</u>	610
-2194 - -1704	F702-I 2/I 3	L: <u>GCCTCGAGCTATAGGTCGCAGGCAGCAG</u> R: <u>CGAAGCTTCGGTGATTTCTTCAGGGAAA</u>	702
-2965 - -1704	F1039-I 1/I 2/I 3	L: <u>GCCTCGAGGTTAAATGGCTCGGGAAGGT</u> R: <u>CGAAGCTTCGGTGATTTCTTCAGGGAAA</u>	1039
-1226 - -1066	F314-I 4	L: <u>GCCTCGAG GCGGAGCAGTGATTTTCTC</u> R: <u>CGAAGCTT CATCTGTGCTTGGCTTCAAA</u>	314
-818 - -694	F283-I 5	L: <u>GCCTCGAG GCCCGTAGAGAGTCGTCAAG</u> R: <u>CGAAGCTT TGGCATTGCTTGTTGTTTTT</u>	283
-112 - +521	F724-I 6	L: <u>GCCTCGAG GTACCTGGGCCTAGCCTCTT</u> R: <u>CGAAGCTT TGAGAACCGGAAAGGAGAAA</u>	724

黑色下划线处为添加的限制性内切酶位点XhoI (GCCTCGAG)和HidIII(CGAAGCTT)。

F1039、F314、F283、F724(图1)。

**2.2 *Pdx1*启动子报告基因载体的鉴定** 9个扩增片段和pGL3-basic经T4连接酶连接并转化E.coli DH5a感受态细菌后得到重组*Pdx1*启动子报告基因质粒载体。再经Xho I 和HindIII双酶切和PCR扩增后,得到不同长度的片段,琼脂糖凝胶电泳结果显示和目的基因片段长度相符(图3, 4),最后经基因测序证实*Pdx1*启动子报告基因载体构建成功。

**2.3 *Pdx1*报告基因的启动子活性检测** 本研究选取*Pdx1*基因上游-2500 bp - +600 bp作为启动子区域,针对这个区域内存在的6个CpG岛,构建9个报告基因,将各报告基因载体转染胃癌AGS和TMK1细胞后,测定萤光素酶活性,筛选有启动子活性的报告基因。图5显示与空载体pGL3-basic比较,包含F383的3个重组载体F383、F720、F1039有着较强的启动子活性。TMK1细胞中, F383、F720和F1039启动子活性没有显著差异( $P>0.05$ ); AGS细胞中, F702和F1039启动子活性较F383明显增加( $P<0.05$ ),但F702和F1039两者之间无差异( $P>0.05$ )。F345、F297和F610有较弱的启动子活性,组间无差异性。F314、F283和F724则无启动子活性。

**2.4 *Pdx1*启动子活性受甲基化调节** 为进一步分析DNA甲基化对启动子活性的影响,将SssI泛甲

基化处理过的F383、F720和F1039转染TMK1细胞,继续培养24 h后,检测*Pdx1*报告基因的萤光素酶活性。结果显示与对照组比较, SssI组启动子活性明显降低( $P<0.05$ ),提示DNA甲基化抑制了*Pdx1*启动子活动(图6)。

### 3 讨论

同源异型基因(homeotic gene)是一类包含同源框即183个氨基酸序列(homeobox)的调节基因,能够编码有转录因子功能的同源异型蛋白(homeoproteins)。同源异型基因对于胚胎逐级分化并维持自身在成年组织的表达模式有着重要作用<sup>[14]</sup>,其异常表达与消化道肿瘤关系密切。*CDX1*和*CDX2*正常表达于小肠,但在重度异型增生和肠型胃癌组织中表达上调<sup>[15,16]</sup>,在食管鳞癌和结肠癌中表达下调<sup>[6,7,17]</sup>,*SOX2*在食管鳞癌组织中的表达水平显著高于正常黏膜组织<sup>[18]</sup>,*IRX1*在胃癌中表达缺失或下降<sup>[19]</sup>,*PBX2*在胃腺癌和食管鳞状细胞癌中高表达,可能通过抑制凋亡促进肿瘤生长<sup>[20]</sup>。

*Pdx1*属于同源异型基因亚族ParaHox家族成员<sup>[2]</sup>,与胚胎发育分化有关。小鼠胚胎发育至第8.5天,消化道的背细胞内开始出现*Pdx1*的表达,第9天十二指肠、背胰芽和腹胰芽细胞内也有*Pdx1*的表达,胚胎发育第17.5天直至小鼠出生

### ■创新盘点

目前国内外关于*Pdx1*在胃癌中的研究甚少,本研究成功构建*Pdx1*启动子载体,并初步验证*Pdx1*启动子活性受DNA甲基化抑制。

## ■应用要点

成功构建*Pdx1*启动子, 筛选出最强活性的启动子片段, 且进一步探讨了*Pdx1*启动子活性受DNA甲基化的影响, 为进一步深入研究胃癌*Pdx1*基因表达沉默的表观遗传学机制奠定基础。

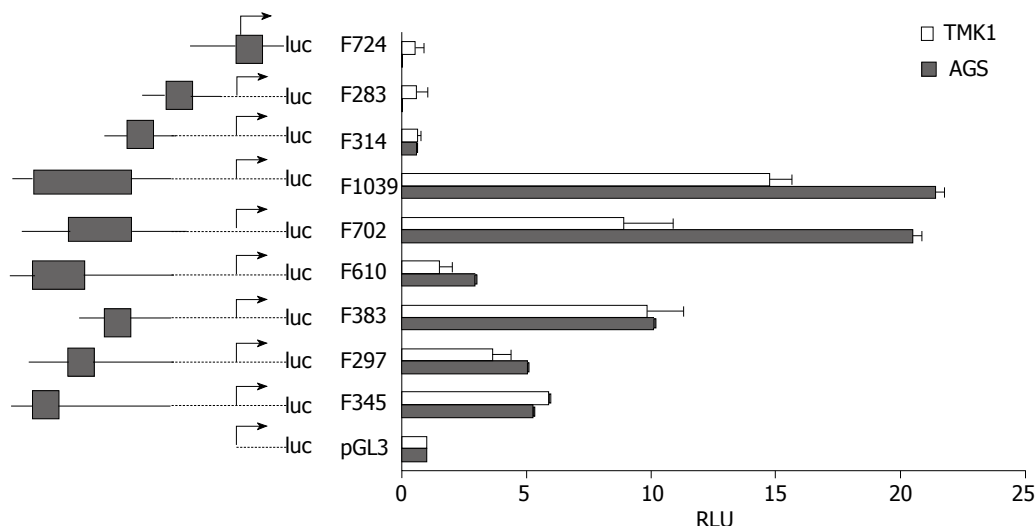


图 5 *Pdx1*报告基因启动子活性检测。

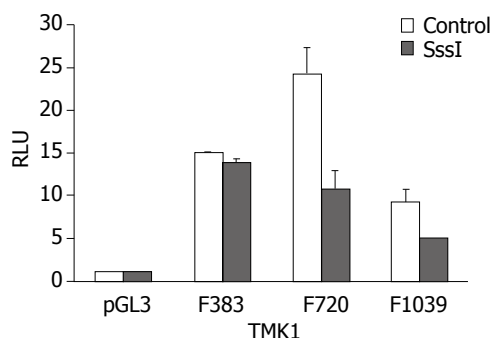


图 6 *Pdx1*启动子活性受DNA甲基化的影响。

后, *Pdx1*基因则主要表达于胰脏内分泌腺的 $\beta$ 细胞和十二指肠绒毛上皮的Brunner氏腺体, 胃窦内分泌腺细胞<sup>[21,22]</sup>. *Pdx1*在调控胰腺发育及胰内分泌腺 $\beta$ -细胞胰岛素基因方面起着关键作用<sup>[23,24]</sup>, *Pdx1*基因的纯合子缺失、突变会导致小鼠胰腺无法形成<sup>[23]</sup>. *Pdx1*基因的异常表达亦与胃的分化发育和病理过程有关. Offield等<sup>[25]</sup>曾报道*Pdx1*基因敲除小鼠的胃十二指肠接合处难以发育成熟, 影响正常胃排空, 导致小鼠胃潴留. Faller等<sup>[26]</sup>则报道*Pdx1*表达与胃黏膜萎缩及化生的免疫学和形态学有关, Sakai等<sup>[27]</sup>在胃假幽门腺体及胃肿瘤中检测到*PDX1*蛋白的表达. 我们的前期研究进一步报道了*Pdx1*基因及蛋白在胃癌中表达下调甚至缺失的模式, 并发现转染*Pdx1*正义表达载体后, 胃癌细胞的增殖、侵袭和成瘤能力均受到抑制<sup>[3,28]</sup>, 提示*Pdx1*基因可能是胃癌的肿瘤抑制因子, 抑制了胃癌的发生发展. 但胃癌*Pdx1*基因表达下调的转录调控机制尚不明了。

表观遗传学(Epigenetics)就是不改变基因本身的序列, 但是可以通过基因修饰、蛋白质与

蛋白质、DNA和其他分子的相互作用而影响和调节遗传基因的功能和特性, 并且通过细胞分裂和增殖周期影响遗传. 表观遗传学在维持正常细胞功能、遗传印记、胚胎发育以及人类肿瘤发生中起着重要作用, 是目前新的研究热点. DNA甲基化是表观遗传学的重要组成部分, 指由DNA甲基转移酶(DNMT)催化, 把S腺苷甲硫氨酸(SAM)的甲基转移到胞嘧啶5位碳原子上, 生成5甲基胞嘧啶(5-mc)的过程. 在脊椎动物中, 基因组中富含CpG二核苷酸的一段DNA即CpG岛是DNA甲基化发生的主要位点, 常位于转录调控区附近. 启动子CpG岛高甲基化可导致抑癌基因的表达缺失, 与肿瘤的发生密切相关<sup>[5]</sup>. 近来研究报道某些homeobox基因存在DNA甲基化并参与该基因在一系列肿瘤中的转录调节. *CDX1*、*CDX2*在食管鳞癌及结肠癌中表达下调, 可能与启动子DNA甲基化相关<sup>[6,7]</sup>. *HOPX-beta*启动子甲基化在胃癌中是频发和肿瘤特异性的, 预示着*HOPX-beta*可能是临床肿瘤进展的潜在标记物<sup>[8]</sup>. *Hoxa1*基因在肝外胆管癌的癌前病变中存在DNA高甲基化<sup>[9]</sup>. *Hoxa9*基因启动子在肝细胞癌(HCC)组织中高甲基化<sup>[10,29]</sup>. 更有研究观察不同表观遗传调节药物对homeobox基因表达的影响. Li等<sup>[11]</sup>研究报道药物地西他滨(5-aza-2'-deoxycytidine, DAC)、三氧化二砷(ATO)和MS-275通过重叠和单独的表观遗传学分子机制上调*Rho5*同源基因表达. 尚有研究探讨胃癌中homeobox基因通过表观遗传学机制调节相关信号通路. Mutoh等<sup>[12]</sup>报道*Cdx2*转基因鼠的肠化生黏膜中, *Shh*启动子不是高甲基化的, 但*Cdx2*可直接结合*Shh*启动子的TATA盒区域, 从而下调*Shh*转录表



达. Palakurthy等<sup>[13]</sup>研究报道*HOXB3*可结合*Dnmt3b*基因并上调*DNMT3B*表达, *DNMT3B*又可结合*Rassfla*启动子, 从而导致*Rassfla*甲基化及表达沉默. 然而关于胃癌中*Pdx1*基因表达下调的潜在表观遗传学机制尚未见研究报道. 故我们推测启动子CpG岛甲基化参与胃癌*Pdx1*基因表达下调, 为验证假设, 本研究构建*Pdx1*启动子报告基因, 确定*Pdx1*启动子区域, 初步探讨DNA甲基化对*Pdx1*启动子转录活性的调节作用.

*Pdx1*基因有3处具有转录活性的部位, 即-2839 bp - -2521 bp (Area I)、-2252 bp - -2023 bp (Area II)和-1939 bp - -1664 bp (Area III)<sup>[30]</sup>. Wiebe等<sup>[31]</sup>研究发现Area III可由*Ptfla*结合激活, 进而调节早期胰腺的*Pdx1*表达, 更进一步证明了Area III的重要性. Vanvelkinbur等<sup>[32]</sup>则研究报道Area I 和Area II 可形成复合体调节*Pdx1*表达. 本研究选取*Pdx1*基因上游-2500 bp - +500 bp作为启动子区域, 针对这个区域内存在的6个CpG岛, 构建了9个报告基因, 结果显示构建的报告基因F345、F297和F383分别位于Area I、Area II 和Area III, F610、F702及F1039则分别包含Area I /Area II、Area II /Area III和Area I /Area II /Area III区域. luciferase检测显示含有F383的F383、F702和F1039有较强的启动子活性, 且在AGS细胞中, 与F383比较, F702和F1039启动子活性明显增加, 但F702和F1039两者之间无差异, 提示位于-1975 bp - -1704 bp处的F383可能是*Pdx1*启动子的核心区域, F297可能与F383有协同作用, 增加了*Pdx1*启动子活性, 提示Area III是*Pdx1*启动子区域, 且Area II 与Area III复合体能增加*Pdx1*启动子活性, 促进*Pdx1*转录, 进一步支持了Wiebe等<sup>[31]</sup>的研究结果. 但我们结果显示F345、F297有较弱的启动子活性, F610亦未显示出Area I /Area II 复合体对启动子活性的协同作用, 未能支持Vanvelkinbur等人的研究<sup>[32]</sup>.

本研究结果尚显示由CpG岛组成的F383、F702和F1039, 经SssI甲基化酶处理后, 启动子活性显著降低, 这提示F383、F702和F1039包含的CpG岛可能是转录功能区, DNA甲基化抑制了*Pdx1*启动子活性, 继而下调了*Pdx1*在胃癌中的表达, 这可作为一个间接证据支持*Pdx1*启动子CpG岛甲基化与其转录活性相关. 我们正在进一步进行胃癌组织和细胞中这些片段的DNA甲基化状态评估, 以期提供直接证据(数据未显示).

我们的研究结果为将来进一步研究可作用于*Pdx1*启动子的相关因子及研究*Pdx1*在胃癌发

生发展过程中的作用及机制奠定了实验基础.

## 4 参考文献

- 1 Barucca M, Olmo E, Canapa A. Hox and paraHox genes in bivalve molluscs. *Gene* 2003; 317: 97-102
- 2 Brooke NM, Garcia-Fernández J, Holland PW. The ParaHox gene cluster is an evolutionary sister of the Hox gene cluster. *Nature* 1998; 392: 920-922
- 3 Ma J, Chen M, Wang J, Xia HH, Zhu S, Liang Y, Gu Q, Qiao L, Dai Y, Zou B, Li Z, Zhang Y, Lan H, Wong BC. Pancreatic duodenal homeobox-1 (Pdx1) functions as a tumor suppressor in gastric cancer. *Carcinogenesis* 2008; 29: 1327-1333
- 4 Zhu S, Xia HH, Yang Y, Ma J, Chen M, Hu P, Gu Q, Liang Y, Lin H, Wong BC. Alterations of gastric homeoprotein expression in *Helicobacter pylori* infection, incisural antralisation, and intestinal metaplasia. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 996-1002
- 5 Esteller M. Cancer epigenomics: DNA methylomes and histone-modification maps. *Nat Rev Genet* 2007; 8: 286-298
- 6 Wong NA, Britton MP, Choi GS, Stanton TK, Bicknell DC, Wilding JL, Bodmer WF. Loss of CDX1 expression in colorectal carcinoma: promoter methylation, mutation, and loss of heterozygosity analyses of 37 cell lines. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 574-579
- 7 Guo M, House MG, Suzuki H, Ye Y, Brock MV, Lu F, Liu Z, Rustgi AK, Herman JG. Epigenetic silencing of CDX2 is a feature of squamous esophageal cancer. *Int J Cancer* 2007; 121: 1219-1226
- 8 Ooki A, Yamashita K, Kikuchi S, Sakuramoto S, Katada N, Kokubo K, Kobayashi H, Kim MS, Sidransky D, Watanabe M. Potential utility of HOP homeobox gene promoter methylation as a marker of tumor aggressiveness in gastric cancer. *Oncogene* 2010; 29: 3263-3275
- 9 Kim BH, Cho NY, Shin SH, Kwon HJ, Jang JJ, Kang GH. CpG island hypermethylation and repetitive DNA hypomethylation in premalignant lesion of extrahepatic cholangiocarcinoma. *Virchows Arch* 2009; 455: 343-351
- 10 Feng Q, Stern JE, Hawes SE, Lu H, Jiang M, Kiviat NB. DNA methylation changes in normal liver tissues and hepatocellular carcinoma with different viral infection. *Exp Mol Pathol* 2010; 88: 287-292
- 11 Li Q, Bartlett DL, Gorry MC, O'Malley ME, Guo ZS. Three epigenetic drugs up-regulate homeobox gene *Rhox5* in cancer cells through overlapping and distinct molecular mechanisms. *Mol Pharmacol* 2009; 76: 1072-1081
- 12 Mutoh H, Hayakawa H, Sashikawa M, Sakamoto H, Sugano K. Direct repression of Sonic Hedgehog expression in the stomach by *Cdx2* leads to intestinal transformation. *Biochem J* 2010; 427: 423-434
- 13 Palakurthy RK, Wajapeyee N, Santra MK, Gazin C, Lin L, Gobeil S, Green MR. Epigenetic silencing of the RASSF1A tumor suppressor gene through HOXB3-mediated induction of DNMT3B expression. *Mol Cell* 2009; 36: 219-230
- 14 Abate-Shen C. Deregulated homeobox gene expression in cancer: cause or consequence? *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 777-785
- 15 陈惠新, 陈旻湖, 宋鑫. 尾型同源盒转录因子2在胃癌癌变多阶段组织中的表达及其意义. *中华医学杂志* 2006; 86: 247-249

## ■名词解释

DNA甲基化是指由DNA甲基转移酶(DNMT)催化, 把S腺苷甲硫氨酸(SAM)的甲基转移到胞嘧啶5位碳原子上, 生成5甲基胞嘧啶(5-mc)的过程.

## ■同行评价

本文成功构建了 *Pdx1* 启动子载体, 并初步探讨了其甲基化状态与胃癌的关系, 为进一步研究胃癌机制奠定了基础, 文章有一定的创新性和科研价值。

- 16 林一帆, 王长洪, 刘杰, 胡家露, 宋福林, 陆宇平, 陈山泉, 杨卓. 胃癌与癌前病变Cdx2基因蛋白表达的意义. 世界华人消化杂志 2004; 12: 1971-1973
- 17 Bonhomme C, Duluc I, Martin E, Chawengsakso-phak K, Chenard MP, Kedinger M, Beck F, Freund JN, Domon-Dell C. The Cdx2 homeobox gene has a tumour suppressor function in the distal colon in addition to a homeotic role during gut development. *Gut* 2003; 52: 1465-1471
- 18 陈清江, 张明治. SOX2在食管鳞癌组织中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1698-1703
- 19 Guo X, Liu W, Pan Y, Ni P, Ji J, Guo L, Zhang J, Wu J, Jiang J, Chen X, Cai Q, Li J, Zhang J, Gu Q, Liu B, Zhu Z, Yu Y. Homeobox gene IRX1 is a tumor suppressor gene in gastric carcinoma. *Oncogene* 2010; 29: 3908-3920
- 20 Qiu Y, Song B, Zhao G, Deng B, Makino T, Tomita Y, Wang J, Luo W, Doki Y, Aozasa K, Morii E. Expression level of Pre B cell leukemia homeobox 2 correlates with poor prognosis of gastric adenocarcinoma and esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Oncol* 2010; 36: 651-663
- 21 Stoffers DA, Heller RS, Miller CP, Habener JF. Developmental expression of the homeodomain protein IDX-1 in mice transgenic for an IDX-1 promoter/lacZ transcriptional reporter. *Endocrinology* 1999; 140: 5374-5381
- 22 Guz Y, Montminy MR, Stein R, Leonard J, Gamer LW, Wright CV, Teitelman G. Expression of murine STF-1, a putative insulin gene transcription factor, in beta cells of pancreas, duodenal epithelium and pancreatic exocrine and endocrine progenitors during ontogeny. *Development* 1995; 121: 11-18
- 23 Gannon M, Gamer LW, Wright CV. Regulatory regions driving developmental and tissue-specific expression of the essential pancreatic gene Pdx1. *Dev Biol* 2001; 238: 185-201
- 24 Gu G, Dubauskaite J, Melton DA. Direct evidence for the pancreatic lineage: NGN3+ cells are islet progenitors and are distinct from duct progenitors. *Development* 2002; 129: 2447-2457
- 25 Offield MF, Jetton TL, Labosky PA, Ray M, Stein RW, Magnuson MA, Hogan BL, Wright CV. PDX-1 is required for pancreatic outgrowth and differentiation of the rostral duodenum. *Development* 1996; 122: 983-995
- 26 Faller G, Kirchner T. Immunological and morphogenic basis of gastric mucosa atrophy and metaplasia. *Virchows Arch* 2005; 446: 1-9
- 27 Sakai H, Eishi Y, Li XL, Akiyama Y, Miyake S, Takizawa T, Konishi N, Tatematsu M, Koike M, Yuasa Y. Pdx1 homeobox protein expression in pseudopyloric glands and gastric carcinomas. *Gut* 2004; 53: 323-330
- 28 马娟, 刘庆华, 沙卫红, 王启仪. Pdx1正义表达载体的构建及表达. 广东医学 2010; 31: 3030-3031
- 29 Shin SH, Kim BH, Jang JJ, Suh KS, Kang GH. Identification of novel methylation markers in hepatocellular carcinoma using a methylation array. *J Korean Med Sci* 2010; 25: 1152-1159
- 30 Gerrish K, Gannon M, Shih D, Henderson E, Stoffel M, Wright CV, Stein R. Pancreatic beta cell-specific transcription of the pdx-1 gene. The role of conserved upstream control regions and their hepatic nuclear factor 3beta sites. *J Biol Chem* 2000; 275: 3485-3492
- 31 Wiebe PO, Kormish JD, Roper VT, Fujitani Y, Alston NI, Zaret KS, Wright CV, Stein RW, Gannon M. Ptf1a binds to and activates area III, a highly conserved region of the Pdx1 promoter that mediates early pancreas-wide Pdx1 expression. *Mol Cell Biol* 2007; 27: 4093-4104
- 32 Van Velkinburgh JC, Samaras SE, Gerrish K, Artner I, Stein R. Interactions between areas I and II direct pdx-1 expression specifically to islet cell types of the mature and developing pancreas. *J Biol Chem* 2005; 280: 38438-38444

编辑 李军亮 电编 闫晋利

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

## • 消息 •

## WJG 成功通过评审被 PMC 收录

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

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

# SD大鼠自发性胰岛细胞癌伴多发性肝转移1例

柳云恩, 姚宝玉, 杨冬华, 王捷

柳云恩, 姚宝玉, 杨冬华, 王捷, 国家沈阳新药安全评价研究中心 辽宁省沈阳市 110141

作者贡献分布: 本文由姚宝玉负责病理诊断; 杨冬华提供相关材料; 柳云恩完成写作; 王捷进行修改指导。

通讯作者: 姚宝玉, 高级工程师, 110141, 辽宁省沈阳市, 国家沈阳新药安全评价研究中心. yaobaoyu@sinochem.com

收稿日期: 2011-08-12 修回日期: 2011-10-15

接受日期: 2011-10-28 在线出版日期: 2011-11-08

## Spontaneous islet cell carcinoma with multiple liver metastases in a Sprague-Dawley rat

Yun-En Liu, Bao-Yu Yao, Dong-Hua Yang, Jie Wang

Yun-En Liu, Bao-Yu Yao, Dong-Hua Yang, Jie Wang, National Research Center For New Drug Safety Evaluation (Shenyang), Shenyang 110141, Liaoning Province, China

Correspondence to: Bao-Yu Yao, Professor, National Research Center For New Drug Safety Evaluation (Shenyang), Shenyang 110141, Liaoning Province, China. yaobaoyu@sinochem.com

Received: 2011-08-12 Revised: 2011-10-15

Accepted: 2011-10-28 Published online: 2011-11-08

## Abstract

**AIM:** To analyze the biochemical and morphological characteristics of spontaneous islet cell carcinoma with multiple liver metastases in a Sprague-Dawley rat to provide a theoretical basis for the study of the disease.

**METHODS:** The animal was anesthetized with ether at the end of a carcinogenicity study. Blood samples were collected via the abdominal aorta and used for hematology and serum biochemistry. Meanwhile, the animal was subjected to detailed gross observation, and all abnormal tissue samples were taken for histopathology examination.

**RESULTS:** A pancreatic neoplasm measuring 4.0\*5.0 cm was noted in a 104-wk-old male Sprague-Dawley rat which was used as a control in a carcinogenicity study. The tumor cells were similar to normal islet cells, but showed a highly variable pattern. The tumor compressed and invaded into the vessels and adjacent tis-

sues. There were multiple foci of metastasis in portal areas and sinusoid of the liver. Neutrophil count ( $3.63 \times 10^9/L$ ) and neutrophil percentage (42.00%) were significantly higher than the normal reference ranges. Blood glycogen (2.07 mmol/L) was significantly lower than the normal reference range.

**CONCLUSION:** A spontaneous islet cell carcinoma with multiple liver metastases was diagnosed in a Sprague-Dawley rat.

**Key Words:** Sprague-Dawley rat; Spontaneous islet cell carcinoma; Metastasis; Liver

Liu YE, Yao BY, Yang DH, Wang J. Spontaneous islet cell carcinoma with multiple liver metastases in a Sprague-Dawley rat. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(31): 3237-3241

## 摘要

**目的:** 探讨SD大鼠罕见的自发性胰岛细胞癌伴多发性肝转移病例的生化表现和形态学特征, 为研究该疾病提供理论参考。

**方法:** 致癌试验结束后, SD大鼠乙醚麻醉, 进行腹主动脉采血, 所采血液用于血常规和血液生化相关指标的检测; 同时, 对SD大鼠进行仔细的大体观察, 并对病变组织进行取材, 制成病理切片, 进行形态学观察。

**结果:** 在致癌试验的104 wk, 雄性对照组SD大鼠胰腺上发现一个约为4.0\*5.0 cm大小的肿物。组织学检测发现, 肿瘤细胞与正常胰岛细胞类似, 但细胞排列方式多样, 肿瘤压迫并侵袭间质血管和周围被膜; 此外, 在肝脏血窦和汇管区也发现多个转移灶。血液学结果表明, 中性粒细胞绝对数(NEUT#:  $3.63 \times 10^9/L$ )和相对数(NEUT%: 42.00), 均显著高于同周龄雄性SD大鼠正常参考值范围( $1.13 \times 10^9$ - $2.55 \times 10^9/L$ , 16.01-27.77); 血糖(Glu: 2.07 mmol/L), 显著低于其同周龄雄性SD大鼠正常参考值范围(5.82-8.86 mmol/L)。

**结论:** 该肿瘤诊断为SD大鼠自发性胰岛细胞

## ■背景资料

不同种属/品系大鼠自发性胰岛细胞癌发病率非常罕见, 他通常仅表现为局部侵袭, 很少发生远处转移。

## ■同行评议者

陈钟, 主任医师, 南通大学附属医院普外科; 单云峰, 副主任医师, 温州医学院附属第一医院肝胆外科

## ■研发前沿

目前SD大鼠自发性胰岛细胞癌发病病因尚不清楚,如何制备该肿瘤转移模型是当前研究的热点之一。

癌伴多发性肝转移。

**关键词:** SD大鼠; 自发性胰岛细胞癌; 转移; 肝脏

柳云恩, 姚宝玉, 杨冬华, 王捷. SD大鼠自发性胰岛细胞癌伴多发性肝转移1例. 世界华人消化杂志 2011; 19(31): 3237-3241

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3237.asp>

## 0 引言

胰岛是胰腺的内分泌腺,一个胰岛的体积仅约为100-200  $\mu\text{m}$ ,但由于其分泌胰岛素和胰高血糖素等激素,负责调解机体血糖稳定和细胞代谢,因此,胰岛具有不可忽略的作用.在成年大鼠,胰岛约占胰腺重量的1%-2%<sup>[1]</sup>,正常胰岛细胞呈多角形,淡染,胞浆略嗜酸性,核圆形,胰岛细胞排列成索状,胰岛周围无包膜<sup>[2]</sup>.胰岛细胞瘤为人类少见的胰腺肿瘤,其中90%为良性肿瘤,10%为恶性肿瘤<sup>[3]</sup>.自发性胰岛细胞瘤在不同品系大鼠中发生率较低,老龄BN/Bi大鼠自发率约为11%-15%<sup>[4]</sup>,F344大鼠自发率不超过6%<sup>[5]</sup>,蒙古沙鼠的自发率为3.7%<sup>[6]</sup>.自发性胰岛细胞瘤在SD大鼠出现较晚,一般发生在17 mo后<sup>[7]</sup>,24 mo后发生率轻度增加.然而,BASF大鼠胰岛细胞瘤发生率未发现随时间增加的趋势<sup>[8]</sup>.胰岛细胞一般经过缓慢变化,逐渐由增生发展为腺瘤,最终发展成癌.因此,从细胞形态和组织结构上讲,胰岛细胞瘤很大程度上与正常起源的胰岛细胞类似.然而,关于不同种属自发性胰岛细胞瘤报道更是极为罕见,狒狒胰岛细胞瘤的发生率仅为0.3%<sup>[9]</sup>.CD小鼠胰岛细胞瘤发生率较低,且存在性别差异,雄性发病率为2.4%,而雌性仅为1%.与大鼠不同的是,人类胰岛细胞瘤发生率未发现性别差异,大鼠胰岛细胞瘤通常仅表现为局部侵袭,较少情况下可转移到肝、肺和骨<sup>[10]</sup>.迄今为止,关于SD大鼠自发性胰岛细胞瘤伴多发性肝转移的病例,国内尚未见报道。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** SPF级♂SD大鼠,104 wk,体质量689 g,是2年慢性/联合致癌试验对照组动物(编号:1029),购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司.引入时5 wk,观察及适应7 d后用于试验.在GLP试验体系下,动物饲养于悬吊式不锈钢饲养笼内,温度20℃-25℃,湿度50%±20%,照明为12 h明暗交替,噪音60 dB以下.动物饲料为全营养饲料,经60℃灭菌,由沈阳市于洪区前民动物饲养场提供.饮水经HT-R0500型净水系统制备,动物可自由摄食饮水.动物使用及试验过程接受本中心动物管理委员会(IACUC)的监督。

## 1.2 方法

**1.2.1 解剖及大体观察:**在试验的第104 wk进行解剖,解剖前对大鼠进行禁食禁水.乙醚麻醉后,进行腹主动脉采血,所采血液用于血常规和血液生化检测.解剖时对动物进行仔细的观察,发现在胰腺胃段和脾段有一个4.0\*5.0 cm大小的肿物,质硬,切面呈现多个出血点;肝脏表面有多个大小不等的白色斑点,其他脏器均未见异常.对胰腺和肝脏病变部位进行常规取材、脱水和包埋后,制成玻片,用于组织病理学诊断。

**1.2.2 血常规检查:**腹主动脉采血1-2 mL,全血用EDTA-K<sub>2</sub>抗凝,采集的血液在碎冰中或冰袋上保存,采用日本sysmex XT-2 000i自动血液分析仪测试.检测项目包括:红细胞总数(RBC)、血红蛋白浓度(HGB)、红细胞压积(HCT)、平均红细胞体积(MCV)、平均血红蛋白(MCH)、平均血红蛋白浓度(MCHC)、血小板总数(PLT)、白细胞总数(WBC)、淋巴细胞数(LYMPH)、单核细胞数(MONO)、中粒细胞数(NEUT)、嗜酸粒细胞数(EO)、嗜碱粒细胞数(BASO)、淋巴细胞百分率(LYMPH%)、单核细胞百分率(MONO%)、中粒细胞数百分率(NEUT%)、嗜酸粒细胞百分率(EO%)和嗜碱粒细胞百分率(BASO%)。

**1.2.3 血液生化检查:**用促凝剂/分离凝胶真空采血管腹主动脉采集血液1-5 mL,采集的血液在室温下放置5-10 min后置于冰袋上保存,采集后1 h内离心分离血清,用日立-7180型自动生化分析仪测定.检测项目包括:天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、碱性磷酸酶(ALP)、总胆固醇(CHO)、总胆红素(T-BIL)、总胆汁酸(TBA)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、球蛋白(GLB)、白/球(A/G)、尿素(UREA)、肌酐(CREA)、血糖(GLU)和甘油三酯(TG)。

**1.2.4 脏器称重:**使用BS300S-WEI型电子天平对脑、脾脏、心脏、肝脏、肺脏、肾脏、肾上腺和睾丸进行称重.所有称重脏器在称重时即可直接录入到“毒性病理1.0”软件中,并计算相应脏器的脏体比和脏脑比。

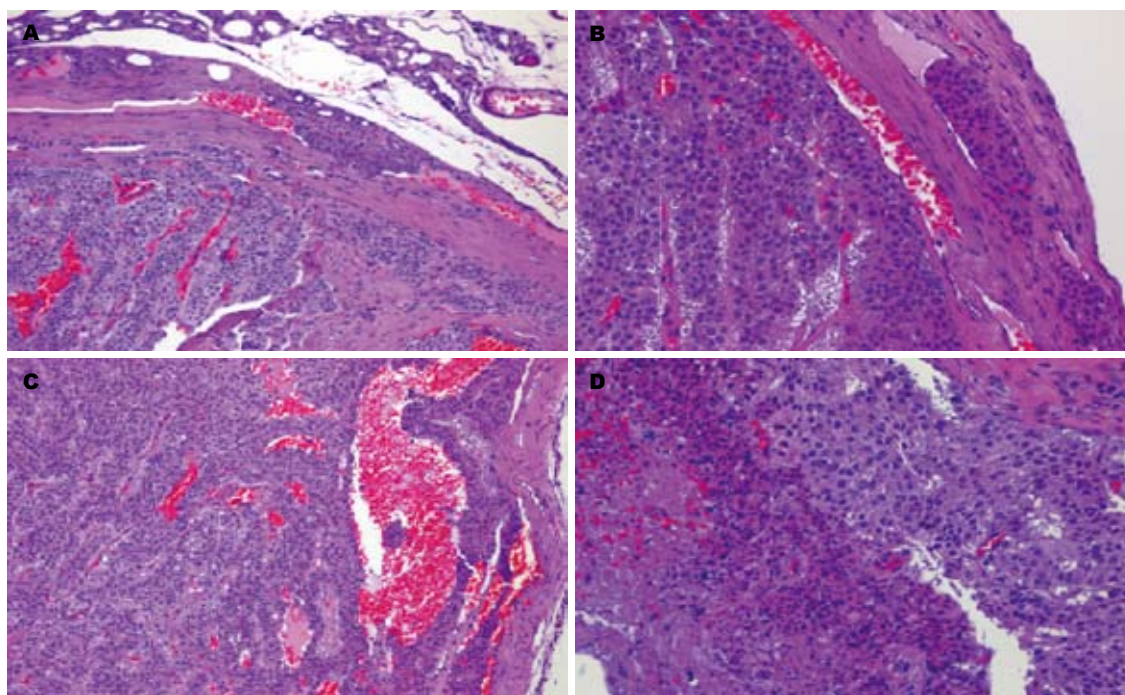
## 2 结果

**2.1 血液学结果** 中性粒细胞绝对数(NEUT#)和相对数NEUT(%)均显著高于其同周龄雄性SD大鼠95%参考值范围,其他参数未见异常变化(表1).血液生化各参数指标中,血糖Glu(2.07 mmol/L),显著低于其同周龄雄性SD大鼠95%参考值范围

## ■相关报道

国外关于胰岛细胞瘤的报道很多,不同种属或品系其发病率存在较大的差别。





## ■创新盘点

本文首次在国内详细介绍了SD大鼠罕见的自发性胰岛细胞癌伴多发性肝转移病例的血液生化指标变化及组织病理学特征。

图1 胰岛细胞癌。A: 肿瘤组织外包一层较厚的被膜, 肿瘤细胞压迫被膜(HE, ×100); B: 肿瘤细胞呈索状排列, 并侵袭到被膜内(HE, ×200); C: 肿瘤细胞排列多种多样, 呈岛状、索状、柱状和片状排列, 间质血窦充血明显(HE, ×100); D: 可见大片坏死组织, 在坏死组织内可见新生血管(HE, ×200)。

表1 SD大鼠血常规结果

动物号	检查指标	结果	95%参考值范围*
1029	WBC( $10^9/L$ )	8.65	5.83–11.94
	RBC( $10^{12}/L$ )	7.14	7.19–8.60
	HGB(g/L)	137.00	135.68–158.66
	PLT( $10^9/L$ )	1234.00	963.56–1284.66
	LYMPH(%)	66.90	62.41–75.05
	LYMPH#( $10^9/L$ )	4.06	3.86–7.98
	MONO(%)	8.20	3.86–9.78
	MONO#( $10^9/L$ )	0.88	0.30–1.08
	NEUT(%)	42.00*	16.01–27.77
	NEUT#( $10^9/L$ )	3.63*	1.13–2.55

\*95%参考值范围: 本单位109周龄雄性SD大鼠的血常规背景数据。

(5.82–8.86 mmol/L)。

2.2 脏器重量结果 SD大鼠脑、脾脏、心脏、肝脏、肺脏、肾脏、肾上腺和睾丸脏器绝对重量和脏器系数均未见明显变化。

2.3 病理组织学 肿瘤表面被覆一层较厚的、不规则被膜, 肿瘤细胞压迫并浸润被膜, 被膜外可见萎缩的外分泌胰腺组织残留(图1A); 肿瘤细胞呈索状排列, 细胞嗜酸性较强, 异型性不明显, 核分裂象少见, 在被膜内清晰可见侵袭的肿瘤细胞(图1B); 肿瘤细胞呈岛状、索状、柱状和片状排列, 血窦充血明显, 血管内可见散在的肿瘤

细胞团(图1C); 肿瘤组织局部可见大片坏死组织, 坏死组织内可见新生血管, 肿瘤细胞嗜碱性较强(图1D)。

在肝脏汇管区可见呈“玫瑰花环”状排列的肿瘤细胞转移灶, 花环内部可见扩张的血窦, 肿瘤右下角可见正常胆管(图2A); 肝脏血窦内可见另一处呈索状或柱状排列的转移灶, 间质血管少见(图2B); 肝脏内可见与正常胰岛细胞相似、呈岛状排列的细胞灶, 未见明显细胞异型性和核分裂象, 肿瘤细胞内可见散在的变性/坏死肝细胞, 肿瘤间质血管较少(图2C); 肝脏血窦内可见大片的肿瘤细胞转移灶, 肿瘤细胞排列多样, 呈柱状、岛状、索状, 肿瘤间质血管丰富(图2D)。

### 3 讨论

自发性胰岛细胞癌在不同种属/品系动物的发病率均非常罕见, 他通常仅表现为局部侵袭, 很少发生远处转移<sup>[1]</sup>。本研究在2年慢性/致癌试验104 wk雄性对照组胰腺发现一个约4.0\*5.0大小的肿物, 镜检发现该肿瘤细胞与正常胰岛细胞相似, 呈多角形, 淡染, 胞浆略嗜酸性, 核近圆形, 核分裂象少见; 但肿瘤细胞排列与正常细胞截然不同, 细胞排列方式多样, 呈柱状、岛状、索状等, 肿瘤间质血管丰富, 且肿瘤组织有一层不规则的被膜, 压迫并侵袭周围组织和间质血管。由此, 我们推测该肿瘤可能为胰岛细胞癌, 并极

### ■应用要点

通过本文对SD大鼠自发性胰岛细胞癌伴多发性肝转移病例的详细描述, 可以为研究该疾病动物模型的发病机制提供理论参考。

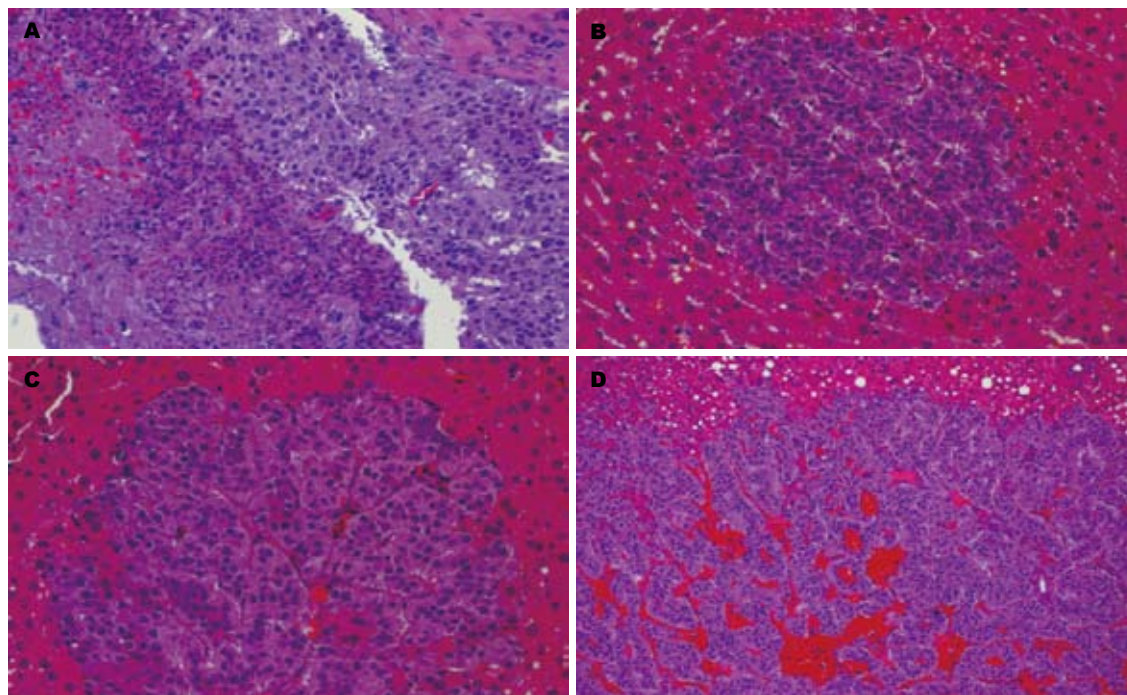


图2 胰岛细胞癌多发性肝转移。A: 在肝脏汇管区可见微小转移灶, 右下角可见正常胆管(HE,  $\times 100$ ); B: 另一个肿瘤细胞转移灶, 细胞呈索状或柱状排列(HE,  $\times 100$ ); C: 肿瘤细胞呈岛状, 肿瘤细胞与正常胰岛细胞相似(HE,  $\times 200$ ); D: 肿瘤细胞排列多样, 呈柱状、岛状、索状、肿瘤间质血管丰富(HE,  $\times 200$ )。

有可能发生了远处转移。转移是恶性肿瘤的主要特征之一, 也是导致动物死亡的主要原因<sup>[12]</sup>。癌以淋巴转移为主, 局部淋巴结是癌转移的主要场所, 晚期癌症以血液转移为主<sup>[13]</sup>。经过对肠系膜淋巴结、颌下淋巴结肝和肺等脏器进行仔细观察发现, 淋巴结中未发现转移的肿瘤细胞, 提示肿瘤可能不是以淋巴转移的方式播散为主。然而, 在肝脏血窦和汇管区发现了大小不等的转移灶, 这些细胞与胰岛细胞相似, 排列方式多样, 可以确定是胰岛细胞起源。参照国际公认的大鼠胰岛细胞癌的诊断标准<sup>[14]</sup>, 该肿瘤基本涵盖了胰岛细胞癌的所有特征。

大鼠免疫组化结果表明, 大多数胰岛细胞癌均产生胰岛素, 而分泌胰高血糖素和生长抑素的细胞较少, 且散在分布在肿瘤周边<sup>[15]</sup>。人体内胰岛素和胰高血糖素共同调解体内血糖的稳定, 当机体发生胰岛细胞癌, 胰岛素水平升高, 通常伴随着血糖水平降低<sup>[15]</sup>。大鼠绝大多数胰岛细胞癌均以B细胞瘤为主<sup>[16]</sup>, 然而, 关于大鼠产生的胰岛素是否与人类相似, 是否具有与人类相同的生物活性尚不清楚。本研究发现大鼠血糖水平( $2.07 \text{ mmol/L}$ )显著低于其相同周龄SD雄鼠95%参考值范围( $5.82\text{--}8.86 \text{ mmol/L}$ ), 结果提示大鼠胰岛素功能可能与人类相似, 具有降低血糖的作用。本例虽为SD大鼠自发性胰岛细胞癌的

动物模型, 似有偶发性, 为不可重复性实验, 但研究发现静脉内给予SD大鼠 $5 \text{ mg/kg}$ 浓度的4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide(4HAQO), 4次/wk, 可诱导6/44(26%)的动物发生胰岛细胞癌<sup>[17]</sup>, 这是建立SD大鼠胰岛细胞癌模型的可靠方法, 可用于该肿瘤相关致病机制的研究。

恶性肿瘤晚期病人常表现为极度消瘦衰竭, 然而, 本研究发现患胰岛细胞癌的SD大鼠未见明显消瘦, 其体质量在同周龄雄鼠的正常参考范围内; 此外, 大鼠脑、脾脏、心脏、肝脏、肺脏、肾脏、肾上腺和睾丸等绝对重量均在正常范围内, 血液学指标中仅仅中性粒细胞水平显著增高, 这提示体内可能存在急性炎症反应。由于肿瘤细胞生长过快, 导致血液供应相对减少, 部分胰岛细胞发生了变性坏死, 在趋化作用下中性粒细胞到达局部组织, 吞噬和消化这些坏死组织; 而血管内中性粒细胞减少, 又极大的刺激了机体的造血机能, 导致中性粒细胞水平升高。因此, 针对上述结果, 我们推测人类和大鼠对恶性肿瘤的耐受程度可能存在着种群间差异, 其原因有待查明。

## 4 参考文献

- 1 Whittaker P, Hines FA, Robl MG, Dunkel VC. Histopathological evaluation of liver, pancreas, spleen, and heart from iron-overloaded Sprague-Dawley



- rats. *Toxicol Pathol* 1996; 24: 558-563
- 2 Minakawa K, Oka K, Nihei T, Sando N, Oikawa H, Toda J, Hosokawa Y, Matsumoto T, Yanagisawa A. Pancreatic endocrine tumor with partial acinar cell differentiation. *APMIS* 2006; 114: 720-725
- 3 Service FJ, McMahon MM, O'Brien PC, Ballard DJ. Functioning insulinoma--incidence, recurrence, and long-term survival of patients: a 60-year study. *Mayo Clin Proc* 1991; 66: 711-719
- 4 Burek D. Pathology of Aging Rats: a morphological and experimental study of the age-associated lesions in aging BN/Bi, WAG/Rij, and (WAG × BN)F<sub>1</sub> rats. 1th ed. West Palm Beach: CRC Press Inc, 1978: 1-220
- 5 Coleman GL, Barthold W, Osbaldiston GW, Foster SJ, Jonas AM. Pathological changes during aging in barrier-reared Fischer 344 male rats. *J Gerontol* 1977; 32: 258-278
- 6 Rowe SE, Simmons JL, Ringler DH, Lay DM. Spontaneous neoplasms in aging Gerbillinae. A summary of forty-four neoplasms. *Vet Pathol* 1974; 11: 38-51
- 7 Dillberger JE. Age-related pancreatic islet changes in Sprague-Dawley rats. *Toxicol Pathol* 1994; 22: 48-55
- 8 Tennekes H, Gembardt C, Dammann M, van Ravenzwaay B. The stability of historical control data for common neoplasms in laboratory rats: adrenal gland (medulla), mammary gland, liver, endocrine pancreas, and pituitary gland. *Regul Toxicol Pharmacol* 2004; 40: 18-27
- 9 Guardado-Mendoza R, Dick EJ, Jimenez-Ceja LM, Davalli A, Chavez AO, Folli F, Hubbard GB. Spontaneous pathology of the baboon endocrine system. *J Med Primatol* 2009; 38: 383-389
- 10 Majeed SK. Studies of the incidence of spontaneous pancreatic tumours in ageing CD rats. *Arzneimittelforschung* 1997; 47: 879-884
- 11 Kelley LC, Harmon BG, McCaskey PC. A retrospective study of pancreatic tumors in slaughter cattle. *Vet Pathol* 1996; 33: 398-406
- 12 Gupta GP, Massagué J. Cancer metastasis: building a framework. *Cell* 2006; 127: 679-695
- 13 Nathanson SD. Insights into the mechanisms of lymph node metastasis. *Cancer* 2003; 98: 413-423
- 14 Riley MG, Boorman GA, McDonald MM. Proliferative and metaplastic lesions of the endocrine pancreas in rat. In: *guides for Toxicologic Pathology. STP/ARP/AFIP, Washington DC: 1990*
- 15 Longnecker DS. Environmental factors and diseases of the pancreas. *Environ Health Perspect* 1977; 20: 105-112
- 16 Stromberg PC, Wilson F, Capen CC. Immunocytochemical demonstration of insulin in spontaneous pancreatic islet cell tumors of Fischer rats. *Vet Pathol* 1983; 20: 291-297
- 17 Imazawa T, Nishikawa A, Shibutani M, Ogasawara H, Furukawa F, Ikeda T, Suda K, Hirose M. Induction of pancreatic islet cell tumors in rats by repeated intravenous administration of 4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide. *Toxicol Pathol* 2001; 29: 320-327

#### ■同行评价

本文详细介绍了SD大鼠罕见的自发性胰岛细胞癌伴多发性肝转移的病理特征,对临床指导该病的诊治提供了很好的参考依据。

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

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

#### • 消息 •

### 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.625

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

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

## 溃疡性结肠炎模型的建立及影响因素

侯丽娟, 唐方, 王晓红, 孙晓萍

### ■背景资料

迄今为止, 国内外已经报道了多种对溃疡性结肠炎模型的建立方法, 其中应用50 mL/L TNBS与乙醇混合液建立大鼠溃疡性结肠炎模型优势最多, 简单易行、重复性好、价廉, 且组织学与人类溃疡性结肠炎相似。

侯丽娟, 唐方, 王晓红, 孙晓萍, 天津医科大学总医院中医科 天津市 300052

作者贡献分布: 侯丽娟与唐方对此文所作贡献均等; 此课题由侯丽娟、唐方、王晓红及孙晓萍设计; 研究过程由侯丽娟、唐方、王晓红及孙晓萍操作完成; 研究所有试剂由唐方提供; 数据分析由侯丽娟与唐方完成; 本论文写作由侯丽娟与唐方完成。

通讯作者: 唐方, 教授, 300052, 天津市和平区鞍山道154号, 天津医科大学总医院中医科. zhongyi3599@sina.com

电话: 022-60363599

收稿日期: 2011-09-16 修回日期: 2011-10-18

接受日期: 2011-11-04 在线出版日期: 2011-11-08

### Establishment of a rat model of ulcerative colitis and analysis of factors influencing the development of this model

Li-Juan Hou, Fang Tang, Xiao-Hong Wang, Xiao-Ping Sun

Li-Juan Hou, Fang Tang, Xiao-Hong Wang, Xiao-Ping Sun, Department of TCM, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China

Correspondence to: Fang Tang, Professor, Department of TCM, Tianjin Medical University General Hospital, 154 Anshan Road, Tianjin 300052, China. zhongyi3599@sina.com

Received: 2011-09-16 Revised: 2011-10-18

Accepted: 2011-11-04 Published online: 2011-11-08

### Abstract

**AIM:** To investigate the optimal concentration of ethanol and animal house environment for the development of a rat model of trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS)/ethanol-induced ulcerative colitis.

**METHODS:** Forty-five Wistar rats were divided randomly and equally into five groups: normal group, model groups 1, 2, 3 and 4. The normal group, model groups 1, 2 and 3 were fed in conventional grade animal house, while the model group 4 was fed in SPF grade animal house. The normal group, model groups 1, 2, 3 and 4 were given 9 g/L NaCl, TNBS/ethanol, TNBS/600 mL/L ethanol, TNBS/500 mL/L ethanol, and TNBS/500 mL/L ethanol, respectively. After treatment, disease activity index (DAI) was monitored. At the end of the experiment, all rats were killed to evaluate colon mucosa damage index (CMDI) and histological changes.

**RESULTS:** There was no significant difference in

mortality between the model groups 1 and 2. DAI and CMDI significantly increased in the model group 3 compared to the model group 4 (both  $P < 0.05$ ). Histological changes also differed significantly between the model groups 3 and 4.

**CONCLUSION:** The development of a rat model of TNBS-induced ulcerative colitis should be done with 500 mL/L ethanol in conventional grade animal house.

**Key Words:** Trinitrobenzenesulfonic acid; Ulcerative colitis; Model; Ethanol concentration; Animal house environment

Hou LJ, Tang F, Wang XH, Sun XP. Establishment of a rat model of ulcerative colitis and analysis of factors influencing the development of this model. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(31): 3242-3245

### 摘要

**目的:** 探讨TNBS/乙醇法制备溃疡性结肠炎模型时乙醇最佳浓度及最宜动物室环境。

**方法:** Wistar大鼠45只, 随机分为正常组、模型1组、模型2组、模型3组、模型4组(9只/组), 其中将正常组、模型1、2、3组放入清洁环境饲养, 模型4组放入SPF级动物实验室饲养。分别用9 g/L NaCl、TNBS/无水乙醇、TNBS/600 mL/L 乙醇、TNBS/500 mL/L 乙醇灌肠, 其中模型3、4组均用TNBS/500 mL/L 乙醇灌肠, 造模后观察各组模型疾病活动指数, 实验终点处死后观察结肠黏膜损伤指数及病理组织学改变。

**结果:** 模型1、2组灌肠后大量死亡, 无实践意义; 将模型3、4组DAI及CMDI评分比较, 模型3组均高于模型4组, 且差异具有显著性( $P < 0.05$ )。组织学观察比较模型3、4组, 具有明显差异。

**结论:** 应用TNBS建立UC模型应首选500 mL/L 乙醇作为溶剂, 并需在清洁级动物室进行, 环境是提高模型成功率的关键因素。

**关键词:** 三硝基苯磺酸; 溃疡性结肠炎; 模型; 乙醇浓度; 动物室环境

### ■同行评议者

许玲, 副教授, 第二军医大学长征医院中医科

表 1 DAI评分表

观察指标	DAI计算				
	0分	1分	2分	3分	4分
体质量下降	不下降	下降1%–5%	下降5%–10%	下降10%–15%	大于15%
大便形状	正常		松散但不粘肛周		腹泻
大便隐血	阴性		阳性		肉眼血便
DAI	以上三项得分的平均值				

侯丽娟, 唐方, 王晓红, 孙晓萍. 溃疡性结肠炎模型的建立及影响因素. 世界华人消化杂志 2011; 19(31): 3242–3245  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3242.asp>

## 0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)属炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的一种, 是一种病因不明的直肠和结肠炎性病变, 临床表现为腹痛腹泻、里急后重、黏液脓血便及不同程度的全身症状. 其病程长, 病变程度轻重各异, 目前已被列为世界难治性疾病之一. 近10年来, UC的发病率在我国呈上升趋势, 故溃疡模型的优化选择具有重大意义. 目前, 国内外已经报道了多种对溃疡模型的建立方法, 其中应用50 mL/L 2, 4, 6-三硝基苯磺酸(TNBS)与乙醇混合液建立大鼠溃疡模型优势最多, 并公认TNBS剂量在100 mg/kg时模型最为稳定. 但是对乙醇浓度说法不一, 且对动物实验室的环境也没有明确的记录. 对此笔者展开实验研究, 以明确TNBS建立UC模型的方法及其重要影响因素.

## 1 材料和方法

1.1 材料 SPF级Wistar大鼠( $n = 45$ ), ♀ 23只, ♂ 22只, 体质量180–220 g, 由中国医学科学院提供. 随机抽取大鼠( $n = 9$ )作为正常组, 剩下的随机分成4组, 分别是: 模型1组, 模型2组, 模型3组, 模型4组, 9只/组. 将正常组、模型1组、模型2组及模型3组放入普通环境实验室, 模型4组放入屏障环境实验室, 均适应性饲养3 d. 8号导尿管, 1 mL注射器, 50 mL/L TNBS为美国Sigma公司产品, 由天津润泰科技发展有限公司提供; 无水乙醇(色谱纯)由天津市江天化工技术有限公司提供; 便潜血(OB)试剂为珠海贝索生物技术有限公司产品, 由天津市诺凡工贸有限公司提供.

### 1.2 方法

1.2.1 配置实验用药: 将50 mL/L TNBS分别与无水乙醇、600 mL/L乙醇、500 mL/L乙醇按体积1:1配成3种混合液, 分别记作A、B、C.

表 2 CMDI评分表

大体形态表现	评分
粘连	
无	0
轻度(结肠与其他组织剥离较易)	1
重度	2
溃疡形成及炎症	
无	0
局部充血, 无溃疡	1
1处溃疡不伴充血或肠壁增厚	2
1处溃疡伴炎症	3
>2处溃疡伴炎症	4
>2处溃疡和/或炎症>1 cm	5
溃疡和/或炎症>2 cm, 病变范围每增加1 cm, 计分加1	6–8

1.2.2 灌肠: 各组大鼠造模前1 d均禁食不禁水24 h, 称质量后用水合氯醛(0.03 mL/kg)腹腔注射麻醉. 麻醉状态下, 将8号导尿管插入肛门上端8 cm, 按0.04 mL/kg(相当于TNBS剂量100 mg/kg)一次性分别注入混合液, 顺序如下: 正常组: 9 g/L NaCl; 模型1组: 混合液A; 模型2组: 混合液B; 模型3组: 混合液C; 模型4组: 混合液C. 灌肠后注入0.5 mL空气, 倒立5 min, 仰卧归笼, 自然苏醒, 自由饮食.

1.2.3 观察指标: (1)疾病活动指数(DAI): 自造模后的第1天起, 每日观察大鼠精神活动、皮毛、体质量、大便形状及隐血状况, 按表1进行评分<sup>[1,2]</sup>; (2)结肠黏膜损伤指数(CMDI): 实验终点处死大鼠, 分离肛门至盲肠末端的结肠段, 修剪掉肠系膜及粘连组织, 沿肠系膜纵轴剪开, 冰生理盐水冲洗干净, 拭干, 平铺于滤纸上, 按照表2<sup>[3,4]</sup>立即进行肉眼大体损伤评分; (3)病理组织学观察: 取各组大鼠结肠病变最明显处组织一小部分, 用40 g/L甲醛溶液固定, 石蜡包埋、切片、HE染色、光镜观察<sup>[5]</sup>.

**统计学处理** 应用统计软件SPSS17.0处理数据, 采用单因素方差分析及独立样本 $t$ 检验, 比较各组资料间的差异,  $P < 0.05$ 为有统计学意义(实

## ■ 研发前沿

在目前相关文献中, 有关乙醇浓度描述不一, 对动物室环境、温度与成模率的相关性也无明确记载.

## ■ 相关报道

张涛等报道应用不同剂量的TNBS/乙醇建立UC模型, TNBS剂量为100 mg/kg时, 其溃疡的病理特点与人类UC最为类似. 得出结论: TNBS最佳造模剂量为100 mg/kg.



### ■创新亮点

本文通过研究乙醇溶剂浓度、动物室环境与UC模型成功率的关系探讨TNBS诱导UC模型最佳条件,为该模型规范化制备标准提供依据。

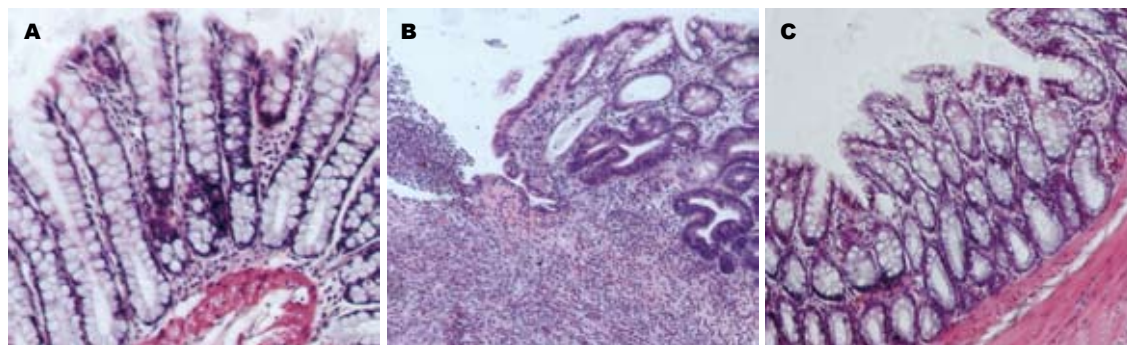


图1 各组黏膜HE染色(×100). A: 正常组; B: 模型3组; C: 模型4组。

表3 正常组、模型3组与模型4组DAI评分 (mean ± SD)

时间	正常组	模型3组	模型4组
第2天	0	2.39 ± 0.39 <sup>b</sup>	1.50 ± 0.59 <sup>bc</sup>
第3天	0	2.39 ± 0.44 <sup>b</sup>	1.44 ± 0.66 <sup>bc</sup>
第4天	0	2.33 ± 0.70 <sup>b</sup>	1.11 ± 0.81 <sup>ac</sup>
第5天	0	2.06 ± 0.61 <sup>b</sup>	0.77 ± 0.27 <sup>bd</sup>
第6天	0	1.44 ± 0.50 <sup>b</sup>	0.44 ± 0.34 <sup>ad</sup>
第7天	0	1.50 ± 0.59 <sup>b</sup>	0.56 ± 0.27 <sup>bd</sup>
第8天	0	1.50 ± 0.51 <sup>b</sup>	0.44 ± 0.34 <sup>ad</sup>
第9天	0	1.33 ± 0.60 <sup>b</sup>	0.44 ± 0.34 <sup>ac</sup>
第10天	0	1.22 ± 0.50 <sup>b</sup>	0.44 ± 0.34 <sup>ac</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 正常组; <sup>c</sup> $P < 0.05$ , <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 模型3组。

验过程中死亡的大鼠不计入统计分析)。

## 2 结果

**2.1 DAI** 各组大鼠在造模24 h后,即出现肉眼血便或黏液便,体质量也有不同程度的下降(由于造模前空腹24 h,故造模后第1天体质量轻微增长,故不计算第1天的DAI分数),并伴有神萎、蜷卧、少动、毛耸,进食减少等症状。由于模型1组、2组灌肠后大量死亡,无实践意义,故将模型3组、4组的DAI评分进行统计。造模后,第2-3天DAI评分相对较高,自第4天开始出现DAI下降趋势,实验终点时均有好转。但是模型3组DAI评分始终高于模型4组。可见,模型3组疾病活动情况重于模型4组。且在第2-10天,模型3、4组与正常组比较及模型3、4组间比较,差异均具有统计学意义( $P < 0.05$ ,表3)。

**2.2 CMDI** 模型1、2、3组存活大鼠处死后均可见结肠与周围组织不同程度粘连伴近端肠腔扩张,纵行剖开后可见溃疡;而模型4组,无肠粘连及肠腔扩张,纵行剖开后可见局部充血水肿,肠皱襞纹理变浅。将模型3、4组CMDI评分进行统计分析,模型3、4组与正常组比较( $6.17 \pm 1.33$ ,

$2.17 \pm 1.33$  vs 0,  $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ )及模型3、4组间比较差异均具有统计学意义( $P < 0.01$ )。

**2.3 组织学观察** 正常组黏膜上皮完整,细胞形态正常,杯状细胞可见,腺体排列整齐,黏膜下层、肌层、浆膜层结构清晰,未见炎性细胞浸润;模型3组黏膜上皮坏死脱落,大面积溃疡形成,溃疡周边腺体扩张,腺上皮细胞增生,黏膜层、黏膜下层充血水肿,肠壁各层均可见大量炎性细胞浸润;模型4组黏膜层杯状细胞可见,黏膜下层轻度充血水肿,并可见少量炎性细胞浸润,未见明显溃疡(图1)。

## 3 结论

目前国内外已报道多种建立溃疡模型的方法,传统的有免疫法、化学法如乙酸法、角叉菜胶法、葡聚糖硫酸钠法、恶唑酮法等,以及较新研究的基因敲除法如IL-10/iNOS双基因缺陷模型<sup>[6]</sup>、转基因法如IL-7转基因模型<sup>[7]</sup>等,但由于造价昂贵,应用较少。1984年, Morris<sup>[8]</sup>首次成功地制造出TNBS动物模型,该模型建立之初用于反映克罗恩病的病理变化及药物疗效的研究,后来被广泛应用于建立溃疡性结肠炎模型。多数学者认为TNBS/乙醇造模法具有简单易行、重复性好、价廉、组织学与人类UC相似等多种优势。但是,在目前相关文献中,有关乙醇浓度描述不一,动物室环境、温度与成模率的相关性无也无明确记载。模型制备方法由于缺乏规范化的统一标准,直接影响试验药物药效学评价。为此,笔者拟自溶媒浓度、动物室环境与UC模型成功率的关系探讨TNBS诱导UC模型最佳条件,为该模型规范化制备标准提供依据。

目前认为, TNBS/乙醇制备UC模型原理在于,以乙醇作为有机溶剂,通过溶解肠黏膜表面的黏液,破坏肠黏膜屏障,致使TNBS进入局部组织,与肠组织蛋白结合形成抗原,引发肠黏膜

### ■应用要点

采用TNBS/500 mL/L乙醇灌肠,并在清洁级动物室环境中饲养,规范化的建立溃疡性结肠炎,对于进一步更准确地研究人类溃疡发病机制、病理过程及新药的研究具有重大意义。

免疫系统针对抗原的迟发性变态反应, 进而导致肠道炎症的发生. 笔者采用不同浓度乙醇制备TNBS混合液, 复制急性期UC动物模型. 结果显示: TNBS分别与无水乙醇、600 mL/L乙醇混合液灌肠后, 大量死亡, 无实践意义. 并对模型1、2组死亡样本进行解剖后发现, 距肛门1-8 cm部位多见大面积肠坏死, 肠壁呈褐色、质硬. 提示, 作为混合液溶媒的乙醇浓度 $\geq 60\%$ 时, 肠黏膜由于容易发生过度灼伤, 使实验动物个体差异凸显, 导致肠坏死发生率增高, 是实验大鼠死亡的主要原因. 我们的实验证实, 模型3组大鼠给予500 mL/L乙醇为溶媒的TNBS混合液, 由于乙醇浓度设定合理, 样本死亡例数显著下降. 因此可以认为, 以500 mL/L乙醇作为制备TNBS最佳浓度, 可有效降低UC模型死亡率, 是提高实验大鼠UC发病的稳定性、可重复性的关键因素之一.

由DAI评分及CMDI评分可见, 给药相同的3、4组大鼠, 在不同饲养环境下, UC发病指数呈显著性差异. 在SPF级环境内制备UC模型, 其疾病活动指数及结肠黏膜损伤变化均较清洁级环境下UC模型明显减轻. 组织学比较, 屏障环境内UC大鼠由于该生存空间微生物菌群数量少, 结肠黏膜层可见大量杯状细胞, 黏膜下层轻度充血水肿, 少量炎性细胞浸润, 但少见溃疡发生. 与之相对, 在相同时间内给予相同药物, 生存在清洁级环境下的模型3组大鼠, 结肠黏膜上皮普遍出现坏死脱落, 大面积溃疡形成; 溃疡面周边腺体扩张, 腺上皮细胞增生; 黏膜层、黏膜下层充血水肿; 肠壁各层均可见大量炎细胞浸润. 由

此说明, 免疫反应异常是UC模型制备的必要因素, 但在UC多因素, 多环节相互作用中, 感染因素可能是诱导UC发生, 参与结肠黏膜炎症免疫反应的启动因子.

总之, 采用TNBS/500 mL/L乙醇灌肠, 并在清洁级动物室环境中饲养, 所建立的模型发病症状及结肠组织病理变化与人类溃结病变相似, 对于进一步更准确地研究人类溃结发病机制、病理过程及新药的研究具有重大意义.

#### 4 参考文献

- 1 Steidler L, Hans W, Schotte L, Neirynck S, Obermeier F, Falk W, Fiers W, Remaut E. Treatment of murine colitis by *Lactococcus lactis* secreting interleukin-10. *Science* 2000; 289: 1352-1355
- 2 陈迟, 冉志华, 萧树东. 普伐他汀对乙酸诱导大鼠结肠炎的治疗作用及其机制的研究. *中华医学杂志* 2006; 86: 1284-1288
- 3 Butzner JD, Parmar R, Bell CJ, Dalal V. Butyrate enema therapy stimulates mucosal repair in experimental colitis in the rat. *Gut* 1996; 38: 568-573
- 4 王皓, 欧阳钦, 胡仁伟. 三硝基苯磺酸结肠炎动物模型的建立. *胃肠病学* 2001; 6: 7-10
- 5 郑礼, 高振强, 王淑仙. 大鼠溃疡性结肠炎模型的实验研究. *中国药理学通报* 1998; 14: 370-372
- 6 Zhang R, Ma A, Urbanski SJ, McCafferty DM. Induction of inducible nitric oxide synthase: a protective mechanism in colitis-induced adenocarcinoma. *Carcinogenesis* 2007; 28: 1122-1130
- 7 Totsuka T, Kanai T, Nemoto Y, Makita S, Okamoto R, Tsuchiya K, Watanabe M. IL-7 is essential for the development and the persistence of chronic colitis. *J Immunol* 2007; 178: 4737-4748
- 8 Morris GP, Beck PL, Herridge MS, Depew WT, Szewczuk MR, Wallace JL. Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterology* 1989; 96: 795-803

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

#### ■同行评价

UC是目前临床常见疾病, 建立能反映临床特点的动物模型对该疾病的研究有重要意义. 课题组在文献报道的基础上开展乙醇最佳浓度及最适宜动物室环境的研究, 选题合理有意义.

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

#### • 消息 •

### WJG 总被引频次排名位于第 174 名

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

# mir-183在食管鳞癌中的表达水平及其与临床病理、预后的关系

彭兵锋, 毛伟敏, 罗 君, 袁嘉敏, 郑智国, 凌志强

## ■背景资料

食管癌是常见恶性肿瘤之一,也是导致死亡的癌症之一。近年来, microRNAs(miRNAs)在肿瘤中的作用机制成为科研热点。miRNAs是新近发现的一组天然丰富的小RNA,长度约17-25个核苷酸。mir-183与食管癌的发生、发展、预后等的相互关系的研究尚处于初步阶段。

彭兵锋, 浙江省肿瘤医院肿瘤研究所 温州医学院附属第一医院 浙江省杭州市 310022

毛伟敏, 郑智国, 凌志强, 浙江省肿瘤医院肿瘤研究所 浙江省杭州市 310022

罗君, 袁嘉敏, 浙江省肿瘤医院 浙江中医药大学 浙江省杭州市 310053

浙江省自然科学基金资助项目, No. Y2080749, Y2091110

浙江省人事优秀留学回国人员科技活动项目择优基金资助项目, No. 2008A004

浙江省科技计划基金资助项目, No. 2009C33143

教育部优秀留学回国人员科研基金资助项目, No. 2010609

卫生部科研基金资助项目, No. WKJ2010-2-004

浙江省重大科技专项计划基金资助项目, No. 2011C13039-1  
作者贡献分布: 文献检索、实验操作、结果分析及论文撰写由彭兵锋完成; 凌志强与郑智国参与选题、指导及浙江肿瘤标本的病理诊断; 临床病例随访资料、部分实验、数据分析研究所用的新试剂及分析工具由罗君与袁嘉敏协助完成; 稿件由毛伟敏审校。

通讯作者: 凌志强, 副研究员, 310022, 浙江省杭州市半山桥广济路38号, 浙江省肿瘤医院肿瘤研究所. lingzq@hotmail.com  
电话: 0571-88122423 传真: 0571-88122413

收稿日期: 2011-09-01 修回日期: 2011-11-01

接受日期: 2011-11-04 在线出版日期: 2011-11-08

## Correlation between miR-183 expression and pathological features of esophageal squamous cell carcinoma

Bing-Feng Peng, Wei-Min Mao, Jun Luo, Jia-Min Yuan, Zhi-Guo Zheng, Zhi-Qiang Ling

Bing-Feng Peng, Institute of Cancer Research, Zhejiang Cancer Hospital, the First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Hangzhou 310022, Zhejiang Province, China

Wei-Min Mao, Zhi-Guo Zheng, Zhi-Qiang Ling, Institute of Cancer Research, Zhejiang Cancer Hospital, Hangzhou 310022, Zhejiang Province, China

Jun Luo, Jia-Min Yuan, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, Zhejiang Province, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Zhejiang Province, No. Y2080749, Y2091110; the Science and Technology Foundation for Selected Overseas Chinese Scholars, Ministry of Personnel of Zhejiang Province, No. 2008A004; the Science and Technology Program of Zhejiang Province, No. 2009C33143; Scientific Research Foundation for the Returned Overseas Chinese Scholars, Ministry of Education, No. 2010609; the Research Fund of Ministry of Health, No. WKJ2010-2-004; and the Major Science and Technology Project of Zhejiang Province, No. 2011C13039-1

Correspondence to: Zhi-Qiang Ling, Associate Professor, Institute of Cancer Research, Zhejiang Cancer Hospital, 38 Guangji Road, Banshanqiao District, Hangzhou 310022, Zhejiang Province, China. lingzq@hotmail.com  
Received: 2011-09-01 Revised: 2011-11-01

Accepted: 2011-11-04 Published online: 2011-11-08

## ■同行评议者

欧希龙, 副教授, 东南大学中大医院消化科

## Abstract

**AIM:** To detect the expression of miR-183 in primary esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) and to analyze its correlation with clinicopathological features of ESCC.

**METHODS:** The expression of miR-183 in 53 ESCC samples and matched tumor-adjacent tissue samples was detected by real-time PCR. PCR data were analyzed using the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  method.

**RESULTS:** Of the 53 ESCC samples analyzed, microRNA-183 was significantly up-regulated (2-6411 folds) in 22 samples compared to the matched tissue samples. Up-regulation of mir-183 expression was correlated with lymph node metastasis and poor prognosis in ESCC (both  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Up-regulation of mir-183 expression was significantly correlated with the development and progression of ESCC.

**Key Words:** MiR-183; Esophageal squamous cell carcinoma; Clinicopathological features; Prognosis

Peng BF, Mao WM, Luo J, Yuan JM, Zheng ZG, Ling ZQ. Correlation between miR-183 expression and pathological features of esophageal squamous cell carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(31): 3246-3249

## 摘要

**目的:** 探讨原发性食管鳞癌组织中mir-183的表达状况及其与食管鳞癌临床病理特征之间的关系。

**方法:** 应用实时RT-PCR方法及 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 分析法分别检测食管鳞癌(ESCC)患者癌组织及癌旁正常组织中mir-183的表达状况及其与临床病理特征的相关性。

**结果:** 在53例标本中, 有22例(41.51%) mir-183高表达(2-6411倍), mir-183的高表达分别与患者的淋巴结转移情况及不良预后具有显著统计学意义( $P < 0.05$ )。

**结论:** mir-183的高表达在ESCC的发生发展中发挥重要作用。

**关键词:** Mir-183; 食管鳞癌; 临床病理特征; 预后

彭兵锋, 毛伟敏, 罗君, 袁嘉敏, 郑智国, 凌志强. Mir-183在食管鳞癌中的表达水平及其与临床病理、预后的关系. 世界华人消化杂志 2011; 19(31): 3246-3249  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3246.asp>

## 0 引言

食管癌是世界8大常见恶性肿瘤之一,也是世界范围内6大导致死亡的癌症之一<sup>[1]</sup>。随着分子生物学技术的发展,食管癌的基础与临床研究取得巨大进步,但术后生存率仍不容乐观,其发生发展的机制仍有待进一步研究和探讨。近年来,microRNAs(miRNAs)在肿瘤中的作用机制成为科研热点。miRNAs是新近发现的一组天然丰富的小RNA,长度约17-25个核苷酸<sup>[2]</sup>。大量研究证明,miRNAs在肿瘤的发生发展过程中扮演着癌基因或抑癌基因的角色<sup>[3]</sup>。mir-183是miRNAs家族的一员,有研究指出,mir-183的异常表达与肿瘤发生发展有关<sup>[4-8]</sup>。但是,有关mir-183的高表达在ESCC的发生发展过程中的作用及其机制研究尚处于初步阶段。在中国,ESCC是主要病理类型,食管腺癌(esophageal adenocarcinoma, EAC)主要发生于西方国家<sup>[9]</sup>。本试验运用RT-PCR法检测53例ESCC组织及相应癌旁正常组织中mir-183的表达状况,来探讨原发性ESCC患者组织中mir-183的表达状况及其与食管癌临床病理特征以及预后之间的关系。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 本试验采用53例ESCC组织及相应癌旁正常组织,病例来自于2009-02/2010-09浙江省肿瘤医院食管癌手术后组织标本;癌旁正常组织取自肿瘤边缘5 cm外区域,为肉眼下正常组织。上述组织切除后,快速用液氮冷冻并储存在-80℃冰箱中用作RNA提取。全部肿瘤组织均经病理诊断为鳞状细胞癌,肿瘤分级、TNM分期分别按照2009年国际抗癌联盟(international union against cancer, UICC)的标准:其中高中分化( $n = 41$ ),低分化( $n = 12$ );I/II期( $n = 22$ ),III/IV期( $n = 31$ );上中段病变( $n = 14$ ),下段病变( $n = 39$ );伴有淋巴结转移( $n = 33$ ),无淋巴结转移( $n = 20$ )。所有肿瘤患者中,男性( $n = 45$ ),女性( $n = 8$ ),年龄44-74岁[ $\geq 60$ 岁( $n = 24$ ), $< 60$ 岁

( $n = 29$ )]。术前均未接受化疗或放疗。对本试验中53例ESCC患者进行术后随访,随访时间截止2011-05-10。RNA提取试剂盒MiRNeasy Mini Kit购于Qiagen公司,琼脂糖、0.5%TBE液、EB液、反转录试剂盒PrimeScript<sup>®</sup> miRNA cDNA Synthesis Kit(D350A)和real time RT-PCR试剂盒SYBR<sup>®</sup> Premix Ex Taq<sup>™</sup> II(DRR081A)购于TaKaRa公司。引物由上海Invitrogen公司合成。Real time RT-PCR上游引物序列: mir-183: 5'-TATGGCACTGGTAGAATTCACT-3', U6: 5'-CGCTTCGGCAGCACATA TAC-3',下游通用引物由反转录试剂盒PrimeScript<sup>®</sup> miRNA cDNA Synthesis Kit(D350A)提供。

### 1.2 方法

**1.2.1 总RNA提取:** 按照MiRNeasy Mini Kit试剂盒说明书提取肿瘤组织及对应的正常组织的总RNA,紫外分光光度计测量,判定所取总RNA的浓度和纯度,要求吸光度值( $A$ ) $A_{260}/A_{280} > 1.8$ 。取1  $\mu$ L RNA溶液与1.5%的变性琼脂糖凝胶中进行电泳,测定RNA的完整性。

**1.2.2 逆转录:** 取1  $\mu$ g总RNA使用PrimeScript<sup>®</sup> miRNA cDNA Synthesis Kit试剂盒进行cDNA的合成,具体操作参照使用说明。

**1.2.3 PCR扩增:** real time RT-PCR的PCR扩增及溶解曲线分析均使用ABI 7500PCR仪(Applied Biosystems),采用20  $\mu$ L的反应体系,具体操作参照SYBR<sup>®</sup> Premix Ex Taq<sup>™</sup> II的使用说明。反应过程具体为: 50℃激活聚合酶2 min, 95℃预变性1 min; 95℃变性5 s, 60℃退火和延伸34 s,扩增40个循环。结束后通过95℃15 s, 60℃1 min, 85℃15 s, 60℃15 s制作溶解曲线。

**统计学处理** 应用SPSS17.0统计学软件;各组间率的差异统计学意义比较采用 $\chi^2$ 检验、似然比 $\chi^2$ 检验或Fisher's确切概率法;生存曲线绘制用乘积极限法(Kaplan-Meier)进行单因素生存分析;对数秩检验(Log-Rank test)进行生存曲线比较;多因素分析采用Cox比例风险模型。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 mir-183在ESCC组织中的表达** 53例ESCC标本中有22例(41.5%)出现了相对于正常食管组织的mir-183高表达( $\Delta\Delta CT < -1$ ), 8例(15.1%)低表达( $\Delta\Delta CT > 1$ ), 23例(43.4%)无明显差异( $-1 < \Delta\Delta CT < 1$ ), mir-183在ESCC与癌旁正常食管组织中的表达差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

### ■研发前沿

本文主要验证mir-183在ESCC中的异常表达及其与临床病理特征及预后之间的关系。Mir-183对应靶基因及其与ESCC的发病机制的研究尚有待深入。

### ■相关报道

有文献指出, mir-183在肿瘤中的表达异常(高/低表达),而mir-183在食管癌中高表达; mir-183与食管癌的临床病理特征相关; mir-183与食管癌的预后之间的关系的报导尚未明确。



## ■应用要点

有关mir-183的异常表达与ESCC的关系的研究尚处于初步阶段,深入研究和探讨mir-183在ESCC发生发展过程中的作用及其机制,将会为ESCC患者的诊断、治疗及预后提供依据。

表 1 食管癌患者组织mir-183的表达与临床病理特征的关系

临床病理特征	n	高表达	非高表达	P值
年龄				
≥60岁	24	11	13	0.561
<60岁	29	11	18	
性别				
男	48	20	28	0.943
女	5	2	3	
分化程度				
高/中	41	18	23	0.513
低	12	4	8	
肿瘤位置				
中/上段	14	5	9	0.608
下段	39	17	22	
浸润程度(T)				
T1/T2	8	4	4	0.597
T3/T4	45	18	27	
淋巴结转移(N)				
N0	20	4	16	0.013
N1/N2	33	18	15	
远处转移(M)				
M0	52	21	31	0.231
M1	1	1	0	
TNM分期				
I / II	22	6	16	0.076
III / IV	31	16	15	

mir-183的高表达与淋巴结转移有关(无淋巴结转移的ESCC组织中mir-183的高表达率为25%,有淋巴结转移的ESCC组织中mir-183高表达率为54.5%,两对比组之间的差异具有统计学意义( $\chi^2 = 6.121$ ,  $P = 0.013$ ),而mir-183的高表达与年龄、性别、分化程度、肿瘤位置、浸润程度、远处转移情况、TNM分期等均无统计学意义( $P > 0.05$ , 表1)。

**2.2 mir-183在ESCC组织中的高表达与预后之间的关系** 22例mir-183高表达的ESCC患者中,死亡人数12例(54.5%),而31例非高表达的ESCC患者之中死亡人数11例(35.5%); mir-183高表达的ESCC患者的中位生存时间为13.8 mo,而与之相对应的mir-183非高表达的ESCC患者的中位生存时间为19.9 mo. 2组之间的差异具有统计学意义( $\chi^2 = 5.783$ ,  $P = 0.016$ , 图1)。

Cox模型回归多因素分析结果显示, mir-183的高表达与淋巴结转移、远处转移一起作为ESCC患者预后的影响因素( $P < 0.05$ , 表2)。

## 3 讨论

本试验采用real time RT-PCR方法检测了53例原

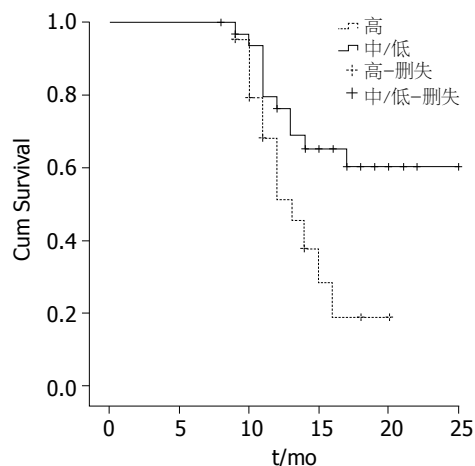


图 1 mir-183的高表达与ESCC患者的生存率。

发ESCC组织及相应的癌旁正常组织中mir-183的表达水平,并用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 分析法53例食管癌组织及正常组织中mir-183的表达差异.结果显示:相对于正常的食管组织,在53例ESCC标本中有22例(41.5%)出现了mir-183的高表达<sup>[10-16]</sup>. mir-183在ESCC组织及其对应的癌旁正常组织中的表达差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ).

在与临床病理特征关系的统计学分析中发现,有淋巴结转移的ESCC标本中mir-183的高表达率明显高于无淋巴结转移组( $\chi^2 = 6.121$ ,  $P = 0.013$ ),说明mir-183与ESCC的淋巴结转移有关<sup>[15-17]</sup>,研究结果再次证明, mir-183基因可能在ESCC的发生发展过程中扮演癌基因的角色。

在mir-183的高表达与ESCC患者预后的相关性方面,我们对患者术后生存时间进行随访,并采用Kaplan-Meier法绘制生存曲线、对数秩检验(Log-rank test)进行生存曲线比较,分析mir-183的高表达与ESCC患者预后之间的关系.结果显示,到2011年5月随访截止时, mir-183高表达组的ESCC患者的死亡率高于非高表达组, mir-183高表达组的ESCC患者的中位生存时间明显比非高表达组短( $\chi^2 = 5.783$ ,  $P = 0.016$ ). ESCC患者预后的Cox模型回归多因素分析结果显示, mir-183的高表达与淋巴结转移、远处转移一起作为ESCC患者预后的影响因素( $P < 0.05$ ).因此,本研究结果更直接证实了mir-183的高表达可能是ESCC患者的一个预后不良因素。

总之, mir-183的高表达在ESCC中是一个高发事件, mir-183的高表达与ESCC患者的淋巴结转移及不良预后之间的差异具有统计学意义,因此mir-183可能是ESCC的预后因子之一.有关mir-183的高表达与ESCC的关系的研究尚处于



表 2 mir-183的高表达与临床病理特征的COX多因素分析

Factors	B	SE	Wald	P值	Exp(B)	95 % CI用于Exp(B)	
						下部	上部
淋巴结转移	0.790	0.752	1.102	0.024	2.203	0.054	9.627
远处转移	2.424	1.168	4.310	0.038	11.290	1.145	111.305
TNM分期	0.728	1.007	0.522	0.470	2.070	0.288	14.888
mir-183高表达	1.144	0.517	4.895	0.027	3.138	1.139	8.642

初步阶段, 深入研究和探讨mir-183在ESCC发生发展过程中的作用及其机制, 将有可能为ESCC患者的早期诊断、临床治疗及预后评估提供更多理论依据。

#### 4 参考文献

- Wang J, Wang Q, Liu H, Hu B, Zhou W, Cheng Y. MicroRNA expression and its implication for the diagnosis and therapeutic strategies of gastric cancer. *Cancer Lett* 2010; 297: 137-143
- Zhou SL, Wang LD. Circulating microRNAs: novel biomarkers for esophageal cancer. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 2348-2354
- Nishida N, Yokobori T, Mimori K, Sudo T, Tanaka F, Shibata K, Ishii H, Doki Y, Kuwano H, Mori M. MicroRNA miR-125b is a prognostic marker in human colorectal cancer. *Int J Oncol* 2011; 38: 1437-1443
- Gokhale A, Kunder R, Goel A, Sarin R, Moiyadi A, Shenoy A, Mamidipally C, Noronha S, Kannan S, Shirsat NV. Distinctive microRNA signature of medulloblastomas associated with the WNT signaling pathway. *J Cancer Res Ther* 2010; 6: 521-529
- Zhu W, Liu X, He J, Chen D, Hunag Y, Zhang YK. Overexpression of members of the microRNA-183 family is a risk factor for lung cancer: a case control study. *BMC Cancer* 2011; 11: 393
- Han Y, Chen J, Zhao X, Liang C, Wang Y, Sun L, Jiang Z, Zhang Z, Yang R, Chen J, Li Z, Tang A, Li X, Ye J, Guan Z, Gui Y, Cai Z. MicroRNA expression signatures of bladder cancer revealed by deep sequencing. *PLoS One* 2011; 6: e18286
- Yamada Y, Enokida H, Kojima S, Kawakami K, Chiyomaru T, Tatarano S, Yoshino H, Kawahara K, Nishiyama K, Seki N, Nakagawa M. MiR-96 and miR-183 detection in urine serve as potential tumor markers of urothelial carcinoma: correlation with stage and grade, and comparison with urinary cytology. *Cancer Sci* 2011; 102: 522-529
- Cho YJ, Tsherniak A, Tamayo P, Santagata S, Ligon A, Greulich H, Berhoukim R, Amani V, Goumnerova L, Eberhart CG, Lau CC, Olson JM, Gilbertson RJ, Gajjar A, Delattre O, Kool M, Ligon K, Meyerson M, Mesirov JP, Pomeroy SL. Integrative genomic analysis of medulloblastoma identifies a molecular subgroup that drives poor clinical outcome. *J Clin*

- Oncol* 2011; 29: 1424-1430
- Rawnaq T, Kleinhans H, Uto M, Schurr PG, Reichelt U, Cataldegirmen G, Gawad KA, Yekebas EF, Schachner M, Izbicki JR, Kaifi JT. Subset of esophageal adenocarcinoma expresses adhesion molecule I1 in contrast to squamous cell carcinoma. *Anticancer Res* 2009; 29: 1195-1199
- Sacheli R, Nguyen L, Borgs L, Vandenbosch R, Bodson M, Lefebvre P, Malgrange B. Expression patterns of miR-96, miR-182 and miR-183 in the development inner ear. *Gene Expr Patterns* 2009; 9: 364-370
- Hannafon BN, Sebastiani P, de Las Morenas A, Lu J, Rosenberg CL. Expression of microRNA and their gene targets are dysregulated in preinvasive breast cancer. *Breast Cancer Res* 2011; 13: R24
- Li J, Fu H, Xu C, Tie Y, Xing R, Zhu J, Qin Y, Sun Z, Zheng X. miR-183 inhibits TGF-beta1-induced apoptosis by downregulation of PDCD4 expression in human hepatocellular carcinoma cells. *BMC Cancer* 2010; 10: 354
- Goeppert B, Schmezer P, Dutruel C, Oakes C, Renner M, Breinig M, Warth A, Vogel MN, Mittelbronn M, Mehrabi A, Gdynia G, Penzel R, Long-erich T, Breuhahn K, Popanda O, Plass C, Schirmacher P, Kern MA. Down-regulation of tumor suppressor A kinase anchor protein 12 in human hepatocarcinogenesis by epigenetic mechanisms. *Hepatology* 2010; 52: 2023-2033
- Schaefer A, Jung M, Mollenkopf HJ, Wagner I, Stephan C, Jentzmik F, Miller K, Lein M, Kristiansen G, Jung K. Diagnostic and prognostic implications of microRNA profiling in prostate carcinoma. *Int J Cancer* 2010; 126: 1166-1176
- Sarver AL, Li L, Subramanian S. MicroRNA miR-183 functions as an oncogene by targeting the transcription factor EGR1 and promoting tumor cell migration. *Cancer Res* 2010; 70: 9570-9580
- Abraham D, Jackson N, Gundara JS, Zhao J, Gill AJ, Delbridge L, Robinson BG, Sidhu SB. MicroRNA profiling of sporadic and hereditary medullary thyroid cancer identifies predictors of nodal metastasis, prognosis, and potential therapeutic targets. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 4772-4781
- Li J, Liang SH, Lu X. [Potential role of ezrin and its related microRNA in ovarian cancer invasion and metastasis]. *Zhonghua Fuchanke Zazhi* 2010; 45: 787-792

#### 同行评价

本文设计合理, 方法可靠, 图表真实, 结果可信. 对于进一步研究mir-183在食管鳞癌发生发展中的作用和机制有重要的参考意义。

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

# 超声造影在评估肝纤维化程度分级中的临床价值

王刚, 刘健

## ■背景资料

肝纤维化是指由各种致病因子所致肝内结缔组织异常增生, 导致肝内弥漫性细胞外基质过度沉淀的病理过程, 是各种慢性肝病向肝硬化进展的一中间阶段。通过采用抗纤维化治疗包括消除病因、加速降解过程或诱导星状细胞凋亡等都有可能使肝纤维化逆转。所以对肝纤维化作出早期诊断并动态监测其变化对于慢性肝病的治疗及预后有着重要的意义。

## ■同行评议者

徐辉雄, 教授, 同济大学附属第十人民医院超声科

王刚, 刘健, 医学影像四川省重点实验室 川北医学院附属医院超声科 四川省南充市 637000

作者贡献分布: 本文由王刚收集资料并完成论文写作, 由刘健设计修改。

通讯作者: 刘健, 副教授, 副主任医师, 硕士生导师, 637000, 四川省南充市顺庆区文化路65号, 川北医学院附属医院超声科。liujiansh@126.com

收稿日期: 2011-08-19 修回日期: 2011-10-07

接受日期: 2011-10-12 在线出版日期: 2011-11-08

## Clinical value of contrast-enhanced ultrasound in assessing the degree of hepatic fibrosis

Gang Wang, Jian Liu

Gang Wang, Jian Liu, Key Laboratory of Medical Imaging of Sichuan Province, Department of Ultrasound, North Sichuan Medical College, Nanchong 637007, Sichuan Province, China

Correspondence to: Jian Liu, Associate Professor, Department of Ultrasound, North Sichuan Medical College, Nanchong 637007, Sichuan Province, China. liujiansh@126.com

Received: 2011-08-19 Revised: 2011-10-07

Accepted: 2011-10-12 Published online: 2011-11-08

## Abstract

**AIM:** To evaluate the clinical value of contrast-enhanced ultrasonography (CEUS) in assessing the degree of liver fibrosis.

**METHODS:** Seventy patients with chronic hepatitis and 20 healthy controls were included in the study. According to the Scheuer scoring system for staging liver fibrosis, 70 patients were divided into mild fibrosis group ( $n = 15$ ), moderate fibrosis group ( $n = 29$ ) and cirrhosis group ( $n = 26$ ). In pulse-inversion mode, the ultrasound contrast agent (SonoVue 2.4 mL) was injected intravenously. The contrast-enhanced ultrasound dynamic images at 90 s were acquired for offline analysis. The arrival time of the contrast material in the hepatic artery (HA), portal vein (PV) and hepatic vein (HV) and peak time in the liver parenchyma were recorded. Intrahepatic transit time was calculated as the differences in the arrival time between the hepatic artery and hepatic vein (HA-HVTT), between the PV and

HV (PV-HVTT), and between the PA and HV (PA-HVTT). All the parameters were compared among different groups of patients.

**RESULTS:** In the mild fibrosis group, the arrival time in the hepatic vein ( $28.63 \text{ s} \pm 3.14 \text{ s}$ ) was longer than in the control group ( $28.63 \text{ s} \pm 3.14 \text{ s}$  vs  $26.27 \text{ s} \pm 1.74 \text{ s}$ ,  $P > 0.05$ ) though there was no significant difference between the two groups. The arrival time in the hepatic vein in the moderate fibrosis group ( $23.11 \text{ s} \pm 1.34 \text{ s}$ ) and cirrhosis group ( $20.56 \text{ s} \pm 3.37 \text{ s}$ ) were significantly shorter than that in the mild fibrosis group and control group (both  $P < 0.05$ ). The peak time in the liver parenchyma in the moderate fibrosis and cirrhosis groups showed a later onset than that in the control group ( $40.53 \text{ s} \pm 4.63 \text{ s}$ ,  $46.78 \text{ s} \pm 5.56 \text{ s}$  vs  $34.13 \text{ s} \pm 2.76 \text{ s}$ , both  $P < 0.05$ ). Although no statistical significant differences in HA-HVTT, PV-HVTT and PA-HVTT were observed among the three groups, they decreased with the aggravation of liver fibrosis in the moderate fibrosis and cirrhosis groups (all  $P < 0.05$ ). Intrahepatic transit times (HA-HVTT, PV-HVTT and PA-HVTT) correlated negatively with the severity of fibrosis.

**CONCLUSION:** Contrast-enhanced ultrasound can be used to quantitatively judge the severity of liver fibrosis.

**Key Words:** Contrast-enhanced ultrasound; Liver fibrosis; Cirrhosis; SonoVue

Wang G, Liu J. Clinical value of contrast-enhanced ultrasound in assessing the degree of hepatic fibrosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(31): 3250-3254

## 摘要

**目的:** 探讨超声造影在评估肝纤维化程度分级中的临床价值。

**方法:** 选择70例慢性乙肝患者及健康对照组20例, 肝纤维化病理诊断标准采用Scheuer方案, 按肝纤维化程度不同分4组: 轻度肝纤维化组( $n = 15$ )、中度肝纤维化组( $n = 29$ )、肝硬化组( $n = 26$ )、对照组( $n = 20$ )。在反相脉冲

谐波模式下,经肘静脉团注法注射超声造影剂SonoVue 2.4 mL,并采集90 s的超声造影动态影像供脱机分析,记录造影剂到达肝动脉时间、到达门静脉时间、到达肝静脉时间及肝实质增强峰值时间,计算肝动脉-肝静脉渡越时间(HA-HVTT)、门静脉-肝静脉渡越时间(PV-HVTT)及肝实质-肝静脉渡越时间(PA-HVTT),比较各参数与肝纤维化程度的相关性。

**结果:**轻度肝纤维化组,造影剂到达肝静脉显影时间与对照组相近或稍有延长,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),时间分别为 $28.63 \pm 3.14$  s、 $26.27 \pm 1.74$  s;中度及肝硬化组造影剂到达肝静脉时间为 $23.11 \pm 1.34$  s及 $20.56 \pm 3.37$  s,较轻度肝纤维化组、对照组缩短,差异有统计学意义( $P<0.05$ );中度肝纤维化组、肝硬化组的肝实质增强峰值时间较对照组延长,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),时间分别为 $40.53 \pm 4.63$  s、 $46.78 \pm 5.56$  s、 $34.13 \pm 2.76$  s。中度及重度肝纤维化组HA-HVTT、PV-HVTT、PA-HVTT缩短,造影剂到达肝静脉时间、HA-HVTT、PV-HVTT、PA-HVTT与肝纤维化程度有较好的相关性,随着纤维化程度的增加而逐渐缩短。造影剂到达肝肝动脉、门静脉显影时间在各组之间差异无统计学意义。

**结论:**超声造影定量参数中,将造影剂到达肝静脉时间、肝实质增强峰值时间及造影剂在肝内微循环的渡越时间作为定量指标,用以判断肝纤维化的程度,对肝纤维化程度分级的诊断具有一定临床价值。

**关键词:** 超声造影; 肝纤维化; 肝硬化; SonoVue

王刚,刘健. 超声造影在评估肝纤维化程度分级中的临床价值. 世界华人消化杂志 2011; 19(31): 3250-3254  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3250.asp>

## 0 引言

慢性肝炎患者肝纤维化程度的准确评估对其诊断和治疗非常重要,而目前诊断肝纤维化的最可靠指标仍是肝组织活检,但因其具有创伤性而难以成为诊断肝纤维化的常规方法,CT灌注成像<sup>[1]</sup>及磁共振弥散加权成像<sup>[2,3]</sup>对评价肝纤维化具有一定价值,而超声造影剂作为一种血管示踪剂,能直观反映脏器内血流灌注情况,不仅可以清晰显示肝局灶性病变,并可根据其特有的血流动力学表现进行定性诊断<sup>[4]</sup>。本文即通过分析肝脏超声造影定量参数与肝纤维化程度之

间的相关性,探讨超声造影在评估肝纤维化程度分级中的临床价值。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集本院2009-08/2011-10慢性乙肝患者70例,男42例,女28例,平均年龄( $36.9 \pm 10.3$ )岁,所有患者血清乙肝标志物均为阳性,排除合并肝内占位性病变、肝静脉及门静脉内栓子、肝外器官纤维化患者。全部病例均在患者签署了超声造影知情同意后,接受的超声造影检查,并在1 wk内进行肝穿刺组织活检确诊,肝纤维化病理诊断标准采用Scheuer方案<sup>[4]</sup>,按肝纤维化程度不同分4组:轻度肝纤维化组( $n=15$ )、中度肝纤维化组( $n=29$ )、肝硬化组( $n=26$ )。对照组20例,男性10例,女性10例,平均年龄( $33.52 \pm 10.53$ )岁,均为健康志愿者,并排除肝脏存在局灶性病变或患有高血压、心脏病、呼吸系统等循环系统疾病。仪器和造影剂:仪器为西门子-S2000彩色多普勒超声显像仪,凸形探头,频率为3.5 MHz。所用的造影剂为SonoVue(博莱科公司),为六磷酸酯包裹的六氟化硫微泡组成,微泡平均直径 $2.5 \mu\text{m}$ ,90%以上的微泡直径 $<8 \mu\text{m}$ 。

**1.2 方法** 所检查的病例均先用常规二维超声扫描肝脏,观察肝脏形态、包膜形态、实质回声及肝静脉的走行,并用彩色多普勒检测肝动脉、门静脉的流速,作出造影前的初步诊断。造影前,先向SonoVue冻干粉中注入生理盐水5 mL进行溶解,用力振荡使其充分混匀制备成混悬液备用。造影时每次抽取2.4 mL造影剂溶液经肘部浅静脉快速注入,再推注5 mL生理盐水。调节声功率输出,机械指数为0.09,增益、深度和深度增益补偿等预设置始终保持一致。从注射造影剂即刻开始计时,采集至少90 s的动态造影数据。造影过程中受检者保持平稳呼吸,探头位置保持不变,动态图像以DICOM格式存盘。

结合逐帧回放模式回放动态图像,记录造影剂到达肝动脉时间、到达门静脉时间、到达肝静脉时间及肝实质增强峰值时间,根据不同血管内造影剂到达时间差计算肝内渡越时间,包括肝动-静脉渡越时间(hepatic artery to hepatic vein transit time, HA-HVTT)、门静脉-肝静脉渡越时间(portal vein to hepatic vein transit time, PV-HVTT)及肝实质-肝静脉渡越时间(parenchyma to hepatic vein transit time, PA-HVTT)。所有患者的造影检查由同一位操作者进行。

受检者左侧卧位,常规消毒、铺巾,在超

## ■ 研发前沿

应用超声造影及相关软件定量评价肝脏血流状态,认识不同程度慢性肝病超声造影强化特点,并为其强化方式进行定量分析,是值得深入和系统研究的领域。

## ■ 相关报道

Lim等采用频谱多普勒超声造影对85例丙型肝炎(分为轻度、中重度及肝硬化)及20例正常人Levovist HVTT进行了测量,认为HVTT与肝纤维化程度关系密切,并可预测肝纤维化程度。

### ■创新盘点

本文应用超声造影技术及新型超声造影剂Son-oVue, 分析超声造影剂定量参数与肝纤维化程度之间的相关性, 探讨超声造影在评估肝纤维化程度分级中的临床价值。

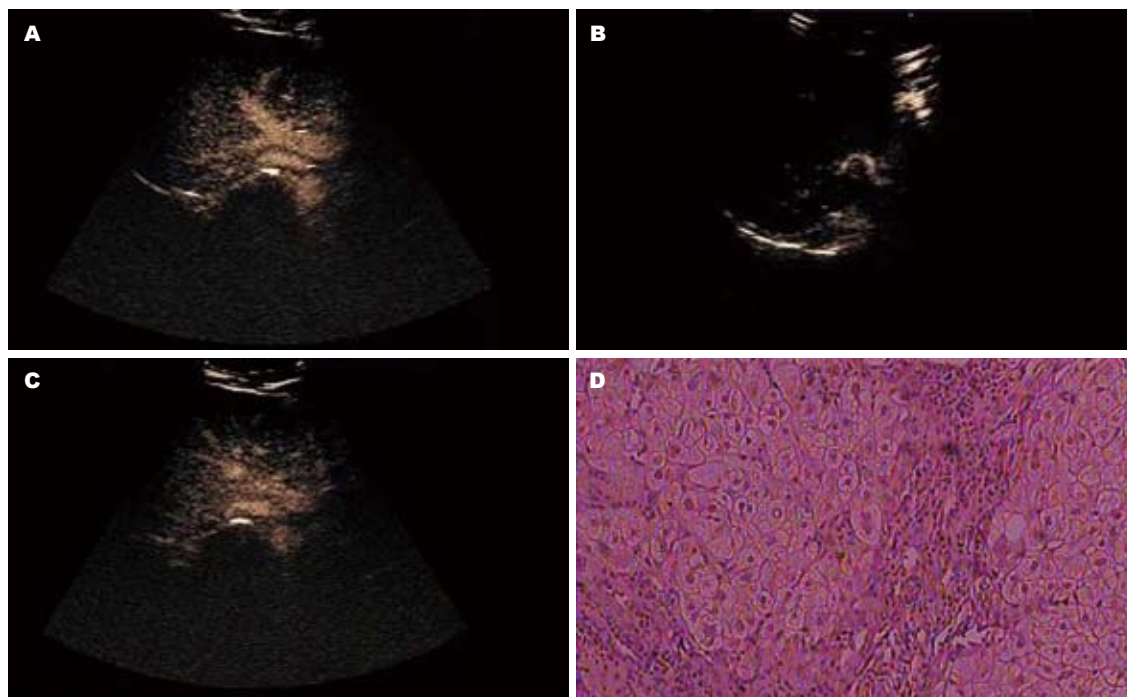


图1 重度肝纤维化超声造影图及肝组织活检图。A: 造影剂到达门静脉时间20 s; B: 造影剂到达肝动脉时间16 s; C: 造影剂到达肝静脉时间26 s; D: 肝组织活检见大量纤维间隔形成伴小叶结构紊乱。

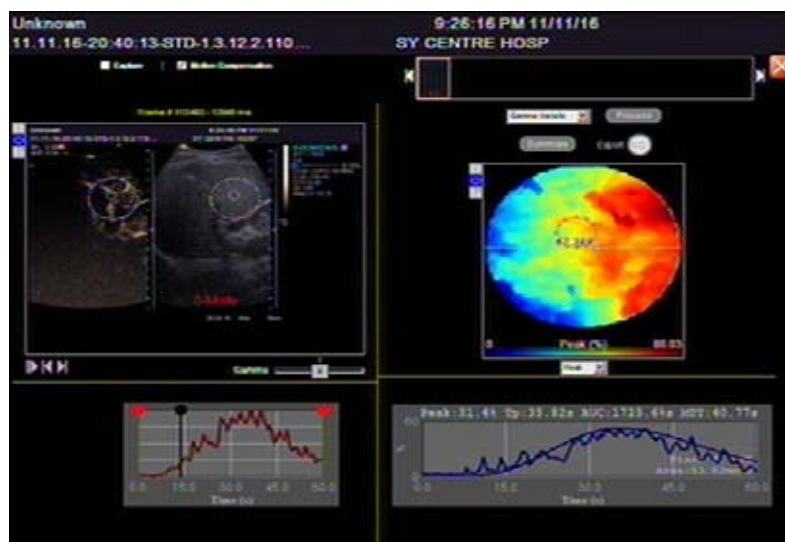


图2 重度肝纤维化造影后肝实质时间强度-曲线分析图。

声监视下应用引导线进行定位, 以2%利多卡因局部麻醉, 穿刺针按引导路径进行肝组织活检, 取材3次。将取得的肝活检组织送检病理科进行组织病理分级。肝纤维化病理诊断标准采用Scheuer方案<sup>[5]</sup>, 按肝纤维化程度不同分为5期: S<sub>0</sub>期: 无纤维化; S<sub>1</sub>期: 汇管区纤维化扩大, 局限窦周及小叶内纤维化; S<sub>2</sub>期: 汇管区周围纤维化, 纤维间隔形成, 小叶结构保留; S<sub>3</sub>期: 大量纤维间隔形成伴小叶结构紊乱, 无肝硬化; S<sub>4</sub>期: 早期肝硬化。本研究将S<sub>0</sub>、S<sub>1</sub>级为轻度肝纤维化组、S<sub>2</sub>、S<sub>3</sub>级为中度肝纤维化组、S<sub>4</sub>级为重度纤维化组(即临床肝硬化)即肝硬化组。

**统计学处理** 采用SPSS17.0统计软件, 计量资料以mean±SD表示, 不同纤维化程度组间两两比较采用方差分析, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

1例重度肝纤维化患者造影剂达肝内血管时间及肝组织活检如图1, 其造影后肝实质时间强度-曲线分析图见图2。

各组造影剂到达肝动脉时间、到达门静脉时间比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。轻度肝纤维化组造影剂到达肝静脉显影时间与对照组比



表 1 不同程度肝纤维化组间造影剂到达肝内血管时间比较 (mean  $\pm$  SD)

	轻度肝纤维化组	中度肝纤维化组	肝硬化组	对照组
<i>n</i>	15	29	26	20
到达肝动脉时间	12.13 $\pm$ 2.24	11.17 $\pm$ 3.45	12.89 $\pm$ 1.98	12.02 $\pm$ 1.13
到达门静脉时间	15.43 $\pm$ 4.12	16.65 $\pm$ 4.35	18.83 $\pm$ 4.26	17.13 $\pm$ 1.46
到达肝静脉时间	28.63 $\pm$ 3.14	23.11 $\pm$ 1.34 <sup>a</sup>	20.56 $\pm$ 3.37 <sup>a</sup>	26.27 $\pm$ 1.74
肝实质增强峰值	36.21 $\pm$ 3.89	40.53 $\pm$ 4.63 <sup>a</sup>	46.78 $\pm$ 5.56 <sup>a</sup>	34.13 $\pm$ 2.76
HA-HVTT(s)	11.23 $\pm$ 1.12	9.34 $\pm$ 2.42 <sup>c</sup>	7.13 $\pm$ 1.43 <sup>c</sup>	12.87 $\pm$ 2.21
PV-HVTT(s)	10.35 $\pm$ 1.34	7.17 $\pm$ 2.45 <sup>c</sup>	4.56 $\pm$ 1.54 <sup>c</sup>	10.56 $\pm$ 3.11
PA-HVTT(s)	6.14 $\pm$ 1.16	4.32 $\pm$ 1.73 <sup>c</sup>	2.87 $\pm$ 2.13 <sup>c</sup>	6.75 $\pm$ 1.21

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 对照组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 对照组、轻度肝纤维化组。

表 2 超声造影结果与肝纤维化程度相关性

参数	HA-HVTT	PV-HVTT	PA-HVTT	造影剂到达肝静脉时间
<i>r</i> 值	-0.52	-0.74	-0.41	-0.57
<i>P</i> 值	0.006	0.012	0.009	0.019

较对照组相近或稍有延长, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 时间分别为  $28.63 \pm 3.14$  s、 $26.27 \pm 1.74$  s; 中度及肝硬化组造影剂到达肝静脉显影时间为  $23.11 \pm 1.34$  s 及  $20.56 \pm 3.37$  s, 较轻度肝纤维化组、对照组缩短, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 中度肝纤维化组、肝硬化组的肝实质增强峰值时间较对照组延长, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 时间分别为  $40.53 \pm 4.63$  s、 $46.78 \pm 5.56$  s、 $34.13 \pm 2.76$  s。中度肝纤维化组造影剂PV-HVTT、HA-HVTT和PA-HVTT较对照组、轻度肝纤维化组时间缩短 ( $P < 0.05$ ); 造影剂到达肝静脉时间、PV-HVTT、HA-HVTT和PA-HVTT均随肝纤维化程度的增加而时间缩短, 重度肝纤维化组PV-HVTT、HA-HVTT和PA-HVTT较对照组、轻度肝纤维化组、中度肝纤维化组时间缩短 ( $P < 0.05$ ), 造影剂到达肝静脉时间、PV-HVTT、HA-HVTT和PA-HVTT均随肝纤维化程度的增加而时间缩短(表1)。造影剂到达肝静脉时间、PV-HVTT、HA-HVTT和PA-HVTT均随肝纤维化程度的增加而缩短, 与肝纤维化程度呈负相关(表2)。

### 3 结论

慢性肝炎和肝炎后肝硬化是我国的多发病和常见病, 肝纤维化是慢性肝病的一个中间环节也是一个可逆的过程, 早期诊断及治疗有可能逆转这一病变过程。相反若不能得到及早的诊断

和治疗, 可进一步发展为肝硬化, 转为不可逆过程。超声成像是医学影像学中发展极为迅速的一门学科, 以其便捷、无创、费用低廉等特点, 被广泛应用于慢性肝炎的诊断中。特别是最近超声造影技术的突破性进展, 又为慢性肝病患者的肝脏损伤程度的评价提供了全新的手段。超声造影定量分析软件可通过分析感兴趣区的造影剂微泡总量随时间变化的规律, 获得肝内血管和肝实质的血流灌注参数。因此, 超声造影为评估肝炎肝纤维化血流动力学改变提供了有价值的功能信息<sup>[6,7]</sup>。

本研究使用的超声造影剂SonoVue为一种由微气泡组成的血池型示踪剂, 其微泡平均直径  $2.5 \mu\text{m}$ , 故在血管中的行为与红细胞相似, 而且造影剂微泡性质稳定, 可以被肝窦和网状内皮系统的吞噬细胞吞噬, 使实质回声增强, 从而反映肝内的血流灌注情况<sup>[8,9]</sup>。

本研究中, 在脉冲反相谐波模式下将超声造影剂经肘部浅静脉注入人体后, 微泡经过肺循环后分别经肝动脉和门静脉进入肝实质血窦, 再由小叶间静脉汇合到达肝静脉<sup>[10]</sup>。分析不同程度肝纤维化造影剂到达肝动脉时间、到达门静脉时间、到达肝静脉时间及肝实质增强峰值时间变化规律, 结果表明, 轻度肝纤维化组, 造影剂到达肝静脉显影时间较对照组延长, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 中度肝纤维化组及肝硬化组, 造影剂到达肝静脉显影时间较轻度肝纤维

### ■应用要点

对于慢性肝病患者, 可以通过超声造影技术, 将超声造影剂到达肝静脉时间、肝实质增强峰值时间、及超声造影剂在肝内微循环的渡越时间作为定量指标, 用以判断肝纤维化的程度, 对于更好的指导临床治疗有一定意义。



## ■同行评价

该文题目结构清晰明了,逻辑性好,得出的结论亦真实可信。

化组及对照组缩短,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。分析其形成机制如下,首先在本研究中轻度肝纤维化组中,肝脏纤维化程度较低,肝细胞有点灶状坏死,肝小叶结构完整,枯否细胞增生肥大,造影剂停留于其内,再到达肝静脉,势必会影响肝静脉的显影时间,因此,轻度肝纤维化组的造影剂到达肝静脉的时间与对照组相近甚至略有所延长。与Lim等报道相似<sup>[6]</sup>,后者认为除轻度肝炎造影剂到达肝静脉时间与正常组无明显差异,中、重度肝炎及肝硬化中造影剂到达肝静脉时间均较正常对照组缩短。

随着肝病的发展,肝脏出现肝纤维化、肝硬化,肝硬化血管阻力增高致使门静脉灌注减少,本组显示中度肝纤维化组、肝硬化组的肝实质增强峰值时间较对照组延长。本研究结果显示,中度及重度肝纤维化组的造影剂到达肝静脉时间、肝内微循环的渡越时间(HA-HVTT、PV-HVTT和PA-HVTT)较对照组及轻度肝纤维化组时间缩短( $P<0.05$ );而且与肝纤维化程度有较好的相关性,随着纤维化程度的增加而逐渐缩短。分析其形成机制如下,肝动脉、门静脉的造影剂到达时间主要与肝外体循环有关,而肝静脉的到达时间则与肝外体循环和肝内微循环均密切相关。正常情况下,造影剂注入门静脉,门静脉在肝内反复分支,注入肝血窦,经肝静脉注入下腔静脉。肝纤维化及肝硬化时:(1)肝内血管动脉硬化,使造影剂于动脉期大量到达肝内;(2)肝内肝动脉、门静脉及肝静脉间出现大量短路分流;(3)肝外大量肺动静脉分流;(4)心输出量增加及体循环阻力下降也对通过时间的提前起一定作用。因此,造影剂到达肝静脉时间及肝内渡越时间能较好地反映纤维化所致的肝内微循环改变,且与肝纤维化程度密切相关。

总之,肝炎肝纤维化及肝硬化的患者可以通过超声造影技术,将超声造影剂到达肝静脉时间、肝实质增强峰值时间、及超声造影剂在肝

内微循环的渡越时间作为定量指标,用以判断肝纤维化的程度,为肝炎患者的肝纤维化的程度提供新的诊断手段,对于更好的指导临床的治疗有一定意义。但是由于超声造影应用于此类疾病诊断的时间不长,目前对各观察指标的特异性和敏感性及各指标的综合分析尚待于进一步的研究。

## 4 参考文献

- 1 马春梅,郭启勇,廖伟,郭文力,于涛,冯国强. CT灌注成像在兔肝纤维化模型的研究. 中国医学影像技术 2007; 23: 641-644
- 2 王秋实,郭启勇,梁长虹,刘辉,廖伟. MR弥散加权成像在兔肝纤维化模型中的初步实验研究. 中国医学影像技术 2007; 23: 952-955
- 3 Lewin M, Poujol-Robert A, Boëlle PY, Wendum D, Lasnier E, Viallon M, Guéchet J, Hoeffel C, Arrivé L, Tubiana JM, Poupon R. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2007; 46: 658-665
- 4 解丽梅,郭启勇,刘鑫. 超声造影评价肝纤维化. 中国医学影像技术 2009; 25: 1447-1448
- 5 病毒性肝炎防治方案(试行)(1995年5月北京第五次全国传染病寄生虫病学术会议修订). 中华传染病杂志 1995; 13: 241-247
- 6 Lim AK, Taylor-Robinson SD, Patel N, Eckersley RJ, Goldin RD, Hamilton G, Foster GR, Thomas HC, Cosgrove DO, Blomley MJ. Hepatic vein transit times using a microbubble agent can predict disease severity non-invasively in patients with hepatitis C. *Gut* 2005; 54: 128-133
- 7 Searle J, Mendelson R, Zelesco M, Sanford J, Cheng W, McKinstry C, Ramsay D. Non-invasive prediction of the degree of liver fibrosis in patients with hepatitis C using an ultrasound contrast agent. A pilot study. *J Med Imaging Radiat Oncol* 2008; 52: 130-133
- 8 覃琴,王琛,朱江. 七氟烷预处理中NF- $\kappa$ B的激活对大鼠心肌缺血/再灌注损伤的保护作用. 国际麻醉学与复苏杂志 2008; 29: 197-200
- 9 刘霞,王琛,谢红,覃琴,吴雪梅,乔世刚,刘虹. 七氟烷预处理对心肌缺血/再灌注损伤大鼠心NF- $\kappa$ Bp50活性表达的影响. 国际麻醉学与复苏杂志 2009; 30: 23-28
- 10 丁红,李娜,林希元,范培丽,王文平,王吉耀. 超声造影评估肝纤维化程度的可行性及定量参数筛选. 复旦学报(医学版) 2010; 37: 268-269

编辑 李军亮 电编 闫晋利

# 射频消融对比手术切除治疗小肝癌的Meta分析

孙彪, 郑传胜, 冯敢生, 王勇, 夏向文, 阚雪峰

孙彪, 郑传胜, 冯敢生, 王勇, 夏向文, 阚雪峰, 华中科技大学同济医学院附属协和医院介入放射科 湖北省武汉市 430022  
作者贡献分布: 课题设计由孙彪、郑传胜及冯敢生设计; 评价文献并交叉核对由王勇与夏向文完成; 阚雪峰提供第三方意见; 数据分析及论文写作修改由孙彪、郑传胜及王勇完成。

通讯作者: 郑传胜, 教授, 430022, 湖北省武汉市, 华中科技大学同济医学院附属协和医院介入放射科. hqzcsxh@sina.com

电话: 027-87526807

收稿日期: 2011-05-11 修回日期: 2011-10-06

接受日期: 2011-10-28 在线出版日期: 2011-11-08

## Radiofrequency ablation versus surgical resection for small hepatocellular carcinoma: a meta-analysis

Biao Sun, Chuan-Sheng Zheng, Gan-Sheng Feng, Yong Wang, Xiang-Wen Xia, Xue-Feng Kan

Biao Sun, Chuan-Sheng Zheng, Gan-Sheng Feng, Yong Wang, Xiang-Wen Xia, Xue-Feng Kan, Department of Radiology, the Affiliated Wuhan Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Correspondence to: Chuan-Sheng Zheng, Professor, Department of Radiology, the Affiliated Wuhan Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China. hqzcsxh@sina.com

Received: 2011-05-11 Revised: 2011-10-06

Accepted: 2011-10-28 Published online: 2011-11-08

## Abstract

**AIM:** To compare the therapeutic effects of radiofrequency ablation (RFA) and surgical hepatic resection (HR) in the treatment of small hepatocellular carcinoma (HCC).

**METHODS:** Literature about the controlled trials evaluating the efficacy between RFA and HR for the treatment of small HCC published between 1991 and 2011 were searched electronically. The criteria recommended by the Cochrane Handbook 4.2.2 for Systematic Reviews of Interventions were used for choosing the trails and assessing the quality of included studies. RevMan5.0.25 software was used for systematic review and meta-analysis.

**RESULTS:** Two randomized controlled trials and nine non-randomized controlled trials

were included. A total of 2 965 patients were involved: 1 459 patients were treated with radiofrequency ablation as the initial treatment and 1 506 patients with surgical resection. Compared to the RFA group, the 3, 5-year survival rates and 1, 3, 5-year recurrence-free survival rates in the HR group was significantly higher (all  $P < 0.05$ ). There were no significant difference in the 1-year survival rate between the RFA group and HR group ( $P > 0.05$ ). Complications were significantly fewer in the RFA group than in the HR group ( $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Surgical resection has more major complications than radiofrequency ablation, but the overall efficacy of surgical resection is better than radiofrequency ablation in the management of small HCC.

**Key Words:** Hepatocellular carcinoma; Radiofrequency ablation; Surgical resection; Meta-analysis

Sun B, Zheng CS, Feng GS, Wang Y, Xia XW, Kan XF. Radiofrequency ablation versus surgical resection for small hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(31): 3255-3263

## 摘要

**目的:** 比较射频消融术与外科手术切除在治疗小肝癌中的疗效。

**方法:** 计算机检索1991-2011年发表的有关采用射频消融术(radiofrequency ablation, RFA)与外科手术肝切除(surgical hepatic resection, HR)治疗小肝癌的对照试验, 按照Cochrane系统评价员手册4.2.2版所推荐的质量评价标准来筛选试验, 评价纳入研究的方法学质量, 用RevMan5.0.25版软件对研究进行系统评价及Meta分析。

**结果:** 共纳入2个随机对照试验, 9个非随机对照试验, 其中英文9篇, 中文1篇, 韩文1篇。所纳入的研究共包括2 965例患者: 其中射频消融组患者1 459例、外科手术切除组患者1 506例。Meta分析表明: 外科手术组在3年、5年生存率及1、3、5年无瘤生存率上明显高于射

## ■背景资料

目前手术切除是治疗小肝癌的首选, 射频消融也被认为小肝癌根治性方法, 究竟哪一种治疗方法效果好, 相关文献报道很多, 但存在很大争论。

## ■同行评议者

倪才方, 教授, 苏州大学附属第一医院介入科

## ■ 研发前沿

目前射频消融治疗小肝癌成为热点,但缺乏设计合理、严格执行的多中心、大样本且随访时间足够的随机双盲对照试验。

射频消融组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),两者1年生存率相比无显著差异( $P>0.05$ );术后严重并发症射频消融组明显低于外科手术组( $P<0.05$ )。

**结论:** 现有的证据表明,对于小肝癌,射频消融术后严重并发症明显少于外科手术切除,但是外科手术切除治疗小肝癌总体疗效仍明显优于射频消融治疗。

**关键词:** 肝癌; 射频消融; 外科手术; Meta分析

孙彪, 郑传胜, 冯敏生, 王勇, 夏向文, 阙雪锋. 射频消融对比手术切除治疗小肝癌的Meta分析. 世界华人消化杂志 2011; 19(31): 3255-3263

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3255.asp>

## 0 引言

原发性肝癌每年全球的发病率位居恶性肿瘤第5位,死亡率位居第3位<sup>[1]</sup>,并且其发病率仍在不断上升<sup>[2]</sup>。虽然随着各种诊断肝癌技术的不断提高,单发病灶直径 $<5$  cm或多发病灶 $<3$  cm,数量 $<3$ 个的小肝癌的检出率与确诊率较以前也有了很大的提高,但是目前仍不能从根本上治愈肝癌<sup>[3]</sup>。长期以来外科手术以其远期疗效好的优势被作为小肝癌的首选治疗手段,因此一直作为早期可切除的小肝癌治疗的金标准<sup>[4]</sup>,但由于受到肿瘤位置以及患者心、肝、肾功能及患者自身意愿等多方面因素的影响,小肝癌的手术切除率也受到了一定程度的限制<sup>[5]</sup>。从20世纪80年代以来,以经导管动脉化疗栓塞(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)为代表的介入放射治疗在临床应用中日益普及,已广泛的应用于肝癌的治疗,其通过血管内注入抗肿瘤物质及栓塞剂使肿瘤细胞缺血坏死,从而延长患者生命<sup>[6]</sup>。一段时间内,经皮无水乙醇消融术(percutaneous ethanol injection, PEI)以其能通过局部注射使肝癌组织凝固坏死的作用而成为肝癌治疗的重要手段,曾经有研究<sup>[7]</sup>称无水乙醇注射小肝癌的疗效与手术切除相似,但是随后的相关临床研究<sup>[8]</sup>并不完全支持此种观点。近些年来,射频消融(RFA)等热消融技术不断发展,其能使靶区范围内肿瘤组织完全坏死从而比化学消融在治疗小肝癌的应用中更加有效<sup>[9]</sup>。研究表明射频消融治疗具有创伤小、并发症少、方便可靠、适用范围广、住院时间短等优点,已越来越多地应用于肝癌的治疗,并成为当今小肝癌治疗研究的重点和热点<sup>[10]</sup>。

正因为如今肝癌治疗手段的多样化,如何选择最适合患者的治疗方案引起广泛争议,目前认为手术切除仍然是治疗肝癌的首选,但有人认为RFA可以达到与外科手术一致的效果。为此国内外不少学者做出临床研究,本文采用固定效应模型及随机效应模型进行Meta分析,对这些数据进行系统评价,探讨射频消融与外科手术切除在治疗小肝癌中的疗效,从而为临床工作中小肝癌治疗方案的选择提供循证医学的依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 国外文献检索Medline/Pubmed、Cochrane图书馆、EMbase数据库、国立研究注册The National Research Register(NRR)、Ovid循证医学数据库等;国内文献检索中国生物医学文献数据库(CBMdisc)、中国循证医学/Cochrane中心数据库(CCEBM/CCD)、维普科技期刊全文数据库、中国期刊网全文数据库(CNKI)、中国学位论文全文数据库(万方)并辅以文献追溯和手工检索等方法,收集国内1991年至今公开发表的期刊论文。检索词为:“radiofrequency ablation”、“resection”、“hepatectomy”、“compare”“versus”“vs”“hepatocellular carcinoma”和“射频消融”、“外科切除”、“原发性肝癌”、“随机对照”、“对比”。文献检索无语种限制,所有检索采用主题词与自由词相结合的方式,预检索后确定检索策略并扩大检索,然后从中选择最佳的研究。

### 1.2 方法

**1.2.1 纳入标准:** (1)所有病例均经病理学证实或经2种以上影像学检查结合临床资料诊断为原发性肝癌;(2)初检为肝细胞癌,未接受过任何抗癌治疗(如TACE、PEI等);(3)肿瘤大小均为单发病灶直径 $<5$  cm或多发病灶,每个 $<3$  cm、数量 $<3$ 个;(4)无远处转移及血管侵犯;(5)研究对象均为临床对照研究病例(比较对象为RFA与HR)无论是否随机或使用盲法;(6)所选的研究病例中不考虑HR及RFA方法学对结果的影响。如:HR组开腹手术或腹腔镜手术的选择及RFA组中射频电极、射频时间、射频条件的选择。

**1.2.2 排除标准:** (1)只采用了1种治疗方法,未作对比研究;(2)转移性肝癌或已接受过治疗的复发性肝癌;(3)有血管侵犯、远处转移或存在其他病变;(4)没有报告1年、3年生存率及无瘤生存率等评价指标;(5)随访时间太短( $<3$ 年)或样本

表 1 研究类型及质量

作者	研究时间	类型	随机方法	分配隐藏	盲法	失访	质量
Hen等 <sup>[12]</sup>	1999-2004	RCT	未描述	未描述	未描述	描述	B
Lu等 <sup>[13]</sup>	2002-2005	RCT	未描述	充分	充分	描述	B
Peng等 <sup>[14]</sup>	1999-2004	NRCT	非随机	未描述	未描述	描述	C
Cho等 <sup>[15]</sup>	2000-2002	NRCT	非随机	未描述	未描述	描述	C
Guglielmi等 <sup>[16]</sup>	1996-2006	NRCT	非随机	未描述	未描述	描述	C
Guo等 <sup>[17]</sup>	2002-2007	NRCT	非随机	未描述	未描述	描述	C
Hiraoka等 <sup>[18]</sup>	2000-2007	NRCT	非随机	未描述	未描述	描述	C
Huang等 <sup>[19]</sup>	2000-2005	NRCT	非随机	未描述	未描述	描述	C
Ogihara等 <sup>[20]</sup>	1995-2003	NRCT	非随机	未描述	未描述	描述	C
Vivarelli等 <sup>[21]</sup>	1998-2002	NRCT	非随机	描述	未描述	描述	C
Ueno等 <sup>[22]</sup>	2000-2005	NRCT	非随机	未描述	未描述	描述	C

RCT: 随机对照试验; NRCT: 非随机对照试验。

量太小(<80)。

1.2.3 文献质量评价与资料获取: 由2名研究者独立评价文献并交叉核对, 进行一致的评价。若对文献的提取和质量分析的结果存在分歧, 进行讨论或征求第三方的意见。质量评价按照Cochrane系统评价员手册4.2.2版推荐的质量评价标准评价纳入研究的质量, 即根据所纳入研究是否随机分配、是否隐藏分配方案、是否采用盲法、是否描述失访来评价纳入研究的方法学质量。

**统计学处理** 对收集的资料, 采用Cochrane协作网RevMan5.0.25版软件进行Meta分析。首先对所纳入的研究进行异质性分析, 采用 $\chi^2$ 检验分析统计学异质性, 显著性水平 $\alpha = 0.10$  ( $P < 0.10$  为存在异质性)。 $I^2$ 也可用于评价纳入试验的异质性: <25%为轻度异质性; 25%-50%为中度异质性; >50%为存在高度异质性<sup>[11]</sup>。若各研究间无统计学异质性, 采用固定效应模型, 用Mantel-Haenzel法分析; 若各研究间存在统计学异质性, 则采用随机效应模型, 用Inverse-Variance法分析。分类变量之间的关系采用比值比(odds ratio, OR)及其95%可信区间(95%CI)表示。OR用来衡量生存、未复发及发生严重并发症人数与治疗方法的关联程度, OR>1及前者关联程度大于后者; 反之, OR<1则小于后者; 95%CI为OR有95%概率在此区间, 若95%CI包含1, 则无统计学意义。

## 2 结果

2.1 文献检索结果 根据以上标准初筛出文献231篇, 经阅读文献标题及摘要后发现只有4篇为随机对照实验, 排除为同一作者的1篇中文

文献及1篇分析研究法文文献, 最终保留2篇英文随机对照试验(RCT)<sup>[12,13]</sup>; 再次扩大检索, 从31个非随机对照试验(NRCT)中筛选出9篇, 其中中文文献1篇<sup>[14]</sup>, 韩文文献1篇<sup>[15]</sup>, 英文文献7篇<sup>[16-22]</sup>。所纳入的11个研究中, 2个RCT均采用了随机并描述了失访及退出的情况, 但未描述随机分配的隐藏方法及盲法, 质量评价为B级(有发生相应偏倚的中等度可能性); 另外9个NRCT质量评价为C级(有发生相应偏倚的高等度可能性)(表1)。

所纳入的研究共包括2 965例患者: 其中直接采用射频消融术治疗的患者1 459例、外科手术切除的患者1 506例。随访过程均为相关影像学检测, 如B超、CT、MRI, 再结合体格检查、血AFP等。随访过程中如果发现有肝内复发或肝外转移, 再根据病情给予切除、射频消融、微波消融、酒精消融、TACE或放化疗等治疗。这些临床研究样本最大的有1 061例<sup>[19]</sup>, 最小的也有85例<sup>[20]</sup>, 各自纳入研究的患者临床特征综合见表2。

2.2 Meta分析 射频消融RFA与外科手术对比治疗小肝癌的疗效主要以治疗后1年、3年、5年生存率和1年、3年、5年无瘤生存率及术后主要并发症等方面指标进行评价, 结果如下:

2.2.1 1年生存率: 11组研究<sup>[12-22]</sup>比较了肝癌治疗后1年生存率情况, 以比值比作为效应尺度指标, 对RFA组与HR组间异质性进行 $\chi^2$ 检验, 得出 $P = 0.31$  ( $>0.10$ ),  $I^2 = 14\%$  ( $<25\%$ ), 可认为2个研究组之间无异质性, 故采用固定效应模型进行Meta分析, 结果显示OR: 0.78, 95%CI(0.61, 1.01),  $P = 0.06$ , 两组差异无统计

### ■相关报道

文献报道中2种治疗方式的结论不一, 国外有过类似分析, 但样本量相对小, 结论可信度相对低。

## ■创新盘点

综合分析2种治疗方法的生存率、无瘤生存率及并发症,采用循证医学的方法进行比较。

表 2 分组及患者基本情况

作者	分组	人数	男/女	年龄(岁)	肝功能A/B/C	随访时间 (mo)
Chen等 <sup>[12]</sup>	RFA	71	56/15	51.9 ± 11.2	71/0/0	27.9 ± 10.6
	HR	90	75/15	49.4 ± 10.9	90/0/0	29.2 ± 11.9
Lu等 <sup>[13]</sup>	RFA	51	42/9	49 ± 14	46/5/0	—
	HR	54	37/17	55 ± 13	50/4/0	—
Peng等 <sup>[14]</sup>	RFA	251	220/31	43.2 ± 24.1	251/0/0	—
	HR	183	157/26	49.5 ± 11.2	183/0/0	—
Cho等 <sup>[15]</sup>	RFA	99	76/23	58	99/0/0	23 ± 9.4
	HR	61	48/13	57	61/0/0	21.9 ± 9.8
Guglielmi等 <sup>[16]</sup>	RFA	109	88/21	—	64/45/0	23
	HR	91	73/18	—	69/22/0	32
Guo等 <sup>[17]</sup>	RFA	86	63/23	52.5	84/2/0	27
	HR	73	57/16	50	71/2/0	30
Hiraoka等 <sup>[18]</sup>	RFA	105	76/29	69.4 ± 9.1	79/26/0	43.8
	HR	59	44/15	62.4 ± 10.6	45/4/0	48
Huang等 <sup>[19]</sup>	RFA	413	361/52	54.67 ± 12.18	413/0/0	36.1 ± 12.4
	HR	648	489/159	46.13 ± 16.89	648/0/0	33.7 ± 17.4
Ogihara等 <sup>[20]</sup>	RFA	40	19/21	69 ± 10	18/22/0	16
	HR	45	29/18	60 ± 12	40/5/0	16
Vivarelli等 <sup>[21]</sup>	RFA	79	67/12	67.8 ± 8.7	46/33/0	15.6 ± 11.7
	HR	79	57/22	65.2 ± 8.2	66/13/0	28.9 ± 17.9
Ueno等 <sup>[22]</sup>	RFA	155	100/55	66	52/92/11/	36.8 ± 1.5
	HR	123	82/41	67	91/31/1	35.0 ± 1.7

RFA: 射频消融术; RFA+TACE: 射频消融联合经导管动脉化疗栓塞。

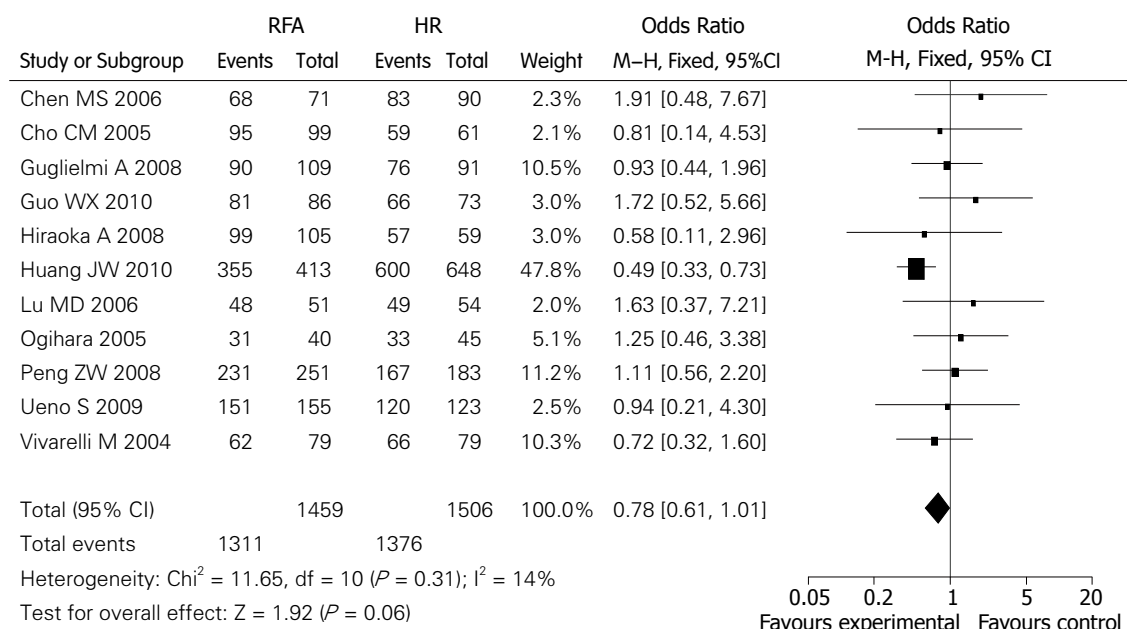


图 1 射频消融与手术切除对小肝癌1年生存率的比较。

学意义(图1)。

2.2.2 3年生存率: 上面的11组同样比较了治疗后3年生存率情况, 异质性检验显示RFA组与HR组之间 $P = 0.04$  ( $< 0.10$ ),  $I^2 = 49\%$  ( $< 50\%$ ), 认为2个研

究组之间有轻度异质性, 仍采用固定效应模型进行Meta分析, 结果显示OR: 0.49, 95%CI(0.41, 0.57),  $P < 0.00001$ , 两组差异有统计学意义(图2)。

2.2.3 5年生存率: 在RFA与HR比较的研究中共



## ■应用要点

为临床治疗小肝癌的工作提供循证医学的依据, 让临床治疗有据可循。

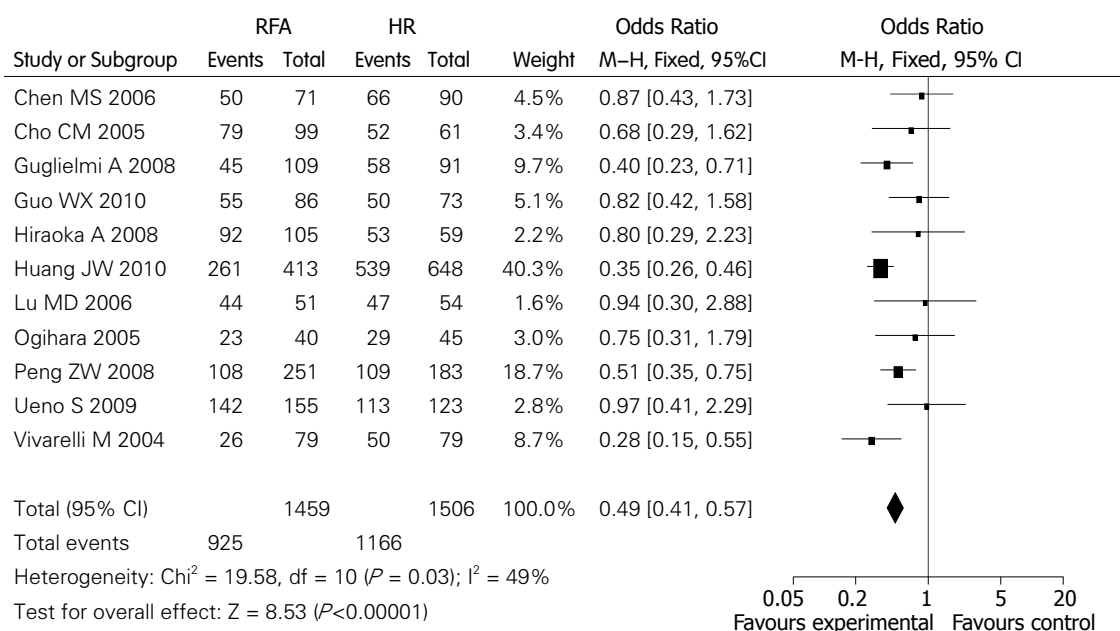


图 2 射频消融与手术切除对小肝癌3年生存率的比较。

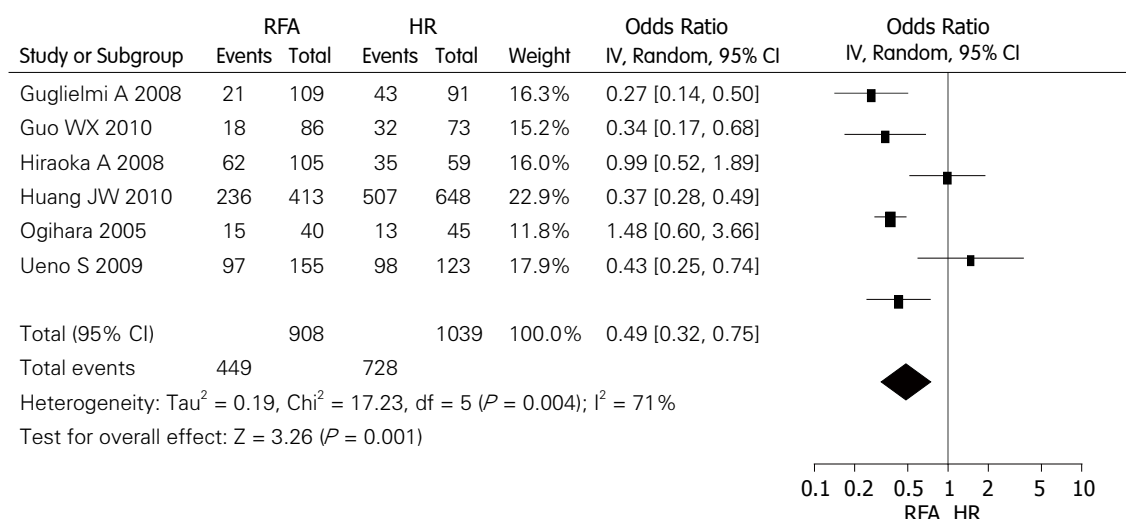


图 3 射频消融与手术切除对小肝癌5年生存率的比较。

有6个研究<sup>[16-21]</sup>随访到了5年并进行了5年生存率的分析, 异质性检验示 $P = 0.004$  ( $< 0.10$ ),  $I^2 = 71\%$  ( $> 50\%$ ), 存在中度异质性, 采用随机效应模型分析, 结果表明两组差异有统计学意义[OR: 0.49, 95%CI(0.32, 0.74),  $P = 0.001$ ](图3)。

2.2.4 1年、3年、5年无瘤生存率: 研究RFA与HR的11个研究均统计了1年及3年的无瘤生存率, 异质性分析两组间分别存在中度异质性( $P = 0.009$ ,  $I^2 = 57\%$ )和高度异质性( $P < 0.00001$ ,  $I^2 = 83\%$ ), 采用随机效应模型进行分析, 结果表明2个研究组1年无瘤生存率的差异[OR: 0.68, 95%CI(0.20, 0.81),  $P = 0.01$ ]和3年无瘤生存率的差异[OR: 0.56, 95%CI(0.36, 0.85),  $P = 0.007$ ]均有统计学意

义; 同样的, 6个研究<sup>[16-21]</sup>随访到了5年并进行了5年生存率的分析, 异质性检验示( $P = 0.03$ ),  $I^2 = 14\%$ , 轻度异质性, 采用固定效应模型分析, 结果表明两组差异显著, [OR: 0.52, 95%CI(0.42, 0.63),  $P < 0.00001$ ]有统计学意义(图4-6)。

2.2.5 治疗后严重并发症: 统计治疗后严重并发症, 如: 消化道出血、中/重度腹水、严重感染、胆道损伤、黄疸, 肝功能衰竭甚至死亡等。将RFA与HR比较的6个研究<sup>[13,16-19, 22]</sup>比较射频组与手术组之间的并发症发生率, 组间无异质性( $P = 0.48$ ,  $I^2 = 0\%$ ), 采用固定效应模型, 两组间差异明显, 有统计学意义[OR: 0.68, 95%CI(0.18, 2.57),  $P < 0.00001$ ](图7)。

### ■名词解释

Meta分析: 用统计学方法对收集的多个研究资料进行分析和概括, 以提供量化的平均效果来回答研究的同一个问题, 通过增大样本量来减少抽样误差, 从而增加结论的可信度, 解决研究结果的不一致性。

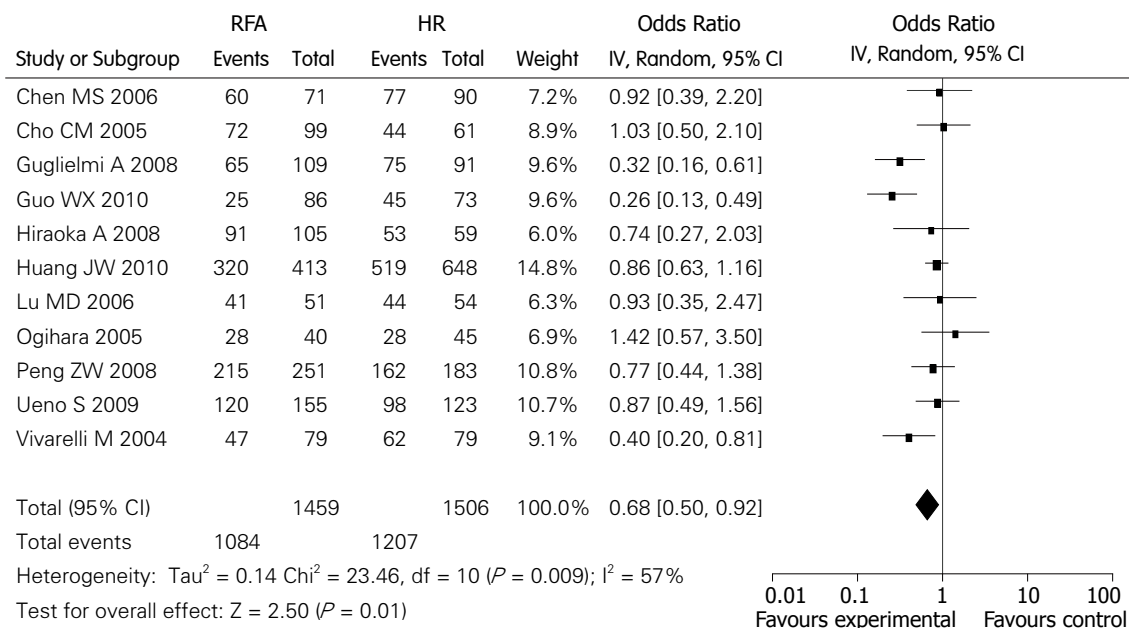


图 4 射频消融与手术切除对小肝癌1年无瘤生存率的比较.

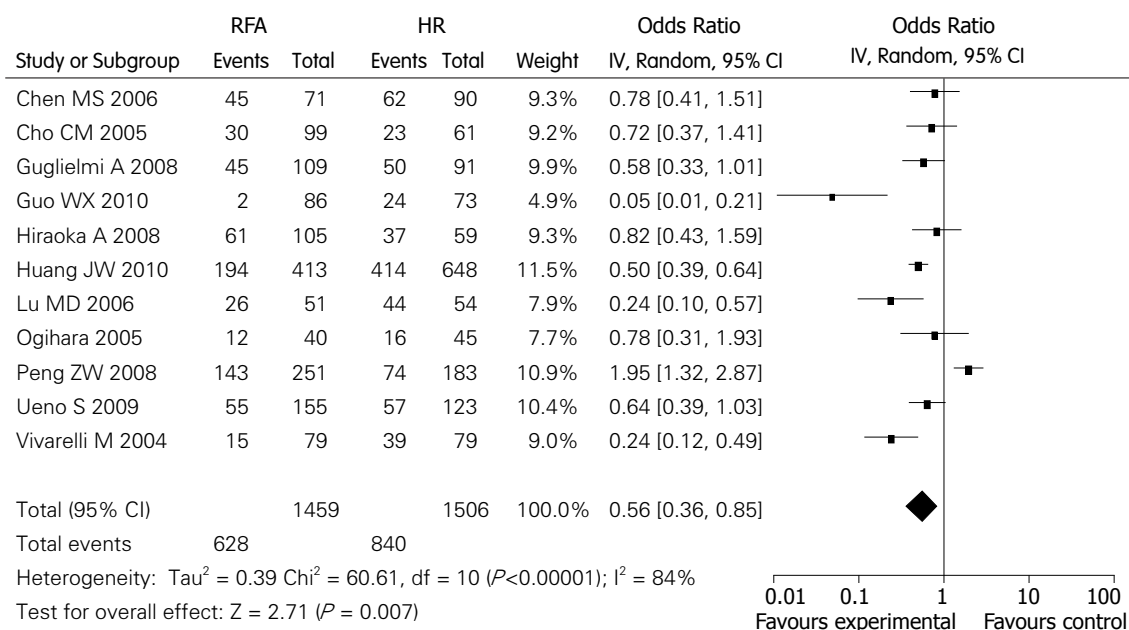


图 5 射频消融与手术切除对小肝癌3年无瘤生存率的比较.

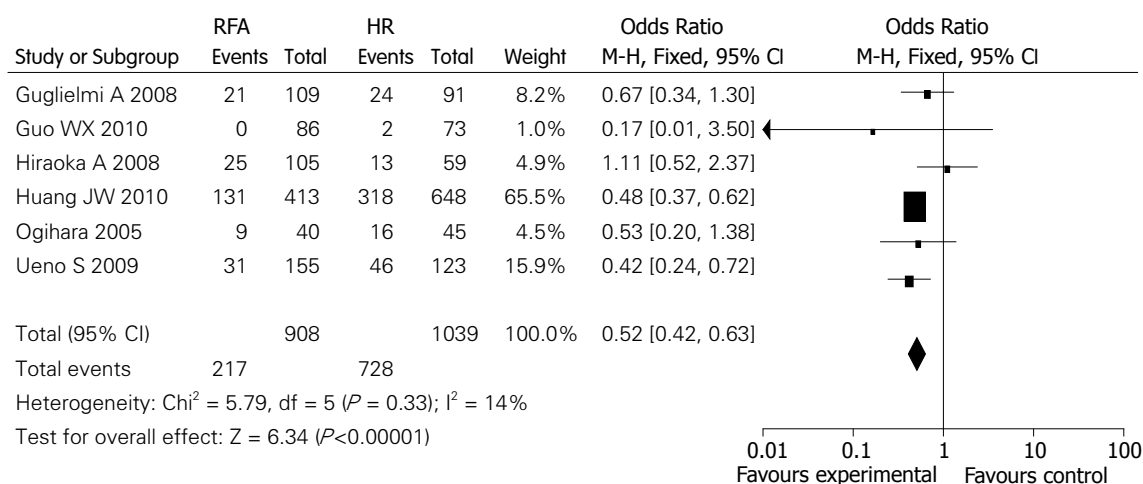
2.2.6 敏感性分析及发表偏倚: 无论是RFA组还是HR组, 治疗后总体生存率、无瘤生存率、主要并发症等都各自用固定效应模型或随机效应模型计算, 得到的结果与合并的结果相似。再对每个比较研究做漏斗图(图8), 分析时发现散点基本呈倒漏斗状分布, 左右对称, 提示没有发表偏倚, 故所得的结论相对可靠。

### 3 讨论

目前临床上针对原发性肝癌的治疗方法有很多, 主要有肝移植、手术切除、经导管动脉化疗栓

塞、射频消融、无水乙醇消融、微波治疗、冷冻治疗、放射性粒子植入、免疫治疗及分子靶向药物治疗等<sup>[23,24]</sup>。一直以来, 对于小肝癌的传统及首选治疗方案是外科手术切除。近些年来, 随着射频消融术的实验研究和临床应用的不断深入, 其被认为有可能成为治疗肝癌的一线治疗方案, 因此有大量的对照试验将手术切除与射频消融作对比。为了验证其有效性及安全性, 有必要把现有的相关对照试验治疗进行Meta分析, 从而为临床合理应用提供循证依据。

射频消融是将电极插入肿瘤中, 通过引导



## ■同行评价

本文采用Meta分析的方法进行资料的回顾性整理, 对临床工作有一定指导性意义。

图 6 射频消融与手术切除对小肝癌5年无瘤生存率的比较.

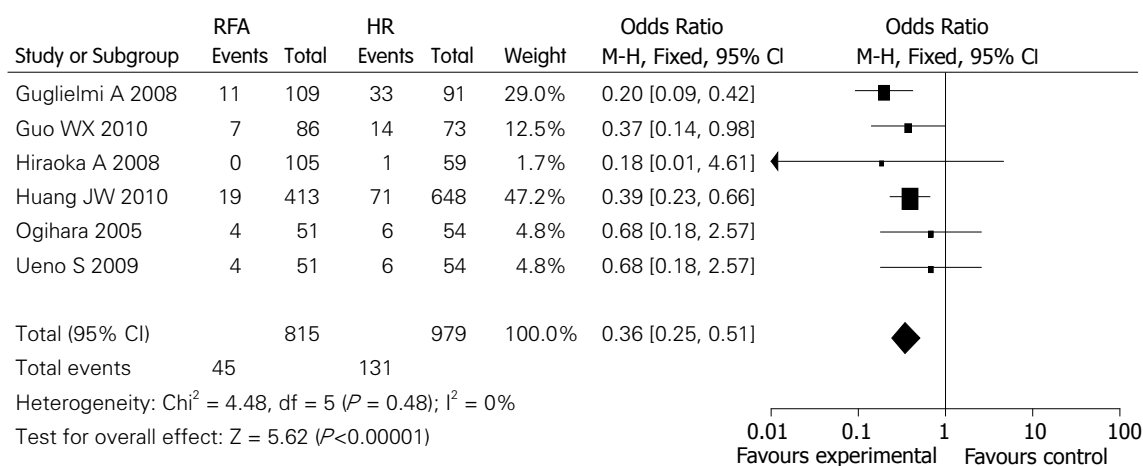


图 7 射频消融与手术切除术后严重并发症的比较.

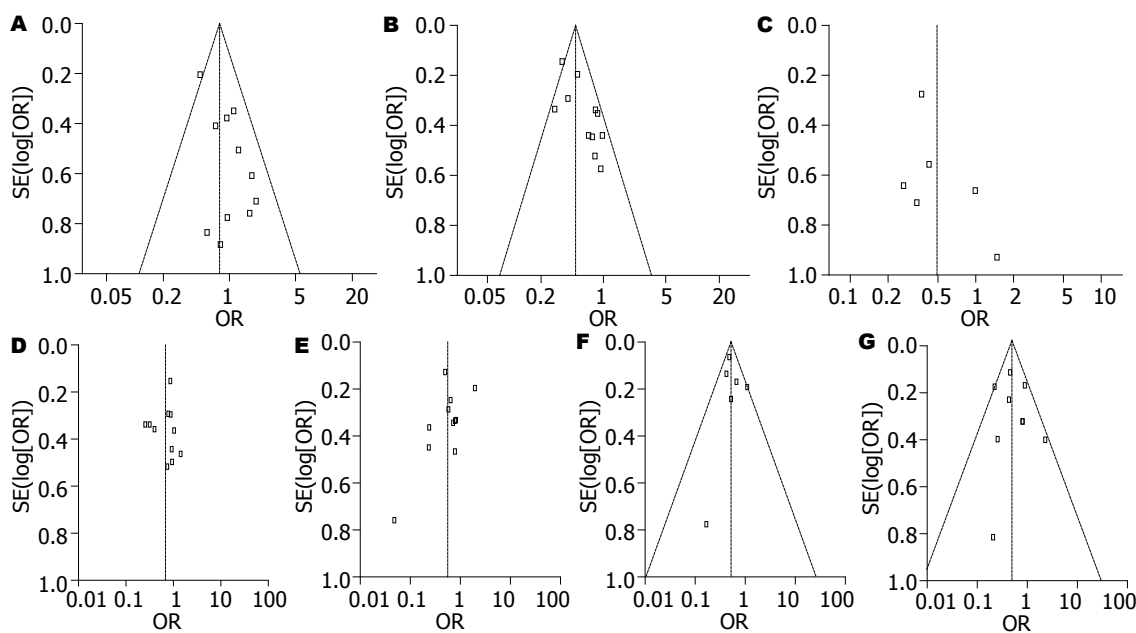


图 8 对每个比较研究做漏斗图. A: 1年生存率; B: 3年生存率; C: 5年生存率; D: 1年无瘤生存率; E: 3年无瘤生存率; F: 5年无瘤生存率; G: 术后严重并发症.

组织的离子高速震荡,从而使肿瘤和细胞高温变性、凝固坏死。现在主要应用于不能切除的原发性肝癌<sup>[25]</sup>、转移性肝癌<sup>[26]</sup>、术后复发性肝癌<sup>[27]</sup>、或不愿手术切除的患者。因为能大幅提高肝癌患者的生活质量、延长生存时间、减轻患者的痛苦,射频消融具有创伤小、并发症少、重复性强等优点,已被作为治疗肝癌的主要疗法之一<sup>[28]</sup>。本研究的结果显示:在小肝癌患者术后生存率方面,手术切除与射频消融短期疗效(1年生存率)无明显差别,但是在远期生存率方面手术切除仍较射频消融有比较明显的优势。对肝癌而言,无论采取何种治疗,治疗后肝内复发都是影响患者长期生存的主要原因。本研究发现,小肝癌射频消融术后复发率普遍高于手术切除组,其1年、3年、5年无瘤生存率明显低于手术组。在提高患者无瘤生存率、防止肿瘤复发等方面,手术切除治疗占据优势。这可能是因为射频消融主要是针对影像学上可见的病灶进行治疗,从而导致残留微小病灶或忽略掉一些卫星灶,而外科手术切除能彻底切除肿瘤病灶的同时清除沿肿瘤门静脉属支转移的微小癌灶。另外,影响射频消融治疗效果的因素比手术切除要多,例如肿瘤的形状及分布、消融的范围,射频条件的主观选择等。

另一组对比发现,射频消融在术后并发症方面展现出外科手术所不具备的特点,其治疗后出现的如消化道出血、中/重度难治性腹水、感染、肝脓肿、黄疸、肝功能衰竭甚至死亡等主要并发症明显少于手术切除,因此其适应证相对于传统的外科手术切除更广,手术风险及术后并发症发生率也相对小些,操作相对安全。

由此可见,对于小肝癌,射频消融是一种安全有效的治疗方法,可以作为肝癌的主要治疗手段之一。但是在提高生存率及控制复发等方面,外科手术切除较前者有一定的优势,仍应作为小肝癌的首选治疗方法。由于此分析纳入的随机对照试验数量较少,大部分研究的质量为C级,使结论论证强度受到一定程度的限制。因此,我们期待将来有更多设计合理、严格执行的多中心、大样本且随访时间足够的随机双盲对照试验,以给肝癌的治疗选择提供更高质量的证据。

#### 4 参考文献

- 1 El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology* 2007; 132: 2557-2576
- 2 Bosch FX, Ribes J, Cléries R, Díaz M. Epidemiology of hepatocellular carcinoma. *Clin Liver Dis* 2005; 9: 191-211, v
- 3 Simonetti RG, Cammà C, Fiorello F, Politi F, D'Amico G, Pagliaro L. Hepatocellular carcinoma. A worldwide problem and the major risk factors. *Dig Dis Sci* 1991; 36: 962-972
- 4 Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2005; 42: 1208-1236
- 5 Clark HP, Carson WF, Kavanagh PV, Ho CP, Shen P, Zagoria RJ. Staging and current treatment of hepatocellular carcinoma. *Radiographics* 2005; 25 Suppl 1: S3-23
- 6 Llovet JM, Real MI, Montaña X, Planas R, Coll S, Aponte J, Ayuso C, Sala M, Muchart J, Solà R, Rodés J, Bruix J. Arterial embolisation or chemoembolisation versus symptomatic treatment in patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised controlled trial. *Lancet* 2002; 359: 1734-1739
- 7 Yamamoto J, Okada S, Shimada K, Okusaka T, Yamasaki S, Ueno H, Kosuge T. Treatment strategy for small hepatocellular carcinoma: comparison of long-term results after percutaneous ethanol injection therapy and surgical resection. *Hepatology* 2001; 34: 707-713
- 8 Arii S, Yamaoka Y, Futagawa S, Inoue K, Kobayashi K, Kojiro M, Makuuchi M, Nakamura Y, Okita K, Yamada R. Results of surgical and nonsurgical treatment for small-sized hepatocellular carcinomas: a retrospective and nationwide survey in Japan. The Liver Cancer Study Group of Japan. *Hepatology* 2000; 32: 1224-1229
- 9 Lencioni RA, Allgaier HP, Cioni D, Olschewski M, Deibert P, Crocetti L, Frings H, Laubenberger J, Zuber I, Blum HE, Bartolozzi C. Small hepatocellular carcinoma in cirrhosis: randomized comparison of radio-frequency thermal ablation versus percutaneous ethanol injection. *Radiology* 2003; 228: 235-240
- 10 Befeler AS, Di Bisceglie AM. Hepatocellular carcinoma: diagnosis and treatment. *Gastroenterology* 2002; 122: 1609-1619
- 11 Higgins JP, Thompson SG. Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. *Stat Med* 2002; 21: 1539-1558
- 12 Ivashkin VT, Sinopal'nikov AI, Budko AA. [The epidemiological, clinical, diagnostic and treatment aspects of Legionella infection]. *Voen Med Zh* 1992; (9): 40-44
- 13 Lü MD, Kuang M, Liang LJ, Xie XY, Peng BG, Liu GJ, Li DM, Lai JM, Li SQ. [Surgical resection versus percutaneous thermal ablation for early-stage hepatocellular carcinoma: a randomized clinical trial]. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2006; 86: 801-805
- 14 彭振维, 徐立, 陈敏山, 高恒军, 梁惠宏, 张耀军, 林小军, 李锦清. 原位射频消融与手术治疗小肝癌对比研究. *中国实用外科杂志* 2008; 28: 633-636
- 15 Cho CM, Tak WY, Kweon YO, Kim SK, Choi YH, Hwang YJ, Kim YI. [The comparative results of radiofrequency ablation versus surgical resection for the treatment of hepatocellular carcinoma]. *Korean J Hepatol* 2005; 11: 59-71
- 16 Guglielmi A, Ruzzenente A, Valdegamberi A, Pachera S, Campagnaro T, D'Onofrio M, Martone E, Nicoli P, Iacono C. Radiofrequency ablation versus surgical resection for the treatment of hepatocellular carcinoma in cirrhosis. *J Gastrointest Surg* 2008; 12: 192-198
- 17 Guo WX, Zhai B, Lai EC, Li N, Shi J, Lau WY, Wu MC, Cheng SQ. Percutaneous radiofrequency ablation versus partial hepatectomy for multicentric



- small hepatocellular carcinomas: a nonrandomized comparative study. *World J Surg* 2010; 34: 2671-2676
- 18 Hiraoka A, Horiike N, Yamashita Y, Koizumi Y, Doi K, Yamamoto Y, Hasebe A, Ichikawa S, Yano M, Miyamoto Y, Ninomiya T, Otomi Y, Kokame M, Iwamura T, Ishimaru Y, Sogabe I, Kashiwara K, Nishiura S, Ootani H, Takamura K, Kawasaki H. Efficacy of radiofrequency ablation therapy compared to surgical resection in 164 patients in Japan with single hepatocellular carcinoma smaller than 3 cm, along with report of complications. *Hepatogastroenterology* 2008; 55: 2171-2174
  - 19 Huang J, Hernandez-Alejandro R, Croome KP, Yan L, Wu H, Chen Z, Prasoon P, Zeng Y. Radiofrequency ablation versus surgical resection for hepatocellular carcinoma in Childs A cirrhotics-a retrospective study of 1,061 cases. *J Gastrointest Surg* 2011; 15: 311-320
  - 20 Joseph TD, Bose SK. A heat-labile protein of Chlamydia trachomatis binds to HeLa cells and inhibits the adherence of chlamydiae. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991; 88: 4054-4058
  - 21 Ueno S, Sakoda M, Kubo F, Hiwatashi K, Tateno T, Baba Y, Hasegawa S, Tsubouchi H. Surgical resection versus radiofrequency ablation for small hepatocellular carcinomas within the Milan criteria. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2009; 16: 359-366
  - 22 Bestor TH, Gundersen G, Kolstø AB, Prydz H. CpG islands in mammalian gene promoters are inherently resistant to de novo methylation. *Genet Anal Tech Appl* 1992; 9: 48-53
  - 23 Qian J, Feng GS, Vogl T. Combined interventional therapies of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 1885-1891
  - 24 Machi J, Bueno RS, Wong LL. Long-term follow-up outcome of patients undergoing radiofrequency ablation for unresectable hepatocellular carcinoma. *World J Surg* 2005; 29: 1364-1373
  - 25 Chow DH, Sinn LH, Ng KK, Lam CM, Yuen J, Fan ST, Poon RT. Radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma and metastatic liver tumors: a comparative study. *J Surg Oncol* 2006; 94: 565-571
  - 26 Ren ZG, Gan YH, Fan J, Chen Y, Wu ZQ, Qin LX, Ge NL, Zhou J, Xia JL, Wang YH, Ye QH, Wang L, Ye SL. [Treatment of postoperative recurrence of hepatocellular carcinoma with radiofrequency ablation comparing with repeated surgical resection]. *Zhonghua Waike Zazhi* 2008; 46: 1614-1616
  - 27 Kudo M. Radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma: updated review in 2010. *Oncology* 2010; 78 Suppl 1: 113-124
  - 28 Xu HX, Lu MD, Xie XY, Yin XY, Kuang M, Chen JW, Xu ZF, Liu GJ. Prognostic factors for long-term outcome after percutaneous thermal ablation for hepatocellular carcinoma: a survival analysis of 137 consecutive patients. *Clin Radiol* 2005; 60: 1018-1025

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》外文字符标准

**本刊讯** 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60=Bq, pH不能写PH或P<sup>H</sup>, *H pylori*不能写成HP, T<sub>1/2</sub>不能写成tl/2或T<sub>1/2</sub>, V<sub>max</sub>不能V<sub>max</sub>, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示。如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种。如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylaniline(*N*-甲基乙酰胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸)。拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), *S*(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, °C), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), *ρ*(密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), *φ*(体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), *T*<sub>max</sub>, *C*<sub>max</sub>, *V*<sub>d</sub>, *T*<sub>1/2</sub> *CI*等。基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白。

# <sup>125</sup>I放射性粒子植入治疗肝转移癌的近期疗效

郑加贺, 畅智慧, 刘兆玉, 卢再鸣, 郭启勇

## ■背景资料

肝转移癌多数源于结、直肠癌, 预后不佳, 平均生存时间仅6-12 mo. 手术切除是公认的根治性方法, 但只有10%-20%适合手术。<sup>125</sup>I粒子永久性组织间植入近距离放射治疗的出现及其技术的不断改进为此类患者提供了一种新的治疗手段。

郑加贺, 畅智慧, 刘兆玉, 卢再鸣, 郭启勇, 中国医科大学附属盛京医院放射科 辽宁省沈阳市 110004

作者贡献分布: 本文由郭启勇指导设计; 郑加贺与畅智慧共同搜集临床资料及数据; 刘兆玉与卢再鸣指导数据分析及论文撰写; 论文写作由郑加贺完成。

通讯作者: 郭启勇, 教授, 博士生导师, 110004, 辽宁省沈阳市, 中国医科大学附属盛京医院放射科. guoqy@sj-hospital.org

收稿日期: 2011-08-14 修回日期: 2011-10-18

接受日期: 2011-11-02 在线出版日期: 2011-11-08

## <sup>125</sup>I radioactive seed interstitial brachytherapy for liver metastases

Jia-He Zheng, Zhi-Hui Chang, Zhao-Yu Liu, Zai-Ming Lu, Qi-Yong Guo

Jia-He Zheng, Zhi-Hui Chang, Zhao-Yu Liu, Zai-Ming Lu, Qi-Yong Guo, Department of Radiology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China

Correspondence to: Qi-Yong Guo, Professor, Department of Radiology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. guoqy@sj-hospital.org

Received: 2011-08-14 Revised: 2011-10-18

Accepted: 2011-11-02 Published online: 2011-11-08

## Abstract

**AIM:** To detect the efficacy of <sup>125</sup>I radioactive seed interstitial brachytherapy for liver metastases.

**METHODS:** Thirty-two tumors in 24 patients with liver metastases were treated by <sup>125</sup>I radioactivity seed interstitial brachytherapy. The tumor diameter ranged from 4.5 to 12.8 cm, with an average value of 7.8 cm. The treatment response, local control rate and survival rate were evaluated and adverse events observed.

**RESULTS:** Complete remission (CR) was achieved in 7 tumors, and partial remission (PR) was achieved in 16 tumors. Five tumors had no remission (NR), and 4 tumors had progressive deterioration (PD). The response rate was 71.9%. The patients were followed up for 7 to 22 months (median 16 mo). The local control rate was 65.9%, and total survival rate 70.1%. No serious side effects were observed.

**CONCLUSION:** Radioactive seed interstitial

brachytherapy is an effective form of treatment for patients with liver metastases.

**Key Words:** Liver metastases; Brachytherapy; Treatment outcome

Zheng JH, Chang ZH, Liu ZY, Lu ZM, Guo QY. <sup>125</sup>I radioactive seed interstitial brachytherapy for liver metastases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(31): 3264-3267

## 摘要

**目的:** 分析应用<sup>125</sup>I放射性粒子植入近距离放疗治疗肝转移癌的近期疗效。

**方法:** 24例肝转移癌患者共32个病灶, 因不宜或不同意外科手术切除而行粒子植入治疗, 病灶直径4.5-12.8 cm, 平均7.8 cm. 术后复查随访统计有效率、局部控制率和生存率以及副反应等情况。

**结果:** 32个病灶中肿瘤完全缓解(CR)7个, 部分缓解(PR)16个, 无缓解(NR)5个, 肿瘤进展(PD)4个; 有效率CR+PR为71.9%。术后随访时间为7-22 mo, 平均16 mo, 局部控制率为65.9%, 总生存率为70.1%, 未发现严重并发症。

**结论:** 对于手术禁忌或不接受手术的肝转移癌患者, <sup>125</sup>I放射性粒子植入近距离放疗可以获得较好的近期疗效。

**关键词:** 肝转移瘤; 近距离放射疗法; 治疗

郑加贺, 畅智慧, 刘兆玉, 卢再鸣, 郭启勇. <sup>125</sup>I放射性粒子植入治疗肝转移癌的近期疗效. *世界华人消化杂志* 2011; 19(31): 3264-3267

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3264.asp>

## 0 引言

肝转移癌多数源于结、直肠癌, 预后不佳, 平均生存时间仅6-12 mo<sup>[1-3]</sup>。手术切除是公认的根治性方法, 但只有10%-20%适合手术<sup>[4-6]</sup>。<sup>125</sup>I粒子永久性组织间植入近距离放射治疗的出现及其技术的不断改进为此类患者提供了一种新的治疗

## ■同行评议者

李革, 副教授, 延边大学附属医院普外科

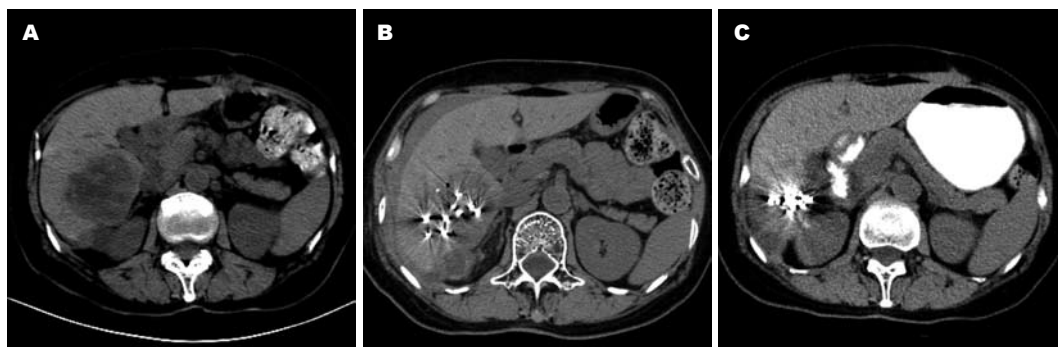


图1 CT扫描图像. A: CT显示肝右叶单发转移瘤, 大小约 $5.2\text{ cm} \times 4.7\text{ cm}$ ; B: 术后即刻CT扫描显示 $^{125}\text{I}$ 粒子分布情况及肝被膜下少量出血; C: 术后半年复查CT显示肿瘤完全消失, 仅残留 $^{125}\text{I}$ 粒子影像.

#### ■ 研究前沿

$^{125}\text{I}$ 粒子永久性组织间植入近距离放射治疗已广泛应用于胰腺癌、肝癌等恶性肿瘤, 近期疗效显著, 但究其远期疗效尚需进一步研究证实.

手段, 现将24例在我院采用 $^{125}\text{I}$ 粒子植入治疗肝转移癌的临床结果报道并分析如下.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 回顾性分析2008-01/2010-12我院采用 $^{125}\text{I}$ 粒子植入治疗的24肝转移癌患者的临床资料, 术前均行常规穿刺活检证实, 其中男13例, 女11例, 年龄范围39-65岁, 中位年龄51岁. 原发灶为肺癌2例, 结、直肠癌18例, 卵巢癌4例. 所有病例术前CT增强扫描病灶均表现为乏血供, 24例患者中15例为单发, 9例多发, 共有32个病灶, 病灶直径4.5-12.8 cm, 平均7.8 cm. 所有患者均为不宜或不同意外科手术切除而行粒子植入治疗. 采用GE Lightspeed 16排螺旋CT引导定位;  $^{125}\text{I}$ 粒子由北京原子高科核技术应用股份有限公司生产, 长度为4.5 mm, 直径为0.8 mm, 平均能量27-35 keV, 半衰期59.6 d, 组织穿透能力1.7 cm, 单个粒子的活性23.31-29.97 MBq(0.63-0.81 mCi).

### 1.2 方法

**1.2.1 术前准备:** 常规检查包括胸片、心电图及血压. 实验室检查包括肝、肾功能、凝血5项、血糖、血常规及血型. 常规行增强CT扫描检查确定瘤体大小、浸润范围、瘤体与周围组织关系等, 以帮助确定完整的植入计划.

**1.2.2 植入计划的确定:** 根据CT扫描图像精确测量肿瘤靶体积的3个互相垂直的直径, 遵循Halarism的 $^{125}\text{I}$ 经验公式 $\text{mCi} = \text{Da} \times 5$ . Da为靶组织长、宽、高的平均值 $(L+W+H)/3$ , 单位为cm, 求出的mCi为需用 $^{125}\text{I}$ 粒子的总活度, 再除以拟用粒子的活度计算出治疗粒子的数量. 同时根据CT图像制作若干计划切面图像, 切面之间的距离为1-1.5 cm, 计算出各层面所需粒子数量.

**1.2.3 植入过程:** 先行病灶区CT扫描, 扫描层厚、间隔与制定植入计划的图像一致. 依据治

疗计划每一层面上所需植入粒子数量和位置, 确定每一层面上合适的皮肤进针点和最佳进针路径, 常规消毒、铺无菌巾, 局部麻醉, 在CT引导下将18G穿刺针按所需间距逐针或同时经皮穿刺到瘤体内, 连接植入器, 将 $^{125}\text{I}$ 粒子植入到瘤体内, 粒子的纵向间距为0.8-1.2 cm, 横向间距为1.0-1.5 cm. 医护人员近距离接触 $^{125}\text{I}$ 粒子时穿铅防护衣, 其他人员采取1 m外距离防护.

**1.2.4 术后处理:** 粒子植入后行CT扫描了解 $^{125}\text{I}$ 粒子的粒数、分布情况、置入范围以及有无并发症. 术后予以患者常规抗炎、保肝等治疗, 监测血常规、肝功能等.

**1.2.5 疗效评价及随访:** 对于放射性粒子植入的效果评价主要依靠影像学标准. 在治疗后1、3、6 mo进行螺旋CT增强检查, 6 mo后每半年复查1次, 把治疗前后影像学上2个相互垂直的肿瘤最大直径的乘积进行比较, 按WHO疗效评价指标进行评价. 疗效评价标准为: (1)完全缓解(CR): 肿瘤完全消失, 影像学检查不能显示肿瘤或仅残留粒子影像; (2)部分缓解(PR): 肿瘤缩小, 乘积比治疗前减少 $\geq 50\%$ ; (3)无变化(NR): 乘积比治疗前减少 $< 50\%$ 或增大 $< 25\%$ ; (4)进展(PD): 乘积比治疗前增大 $\geq 25\%$ 或出现新病灶.

**统计学处理** 应用SPSS10.0软件Kaplan-Meier对局部控制率和生存率进行统计分析.

## 2 结果

所有24例患者均顺利完成粒子治疗, 植入粒子22-85粒, 平均48粒, 随访最短7 mo, 最长22 mo, 平均16 mo.

**2.1 疗效评价** 根据 $^{125}\text{I}$ 放射性粒子半衰期推算, 粒子植入后6 mo, 达到处方剂量, 根据CT扫描32个病灶中CR7个, PR16个, NR5个, PD4个; 有效率 $\text{CR}+\text{PR}$ 为71.9%. 局部控制率以治疗开始至发现

### ■相关报道

杨之光等的研究表明,<sup>125</sup>I粒子永久性植入治疗肝内胆管细胞癌疗效确切,安全可靠,值得临床推广。

局部肿瘤复发计算,即肿瘤总数减去无效肿瘤数和肿瘤复发数再除以病变总数。术后随访时间为7-22 mo,平均16 mo,6个病灶治疗后局部复发,其中4个为治疗后局部消退,之后又出现复发,分别为治疗后至10-12 mo发现复发,2个病灶治疗结束后完全消退,随访15及19 mo后发现肿瘤复发。Kaplan-Meier分析显示总的局部控制率为68.8%,1年局部控制率为75.0%。

**2.2 生存评价** 至随访截止,共有7人死亡,5例患者在术后10-12 mo相继死亡,其中2人死于肝脏肿瘤,均为粒子治疗无效;3人死于肺及其他部位转移,1例术后14 mo死于肝脏肿瘤,1例术后15 mo远处转移。Kaplan-Meier分析显示总生存率为70.1%,1年生存率为79.2%。

**2.3 不良反应及并发症** 24例患者术后均出现不同程度肝区疼痛、予以口服或肌注止痛药物后缓解;4例出现少量被膜下出血,未予特殊处理,1 wk后复查CT积液量减少或消失;10例患者出现低热,考虑与穿刺引起的肝内或肝周出血有关,予以抗炎治疗后好转,未出现继发感染;全部病例均未出现粒子移位及气胸等并发症。

### 3 讨论

肝转移癌在临床上极为常见,手术切除仍是公认根治性方法,但大多数患者由于肿瘤体积较大、转移灶较多或靠近血管限制了手术切除的彻底性;另外手术切除的远期疗效尚不令人满意,其主要原因是肝转移多为弥漫性转移,局限于一个肝段或一叶肝内相对较少,手术根治只是相对的;一些较小的肿瘤(直径<1 cm)术前、术中影像检查不一定能发现,术中认为是已根治者术后2-3 mo仍有较大比例复发<sup>[7-10]</sup>。

对于肝脏恶性肿瘤,常规放疗很难奏效,主要是由于肝脏对射线的耐受度低,肝癌必须有超过40Gy的吸收剂量才能得到较好的局部控制,而肝脏的耐受剂量仅30Gy,超过30Gy会产生严重的放射性肝损伤,因此,常规的放射治疗在肝癌的应用受到限制<sup>[11,12]</sup>。<sup>125</sup>I粒子植入属于近距离放疗范畴,放射性粒子植入到瘤体内,利用其释出的 $\gamma$ 射线破坏肿瘤细胞的DNA双链,使细胞失去增殖能力;肿瘤组织间植入<sup>125</sup>I粒子所产生的能量虽然不大,但能持续地对肿瘤细胞起作用,因此能不断地杀伤肿瘤干细胞,经过足够的半衰期积累剂量使肿瘤细胞全部失去繁殖能力,从而达到杀灭肿瘤的效果。由于<sup>125</sup>I粒子的照射半径小,粒子活度低,只增高靶剂量,周围正常组织

剂量陡降,高度适形,明显降低了放射损伤发生率,而增加了对肿瘤的疗效<sup>[13]</sup>。本组随访时间为7-22 mo,平均16 mo,总的有效率71.9%,局部控制率为68.8%,1年生存率为79.2%,与Nag等<sup>[14]</sup>报道<sup>125</sup>I粒子内放疗治疗不可手术切除的结直肠癌肝转移的1年生存率为73%结果相近,近期疗效满意。本组患者至随访截止时共有7例死亡,总生存率为70.1%。其中死于远处转移的4人,局部复发的为3人,和其他局部控制肿瘤的方法一样,在局部控制率提高情况下,远处转移仍是影响远期生存率的重要因素。

肝转移癌粒子植入的常见并发症主要有肝被膜下出血、肝区疼痛、低热等<sup>[15]</sup>,出血主要是由于反复穿刺所致,嘱患者卧床24 h,注意观察血压变化情况,一般出血量较少,多自行停止,无需特殊处理,可予以适当止痛,并注意抗炎预防感染。气胸及粒子移位临床少见,只要认真选择穿刺点,严格操作,多可避免。

总之,CT引导下<sup>125</sup>I放射性粒子植入治疗肝转移癌创伤小,局部剂量高,近期疗效满意,且并发症发生率低,为肝脏恶性肿瘤的治疗提供了一种新的有效手段。

### 4 参考文献

- 1 Heslin MJ, Medina-Franco H, Parker M, Vickers SM, Aldrete J, Urist MM. Colorectal hepatic metastases: resection, local ablation, and hepatic artery infusion pump are associated with prolonged survival. *Arch Surg* 2001; 136: 318-323
- 2 Moldovan B, Copotiu C, Bud V, Nemes I, Serac G, Molnar C, Florea S, Cornăteanu S, Milutin D, Coșovanu A, Pocreață D. [The importance of the I-colic time in colorectal cancer with synchronous hepatic metastases. Specifics of surgical strategy]. *Chirurgia* (Bucur) 2008; 103: 539-546
- 3 Ciferri E, Bondanza GS, Municinò O, Castagnola M, Gazzaniga GM. Colorectal cancer metastases: surgical indications and multimodal approach. *Hepato-gastroenterology* 2003; 50: 1836-1846
- 4 Lau WY, Lai EC, Leung TW, Yu SC. Adjuvant intra-arterial iodine-131-labeled lipiodol for resectable hepatocellular carcinoma: a prospective randomized trial-update on 5-year and 10-year survival. *Ann Surg* 2008; 247: 43-48
- 5 Gasent Blesa JM, Dawson LA. Options for radiotherapy in the treatment of liver metastases. *Clin Transl Oncol* 2008; 10: 638-645
- 6 陈亿, 罗开元, 李滢旭. <sup>125</sup>I粒子近距离植入治疗结直肠癌肝转移的研究进展. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 3324-3327
- 7 Dagnew E, Kanski J, McDermott MW, Sneed PK, McPherson C, Breneman JC, Warnick RE. Management of newly diagnosed single brain metastasis using resection and permanent iodine-125 seeds without initial whole-brain radiotherapy: a two institution experience. *Neurosurg Focus* 2007; 22: E3



- 8 Zhang L, Mu W, Hu CF, Huang XQ. Treatment of portal vein tumor thrombus using  $^{125}\text{I}$  seed implantation brachytherapy. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 4876-4879
- 9 Martinez-Monge R, Nag S, Nieroda CA, Martin EW. Iodine-125 brachytherapy in the treatment of colorectal adenocarcinoma metastatic to the liver. *Cancer* 1999; 85: 1218-1225
- 10 Armstrong JG, Anderson LL, Harrison LB. Treatment of liver metastases from colorectal cancer with radioactive implants. *Cancer* 1994; 73: 1800-1804
- 11 Huang K, Sneed PK, Kunwar S, Kragten A, Larson DA, Berger MS, Chan A, Pouliot J, McDermott MW. Surgical resection and permanent iodine-125 brachytherapy for brain metastases. *J Neurooncol* 2009; 91: 83-93
- 12 Zhang FJ, Li CX, Zhang L, Wu PH, Jiao DC, Duan GF. Short- to mid-term evaluation of CT-guided  $^{125}\text{I}$  brachytherapy on intra-hepatic recurrent tumors and/or extra-hepatic metastases after liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Cancer Biol Ther* 2009; 8: 585-590
- 13 Aloia TA, Vauthey JN, Loyer EM, Ribero D, Pawlik TM, Wei SH, Curley SA, Zorzi D, Abdalla EK. Solitary colorectal liver metastasis: resection determines outcome. *Arch Surg* 2006; 141: 460-466; discussion 460-466
- 14 Nag S, DeHaan M, Scruggs G, Mayr N, Martin EW. Long-term follow-up of patients of intrahepatic malignancies treated with iodine-125 brachytherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006; 64: 736-744
- 15 王俊杰. 放射性粒子组织间永久植入治疗肝转移癌. *癌症进展* 2009; 5: 286-290

**■同行评价**

本论文有一定的先进性, 样本充足, 结果可信, 设计合理, 统计学分析可以, 有一定的学术价值和应用价值。

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

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

**• 消息 •****《世界华人消化杂志》修回稿须知**

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

**1 修回稿信件**

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

**2 稿件修改**

来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见寄回给作者修改, 而作者必须于15 d内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料寄回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回的, 作重新投稿处理。

**3 版权**

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

# 丙氨酰-谷氨酰胺联合柴芍承气汤治疗重症急性胰腺炎72例

吕春艳, 李莉, 韩俊岭, 徐梅梅, 纪桂贤, 郑岳

## ■背景资料

重症急性胰腺炎时出现多器官功能障碍的原因较多, 包括继发的血液循环障碍。D-二聚体(D-D)是微循环障碍的敏感指标, 通过检测D-D含量变化及各项临床指标的观察, 明确丙氨酰-谷氨酰胺联合柴芍承气汤对急性重症胰腺炎治疗的临床价值。

吕春艳, 李莉, 韩俊岭, 徐梅梅, 纪桂贤, 郑岳, 秦皇岛市第一医院消化内科 河北省秦皇岛市 066000

吕春艳, 副主任医师, 主要从事消化系统疾病的临床工作。

作者贡献分布: 吕春艳对此文所作贡献较大; 此课题由吕春艳、李莉、韩俊岭及郑岳设计; 研究过程由吕春艳、李莉、韩俊岭、徐梅梅及纪桂贤操作完成; 研究所用分析工具由韩俊岭提供; 数据分析由吕春艳与韩俊岭完成; 本论文写作由吕春艳与韩俊岭完成。

通讯作者: 吕春艳, 副主任医师, 066000, 河北省秦皇岛市, 秦皇岛市第一医院消化内科。wzwshe@yahoo.cn

收稿日期: 2011-09-26 修回日期: 2011-10-12

接受日期: 2011-11-02 在线出版日期: 2011-11-08

## Therapeutic effect of alanyl-glutamine combined with Chaishao Chengqi Decoction on severe pancreatitis: an analysis of 36 cases

Chun-Yan Lv, Li Li, Jun-Ling Han, Mei-Mei Xu, Gui-Xian Ji, Yue Zheng

Chun-Yan Lv, Li Li, Jun-Ling Han, Mei-Mei Xu, Gui-Xian Ji, Yue Zheng, Department of Gastroenterology, the First Hospital of Qinhuangdao, Qinhuangdao 066000, Hebei Province, China

Correspondence to: Chun-Yan Lv, Associate Physician, Department of Gastroenterology, the First Hospital of Qinhuangdao, Qinhuangdao 066000, Hebei Province, China. wzwshe@yahoo.cn

Received: 2011-09-26 Revised: 2011-10-12

Accepted: 2011-11-02 Published online: 2011-11-08

## Abstract

**AIM:** To evaluate the efficacy of the alanyl-glutamine combined with Chaishao Chengqi Decoction in the treatment of severe acute pancreatitis (SAP).

**METHODS:** Seventy-two patients with SAP were randomly divided into two groups: control group ( $n = 36$ ) and treatment group ( $n = 36$ ). The patients in the control groups received routine therapy alone, while the treatment group received additional treatment with alanyl-glutamine & Chaishao Chengqi Decoction.

**RESULTS:** Compared to the control group, the treatment group had faster recovery of D-dimer, white blood cell count, blood amylase, abdominal pain, ascites, and significantly decreased

hospitalization duration ( $4.6 \pm 1.9$  vs  $8.1 \pm 2.5$ ;  $9.5 \pm 3.2$  vs  $16.3 \pm 4.9$ ;  $4.1 \pm 1.9$  vs  $8.6 \pm 2.7$ ;  $2.8 \pm 0.7$  vs  $4.7 \pm 0.8$ ;  $8.2 \pm 1.5$  vs  $15.3 \pm 2.4$ ;  $21.0 \pm 7.4$  vs  $34.0 \pm 12.6$ , all  $P < 0.05$ ), while no statistical differences were noted in complications and mortality between the two groups (both  $P > 0.05$ ).

**CONCLUSION:** On the basis of routine treatment, combined treatment with alanyl-glutamine and Chaishao Chengqi Decoction has a significant therapeutic effect on SAP.

**Key Words:** Severe acute pancreatitis; Alanyl-glutamine; Chaishao Chengqi decoction; D-dimer

Lv CY, Li L, Han JL, Xu MM, Ji GX, Zheng Y. Therapeutic effect of alanyl-glutamine combined with Chaishao Chengqi Decoction on severe pancreatitis: an analysis of 36 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(31): 3268-3271

## 摘要

**目的:** 探讨丙氨酰-谷氨酰胺联合柴芍承气汤对重症急性胰腺炎的治疗效果。

**方法:** 72例重症急性胰腺炎患者, 随机分为对照组和治疗组, 各36例。对照组采用常规治疗, 治疗组在常规治疗的基础上加用谷氨酰胺和柴芍承气汤, 治疗结束后检测两组均检测各项生化指标, 治疗结束后进行对比并做统计学分析。

**结果:** 治疗组的D-二聚体( $4.6 \pm 1.9$  vs  $8.1 \pm 2.5$ )、白细胞( $9.5 \pm 3.2$  vs  $16.3 \pm 4.9$ )、血淀粉酶恢复正常时间( $4.1 \pm 1.9$  vs  $8.6 \pm 2.7$ )以及腹痛缓解( $2.8 \pm 0.7$  vs  $4.7 \pm 0.8$ )、腹水消失时间( $8.2 \pm 1.5$  vs  $15.3 \pm 2.4$ )、住院时间( $21 \pm 7.4$  vs  $34 \pm 12.6$ )均少于对照组, 且两组有显著性差异( $P < 0.05$ ); 并发症和死亡率与对照组无统计学差异( $P > 0.05$ )。

**结论:** 对于重症急性胰腺炎患者在常规治疗的基础上, 使用丙氨酰-谷氨酰胺与柴芍承气汤有较好疗效。

**关键词:** 重症急性胰腺炎; 丙氨酰-谷氨酰胺; 柴芍承气汤; D-二聚体

## ■同行评议者

黄恒青, 主任医师, 福建省第二人民医院 消化内科

吕春艳, 李莉, 韩俊岭, 徐梅梅, 纪桂贤, 郑岳. 丙氨酰-谷氨酰胺联合柴芍承气汤治疗重症急性胰腺炎72例. 世界华人消化杂志 2011; 19(31): 3268-3271

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3268.asp>

## 0 引言

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)是以胰腺弥漫性出血和组织坏死为特征的急性胰腺炎, 为一种全身性的炎性反应. 该病病情凶险, 病程进展快, 常常并发胰腺组织细菌感和(与)感染相关的全身炎症反应综合征以及多脏器功能障碍综合征, 病死率高达20%-30%<sup>[1]</sup>. SAP的发病机制尚不完全明了, 目前一致认为SAP出现多器官功能障碍与二次攻击学说(即初期的胰酶激活和胰腺自身消化作为第一次攻击, 而将损害继发的免疫异常和血液循环障碍作为第二次攻击)相关. 本文旨在观察丙氨酰-谷氨酰胺联合柴芍承气汤治疗SAP对D-二聚体(D-D)及各项临床指标的影响.

## 1 材料和方法

1.1 材料 选取2006-01/2010-10我科收治的SAP患者( $n = 72$ ), 均符合入选标准. 其中男( $n = 37$ ), 女( $n = 35$ ); 年龄21-76岁. 将患者按随机数字表分为两组: 治疗组( $n = 36$ ), 其中男( $n = 19$ ), 女( $n = 17$ ); 对照组( $n = 36$ ), 男、女均( $n = 18$ ). 两组一般资料经统计学处理均无显著性差异( $P > 0.05$ ).

### 1.2 方法

1.2.1 入选标准: (1)发病后72 h内入院; (2)根据症状、体征、血、尿淀粉酶及影像学检查诊断为急性胰腺炎(AP), (3)在AP基础上出现脏器衰竭或Ranson评分 $> 3$ 分, 或Balthazar CT积分II级以上, 符合以上条件者诊断为SAP. 未达到上述诊断标准予以排除.

1.2.2 治疗: 两组患者均予禁食水, 胃肠减压, 抗生素, 抑制胃酸及胰腺分泌等常规治疗. 治疗组另给予丙氨酰-谷氨酰胺(海南黄隆制药股份有限公司)10 g, 静点, 1次/d; 胃管注入柴芍承气汤(柴胡10 g、白芍10 g、黄芩10 g、枳实10 g、厚朴10 g、玄明粉10 g、生大黄10 g, 中药水煎制, 200 mL/付, 后下), 100 mL/次, 2次/d, 至排便后停用.

1.2.3 观察指标: 入院当天和治疗后1 d、3 d、7 d、14 d, 查血常规及血淀粉酶; 治疗后1 d、7 d查D-二聚体; 发病72 h、治疗后7 d及14 d做胰腺CT检查. 观察两组治疗前后D-二聚体水平, 白细胞及血淀粉酶恢复正常时间, 腹痛缓解时间、腹

腔积液消失时间、住院时间, 并发症(糖尿病, 呼吸衰竭, 肾衰, 腹膜炎, 休克等相关并发症)发生率和病死率.

统计学处理 采用SPSSV13.0软件, 计量资料以(mean $\pm$ SD)表示, 两组间差异比较采用 $t$ 检验; 计数资料比较采用 $\chi^2$ 检验.  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

两组患者临床资料见表1. 两组患者D-D在治疗后第1天即明显升高, 治疗后随病情好转, 两组患者D-D均下降, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 治疗组患者白细胞、血淀粉酶恢复正常时间, 腹痛缓解、腹腔积液消失、住院时间与对照组比较明显缩短, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ); 治疗组并发症发生率及病死率均低于对照组, 但差异无统计学意义(表2, 3).

## 3 讨论

目前一致认为SAP出现多器官功能障碍与二次攻击学说(即初期的胰酶激活和胰腺自身消化作为第一次攻击, 而将损害继发的免疫异常和血液循环障碍作为第二次攻击<sup>[2]</sup>)有关. SAP患者由于胰腺组织受损坏死, 大量腹腔液的渗出, 引起麻痹性肠梗阻, 消化道组织肿胀, 胃肠动力紊乱及菌群失调, 黏膜萎缩, 变薄, 通透性增加, 肠道屏障功能减低, 从而引起肠道细菌移位及内毒素血症, 即肠源性感染. 透过激活的巨噬细胞、中性粒细胞引起高细胞因子血症及氧自由基和中性粒细胞弹性蛋白酶破裂, 导致或加强全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS), 促进多器官功能衰竭的发生, 造成SAP的二次打击. 炎性细胞过度激活, 释放大炎症介质, 通过自由基损伤, 凝血异常及各种细胞因子作用等不同途径引起不同程度的内皮功能损害, 微血管通透性增加, 胰腺缺血一再灌注损伤、血液流变学改变、活化的血小板聚集<sup>[3]</sup>, 血液呈现高凝状态, 激活凝血、抗凝系统, 引起其平衡紊乱, 造成小血管内血栓形成, 微循环淤滞, 细胞缺氧, 代谢障碍, 进一步加重胰腺组织的病变, 如不及时纠正, 累及多个脏器可继发多脏器功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)<sup>[4]</sup>.

D-D为体内高凝状态和纤维蛋白原溶解亢进的分子标志物之一<sup>[5]</sup>, 他是纤维蛋白单体经活化的因子XII交联后, 再经纤溶酶水解产生的特

## ■ 研究前沿

丙氨酰-谷氨酰胺是应激状态下小肠黏膜细胞唯一能量来源和肠道修复最重要的营养物质, 对肠黏膜上皮细胞和免疫细胞的增殖有重要作用. 柴芍承气汤是中西医结合治疗SAP的有效措施之一.

## ■应用要点

随着人们研究的深入,肠道细菌移位和内毒素血症的问题日益受到重视,如何保持肠黏膜完整,预防感染成为研究的重点,相关研究较多。但无丙氨酰-谷氨酰胺联合柴芍承气汤使用的相关报道。该方法改善胰腺缺血和微循环,增加肠道蠕动和机体免疫,保护肠道黏膜,防止细菌移位和感染,防止胃肠功能衰竭,缓解胰腺炎的症状和体征,降低SAP的严重程度的作用,具有临床应用价值。

表 1 两组患者一般资料比较

	年龄(岁)	病因			Ranson	男女比例
		胆源性	高脂饮食性	酒精性		
对照组	47.5 ± 12.1	18	15	3	4.2 ± 1.1	18/18
治疗组	45.6 ± 13.2	17	17	2	4.3 ± 1.3	19/17
P值	>0.05	>0.05			>0.05	>0.05

表 2 两组D-D、白细胞恢复正常时间比较 (mean ± SD)

	D-D(mg/L)		白细胞恢复正常时间(d)
	1 d	7 d	
常规组	21.8 ± 3.7	8.1 ± 2.5	16.3 ± 4.9
治疗组	22.3 ± 4.1	4.6 ± 1.9	9.5 ± 3.2
P值	<0.05	<0.05	<0.05

表 3 两组临床指标对比 (mean ± SD)

组别	腹痛缓解时间(d)	腹腔积液消失时间(d)	血淀粉酶恢复正常时间(d)	住院时间(d)	并发症发生率n(%)	病死率n(%)
对照组	4.7 ± 0.8	15.3 ± 2.4	8.6 ± 2.7	34 ± 12.6	9(25.0)	2(5.6)
治疗组	2.8 ± 0.7	8.2 ± 1.5*	4.1 ± 1.9*	21 ± 7.4*	7(19.4)	1(2.7)
t值或 $\chi^2$ 值	7.14	10.99	5.78	3.75	0.32	0.35
P值	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	>0.05	>0.05

异性降解产物。他的升高特异地反映体内纤溶活性增强和凝血酶生成增多,标志着机体凝血和纤溶系统的双重激活,是微循环障碍的敏感指标。因此通过检测D-D含量变化,对于诊断、治疗急性重症胰腺炎及判断预后具有一定的临床价值<sup>[6]</sup>。

丙氨酰-谷氨酰胺是应激状态下小肠黏膜细胞唯一能量来源和肠道修复最重要的营养物质,对于肠黏膜上皮细胞和免疫细胞的增殖有重要作用<sup>[7]</sup>。SAP时机体对谷氨酰胺的需求明显超过人体的储存量,加之禁食,导致谷氨酰胺明显缺乏,出现肠黏膜萎缩,肠壁通透性增加,导致肠黏膜机械屏障破坏和免疫力下降<sup>[8]</sup>。外源补充丙氨酰-谷氨酰胺能增加肠道和全身免疫物质的合成,保持肠黏膜完整,保护肠道内皮细胞免受氧自由基的损伤,防止细菌移位和肠道毒素进入血循环,使内毒素水平下降,减少了感染机会<sup>[9]</sup>。

柴芍承气汤是中西医结合治疗SAP的有效措施之一<sup>[10]</sup>。柴芍承气汤治疗胰腺炎的机制为:降低血脂,抑制胰酶分泌和活性,抑制巨噬细胞过度激活及中性粒细胞浸润,减少炎症细胞因子及自由基释放,改善胰腺缺血和微循环,增加

肠道蠕动和机体免疫,保护肠道黏膜,排出积粪和细菌内毒素,防止细菌移位和感染,防止胃肠功能衰竭<sup>[11-13]</sup>,松弛括约肌<sup>[14]</sup>,有助于胆汁、胰液引流通畅,缓解胰腺炎的症状和体征<sup>[15]</sup>,降低SAP的严重程度。

本实验表明,D-D在治疗后第1天即明显升高,且两组D-D、白细胞、血淀粉酶恢复时间均有显著性差异,说明SAP早期存在微循环血栓形成和继发纤溶的改变,二者联合使用可改善肠黏膜屏障功能,预防肠源性细菌移位及内毒素血症,改善胰腺微循环。

总之,SAP病理生理过程中有多个炎症因子参与,应用谷氨酰胺及柴芍承气汤治疗急性重症胰腺炎可在多环节、多时期对炎症因子进行调节,发挥治疗作用,且费用低廉,应在临床推广使用。

## 4 参考文献

- 1 王兴鹏,重视肠道衰竭在重症急性胰腺炎发病中的作用. 中华消化杂志 2002; 22: 5-6
- 2 Lankisch PG, Bruns A, Doobe C, Weber-Dany B, Maisonneuve P, Lowenfels AB. The second attack of acute pancreatitis is not harmless. *Pancreas* 2008; 36: 207-208



- 3 蔡春梅. D-二聚体检测在急性胰腺炎中的临床意义. 医学理论与实践 2008; 21: 960-961
- 4 李湘民, 罗学宏. 胃肠屏障与胃肠功能衰竭的防治. 医学临床与研究 2003; 20: 591-593
- 5 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程. 第3版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 234
- 6 Salomone T, Tosi P, Palareti G, Tomassetti P, Migliori M, Guariento A, Saieva C, Raiti C, Romboli M, Gullo L. Coagulative disorders in human acute pancreatitis: role for the D-dimer. *Pancreas* 2003; 26: 111-116
- 7 Coëffier M, Claeysens S, Hecketsweiler B, Lavoinne A, Ducrotté P, Déchelotte P. Enteral glutamine stimulates protein synthesis and decreases ubiquitin mRNA level in human gut mucosa. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003; 285: G266-G273
- 8 沈通一. 谷氨酰胺对肠道屏障功能保护作用的研究进展. 肠外与肠内营养 2003; 10: 177-180
- 9 Mularski RA, Heine CE, Osborne ML, Ganzini L, Curtis JR. Quality of dying in the ICU: ratings by family members. *Chest* 2005; 128: 280-287
- 10 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
- 11 冯顺友. 大黄防治胃肠功能衰竭. 中国中西医结合杂志 2000; 20: 795
- 12 刘峰, 高士杰, 胡慧刚, 王继文, 张德平. 大黄治疗休克后胃肠功能障碍的临床研究. 中国急救医学 2003; 23: 38
- 13 陈海平, 李刚, 郑铁渊. 中药合剂AA-3抑制实验性急性胰腺炎大鼠炎性介质的研究. 中国中西医结合外科杂志 2000; 6: 338-340
- 14 陈德昌, 景炳文, 杨兴易, 宋志芳, 严鸣, 赵良, 单红卫, 余康龙, 张翔宇, 马钧. 大黄对危重患者胃肠道的保护作用. 中国危重急救医学 2001; 12: 87-90
- 15 石承先, 李杨, 宋志. 猫实验性胰腺炎肠内压变化与胰胆管压力的关系及大黄的影响. 中华消化杂志 2008; 28: 414-416

#### ■同行评价

本文采用中西医结合治疗方法研究其对重症胰腺炎的作用, 疗效明显, 具有一定的临床推广作用.

编辑 李军亮 电编 闫晋利

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

#### • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

**本刊讯** 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), 国内统一刊号CN 14-1260/R, Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/*World Chinese Journal of Digestology*], 是一本由来自国内23个省、市、自治区、特别行政区的496位胃肠病学和肝病专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助.

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

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

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

# 胰腺癌切除术后辅助放化疗治疗疗效的Meta分析

王思亮, 林艳, 高嵩, 胡天玉, 吴荣

## ■背景资料

胰腺癌术后行辅助治疗是否有效, 是否能使患者在长期生存方面获益, 是胰腺癌治疗中比较争议的问题。本研究通过Meta分析的方法, 对辅助放化疗在胰腺癌术后治疗中的意义进行讨论。

王思亮, 林艳, 高嵩, 胡天玉, 吴荣, 中国医科大学附属盛京医院第二肿瘤科 中国医科大学附属盛京医院第二消化内科 辽宁省沈阳市 110022

作者贡献分布: 此课题由王思亮、林艳及吴荣设计; 研究过程由王思亮、林艳、高嵩及胡天玉操作完成; 文献筛选和质量评价由王思亮与林艳完成; 数据的提取由高嵩与胡天玉完成; 统计方法由王思亮、林艳及高嵩完成, 本论文写作由王思亮与高嵩完成。

通讯作者: 吴荣, 教授, 110022, 辽宁省沈阳市, 中国医科大学附属盛京医院第二肿瘤科. wur@sj-hospital.org

收稿日期: 2011-09-02 修回日期: 2011-10-20

接受日期: 2011-11-04 在线出版日期: 2011-11-08

## Efficacy of adjuvant chemoradiotherapy in pancreatic cancer patients after surgical resection: a meta-analysis

Si-Liang Wang, Yan Lin, Song Gao, Tian-Yu Hu, Rong Wu

Si-Liang Wang, Yan Lin, Song Gao, Tian-Yu Hu, Rong Wu, Department of Medical Oncology & Department of Gastroenterology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China  
Correspondence to: Rong Wu, Professor, Department of Medical Oncology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. wur@sj-hospital.org

Received: 2011-09-02 Revised: 2011-10-20

Accepted: 2011-11-04 Published online: 2011-11-08

## Abstract

**AIM:** To conduct a meta-analysis to evaluate the efficacy of adjuvant chemoradiotherapy in pancreatic cancer patients after surgical resection.

**METHODS:** PubMed (1970/2011-07), EMBASE (1974/2011-07), the Cochrane Library (Issue 7, 2011), CBM (1978/2011-07) and ASCO were searched to retrieve relevant published and unpublished studies evaluating the efficacy of adjuvant chemoradiotherapy in pancreatic cancer patients after surgical resection. A meta-analysis of the overall survival (OS) data from randomized controlled trials (RCTs) was then performed using the RevMan5.0 software.

**RESULTS:** The meta-analysis included 8 RCTs totaling 1507 patients. Compared to the control group, the adjuvant chemoradiotherapy group had significantly higher 2- and 5-year survival

rates (OR = 1.96, 95% CI (1.55, 2.48); OR = 1.89, 95% CI (1.41, 2.53)).

**CONCLUSION:** According to present evidence, adjuvant chemoradiotherapy has significant survival benefit for pancreatic cancer patients after surgical resection.

**Key Words:** Pancreatic cancer; Adjuvant therapy; Meta-analysis

Wang SL, Lin Y, Gao S, Hu TY, Wu R. Efficacy of adjuvant chemoradiotherapy in pancreatic cancer patients after surgical resection: a meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(31): 3272-3276

## 摘要

**目的:** 通过Meta分析探讨辅助放化疗在胰腺癌术后患者治疗中的意义。

**方法:** 计算机检索Pubmed(1970/2011-07)、EMbase(1974/2011-07)、Cochrane图书馆(2011年第7期)、中国生物医学文献数据库(1978/2011-07)、ASCO等论文集检索相关发表及未发表的文献, 查找有关胰腺癌术后辅助放化疗的临床试验研究。由2名评价者独立选择试验、提取资料和评估方法学质量, 而后采用Cochrane协作网RevMan5.0软件进行统计分析。对辅助治疗组和观察组2年生存率、5年生存率进行Meta分析。

**结果:** 8个随机对照临床试验共1507例患者纳入分析, 放化疗联合治疗组与观察组比较, 2年生存率比较, 生存优势为OR = 1.96, 95%CI(1.55, 2.48), 结果具有统计学意义; 5年生存率比较, 生存优势为OR = 1.89, 95%CI(1.41, 2.53), 结果具有统计学意义。

**结论:** 现有证据支持胰腺癌术后进行辅助放化疗可提高生存率。

**关键词:** 胰腺癌; 辅助治疗; Meta分析

王思亮, 林艳, 高嵩, 胡天玉, 吴荣. 胰腺癌切除术后辅助放化疗治疗疗效的Meta分析. *世界华人消化杂志* 2011; 19(31): 3272-3276  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3272.asp>

## ■同行评议者

谷俊朝, 主任医师, 首都医科大学附属北京友谊医院普外科

## 0 引言

胰腺癌是常见的消化系恶性肿瘤之一, 近年来, 胰腺癌的发病率和死亡率有逐渐上升的趋势。胰腺癌是第4大肿瘤致死原因, 在中国死亡率为1.3/10万<sup>[1]</sup>。对于可切除的胰腺癌患者, 手术是唯一明确的可以达到长期疾病控制的手段。然而由于胰腺癌侵袭性的生物学特性, 起病隐匿, 较少有特异性症状和体征, 仅有很少一部分患者在确诊时有手术机会; 即使手术治疗, 胰腺癌胰十二指肠切除术后5年的生存率仅为20%左右, 术后复发率和转移率较高, 预后极差<sup>[2]</sup>。对于其他恶性肿瘤来说, 如早期的乳腺癌, 有明确的证据支持辅助化疗和内分泌治疗可以降低术后患者的复发风险, 延长患者的生存期; 对于III期的结直肠癌患者, 辅助化疗也是标准的治疗手段。然而对于II期的结肠癌的患者, 辅助化疗缺少证据, 他的作用仍有争议<sup>[3]</sup>。20世纪80年代后, 许多观察胰腺癌术后辅助放化疗作用的临床试验被广泛开展, 尽管一些研究显示辅助放化疗可以延长总的生存期和无进展生存期, 但大部分试验缺乏正确的统计学方法和没有显示出生存期延长的统计学差异。因此有必要对这一系列的随机对照临床试验(randomized controlled trial, RCT)进行Meta分析, 为临床提供更加明确的应用依据。

## 1 材料和方法

1.1 材料 计算机检索Pubmed(1970/2011-07)、EMbase(1974/2011-07)、Cochrane图书馆(2011年第7期)、中国生物医学文献数据库(1978/2011-07)、ASCO等论文集检索相关发表及未发表的文献, 检索词包括: ("chemoradiotherapy" or "chemotherapy" or "radiotherapy") and "adjuvant therapy" and ("pancreatic cancer" or "pancreatic carcinoma" or "pancreatic neoplasia" or "pancreatic adenocarcinoma")等及对应的中文检索词。同时采用了Mesh词和自由词进行检索。对所有检索到的文献, 通过查阅其参考文献扩展检索范围, 以尽量增加RCT文献资料。

### 1.2 方法

1.2.1 研究类型: 所有胰腺癌术后辅助放化疗对比观察组的随机对照试验。不限研究地域, 仅限于英文和中文文献。随机性合理设计, 患者同质性较好, 基线情况(性别、年龄、分期、病情轻重)基本一致。

1.2.2 研究对象: 所有患者均为胰十二指肠切除

术后病理诊断证实为胰腺癌, 血常规、肝肾功能基本正常, 预期寿命在12 wk以上。

1.2.3 干预措施: 试验组患者接受辅助化放疗或化疗或放疗(化疗以5-Fu、吉西他滨为主的方案), 对照组不采用化疗或放疗治疗进行观察。

1.2.4 结局指标: 主要的研究终点为总的生存率(2年和5年生存率)。

1.2.5 排除标准: 研究对象患有胰腺癌以外肿瘤或晚期转移性胰腺癌、局部进展期胰腺癌的病例; 未手术或术前辅助治疗病例; 对照组不是观察的研究; 重复报道、信息太少以及数据描述不详的文献。

1.2.6 文献筛选、质量评价与数据提取: 由2名评估员(王思亮与林艳)独立筛选文献和评价文献质量, 并交叉核对, 如有分歧讨论解决或交第3方裁决。纳入研究的方法学质量采用Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions 5.0关于RCT的质量评价标准进行: 随机方法是否正确; 是否采用盲法; 是否做到分配隐藏; 有无失访或退出, 如有失访或退出时, 是否采用意向治疗(ITT)分析(在临床研究中, 对于患者入组后因各种原因未能完成试验的例数均应加以记录, 并在结果分析中进行处理); 基线是否一致。据此标准将纳入文献质量分为A、B、C 3级, 完全满足以上5条标准, 发生各种偏倚的可能性最小, 为A级; 部分满足以上5条标准, 发生各种偏倚的可能性为中度, 为B级; 完全不满足以上5条标准, 发生各种偏倚的可能性为高度, 为C级。对重复发表文献采用最新、最完整的文献报道。

统计学处理 采用Cochrane协作网Rev-Man 5.0软件进行Meta分析。首先用 $\chi^2$ 检验分析纳入研究的临床异质性和方法学异质性。当组内各研究间无统计学异质性时( $P \geq 0.1$ ,  $I^2 \leq 50\%$ ), 采用固定效应模型进行Meta分析; 如各研究间存在统计学异质性( $P < 0.1$ ,  $I^2 > 50\%$ ), 采用随机效应模型进行分析。本文研究是比较胰腺癌的辅助治疗是否优于观察, 其结局变量为接受辅助化放疗治疗的患者和观察组的患者的2年和5年生存率的差值, 即治疗优势(risk difference, RD)。

## 2 结果

2.1 资料筛选结果 初检共获得21篇文献, 经过剔除、阅读摘要、方法后, 排除非随机对照研究, 并选取同一研究最终结果, 共纳入8篇英文文献<sup>[4-11]</sup>, 共计受试者( $n = 1507$ )。

### ■研发前沿

放疗技术的提高, 抗肿瘤新药的不断问世以及靶向药物的深入研究, 能否作为辅助治疗的方法, 能否提高胰腺癌患者的长期生存, 都在不断深入的探讨中。

### ■相关报道

Assifi等的Meta分析显示, 对于不能手术的局部进展期胰腺癌患者, 可以从新辅助治疗中获得最大受益。相反, 对于可以手术的患者受益很小, 并可能延误手术。新辅助治疗有望成为胰腺癌治疗的新选择。

## ■创新盘点

本文采用Meta分析的方法,对相关文献的研究质量予以评价,并运用定量统计学方法对多个研究结果进行系统评价,评估胰腺癌辅助治疗是否有效。

表 1 纳入研究的临床资料

研究	干预措施	入组人数	治疗方案	中位生存期 (mo)	2年生存 率(%)	5年生存 率(%)
GITSG <sup>[4]</sup>	CRT	21	40Gy+5FU	21	43	19
		22	Observation	10.9	18	5
Charles <sup>[5]</sup>	CRT	120	RT+5FU	19.5	39	
		53	Observation	13.5	30	
EORTC, Klinkenbji <sup>[6]</sup>	CRT	60	40Gy+5FU	17.1	37	20
		54	Observation	12.6	23	10
ESPAC, JP Neoptolemos <sup>[7]</sup>	CT	233	5FU/FA	23.2	49	24
		225	Observation	16.8	37	14
JSAP-02, H Ueno <sup>[8]</sup>	CT	58	Gemcitabine(3)	22.3	48.3	23.9
		60	Surgery-only	18.4	40.0	10.6
CONKO, Helmut Oettle <sup>[9]</sup>	CT	179	Gemcitabine(6)	22.1	47.5	22.5
		175	Surgery-only	20.2	22.5	11.5
Takada <sup>[10]</sup>	CT	81	MMF/5FU			11.5
		77	-			18
Kosuge <sup>[11]</sup>	CT	45	5FU/cisplatin	12.5		26.4
		44	-	15.8		14.9

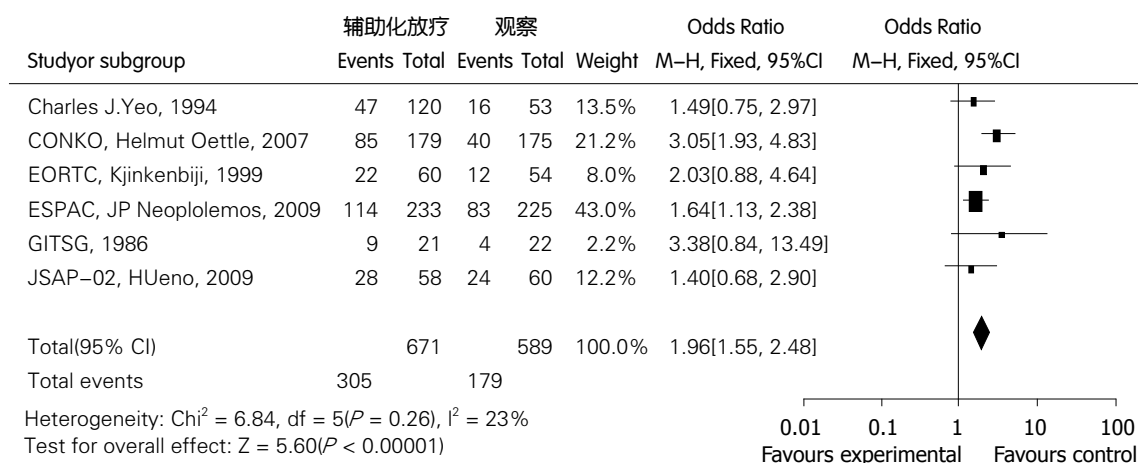


图 1 胰腺癌术后2年生存率的Meta分析。

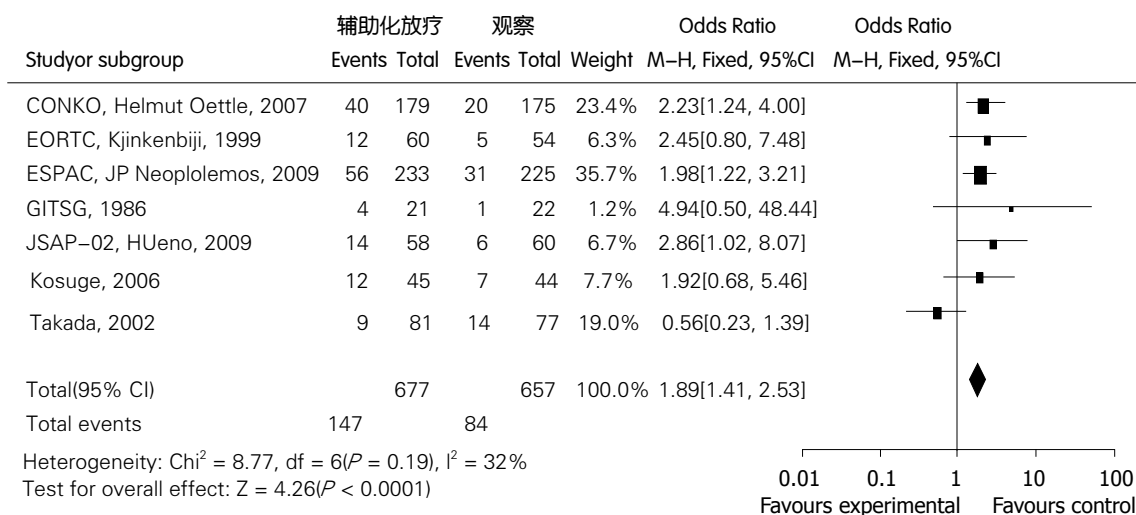
**2.2 纳入研究的基本特点** 本研究纳入的8个RCT均为胰腺癌术后辅助治疗与观察对比的临床研究(表1)。其中3个研究观察组的干预措施为辅助放化疗, 5个研究观察组的干预措施为化疗; 2007年和2009年的2项研究, 化疗方案为吉西他滨单药, 其余方案的化疗均为5-FU为主的方案化疗。放化疗辅助治疗(试验组)和非放化疗治疗(对照组)两组的生存率分别为19.7 mo和15.5 mo, 一项研究<sup>[10]</sup>未统计中位生存期。

**2.3 胰腺癌术后辅助放化疗对患者的2年生存率影响的Meta分析** 6个研究<sup>[4-9]</sup>患者( $n = 1\,260$ )胰腺癌术后分别接受了放化疗辅助治疗(试验组)和非放化疗治疗(对照组)。其中有3组患者接受了放化疗治疗, 另3组接受了单纯化疗。各研究

结果间无统计学异质性( $P = 0.26$ ,  $I^2 = 23\%$ ), 故均采用固定效应模型合并分析。结果表明, 试验组2年生存率与对照组有明显区别, 差异有统计学意义[OR = 1.96, 95%CI(1.55, 2.48)], 胰腺癌术后辅助放化疗治疗对于患者2年生存率的提高有益(图1)。

**2.4 胰腺癌术后辅助放化疗对患者的5年生存率影响的Meta分析** 7个研究<sup>[4,6-11]</sup>中随访结果包括5年生存率, 患者( $n = 1\,334$ )胰腺癌术后分别接受了放化疗辅助治疗(试验组)和非放化疗治疗(对照组)。其中有2组患者接受了放化疗治疗, 另5组接受了单纯化疗。各研究结果间无统计学异质性( $P = 0.19$ ,  $I^2 = 32\%$ ), 故均采用固定效应模型合并分析。结果表明, 试验组5年生存率与对照





## ■应用要点

本文得出的结论对胰腺癌治疗具有一定的指导意义,但还需高质量的RCT相关研究去验证和更新结论。

图2 胰腺癌术后5年生存率的Meta分析。

组有明显区别,差异有统计学意义[OR = 1.89, 95%CI(1.41, 2.53)],胰腺癌术后接受辅助放化疗治疗可提高患者5年生存率(图2)。

### 3 讨论

目前认为外科手术治疗是唯一有可能治愈胰腺癌的方法。手术的并发症和死亡率,近年来已显著减小;多个中心报道,胰十二指肠切除术中及围手术期死亡率约为1%。但是,仅有少数患者确诊肿瘤时适合进行手术切除,而且即使局限性胰腺癌术后切除后,长期生存仍很差<sup>[12]</sup>。由于现在很多医疗中心有能力完成胰腺癌切除手术,因此增加了判断术后是否行辅助治疗的重要性。判断辅助治疗是否有效,给予辅助治疗能否使胰腺癌患者在长期生存方面获益。

随机进行的胃肠道肿瘤研究组(GITSG),近20年来第一次明确了胰腺癌切除术后辅助治疗的潜在利益,此后许多报告显示了胰腺癌术后辅助治疗的益处。期间欧洲肿瘤治疗与研究组织(EORTC)进行了几个随机试验进行胰腺癌术后辅助治疗与观察的比较,这项研究可以看出放化疗治疗组存在改善生存的趋势,但结论无统计学差异。Neoptolemos和他的团队报道了欧洲胰腺癌研究组(ESPAC)的研究结果<sup>[13,14]</sup>,此项最大随机对照试验显示术后辅助化放疗可以使患者的长期生存获益,然而部分学者指出此项研究在非放化疗组的数据合并方面存在选择性偏移。

近几年的部分研究也报道了胰腺癌术后辅助放化疗在长期生存方面的优势,但均未显示出统计学差异。本研究意在对比术后辅助治疗相

关文章进行Meta分析,判断胰腺癌术后辅助治疗相对于观察或未放化疗的意义。通过对国内外多个医学数据库、重要的肿瘤学术会议资料进行多重检索,严格按研究前制定的纳入标准进行筛选。文献质量评价要求Jadad评分3分及以上,可见纳入分析的原始研究均为高质量的临床研究。漏斗图基本对称、均匀散开,提示文献的发表偏倚的可能性较小,因而本研究具有较高的可信度。对入选的8个RCT共1507例患者进行Meta分析显示,术后辅助放化疗治疗与观察治疗相比,2年生存率比较,生存优势为OR = 1.96, 95%CI(1.55, 2.48),结果具有统计学意义,有明显的生存优势;同时Meta分析显示术后辅助放化疗治疗与观察治疗相比,5年生存率比较,生存优势为OR = 1.89, 95%CI(1.41, 2.53),结果具有统计学意义,有明显的生存优势。有文献对胰腺癌术后辅助放化疗与观察组进行分层Meta分析,对预后相关因素进行评估,切缘阴性与阳性相比放化疗和化疗的疗效差异显著。辅助放化疗对于胰腺癌术后切缘阳性的患者更有意义,然而这一结果的统计学方法不够严谨<sup>[15]</sup>。本Meta分析未对预后因素进行分层分析,亦是考虑对称性和方法学因素,还需要进一步研究。

本研究纳入研究质量均为B级,但仍存在选择性偏倚、实施偏倚和测量性偏倚的中度可能性。检索的文献比较全面和可靠,入选的临床随机对照试验的数据多为阴性的结果,因此出版偏倚可能性较小。本系统评价未检索到其他语种的随机对照研究,可能造成分布偏倚。本Meta分析显示胰腺癌术后辅助治疗与观察相比,2年生存率和5年生存率方面具有优势,OR分别

#### ■同行评价

文章研究的是当前胰腺癌治疗中的热点问题——判断胰腺癌术后是否需要辅助治疗,以及判断辅助治疗是否有效,给予相应的辅助治疗能否使胰腺癌患者在长期生存方面获益等是胰腺癌治疗中需要明确的问题。该研究对胰腺癌临床治疗具有指导意义。

为1.96, 95%CI(1.55, 2.48)和1.89, 95%CI(1.41, 2.53), 优势均具有统计学意义。胰腺癌术后行辅助放化疗有利于提高长期生存率。

前期研究显示胰腺癌术后辅助放化疗优于观察,今后可能作为胰腺癌术后治疗的常规推荐,但胰腺癌术后哪一部分患者(切缘、分期、分化程度等)能够从辅助放化疗中明确受益,仍是今后努力的方向。

#### 4 参考文献

- 1 Vincent A, Herman J, Schulick R, Hruban RH, Goggins M. Pancreatic cancer. *Lancet* 2011; 378: 607-620
- 2 Neoptolemos JP, Dunn JA, Stocken DD, Almond J, Link K, Beger H, Bassi C, Falconi M, Pederzoli P, Dervenis C, Fernandez-Cruz L, Lacaine F, Pap A, Spooner D, Kerr DJ, Friess H, Büchler MW. Adjuvant chemoradiotherapy and chemotherapy in resectable pancreatic cancer: a randomised controlled trial. *Lancet* 2001; 358: 1576-1585
- 3 Benson AB, Schrag D, Somerfield MR, Cohen AM, Figueredo AT, Flynn PJ, Krzyzanowska MK, Maroun J, McAllister P, Van Cutsem E, Brouwers M, Charette M, Haller DG. American Society of Clinical Oncology recommendations on adjuvant chemotherapy for stage II colon cancer. *J Clin Oncol* 2004; 22: 3408-3419
- 4 Kalser MH, Ellenberg SS. Pancreatic cancer. Adjuvant combined radiation and chemotherapy following curative resection. *Arch Surg* 1985; 120: 899-903
- 5 Yeo CJ, Abrams RA, Grochow LB, Sohn TA, Ord SE, Hruban RH, Zahurak ML, Dooley WC, Coleman J, Sauter PK, Pitt HA, Lillemoe KD, Cameron JL. Pancreaticoduodenectomy for pancreatic adenocarcinoma: postoperative adjuvant chemoradiation improves survival. A prospective, single-institution experience. *Ann Surg* 1997; 225: 621-633; discussion 633-636
- 6 Klinkenbijl JH, Jeekel J, Sahmoud T, van Pel R, Couvreur ML, Veenhof CH, Arnaud JP, Gonzalez DG, de Wit LT, Hennipman A, Wils J. Adjuvant radiotherapy and 5-fluorouracil after curative resection of cancer of the pancreas and periampullary region: phase III trial of the EORTC gastrointestinal tract cancer cooperative group. *Ann Surg* 1999; 230: 776-782; discussion 782-784
- 7 Neoptolemos JP, Stocken DD, Tudur Smith C, Bassi C, Ghaneh P, Owen E, Moore M, Padbury R, Doi R, Smith D, Büchler MW. Adjuvant 5-fluorouracil and folinic acid vs observation for pancreatic cancer: composite data from the ESPAC-1 and -3(v1) trials. *Br J Cancer* 2009; 100: 246-250
- 8 Ueno H, Kosuge T, Matsuyama Y, Yamamoto J, Nakao A, Egawa S, Doi R, Monden M, Hatori T, Tanaka M, Shimada M, Kanemitsu K. A randomised phase III trial comparing gemcitabine with surgery-only in patients with resected pancreatic cancer: Japanese Study Group of Adjuvant Therapy for Pancreatic Cancer. *Br J Cancer* 2009; 101: 908-915
- 9 Oettle H, Post S, Neuhaus P, Gellert K, Langrehr J, Ridwelski K, Schramm H, Fahlke J, Zuelke C, Burkart C, Gütberlet K, Kettner E, Schmalenberg H, Weigang-Koehler K, Bechstein WO, Niedergethmann M, Schmidt-Wolf I, Roll L, Doerken B, Riess H. Adjuvant chemotherapy with gemcitabine vs observation in patients undergoing curative-intent resection of pancreatic cancer: a randomized controlled trial. *JAMA* 2007; 297: 267-277
- 10 Takada T, Amano H, Yasuda H, Nimura Y, Matsushiro T, Kato H, Nagakawa T, Nakayama T. Is postoperative adjuvant chemotherapy useful for gallbladder carcinoma? A phase III multicenter prospective randomized controlled trial in patients with resected pancreaticobiliary carcinoma. *Cancer* 2002; 95: 1685-1695
- 11 Kosuge T, Kiuchi T, Mukai K, Kakizoe T. A multicenter randomized controlled trial to evaluate the effect of adjuvant cisplatin and 5-fluorouracil therapy after curative resection in cases of pancreatic cancer. *Jpn J Clin Oncol* 2006; 36: 159-165
- 12 徐玲, 刘云鹏. 晚期胰腺癌的化疗进展. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 2685-2689
- 13 Carter R, Stocken DD, Ghaneh P, Bramhall SR, Olah A, Kelemen D, Bassi C, Friess H, Dervenis C, Spry N, Büchler MW, Neoptolemos JP. Longitudinal quality of life data can provide insights on the impact of adjuvant treatment for pancreatic cancer-Subset analysis of the ESPAC-1 data. *Int J Cancer* 2009; 124: 2960-2965
- 14 Thomas A, Dajani K, Neoptolemos JP, Ghaneh P. Adjuvant therapy in pancreatic cancer. *Dig Dis* 2010; 28: 684-692
- 15 Stocken DD, Büchler MW, Dervenis C, Bassi C, Jeekel H, Klinkenbijl JH, Bakkevold KE, Takada T, Amano H, Neoptolemos JP. Meta-analysis of randomised adjuvant therapy trials for pancreatic cancer. *Br J Cancer* 2005; 92: 1372-1381

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

# 混合型5-HT<sub>4</sub>受体激动剂/5-HT<sub>3</sub>受体拮抗剂治疗肠易激综合征的系统评价

何宛蓉, 张法灿, 梁列新

何宛蓉, 张法灿, 梁列新, 广西壮族自治区人民医院消化内科 广西壮族自治区南宁市 530021

国家科技支撑计划基金资助项目, No. 2007BAI07A17-01

作者贡献分布: 本文是在张法灿指导下由何宛蓉完成选题; 研究过程由何宛蓉与梁列新操作完成; 数据分析和论文写作由何宛蓉完成; 张法灿与梁列新指导论文的撰写和审阅。

通讯作者: 张法灿, 主任医师, 530021, 广西壮族自治区南宁市, 广西壮族自治区人民医院消化内科. zhangfacan@126.com

电话: 0771-2186184

收稿日期: 2011-09-05 修回日期: 2011-10-12

接受日期: 2011-11-02 在线出版日期: 2011-11-08

## Mixed 5-HT<sub>3</sub> antagonists/5-HT<sub>4</sub> agonists for irritable bowel syndrome: a systematic review

Wan-Rong He, Fa-Can Zhang, Lie-Xin Liang

Wan-Rong He, Fa-Can Zhang, Lie-Xin Liang, Department of Gastroenterology, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the National Key Technology R&D Program, No. 2007BAI07A17-01

Correspondence to: Fa-Can Zhang, Professor, Department of Gastroenterology, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. zhangfacan@126.com

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

Accepted: 2011-11-02 Published online: 2011-11-08

## Abstract

**AIM:** To systematically review the evidence for the efficacy and safety of mixed 5-HT<sub>3</sub> antagonists/5-HT<sub>4</sub> agonists in the treatment of irritable bowel syndrome (IBS).

**METHODS:** According to the recommendations of the Cochrane Collaboration, a meta-analysis was conducted on 2 841 patients from eight eligible trials with respect to the usage of these drugs.

**RESULTS:** The unimprovement in IBS global symptoms [42.7% vs 46.9%, RR = 0.91, 95% CI (0.58, 1.43)], abdominal pain [53.2% vs 59.3%, RR = 0.90, 95% CI (0.72, 1.11)] or constipation [54.0% vs 58.5%, RR = 0.91, 95% CI (0.74, 1.12)] did not differ significantly in the presence of cisapride

vs placebo. In the presence of renzapride, lower doses (1 mg/d and 2 mg/d) were found not to be superior to placebo in attenuating global symptoms [RR = 0.95, 95% CI (0.67, 1.35); RR = 0.79, 95% CI (0.67, 1.17)]; however, high dose of renzapride (4 mg/d) resulted in a significant difference [67.8% vs 73.9%, RR = 0.91, 95% CI (0.86, 0.96)]. There was no significant difference in the incidence of adverse events among cisapride [RR = 1.52, 95% CI (0.58, 3.99)], renzapride [RR = 1.11, 95% CI (0.98, 1.24)] and placebo.

**CONCLUSION:** Except for high dose of renzapride (4 mg/d) which could relieve the global symptoms in IBS-C patients, there was no sufficient evidence to indicate that low dose renzapride or cisapride might be used to improve the global symptoms, abdominal pain as well as constipation discomfort.

**Key Words:** Cisapride; Mosapride; Renzapride; Irritable bowel syndrome; Systematic review; Meta-analysis

He WR, Zhang FC, Liang LX. Mixed 5-HT<sub>3</sub> antagonists/5-HT<sub>4</sub> agonists for irritable bowel syndrome: a systematic review. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(31): 3277-3283

## 摘要

**目的:** 系统评价混合型5-HT<sub>4</sub>受体激动剂/5-HT<sub>3</sub>受体拮抗剂(西沙必利、莫沙必利、伦扎必利)治疗肠易激综合征(IBS)的有效性和安全性。

**方法:** 采用Cochrane协作网推荐的方法, 对纳入的全世界范围内有关西沙必利、莫沙必利、伦扎必利治疗肠易激综合征的8个随机对照试验( $n = 2\,841$ )进行系统评价。

**结果:** Meta分析结果显示, 西沙必利对IBS总体症状[RR = 0.91, 95%CI(0.58, 1.43)]、腹痛症状[RR = 0.90, 95%CI(0.72, 1.11)]及便秘症状(RR = 0.91, 95%CI(0.74, 1.12))的疗效均不优于安慰剂。伦扎必利1 mg/d组和2 mg/d组对

## ■背景资料

肠易激综合征是一种常见的功能性胃肠疾病, 治疗多样化。5-羟色胺受体调节剂是研究较多、争议较大的一类药物, 其中混合型5-HT<sub>4</sub>受体激动剂/5-HT<sub>3</sub>受体拮抗剂治疗IBS的有效性和安全性仍有待进一步证实。

## ■同行评议者

陈治水, 主任医师, 解放军第二一医院中医科

## ■ 研发前沿

5-羟色胺受体调节剂通过调节肠道运动功能和内脏感觉功能,可改善IBS患者的腹痛症状及排便习惯。

IBS总体症状的疗效不优于安慰剂[RR = 0.95, 95%CI(0.67, 1.35); RR = 0.79, 95%CI(0.67, 1.17)], 伦扎必利4 mg/d组对IBS总体症状的疗效优于安慰剂[67.8% vs 73.9%, RR = 0.91, 95%CI(0.86, 0.96)]。西沙必利[RR = 1.52, 95%CI(0.58, 3.99)]和伦扎必利[RR = 1.11, 95%CI(0.98, 1.24)]的药物不良事件发生率与安慰剂无显著性差异。

**结论:** 伦扎必利4 mg/d可缓解IBS-C的总体症状, 对缓解IBS腹痛/腹部不适症状的证据不足; 伦扎必利1 mg/d及2 mg/d对缓解IBS总体症状及腹痛/腹部不适症状的证据均不足。西沙必利对缓解IBS总体症状及腹痛、便秘的证据不足, 莫沙必利治疗IBS缺乏有效证据。大部分纳入试验的方法学质量均较低, 期待更多大样本、高质量的随机对照试验。

**关键词:** 西沙必利; 莫沙必利; 伦扎必利; 肠易激综合征; 系统评价; Meta分析。

何宛蓉, 张法灿, 梁列新. 混合型5-HT<sub>4</sub>受体激动剂/5-HT<sub>3</sub>受体拮抗剂治疗肠易激综合征的系统评价. 世界华人消化杂志 2011; 19(31): 3277-3283

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3277.asp>

## 0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种全球性疾病, 总患病率3%-25%<sup>[1]</sup>。目前对于IBS的病因和发病机制尚未完全明了, 其发生与胃肠动力紊乱、内脏感觉异常、精神心理因素等密切相关<sup>[2]</sup>。IBS的治疗主要包括生活方式调整、药物治疗以及心理治疗, 其中的药物治疗以对症为主, 包括解痉剂、导泻剂、止泻剂、肠道动力感觉调节剂、微生态制剂及抗抑郁药等<sup>[3]</sup>。5-羟色胺(5-HT)在调节胃肠道运动、感觉和分泌活动中发挥重要作用, 其作用于5-HT受体而发挥生物学作用。在胃肠道, 5-HT受体主要有5-HT<sub>1</sub>、5-HT<sub>2</sub>、5-HT<sub>3</sub>、5-HT<sub>4</sub>、5-HT<sub>7</sub>受体等<sup>[4]</sup>。研究表明<sup>[5]</sup>, 5-羟色胺受体调节剂(5-hydroxytryptamine receptor moderator, 5-HTRM)通过调节肠道运动功能和内脏感觉功能, 可改善IBS患者的腹痛症状及排便习惯。目前, 作用于胃肠道的5-HTRM主要包括5-HT<sub>1</sub>受体激动剂、5-HT<sub>3</sub>受体拮抗剂及激动剂、5-HT<sub>4</sub>受体拮抗剂及激动剂、混合型5-HT<sub>4</sub>受体激动剂/5-HT<sub>3</sub>受体拮抗剂。混合型5-HT<sub>4</sub>受体激动剂/5-HT<sub>3</sub>受体拮抗剂中代表性的有西沙必利(cisapride)、莫沙必利(mosapride)和伦扎必利(rezapride)。他们的

药理作用是通过一方面兴奋肠肌间神经节前和节后神经元的5-HT<sub>4</sub>受体, 促进释放乙酰胆碱并增强胆碱能的效应, 增强胃肠道平滑肌的蠕动和收缩; 另外也可通过拮抗5-HT<sub>3</sub>受体, 调节肠道感觉<sup>[6]</sup>。Jailwala<sup>[7]</sup>曾对西沙必利治疗IBS进行系统评价, 但其发表年代距今较久, 系统评价的方法学相对不够完善; Ford<sup>[8]</sup>纳入的西沙必利治疗IBS临床随机对照试验均较旧, 仅纳入16岁以上IBS患者, 且均未纳入中文文献; 伦扎必利的一项系统评价<sup>[9]</sup>仅纳入2008年前的文献, 纳入文献数量及样本含量均较少, 缺乏大样本研究, 应对其及时更新; 莫沙必利治疗IBS目前尚无系统评价研究报告。因此, 混合型5-HT<sub>4</sub>受体激动剂/5-HT<sub>3</sub>受体拮抗剂治疗IBS的有效性和安全性仍有待进一步证实。本研究将使用Cochrane系统评价的方法, 对2011年5月前全世界范围的西沙必利、莫沙必利及伦扎必利治疗IBS的随机对照试验进行系统评价, 以期回答西沙必利、莫沙必利及伦扎必利治疗肠易激综合征有效性及安全性的问题, 为临床实践提供证据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 计算机检索PUBMED数据库(1978/2011-05)、EMBASE数据库(1978/2011-05)、Cochrane图书馆临床对照试验数据库(2011年)、ISI数据库(2000年/2011年)和中国生物医学文献数据库(CBM)(1978/2011-05), 中国知网(CNKI)(1978/2011-05)、维普中文科技期刊数据库(VIP)(1989/2011-05)。分别采用主题词检索(有主题词检索功能的数据库)及自由词检索。中华内科杂志、中华消化杂志、世界华人消化杂志、胃肠病学杂志、临床内科杂志、中国实用内科杂志、临床消化病杂志、胃肠病学和肝病杂志等, 并查阅所获资料的参考文献。

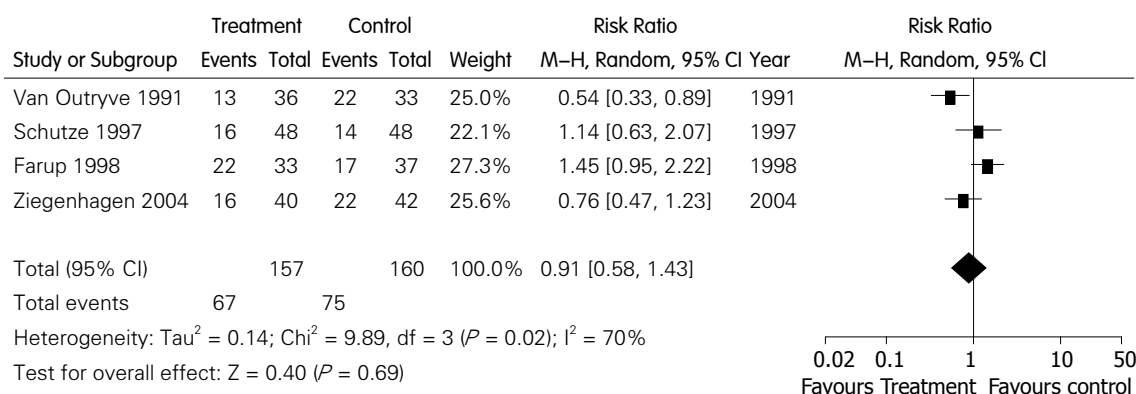
## 1.2 方法

**1.2.1 主要结局指标:** 西沙必利、莫沙必利、伦扎必利治疗后IBS患者的总体症状无缓解率或无效率。

**1.2.2 次要结局指标:** (1)西沙必利、莫沙必利、伦扎必利治疗后IBS患者的腹痛/腹部不适、便秘症状无缓解率或无效率; (2)西沙必利、莫沙必利、伦扎必利治疗IBS的不良事件发生率。

**1.2.3 资料提取和质量评价:** 由2位研究者独立按照统一的资料提取表提取资料, 依据Cochrane系统评价手册5.1<sup>[10]</sup>随机对照试验治疗的质量评价标准对纳入文献的方法学质量进行评估。





## ■ 相关报道

Jailwala及Ford曾行系统评价研究提示西沙必利及伦扎必利治疗IBS疗效不优于安慰剂,但其方法学等存在缺陷,莫沙必利尚无系统评价研究报告,需及时更新。

图1 西沙必利治疗IBS的总体症状疗效Meta分析。

1.2.4 文献纳入标准: (1)必须是随机对照临床试验(Randomized controlled trials, RCT); (2)研究对象为12岁以上的IBS患者; (3)IBS的诊断标准明确: 采用Manning、Kruis、罗马 I、罗马 II、罗马 III标准, 或全国腹泻会议标准<sup>[9]</sup>及医生根据相关症状联合排除检查等; (4)必须是西沙必利、莫沙必利、伦扎必利与安慰剂对照的临床试验; (5)试验治疗和随访持续时间不少于7 d; (6)研究结果中必须有临床症状和(或)不良事件(Adverse Events, AEs)的数据; (7)文献语言种类不限。

1.2.5 文献排除标准: (1)治疗组及对照组同时接受西沙必利、莫沙必利、伦扎必利治疗; (2)治疗组使用西沙必利、莫沙必利、伦扎必利联合其他药物与安慰剂对照。

**统计学处理** 统计分析采用Cochrane协作网提供的Revman5.1.2<sup>[11]</sup>系统软件进行。各个疗效判定指标分析均采用意向性分析(intention-to-treat, ITT)。对多个研究的结果进行Meta分析时, 首先进行异质性检验, 具有同质性时, 选择固定效应模型; 而具有异质性时, 酌情选择随机效应模型或进行亚组分析、敏感性分析; 不能进行Meta分析者作描述性分析。根据数据类型, 分别选择计算相对危险度(RR)及其95%可信区间(CI)、加权均数差值(WMD)及其95%CI或标化均数差值(SMD)及其95%CI。

## 2 结果

2.1 纳入试验特点 根据检索策略, 共检索到238篇可能符合纳入标准的文献, 排除重复文献93篇, 通过阅读文献题目及摘要, 排除不符合文献104篇, 余下41篇文献进入全文筛查。通过阅读全文, 共排除不符合文献32篇, 其中非真正RCT 13篇, 研究对象为非IBS患者3篇, 治疗或对照药物不符合8篇, 结局指标不符合2篇, 数据不

能提取5篇, 最后纳入合格的文献共8篇<sup>[12-19]</sup>, 其中西沙必利4篇, 莫沙必利0篇, 伦扎必利4篇, 均为国外研究。样本量最大的RCT包括1 798例患者<sup>[19]</sup>, 最少的48例患者<sup>[16]</sup>。患者平均年龄最低36岁<sup>[16]</sup>, 最高49.5岁<sup>[15]</sup>。其中7个试验以女性为主(78%-91%), 1个试验仅纳入女性患者<sup>[19]</sup>; 7个试验纳入IBS便秘型(IBS-C)患者, 另1试验<sup>[18]</sup>纳入IBS交替型(IBS-A)患者。

2.2 纳入试验方法学的质量评估 所有纳入的试验均描述了治疗组及对照组的基线相似性, 均为随机分组试验, 仅3篇<sup>[17-19]</sup>具体描述如何随机分组, 3篇试验<sup>[17-19]</sup>对随机分配方案进行了充分的隐藏。均为双盲试验, 仅2篇试验<sup>[15,19]</sup>具体描述如何实施盲法。8篇试验全部报告了受试者退出、失访情况, 并对具体原因进行详细说明, 所有纳入试验均采用ITT分析。纳入的8篇文章均无选择性报告结果。

### 2.3 药物对IBS的疗效及安全性分析结果

2.3.1 西沙必利: (1) IBS总体症状无缓解率或无效率: 共纳入4篇西沙必利治疗IBS的随机对照试验<sup>[12-15]</sup>, 样本量( $n = 317$ )。异质性检验显示试验结果间存在异质性( $P = 0.02$ ), Meta分析采用随机效应模型, 结果显示西沙必利(5 mg tid-10 mg tid)治疗IBS的总体症状疗效不优于安慰剂[治疗组与安慰剂组: 42.7% vs 46.9%,  $RR = 0.91$ , 95%CI(0.58, 1.43), 图1]。 (2) 敏感性分析: 由于Farup的研究<sup>[14]</sup>结果差异最大, 剔除后进行敏感性分析, 提示试验结果之间无异质性( $P = 0.16$ ), 采用固定效应模型。结果显示, 西沙必利治疗IBS总体症状的疗效仍不优于安慰剂( $RR = 0.76$ , 95%CI(0.51, 1.14))。 (3) IBS腹痛无缓解率或无效率: 共纳入3个试验<sup>[12,13,15]</sup>, 样本量( $n = 247$ )。试验结果之间无异质性( $P = 0.39$ ), 采用固定效应模型。结果显示, 西沙必利(5-10 mg t.i.d)治疗IBS

## ■创新盘点

本研究严格按Cochrane系统评价方法对西沙必利及伦扎必利治疗IBS的总体症状及单个症状疗效均进行评价,并行亚组分析,提示伦扎必利4mg/d可缓解IBS-C的总体症状。

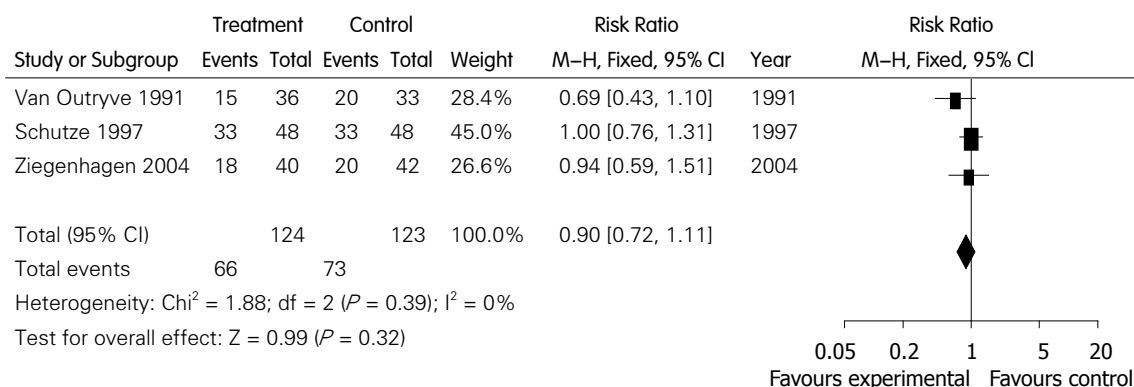


图2 西沙必利治疗IBS的腹痛疗效Meta分析。

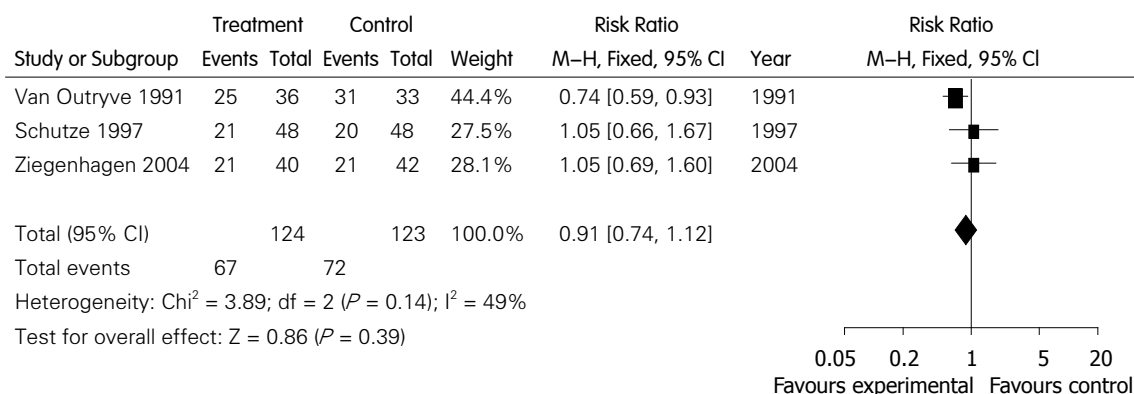


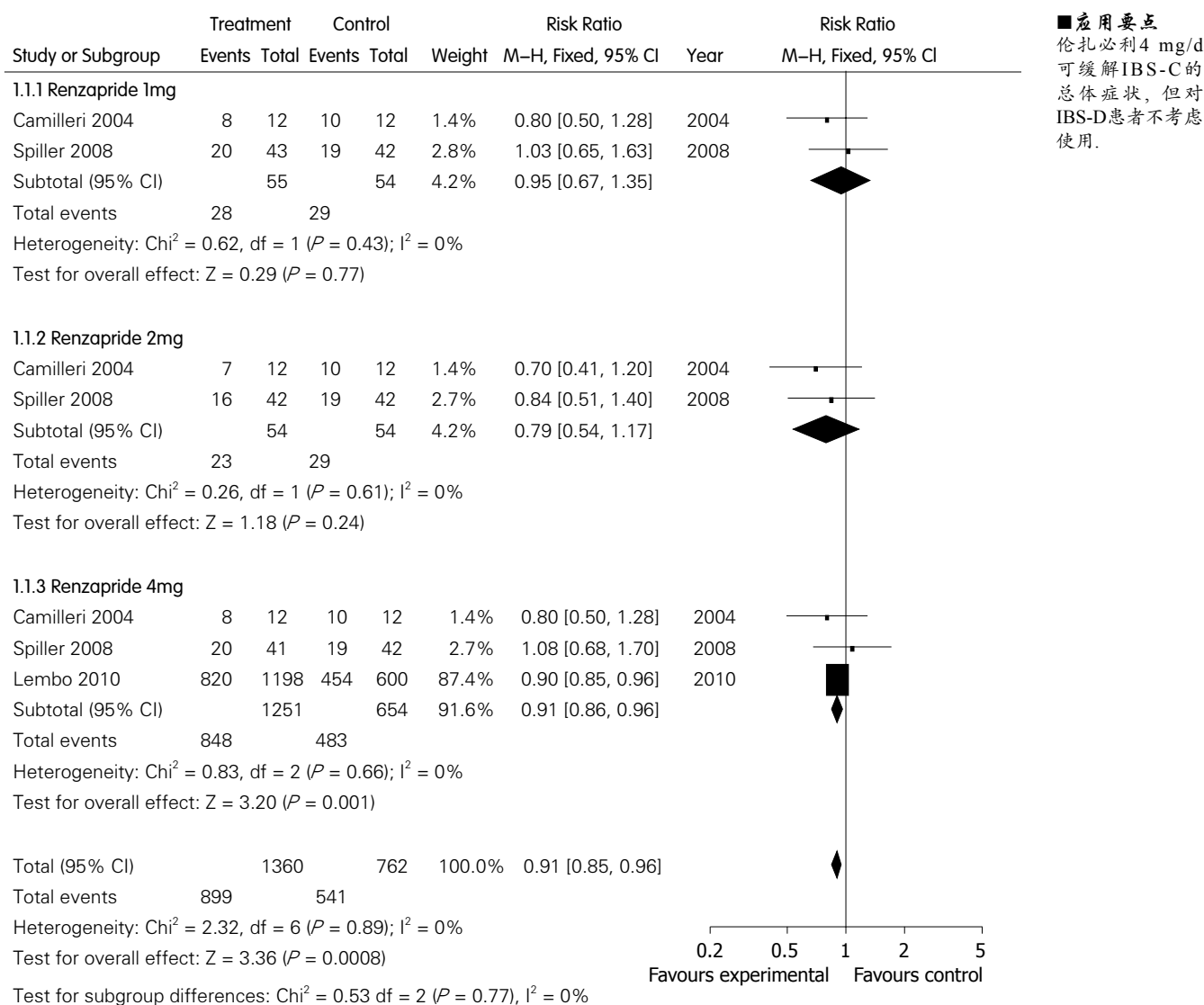
图3 西沙必利治疗IBS的便秘疗效Meta分析。

的腹痛症状疗效不优于安慰剂[治疗组与安慰剂组: 53.2% vs 59.3%,  $RR = 0.90$ , 95%CI(0.72, 1.11), 图2]。 (4) IBS便秘无缓解率或无效率: 纳入3个试验<sup>[12,13,15]</sup>, 样本量( $n = 247$ )。试验结果之间无异质性( $P = 0.14$ ), 采用固定效应模型。结果显示, 西沙必利(5-10 mg t.i.d)治疗IBS的便秘症状疗效不优于安慰剂[治疗组与安慰剂组: 54.0% vs 58.5%,  $RR = 0.91$ , 95%CI(0.74, 1.12), 图3]。 (5) 药物不良事件发生率: 3个试验<sup>[13-15]</sup>报告了西沙必利的药物不良事件发生情况, 样本量( $n = 248$ ), 出现的不良反应主要有腹泻、腹痛和呕吐。试验结果间无异质性( $P = 0.37$ ), 采用固定效应模型。结果显示, 西沙必利治疗IBS的不良事件发生率与安慰剂无差别[治疗组与安慰剂组: 7.4% vs 4.7%,  $RR = 1.52$ , 95%CI(0.58, 3.99)]。

2.3.2 莫沙必利: 按检索策略, 纳入合格的莫沙必利治疗IBS随机对照试验0篇。

2.3.3 伦扎必利: (1) IBS总体症状无缓解率或无效率: 纳入3个试验<sup>[16,18,19]</sup>, 样本量( $n = 1014$ )。3个试验结果之间无异质性( $P = 0.89$ ), 采用固定效应模型。结果提示, 伦扎必利(1 mg/d或2 mg/d或4 mg/d)治疗IBS总体症状的疗效优于安慰

剂[治疗组与安慰剂组: 66.1% vs 71.0%,  $RR = 0.91$ , 95%CI(0.85, 0.96), 图4]。试验结果提示, 伦扎必利治疗IBS可能存在量-效关系, 故行亚组分析。亚组分析表明, 伦扎必利1 mg/d及2 mg/d对IBS总体症状的疗效不优于安慰剂[ $RR = 0.95$ , 95%CI(0.67, 1.35);  $RR = 0.79$ , 95%CI(0.67, 1.17)]; 伦扎必利4 mg/d组的IBS总体症状无缓解率为67.8%, 安慰剂组为73.9%, 对IBS总体症状的疗效优于安慰剂[ $RR = 0.91$ , 95%CI(0.86, 0.96), 图4]。 (2) IBS腹痛/腹部不适无缓解率或无效率: 仅纳入1个伦扎必利治疗IBS的随机对照试验<sup>[17]</sup>, 样本量( $n = 510$ )。结果提示, 伦扎必利1 mg/d、2 mg/d、4 mg/d治疗IBS腹痛/腹部不适症状疗效均不优于安慰剂[1 mg/d组:  $RR = 1.08$ , 95%CI(0.93, 1.25); 2 mg/d组:  $RR = 0.92$ , 95%CI(0.77, 1.09); 4 mg/d组:  $RR = 1.03$ , 95%CI(0.89, 1.20)]。 (3) 药物不良事件发生率: 共4个随机对照试验<sup>[16-19]</sup>报告了伦扎必利的药物不良事件发生情况, 样本量( $n = 2495$ )。主要不良反应有头痛、腹痛、腹泻、腹痛、恶心、呕吐等, 大多为轻中度不良反应。4个试验结果间存在异质性( $P = 0.0005$ ), 采用随机效应模型, 伦扎必利



## ■应用要点

伦扎必利 4 mg/d 可缓解 IBS-C 的总体症状, 但对 IBS-D 患者不考虑使用。

图 4 伦扎必利治疗 IBS 总体症状疗效的 Meta 分析。

治疗组总的不良事件发生率与安慰剂组无显著性差异[62.6% vs 62.6%,  $RR = 1.11$ , 95%CI(0.98, 1.24)]; 亚组分析亦提示伦扎必利 1 mg/d、2 mg/d、4 mg/d 治疗 IBS 的不良事件发生率与安慰剂均无显著性差异。

### 3 讨论

在肠易激综合征药物治疗中, 5-羟色胺受体调节剂是研究较多、争议较大的一类药物。本系统评价在世界范围内共收集到 8 个合格的关于混合型 5-HT<sub>4</sub> 受体激动剂/5-HT<sub>3</sub> 受体拮抗剂西沙必利、伦扎必利治疗 IBS 的随机对照试验, 合计 2 841 例, 并评价其治疗 IBS 的有效性和安全性。

此前西沙必利治疗 IBS 的系统评价<sup>[7,8]</sup>方法学相对现今发展不够完善, 虽得出西沙必利疗效不优于安慰剂的相似结论, 但遗漏了对单个症状的疗效评价。目前仍以症状好转与否主观

指标评价功能性胃肠病的药物疗效, 但使用症状无缓解率作为结局指标较症状好转率相对更为客观<sup>[20]</sup>。本研究对 IBS 总体症状及单个症状的疗效均进行了评价。在纳入 4 项研究( $n = 317$ )中, Meta 分析结果显示, 西沙必利在改善 IBS-C 总体症状方面疗效不优于安慰剂。尽管其中 1 项研究的结果与其他的结果存在较大差异, 但在剔除后, 仍得出相似的结果, 说明上述结论可靠性较好。在腹痛、便秘症状疗效方面, 结果显示西沙必利对 IBS 的疗效不优于安慰剂。虽然试验结果间无异质性, 但仅纳入 3 个试验, 样本含量少, 且失访、退出人数采用 ITT 分析, 可能会降低症状好转率。在药物安全性方面, 西沙必利治疗 IBS 的药物不良事件发生率与安慰剂无差别。主要的不良反应包括腹泻、腹痛、呕吐, 有患者因此退出试验, 但未观察到心血管事件及缺血性肠炎事件发生。结果表明, 对于 IBS-C 患者, 西沙

### ■同行评价

本研究分析了IBS患者5-HT<sub>4</sub>受体激动剂/5-HT<sub>3</sub>受体拮抗剂的治疗效果,提示西沙必利、小剂量伦扎必利对IBS无治疗作用,大剂量伦扎必利(4 mg/d)与安慰剂组比有显著差异,本文对指导临床及科研有参考价值。

必利改善其总体症状及单个症状证据不足,使用时注意观察其不良反应。然而,本研究仅纳入4篇文献,可能存在发表偏倚,纳入的研究年代较早,诊断标准不完全统一,样本量偏少,研究方法学的质量欠佳。因此,西沙必利治疗IBS便秘型的临床证据还很弱。

既往伦扎必利的系统评价<sup>[8]</sup>得出伦扎必利对IBS的疗效与安慰剂无差异的结论,但该评价未按药物剂量进行亚组分析。本研究共纳入4项研究( $n = 2\,356$ ),结果表明,伦扎必利1 mg/d和2 mg/d对IBS的总体症状疗效不优于安慰剂,而伦扎必利4 mg/d的疗效则优于安慰剂。纳入研究均采用统一的诊断标准(罗马II标准),研究对象的一致性较好,其多个结果间无异质性,样本含量较大,起主导作用的为一个大样本( $n = 1\,798$ )的高质量研究(结果权重87.4%),其结果可靠性较好。但纳入的RCT较少,可能存在发表偏倚。临床试验中一个很重要的问题是IBS对安慰剂的高反应性(20%-70%)可能掩盖有效药物的实际疗效<sup>[21]</sup>。Spiller<sup>[22]</sup>报告安慰剂的反应性呈一抛物线,其最高值在6-8 wk,安慰剂的作用约在12 wk后消失,此时与治疗药物的差异有显著性。因此,足够的样本量、临床试验时间至少12 wk,才有可能使安慰剂作用消失,得出比较明确的试验结果。在本研究中,3个试验中的2个治疗随访期均达12 wk,另1个试验治疗随访期仅14 d,但其样本含量少,结果权重仅1.4%,对结果影响不大。结果表明,伦扎必利4 mg/d可缓解IBS-C的总体症状,但与安慰剂比,优势并不十分大(总体症状缓解RR = 1.1, <1.5),目前的临床证据还不是很强。

在缓解IBS患者腹痛/腹部不适症状方面,仅纳入1个伦扎必利治疗IBS-A的随机对照试验,结果提示伦扎必利1 mg/d、2 mg/d及4 mg/d的疗效均不优于安慰剂。该试验的失访、退出率较高,采用ITT分析可能会降低其症状好转率,同时仅纳入1个试验,存在发表偏倚。因此,伦扎必利缓解IBS患者腹痛/腹部不适的证据尚不充分。

在药物安全性方面,纳入4项研究的meta分析表明,伦扎必利1 mg/d、2 mg/d、4 mg/d治疗IBS的药物不良事件发生率均与安慰剂无差别,不存在量-效关系。药物不良事件主要包括头痛、腹胀、腹泻、腹痛、恶心、呕吐等,大多为轻中度不良反应,但仍有患者因严重不良反应退出试验。多数试验未发现与伦扎必利相关的心电图改变及实验室检查异常,但在1个试验的伦扎必利2 mg/d组观察到1例心律失常。纳入

的4个试验在12 wk治疗期间均未发现缺血性肠炎事件,但其中1个研究持续12 mo的安全性试验期间,观察到了3例缺血性肠炎事件,没有与伦扎必利相关的死亡病例报告。因此,伦扎必利4 mg/d可缓解IBS-C患者总体IBS症状,但老年、有心血管疾病的人群使用时应密切监测心率和心电图情况,长期用药患者还应密切观察有无缺血性肠炎的发生。目前尚无伦扎必利治疗IBS腹泻型(IBS-D)的临床试验依据,故在IBS-D患者不考虑使用。

总之,西沙必利缓解IBS总体症状及腹痛、便秘证据不足。莫沙必利治疗IBS缺乏有效证据。伦扎必利4 mg/d可缓解IBS-C的总体症状,对IBS腹痛/腹部不适证据不足;伦扎必利1 mg/d及2 mg/d缓解IBS总体症状及腹痛/腹部不适证据不足。本研究纳入的8个试验中除1个试验具有高质量外,其余研究的方法学质量均较低,结论需谨慎。今后开展IBS临床试验应充分考虑到现有临床试验的局限性,特别是在研究的设计方案上尽量改进,做到正确的随机分组、分配隐藏及盲法,治疗及随访时间最好能超过12 wk。目前国内尚缺乏该方面的高质量研究,故在IBS药物临床试验方面,需进行更多的大样本、高质量混合型5-HT<sub>4</sub>受体激动剂/5-HT<sub>3</sub>受体拮抗剂治疗IBS的随机对照试验。

### 4 参考文献

- 1 Cremonini F, Talley NJ. Irritable bowel syndrome: epidemiology, natural history, health care seeking and emerging risk factors. *Gastroenterol Clin North Am* 2005; 34: 189-204
- 2 李定国, 周惠清. 重视肠易激综合征的流行病学调查. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 3591-3593
- 3 汪安江, 陈昱湖. 肠易激综合征药物治疗的循证医学评价. *胃肠病学和肝病杂志* 2009; 18: 388-391
- 4 丁健华, 傅传刚, 赵荣华. 五羟色胺在胃肠道功能性疾病中的研究现状. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 2405-2408
- 5 Atkinson W, Lockhart S, Whorwell PJ, Keevil B, Houghton LA. Altered 5-hydroxytryptamine signaling in patients with constipation- and diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2006; 130: 34-43
- 6 石刚, 吴硕东. 促胃肠动力药的作用机制及临床应用研究进展. *世界华人消化志* 2006; 14: 189-196
- 7 Jailwala J, Imperiale TF, Kroenke K. Pharmacologic treatment of the irritable bowel syndrome: a systematic review of randomized, controlled trials. *Ann Intern Med* 2000; 133: 136-147
- 8 Ford AC, Brandt LJ, Young C, Chey WD, Foxx-Orenstein AE, Moayyedi P. Efficacy of 5-HT<sub>3</sub> antagonists and 5-HT<sub>4</sub> agonists in irritable bowel syndrome: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 1831-1843; quiz 1844
- 9 佚名. 肠易激综合征科研病例选择标准. *实用内科学*

- 杂志 1991; 11: 391
- 10 Higgins JPT, Green S, editors. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.1.0*[updated March 2011]. The Cochrane Collaboration, 2011.
- 11 Review Manager (RevMan) [computer program]. Version 5.1 Copenhagen: The Cochrane Centre, The Cochrane Collaboration, 2011
- 12 Van Outryve M, Milo R, Toussaint J, Van Eeghem P. "Prokinetic" treatment of constipation-predominant irritable bowel syndrome: a placebo-controlled study of cisapride. *J Clin Gastroenterol* 1991; 13: 49-57
- 13 Schütze K, Brandstätter G, Dragosics B, Judmaier G, Hentschel E. Double-blind study of the effect of cisapride on constipation and abdominal discomfort as components of the irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther* 1997; 11: 387-394
- 14 Farup PG, Hovdenak N, Wetterhus S, Lange OJ, Hovde O, Trondstad R. The symptomatic effect of cisapride in patients with irritable bowel syndrome and constipation. *Scand J Gastroenterol* 1998; 33: 128-131
- 15 Ziegenhagen DJ, Kruis W. Cisapride treatment of constipation-predominant irritable bowel syndrome is not superior to placebo. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19: 744-749
- 16 Camilleri M, McKinzie S, Fox J, Foxx-Orenstein A, Burton D, Thomforde G, Baxter K, Zinsmeister AR. Effect of renzapride on transit in constipation-predominant irritable bowel syndrome. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2: 895-904
- 17 George AM, Meyers NL, Hickling RI. Clinical trial: renzapride therapy for constipation-predominant irritable bowel syndrome--multicentre, randomized, placebo-controlled, double-blind study in primary healthcare setting. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 27: 830-837
- 18 Spiller RC, Meyers NL, Hickling RI. Identification of patients with non-d, non-C irritable bowel syndrome and treatment with renzapride: an exploratory, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 3191-3200
- 19 Lembo AJ, Cremonini F, Meyers N, Hickling R. Clinical trial: renzapride treatment of women with irritable bowel syndrome and constipation - a double-blind, randomized, placebo-controlled, study. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 31: 979-990
- 20 Irvine EJ, Whitehead WE, Chey WD, Matsueda K, Shaw M, Talley NJ, Veldhuyzen van Zanten SJ. Design of treatment trials for functional gastrointestinal disorders. *Gastroenterology* 2006; 130: 1538-1551
- 21 Cooper HL. Irritable bowel syndrome: diagnosis by exclusion. *Geriatrics* 1980; 35: 43-46
- 22 Spiller RC. Problems and challenges in the design of irritable bowel syndrome clinical trials: experience from published trials. *Am J Med* 1999; 107: 91S-97S

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费。审稿周期及发表周期不变。(编辑部主任: 李军亮 2011-01-01)



# 《世界华人消化杂志》投稿须知

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

## 1 投稿总则

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

《世界华人消化杂志》定价56.00元, 全年2016.00元, 邮发代号82-262, 由世界华人消化杂志编辑部出版。《世界华人消化杂志》主要报道胃肠病学、肝胆病学、胰腺病学、内镜介入与消化外科等多学科的评论及基础研究和临床实践等各类文章, 具体内容涉及: 食管疾病, 如反流性食管炎、Barret's食管、食管静脉曲张和食管癌等; 胃部疾病, 胃食管反流性疾病、胃炎、胃动力障碍、胃出血、胃癌和幽门螺杆菌感染等; 肠道疾病, 如肠道出血、肠穿孔、肠梗阻、肠道炎症(如IBD/CD等)、肠道感染、大肠癌和大肠腺瘤等; 肝胆部疾病如病毒性肝炎、肝硬化、脂肪肝、肝纤维化、肝衰竭、胆石病、胆汁郁积、梗阻性黄疸、肝癌、胆囊癌、胆管癌和门静脉高压等; 胰腺疾病, 如胰腺炎和胰腺癌等; 全身性疾病涉及消化系统, 如自身免疫性及瘀胆性疾病、腹腔疾病、消化不良和代谢性疾病等; 以及与以上疾病相关的基因及基因组学、微生物及分子生物学、病因学、流行病学、免疫学、临床内外科诊断与治疗(如影像、化疗、移植、营养等); 除以上外, 本刊也报道诊断与筛选、内窥镜检查法、影像及先进技术。

《世界华人消化杂志》被国际检索系统美国《化学文摘》(Chemical Abstracts, CA)、荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》收录。国内为中国科技论文统计与分析期刊(科技部列选为中国科技论文统计源期刊)、《中文核心期刊要目总览》(2008年版)内科学类的核心期刊、《中国学术期刊评价研究报告-RCES权威、核心期刊排行榜与指南》和

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

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

## 2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标. 静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P<sup>H</sup>, *H. pylori*不能写成HP,  $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T<sub>1/2</sub>, Vmax不能Vmax, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数K; 一些统计学符号(如样本数n, 均数mean, 标准差SD, F检验, t检验和概率P, 相关系数r); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如N, O, P, S, d, l)如n-(normal, 正), N-(nitrogen, 氮), o-(ortho, 邻), O-(oxygen, 氧, 习惯不译), d-(dextro, 右旋), p-(para, 对), 例如n-butyl acetate(醋酸正丁酯), N-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), o-cresol(邻甲酚), 3-O-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), d-amphetamine(右旋苯丙胺), l-dopa(左旋多巴), p-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写in vitro, in vivo, in situ; Ibid, et al, po, vs; 用外文字母代表的物理量, 如m(质量), V(体积), F(力), p(压力), W(功), v(速度), Q(热量), E(电场强度), S(面积), t(时间), z(酶活性, kat), t(摄氏温度, °C), D(吸收剂量, Gy), A(放射性活度, Bq), ρ(密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L), φ(体积分数, mL/L), w(质量分数, mg/g), b(质量摩尔浓度, mol/g), l(长度), b(宽度), h(高度), d(厚度), R(半径), D(直径), T<sub>max</sub>, C<sub>max</sub>, Vd, T<sub>1/2</sub> CI等. 基因符号通常用小写斜体, 如ras, c-myc; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家

标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如30 kD改为M<sub>r</sub> 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即A<sub>r</sub>(A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、-及-后列出. 在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d. 3.56 ± 0.27 pg/ml应为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用1 × 10<sup>12</sup>/L, WBC数用1 × 10<sup>9</sup>/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M<sub>r</sub>明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO<sub>2</sub>结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1 × 10<sup>-3</sup> g与5 × 10<sup>-7</sup> g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO<sub>2</sub>, 50 mL/L CO<sub>2</sub>; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45 × 10<sup>-6</sup>; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

《世界华人消化杂志》为中国科技论文统计源核心期刊(2010年)和中文核心期刊要目总览(北京大学图书馆, 2008年版)收录的学术期刊.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-5908-0035, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

2.5 统计学符号 (1) $t$ 检验用小写 $t$ ; (2) $F$ 检验用英文大写 $F$ ; (3)卡方检验用希腊文小写 $\chi^2$ ; (4)样本的相关系数用英文小写 $r$ ; (5)自由度用希腊文小写 $\nu$ ; (6)样本数用英文小写 $n$ ; (7)概率用英文斜体大写 $P$ . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 $\pm$ 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$ , 平均数 $\pm$ 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$ . 统计学显著性用 $^aP < 0.05$ ,  $^bP < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP < 0.05$ ,  $^dP < 0.01$ ; 第三套为 $^eP < 0.05$ ,  $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1000-1500 kg, 3.5 mmol/L  $\pm$  0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3614.5 g  $\pm$  420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg  $\pm$  0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm  $\pm$  0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48  $\rightarrow$  23.5  $\rightarrow$  24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 $\leq 100$ , 百分数到个位;  $101 \leq \text{分母} \leq 1000$ , 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1486800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号

分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

### 3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入致谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通

大学医学院附属医院仁济医院,上海市消化疾病研究所.

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

### 3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致.

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号. 格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”.

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码. 例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致.

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象. 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度. 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征. 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准. 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 $P$ , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值).

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材

料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 正文内序号连排用(1), (2), (3). 以下逐条陈述.

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可.

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾.

图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ... 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用:  $^aP<0.05$ ,  $^bP<0.01$ ( $P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP<0.05$ ,  $^dP<0.01$ ; 第3套为 $^eP<0.05$ ,  $^fP<0.01$ .  $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 表达.

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上角注码号. 如马连生<sup>[1]</sup>报告……, 潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版. 北京报刊发行局发行, 邮发代号: 82-262.

2010年,《世界华人消化杂志》将坚持开放获取(open access, OA)的出版模式,编辑出版高质量文章,努力实现编委、作者和读者利益的最大化,努力推进本学科的繁荣和发展,向专业化、特色化和品牌化方向迈进。

为……; PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>。文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊: 序号, 作者(列出全体作者), 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传。读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程。

## 4 写作格式实例

### 4.1 述评写作格式实例

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

### 4.2 研究原著写作格式实例

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

### 4.3 焦点论坛写作格式实例

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

### 4.4 文献综述写作格式实例

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

### 4.5 研究快报写作格式实例

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

### 4.6 临床经验写作格式实例

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

### 4.7 病例报告写作格式实例

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

## 5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在线提交的通过[submission@wjgnet.com](mailto:submission@wjgnet.com), 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>。审稿过程平均时间需要14-28 d。所有的来

稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审。接受后的稿件作者需缴纳稿件发表费, 文章发表后可获得1本样刊及10套单行本(稿酬)。

## 6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见寄回给作者修改, 而作者必须于15 d内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料寄回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任。

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有。

### 《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司  
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号  
远洋国际中心D座903室  
电话: 010-5908-0035  
传真: 010-8538-1893  
E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>



## 2011年国内国际会议预告

2011-08-20/22

第十五次全国中西医结合儿科学术会议

会议地点: 兰州市

联系方式: zxyek@sina.com

2011-08-26/27

第四届福瑞肝纤维化论坛

会议地点: 上海市

联系方式: bstract@cosoman.com

2011-08-31/09-02

腹腔间室综合征的护理进展

会议地点: 延吉市

联系方式: qiyan68@126.com

2011-09

中华医学会超声医学分会第十一次全国超声医学学术会议

会议地点: 青岛市

联系方式: <http://www.nccsum.org/>

2011-09-14/17

第六届全国疑难及重症肝病大会

会议地点: 兰州市

联系方式: office@cnsld.org

2011-09-14/18

第十四届全国临床肿瘤学大会暨2011年CSCO学术年会

会议地点: 福州市

联系方式: 010-67726451

2011-09-16/18

第七届全国消化系统中晚期恶性肿瘤学术年会

会议地点: 济南市

联系方式: xiaohuahuiyi@126.com

2011-09-24

2011中国消化病学大会

会议地点: 北京市

联系方式: 010-51292005-105

2011-09-25/26

2011北京消化内镜节

会议地点: 北京市

联系方式: 010-51292005-105

2011-10-07/09

第八届亚太肝病学会主题会议

会议地点: 北京市

联系方式: info@apaslstc.org

2011-10-13/16

2011年亚太地区国际肿瘤生物学和医学学术会议

会议地点: 上海市

联系方式: clinimmunchina@yahoo.com

2011-10-14/16

中华医学会第五次全国艾滋病、病毒性丙型肝炎暨全国

热带病学术会议

会议地点: 重庆市

联系方式: www.nccsid.org

2011-10-21/23

中华医学会病理学分会第十七次学术会议

会议地点: 杭州市

联系方式: leighdai@cma.org.cn

2011-10-22/26

第19届欧洲肠胃病学联合组织(UEG)会议周

会议地点: 斯德哥尔摩

联系方式: uegw2011@cpo-hanser.de

2011-10-28/11-02

2011美国胃肠病学会年度科学会议

会议地点: 华盛顿

联系方式: annualmeeting@acg.gi.org

2011-11-04/08

第62届美国肝病研究学会(AASLD)年会

会议地点: 旧金山

联系方式: medical\_conference@263.net

2011-11-18/23

第十一届全国消化道恶性病变介入诊疗研讨会暨2011全

国内镜/介入/放疗新技术国际论坛

会议地点: 北京市

联系方式: doctor302@163.com

2011-11-25/27

2011年全国消化道静脉曲张及其伴发消化疾病内镜诊治研讨会

会议地点: 西安市

联系方式: 2011varices@sina.com

2011-12-08/11

第11次全国消化系疾病学术会议

会议地点: 杭州市

联系方式: csgdabstract@126.com

2011-12-09/11

江苏省第四次胃肠外科学术会议

会议地点: 南京市

联系方式: jswwk@yahoo.com.cn

## 志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

白爱平 副教授

南昌大学第一附属医院消化内科

曹秀峰 教授

南京医科大学附属南京第一医院肿瘤中心

陈治水 主任医师

中国人民解放军第二一一医院中医科

崔莲花 副教授

青岛大学医学院公共卫生系

丁惠国 主任医师

首都医科大学附属北京佑安医院肝病消化科

杜奕奇 副教授

首都医科大学附属北京佑安医院肝病消化科

樊晓明 主任医师

复旦大学附属金山医院消化科

高泽立 主任医师

上海交通大学医学院附属第九人民医院周浦分院消化科

葛海燕 教授

同济大学附属东方医院普通外科

管冬元 副教授

上海中医药大学基础医学院实验中医教研室

韩天权 教授

上海交通大学医学院附属瑞金医院外科、上海消化外科研究所

黄恒青 主任医师

福建省第二人民医院消化内科

季加孚 教授

北京大学临床肿瘤学院北京肿瘤医院外科

姜卫东 教授

安徽省立医院肝胆外科

江米足 教授

浙江大学医学院附属儿童医院儿科

姜春萌 教授

大连医科大学附属第二医院消化科

靳雪源 副主任医师

中国人民解放军第302医院消化内科

李华 副教授

中山大学附属第三医院肝脏外科

李瑜元 教授

广州市第一人民医院内科

谭晓冬 副教授

中国医科大学盛京医院胰腺甲状腺外科

唐世刚 教授

湖南省人民医院

唐文富 副教授

四川大学华西医院中西医结合科

王健生 教授

西安交通大学医学院第一附属医院肿瘤外科

王振宁 教授

中国医科大学附属第一医院肿瘤外科

王志刚 副主任医师

上海市第六人民医院普外科

肖恩华 教授

中南大学湘雅二医院放射教研室

徐宁志 研究员

中国医学科学院肿瘤医院细胞生物与分子生物学实验室

颜宏利 教授

中国人民解放军第二军医大学遗传学教研室

杨江华 副教授

安徽省芜湖市皖南医学院弋矶山医院感染科

周南进 研究员

江西省医学科学研究所